

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ НА ИНТЕНСИВНОСТЬ РАЗВИТИЯ *L. RHAMNOSUS*

Раскошная Т.А., канд. техн. наук, Семенихина В.Ф., д-р техн. наук,
Рожкова И.В. канд. техн. наук

Государственное научное учреждение Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности Российской академии сельскохозяйственных наук, г. Москва

*В статье приводятся данные о влиянии компонентов сред: гидролизованного молока, обезжиренного сухого молока, MRS, ГМК-2 и различных стимуляторов роста на накопление клеток *L. rhamnosus* в питательной среде в процессе культивирования. Результаты исследований показали, что при определенном соотношении гидролизованного молока, дрожжевого экстракта, агара и Актибакт-Углич-М в питательной среде накапливалось высокое количество клеток более 10^9 КОЕ/см³.*

В настоящее время успешно развивается производство кисломолочных продуктов связанное с использованием микроорганизмов, являющихся представителями нормальной кишечной микрофлоры. Эти продукты называют «продуктами для здоровья» или биопродуктами. Продаваемые с этой этикеткой продукты должны содержать живые микроорганизмы, наличие которых дает основание предполагать качества полезные для здоровья.

Для производства пробиотических кисломолочных продуктов используются бактериальные концентраты микроорганизмов. К пробиотическим микроорганизмам относится целый ряд бактерий - бифидобактерии, молочнокислые бактерии (ацидофильная молочнокислая палочка, *L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. reuteri*), пропионовокислые бактерии и др.

В основе производства кисломолочных продуктов лежат микробиологические процессы. Следовательно, качество кисломолочных продуктов зависит от качества заквасок, используемых для их производства, что в свою очередь определяется свойствами микроорганизмов, входящих в их состав.

Для организации крупномасштабного производства кисломолочных продуктов требуется увеличение количества заквасок. В этой связи приобретает большое значение обеспечение молочных заводов бактериальными концентратами молочнокислых бактерий, использование которых может быть при производстве производственной закваски или непосредственно кисломолочного продукта. В развитии биотехнологии бактериального концентрата большое внимание уделяется увеличению количества жизнеспособной микрофлоры в них, что обеспечивается разработкой новых питательных сред и совершенствованием режимов

культивирования, позволяющих получить высокое количество клеток микроорганизмов в концентрате и выход биомассы. Поэтому работа, направленная на разработку и совершенствование биотехнологии бактериального концентрата *L. rhamnosus* является актуальной.

Процесс получения бактериального концентрата включает в себя наращивание клеток молочнокислых бактерий в среде и их отделением центрифугированием. При этом необходимо накопить в среде максимально возможное количество активных клеток. Нами была определена кислотообразующая активность штамма при культивировании на различных питательных средах: стерильном обезжиренном молоке, MRS, гидролизованном молоке, ГМК-2 при температуре 32 °С и 37 °С (рис .1 и 2)

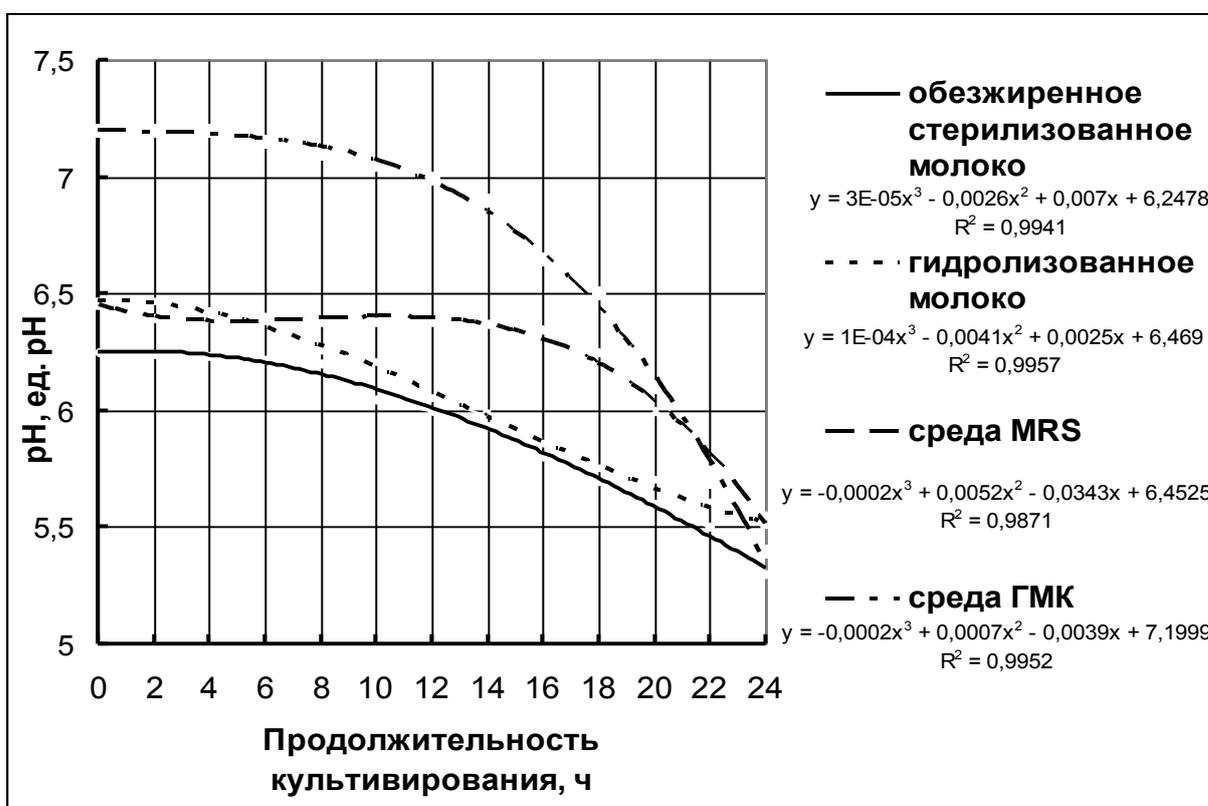


Рис. 1. Изменение pH в процессе культивирования *L. rhamnosus* на различных средах при температуре 32°C

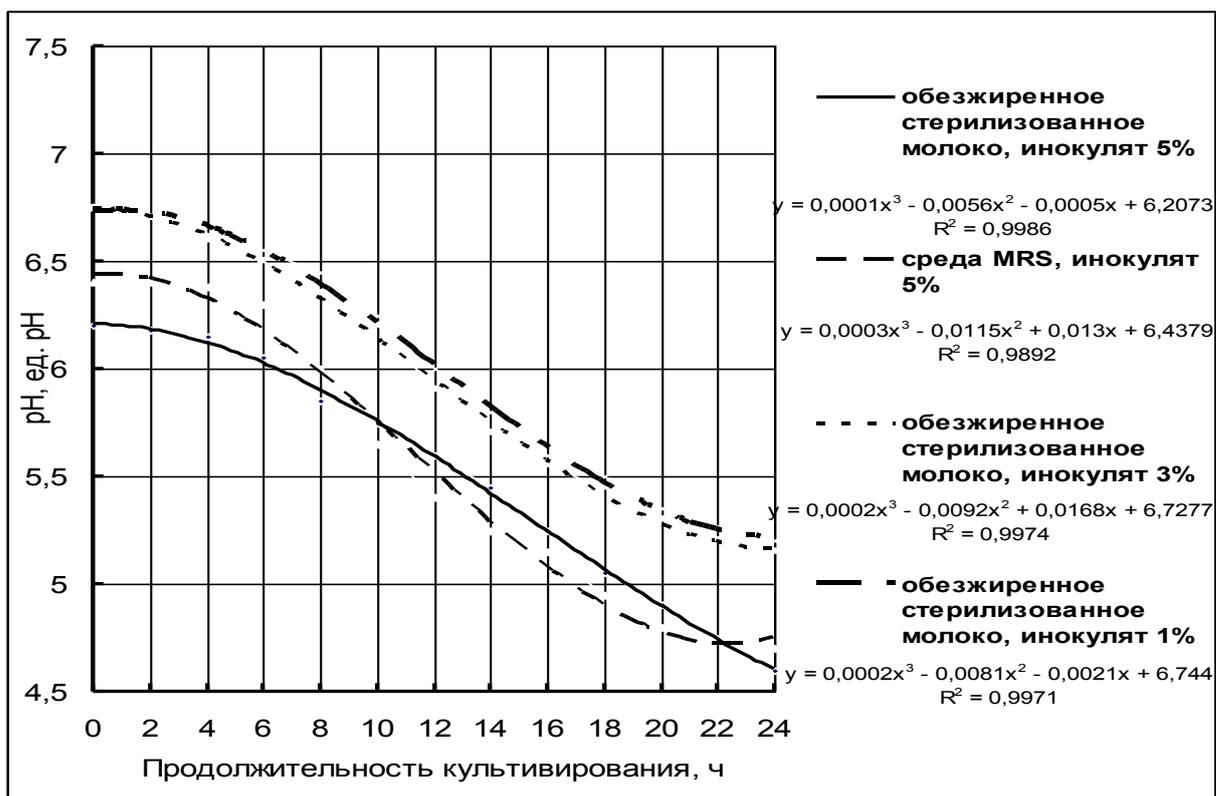


Рис. 2. Изменение рН в процессе культивирования *L. rhamnosus* на различных средах при температуре 37°C

Из представленных данных видно, что максимальная кислотообразующая активность штамма отмечалась на стерилизованном обезжиренном молоке и гидролизованном молоке, при культивировании при 37 °С и внесении 5 % закваски на стерильном обезжиренном молоке.

Для выбора питательной среды для культивирования *L. rhamnosus* и накопление биомассы работу проводили с использованием питательных сред, состоящих из гидролизатов молока, пептонов, триптонов, дрожжевых экстрактов.

Процесс наращивания биомассы проводили в лабораторных условиях на ферментере, в котором в процессе культивирования поддерживалась постоянная температура 30 °С и рН (5,6 –5,8). Отбор проб для определения количества клеток *L. rhamnosus* по ходу процесса проводился через два часа. Культивирование осуществлялось в течение 12 ч.

Количество клеток *L. rhamnosus* в конце процесса культивирования колебалось на различных питательных средах от 10⁸ до 10⁹ клеток в 1 см³ (таблица 1). Наилучшие результаты были получены на питательной среде с гидролизованным молоком со стимуляторами роста. За 12 часов культивирования количество клеток составляло (1,5-2,0) × 10⁹ в 1 см³.

Таблица 1

Сравнительная оценка питательных сред

| Наименование питательных сред | Количество клеток <i>L. rhamnosus</i> в 1 см ³ | | | | | | рН среды |
|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------------------|-----------------|-------------------|-------------------|-----------------|-------------------|----------|
| | 0 ч | 4 ч | 6 ч | 8 ч | 10 ч | 12 ч | |
| Среда без ростовых добавок | 6×10^7 | 8×10^7 | 2×10^8 | 1×10^9 | 1×10^9 | 2×10^9 | 4,10 |
| Среда с пептоном | 6×10^7 | 8×10^7 | 1×10^8 | 4×10^8 | 6×10^8 | 8×10^8 | 4,18 |
| Гидролизованное молоко со стимуляторами роста | 6×10^7 | 8×10^7 | $2,5 \times 10^8$ | $1,3 \times 10^9$ | 1×10^9 | $1,5 \times 10^9$ | 4,04 |

В дальнейшем была проведена работа по оптимизации питательной среды для наращивания биомассы *Lactobacillus rhamnosus*. По литературным данным для интенсификации роста *Lactobacillus rhamnosus* в состав питательных сред добавляют следующие ингредиенты: Актибакт-углич-М, дрожжевой экстракт – (2,5 - 15) %, пептон – (7 - 15) %, глюкоза – (5 - 30) %, Твин 80, MgSO₄×7H₂O – 0,2 г/дм³, MnSO₄×4H₂O - (0,03 - 0,05) г/дм³, FeSO₄×7H₂O – 0,03 г/дм³, КН₂РО₄, СН₃СООNa, СН₃СООNH₄ - 1,46 г/дм³, СаСО₃, С₃Н₃NaО₃- (3 - 8) г/дм³.

Поэтому в дальнейшем были составлены и исследованы 20 композиций питательных сред с различным добавлением вышеуказанных компонентов.

В результате проведенных исследований были выбраны 4 оптимальных состава питательных сред: №1 – гидролизованное молоко, дрожжевой экстракт, агар, Актибакт-Углич-М; №2 – гидролизованное молоко, дрожжевой экстракт, MgSO₄×7H₂O, КН₂РО₄, СН₃СООNa, СН₃СООNH₄, агар, Актибакт-Углич-М; № 3 - гидролизованное молоко, дрожжевой экстракт, MnSO₄×4H₂O, MgSO₄×7H₂O, КН₂РО₄, СН₃СООNa, СН₃СООNH₄; № 4 - гидролизованное молоко, дрожжевой экстракт, MgSO₄×7H₂O, КН₂РО₄, СН₃СООNa, СН₃СООNH₄, агар для культивирования *Lactobacillus rhamnosus*, позволяющие получить максимальное количество клеток. Подобранные питательные среды были исследованы для культивирования *Lactobacillus rhamnosus* в сравнении с MRS-бульоном - № 5. Данные представлены на рис. 3.

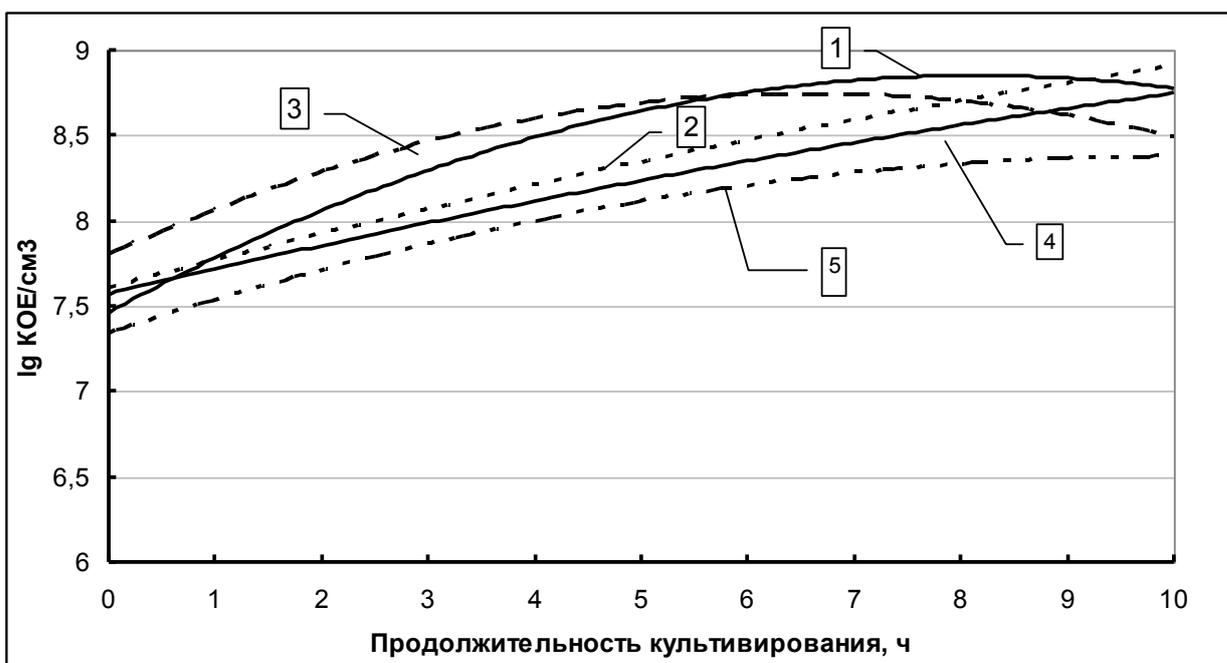


Рис. 3. Изменение количества клеток *Lactobacillus rhamnosus* при культивировании на различных питательных средах

Как видно из рис. 3 наибольшее количество клеток нарастало при использовании питательной среды № 1. Наибольшее количество клеток достигало в процессе культивирования $6 \cdot 10^9$ КОЕ/см³.

Таким образом, на основании полученных данных о влиянии компонентов сред на интенсивность размножения *Lactobacillus rhamnosus* была разработана питательная среда, состоящая из гидролизованного молока, дрожжевого экстракта, агара и Актибакт-Углич-М, позволяющая получить максимальное количество клеток в бактериальном концентрате.