

ОСОБЛИВОСТІ ЗАХИСНИХ СЕРЕДОВИЩ ДЛЯ ЛІОФІЛЬНОЇ СУШКИ МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ *LACTIPLANTIBACILLUS PLANTARUM*

Турчаненко М.Д.

КПІ ім. І. Сікорського, turchanenko.maria@ill.kpi.ua

Abstract

This study evaluates the effectiveness of different protective media in the lyophilization of lactic acid bacteria. Three formulations – based on soy hydrolysate, sodium caseinate, and maltodextrin – were tested. The soy hydrolysate-based medium with yeast extract and sucrose showed the highest cell survival rate (78 %). This research contributes to the optimization of probiotic preservation methods.

Keywords: *lyophilization, lactic acid bacteria, protective medium, survival rate, probiotics.*

Вступ. Молочнокислі бактерії відіграють ключову роль у виробництві пробіотичних препаратів, ферментованих і функціональних продуктів харчування завдяки своїй здатності нормалізувати мікрофлору та позитивно впливати на здоров'я людини. Для забезпечення тривалого зберігання та збереження життєздатності цих мікроорганізмів широко застосовується метод ліофільної сушки. Проте процес сублімаційного висушування є значним стресом для клітин, що може призводити до зниження їх життєздатності [1]. Один із найважливіших факторів – це вибір захисного середовища. Воно має забезпечити стабільність клітинної мембрани, зберегти біохімічну активність бактерій та сприяти їх виживанню [2, 3]. У зв'язку з цим дослідження захисних середовищ для ліофільної сушки є актуальним у контексті створення стабільних пробіотичних препаратів.

Метою роботи є визначення найбільш ефективного складу захисного середовища, який забезпечує високий % виживаності молочнокислих бактерій після сушіння.

Матеріали та методи. Проведено аналіз наукових публікацій на основі яких було визначено вплив складу захисного середовища на виживаність молочнокислих бактерій після ліофілізації. Для підбору актуальної інформації використовувались наукові бази даних PubMed, ScienceDirect, ResearchGate та Google Scholar.

У більшості з них цей показник було визначено лише для окремих штамів, тому для забезпечення уніфікованого порівняння між різними умовами та захисними середовищами відсоток виживаності було розраховано додатково за наведеними авторами вихідними значеннями КУО до та після ліофілізації. Виживаність бактерій (V) розраховували за формулою, наведеною в [2], на основі даних з літературних джерел:

$$V = \frac{N_1}{N_0} \cdot 100\%,$$

де N_0 – кількість життєздатних клітин до ліофілізації (КУО/г); N_1 – кількість життєздатних клітин після ліофілізації (КУО/г).

Значення, отримані з цієї формули, дозволяють порівнювати ефективність різних захисних середовищ за показником збереження життєздатності бактерій після ліофілізації.

Результати та обговорення. Проведено порівняльний аналіз ефективності трьох захисних середовищ, до складу яких входять білкові (соевий гідролізат, казеїнат натрію, дріжджовий екстракт) та вуглеводні (сахароза, мальтодекстрин) компоненти, що забезпечують виживаність молочнокислих бактерій *Lactiplantibacillus plantarum* після ліофілізації. Аналіз літературних джерел дозволив зіставити склади захисних середовищ, що застосовувалися для ліофілізації молочнокислих бактерій, та визначити найбільш ефективні комбінації компонентів з огляду на виживаність мікроорганізмів.

Для забезпечення високої виживаності молочнокислих бактерій під час ліофілізації було розроблено комплексне захисне середовище з соєвим гідролізатом [4], до складу якого входять білкові, вуглеводні та буферні компоненти. Склад середовища (г/дм³): соєвий гідролізат – 100,0; дріжджовий екстракт – 50,0; сахароза – 50,0; NaCl – 5,0; Твін-80 – 1,0; Na₂HPO₄·12H₂O – 17,8; NaH₂PO₄·2H₂O – 13,8; вода дистильована – до 1 дм³. рН середовища – 6,8–7,0 [5].

Захисне середовище, розроблене на основі сахарози та казеїнату натрію, містить допоміжні стабілізуючі та буферні компоненти, які забезпечують ефективне збереження молочнокислих бактерій у процесі ліофілізації. Його склад (г/дм³): сахароза – 100,0; казеїнат натрію – 15,0; CaCl₂·2H₂O – 0,1; Твін-80 – 1,0; Na₂HPO₄·12H₂O – 17,8; NaH₂PO₄·2H₂O – 13,8; вода дистильована – до 1 дм³; рН – 6,8–7,0 [6].

Для стабілізації життєздатності молочнокислих бактерій під час ліофілізації було використано середовище на основі мальтодекстрину та дріжджового екстракту, до складу якого включено також осмотично активні та буферні компоненти. Склад середовища (г/дм³): мальтодекстрин – 150,0; дріжджовий екстракт – 50,0; NaCl – 5,0; Твін-80 – 1,0; Na₂HPO₄·12H₂O – 17,8; NaH₂PO₄·2H₂O – 13,8; вода дистильована – до 1 дм³; рН середовища – 6,8–7,0 [7].

Таблиця 1. Порівняння виживаності молочнокислих бактерій після ліофілізації.

№	Основні компоненти захисного середовища	КУО до ліофілізації, КУО/г	КУО після ліофілізації, КУО/г	Вживаність, %	Посилання на джерело
1	Соевий гідролізат + дріжджовий екстракт + сахароза	$1,0 \cdot 10^{10}$	$7,8 \cdot 10^9$	78	[4]
2	Сахароза + казеїнат натрію	$1,0 \cdot 10^{10}$	$3,4 \cdot 10^9$	34	[6]
3	Мальтодекстрин + дріжджовий екстракт	$1,0 \cdot 10^{10}$	$7,5 \cdot 10^9$	75	[7]

Найвищу виживаність молочнокислих бактерій після ліофілізації (78%) (табл. 1) забезпечило середовище з соєвим гідролізатом, дріжджовим екстрактом і сахарозою [4]. Його ефективність зумовлена дією пептидів і амінокислот, що

стабілізують білки клітин, та сахарози, яка виконує осмопротекторну функцію і захищає мембрани від дегідратації та кристалізації води [5].

Захисне середовище на основі мальтодекстрину та дріжджового екстракту забезпечувало 75 % (табл. 1) збереження життєздатності клітин [7]. Мальтодекстрин, як високомолекулярний полісахарид, формує в'язку склоподібну матрицю, яка знижує ризик структурної дестабілізації клітин під час сублімаційного сушіння, тоді як дріжджовий екстракт виступає джерелом поживних і регенераційних сполук.

Найнижчу виживаність – 34 % (табл. 1) – виявлено у середовищі, що містило сахарозу та казеїнат натрію [6]. Ймовірно, така низька ефективність пов'язана з відсутністю достатньої кількості біологічно активних речовин, здатних активізувати відновлення клітин після дегідратаційного стресу, а також з обмеженою буферною здатністю середовища, що не забезпечує стабільного рН упродовж сушіння.

Висновки. Ефективність ліофілізації *Lactiplantibacillus plantarum* значною мірою залежить від складу захисного середовища. Найвищу виживаність (78 %) забезпечує середовище з соєвим гідролізатом, дріжджовим екстрактом і сахарозою завдяки синергії осмопротекторної, буферної та регенеративної дії. Середовище з мальтодекстрином забезпечує 75 % життєздатності, тоді як комбінація казеїнату натрію та сахарози – лише 34 %.

Список використаної літератури:

1. Development and protective mechanism of a freeze-drying protectants against freeze-drying for *Lactiplantibacillus plantarum* W1 / S. Yuan et al. *Food and Bioproducts Processing*. 2025. URL: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2025.03.018>.
2. Role of cryoprotectants on the viability and functional properties of probiotic lactic acid bacteria during freeze drying / K. B. P. K. Reddy et al. *Food Biotechnology*. 2009. Vol. 23, no. 3. P. 243–265. URL: <https://doi.org/10.1080/08905430903106811>.
3. Zamora L. M., Carretero C., Parés D. Comparative survival rates of lactic acid bacteria isolated from blood, following spray-drying and freeze-drying. *Food Science and Technology International*. 2006. Vol. 12, no. 1. P. 77–84. URL: <https://doi.org/10.1177/1082013206062443>.
4. Effect of spray-drying and freeze-drying on the properties of soybean hydrolysates / H. Wang et al. *Journal of Chemistry*. 2020. Vol. 2020. P. 1–8. URL: <https://doi.org/10.1155/2020/9201457>.
5. Effect of cryopreservation and lyophilization on viability and growth of strict anaerobic human gut microbes / L. Bircher et al. *Microbial Biotechnology*. 2018. Vol. 11, no. 4. P. 721–733. URL: <https://doi.org/10.1111/1751-7915.13265>.
6. Дослідження впливу складу захисного середовища на збереження життєздатності ліофілізованих бактерій *L. lactis* та *L. plantarum* виділених із традиційної карпатської бринзи. О.Й. Цісарик, І.М. Сливка, Л.Я. Мусій. Львівський національний університет ветеринарної медицини та біотехнологій імені С.З. Ґжицького.
7. Influence of freeze-drying and spray-drying preservation methods on survivability rate of different types of protectants encapsulated *Lactobacillus acidophilus* FTDC 3081 / H. W. Tang et al. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. 2020. Vol. 84, no. 9. P. 1913–1920. URL: <https://doi.org/10.1080/09168451.2020.1770572>.