

ОЦІНКА ВПЛИВУ ОВОЧЕВИХ НАПОВНЮВАЧІВ У СКЛАДІ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ

Губар Є.І., Корнієнко І.М.
Національний авіаційний університет,
7369819@stud.nau.edu.ua



Abstract

The effect of adding vegetable supplements to MRS nutrient media and meat peptone broth on the titer of lactic acid bacteria (LAB) was investigated. As a source of LAB, "FIT-YOGURT" sourdough of the VIVO brand was used. It was established that the addition of carrots, beets and cabbage regardless of the chosen concentration (3%, 5%, 7%, 10%) increases the titer of LAB.

Keywords: *Lactic acid bacteria, MRS, beef-extract broth, vegetables.*

Вступ. Овочі вже дуже давно відомі як багаті джерела мікро- і макро елементів, вуглеводів і вітамінів. Тому, їх використовували як субстрат, для культивування молочнокислих бактерій (надалі МКБ) до появи більш ефективних штучних середовищ. Враховуючи важливість даного питання, сформульовано мету дослідження - встановити ефективність додавання овочевого пюре до м'ясо-пептонного бульйону (МПБ), що є універсальним, накопичувальним поживним середовищем для культивування мікроорганізмів, та до селективного поживного середовища MRS, призначеного для культивування МКБ. Також, проведено дослідження задля виявлення оптимальної концентрації овочевого наповнювача (морквяного, бурякового, капустияного, картопляного) до вище зазначених поживних середовищ в певних концентраціях. Додавання овочевих компонентів до поживного середовища в промислових масштабах здатне значно зменшити вартість живильного середовища, а отже і виробничого процесу, що призведе до зменшення собівартості продукції і підвищенню їх доступності, що теоретично може сприяти покращенню здоров'я нації, оскільки МКБ є цінними пробіотичними культурами, які зазвичай знаходяться в кишечнику людини та трин. Ці бактерії мають корисні для здоров'я властивості, наприклад, покращення загального самопочуття людини, активація вродженої імунної системи, зменшення запалення та зниження ризику канцерогенезу [1]. Також, відходи, утворені у виробничих масштабах, які містять овочеві домішки, рекомендовано піддавати подальшої біоконверсії у дигестат, що значно зменшить кількість відходів і покращить екологічну ситуацію в нашій країні.

Матеріали та методи. Для визначення найкращого доданого овочевого наповнювача та його оптимальної концентрації (пастеризованого пюре моркви, буряка, картоплі, капусти), було обрано МПБ і MRS середовища, які виготовлені за стандартною рецептурою. МПБ було обрано для дослідження, оскільки воно є універсальним накопичувальним поживним середовищем, що гарно імітує виробниче середовище, MRS обрано, враховуючи його селективність. В якості овочевих наповнювачів узято: картопля (*Solanum tuberosum*), капуста білоголова (*Brassica oleracea var. capitata*), морква посівна (*Daucus carota subsp. sativus*) та

буряк столовий (*Beta vulgaris*), оскільки вони є розповсюдженими овочевими культурами в Україні і характеризуються великим вмістом цінних елементів, вуглеводів і вітамінів (табл. 1).

Таблиця 1. Біологічна цінність овочевих наповнювачів

	Морква	Буряк	Картопля	Капуста
Вуглеводи	6,9% (переважно моносахариди)	9,6 % (цукри)	15-25 % (крохмаль)	10% (сахароза, крохмаль)
Білки	1,3 %	1,6 %	1,5-3 %	1,8 %
Жири	0,1 %	0,2 %	0,3-0,6 %	0,1 %
Вітаміни (на 100 г)	Вітамін А 9.0 мг Вітамін С 5.0 мг Вітамін Е 0.6 мг Вітамін РР 1.0мг	Вітамін А 0,01 мг Вітамін В1 0.02мг Вітамін В2 0.04мг Вітамін В3 0.1 мг Вітамін В6 0.07мг Вітамін С 10.0 мг Вітамін РР 0.2 мг	Вітамін А 0.02 мг Вітамін Е 0.1 мг Вітамін Н 0.1 мг Вітамін С 20.0мг Вітамін РР 1.3мг	Вітамін А 0.02 мг Вітамін Е 0.08мг Вітамін С 45.0мг Вітамін РР 0.7мг
Мінерали (на 100 г)	Калій 200.0 мг Кальцій 27.0 мг Магній 38.0 мг Натрій 21.0 мг Сірка 6.0 мг Фосфор 55.0 мг Хлор 63.0 мг	Залізо 1.4 мг Калій 288.0 мг Кальцій 37.0 мг Магній 22.0 мг Натрій 46.0 мг Сірка 7.0 мг Фосфор 43.0 мг Хлор 43.0 мг	Калій 568 мг Кальцій 10 мг Магній 23 мг Натрій 5 мг Сірка 32 мг Фосфор 58 мг Хлор 58 мг Рубідій 0.5 мг Цинк 0.36 мг	Калій 300.0 мг Кальцій 48.0 мг Магній 16.0 мг Натрій 13.0 мг Сірка 37.0 мг Фосфор 31.0 мг Хлор 37.0 мг

Для реалізації даного дослідження овочі було подрібнено до стану пюре, які потім піддано пастеризації за температурою 80 °С, протягом 10 хвилин. До виготовлених поживних середовищ (МПБ та MRS) додавали 3%, 5%, 7%, 10% овочевих наповнювачів (кожен окремо). Процес культивування МКБ на запропонованих, модифікованих поживних середовищах із різним вмістом овочевих наповнювачів проводили у термостаті при температурі 37 °С, протягом 48 годин.

Джерелом чистих культур МКБ виступає закваска «FIT-ЙОГУРТ» (торгівельна марка VIVO), до складу якої входять чисті культури: *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus gasseri*, *Bifidobacterium infantis*. Усі поживні середовища, посуд, дистильована вода простерилізовано в автоклаві при температурі 131 °С, протягом 30 хвилин. Титр клітин МКБ вимірювали за допомогою денситометра (DEN-1), використовуючи компенсаційні розчини (середовища, де не було додано МКБ), щоб уникнути помилок, що виникають через зміну кольору поживних середовищ. Одиниці МакФарланда та кількість колоній перераховувались у кількість клітин на 1 мл за стандартною методикою. Морфологічну характеристику виділених культур проводили за допомогою мікроскопа з фарбуванням за методом Грама, а ідентифікація МКБ здійснювалася за допомогою «Визначника бактерій Берджі».

Результати та обговорення. В результаті експерименту встановлено значну перевагу пюре моркви та буряку, як додаткового компонента, доданого до поживних середовищ, порівняно із іншими овочевими добавками (рис.1). Перевагою даних овочевих пюре можна пояснити їх біодоступністю для МКБ, оскільки за хімічним складом пюре моркви і буряка, на відміну від картоплі та капусти, містять у своєму складі переважно моно- та дисахариди, що полегшує процес ферментації, як зазначено автором [2], на відміну від крохмалю, що є полісахаридом (таблиця 1).

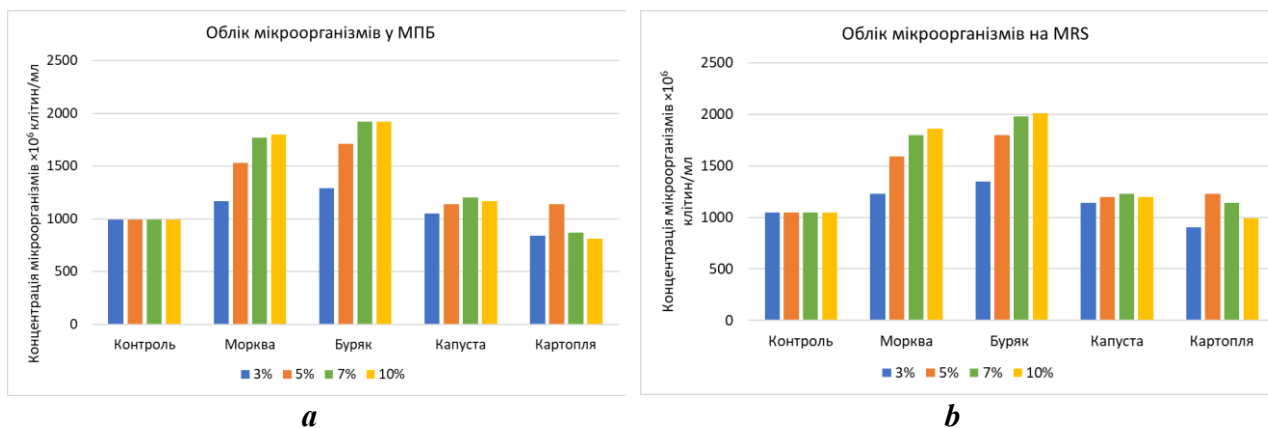


Рис.1. Титр МКБ на модифікованих поживних середовищах, на осі ОУ вказана кількість мікроорганізмів $\times 10^6$ клітин/мл, на осі ОХ вказані овочеві наповнювачі, що додавались до поживного середовища: **а** – ефективність додавання овочевих наповнювачів до МРБ, **б** – ефективність додавання овочевих наповнювачів до MRS

Аналізуючи представлені дані, можливо зробити висновок, що вітамінний та мінеральний склад буряку дуже схожий за хімічним складом з морквою, що також може бути причиною схожості результатів. Перевага бурякового пюре над морквяним може бути викликана збільшеним вмістом вітамінів групи В, які є визначальними для добавками для процесу ферментації, що доведено багатьма науковцями [3].

Для морфологічної оцінки, виявлених в модифікованих поживних середовищах клітин МКБ, було застосовувано світлову мікроскопію (Рис.2.).

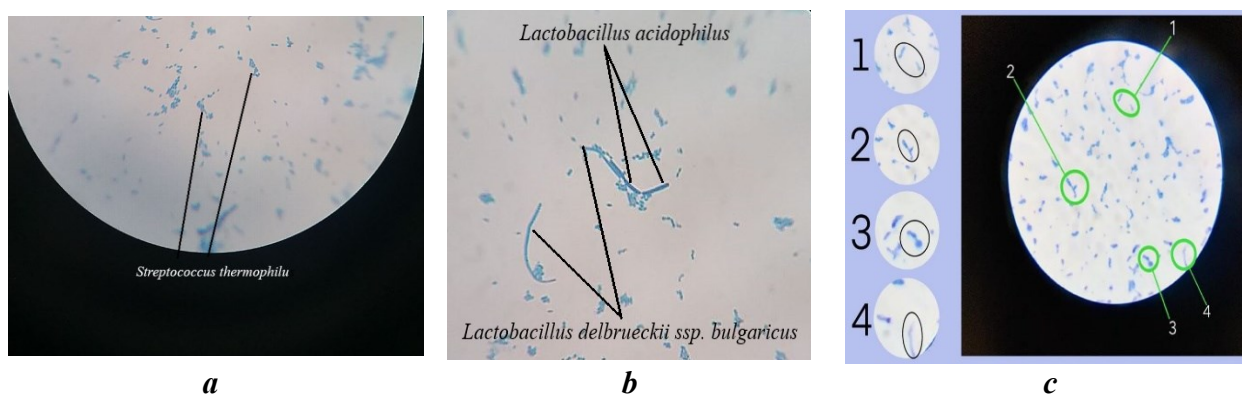


Рис.2. Світлова мікроскопія з імерсією, збільшення $\times 1000$: **а** - кокоподібні бактерії *Streptococcus thermophilus*, **б** – паличкоподібні *Lactobacillus acidophilus* і *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, **с** - 1 – *Lactobacillus acidophilus*; 2– *Bifidobacterium lactis*; 3 – *Streptococcus thermophilus*; 4- *Lactobacillus delbrueckii ssp.*

Під час мікроскопії у всіх зразках чітко фіксуються кокоподібні бактерії (*Streptococcus thermophilus*), короткі палички (*Lactobacillus acidophilus*) та довгі бацили (*Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*), а також біфідобактерії (*Bifidobacterium lactis*), які усі забарвились грампозитивно, що є характерним для МКБ.

Висновки. Модифіковане поживне середовище, засноване на принципах циркуляційної економіки, може стати ключовим інструментом у вирішенні сучасних екологічних проблем та економічних викликів. Додавання овочевих наповнювачів до складу поживних середовищ для культивування МКБ із можливістю подальшої біоконверсії овочевих відходів у дигестат, відображає перехід до більш ефективних, екологічно-дружніх методів у сільському господарстві та промисловості. Це не лише зменшує відходи та забруднення, але й сприяє створенню замкнутого циклу використання природних ресурсів, що сприяє сталому розвитку країни – впровадження безвідходних технологій. Такий підхід допомагає підвищити ефективність культивування пробіотичних культур МКБ шляхом зменшення собівартості біотехнологічного процесу, а й дозволяє зменшити залежність від штучних добрив, сприяє покращенню родючості ґрунту та підвищує продуктивність сільськогосподарських культур без негативного впливу на довкілля [4-6].

Список використаної літератури:

1. Modification of media using food-grade components for the fermentation of *Bifidobacterium* and *Lactobacillus* strains in large-scale bioreactors / С. Boontun та ін. *Preparative biochemistry & biotechnology*. 2021. С. 1–11. URL: <https://doi.org/10.1080/10826068.2020.1861009> (дата звернення: 23.04.2024);
2. Li Y., Cui F. Microbial lactic acid production from renewable resources. *Sustainable biotechnology*. Dordrecht, 2009. С. 211–228. URL: https://doi.org/10.1007/978-90-481-3295-9_11 (дата звернення: 23.04.2024);
3. Effects of vitamins on the lactic acid biosynthesis of *Lactobacillus paracasei* NERCВ 0401 / G.-Q. Xu та ін. *Biochemical engineering journal*. 2008. Т. 38, № 2. С. 189–197. URL: <https://doi.org/10.1016/j.bej.2007.07.003> (дата звернення: 23.04.2024).
4. Olena Kuznietsova, Mykhailo Baranovsky, Iryna Korniyenko, Larysa Yastremska. MANAGEMENT OF PACKAGING WASTE IN THE EU AND UKRAINE IN THE CONTEXT OF CIRCULAR ECONOMY PRINCIPLES. *European Dimensions of Sustainable Development: selected papers of the V International Conference*, Kyiv, June 1-2, 2023. Kyiv: NUFT, 2023. P. 187 – 195.
5. Iryna Korniienko, Olena Kuznietsova, Valeriia Kuskova, Vitalii Gulyaev, Andrii Anatskyi, Yurii Korniienko. BIOTRANSFORMATION OF VEGETABLE WASTE USING MODERN EM-TECHNOLOGIES: EUROPEAN EXPERIENCE AND UKRAINIAN REALITIES. *European Dimensions of Sustainable Development: selected papers of the V International Conference*, Kyiv, June 1-2, 2023. Kyiv: NUFT, 2023. P. 149 – 175.
6. Кермаш В.В., Корнієнко І.М., Кузнєцова О.О., Ястремська Л.С., Барановський М.М., Кузь Т.В. Принципи циркуляційної економіки в біоконверсії овочевих відходів у біодобриво. *Новітні досягнення біотехнології: матер. VII Міжн. наук.-практ. конф., м. Київ, 21-22 вересня 2023 р.* Київ: НАУ, 2023. С. 44 – 45.