

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ СТРЕСОВИХ ФАКТОРІВ НА ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ КЛІТИН МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ

І.М. Корнієнко

Національний авіаційний університет, Київ, Україна
к.т.н., доцент, доцент кафедри біотехнології, irina.kornienko.1979@gmail.com

Вступ. В Україні інтенсивно розвивається біотехнологія пробіотичних препаратів, що використовуються для корекції та профілактики мікроекологічних порушень у шлунково-кишковому тракті людини. Ефективність цих препаратів визначається сукупністю біологічних властивостей штамів, що входять до його складу. Виробничі штами бактерій повинні володіти набором характеристик, що дозволяють їм конкурувати з патогенними та умовно патогенними мікроорганізмами (МО) [1]. Також науковці в сфері дієтології, нутріціології та інтегративної медицини приділяють велике значення питанням стосовно необхідності вживання функціональних продуктів харчування, які містять живі пробіотичні культури на щоденній основі.

У технологіях отримання ферментованих продуктів харчування із підвищеним вмістом молочнокислих бактерій (далі МКБ), під час процесів ферментації МКБ піддаються різним стресовим умовам навколишнього середовища, таким як коливання температури, кислота, рН, високий осмотичний тиск і відсутність доступних поживних речовин. Як і інші бактерії, МКБ розвинули в собі складні системи реакції на стрес, які дозволяють їм пристосовуватися до несприятливих умов, щоб вижити. В останні роки реакції на стрес промислово важливих видів лакто- та біфідобактерій викликають підвищений інтерес [1–3].

Мета роботи – дослідити вплив стресових факторів на титр МКБ (лакто- та біфідобактерій), встановити пограничні межі їх життєздатності в певних стресових умовах. Головними показниками здатності МКБ приживатися в організмі людини є їх стійкість до температури, жовчі, кухонної солі, а також лужної реакції середовища, що є ключовим фактором в подальших дослідженнях з метою створення високоактивних штамів, які володіють підвищеною стійкістю до стресових факторів.

Методика дослідження стандартна. Для проведення експериментів було використано наступні поживні середовища: селективні середовища – Лактобакагар (для виділення лактобактерій) та Біфідоагар (для виділення біфідобактерій), рідке середовище – м'ясо-пептонний бульйон (МПБ) з метою отримання накопичувальної культури (МКБ), а також гідролізоване молоко (по Богданову), яке призначено для додавання до МПБ у співвідношенні (1:2) (із наступною стерилізацією поживного середовища) з метою культивування МКБ. Об'єктом дослідження є вплив високих температур (65°C, 70°C, 80°C), жовчі (концентрацією 20, 30 та 40 %) та кухонної солі NaCl (1–6 %) на активність МКБ. В дослідженнях використано наступні референс-штами: *Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*.

Результати та їх інтерпретація. Аналізуючи результати досліджень встановлено, що лактобактерії є більш стійкими до високих температур ніж біфідобактерії. Про це свідчить показник титру життєздатних клітин. Підвищена терморезистентність пов'язана з біосинтезом білків теплового шоку (Heat Shock Proteins – HSPs) за умов підвищеної температури [4, 5]. Білки теплового шоку діють як молекулярні шаперони у захисті клітин від теплового пошкодження, зв'язуючись із клітинними білками таким чином, щоб зберегти їхню початкову конформацію та зменшити денатурацію.

Встановлено, що МКБ роду *Lactobacillus* проявляють достатню стійкість до високих температур (при 40, 50, 60, 70, 80 і 90°C впродовж 30 хвилин. Експерименти свідчать, що при температурі 40°C всі досліджувані культури повністю зберегли свою життєздатність, при температурі 50°C спостерігалось незначне зменшення кількості живих клітин. А вже при 60°C лише загинули 16 % клітин. Зменшення кількості живих клітин при температурі 70°C у

бактерій роду *Lactobacillus* становило 52 %, при 80°C спостерігалася значна загибель клітин МКБ, яка наближалася до 75 %.

Відомо, що стійкість МКБ до жовчі є актуальним та головним показником життєздатності клітин, які можливо забезпечать їх потрапляння в зону кишківника та реалізацію пробіотичних властивостей. Це пов'язано з тим, що МКБ, перш ніж досягнути товсту кишку, повиненні вижити при проході через шлунок. Неприятлива дія шлункового соку є основним бар'єром, який необхідно подолати МКБ. Адже, жовч виділяється в тонкій кишці, і її присутність створює несприятливі умови. Експериментами підтверджено, що досліджені референс-штами МКБ є толерантними до жовчі. При 20 % жовчі, було виявлено, що їх титри суттєво не відрізнялися, порівняно з контрольними. Критичною є концентрація жовчі 40 %. При 40 % *L. acidophilus* показав виживаність 4,4 %, *L.d.bulgaricus* – 4,3 %, а *Bifidobacterium lactis* – на рівні 6,5%. Згідно отриманих результатів досліджень зафіксовано повне пригнічення росту бактерій у зразках з додаванням NaCl у кількостях 4–6 %. Отже, МКБ не проявляють високу стійкість до осмотичного тиску, адже концентрація солі 4–6 % є інгібуючою, тому негативно вплинула на їх ріст. Враховуючи особливості будови клітин МКБ вченими встановлено, що внаслідок різкого підвищення осмотичного тиску, відбувається переміщення води з клітин назовні. У гіпотонічних розчинах (низький осмотичний тиск) клітина набухає і розривається, у гіпертонічних (високий осмотичний тиск) відбувається дегідратація клітини, результатом чого є зменшення тургору в клітинах, зміна їх обсягу та внутрішньоклітинної концентрації іонів, а також плазмоліз (відділення протопласту від клітинної стінки бактерій) [1–5]. Тому під високою дією осмотичного тиску клітина гине і не здатна до ферментаційних процесів, що особливо важливо в технологіях отримання ферментованого напою «Айран» та хлібопечення, де застосовують хлібну закваску із підвищеним титром МКБ.

Висновки. Штами родів *Lactobacillus* і *Bifidobacterium* широко використовуються в якості пробіотичних мікроорганізмів в лікувальній практиці та харчовій біотехнології. Оптимальна температура є основною характеристикою в процесах ферментації за участю МКБ. Температура контролює ріст бактерій. Температура впливає на час генерації бактерій відповідно до фази росту, оскільки кожен вид має унікальний оптимальний ріст. Осмотичний тиск має життєво важливе значення в біотехнології, оскільки клітинна мембрана селективна проти багатьох розчинених речовин, присутніх у живих організмах. Гіпертонічні розчини використовуються для антимікробного контролю, з іншого боку, сіль і цукор використовуються для створення гіпертонічного середовища для МО і зазвичай використовуються як харчові консерванти. Більшість бактерій потребують ізотонічного або гіпотонічного середовища для оптимального росту. Також у фізіології пробіотичних бактерій відіграє важливу роль жовч, оскільки їх сприятливий ефект повинен виникати у присутності цієї біологічної рідини. Щоб досягти товстої кишки в життєздатному стані, вони повинні справлятися зі специфічними стресовими факторами з боку шлунково-кишкового тракту, серед яких є соляна кислота та присутність жовчі в верхніх відділах тонкої кишки є одним з основних, тому встановлена толерантність у досліджених референс-штамах до стресових факторів, дозволяє їх широко використовувати в харчовій та фармацевтичній біотехнологіях.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Van de Guchte M., Serror P., Chervaux C., Smokvina T., Ehrlich S.D., Maguin E. // *Antonie Van Leeuwenhoek*. 2002. 82(1-4): 187-216. PMID: 12369188.
2. Papadimitriou K., Alegria A., Bron P.A., de Angelis M., Gobbetti M., Kleerebezem M., Lemos J.A., Linares D.M., Ross P., Stanton C., Turrone F., van Sinderen D., Varmanen P., Ventura M., Zúñiga M., Tsakalidou E., Kok J. // *Microbiol Mol Biol Rev*. 2016. 80(3): 837-90.
3. Ferreira A.B., De Oliveira M.N.V., Freitas F.S., Alfenas-Zerbini P., Da Silva D.F., De Queiroz M.V., Borges A.C., De Moraes C.A. // *Benef Microbes*. 2013. 4(4): 367-374.
4. Wang Y.C., Yu R.C., Chou C.C. // *Int J Food Microbiol*. 2004. 93(2): 209-217.

5. Safitri R., Khotimah K., Balia R., Saputra M.I., Miranti M., Utama G.L. // *Advance Journal of Food Science and Technology*. 2016. 1: 60-63.

АНАЛІТИЧНІ МЕТОДИ ВИЗНАЧЕННЯ ІОНІВ Ca^{2+} ТА Mg^{2+} В БІОФАРМАЦЕВТИЧНИХ ПРЕПАРАТАХ

К.С. Малишко¹, І.А. Бєлих²

Національний технічний університет «Харківський політехнічний інститут», Харків, Україна

¹ здобувач вищої освіти кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії,

Kateryna.Malyshko@iht.khpi.edu.ua

² доцент кафедри біотехнології, біофізики та аналітичної хімії, Iryna.Bielykh@khpi.edu.ua

Аналіз вмісту іонів кальцію (Ca^{2+}) та магнію (Mg^{2+}) у біофармацевтичних препаратах є важливим аспектом якості та ефективності цих засобів, оскільки вони впливають на їхню біодоступність та фармакологічні властивості.

У роботі з біофармацевтичними препаратами, зокрема витримками та таблетками, важливо визначати концентрацію кальцію та магнію, оскільки ці іони можуть взаємодіяти з активними речовинами та впливати на їхню розчинність та стабільність. Кальцій і магній також відіграють важливу роль у фізіології організму, тому їхня наявність і кількість у біологічно активних добавках та лікарських засобах потребує уваги.

Дослідження вмісту Ca та Mg у біофармацевтичних препаратах може допомогти встановити оптимальні умови для максимальної ефективності цих засобів при їх використанні в клінічній практиці. Правильне визначення цих показників також може сприяти вирішенню проблем зі стабільністю та біодоступністю препаратів, що є критичними для їхнього клінічного застосування.

Детальне вивчення вмісту іонів Ca^{2+} та Mg^{2+} у біофармацевтичних препаратах є важливим кроком у забезпеченні якості та ефективності лікарських засобів, які використовуються для лікування різних захворювань та станів людини [1].

Основна мета даної роботи дослідити та порівняти ефективність методів визначення іонів Ca^{2+} та Mg^{2+} у біофармацевтичних препаратах.

Для досягнення мети було проведено аналітичний огляд джерел інформації та надано характеристику кожному методу, розглянуто їх переваги та недоліки.

Найчастіше для визначення вмісту іонів кальцію (Ca^{2+}) та магнію (Mg^{2+}) у біофармацевтичних препаратах застосовують різні аналітичні методи, зокрема:

Атомно-абсорбційна спектроскопія (AAS): цей метод дозволяє точно визначити концентрацію окремих металів у зразках. Він базується на поглинанні світла атомами металів у газовій фазі після їх випарювання з розчину.

Індуктивно зв'язана плазма-мас-спектрометрія (ICP-MS): цей метод є надзвичайно чутливим і дозволяє визначити концентрацію різних елементів у зразках, використовуючи індуктивно зв'язану плазму для розплавлення та іонізації зразка.

Іонна хроматографія (IC): IC використовується для аналізу іонних сполук у розчинах. Цей метод може використовуватися для визначення концентрації катіонів, таких як Ca^{2+} та Mg^{2+} , у біофармацевтичних зразках.

Комплексонометричні методи: ці методи використовуються для визначення концентрації іонів, які формують комплекси з хелатуючими реагентами. Вони можуть бути застосовані для визначення концентрації Ca та Mg у препаратах.

Вибір конкретного методу залежить від характеристик зразка, потреби у чутливості, точності та інших факторів, які можуть впливати на результати аналізу біофармацевтичних препаратів [2].

Недостатній вміст кальцію іонів (Ca^{2+}) та магнію (Mg^{2+}) у біофармацевтичних препаратах може мати серйозні наслідки для здоров'я пацієнтів. Кальцій та магній є