



УКРАЇНА

(19) UA (11) 61414 (13) U
(51) МПК
C12N 7/01 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ВИГОТОВЛЕННЯ ПРОБІОТИКА ДЛЯ ТВАРИН ТА ПТИЦІ

1

2

(21) u201012985

(22) 01.11.2010

(24) 25.07.2011

(46) 25.07.2011, Бюл.№ 14, 2011 р.

(72) СТЕГНІЙ БОРИС ТИМОФІЙОВИЧ, ГУЖВИН-СЬКА СВІТЛАНА ОЛЕКСАНДРІВНА, ГАДЗЕВИЧ ДМИТРО ВІКТОРОВИЧ

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ НАУКОВИЙ ЦЕНТР "ІНСТИ-

ТУТ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ І КЛІНІЧНОЇ ВЕТЕ-РИНАРНОЇ МЕДИЦИНИ"

(57) Спосіб виготовлення пробіотику для тварин та птиці, що включає вирощування культур мікроорганізмів, змішування, сушіння, який **відрізняється** тим, що сушіння проводять за допомогою ліофілізації та додатково використовують захисне стабілізуюче середовище для молочнокислих бактерій.

Корисна модель відноситься до біотехнології та ветеринарної мікробіології і може використовуватися для профілактики та лікування шлунково-кишкових хвороб тварин та птахів.

Існує спосіб лікування шлунково-кишкових захворювань птахів за допомогою антибіотиків: еритроміцин, тетрациклін, стрептоміцин та інші (Машковский М.Д. Лекарственные средства, 1972. Т.2.).

Недоліком антибіотиків є: зниження імунітету тварини при тривалому їх застосуванні.

Найбільш близьким аналогом до заявленого рішення є спосіб одержання сухих бактеріальних препаратів, який включає вирощування культури мікроорганізмів у вигляді суспензії, змішування її з сорбентом та сушіння (Патент України №14836, МПК C12N1/04).

Недоліком цього способу є невеликий термін збереженості мікроорганізмів у препараті та проведення сушіння на відкритому повітрі.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити спосіб виготовлення пробіотику для тварин та птахів, що включає вирощування культур мікроорганізмів, змішування, сушіння шляхом проведення ліофільної сушіння та використання захисного стабілізуючого середовища для молочнокислих бактерій, щоб забезпечити ефективність способу.

Порівняльний аналіз з найближчим аналогом дозволяє зробити висновок, що стабілізуюче середовище для молочнокислих бактерій, яке використовується у цьому способі, після ліофільної сушіння зберігає підвищену кількість активних клітин мікроорганізмів. Метод ліофілізації дозволяє отримувати сухі тканини, препарати, продукти і тому подібне без втрати їх структурної цілісності і

біологічної активності. При ліофілізації більшість білків не піддаються денатурації і можуть тривало зберігатися при помірному охолодженні (близько 0°C). Ліофілізовані тканини і препарати при зволоженні відновлюють свої первинні властивості.

Спосіб виконується таким чином.

Для виготовлення пробіотику вирощують бактеріальну масу мікроорганізмів *Lactobacillus plantarum* № 7, *Bifidobacterium adolescentis* № 17 до якого додають оптимальне захисне стабілізуюче середовище для молочнокислих бактерій. Проводять ліофілізацію штамів *Lactobacillus plantarum* № 7, *Bifidobacterium adolescentis* № 17, після чого проводять контроль фізіолого-біохімічних властивостей виробничих штамів.

Приклад 1

На поживному середовищі (знежирене молоко) було накопичено бактеріальну масу виробничих штамів *Lactobacillus plantarum* № 7 у кількості 8 літрів та *Bifidobacterium adolescentis* № 17 у кількості 7 літрів.

Було встановлено, що оптимальне ліофільне висушування реєстрували у 3 технологічному режимі за початкової температури в десубліматорі мінус 72°C, кінцевій - плюс 26°C впродовж 26 годин. Кількість бактерій *Lactobacillus plantarum* № 7 до ліофілізації була $(7,7 \pm 0,21) \times 10^6$ мікр. кл/см³; після ліофілізації - $(7,1 \pm 0,33) \times 10^6$ мікр. кл/см³, (збереженість 92%). Кількість бактерій *Bifidobacterium adolescentis* № 17 до ліофілізації була $7,1 \pm 0,33 \times 10^6$ мікр. кл/см³; після ліофілізації - $6,4 \pm 0,23 \times 10^6$ мікр. кл/см³ (збереженість 90%) (Табл 1).

Приклад №2

Дослідження були спрямовані на виготовлення

(19) UA (11) 61414 (13) U

різних варіантів захисних середовищ для тривалого зберігання виробничих культур бактерій. В таблиці 2 наведені дані щодо впливу захисних середовищ на резерв життєздатності молочнокислих бактерій після ліофільного висушування.

Встановлено, що одразу після ліофілізації кількість життєздатних клітин *Lactobacillus plantarum* № 7 змінилась, а саме частка бактерій, що вижила, становила від 80 до 96%, а для *Bifidobacterium adolescentis* № 17 - від 81 до 97%. Максимальну кількість життєздатних клітин після ліофілізації реєстрували для штаму *Lactobacillus plantarum* № 7 (96%) та для штаму *Bifidobacterium adolescentis* № 17 (97%) із застосуванням захисного середовища з додаванням 10% сахарози, 1% желатози та 3% аеросилу. У порівнянні з контролем (середовищі без захисних компонентів) збереженість клітин була низькою - 41 та 54%.

Приклад № 3

Визначали швидкість згортання молока виробничими штамами, що є важливим показником для молочнокислих бактерій. Результати роботи наведе-

ні в таблиці 3.

Експериментально встановлено, що після ліофілізації бактерій з захисними середовищами швидкість згортання молока для штаму *L. plantarum* № 7 становила (12-24) години, а для штаму *B. adolescentis* № 17 - (24-48) годин. Тоді як у контрольному досліді (середовище без захисних компонентів) культура *Lactobacillus plantarum* № 7 мала швидкість згортання молока до ліофілізації протягом 12 годин, а після ліофілізації - 36 годин; відповідно, штам *Bifidobacterium adolescentis* № 17 - до ліофілізації 24 години, після ліофілізації 56 годин. Встановлено, що культури молочнокислих бактерій мають високу швидкість згортання молока після удосконалення технології ліофілізації, що є важливим показником для виробничих штамів.

Таким чином, запропонований спосіб є простим та ефективним для виробництва бактеріальних препаратів та має високий рівень безпеки для мікроорганізмів.

Спосіб виготовлення пробіотика для тварин та птахів.

Таблиця 1

Дослідне захисне середовище	Кількість бактерій ($\times 10^6$ мікр. кл./см ³)			
	<i>Lactobacillus plantarum</i> № 7		<i>Bifidobacterium adolescentis</i> № 17	
	До ліофілізації	Після ліофілізації	До ліофілізації	Після ліофілізації
варіант 1	7,7 \pm 0,21	3,6 \pm 0,19	7,1 \pm 0,33	1,5 \pm 0,22
варіант 2	7,7 \pm 0,21	2,1 \pm 0,23	7,1 \pm 0,33	2,7 \pm 0,27
варіант 3	1,1 \pm 0,21	7,1 \pm 0,33	7,1 \pm 0,33	6,4 \pm 0,23

Таблиця 2

Ч.ч.	Склад захисного середовища	Кількість бактерій ($\times 10^6$ мікр. кл./см ³)			
		<i>Lactobacillus plantarum</i> № 7		<i>Bifidobacterium adolescentis</i> № 17	
		до ліофілізації	після ліофілізації	до ліофілізації	після ліофілізації
1	Сахароза 10%	7,7 \pm 0,21	6,2 \pm 0,13	8,3 \pm 0,17	7,2 \pm 0,12
2	Сахароза 10% + желатоза 5%	7,7 \pm 0,21	6,3 \pm 0,14	8,3 \pm 0,17	7,7 \pm 0,15
3	Глюкоза 5%	7,7 \pm 0,21	6,8 \pm 0,17	8,3 \pm 0,17	7,9 \pm 0,08
4	Глюкоза 5% + желатоза 5%	7,7 \pm 0,21	6,9 \pm 0,19	8,3 \pm 0,17	7,8 \pm 0,12
5	Аеросил 3%	7,7 \pm 0,21	6,8 \pm 0,08	8,3 \pm 0,21	7,4 \pm 0,11
6	Сахароза 10% + аеросил 3%	7,7 \pm 0,21	7,1 \pm 0,33	8,3 \pm 0,17	7,9 \pm 0,13
7	Сахароза 10% + желатоза 5% + аеросил 3%	7,7 \pm 0,21	7,4 \pm 0,20	8,3 \pm 0,17	8,1 \pm 0,15
8	Оцтовокислий натрій 5%	7,7 \pm 0,21	6,2 \pm 0,15	8,3 \pm 0,17	6,3 \pm 0,31
9	Контроль (середовище без захисних компонентів)	7,7 \pm 0,21	3,2 \pm 0,09	8,3 \pm 0,17	4,5 \pm 0,21

Таблиця 3

Спосіб виготовлення пробіотики для тварин та птахів

Ч.ч.	Склад захисного середовища	Швидкість згортання молока, год.			
		Lactobacillus plantarum № 7		Bifidobacterium adolescentis №17	
		до ліофілізації	після ліофілізації	до ліофілізації	після ліофілізації
1	Сахароза 10%	24	24	24	24
2	Сахароза 10% + желатоза 5%	24	24	24	36
3	Глюкоза 5%	12	12	24	24
4	Глюкоза 5% + желатоза 5%	24	24	48	48
5	Аеросил 3%	12	12	24	24
6	Сахароза 10% + аеросил 3%	12	12	24	24
7	Сахароза 10% + желатоза 5% + аеросил 3%	12	12	24	24
8	Оцтовокислий натрий 5%	12	12	24	48
9	Контроль (без захисних компонентів)	12	36	24	56