



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 111251

(13) U

(51) МПК

C12N 1/20 (2006.01)

A23C 9/12 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА  
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ  
ВЛАСНОСТІ  
УКРАЇНИ**(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ**(21) Номер заявки: **u 2016 03423**(22) Дата подання заявки: **04.04.2016**(24) Дата, з якої є чинними  
права на корисну  
модель: **10.11.2016**(46) Публікація відомостей  
про видачу патенту: **10.11.2016, Бюл. № 21**

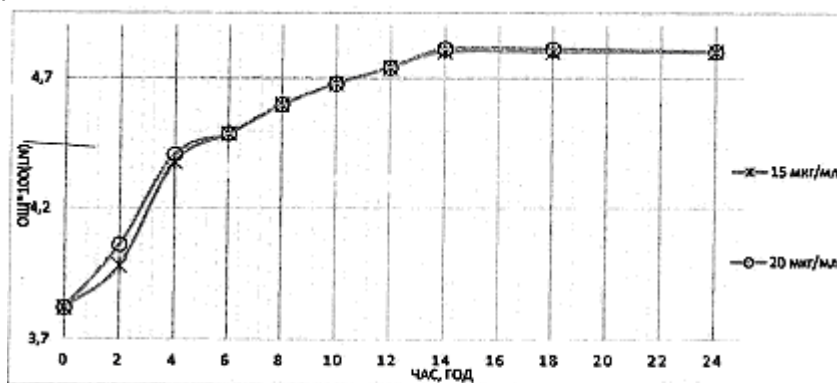
(72) Винахідник(и):

**Капельянец Леонід Вікторович (UA),  
Трегуб Наталія Сергіївна (UA)**

(73) Власник(и):

**ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ  
ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ,  
вул. Канатна, 112, м. Одеса, 65039 (UA)****(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ ПРОБІОТИЧНОЇ СЕЛЕНОВІСНОЇ ДОБАВКИ****(57) Реферат:**

Спосіб одержання пробіотичної селеновісної добавки передбачає приготування живильного середовища, охолодження його до температури культивування, внесення чистої культури біфідобактерій і селеніту натрію, культивування мікроорганізмів і наступне відокремлення біомаси від культуральної рідини. Додатково готують живильне середовище для культивування лактобактерій, охолоджують його до температури культивування, обидва живильні середовища об'єднують при співвідношенні 1:1, а в отриману суміш вносять інокулят добових культур лакто- і біфідобактерій при їх співвідношенні 10:1 в кількості 5 об. % після чого додають 15-20 мкг/см селеніту натрію, а у відокремлену біомасу додають захисне середовище і висушують.

**Фіг. 1**

UA 111251 U



Корисна модель належить до біотехнології, мікробіології, харчової технології і призначена для отримання біологічно-активних добавок на основі селенозбагачених культур лакто- та біфідобактерій, в яких селен знаходиться в органічній формі.

Найближчим до корисної моделі, що заявляється, є спосіб отримання селенозбагаченого бактеріального препарату на основі біфідобактерій, лікувально-профілактичного призначення (патент РФ на винахід № 2171034, МПК А 23 С 9/12). Спосіб включає приготування живильного середовища наступного складу (мас. %): пептон - 1,0; лактоза - 1,0; цитрат натрію - 0,6; дигідрофосфат калію - 0,1; гідрофосфат натрію - 0,2; гідрохлорид цистеїну - 0,015 (або аскорбінова кислота 0,05); агар-агар - 0,05; розчин кукурудзяного екстракту - 5,0; дистильована вода - 92,0, з подальшим охолодженням до температури культивування, внесенням чистих культур біфідобактерій, культивуванням з подальшим виділенням біомаси з культуральної рідини. При цьому в живильне середовище в процесі його приготування вносять селеніт натрію в кількості 12 і 15 мкг/см<sup>3</sup> і сірчаноокислий магній в співвідношенні (1-1,25):1. Як чисті культури в середовище вносять принаймні одну культуру або асоціацію біфідобактерій, що включає *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum* і *Bifidobacterium adolescentis*, та / або *Bifidobacterium breve*, та / або *Bifidobacterium infantis* в кількості від 1,0 до 1,5 об. % кожної культури.

Даний спосіб вибрано прототипом. Прототип і корисна модель, що заявляється, мають наступні спільні ознаки:

приготування живильного середовища;  
охолодження його до температури культивування;  
внесення в живильне середовище чистих культур біфідобактерій і селеніту натрію;  
культивування мікроорганізмів;  
відокремлення біомаси від культуральної рідини.

Відомий спосіб має недоліки. В живильне середовище вносять сірчаноокислий магній. Але цей компонент негативно впливає на процес біотрансформації селену біомасою біфідобактерій. Відомо, що селен в живих організмах здатен заміщати сірку в амінокислотах та білках, в результаті чого утворюються його органічні форми. Наявність джерела сірки в живильному середовищі сповільнює цей процес. В результаті цього не весь об'єм селену, внесеного в живильне середовище, повноцінно біотрансформується мікроорганізмами. Це веде до зниження рівня лікувально-профілактичної дії отриманого препарату.

В основу корисної моделі поставлено задачу розробити спосіб одержання пробіотичної селеновмісної добавки шляхом культивування лакто- і біфідобактерій в суміші із двох живильних середовищ з додаванням селену. Отриманий препарат дає можливість розширити асортимент відомих біологічно активних добавок та забезпечити лікувально-профілактичну дію за рахунок використання штамів мікроорганізмів котрі є нормальною мікробіотою організму людини.

Поставлена задача вирішена в способі одержання пробіотичної селеновмісної добавки, що передбачає приготування живильного середовища, охолодження його до температури культивування, внесення чистої культури біфідобактерій і селеніту натрію, культивування мікроорганізмів і наступне відокремлення біомаси від культуральної рідини, на відміну від прототипу, додатково готують живильне середовище для культивування лактобактерій, охолоджують його до температури культивування, обидва живильні середовища об'єднують при співвідношенні 1:1, а в отриману суміш вносять інокулят добових культур *Bifidobacterium bifidum* і *Lactobacillus acidophilus* при їх співвідношенні 10:1 в кількості 5 об. %, після чого додають захисне середовище і висушують.

Як живильне середовище для культивування *Lactobacillus acidophilus* використовують суміш, що містить наступні інгредієнти, мас. %:

|                       |       |
|-----------------------|-------|
| натрій оцтовокислий   | 0,6   |
| кукурудзяний екстракт | 1,5   |
| молоко 11 %-не        | 1,0   |
| сирна сироватка       | 96,9. |

Як захисне середовище використовують суміш, що містить наступні компоненти, %:

|          |     |
|----------|-----|
| сахароза | 50  |
| желатоза | 25  |
| молоко   | 25. |

Новим в корисній моделі, що заявляється, є наявність наступних ознак: використання декількох культур мікроорганізмів (лакто- і біфідобактерій) і їх культивування на кукурудзяно-лактозному середовищі та середовищі із сирної сироватки;

культивування біфідобактерій здійснюють без додавання агару-агару;

культивування лакто- і біфідобактерій здійснюють одночасно, змішуючи живильні середовища у співвідношенні 1:1 з подальшим внесенням культур лакто- і біфідобактерій у співвідношення 1:10;

- 5 внесення селеніту натрію в кількості 15-20 мкг/см<sup>3</sup>. Запропонований спосіб здійснюють наступним методом. Готують живильне середовище для біфідобактерій наступного складу (мас. %):

|                                |        |
|--------------------------------|--------|
| пептон                         | 1,0    |
| лактоза                        | 1,0    |
| цитрат натрію                  | 0,6    |
| дигідрофосфат калію            | 0,1    |
| гідрофосфат натрію             | 0,2    |
| аскорбінова кислота            | 0,05   |
| розчин кукурудзяного екстракту | 5,0    |
| дистильована вода              | 92,05. |

Живильне середовище стерилізують при 115-120 °С, протягом 30 хвилин, охолоджують до 37-39 °С.

Паралельно готують живильне середовище для лактобактерій наступного складу (мас. %):

|                       |       |
|-----------------------|-------|
| натрій оцтово-кислий  | 0,6   |
| кукурудзяний екстракт | 1,5   |
| молоко 11 %-не        | 1,0   |
| сирна сироватка       | 96,9. |

- 10 Об'єм живильного середовища доводять до 1000 мл молочною сироваткою. Значення рН середовища 6,7-7,0. Живильне середовище стерилізують при 115-120 °С, протягом 30 хвилин, охолоджують до 37-39 °С.

Отримані середовища об'єднують у співвідношенні 1:1. Водний розчин селеніту натрію вносять в об'єднану систему безпосередньо перед внесенням мікроорганізмів у кількості 15-20 мкг/см<sup>3</sup>. Добову культуру *Bifidobacterium bifidum* та *Lactobacillus acidophilus* вносять в кількості 5 об. %. Культивування проводять 24 години. Відокремлення біомаси здійснюють шляхом центрифугування при 10000 об., протягом 15 хвилин. Отриману біомасу промивають дистильованою водою, після чого вносять захисне середовище, що містить 50 % сахарози, 25 % желатози, 25 % молока та ліофільно висушують.

- 20 Приклад 1

Готують середовища для культивування біфідо- і лактобактерій, як наведено вище, стерилізують при 115 °С, протягом 30 хвилин та охолоджують до температури культивування. Отримані середовища об'єднують у співвідношенні 1:1. Селеніт натрію вносять в кількості 15 мкг/см<sup>3</sup>. Культури біфідо- і лактобактерій вносять в отримане середовище у співвідношенні 10:1. 25 Культивування проводять при 37 °С протягом 24 годин. Отриману біомасу відділяють від культуральної рідини шляхом центрифугування при 10000 об., протягом 15 хвилин. Промивають в дистильованій воді і додають захисне середовище, що включає 50 % сахарози, 25 % желатози та 25 % молока та ліофільно висушують. Динаміка накопичення біомаси мікроорганізмів представлена на фіг. 1.

- 30 Приклад 2

Здійснюють аналогічно прикладу 1, але розчин селеніту натрію вводять у кількості 20 мкг/см<sup>3</sup> і культивували. Динаміка накопичення біомаси мікроорганізмів представлена на фіг. 1. Динаміка росту мікроорганізмів виражена в КУО/см<sup>3</sup> відображена в таблиці 1.

Приклад 3

- 35 Живильне середовище для лактобактерій стерилізують при 115 °С, протягом 30 хвилин та охолоджують до температури культивування. Водний розчин селеніту натрію вносять в кількості 15 мкг/см<sup>3</sup> перед внесенням культури *Lactobacillus acidophilus* (5 об. %). Культивування проводять протягом 24 годин, при 37 °С. Отриману біомасу відділяють від культуральної рідини шляхом центрифугування при 10000 об., протягом 15 хвилин. Промивають в дистильованій воді і додають захисне середовище, що включає сахарозу, желатозу та молоко та ліофільно висушують. Динаміка накопичення біомаси мікроорганізмів представлена на фіг. 2.

Приклад 4

- 45 Здійснюють аналогічно прикладу 3, але розчин селеніту натрію вводять у кількості 20 мкг/см і культивували. Динаміка накопичення біомаси мікроорганізмів представлена на фіг. 2. Динаміка росту мікроорганізмів виражена в КУО/см<sup>3</sup> відображена в таблиці 2.

Таблиця 1

Показники КУО/см<sup>3</sup> біфідобактерій

| п/н прикладу | Час/год. | Титр лактобактерій КУО/мл | Титр біфідобактерій КУО/мл |
|--------------|----------|---------------------------|----------------------------|
| Приклад 1    | 5        | 10 <sup>-6</sup>          | 10 <sup>-6</sup>           |
|              | 10       | 10 <sup>-8</sup>          | 10 <sup>-7</sup>           |
|              | 24       | 10 <sup>-10</sup>         | 10 <sup>-9</sup>           |
| Приклад 2    | 5        | 10 <sup>-5</sup>          | 10 <sup>-6</sup>           |
|              | 10       | 10 <sup>-7</sup>          | 10 <sup>-6</sup>           |
|              | 24       | 10 <sup>-9</sup>          | 10 <sup>-8</sup>           |

Таблиця 2

Показники КУО/см<sup>3</sup> лактобактерій

| п/н прикладу | Час/год. | Титр КУО/мл       |
|--------------|----------|-------------------|
| Приклад 3    | 5        | 10 <sup>-6</sup>  |
|              | 10       | 10 <sup>-8</sup>  |
|              | 24       | 10 <sup>-10</sup> |
| Приклад 4    | 5        | 10 <sup>-5</sup>  |
|              | 10       | 10 <sup>-7</sup>  |
|              | 24       | 10 <sup>-9</sup>  |

5

## ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

1. Спосіб одержання пробіотичної селеновмісної добавки, при якому готують живильне середовище, охолоджують його до температури культивування, вносять чисту культуру біфідобактерій і селеніту натрію, культивують мікроорганізми і відокремлюють біомасу від культуральної рідини, який **відрізняється** тим, що додатково готують живильне середовище для культивування лактобактерій, охолоджують його до температури культивування, обидва живильні середовища об'єднують при співвідношенні 1:1, а в отриману суміш вносять інокулят добоових культур лакто- і біфідобактерій при їх співвідношенні 10:1 в кількості 5 об. % після чого додають 15-20 мкг/см селеніту натрію, а у відокремлену біомасу додають захисне середовище і висушують.
2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що як живильне середовище для культивування лактобактерій використовують суміш, що містить наступні інгредієнти, мас. %:
- |                       |       |
|-----------------------|-------|
| натрій оцтово-кислий  | 0,6   |
| кукурудзяний екстракт | 1,5   |
| молоко 11 %-не        | 1,0   |
| сирна сироватка       | 96,9. |
3. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що як захисне середовище використовують суміш, що містить наступні компоненти, %:
- |          |     |
|----------|-----|
| сахароза | 50  |
| желатоза | 25  |
| молоко   | 25. |

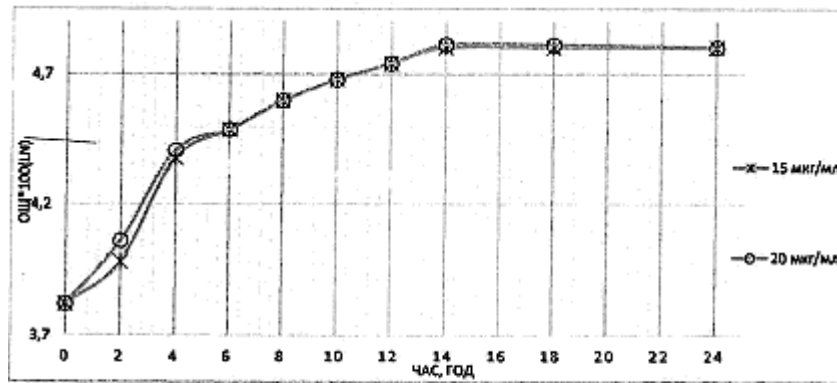


Fig. 1

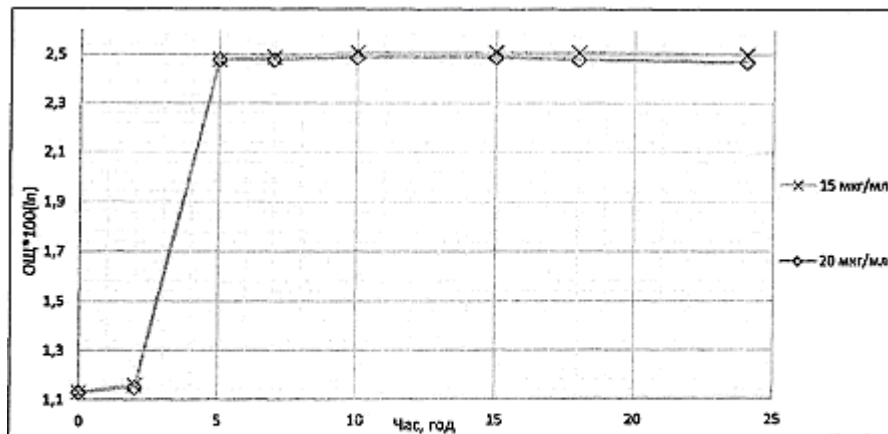


Fig. 2

Комп'ютерна верстка О. Гергіль

Державна служба інтелектуальної власності України, вул. Василя Липківського, 45, м. Київ, МСП, 03680, Україна

ДП "Український інститут інтелектуальної власності", вул. Глазунова, 1, м. Київ – 42, 01601