

ОТРАБОТКА КОНТРОЛЬНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ РАЗВИТИЯ PROPIONIBACTERIUM FREUDENREICHII

О. Н. Гора, И. Н. Павлов

Бийский технологический институт (филиал) ГОУ ВПО «Алтайский государственный технический университет им. И. И. Ползунова» (БТИ АлтГТУ), г. Бийск

Современный период развития человечества характеризуется увеличением числа заболеваний связанных с нарушением питания. Эти заболевания обусловлены рядом факторов, среди которых следует отметить резкое ухудшение экологической обстановки, проявляющиеся в накоплении в продуктах питания разнообразных токсичных и мутагенных веществ.

Решение этого вопроса уходит в сторону широкого потребления биологически активных добавок – пребиотиков и живых микроорганизмов – пробиотиков. К микроорганизмам – пробиотикам относятся и пропионовокислые бактерии (ПКБ). ПКБ обладают уникальными биохимическими свойствами, положительно влияющие на иммунную систему организма, способствуют снижению генотоксического действия ряда химических элементов и УФ – лучей. Также они являются активными продуцентами витамина В₁₂, который регулирует основные обменные процессы, участвует в процессах кроветворения, превращения аминокислот, биосинтеза нуклеиновых кислот. ПКБ являются менее изученными пробиотиками. В связи с этим представляет особый интерес создание препаратов – пробиотиков на основе пропионовокислых бактерий [1].

На первом этапе работы проводилась оптимизация состава ростовых компонентов питательной среды для культивирования *Propionibacterium freudenreichii*.

Установлено, что пропионовокислые бактерии и бифидобактерии относятся к актиномицетной группе микроорганизмов. Так для количественного учета этих бактерий применяются идентичные среды, в следствие чего, для накопления биомассы пропионовокислых бактерий, была взята фоновая среда на основе сыворотки с добавлением ростовых компонентов дрожжевого автолизата и гидролизованного молока для культивирования бифидобактерий с последующей оптимизацией.

Пропионовокислые бактерии являются активными продуцентами витамина В₁₂. Следует отметить, что синтез витамина зависит

от условий культивирования. Известно, что корриноиды включают в группу тетрапиррольных соединений, несущих жизненно важные функции. Ионы металлов в этих соединениях находятся в комплексе с органическими лигандами, а в коферментах В₁₂ атом кобальта связан с углеродом. Энзиматический гемолиз Со-С связи приводит к образованию реактивных веществ. Эти вещества провоцируют протекание реакций, которые в иных случаях должны были бы быть подавлены. Однако в естественных питательных средах, содержание кобальта минимально, поэтому в фоновую питательную среду мы так же добавляли ионы Со²⁺, которые влияют на выход биомассы и синтез витамина В₁₂ [2].

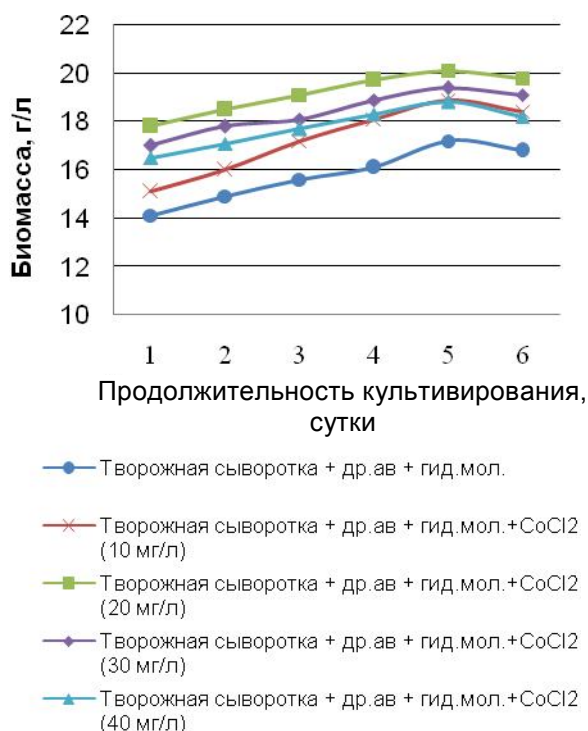


Рисунок 1 – Динамика накопления биомассы бактериями B₁₂ Propionibacterium freudenreichii

Из рисунка 1 видно, что оптимальной питательной средой для накопления биомассы *Pr. freudenreichii* является среда следующего химического состава: ТС + 5 % дрожжевого автолизата + 5 % гидролизованного молока + CoCl_2 (20 мг/л), поскольку позволяет бактериям накапливать значительную биомассу – 20,1 г/л. Определение количества витамина B_{12} осуществлялось спектрофотометрическим методом, а биомассу методом взвешивания [3].

Поскольку, важным фактором для культивирования бактерий, является температура, поэтому на следующем этапе, мы рассматривали влияние температур в диапазоне от 27 до 31 °С на исследуемые бактерии *Propionibacterium freudenreichii*.

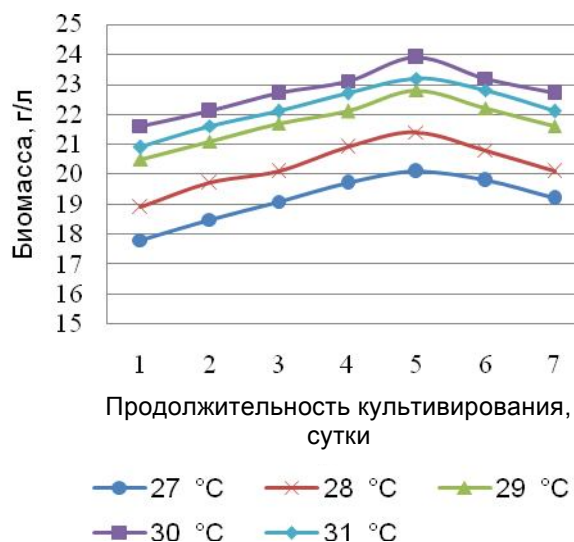


Рисунок 2 – Динамика накопления биомассы бактериями *Pr. freudenreichii* при разных температурах культивирования

Из рисунка 2 видно, что лучшим температурным режимом культивирования для *Propionibacterium freudenreichii* является 30 °С, при котором происходит значительное накопление биомассы – 23,9 г/л.

Установлена корреляционная зависимость между количеством ионов кобальта и максимальным накоплением биомассы и витамина B_{12} .

Для биомассы уравнение имеет вид:
 $y = 0,0278x^3 - 0,4429x^2 + 1,9508x + 17,314$.

Коэффициент корреляции составляет:
 $R^2 = 0,9525$.

Для накопления витамина уравнение имеет вид:

$y = 0,0361x^3 - 0,7095x^2 + 3,8187x + 8,8714$.

Коэффициент корреляции составляет:
 $R^2 = 0,9217$.

Приведенные данные позволяют рассчитать выход продукта по биомассе или витамину B_{12} , в зависимости от концентрации ионов Co^{2+} .

Дальнейшие работы проводили по компонентному подбору среды и ее содержанию. Оптимизацию среды проводили методом крутого восхождения (метод Бокса – Уилсона). В качестве контроля взята фоновая среда с максимальным накоплением витамина B_{12} и биомассы.

Целью дальнейшей работы было получение сухого концентрата методом распылительной сушки. Поэтому первичную обработку режимов сушки проводили на контрольной среде.

Полученные данные свели в таблицу 1.

Таблица 1 – Показатели сухих и жидкой заквасок

Показатели	Виды заквасок			
	Сухие			Жидкая
	Выбор температуры			
	1	2	3	
– витамин B_{12} , мкг/мл	19,25	16,56	15,98	23,95
– определение общего количества пробиотиков, КОЕ/см ³	10 ⁸	8 ⁸	9 ⁷	10 ¹⁰

Сравнительный анализ показал, что сухая закваска незначительно уступает жидкой по наличию витамина B_{12} и произошло незначительное снижение КОЕ.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Хамагаева, И. С. Биотехнология заквасок пропионово – кислых бактерий / И. С. Хамагаева. – Улан-Удэ : Изд-во ВСГТУ, 2006. – 172 с.
- Воробьева, Л. И. Пропионовокислые бактерии / Л. И. Воробьева. – М. : Изд-во МГУ, 1995. – 288 с.
- Нетрусов, А.И. Практикум по микробиологии : учеб. пособие для студ. высш. учеб. заведений / А. И. Нетрусов, М. А. Егорова, Л. М. Захарчук и др.; под ред. А. И. Нетрусова. – М. : Издательский центр «Академия», 2005. – 608 с.