

Корисна модель відноситься до біотехнології та може бути використана у харчовій промисловості для виробництва функціональних продуктів з синбіотичними властивостями.

Відомий спосіб отримання біологічно активної добавки (БАД) за яким консорціум бактерій-пробіотиків з поживним та захисним середовищами змішується з пористим сорбентом та витримується при перемішуванні протягом не менше однієї години при температурі не вище 4°C до повної іммобілізації бактеріальних клітин на сорбент, після чого препарат відмивається та висушується [Заявка №2006100740 РФ МПК А 61К 35/00. Надр. 2007.07.20].

Загальними ознаками цього способу зі способом, що заявляється, є включення до складу біологічно активних добавок консорціумів бактерій-пробіотиків з родів *Bifidobacterium* та *Lactobacillus* і використання пористого сорбенту для іммобілізації бактерій. Однак тривалість та температурні умови, при яких відбувається іммобілізація бактерій, виключають можливість їх розмноження, що знижує ефективність іммобілізації, крім того біологічно активна добавка за даним способом не містить компонент пребіотичного характеру, отже не є синбіотичним, тобто таким, що володіє як пробіотичними так і пребіотичними властивостями.

Найбільш близьким до способу, що заявляється, є спосіб отримання біологічно активних добавок, який передбачає культивування мікроорганізмів з одночасною їхньою іммобілізацією на пористому сорбенті, в якості якого використовують суміш нативних та екструдованих висівок зернових культур [Патент 2233320 РФ МПК С 12 N 1/16, С 12 N 11/02, А 61 К 35/72, А 23 L 1/05. Надр. 2004.07.27]. Цей спосіб обрано в якості прототипу способу, що заявляється.

- змішування поживного середовища з пористим сорбентом;
- внесення до поживного середовища бактерій-пробіотиків;
- культивування бактерій-пробіотиків з одночасною іммобілізацією на сорбенті;
- ліофільне висушування препарату.

Але за цим способом на сорбенті іммобілізують дріжджі родини *Saccharomyces cerevisiae*, які не є пробіотиками і використовуються як джерело біологічно активних речовин, що проявляють пребіотичні властивості. Тому біологічно активні добавки за способом-прототипом мають тільки пребіотичні властивості.

В основу корисної моделі, що заявляється, поставлена задача, розробити спосіб одержання біологічно активної добавки, в якому шляхом послідовного внесення бактерій-пробіотиків до поживного середовища та їх культивування з одночасною іммобілізацією на пористому сорбенті з пребіотичними властивостями забезпечується отримання синбіотичної біологічно активної добавки з підвищеною колонізаційною активністю.

Поставлена задача вирішена в способі, що включає змішування поживного середовища з пористим сорбентом, послідовне внесення до поживного середовища бактерій-пробіотиків, їх культивування з одночасною іммобілізацією на сорбенті та ліофільне висушування препарату тим, що у поживне середовище додають модифікований буряковий жом, подрібнений до розміру часток 0,1...0,25мм у співвідношенні жом : поживне середовище 1:10, потім до поживного середовища послідовно вносять спочатку консорціум бактерій *Bifidobacterium adolescentis* і *Bifidobacterium bifidum* з титром не менше 10⁵ КУО/г при співвідношенні до об'єму поживного середовища 1:20, та культивують 18-24 години при температурі 37±1°C, потім додають культуру бактерій *Lactobacillus acidophilus* з титром не менше 10⁶ КУО/г при співвідношенні до об'єму поживного середовища 1:20, бактерії культивують ще 18-24 години при температурі 37±1°C та постійному перемішуванні, отриманий препарат ліофільно висушують, а в якості поживного середовища використовують стерилізоване нежирне молоко.

Причинно-наслідковий зв'язок між суттєвими ознаками способу, що заявляється, та результатом, який досягається, полягає в наступному.

Бактерії *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium bifidum* та *Lactobacillus acidophilus* є найбільш поширеними і корисними еубіотичними бактеріями людини. Низькі значення рН (1,2..1,8) для цих бактерій є шкідливими. Тому при пероральному прийомі препаратів цих бактерій виникає необхідність їх захисту від кислого середовища шлунка. Іммобілізація цих бактерій, особливо на носіях з пористою структурою, підвищує їхню ацидореzистентність.

Бактерії-пробіотики чутливі до наявності у поживному середовищі різноманітних пребіотичних речовин. Нами було показано раніше [Патент на винахід №26871 С1 Україна МПК А 23 L 1/105, А 61 К 35/74. Надр. 29.12.1999] що при сумісному вирощуванні біфідобактерій та лактобацил *in vitro*, спочатку треба проводити культивування біфідобактерій, що збагачують поживне середовище біологічно-активними речовинами, необхідними для життєдіяльності лактобактерій, які вносять пізніше. Отже послідовність внесення бактерій-пробіотиків, що використовуються за способом, який заявляється, забезпечує їх синбіотичну взаємодію і підвищення кількості бактерій у біологічно активній добавці.

Модифікований буряковий жом, який використовується за способом, що заявляється, виконує подвійну функцію - він є джерелом пребіотичних речовин та носієм-адсорбентом для іммобілізованих бактерій. Нами було показано [Патент на корисну модель №26442 Україна МПК А 23 L 1/0524, А 23 L 1/0534. Надр. 25.09.2007], що модифікований буряковий жом містить значну кількість таких пребіотиків як харчові волокна: 46% геміцелози, 21% целюлози та 21% пектину. При модифікації жому шляхом лужно-термічного гідролізу відбувається часткова делігніфікація клітинних стінок з утворенням мікроскопічних пор, що підвищує адсорбційну здатність жому.

При дослідженні процесу іммобілізації бактерій-пробіотиків на модифікованому буряковому жомі було встановлено, що бактерії розміщуються не тільки на поверхні жому, але й у порах. Причому здатність бактерій до адсорбції залежить від ступеню подрібнення модифікованого бурякового жому. Найбільша кількість бактерій адсорбується якщо розмір часток жому дорівнює 0,1...0,25мм (табл. 1).

Це можна пояснити тим, у частках жому, що мають розмір більше 0,25мм зменшується загальна площа поверхні, а пори, які розміщені усередині часток жому, стають недоступними для бактерій. При подрібненні жому до часток, розмір яких менше 0,1мм, загальна площа поверхні жому збільшується, але зменшується кількість пор внаслідок порушення структури частини пор.

На здатність бактерій-пробіотиків адсорбуватись також впливає співвідношення сорбент : поживне середовище. Експериментальне дослідження показало, що оптимальним співвідношенням кількості модифікованого бурякового жому з розміром часток 0,1...0,25 і поживного середовища є 1:10 (табл. 2).

Це можна пояснити тим, що при співвідношенні сорбент : поживне середовище 1:10 молоко просочує всі пори сорбенту, надаючи бактеріям можливість прикріплюватись та розмножуватись на поверхні пор, в той же час при такій кількості молока утворюється густа суспензія часток жому, що забезпечує достатній контакт бактерій з адсорбентом. Якщо кількість поживного середовища зменшується, молоко недостатньо просочує пори сорбенту, що зменшує кількість бактерій адсорбованих у порах.

При збільшенні кількості поживного середовища густота суспензії часток жому у молоці зменшується і частина бактерій не адсорбується внаслідок недостатнього контакту бактерій з адсорбентом. У поживному середовищі бактерії мають умови для розмноження гірші, ніж на поверхні адсорбенту, оскільки для них є недоступними пребіотичні речовини бурякового жому - нерозчинні харчові волокна.

Одночасне культивування та іммобілізація бактерій-пробіотиків сприяє підвищенню кількості бактерій у біологічно активній добавці, як за рахунок збільшення часу іммобілізації, так і внаслідок більш інтенсивного росту бактерій обумовленого використанням бактеріями пребіотичних компонентів адсорбенту.

Таким чином, за способом, що заявляється, отримується синбіотична біологічно активна добавка, яка містить необхідну для пробіотичних добавок кількість бактерій - не менше 10^8 КУО/г біфідобактерій та не менше 10^8 КУО/г лактобацил, а також пребіотичний компонент - харчові волокна, які складають 70...80% від сухих речовин біологічно активної добавки. Внаслідок того, що бактерії-пробіотики розміщуються не тільки на поверхні адсорбенту, а й у його порах, збільшується захищеність бактерій від несприятливих факторів, отже підвищується їхня колонізаційна здатність.

Оптимальність обраних технологічних параметрів підтверджують приклади виконання способу, що заявляється.

Спосіб здійснюється наступним чином.

До поживного середовища додають модифікований буряковий жом, подрібнений до розміру часток 0,1...0,25мм та ліофілізовану культуру консорціуму бактерій *Bifidobacterium adolescentis* і *Bifidobacterium bifidum* з титром не менше 10^5 КУО/г, культивують бактерії при постійному перемішуванні та температурі $37 \pm 1^\circ\text{C}$ протягом 18-24 годин, потім додають ліофілізовану культуру бактерій *Lactobacillus acidophilus* з титром не менше 10^6 КУО/г, продовжують культивування за тих же умов ще протягом 18-24 годин, по завершенню культивування препарат ліофільно висушують.

Приклад 1. До 200г стерилізованого знежиреного молока додають 20г модифікованого бурякового жому, подрібненого до розміру часток 0,1...0,25мм та 10г ліофілізованої культури консорціуму бактерій *Bifidobacterium adolescentis* і *Bifidobacterium bifidum* з титром не менше 10^5 КУО/г, культивують бактерії при постійному перемішуванні та температурі $37 \pm 1^\circ\text{C}$ протягом 18-24 годин, потім додають 10г ліофілізованої культури бактерій *Lactobacillus acidophilus* з титром не менше 10^6 КУО/г та продовжують культивування за тих же умов ще протягом 18-24 годин, по завершенню культивування препарат ліофільно висушують.

Отримана біологічно активна добавка містить 10^8 біфідобактерій та 10^8 лактобацил.

Приклад 2 здійснюють аналогічно прикладу 1 при цьому використовують буряковий жом, подрібнений до розміру часток менше 0,1мм, співвідношення сорбент : поживне середовище складає 1:7. Отримана біологічно активна добавка містить 10^7 біфідобактерій та 10^6 лактобацил.

Приклад 3 здійснюють аналогічно прикладу 1 при цьому використовують буряковий жом, подрібнений до розміру часток менше 0,25...0,5мм, співвідношення сорбент : поживне середовище складає 1:20. Отримана біологічно активна добавка містить 10^7 біфідобактерій та 10^6 лактобацил.

Біологічно активна добавка, яка отримується, за способом, що заявляється, може використовуватись як біологічно активна добавка для профілактики і лікування дисбактеріозів, та як добавка до харчових продуктів, для надання їм функціональних властивостей.

Таблиця 1

Залежність кількості адсорбованих бактерій від ступеню подрібнення адсорбенту

Кількість адсорбованих бактерій, КУО/г	Розмір часток модифікованого бурякового жому, мм		
	менше 0,1	0,1...0,25	0,25...0,5
Біфідобактерії	10^7	10^8	10^7
Лактобацили	10^6	10^8	10^6

Таблиця 2

Залежність кількості адсорбованих бактерій від співвідношення сорбент: поживне середовище

Кількість адсорбованих бактерій, КУО/г	Співвідношення сорбент : поживне середовище		
	1:7	1:10	1:20
Біфідобактерії	10^7	10^8	10^7
Лактобацили	10^6	10^8	10^6