

Р. Э. Хабибуллин, С. А. Жакслыкова, А. Р. Низамиева,
Г. Ю. Яковлева, О. А. Решетник

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕД

ДЛЯ РЕГИДРАТАЦИИ И РЕАКТИВАЦИИ ЛИОФИЛИЗИРОВАННЫХ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЗАКВАСОК

Ключевые слова: экзогенная ферментация, регидратация, реактивация, бактериальный препарат Бифидумбактерин, накопительная среда, биомасса микроорганизмов, экспоненциальная фаза роста, статистическая обработка данных.

С использованием программы статистической обработки данных провели сравнительную характеристику прироста биомассы микроорганизмов на различных накопительных средах с целью разработки оптимального способа регидратации и реактивации лиофилизированного бактериального препарата Бифидумбактерин. Проанализированные экспериментальные данные в сочетании с экономической эффективностью свидетельствуют о целесообразности использования молочной сыворотки в качестве основы для приготовления питательной среды для стадии регидратации бактериального препарата.

Key words: exogenous fermentation, rehydration, reactivation, bacterial preparation Bifidumbacterin, collecting medium, microbial biomass, exponential phase of growth, statistical data processing.

The comparative analysis of Bifidobacterium microorganisms growth on various media was conducted using the program of statistical data treatment. The purpose of the analysis was to develop the best way to rehydrate and reactivate the freeze-dried bacterial biomass. The experimental data in combination with economic efficiency showed the usefulness of the whey as the basis of nutrient medium for bacterial rehydration.

Введение

В предыдущих работах [1, 2] было исследовано влияние экзогенной молочнокислой ферментации с использованием бактерий из состава медицинского препарата Лактобактерин на свойства коллагенсодержащего вторичного сырья, а именно говяжьих субпродуктов второй категории (рубец, селезенка и легкое). Анализируя полученные результаты, выявили улучшение санитарно-гигиенических показателей, функционально-технологических и органолептических характеристик нативных свойств субпродуктов, а также повышение биологической ценности сырья в результате такой обработки. Все эти положительные изменения дают основание рассматривать экзогенную молочнокислую ферментацию как эффективный способ предварительной обработки трудно перерабатываемого коллагенсодержащего сырья.

Обобщение опубликованных литературных данных о положительной роли пробиотических микроорганизмов в процессе трансформации исходных свойств изучаемого коллагенсодержащего сырья пробудило интерес исследовать влияние бифидобактерий на аналогичные показатели того же малоценного сырья. Для предварительных исследований использовали бактериальный препарат Бифидумбактерин.

Поскольку для экзогенной ферментации использовалась биомасса микроорганизмов в лиофилизированном виде, то важной обязательной стадией технологического процесса является стадия регидратации, во многом предопределяющая физиологическую и ферментативную активность закваски в процессе экзогенной ферментации субпродуктов.

Целью данной работы является разработка оптимального способа регидратации и реактивации лиофилизированного бактериального препарата Бифидумбактерин, для чего необходимо было провести сравнительный анализ жидких питательных сред

для регидратации лиофилизированных заквасок с точки зрения активности накопления биомассы на них и их экономичности.

Экспериментальная часть

Для исследований применяли бактериальный препарат Бифидумбактерин, который представляет собой биомассу микробных клеток живых бифидобактерий антагонистически активного штамма *Bifidobacterium bifidum* №1, предварительно лиофильно высушенную, очищенную от компонентов среды культивирования и содержащую в качестве бифидогенного фактора лактозу.

Накопление биомассы бифидобактерий проводили на трех различных накопительных средах. Использовали распространенную дифференциально-диагностическую среду Блаурокка на основе печеночного отвара, и среды на основе белка молока, которые чаще всего используются в молочной промышленности в качестве питательной среды при выращивании биомассы микроорганизмов: среду на основе молочной сыворотки и среду на основе молока.

Исходя из физиологических свойств микроорганизмов вида *B. bifidum*, а именно нахождение оптимального диапазона значений кислотности (pH) в пределах 6,0 – 7,0, предварительно корректировали pH питательных сред до значения 6,8.

Для определения динамики роста во времени подсчитывали количество микробных клеток путем посева на плотную питательную среду чашечным методом. Поскольку бифидобактерии относятся к облигатным анаэробам и их выращивание более сложно по сравнению с аэробами, чашки Петри использовались нами следующим образом. Засеянную агаризованную среду наливали в крышку чашки Петри и плотно закрывали ее поверхность стерильной тыльной стороной донышка, не допуская попадания пузырьков воздуха. Щель между

краями дна и чашки, где среда соприкасается с воздухом, заливали стерильным парафином. Подсчет колоний вели через трое суток [3].

Достоверный выбор накопительной среды, отвечающей предъявляемым требованиям, был произведен с помощью метода дисперсионного анализа, реализованного при помощи стандартного прикладного пакета Statistica.

Результаты и их обсуждение

При культивировании микроорганизмов в экспоненциальной фазе роста клетки бактерий находятся в состоянии максимальной физиологической активности, наблюдается высокая скорость размножения и большой прирост биомассы. Естественно предположить, что в данный период микроорганизмы обладают наибольшей биохимической активностью и соответственно активность их ферментных систем в отношении компонентов обрабатываемого сырья также максимальна [4].

Для определения промежутка времени, в котором клетки находятся в экспоненциальной фазе роста, нами были построены кривые роста бифидобактерий на разных культивируемых средах (рис.1), а также рассчитаны удельные скорости роста по формуле:

$$\mu = (\ln x_2 - \ln x_1) / (t_2 - t_1),$$

где μ - удельная скорость роста, $ч^{-1}$; x_1 и x_2 - концентрация биомассы, $г \cdot дм^{-3}$, в моменты времени t_1 и t_2 соответственно.

На рис. 1 представлены характеристики роста бифидобактерий на различных жидких накопительных средах.

Как видно из рис. 1, при культивировании бифидобактерий на различных жидких накопительных средах прослеживается одинаковое распределение кривых, экспоненциальные фазы роста находятся в промежутке времени с 6 до 30 часов.

Статистическую достоверность разницы между приростом микроорганизмов на средах на основе молочной сыворотки и на основе молока оценивали с помощью двух статистических критериев: U-критерий Манна-Уитни и H-критерий Крускала-Уоллиса.

U-критерий Манна-Уитни представляет собой статистический критерий, используемый для оценки различий между двумя независимыми выборками по уровню какого-либо признака, измеренного количественно. С его помощью можно установить уровень значимости определяемого критерия (p-level) в каком-то частном случае. Значимость различия выборок численных данных по росту биомассы микроорганизмов на различных средах определяли по соотношению их расчетных и критических p-критериев ($p < 0,05$) [5].

Расчет значений U-критерия позволил установить существующую значимость различия характеристик прироста биомассы бифидобактерий, культивируемых на различных жидких накопительных средах.

В ходе анализа была выявлена статистическая значимость различий между приростом биомассы микробных клеток в накопительной среде

Блаурокка на основе печеночного отвара и в среде на основе молока в пользу второй среды. Одновременно выявили отсутствие достоверной разницы в приросте микробных клеток на средах на основе молочной сыворотки и на основе молока.

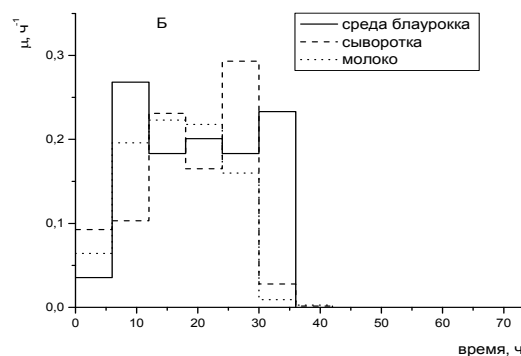
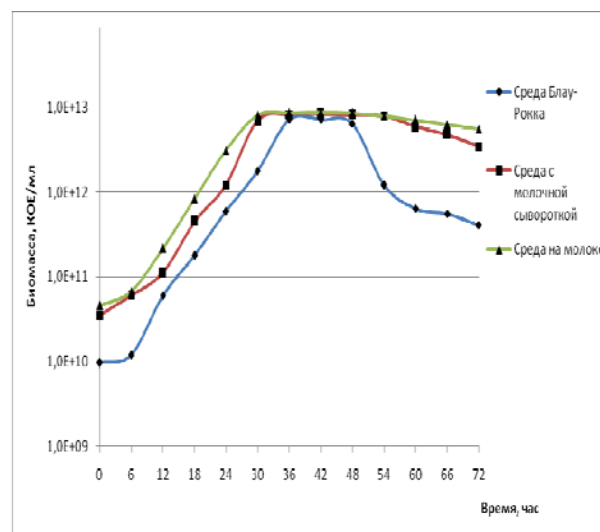


Рис. 1 – Характеристики роста бифидобактерий на жидких накопительных средах: А – динамика изменения биомассы X , $г \cdot дм^{-3}$; Б – удельная скорость роста μ , $ч^{-1}$

В связи с тем, что данные накопительные среды обеспечивают высокую скорость размножения микроорганизмов наряду с меньшими продолжительностями роста и развития, для повышения достоверности выбора питательной среды для регидратации лиофилизированного препарата мы воспользовались дополнительно H-критерием Крускала-Уоллиса. Данный критерий проверяет гипотезу: имеют ли сравниваемые выборки одно и то же распределение или же распределения с одной и той же медианой [5].

В ходе анализа было выявлено, что прирост биомассы на данных накопительных средах практически не отличается друг от друга.

Отсутствие существенных различий в приросте биомассы микроорганизмов наглядно представлено на графике распределения количества микроорганизмов в процессе регидратации.

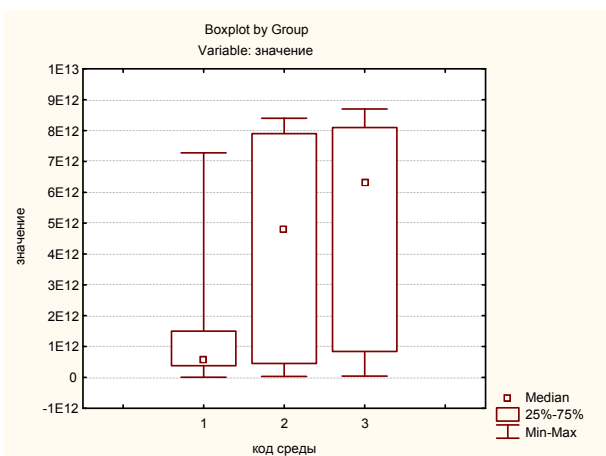


Рис. 2 - Характеристики распределения количества микроорганизмов в процессе регидратации: 1 – среда Блаурока, 2 – среда на основе молочной сыворотки, 3 – среда на основе молока

Таким образом, медианный тест подтвердил гипотезу отсутствия значимых различий в приросте биомассы микроорганизмов, культивируемых на средах на основе молочной сыворотки и на основе молока.

Закключение

Среда на основе молочной сыворотки дает хорошие результаты при культивировании бифидобактерий, обеспечивая высокую скорость размножения наряду с минимальной продолжительностью ростового цикла бактерий. В тоже время сырье, используемое в основе данной среды, является отхо-

дом молочного производства, имеет низкую стоимость и общедоступно. Все это дает основание для рекомендации использования молочной сыворотки в качестве основы для приготовления питательной среды для стадии регидратации и реактивации лиофилизированного бактериального препарата бифидобактерий.

Литература

1. Р.Э.Хабибуллин, Х.Р.Хусаинова, Э.И.Минивале-ева, О.А.Решетник. Влияние экзогенной молочнокислой ферментации на функционально-технологические свойства говяжьих субпродуктов 2 категории. // Вестник Казанского технологического университета. - 2011. - № 16. С. 187-194.
2. Р.Э.Хабибуллин, Х.Р.Хусаинова Э.И.Минивале-ева, О.А.Решетник. Влияние экзогенной молочнокислой ферментации на свойства мясных изделий с использованием говяжьих субпродуктов 2 категории// Вестник Казанского технологического университета. - 2011. - № 16. С. 203-209.
3. Пименова М.Н., Гречушкина Н.Н., Азова Л.Г. Руководство к практическим занятиям по микробиологии // М.:Издательство МГУ, 1986. – 186 с.
4. Гуринович Г.В. Биотехнологические способы производства продуктов повышенной пищевой ценности: Монография: Кемеровский технологический институт пищевой промышленности. Кемерово, 2002 г. – 135 с.
5. Сержкина, А.Е. Применение пакета Statistica для первичной обработки данных научных исследований /А.Е. Сержкина. – Казань: Республиканский центр мониторинга качества образования, 2012. – 116 с.

© Р. Э. Хабибуллин – к.т.н., доц. каф. ТПП КНИТУ, hrustik@yandex.ru; С. А. Жакслыкова – асп. той же кафедры, saniyushka@inbox.ru; А. Р. Низамиева – студ. КНИТУ; Г. Ю. Яковлева – к.б.н., доцент каф. микробиологии К(П)ФУ, yakovleva_galina@mail.ru; О. А. Решетник – д-р техн. наук, проф., зав. каф. ТПП КНИТУ, reshetnik@kstu.ru.