

О. С. ХИЖНЯК, аспірант НТУ «ХП»;

Ю. М. КРАСНОПОЛЬСЬКИЙ, д-р фарм. наук, проф. НТУ «ХП»

БІОТЕХНОЛОГІЧНІ АСПЕКТИ ОТРИМАННЯ КОМПЛЕКСНОГО ПРЕПАРАТУ, ЯКИЙ МІСТИТЬ РІЗНІ ШТАМИ ПРОБІОТИЧНИХ КУЛЬТУР

Вивчено оптимальні умови сумісного культивування пробіотичних культур: співвідношення штамів, азотний склад поживного середовища, рівень рН, час культивування та кількість генерацій. Доведена необхідність створення полікомпонентних препаратів на основі двох симбіотичних штамів. Розглянуто аспекти створення ефективного поживного середовища. Встановлено оптимальний склад поживного середовища та можливість культивування на ньому пробіотичних штамів біфідобактерій та лактобацил. Визначено оптимальне співвідношення штамів при сумісному культивуванні.

Ключові слова: біфідобактерії, лактобацили, кислотоутворення, сумісне культивування штамів, поживне середовище.

Вступ. Проблема дисбактеріозів особливо гостро постала у світі в цілому та в Україні зокрема в останні роки. Це пов'язано з неконтрольним застосуванням антибіотиків, погіршенням екологічного становища, високим темпом життя, нерациональним харчуванням [1].

Для профілактики та лікування дисбактеріозів найчастіше використовують пробіотики – біопрепарати із нормальної мікрофлори кишечника людини. Основними пробіотиками вважаються біфідобактерії та лактобацили. Найбільш важливими є біфідобактерії, оскільки саме вони з'являються у людини на другий – п'ятий день її існування і є найбільш постійною домінуючою групою бактерій протягом усього життя, адже біфідобактерії складають приблизно 80% від усієї маси нормальної мікрофлори людини; на другому місці у кількісному складі мікрофлори знаходяться лактобацили – 10% від загальної біомаси [2,16].

Аналіз останніх досліджень та літератури. Зараз на ринку присутня велика кількість препаратів пробіотиків переважно на основі монокультур мікроорганізмів (біфідобактерій, лактобацил, колібактерій, аерококів та ін.). Широку популярність отримав рекомбінантний пробіотик «Субалін» на основі штаму *Bacillus subtilis* 2335/105, який містить рекомбінантну плазмиду із геном інтерферону α -2 людини. «Субалін» має високу антибактеріальну і противірусну активність, що дозволяє лікувати змішані інфекції [9,10,25]. Такий склад препаратів не є досить ефективним і не дозволяє повністю позбутися причини захворювання через обмежений спектр антагоністичної активності штамів, які входять до складу препарату [2,3]. Тому важливим завданням сучасної біотехнології є створення полікомпонентних препаратів на основі місцевих біоваріантів різних таксономічних груп [17,20]. Це дозволить значно підвищити активність препаратів за рахунок збільшення спектру патогенних і умовно-патогенних мікроорганізмів, які є не стійкими до антагоністичної дії використаних штамів, та за рахунок об'єднання функцій, які виконують бактерії (біфідобактерії, лактобацили та інші пробіотичні штами) [18,20].

Так, біфідобактерії та лактобацили здатні регулювати морфологічний стан слизової оболонки каналу травлення і його моторно-евакуаторну функцію, перешкоджати проникненню мікробів у верхні відділи та інші внутрішні органи (за рахунок колонізаційної резистентності) [11,12]. Молочна, оцтова та пропіонова

© О. С. ХИЖНЯК, Ю. М. КРАСНОПОЛЬСЬКИЙ, 2013

кислоти, які продукуються зазначеними бактеріями, створюють у кишечнику кислу реакцію, яка попереджає розмноженню патогенної, гнилісної та газоутворюючої мікрофлори [4]. Також, зазначені бактерії здатні виділяти бактеріоцини («Біфідин» та «Біфілонг»), які проявляють антимікробну активність по відношенню до багатьох видів ентеробактерій, вібріонів, стрептококів та стафілококів [5], вони приймають участь у гідролізі вуглеводів, продукують ферменти (лізоцим, лактаза), термостабільні антибіотики (лактоцидин, ацидофілін, лактолін, ацидолін), перекиси, вітаміни (групи В, С, Е, РР, Н) [4]. Пробиотичні бактерії пригнічують розвиток синьогнійної палички, стафілококів, ешерихій, протею, деяких видів шигел, сераций, сальмонел, стрептококів; приймають участь у метаболізмі холестерину, що попереджує розвиток гіперхолестеринемії і, як наслідку, ішемічної хвороби серця, атеросклерозу, гепіртонії та ін. [6, 31]. Слід зазначити, що важливу роль у життєдіяльності пробіотиків відіграють пребіотики (лактоулоза, інулін, рафіноза, пектин, декстрин, ксилоза) [33,34].

Постановка проблеми. Для одержання високоефективного препарату необхідно вирішити ряд важливих завдань:

- створення оптимального поживного середовища, яке б задовольняло вимогам симбіотичних штамів. Біфідобактерії та лактобацили потребують різних мікроелементів для нормального росту, різний склад азотних сполук, рівень рН та ін.;
- підбір оптимального співвідношення симбіотичних штамів у препараті;
- підбір ефективного пребіотичного компоненту, який буде стабілізувати культуру і не буде пригнічувати ріст мікроорганізмів [19];
- визначення терміну збереження препарату і контроль його стабільності та ефективності протягом встановленого терміну збереження;
- забезпечення нового препарату медичним обґрунтуванням доцільності та ефективності у ряді захворювань шлунково-кишкового тракту (ШКТ).

Поставлені задачі і є предметом наших досліджень, а саме:

- встановлення оптимального співвідношення казеїнового гідролізату та дріжджового автолізату у казеїново-дріжджовому поживному середовищі, у якості основних поживних компонентів, для культивування біфідобактерій;
- вивчення можливості культивування лактобацил на розробленому поживному середовищі;
- вивчення режиму сумісного культивування біфідобактерій та лактобацил на розробленому поживному середовищі та біологічної ефективності препарату.

Матеріали та методи. У роботі були використані штами *Lactobacillus plantarum* 8R-A3 та *Bifidumbacterium bifidum* ЛВА-3, що складають основу препаратів лактобактерин та біфідумбактерин відповідно.

Культура біфідобактерій була отримана на поживному середовищі Блаурокка (рН 6.5 ± 1) шляхом двократного пересіву та культивуванні при температурі $(38 \pm 1)^\circ\text{C}$, протягом 96 годин [8].

Культура лактобацил отримана на поживних середовищах: МРС-1 (6.7 ± 1), культивування протягом 24 годин; МРС-2 (7.3 ± 1), культивування протягом 24 годин; МРС-4 (7.9 ± 1), культивування протягом 4 діб при постійній температурі $(38 \pm 1)^\circ\text{C}$, шляхом п'яти- та шестикратного пересіву, при умовах, відповідних стандартним методикам [8].

Для виготовлення поживного середовища нами попередньо був одержаний триптичний гідролізат казеїну та дріжджовий автолізат [7,8]. Приготовлений об'єм кожного варіанту середовища становив 0.42 л. Режим стерилізації становив 0.6 атм $(112\pm 1)^{\circ}\text{C}$, протягом 30 хв.

Показником для порівняння варіантів поживних середовищ є вміст амінокислот, який стандартизують по значенні амінного азоту. Визначення амінного азоту проводили відповідно стандартним методикам [32].

Для перевірки продуктивності встановлених варіантів поживного середовища проводили посів біфідобактерій, отриманих на середовищі Блаурокка, у кількості 1 мл (який містив 10^8 КУО) на 10 мл поживного середовища, та визначали активність кислотоутворення на другу та третю добу культивування. рН середовища при культивуванні доводили до необхідної величини (6.5 ± 1) за допомогою свіжоприготовленого 10% розчину аміаку. Для встановлення максимально продуктивного варіанту середовища визначали кількість живих бактерій у деяких варіантах.

Для перевірки можливості культивування лактобацил на розробленому поживному середовищі проводили посів лактобацил у кількості 2.5 мл (1 мл містить 10^7 КУО) на 50 мл обраного варіанту поживного середовища та визначали активність кислотоутворення, кількість живих бактерій та проводили мікроскопію [8].

Для вивчення можливості сумісного культивування біфідобактерій та лактобацил на розробленому поживному середовищі, інокулювали 50 мл поживного середовища культурами біфідобактерій та лактобацил у різних співвідношеннях. При сумісному посіві біфідобактерій та лактобацил на поживне середовище, культивування проводили протягом 48 годин при температурі $(38\pm 1)^{\circ}\text{C}$.

Про можливість сумісного культивування зазначених культур на поживному середовищі та інтенсивність накопичення біомаси свідчили загальна кількість аміаку [8], додана до зразків під час культивування, активність кислотоутворення [8] та кількість живих бактерій [8] у зразках. Мікроскопія зразків вказує на збереження індивідуальних морфологічних ознак кожного штаму [13,14,15].

Результати та їх обговорення. *Обґрунтування складу поживного середовища для біфідобактерій.* Відповідно літературним даним, основними компонентами поживного середовища для вирощування біфідобактерій є: дріжджовий компонент та різноманітні продукти гідролізу казеїну. В літературі у якості дріжджового компоненту авторами використовується дріжджовий екстракт, дріжджова вода чи автолізат дріжджів. Казеїн у склад поживних середовищ входить у вигляді гідролізатів, отриманих кислотним чи ферментативним гідролізом. Хлорид натрію використовується у якості джерела іонів натрію (Na^+), агар-агар – для створення певної густини середовища, лактоза – у якості джерела вуглеводів. Вміст амінного азоту ($\text{N}_{\text{ам}}$) у середовищі у різних авторів відрізняється і знаходиться у межах 90 – 200 мг% [7, 8], що свідчить про нестандартність отриманих компонентів та їх використання у складі поживного середовища у різних співвідношеннях.

У попередніх експериментах для одержання поживного середовища нами було використано триптичний гідролізат казеїну та продукти автолізу дріжджів. Тому, нами було поставлено завдання – визначити оптимальне співвідношення вказаних основних компонентів середовища.

До складу досліджуваних поживних середовищ у незмінній кількості входили: хлорид натрію 0.5%, агар-агар 0.075%, лактоза 1%. До складу поживного середовища також була введена сірковмісна амінокислота – L-цистин, у кількості 0.01%.

Гідролізат казеїну та дріжджовий автолізат були отримані відповідно встановленим методикам [8]. Значення амінного азоту вказаних компонентів становило 540 ± 40 мг% (для гідролізату казеїну) та 130 ± 20 мг% (для автолізату дріжджів).

На основі зазначених компонентів були виготовлені варіанти поживних середовищ, які наведені у табл. 1.

Таблиця 1 - Характеристика варіантів поживних середовищ

№ варіанту середовища	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Дріжджовий автолізат, мг	338	304.2	270.4	236.6	371.8	405.6	439.4	338.0	338.0	338.0	338.0	338.0	338.0
Казеїновий гідролізат, мг	432.0	432.0	432.0	432.0	432.0	432.0	432.0	388.8	345.6	302.4	475.2	518.4	561.5
$N_{ам}$, мг%	191.9	196.0	200.7	206.0	188.3	185.1	182.2	185.1	178.1	170.8	198.4	208.5	210.7

Отримані варіанти поживного середовища стерилізували при 1.1 атм (121.5 ± 1) °С протягом 30 хв. Середовища витримували при температурі (37 ± 1) °С протягом 48 годин, потім інокулювали середовища рівними кількостями культури *B.bifidum*, вирощеної на середовищі Блаурокка. Культивування проводили при температурі (38 ± 1) °С протягом 72 годин.

На другу та третю добу культивування проводили визначення активності кислотоутворення. Середнє значення показників активності кислотоутворення наведено у табл. 2:

Таблиця 2 - Активність кислотоутворення біфідобактерій, °Т

№ варіанту середовища	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
2 ^{га} доба	125	130	132.5	142.5	145	140	125	120	126.5	136.5	140	142.5	135.5
3 ^{тя} доба	145	145	140	165	170	140	140	138	138	150	155	158	165

Як видно з табл. 2, найкращі результати (145 ± 5)°Т отримані для варіантів поживного середовища під номерами 4,5,6,11,12,13. Вимірювання кислотоутворення на третю добу культивування показало, що найбільша кількість продуктів кислотоутворення спостерігається у варіантах під номерами 4,5,12,13.

Для варіантів поживних середовищ під номерами 4, 5, 12, 13 визначаємо кількість живих біфідобактерій. У зразках №4, 12, 13 встановлені результати були не менше, ніж 10^8 КУО/мл, у зразку №5 – не менше, ніж 10^9 КУО/мл.

Отримані дані підтверджують залежність результатів кислотоутворення і кількості живих бактерій від складу поживного середовища. Звертає на себе увагу той факт, що зростання кількості амінного азоту в середовищі не приводить до суттєвого збільшення кількості живих бактерій та зростання активності кислотоутворення. Тому, нами для подальшої роботи було обрано поживне середовище п'ятого варіанту, яке дає максимальне значення кислотоутворення 170 °Т та кількість живих бактерій не менше, ніж 10^9 КУО/мл.

Подальше зростання кількості амінного азоту у середовищі не приводить до покращення біологічних показників, та збільшує собівартість середовища.

Необхідно зазначити, що всі компоненти, які входять до складу поживного середовища, є харчовими речовинами і можуть бути використані per os, у тому числі й дітьми до 1 року.

Обґрунтування можливості культивування лактобацил на створеному поживному середовищі. У другій групі експериментів нами проведено вивчення можливості вирощування лактобацил на казеїново-дріжджовому поживному середовищі з додаванням мінеральних солей.

Беручи до уваги результати дослідження по встановленню оптимального співвідношення основних компонентів поживного середовища та дані із таблиці 1, нами було використано варіант середовища №5 з додаванням мінеральних солей, які задовольняють ростовим вимогам лактобацил. Перелік та вміст мінеральних солей відповідає літературним даним про вирощування лактобацил, а саме: ацетат натрію 0.5%, цитрат амонію 0.2%, калій фосфорнокислий 0.2%, магній сірчанокислий 0.02%, марганець сірчанокислий 0.005%.

На поживне середовище була висіяна культура лактобацил п'ятої генерації, отримана при культивуванні на середовищах МРС-1, МРС-2, МРС-4, та проведено її контроль: активність кислотоутворення – $(405 \pm 10)^0 T$, кількість живих бактерій – $(4.1 \cdot 10^9)$ КУО/мл. При мікроскопії спостерігалися характерні паличковидні бактерії правильної форми, зазвичай у вигляді ланцюгів.

Отже, вирощування лактобацил на варіанті казеїново-дріжджового середовища №5 цілком можливо.

Дослідження можливості сумісного культивування біфідобактерій та лактобацил на запропонованому поживному середовищі. На варіант поживного середовища №5, об'ємом 50 мл, було посіяно культури біфідобактерій та лактобацил у різних співвідношеннях. Співвідношення посівного матеріалу наведено у табл. 3.

Таблиця 3 - Співвідношення бактерій у інокуляті

№ проб и	Біфідобактерії			Лактобацили			Співвідношення
	Об'єм, мл	К-сть бактерій в 1 мл	№ генерації	Об'єм, мл	К-сть бактерій в 1 мл	№ генерації	
1	2.5	10^7 КУО	2	2.5	10^7 КУО	5	1 : 1
2	1.25	10^7 КУО	2	3.75	10^7 КУО	5	1 : 3
3	3.75	10^7 КУО	2	1.25	10^7 КУО	5	3 : 1
4	-	-	-	2.5	10^7 КУО	5	-
5	2.5	10^7 КУО	2	-	-	-	-
6	2.5	10^7 КУО	2	2.5	10^7 КУО	6	1 : 1
7	1.25	10^7 КУО	2	3.75	10^7 КУО	6	1 : 3
8	3.75	10^7 КУО	2	1.25	10^7 КУО	6	3 : 1
9	-	-	-	2.5	10^7 КУО	6	-
10	2.5	10^7 КУО	2	-	-	-	-

Для підтвердження можливості сумісного культивування біфідобактерій та лактобацил на поживному середовищі необхідно дослідити інтенсивність накопичення біомаси, провести мікроскопію отриманих зразків, визначити кількість живих бактерій, активність кислотоутворення.

Нами було проведено три паралельні дослідження з використанням культури біфідобактерій другої генерації та лактобацил п'ятої та шостої генерації.

Про інтенсивність росту бактерій та його закінчення свідчить кількість доданого аміаку. Візуальний огляд зразків підтверджує ріст і накопичення біомаси. У всіх пробах з часом спостерігалось формування білого осаду на дні флакону різної інтенсивності.

Усереднені дані про кількість доданого аміаку під час сумісного культивування з трьох паралельних зразків представлені у таблиці 4.

Наступним кроком було визначення кількості живих бактерій. Контроль на кількість живих бактерій у зразках під номерами 1-4, 6-9 проводимо на середовищі МРС-4; зразків під номерами 1-3,5, 6-8, 10 – на середовищі Блаурокка. Усереднені дані від трьох паралельних вимірювань занесені у таблицю 5.

Таблиця 4 - Кількість доданого аміаку під час росту бактерій

№ проби	Співвідношення	К-сть аміаку, мл
1	1 : 1	0.35
2	1 : 3	0.36
3	3 : 1	0.26
4	Контроль лактобацил	0.41
5	Контроль біфідобактерій	0.37
6	1 : 1	0.48
7	1 : 3	0.72
8	3 : 1	0.35
9	Контроль лактобацил	0.63
10	Контроль біфідобактерій	0.19

Контроль на активність кислотоутворення проводимо на середовищі Блаурокка (для зразків № 1-3,5, 6-8,10) та на середовищі МРС-1 (для зразків № 1-4, 6-9). Дані представлені у табл. 5:

Таблиця 5 - Кількість живих бактерій та активність кислотоутворення зразків

№ проби	Біфідобактерії		Лактобацили	
	К-сть живих бактерій, КУО/мл	Активність кислотоутворення, °Т	К-сть живих бактерій, КУО/мл	Активність кислотоутворення, °Т
1	10^{12}	210	$6.27 \cdot 10^9$	373
2	10^{12}	228	$5.28 \cdot 10^9$	367
3	10^{12}	218	$1.8 \cdot 10^9$	365
4	-	-	$3.84 \cdot 10^9$	393
5	10^{12}	238	-	-
6	10^{12}	180	$6.1 \cdot 10^9$	383
7	10^{12}	215	$8.95 \cdot 10^9$	406
8	10^{12}	210	$3.28 \cdot 10^9$	393
9	-	-	$4.48 \cdot 10^9$	423
10	10^{12}	220	-	-

Дані табл. 4 та 5 підтверджують результати попереднього дослідження. Біфідобактерії і лактобацили добре розмножуються на запропонованому поживному середовищі, про що свідчать показники контрольних зразків: проби №4,9 – для лактобацил, та №5,10 – для біфідобактерій.

Проведена мікроскопія свідчить про збереження основних морфологічних ознак кожного штаму при сумісному культивуванні. На зразках №1-3, №6-8 добре видно поодинокі, або об'єднані у ланцюги палички; V-подібні клітини з роздвоєнням на одному кінці, чи з потовщеннями на одному, або двох кінцях. На зразку №4, №9 (у 1-ий день) багато одиноких паличок, без формування ланцюгів; (на 2-ий день)

поодиноких клітин майже немає, ланцюги об'єднаних паличок. На зразку №5, №10 видно булавоподібні, V-подібні клітини поодинокі та в ланцюгах. У 1-ий день слабкі, на 2-ий добре виражені, сильні клітини.

При використанні такого варіанту співвідношення, кислотоутворення лактобацил на середовищі МРС-1 максимальне, а кислотоутворення біфідобактерій складає 215°T , що трохи нижче зразків з індивідуальною культурою біфідобактерій, але значно вище встановленої стандартами норми (не менше 90°T). Кількість живих біфідобактерій та лактобацил знаходяться на рівні індивідуальних значень. Мікроскопія підтверджує незмінну морфологію біфідобактерій та лактобацил.

Висновок: враховуючи дані проведених досліджень встановлено, що біфідобактерії та лактобацили ростуть на запропонованому поживному середовищі і мають необхідні ростові показники, що підтверджено результатами значень кислотоутворення та кількості живих бактерій.

Таким чином, запропонований режим культивування і склад поживного середовища дозволяють одночасно в одному об'ємі культивувати біфідобактерії та лактобацили. Крім того, вирощування двох штамів пробіотичних бактерій приводить до зменшення вартості лікування хворих на дисбактеріоз, що зробить цей препарат більш доступним для населення.

Список літератури: 1. Тихомирова, Н. А. Технология продуктов функционального питания [Текст] : моногр. / Н. А. Тихомирова. – М. : Франтэра, 2002. – 213 с. 2. Краснопольский Ю. М. Фармакопейные лекарственные средства для терапии и профилактики дисбактериозов кишечника // Провизор. – 2007, №11. – с.24 – 27. 3. Похиленко В. Д., Перельгин В. В. Пробиотики на основе спорообразующих бактерий и их безопасность // Хим. и биол. Безопасность. – 2007. - №2. – с. 20 – 41. 4. Шендеров Б. А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. Т. 1, Т. 3.: Пробиотики и функциональное питание. — М.: ГРАНТЬ, 2001. 5. Бондаренко В. М., Грачева Н. М., Мацулевич Т. В. Дисбактериозы кишечника у взрослых. — М.: КМК Scientific Press, 2003. — 224 с. 6. Христинич Т. Н. Микробиоценоз кишечника: механизмы развития, клиника дисбиоза и возможная коррекция его нарушений // Сучасна гастроентерологія. 2010. №1(51). С. 86 – 91. 7. Краснопольский Ю. М. Пробиотики в составе биологических диетических добавок. БАД-эксперт. 2009. №1. С. 18 – 22. 8. Фармацевтическая биотехнология. Технология производства иммунобиологических препаратов: учеб. пособие / Ю. М. Краснопольский, М. И. Борщевская. – Харьков : НТУ «ХПИ», 2009. – 352 с. 9. Охотникова Е. Н. Микробиоценоз кишечника: Основные понятия, нарушения и их коррекция // Фах педіатрія. 2010. №7. С. – 28 – 36. 10. Смирнов В. В., Коваленко Н.К. и др. Пробиотики на основе живых культур микроорганизмов // Мікробіологічний журнал. 2002, Т.64, №4. С. – 62 – 80. 11. Проблемные вопросы микрoэкологии и антибактериальной терапии новорожденных с перинатальной патологией / Е. Е. Шунько, Д. С. Янковский, Г. С. Дымент, Ю. Ю. Краснова // Здоровье женщины. – 2004. - №4(20). – с 171 – 177. 12. Е. М. Лукьянова, Ю. Г. Антипкин и др. Микробная экологическая система человека и использование отечественных мультипробиотиков для профилактики и устранения ее нарушений у детей. Современная педиатрия 4(26) 2009. 13. Bifidobacterium strains from resident infant human gastrointestinal microflora exert antimicrobial activity / V.Lievin, I.Peiffer, S.Hudault et al. // Gut. — 2000. — Vol. 47. — P. 646—652. 14. Определитель бактерий Берджи. В 2-х т. Т.1: Пер. с англ. / Под ред. Дж.Хоулта, Н.Крига, П.Смита, Дж.Стейли, С.Уильямса. – М.: Мир, 1997. – 432 с. 15. Определитель бактерий Берджи. В 2-х т. Т.2: Пер. с англ. / Под ред. Дж.Хоулта, Н.Крига, П.Смита, Дж.Стейли, С.Уильямса. – М.: Мир, 1997. – 359 с. 16. Янковский Д. С. Бифидобактерии и лактобациллы как оптимальная основа современных пробиотиков / Д. С. Янковский, Г. С. Дымент // Совр. педиатрия. — 2006. — № 3(12). — С. 184—194. 17. К вопросу о поликомпонентности пробиотиков / [Лукьянова Е. М., Янковский Д. С., Антипкин Ю. Г., Дымент Г. С.] // Здоровье женщины. — 2005. — № 3(23). — С. 186—194. 18. Настоящее и будущее пробиотиков как био корректоров микрoэкологических нарушений / [Янковский Д. С.,

Бережной В. В., Шунько Е. Е. и др.] // Совр. педиатрия. — 2004. — № 1(2). — С. 111—118. **19.** Янковский Д. С. К вопросу биологической стимуляции пробиотических бактерий / Д. С. Янковский, Г. С. Дымент // Здоровье женщины. — 2005. — № 2(22). — С. 205—213. **20.** Янковский Д. С. Симбионты рода *Bifidobacterium* и стратегия их использования при конструировании мультикомпонентных пробиотиков / Д. С. Янковский, Г. С. Дымент // Совр. педиатрия. — 2006. — № 2(11). — С. 203—210. **21.** Янковский Д. С. Современное состояние проблемы получения и клинического применения пробиотиков / Д. С. Янковский, Г. С. Дымент // Совр. педиатрия. — 2007. — № 2 (15). — С. 136—146. **22.** Янковский Д. С. Современные аспекты проблемы микробиологии и дисбиозов / Д. С. Янковский, Г. С. Дымент // Здоровье женщины. — 2005. — № 4(24). — С. 209—218. **23.** Янковский Д. С. Эра пробиотиков. Противоречия, проблемы, дискуссии / Д. С. Янковский, Г. С. Дымент // Коллега. — 2005. — № 3—4. **24.** Янковский Д. С., Дымент Г. С. Оптимизация подходов к созданию современного поколения пробиотиков и их клиническому применению / Д. С. Янковский, Г. С. Дымент // Здоровье женщины. — 2007. — № 3(31). — С. 174—186. **25.** Семченко А. В., Орлова Е. В. Изучение рынка пробиотиков // Фундаментальные исследования. — 2007. — № 12. — С. 351—357. **26.** Новик Г. И. Исследование структурно-функциональной организации бифидобактерий // Микробиология. — 1998. — Т. 67, № 3. — С. 376—383. **27.** Лянная А.М., Интизаров М.М., Донских Е.Е. Биологические и экологические особенности микробов рода *Bifidobacterium* // Бифидобактерии и их использование в клинике, медицинской промышленности и сельском хозяйстве. — М. — 1986. — С. 32—38. **28.** Гусев М. В., Минеева Л. А. Молочнокислые бактерии // Микробиология. — 2004. — № 4. — С. 15—19. **29.** Совершенствование способа получения пробиотических препаратов / А.В.Семченко, А. В.Казьянин, Е. В.Орлова, В. А.Несчисляев // Фундаментальные исследования. — 2007. — № 12. — С. 350. **30.** Fedorak R. N., Madsen K. L. Probiotics and Prebiotics in Gastrointestinal Disorders // Curr. Opin. Gastroenterol. — 2004. — Vol. 20, № 2. — P. 146—155. **31.** Пробиотики: можливість застосування при гіперхолестеринемії / С. М. Мосейчук, М. Б. Хоменко та ін. // Український медичний часопис. — 2006. — №2(52) — с. 10 — 23. **32.** Раевич-Биргер Е.Д. Пособие по приготовлению питательных сред / Е. Д. Раевич-Биргер — М.: Медицина, 1965. — С. 248. **33.** Шендеров Б. А. Микробиологическая токсикология: Реальность, проблемы и перспективы // Антибиотики и микробиология человека и животных. — М., 1988. — С. 32 — 40. **34.** Шендеров Б. А., Манвелова М. А., Степанчук Ю. Б. и др. Пробиотики и функциональное питание // Антибиотики и химиотерапия. — 1997. — 42, №7. — С. 30 — 34.

Надійшла до редколегії 11.12.2012

УДК 579.61

Біотехнологічні аспекти отримання комплексного препарату, який містить різні штами пробіотичних культур/ О. С. Хижняк, Ю. М. Краснопольський // Вісник НТУ «ХПІ». Серія: Нові рішення в сучасних технологіях. — Х: НТУ «ХПІ», — 2013. — № 4 (978). — С. 113-120. — Бібліогр.: 34 назв.

Изучены оптимальные условия совместного культивирования пробиотических культур: соотношение штаммов, азотистый состав питательной среды, уровень рН, время культивирования и количество поколений. Доказана необходимость создания поликомпонентных препаратов на основе двух симбиотических штаммов. Рассмотрены аспекты создания эффективной питательной среды. Установлен оптимальный состав питательной среды и возможность культивирования на ней пробиотических штаммов бифидобактерий и лактобацилл. Изучено оптимальное соотношение штаммов при совместном культивировании.

Ключевые слова: бифидобактерии, лактобациллы, кислотообразование, совместное культивирование, питательная среда.

Are well studied the optimal conditions for joint cultivation of probiotic cultures: the ratio of strains, nitrogenous composition of culture medium, the level of pH, time of cultivation and number of generations. Demonstrated the need to create multiple products on the basis of two symbiotic strains. Are discussed the aspects of create an effective culture medium. Set the optimum composition of culture medium and opportunity cultivation of the probiotic strains on it. It is demonstrated the optimum ratio of strains at joint cultivation.

Keywords: bifidobacteria, lactobacilli, joint cultivation of strains, culture medium.