

**НЕКОТОРЫЕ АСПЕКТЫ ОПТИМИЗАЦИИ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД
ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ LACTOBACILLUS DELBRUECKII SUBSP.
BULGARICUS**

Жабанос Н.К., Борунова С.Б., Фурик Н.Н.,

Дудко Н.В., Сафроненко Л.В.

Фундаментальным этапом создания технологии бактериальных концентратов наряду с подбором микроорганизмов являются подбор и оптимизация питательных сред, технологических режимов культивирования, обеспечивающих успешный рост и развитие микроорганизмов.

Конечной целью работы является создание технологии бактериального концентрата прямого внесения на основе пробиотических штаммов лакто- и бифидобактерий.

Представленные исследования проводились по следующим направлениям:

- провести патентный поиск существующих технологий бактериальных концентратов и кисломолочных продуктов;
- разработать оптимизированные питательные среды для культивирования пробиотических микроорганизмов
- осуществить подбор штаммов для разработки комплексного бактериального концентрата и провести медико-биологическую оценку отобранных культур.

Традиционно молочнокислые микроорганизмы культивируются и поддерживаются в стерильном молоке, однако, при создании технологии сухого бактериального концентрата использование стерильного молока как среды культивирования неприемлемо с технологической точки зрения. В связи с этим рассматривались различные варианты состава питательных сред, обеспечивающие развитие культур.

При подборе компонентов питательных сред учитывалась потребность молочнокислых бактерий в источниках азотного питания, витаминах, углеводах, а также возможность применения дешевых и простых компонентов, позволяющих получить высокие показатели количества жизнеспособных клеток. Основой разрабатываемых питательных сред как наиболее доступного и дешевого молочного сырья использовалась осветленная творожная сыворотка.

Для культивирования *микроорганизмов рода Lactobacillus* использовали основу, состоящую из осветленной сыворотки и дистиллированной воды в различных соотношениях, гидролизованного молока или гидролизата казеина, дрожжевого автолизата или экстракта, буферных солей и витаминно-минерального комплекса.

При выборе оптимальной питательной среды для культивирования культур **Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus** использовали пять рецептов, отличающихся по качественному и количественному составу ингредиентов. В исследованиях использовали 14 штаммов болгарской палочки из Централизованной отраслевой коллекции промышленно-ценных молочнокислых микроорганизмов.

Результаты, полученные при исследовании изменения значения активной кислотности в процессе ферментации сред, представлены в таблице 1.

Таблица 1. Изменение значения активной кислотности при развитии штаммов *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus* на средах №1 и №2

№ штамма	Предельное значение активной кислотности в молоке, ед. рН	Значение активной кислотности через X часов культивирования, ед. рН							
		Среда №1				Среда №2			
		X=4	X=5	X=6	X=24	X=4	X=5	X=6	X=24
b1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
b3	3,37	4,44	4,38	4,18	3,62	4,78	4,49	4,47	3,73
b4	3,40	4,62	4,56	4,45	3,70	4,93	4,88	4,72	3,89

№ штамма	Предельное значение активной кислотности в молоке, ед. рН	Значение активной кислотности через X часов культивирования, ед. рН							
		Среда №1				Среда №2			
		X=4	X=5	X=6	X=24	X=4	X=5	X=6	X=24
b6	3,39	4,74	4,52	4,29	3,73	4,96	4,67	4,56	3,92
b7	3,36	4,51	4,34	4,16	3,53	4,65	4,46	4,38	3,67
b9	3,38	4,55	4,42	4,28	3,74	4,94	4,75	4,64	3,88
b12/1	3,47	4,83	4,39	4,23	3,67	4,80	4,58	4,45	3,76
b12/2	3,43	4,51	4,39	4,24	3,66	4,74	4,66	4,45	3,74
b13/1	3,46	4,64	4,52	4,41	3,63	4,70	4,49	4,28	3,73
b13/2	3,45	4,45	4,29	4,15	3,63	4,64	4,52	4,33	3,80
b14/1	3,52	4,73	4,45	4,40	3,67	4,78	4,66	4,53	3,76
b14/2	3,56	4,55	4,42	4,29	3,73	4,70	4,61	4,48	3,78
b15/2	3,55	4,72	4,69	4,44	3,89	5,00	4,83	4,64	4,19
b17	3,51	4,48	4,40	4,29	3,81	4,78	4,67	4,49	3,98
b18/2	3,53	4,73	4,58	4,46	3,8	4,99	4,84	4,68	4,0

Анализируя изменение активной кислотности в процессе культивирования штаммами болгарской палочки можно сделать вывод, что подобранный состав питательных сред обеспечивает активное развитие данных культур. Однако при культивировании на среде №1 изменение активной кислотности идет быстрее, т.е. среда в большей мере обеспечивает развитие исследуемых культур. Следует также отметить, что при достижении значения рН до $(4,4 \pm 0,05)$ единиц для отдельных штаммов скорость снижения этого показателя значительно уменьшается, что свидетельствует о торможении развития культур, которое может быть вызвано как недостатком нутриентов в среде, так и ингибированием развития продуктами метаболизма, в частности избытком молочной кислоты. Через 24 часа культивирования показатели активной кислотности сопоставимы со значениями предельной кислотности, которые культуры достигают в стерильном молоке через 5 суток

культивирования. Это свидетельствует о том, что по компонентному и количественному составу исследуемые среды достаточно хорошо обеспечивают развитие культур.

Для определения пригодности исследуемых сред для накопления биомассы проводились исследования по учету количества (урожайности) культур через 5 часов культивирования. В таблице 2 представлены результаты исследования трех штаммов болгарской палочки с различной активностью развития.

Таблица 2. Урожайность штаммов *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus* на средах №1 и №2

№ штамма	Количество клеток через 5 часов культивирования, lg КОЕ/см ³		
	Стерильное молоко	Среда №1	Среда №2
3	7,70	7,48	7,17
б 12/1	7,48	7,00	6,70
б 14/1	7,90	8,17	8,30

Показатели развития культур в среде совершенно очевидно зависят от свойств конкретного штамма развиваться и накапливать биомассу, тем не менее, как на среде №1 так и на среде № 2 культуры имеют относительно высокие для данного вида урожайности. Можно сделать вывод, что исследуемые питательные среды могут использоваться для культивирования этих микроорганизмов и как основа питательных сред для накопления биомассы при производстве бактериального концентрата болгарской палочки.

Результаты, полученные при исследовании развития культур в процессе ферментации сред №3, №4, №5, представлены в таблице 3.

Таблица 3. Изменение значения активной кислотности при развитии штаммов *Lb. delbrueckii subsp. bulgaricus* на средах №3, №4 и №5

№ штам ма	Значение активной кислотности через X часов культивирования, ед. рН											
	Среда №3				Среда №4				Среда №5			
	X=4	X=5	X=6	X=24	X=4	X=5	X=6	X=24	X=4	X=5	X=6	X=24
b4	5,30	4,86	4,57	4,04	5,25	4,97	4,73	3,73	5,25	4,99	4,83	3,99
b6	5,21	4,68	4,44	3,91	5,14	4,73	4,53	3,69	5,45	5,09	4,85	3,91
b7	4,84	4,54	4,33	3,74	4,73	4,44	4,29	3,85	4,78	4,50	4,35	3,70
b14/1	4,84	4,55	4,36	3,80	4,81	4,56	4,41	3,99	4,87	4,65	4,49	3,83

Проанализировав представленные результаты можно сделать вывод о том, что подобранный состав питательных сред обеспечивает активное развитие данных культур. Но при культивировании на среде №4 у отдельных штаммов изменение активной кислотности идет быстрее, т.е. среда в большей мере обеспечивает развитие исследуемых культур. Следует также отметить, что при достижении значения рН до $(4,4 \pm 0,05)$ единиц для большинства штаммов скорость снижения этого показателя значительно увеличивается, что свидетельствует об ускорении развития культур, которое указывает на достаточное количество нутриентов в среде. Через 24 часа культивирования показатели активной кислотности сопоставимы со значениями предельной кислотности, которые культуры достигают в стерильном молоке через 5 суток культивирования. Это свидетельствует о том, что по компонентному и количественному составу исследуемые среды достаточно хорошо обеспечивают развитие культур.

Для определения пригодности исследуемых сред для накопления биомассы проводились исследования по урожайности культур через 5 часов культивирования. В таблице 4 представлены результаты исследования трех штаммов болгарской палочки с различной активностью развития.

Таблица 4. Урожайность штаммов *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* на средах №3, №4 и №5.

№ штамма	Количество клеток через 5 часов культивирования, lg КОЕ/см ³		
	Среда №3	Среда №4	Среда №5
b4	7,70	8	7,70
b6	8,40	8,40	7,00
b7	8,00	9,30	8,18
b14/1	7,70	9,00	7,70

Показатели развития культур в среде зависят от свойств конкретного штамма развиваться и накапливать биомассу, однако, из представленных данных видно, что на среде №4 культуры имеют более высокие значения урожайности по сравнению с таковыми, полученными при культивировании исследуемых штаммов на средах №3 и №5. Можно сделать вывод, что исследуемые питательные среды могут использоваться для культивирования этих микроорганизмов и как основа питательных сред для накопления биомассы при производстве бактериального концентрата болгарской палочки.