

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ АВІАЦІЙНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ФАКУЛЬТЕТ ЕКОЛОГІЧНОЇ БЕЗПЕКИ, ІНЖЕНЕРІЇ ТА ТЕХНОЛОГІЙ  
КАФЕДРА БІОТЕХНОЛОГІЇ

ДОПУСТИТИ ДО ЗАХИСТУ

Завідувач випускової кафедри

\_\_\_\_\_ М.М. Барановський

«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 р.

**ДИПЛОМНА РОБОТА**  
**(ПОЯСНЮВАЛЬНА ЗАПИСКА)**

ЗДОБУВАЧА ВИЩОЇ ОСВІТИ ОСВІТНЬОГО СТУПЕНЯ «БАКАЛАВР»  
СПЕЦІАЛЬНІСТЬ 162 «БІОТЕХНОЛОГІЇ ТА БІОІНЖЕНЕРІЯ»  
ОСВІТНЬО-ПРОФЕСІЙНА ПРОГРАМА «ЕКОЛОГІЧНА БІОТЕХНОЛОГІЯ  
ТА БІОЕНЕРГЕТИКА»

**Тема: «Вплив бджоло-медового сиропу та бджолоного підмору  
на життєдіяльність *Lactococcus lactis*»**

Виконавець: студент ЕТ-403

Ткачук В.О.

Керівник: к.біол.н., доцент

Шаблій Л.М.

Нормоконтролер:

Дражнікова А.В.

КИЇВ 2021

# НАЦІОНАЛЬНИЙ АВІАЦІЙНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

Факультет екологічної безпеки, інженерії та технологій

Кафедра біотехнології

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»

Освітньо-професійна програма «Екологічна біотехнологія та біоенергетика»

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри

\_\_\_\_\_ М.М. Барановський

« \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2021 р.

## ЗАВДАННЯ

на виконання дипломної роботи

**Ткачука Владислава Олександровича**

1. Тема дипломної роботи: «Вплив бджолино-медового сиропу та бджолиного підмору на життєдіяльність *Lactococcus lactis*» затверджена наказом ректора від «11» травня 2021 р. № 715/ст.
2. Термін виконання роботи: з 10 травня по 20 червня 2021 р.
3. Вихідні дані роботи: Фахові періодичні та наукові видання за темою дипломної роботи, нормативна документація.
4. Зміст пояснювальної записки: Вступ. Літературний огляд. Об'єкти та методи дослідження. Вплив продукції бджільництва на життєдіяльність *Lactococcus lactis*. Висновки. Список використаних джерел.
5. Перелік обов'язкового графічного (ілюстративного) матеріалу: таблиць 9, рисунків 7.

## 6. Календарний план-графік

№	Завдання	Термін виконання	Підпис керівника
1	Узгодження змісту дипломної роботи з дипломним керівником.	10.05.2021	
2	Складання плану виконання бакалаврської дипломної роботи.	10.05.2021	
3	Збір інформації за темою дипломної роботи: «Вплив бджолодино-медового сиропу та бджолодиноного підмору на життєдіяльність <i>Lactococcus lactis</i> ».	11-17.05.2021	
4	Ознайомлення з методиками дослідження	18-20.05.2021	
5	Аналіз та обробка отриманих даних.	21-24.05.2021	
6	Оформлення практичної частини дипломної роботи на основі отриманих результатів.	25-26.05.2021	
7	Формулювання висновків та рекомендацій.	27-28.05.2021	
8	Перевірка дипломної роботи керівником.	31.05.2021	
9	Попередній захист дипломної роботи.	03.06.2021	
10	Захист дипломної роботи.	17.06.2021	

7. Дата видачі завдання: « 10 » травня 2021 р.

Керівник дипломної роботи \_\_\_\_\_ Шаблій Л.М.

Завдання прийняв до виконання \_\_\_\_\_ Ткачук В.О.

## РЕФЕРАТ

Пояснювальна записка до дипломної роботи «Вплив бджолоино-медового сиропу та бджолоинового підмору на життєдіяльність *Lactococcus lactis*»: 52 сторінки, 7 рисунків, 9 таблиць, 35 використаних джерел.

**Об'єкт дослідження:** *Lactococcus lactis*.

**Предмет дослідження:** продукти бджільництва на життєдіяльність *Lactococcus lactis*.

**Мета дипломної роботи:** вивчити вплив продуктів бджільництва на життєдіяльність *Lactococcus lactis*.

**Методи дослідження:** загальнонаукові, а саме теоретичні (аналіз, пояснення, класифікація, синтез, узагальнення, індукція, дедукція) та емпіричні (спостереження, опис).

Нами було проаналізовано літературні джерела, що стосуються теми нашої роботи. Визначено, що Семеновою Н.О. за характером процесу сквашування кисломолочних напоїв із додаванням меду, а саме динаміці зміни кислотності в процесі сквашування, досліджувався його вплив на розвиток *L. lactis*.

*Lactococcus lactis*, продуцент протеази та морської бактерії *Teredinobacter turneraewere*, оцінювали порівняно з хімічною обробкою. *L. lactis* був більш ефективним у видаленні мінералів у порівнянні з *T. turnerae*, тоді як зворотне стосувалося видалення білка. Порівняння врожайності процесів при цих обробках показало, що *L. lactis* і *T. turnerae*, що використовуються окремо, не є хорошим вибором для комерційної екстракції хітину. Навпаки, у всіх процесих спільної культури значення ДМ були вище, ніж при монокультивуванні при тому ж рівні глюкози.

**LACTOCOCCUS LACTIS, ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ ІНГРЕДІЄНТ, ПРОДУКТ БДЖІЛЬНИЦТВА, МЕД, ПІДМОР, ХІТІН.**

## ЗМІСТ

Вступ.....	5
РОЗДІЛ 1. ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД .....	7
1.1 Екологічна ситуація в Україні та її вплив на здоров'я населення .....	7
1.2 Шляхи поліпшення здоров'я населення .....	10
1.3 Огляд технологій виробництва функціональних харчових продуктів .....	13
1.4. Висновки до розділу .....	17
РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	19
2.1 Характеристика продуктів бджільництва.....	19
2.2 Загальна характеристика, морфологія та фізіологія <i>L. lactis</i> .....	29
2.3 Методики експериментальних досліджень .....	33
2.4. Висновки до розділу .....	41
РОЗДІЛ 3. ВПЛИВ ПРОДУКТІВ БДЖІЛЬНИЦТВА НА ЖИТТЄДІЯЛЬНІСТЬ <i>L. LACTIS</i> .....	42
3.1 Вплив компонентів меду натурального на життєдіяльність <i>L. lactis</i> .....	42
3.2 Вплив компонентів бджолиного підмору на життєдіяльність <i>L. lactis</i> .....	43
3.3 Висновки до розділу .....	47
ВИСНОВКИ.....	48
Список бібліографічних посилань використаних джерел.....	50

## ВСТУП

Екологічна ситуація в Україні стоїть дуже гостро, оскільки внаслідок нераціонального й неконтрольованого використання природних ресурсів дедалі чіткіше вимальовуються прикмети екологічної катастрофи. За останні роки виріс відсоток забруднюваності повітря, погіршилась якість питної води, регулярно надходять повідомлення про забруднення ґрунту, а все це призводить до підвищення рівня захворюваності населення. Поліпшення екологічного стану потребує значних витрат матеріальних ресурсів та часу, тому варто зосередитись на підтримці того рівня здоров'я, який людина має на даний момент.

Одним з шляхів поліпшення здоров'я населення є вживання функціональних продуктів харчування. Такі продукти розробляються на основі знань про властивості і взаємодію окремих інгредієнтів та їх комбінацій.

В якості функціональних обирають продукти щоденного або майже щоденного вжитку. До таких безумовно відносяться кисломолочні продукти, які отримують за допомогою заквасок.

На даний час відома значна кількість функціональних інгредієнтів, серед котрих не останнє місце займають продукти бджільництва. Це пояснюється широким переліком корисних компонентів в їхньому складі.

При розробці функціональних продуктів необхідно проводити всебічне дослідження впливу різних компонентів, саме тому актуальність даної роботи не викликає сумнівів.

# РОЗДІЛ 1

## ЛІТЕРАТУРНИЙ ОГЛЯД

### 1.1. Екологічна ситуація в Україні та її вплив на здоров'я населення

Згідно з державною статистичною звітністю за останні 10 років, основними забруднювачами атмосферного повітря є підприємства переробної та видобувної промисловості та підприємства електроенергетики та теплоенергетики (відповідно 31 та 21 та 40 % загального обсягу викидів забруднюючих речовин, що викидаються в навколишнє повітря із фіксованого джерела забруднення). Викиди забруднюючих речовин рухомими джерелами становлять 39 відсотків від загальної кількості викидів забруднюючих речовин в атмосферне повітря. Викиди забруднюючих речовин автомобільним транспортом становлять 91 % забруднюючих речовин, що виділяються рухомими джерелами [1].

Забруднювачами, що викидаються переважно в навколишнє повітря, є оксид азоту, оксид вуглецю, діоксид та інші сполуки сірки, пилу.

Можна спостерігати збільшення кількості випадків, пов'язаних із перевищенням встановлених норм гранично допустимих викидів забруднюючих речовин за рахунок постійних джерел. Основними причинами, що спричиняють незадовільний стан якості атмосферного повітря в населених пунктах, є недотримання підприємствами режиму роботи пилоочисного обладнання, відсутність заходів щодо зменшення обсягу викидів забруднюючих речовин до встановлених норм, низькі темпи впровадження передові технології та значне збільшення кількості транспортних засобів, зокрема тих, що перевищили термін їх служби [2].

Протягом останніх років у промислово розвинених містах в атмосферному повітрі компетентні органи постійно реєструють до 16 поліциклічних ароматичних вуглеводнів, з них 8 є канцерогенними, групи нітрозамісників (нітрозодіметилам і нітрозодіетиламін) та важких металів (хром, нікель, кадмій, свинець, берилій). При

цьому в обсягах забруднення хімічними канцерогенами найбільшу питому вагу мають сполуки поліциклічних ароматичних вуглеводнів [2].

Загалом канцерогенний ризик у 2016 році досяг 6,4—13,7 випадків онкологічних захворювань на 1 тис. осіб, що значно перевищує міжнародні показники ризику.

В даний час в Україні розробляється система біобезпеки, основною метою якої є забезпечення безпечного ведення генетичної та інженерної діяльності, а також використання генетично модифікованих організмів та запобігання їх несанкціонованому та неконтрольованому розповсюдженню.

Досягнення цієї мети передбачається шляхом запобігання екологічним, економічним, соціальним та іншим ризикам, пов'язаним з утилізацією генетично модифікованих організмів та проведенням генетичної та інженерної діяльності, а також процесів, що ставлять під загрозу національні інтереси.

В процесі вступу до Світової організації торгівлі Україна взяла на себе зобов'язання встановити законодавчу базу в галузі біотехнологій відповідно до міжнародних норм та принципів. Це тягне за собою необхідність всебічного вивчення та врахування міжнародного досвіду, зокрема, країн-членів ЄС.

#### Біологічне та ландшафтне різноманіття

Займаючи менше 6 відсотків площі Європи, Україна має близько 35 відсотків свого біорізноманіття. Біосфера України нараховує понад 70 тис. видів, з них флора – понад 27 тис., фауна – понад 45 тис. видів. Протягом останніх років можна спостерігати збільшення кількості видів рослин і тварин, які включені до Червоної книги України.

Україна знаходиться на перетині міграційних шляхів багатьох видів фауни, її територію перетинають два основні глобальні шляхи міграції диких птахів; певні місця гніздування мають міжнародне значення. Більше 100 видів перелітних птахів охороняються відповідно до міжнародних зобов'язань [2].

Природно-заповідний фонд України складається з понад 7608 територій та ділянок загальною площею 3,2 млн. га (5,4 % від загальної площі країни) та 402,5 тис. га в прибережній лінії Чорне море. Частка природних та заповідних територій в



Україні є недостатньою і залишається значно меншою, ніж у більшості країн Європи, де площі, зайняті природно-заповідними територіями, складають у середньому 15 %.

Широкий розвиток сільського господарства спричинив значне зменшення ландшафтного різноманіття. Понад 40 % площі України в минулому займали поетапні ландшафти. В даний час вони складають близько 3 відсотків. На цих територіях зосереджено 30 % усіх видів флори та фауни, включених до Червоної книги України [4].

За роки незалежності площа природно-заповідного фонду України подвоїлася, однак у певних випадках ділянки природно-заповідного фонду перебувають у компетенції центральних органів виконавчої влади, для яких природно-заповідна діяльність не є пріоритетною.

Основною загрозою для біорізноманіття є людська діяльність та знищення природних середовищ існування флори та фауни, можна спостерігати катастрофічне зменшення територій заболочених територій, ступеневих екологічних систем, природних лісів. Руйнування навколишнього середовища відбувається внаслідок обробітку земель, вирубки лісів з подальшою зміною цільового використання земель, осушення або поливу територій, промислового, житлового та котеджного будівництва тощо. Поширення видів, що не належать до аборигенів, в природних екологічних системах спричинило значний дисбаланс у біоценозах. Управління збереженням біорізноманіття прісноводних та морських екологічних систем розробляється не так швидко, як для сухопутних екологічних систем, що впливає на обсяг рибних запасів та середовище проживання водних живих ресурсів [5].

Для припинення процесів погіршення стану навколишнього середовища необхідно збільшити площі земель екологічної мережі, що є стратегічним завданням у досягненні екологічної рівноваги території України. Збільшення площі національної екологічної мережі повинно відбуватися в основному в результаті розширення існуючих та створення нових ділянок природно-заповідного фонду.

Завдання щодо захисту біорізноманіття не вирішуються під час приватизації земель, підготовки та реалізації програм галузевого, регіонального та місцевого

розвитку. Відсутність меж ділянок, заселених на місцевості у встановленому законом порядку, призводить до порушення вимог режиму заповідника. Шляхи розмежування прибережних захисних поясів уздовж морів, річок та навколо водойм, які виконують роль екологічних коридорів, повільні [5].

За даними Державної статистичної служби України про стан здоров'я людей за останні роки спостерігається зростання на 10 % загальної кількості захворювань при майже незмінній кількості населення. При цьому показник захворюваності збільшився для України загалом із 12 900 випадків на 100 000 населення у 2014 р. до 14 200 випадків на 100 000 населення у 2018 р. За проведеним аналізом територіального розподілу захворюваності визначено найбільші показники (5–6 % від загальної кількості випадків на 1000 населення), характерні для Вінницької, Рівненської, Запорізької, Івано-Франківської та Житомирської областей, які не відрізняються складною екологічною ситуацією [5].

Нозологічний розподіл захворюваності в Україні, наведений на рис.1.1 свідчить, що більшість випадків захворювань пов'язано із хворобами органів дихання та становлять майже 60 %. Варто також вказати на вагому частину хвороб, що виникають внаслідок нездорового харчування, – це хвороби органів травлення, шкіри та підшкірної клітковини, кістково-м'язової системи та сполучної тканини, крові, кровотворних органів та системи кровообігу, ендокринної системи і розладу харчування, новоутворення, які становлять загалом понад 20 % [5].

## **1.2. Шляхи поліпшення здоров'я населення**

Превентивне або функціональне харчування, скореговане з урахуванням чинників ризику неінфекційних захворювань, що враховує наявність у кожної людини властивої йому біохімічної і фізіологічної індивідуальності внаслідок це раціональне несприятливих впливів навколишнього середовища [6].

Лікувально-профілактичне харчування близьке до раціонального, але відрізняється від нього тим, що передбачає підсилення тих функцій їжі, які протистоять несприятливим впливам виробничих чинників. Дієтичне (лікувальне)

харчування є невід'ємною частиною комплексної терапії різних захворювань у лікувально-профілактичних закладах. У дієтичному харчуванні широко використовують фармакологічну дію харчових речовин шляхом їх збільшення чи зменшення з урахуванням реадaptивних механізмів, що виникають у процесі дієтичної терапії [6].



Рис. 1.1. Нозологічний розподіл захворюваності України за 2014-2018 рік

Лікувально-профілактичне та дієтичне харчування базуються на використанні продуктів, які по суті є функціональними. Але в різних країнах їх класифікують, по-різному. Зокрема в Японії та США, продукти, що містять компоненти, фармакологічну дію яких підтверджено згідно з вимогами законодавства, що регламентує порядок віднесення продуктів до групи оздоровчого призначення, регламентуються як медикаменти та використовуються за призначенням лікарів.

Наприкінці ХХ століття були накопичені численні свідчення того, що більшість так званих хвороб цивілізації (діабет, алергія, серцево-судинні захворювання, гіпертонія, ожиріння, деякі злоякісні пухлини та інші) є аліментарно залежними і можуть корегуватися відповідними дієтами. Стала також очевидною

необхідність підвищення неспецифічних та захисних функцій їжі з метою адаптації людини до таких факторів повсякденного життя як зростаюче забруднення о зовнішнього середовища та постійний психологічний стрес [7].

Внаслідок цього людство "схаменулось" і спрямувало зусилля на повернення традиційним продуктам їхньої первинної якості, а також на розробку нових продуктів харчування, збагачених біологічно активними інгредієнтами. Перші дослідження, спрямовані на створення продуктів здорового харчування, які згодом почали називати фізіологічно функціональними чи коротко функціональними продуктами, були розпочаті в 1980-1985 роках в Японії.

До функціональних продуктів відносять продукти, які здійснюють позитивний вплив на здоров'я людини при їх регулярному споживанні в ефективних дозах. Крім поживних інгредієнтів вони містять функціональні інгредієнти, які здійснюють біологічно значущий позитивний вплив на організм людини, що допомагає адаптуватись до впливу зовнішнього середовища, запобігти виникненню захворювань та попередити завчасне старіння [7].

Функціональні продукти розглядаються не тільки як джерела пластичних речовин та енергії, але і як складний медикаментозний комплекс, що забезпечує достовірний лікувально-профілактичний ефект. Місце функціональних продуктів харчування визначається як проміжне між продуктами загального вжитку, тобто таких, що входять до раціону основних груп населення, та продуктами лікувального харчування.

Функціональні продукти можна поділити на натуральні – такі, що від природи містять велику кількість фізіологічно функціональних інгредієнтів та, штучні – такі, що одержали функціональні властивості внаслідок спеціальної технологічної обробки.

В натуральних функціональних продуктах більшу частину природних мікронутриєнтів складають саме функціональні інгредієнти [8].

Функціональні властивості харчових продуктів визначаються біологічними та фармакологічними властивостями функціональних інгредієнтів, що входять до їх складу. Такі інгредієнти повинні відповідати наступним вимогам:

- мати природне походження;
- не знижувати поживних цінностей харчових продуктів;
- бути безпечними з точки зору збалансованого харчування;
- бути корисними для здоров'я (корисні якості повинні бути науково підтверджені, а добові дози ухвалені фахівцями):

- мати точно визначені фізико-хімічні показники, методи дослідження яких відомі та доступні.

Вибір функціональних інгредієнтів, які необхідно додати до традиційного продукту, проводять серед таких речовин, дефіцит яких є розповсюдження та небезпечний для здоров'я, оскільки головна мета створення функціональних продуктів є покращення харчових статусу та здоров'я більшості населення. У тій же час, для задоволення потреб окремих груп населення (дітей, вагітних жінок та матерів, осіб старшого віку, спортсменів) необхідний спеціальний добір функціональних інгредієнтів, який визначається медико-біологічними показниками [8].

Вибір фізико-хімічних форм функціонального інгредієнту здійснюється з попереднім дослідженням сумісності за фізико-хімічними та біологічним і властивостями функціонального інгредієнту, що додається, з продуктом, що підлягає збагачення, оскільки функціональні добавки можуть змінювати реологічні та органолептичні властивості продуктів.

### **1.3. Огляд технологій виробництва функціональних харчових продуктів**

Вибір продукту, що потребує збагачення, здійснюють з врахуванням рівня його розповсюдженості та доступності для більшості населення як продукту щоденно споживання. Світова практика свідчить, що до таких продуктів відносяться в першу чергу борошно та хлібобулочні вироби, молочні продукти (зокрема молоко та кисломолочні продукти), сіль, напої та продукти дитячого харчування). [9]

На даний момент фахівцями розроблено значну кількість технологій виробництва продукції харчової промисловості, в яких використовуються апі-продукти. Розглянемо деякі з них [9].

Використання меду в кондитерських виробках (збивні, молочні, помадні цукерки, льодяники, халва, пастила, нуга) в першу чергу обумовлено його смакоароматичними властивостями, але враховуються і функціональні його властивості. Одним з прикладів такого продукту є желейний мармелад.

Для його приготування було вибрано два найбільш поширених сорти меду: гречаний і соняшниковий. Досліджено їх органолептичні і фізико хімічні показники, які вказують на відповідність виданням ДСТУ-4497 «Мед натуральний. Технічні умови». Визначено раціональна температура підготовки натурального меду, яка складає 45 °С. Це дозволяє зберегти його властивості і не призводить до утворення гідроксиметілфурфурола, який є індикатором порушення технологічних режимів. Використання різних сортів меду дозволяє варіювати органолептичні властивості готових виробів і, тим самим, створити «лінійку» смаків желейного мармеладу. Заміна патоки на натуральний мед при виробництві желейного мармеладу дозволить отримувати вироби функціональної спрямованості, за рахунок внесення фруктози. Сама технологія приготування желейного мармеладу на основі натурального меду полягає у наступному.. Агар розчиняється у воді при нагріванні, отриманий розчин охолоджується до 50-55 °С і змішується з підігрітим до 45 °С натуральним медом. В отриману масу вноситься лимонна кислота. Далі мармеладна маса формується методом «шприцювання» в полімерну бар'єрну оболонку «Аміфлекс Міні» діаметром 16 мм, відформовані зразки охолоджуються до кімнатної температури. Встановлено, що заміна цукру і патоки в рецептурі желейного мармеладу на основі натурального меду призводить до зниження пластичної міцності на 2,8-3,4 кПа і складає 23,9-24,5 кПа (Таблиця 1.1) [10].

Для желейного мармеладу на основі натурального меду досліджували зміну сумарної антиоксидантної активності (АОА) в процесі зберігання (рис. 2). Отримані результати показують, що зниження АОА мармеладу відбулося лише після 180 діб зберігання [11].

Для покращення здоров'я, підсилення імунітету необхідно вживати молочнокислі продукти, як джерела молочнокислих бактерій, повноцінного білку, вітамінів та амінокислот [12].

Таблиця 1.1

Органолептичні та фізико-хімічні показники якості желейного мармеладу

Назва показників	Мармелад на основі натурального меду						
	контроль			дослід			
	0	90	180	0	90	180	
Органолептичні показники							
Смак	Ярко виражені, без іншого смаку чи запаху						
Колір	Колір, як у меду, який використовується						
Консистенція	Драглеподібна						
Поверхня	Гладка, злегка м'яка			Гладка, підсушена	Гладка, злегка м'яка		
Фізико-хімічні показники							
Масова частка вологи, %	39,07	21,56	17,23	39,07	38,58	38,39	
Масова частка сухих речовин, %	61,53	72,80	70,30	61,53	60,36	58,65	
Титрована кислотність	5,50	7,65	8	5,50	5,78	6,15	

Молоко і молочні продукти грають важливу роль в організації повноцінного харчування. Наприклад, кумис, що готується з кобилячого молока шляхом молочнокислого і спиртового бродіння за допомогою болгарської та ацидофільних паличок і дріжджів, являє собою не тільки цінний продукт харчування, а й

лікувально-профілактичний засіб при ряді захворювань, пов'язаних з порушенням обміну речовин в організмі, зокрема при туберкульозі легенів [12].

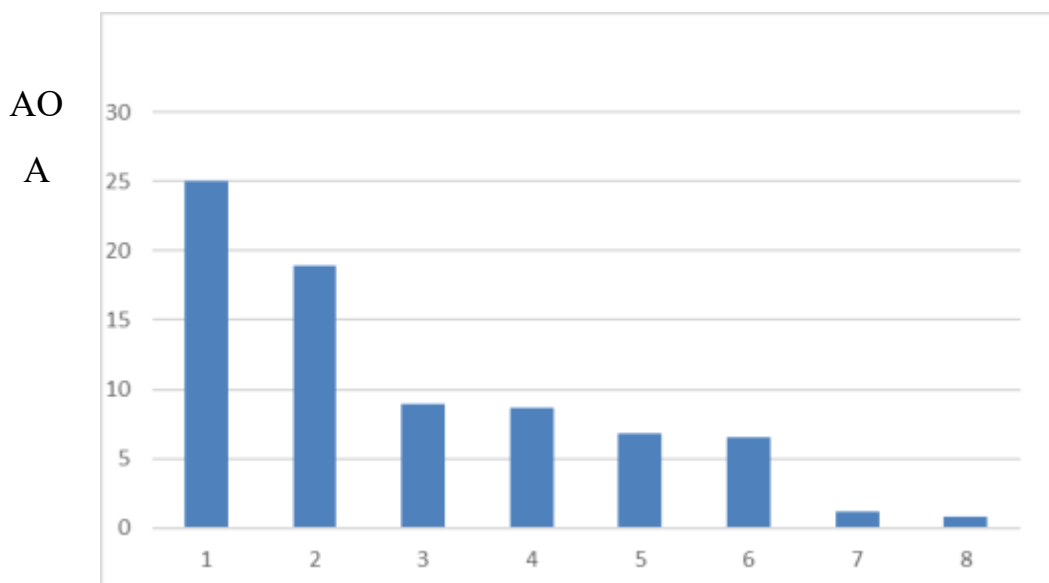


Рис. 1.2. АОА натурального меду і зразка мармеладу:

1 – гречаний мед; 2 – соняшниковий мед; 3, 4 – мармелад «Гречаний» свіжий та після 180 днів зберігання; 5, 6 – мармелад «Соняшниковий» свіжий та після 180 днів зберігання; 7, 8 – мармелад «Желейний формовий» свіжий та після 180 днів зберігання.

Основоположники російської клінічної медицини С. П. Боткін і Г. А. Захар'їн високо оцінювали цілющі властивості кумису. Кумис успішно використовується вітчизняною медициною понад 100 років з часів організації першої кумисо-лікувального санаторію в 1858 р. В даний час, в епоху широкого застосування антибактеріальних препаратів, кумисолікування не втратило свого значення завдяки тому, що в кумис вдало поєднуються багато цінних якостей і біологічні властивості.

Живильні і цілющі властивості кумису обумовлені фізико-хімічними властивостями кобилячого молока, продуктами бродіння: молочною кислотою, спиртом і вуглекислою, а також антибіотичними властивостями мікрофлори. Поєднання цілющих властивостей кумису з компонентами продуктів бджільництва може значно посилювати корисний ефект даного продукту [13].



Відома технологія медового кумису, технологічний процес виробництва якого складається з наступних операцій: приймання і підготовка сировини; очищення; внесення меду у кількості 25 %; заквашування і вимішування; дозрівання в ємності, де проводилося вимішування; омолодження; повторне вимішування; розлив, закупорювання, маркування; охолодження, самогазування, зберігання, дозрівання і транспортування.

З появою нових біоактивних добавок для харчової промисловості відкрилися нові можливості для розробки і впровадження на ринок продуктів підвищеної харчової цінності. Зокрема, застосування біологічно активних добавок дозволило значно розширити асортимент традиційних молочних продуктів. Можна виокремити ряд наступних характерних напрямків позитивного впливу спеціалізованих молочних продуктів на організм людини: на фізіологію шлунково-кишкового тракту і стан кишкової мікрофлори [14].

Розроблена технологія біоактивного йогурту із додаванням продуктів бджільництва: меду, прополісу та пилка. Мед рекомендовано додавати до біойогуртів як натуральний підсолоджувач. Одночасне застосування меду та прополісу надає продукту функціональній лікувально-профілактичній дії щодо шлунково-кишкових захворювань. Такий продукт володіє лікувально-профілактичною дією щодо респіраторних захворювань та рекомендовано для щоденного вживання в раціоні молоді [14].

Апі-продукти корисні для зміцнення імунітету і боротьби з різними захворюваннями: при анемії, високому артеріальному тиску та інших серцево-судинних недугах, хворобах нервової системи тощо. Апі-продукти рекомендовано молодому поколінню, які не мають алергічних проявів на продукти бджільництва

#### **1.4. Висновки до розділу**

Екологічний стан в Україні призводить до збільшення захворюваності населення, одним із засобів вирішення цієї проблеми є створення функціональних продуктів харчування, мед та інші продукти бджільництва є джерелами різних

корисних речовин і тому вони є перспективними компонентами для функціональних продуктів, зокрема кисломолочних. Наприклад, кумис, що готується з кобилячого молока шляхом молочнокислого і спиртового бродіння за допомогою болгарської та ацидофільних паличок і дріжджів, являє собою не тільки цінний продукт харчування, а й лікувально-профілактичний засіб при ряді захворювань, пов'язаних з порушенням обміну речовин в організмі, зокрема при туберкульозі легенів.

Також продукти бджільництва мають очевидну перевагу і при виборі способу лікування, профілактики, поєднуючи в собі безпеку, ефективність, можливість використання, тривалість зберігання, відвідносну дешевизну і доступність. Функціональні продукти розглядаються не тільки як джерела пластичних речовин та енергії, але і як складний медикаментозний комплекс, що забезпечує достовірний лікувально-профілактичний ефект.

## РОЗДІЛ 2

### ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

#### 2.1. Характеристика продуктів бджільництва

Продукти бджільництва є цінним джерелом вуглеводів, вітамінів, антиоксидантів і біологічно активних протеїнів, тому впродовж тисячоліть їх широко використовують як в якості продуктів харчування, так і в складі фармацевтичних препаратів. Всі використовувані апіпродукти можна розділити на дві групи – мають рослинне походження (перга, мед) і вироблені організмом бджіл (отрута, маточне молочко, прополіс) [15].

Генезис цих продуктів обумовлює їх хімічний склад і, як наслідок, різні способи застосування і обробки. Продукти рослинного походження містять значні кількості моно-і олігосахаридів, фітоантиоксидантів, рослинні протеїни. Для продуктів метаболізму бджіл характерна наявність ліпідів, специфічних поліненасичених жирних кислот, тварин протеїнів, які проявляють високу біологічну активність. Всі перераховані вище продукти бджільництва містять мікро / макроелементи і вітаміни, але склад цих компонентів у них істотно різниться [16].

Фенольні кислоти, флавоноїди та каротиноїди, що містяться в структурі продуктів бджільництва, впливають на такі захворювання, як рак, атеросклероз, серцево-судинні захворювання, ослаблення імунної системи, хвороба Паркінсона, Альцгеймера, артрит та фотостаріння, як профілактичні та лікувальні речовини. Особливо флавоноїди пригнічують ефективність ферментних систем, що включають перекисне окислення ліпідів, агрегацію тромбоцитів, проникність капілярів та ліпоксигеназу [16].

Функціональні властивості продуктів харчування бджільництва не залишаються обмеженими цим переліком. Фенольні компоненти в його структурі роблять позитивний вплив на імунну систему організму на вирішальному рівні.

Функціональна харчова характеристика та біологічна дія продуктів бджільництва досить чисельні (табл. 2.1.) [16].

Таблиця 2.1

Біологічний та функціональний ефект продукції бджільництва

Продукт	Біологічний ефект	Функціональний ефект
Мед, пилок, бджолиний хліб, маточне молоко, прополіс	Антибактеріальні, протівірусні, антиоксидатні, імуноактивуючі, протизапальні властивості	Інгібує ріст, патогенних бактерій, грибків та вірусів, стимулює імунну різницю проти запалення, має протипухлинний ефект
Пилок, маточне молоко, прополіс	Посилює поглинання Са, має протиартеріосклеротичний та радіозахисний ефект	Захищає від радіації, артеросклерозу та остеопорозу
Мед	Пребіотик (олігосахариди)	Стимулює здорове травлення
Маточне молоко	Гіпотензивний, судинорозширювальний, збільшує розмноження та поглинання кисню клітинами та впливає на центральну і периферичну нервову систему	Кардіопротектор, стимулюючий та енергетичний проти стресу та втоми

Мед – це функціональна їжа, яка містить інулін та фруктоолігосахариди (ФОС), і вона має пребіотичні особливості, які мають сприятливий вплив на нашу шлунково-кишкову систему. Як широко відомо, пребіотики – це неперетравлені вуглеводи, які збільшують активність і кількість як колоночних бактерій, так і пробіотиків (живих організмів, які регулюють мікробний баланс кишечника). Згідно з ідентифікованими даними, пребіотики стимулюють імунну систему та сприяють пригніченню канцерогенезу всередині колони. В результаті бродіння пребіотиків у товстій кишці утворюються такі речовини, як лактат, коротколанцюгові жирні кислоти (оцтова, масляна та пропіонова кислоти), газоподібний водень, вуглекислий газ та метан. Значення рН кишечника значно падає. Падіння в кишечнику має багато переваг, таких як інгібування мікроорганізмів, які потенційно можуть мати згубний вплив, деградація вторинних жовчних кислот, збільшення розчинності та всмоктування мінералів, таких як Са, Mg, Fe та Zn. Неперетравлені вуглеводи, які відомі як пребіотики, включають лактулозу, лактитол, олігосахариди та інулін. Неперетравлені олігосахариди містяться природним чином у фруктах, овочах, молоці та меді [17].

Якість меду в Україні регламентується ДСТУ 4497:2005 «Мед натуральний. Технічні умови».

Якщо порівнювати в Україні органолептичні й фізико-хімічні дослідження, на відміну від країн СОТ і Євросоюзу, проводяться в обов'язковому порядку згідно з ДСТУ 4497:2005 та «Обов'язковим мінімальним переліком досліджень сировини, продукції тваринного та рослинного походження, комбікормової сировини, комбікормів, вітамінних препаратів [18].

Таблиця 2.2

Порівняльна характеристика органолептичних показників якості меду

Показник	Характеристика		
	ДСТУ 4497:2005	Honey Directive 2001/110/EC	CAC 12-1981
Колір	Безколірний, білий, світло-жовтий, жовтий, темно-жовтий, темний з різними відтінками	Від майже безколірного до темно-коричневого	Від майже безколірного до темно-коричневого
Смак	Солодкий, ніжний, приємний, терпкий, подразнює слизову оболонку ротової порожнини, без стороннього присмак	Варіює залежно від рослинного походження	Залежить від виду рослин
Аромат	Специфічний, приємний, слабкий, сильний, ніжний, без сторонніх запахів	Варіює залежно від рослинного походження	Приємний, від слабого до сильного, залежно від виду рослин
Консистенція	Рідка, в'язка, дуже в'язка, щільна	Рідка, в'язка, частково або повністю кристалізована	Рідка, в'язка, частково або повністю кристалізована
Кристалізація	Від дрібнозернистої до крупнозернистої	Частково або повна кристалізація	Частково або повна кристалізація
Ознаки бродіння	Не дозволені	Не дозволені	Не дозволені
Механічні домішки	Не дозволені	Не дозволені	Не дозволені

Таблиця 2.3

Порівняльна характеристика фізико-хімічних показників якості меду  
в країнах ЄС та СOT

Показник	Codex Alimentarius	Honey Directive 2001/110/EC
Вміст вологи, %	$\leq 20$	$\leq 20$
	Вересовий мед(Calluna) $\leq 23$	Пекарський мед $\leq 23$
Вміст відновлювальних цукрів, г/100 г	$\geq 60$	$\geq 65$
	Медова падь, змішаний мед $\geq 45$	Медова падь $\geq 60$
Вміст сахарози, г/100 г	$\leq 5$	$\leq 5$
	Мед з лаванди $\leq 15$	
	Мед з акації білої, люцерни, евкаліпту, цитрусових та ін. екзотичних квітів $\leq 10$	
Вільна кислотність, 0,1 (моль/дм <sup>3</sup> )/кг	$\leq 50$	$\leq 40$
		Пекарський мед $\leq 80$
Вміст гідроксиметилфурфуролу, мг/кг	$\leq 40$	$\leq 40$
	Мед і медова суміш, отримана з країн і районів із тропічними температурами $\leq 80$	
Електропровідність, мС/см	$\leq 0,8$	$\leq 0,8$
	Медова падь і каштановий мед та суміш такого меду $\geq 0,8$	

Таблиця 2.4

Фізико-хімічні показники якості меду згідно з національним стандартом

Показник	ДСТУ 4497:2005	
	вищий ґатунок	перший ґатунок
Результат пилкового аналізу	наявність пилкових зерен	наявність пилкових зерен
Видовий склад пилкових зерен,	$\geq 10,0$	$\geq 10,0$
Масова частка води, %	$\leq 18,5$	$\leq 21$
Масова частка відновлювальних цукрів (до безводної речовини), %	$\geq 80$	$\geq 70$
Масова частка сахарози (до безводної речовини), %	$\leq 3,5$	$\leq 6,0$
Вміст гідроксиметилфурфуролу, мг/кг	$\leq 10$	$\leq 25$
Кислотність, 0,1 (моль/дм <sup>3</sup> )/кг	$\leq 40$	$\leq 50$
Вміст проліну, мг/кг	$\geq 300$	$\geq 300$

Електропровідність, мС/см	0,2–1,0	0,2–1,5
---------------------------	---------	---------

Важливість меду як захисника загального стану здоров'я та творця антиоксидантного ефекту робить його корисним у харчовій галузі довгий вік. цукор-пісок відомий як "реакція Майяра", створює композицію взаємодії аміна з альдегід-кетон , яка має антиоксидантну властивість. Виходить ,що мед зменшує мікробну активність, яка починається після нарізки м'яса, яке стає шкідливим для здоров'я. Також використання меду в курячому м'ясі збільшує його властивість утримувати воду, запобігає закипанню втрат, врівноважує рН, за реакцією Майяра м'ясо стає світлого кольору і надає насиченість смаку. Щодо вмісту фруктози, мед покращує смак м'яса та підвищує його харчову цінність завдяки своїй „функціональній їжі” [19].

Антиоксидантну дію меду оцінюють за допомогою різних систем , одною з яких є : система перекисного окислення ліпідів. Мед зупиняє ріст бактерій у м'ясі сухого та мокрого старіння і навіть діє як бактерицид, коли він потрапляє разом з прополісом. Сильна антиоксидантна та антибактеріальна активність меду очищає активний кисень, що спричиняє псування м'яса. Крім того, з'ясовується, що в курячому м'ясі, маринованому медом, утворення гетероциклічного аміну, що виникає в результаті реакції Майяра після варіння, падає зі швидкістю 92–99 %. Причиною цієї краплі є подання кислої структури меду, яка запобігає появі амінів. Фенольні та флавоноїдні сполуки всередині медового складу збільшують здатність антиоксидантів і перешкоджають активації перекису водню. Згідно з проведеним дослідженням, куряче м'ясо, мариноване з різними порціями меду, суттєво перешкоджає росту бактерій у порівнянні з групою, яка не оброблялася медом [20].

Підмору виготовляється з здорових бджіл, які померли природнім чином на пасіці. Зовнішній вигляд підмору показаний на рисунку 3. Тіло бджоли включає в себе практично всі компоненти меду, пилку, маточного молочка та воску, які в тій або іншій мірі проявляють свої оздоровчі властивості. Підмор – це природна сировина, яка складається з білку, хітину, меланінів, гепарину і гепароїдів, воску, вітамінів та інших речовин. Абсолютно суха маса порошку підмору, разом з

восковими крихтами, містить: 54 % протеїну, 26 – жиру, 15 – безазотистих екстрактивних речовин, 4,5 % золи, макро- та мікроелементи (Рис. 2.1.) [21].



Рис. 2.1. Зовнішній вигляд бджолиного підмору

Види підмору:

- зимовий (в таких бджолах міститься отрута і неперетравні залишки в кишечнику). Пасічники отримують найбільшу його кількість під час весняної ревізії, збираючи після зимівлі мертві тільця бджіл;

- літній (бджолині тільця містять отруту) – складається з бджіл, які накопичуються протягом сезону і не доживають до зимівлі. Їх важко зібрати, оскільки влітку більшість бджіл гине за межами вулика, та існує думка, що тільця саме цих бджіл накопичують всю масу корисних речовин в процесі виробництва меду;

- мертві тільця бджіл, що залишаються після бджоловжалення – бджола після вжалення людини гине, оскільки жало разом з останнім сегментом черевця залишається в шкірі людини. Такі тільця бджіл не містять отрути [21].

Підмор зимового типу складається з тіл мертвих бджіл, що містять в собі отруту і неперетравлені залишки кишечника. Цілющі властивості обумовлені



наявністю в ньому цінних біологічно-активних комплексів. Реалізація такого цінного продукту здійснюється бджільницькими хазяйствами під власними торговими марками. Приклади такої продукції представлені на рисунку 2.2. [22].



Рис. 2.2. Вигляд упаковок бджолиного підмору у торговельній мережі

Одним з найважливіших компонентів підмору є хітиновий покрив тілець бджіл, який містить гепарин і хітозан. Гепарин здатний пригнічувати запальні процеси, стабілізувати кров'яний тиск, мають позитивний вплив на систему крові і стан судин. Хітозан надає загальнозміцнюючу і тонізуючу дію, нормалізує функції багатьох систем організму, активізує загоєння ран та опікових поверхонь без утворення рубців.

Термін «хітин» (від грецького «chiton» означає «одяг, оболонка») ця речовина виділили з крил жуків, а назва була запропонована в 1823 році для цієї речовини. Формула хітину була відкрита раніше ніж придумали назву цієї речовини, назву дали, в 1811 році в лужно-стійкій фракції вищих грибів. Хітин є важливою речовиною, яку переробляють на багато похідних, найважливішим із всіх похідним є хітозан, тому що він має особливість розчинятися в воді (Рис 2.2) [23].

Хітозан був відкритий синтезований в другій половині ХХ століття з хітинової оболонки ракоподібних. Практично відразу цей проект зачинили відразу, як був

закритий не лише в Радянському Союзі, але в усьому світі оборонними відомствами. Хітозану присвоїли стратегічний статус, зважаючи на його виняткові радіопротекторні властивості. Виявилось, що він практично повністю здатний зв'язувати в організмі вільні радикали, які утворюються під дією радіації. В армії солдати отримали в свої індивідуальні аптечки спеціальні хітозанові пігулки на випадок ядерного нападу противника. Однак найбільше поширення хітозан отримав для утилізації ядерного палива в оборонній та енергетичній промисловості. Ядерні реактори, які відслужили свій термін, уранові відходи і ракетне паливо надійно герметизувались в спеціальних капсулах, залитих хітозановим гелем. Всесвітньо відомою стала операція з утилізації російського атомного підводного човна «Комсомолец», який потонув у 80-х роках минулого століття в Баренцовому морі. Тоді в бетонний саркофаг було залито десятки тонн хітозанового гелю, який забезпечив надійний захист від радіації [24].

Приблизно з 90-х років минулого століття хітозан почали використовувати в медицині як ефективний радіопротектор, сорбент токсинів і важких металів в організмі, при створенні надміцного шовного хірургічного матеріалу, виготовленні лінз і штучного кришталіка, виробництві апаратів штучного дихання, виготовленні протиракових препаратів; у харчовій промисловості, переважно як засіб для схуднення, зниження рівня холестерину. У сільському господарстві з включенням хітозану почали виготовляти засоби захисту рослин, він використовувався як імуномодулятор у ветеринарії. Було створено косметичні формули для омолодження шкіри, до складу яких вводили хітозан, також почали виготовляти засоби для догляду за волоссям, мила, фарби для волосся. Молекула хітозану бджоли має позитивний заряд, в той час як ліпіди шкіри – негативний, тому він добре утримується шкірою на поверхні, утворюючи тонку плівку, яка зберігає вологу. Хітозан не токсичний, не накопичується у верхніх шарах шкіри, не шкідливий для її чутливих ділянок (Таблиця 2.6) [24].

Нині відомо понад 70 напрямків застосування хітозану, зокрема, при очищенні харчових відходів, питної води від мікроорганізмів, важких металів, для видалення

дубильних речовин, в рибній та рибопереробній промисловості, паперовій, текстильній, хутровій та інших галузях ( Таблиця 2.5 ) [24].

По даним в наступних таблицях вказані: вміст вільних і пов'язаних амінокислот в апі екстракті; зміст антиоксидантів і антиоксидантна активність апіекстракта при різних режимах його отримання; результати елементного аналізу бджолиного підмору. Хітозанмеланіновий комплекс, отриманий екстрагуванням з бджолиного підмору, здатний зв'язувати і виводити з організму надлишкову кількість жирів і холестерину.

Таблиця 2.5

Вміст вільних і пов'язаних амінокислот в апіекстракті

Показник	Вільні амінокислоти, мкг / 100 мг	Зв'язані амінокислоти, мкг / 100 мг
Аланін	305	95
Аспарагінова кислота	475	150
Аргінін	380	165
Валін	240	95
Гистидин	95	135
Гліцин	310	107
Глутамінова кислота	1620	320
Ізолейцин	265	210
Лейцин	275	220
Лізин	290	45
Метіонін	330	390
Пролін	290	58
Серін	240	95
Тирозин	230	95
Треонин	210	77
Фенілаланін	100	35
Цистеїн	17	14

Таблиця 2.6

Вміст антиоксидантів і антиоксидантна активність апіекстракта при різних режимах його отримання

Показник	Без промивки	З промивкою 1 добу	З промивкою 3 діб	Без промивки з знежиренням
Флавоноїди, мг / г	50,84	6,11	3,61	46,17
Каротиноїди, мг / г	3,22	2,09	1,78	-
Антиоксидантна активність, 1 / с / г	2,96	1,69	1,51	-

Таблиця 2.7

Результати елементного аналізу бджолиного підмору

Метали 1-ї і 2-ї групи		d – метали і свинець	
K	23 500	V	1,3
Ca	2 750	Cr	невиявлений
Sr	10	Mn	невиявлений
Zn	150	Fe	7 600
Cd	0,1	Co	невиявлений
Hg	невиявлений	Cu	1,8
-	-	Pb	0,02

Гепароїди (природні антикоагулянти крові), здатні пригнічувати запальні процеси, стабілізувати кров'яний тиск, надають цілющу дію на кровотворну систему, стан судин, зокрема при лікуванні варикозного розширення вен, тромбофлебіту і судин головного мозку. Хітозанмеланіновий комплекс, отриманий екстрагуванням з бджолиного підмору, здатний зв'язувати і виводити з організму надлишкову кількість жирів і холестерину. Він запобігає розвитку атеросклерозу, зміцнює стінки кровоносних судин, знімає неприємні відчуття в області серця (Таблиця 2.7) [25]. Підмор очищає кишечник, нормалізує його мікрофлору і функцію, регулює кислотність шлункового соку, зменшує всмоктування токсинів, що робить можливою профілактику захворювань шлунково-кишкового тракту і нирок, діє як профілактичний засіб при ризику розвитку діабету [25].

Хітозан посилює внутрішній синтез вітамінів В1, В2, В3, РР і фолієвої кислоти, активність щитовидної залози. Підмор бджолиний здатний пригнічувати

запальні процеси, стабілізувати кров'яний тиск, має цілющу дію на кров, судини, ефективний при лікуванні варикозного розширення вен, тромбофлебиту і судин головного мозку.

Завдяки гепатопротекторним властивостям, бджолиний підмор знижує навантаження на печінку. Бджолиний підмор діє як кровоочисний засіб. Володіючи антитоксичними властивості, вона зв'язує і виводить з організму токсичні елементи і кишкові токсини. Бджолиний підмор, крім того, використовується при лікуванні маститу і панариціїв, при суглобових болях і аденомі передміхурової залози, імпотенції. Вважається, що меланін, що володіє радіопротекторні властивості, здатний зв'язувати і виводити токсичні речовини, радіоактивні ізотопи і солі важких металів. Бджолиний підмор лікує різні захворювання, але головна його властивість – підвищення імунітету. Препарати бджолиного підмору не володіють побічною дією і, практично, не мають протипоказань [26].

Інуліном називають неоднорідну суміш фруктозних полімерів, які часто зустрічаються у формі запасних вуглеводів у природі і мають ступінь полімеризації, яка змінюється між 2 і 60 °. Одиниці, що мають нижчий ступінь полімеризації (2–20), називаються фрукто-олігосахаридом або олігофруктозою. Щоденне вживання 4–10 г фрукто-олігосахаридів створює біфідогенний ефект, збільшуючи тим самим кількість корисних бактерій.

## **2.2. Загальна характеристика, морфологія та фізіологія *L. lactis***

У 1878 р. Джозеф Лістер виконав роботу в якій виділив із кислого молока чисту культуру і дав назаву її *Bacterium lactis*. В 1919 р. Орла-Йенсен класифікував цю бактерію як *Streptococcus lactis* (див. Рис. 2.3); на сьогоднішній день її класифікують як *Lactococcus lactis subsp. lactis*.

*Lactococcus lactis* спочатку використовували у ферментації молочних продуктів, потім у біотехнологічних застосувань, у генній інженерії для виробництва різних рекомбінантних білків та метаболітів, що виходить за межі видів. Ключовими завданнями цих молочнокислих неколонізуючих кишкових

бактерій включають загальновизнаний статус безпечного (GRAS), властивості, відсутність тіл включення та ендотоксинів, поверхневий показ та технологію позаклітинної секреції та різноманітний вибір клонування. Так сталося, що *L. Lactis* є бажаною та перспективною культурою нарівні з іншими добре встановленими модельними бактеріальними або дріжджовими системами [27].



No. 4, G-Bouillon, 4 Days, 30°.



No. 4, Agar Streak, 1 Day, 30°.



No. 4, Agar Streak, 1 Day, 37.5°.



No. 4, Agar Streak, 10 Days, 10°.

Рис. 2.3. Мікрофотографія *Lactococcus lactis subsp. lactis* (оригінальна назва *Streptococcus lactis*), виготовлений С. Орла-Йенсен у 1919 році (збільшення x1000).

*Lactococcus lactis* – це вид грампозитивних нерухомих бактерій, які не утворюють спор. Останнє означає, що, як правило, ця бактерія не може колонізувати кишково-шлунковий тракт людини. ( Рис. 2.3) [28].

Клітини *L. lactis* – це коки, які об'єднуються в пари та короткі ланцюжки і, залежно від умов росту, здаються яйцеподібними із типовою довжиною 0,5 – 1,5 мкм [28].

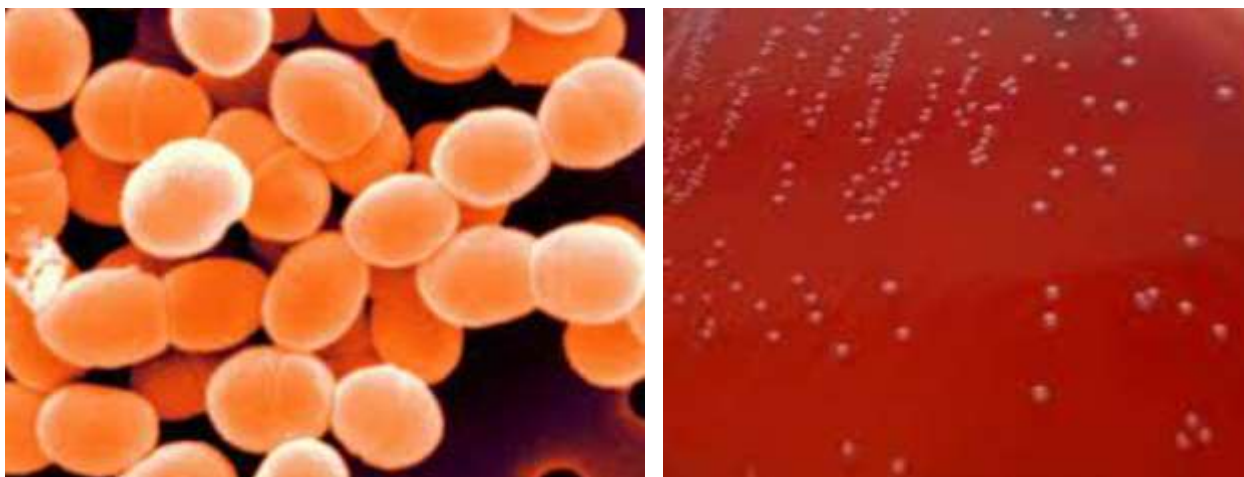


Рис. 2.4. Зовнішній вигляд окремих клітин та колоній

*Lactococcus lactis* мають гомоферментативний метаболізм, тим самим вони виробляють молочну кислоту з цукрів. Також відомо, що вони виробляють L – (+) – молочну кислоту. Якщо культивування буде проходити через низькому рН може бути отримана D – (-) – молочна кислота. *Lactococcus lactis* здатний виробляти молочну кислоту тому він є одним із найважливіших мікроорганізмів у молочній галузі ( Рис. 2.4) [29].

Під час виготовлення сиру дикі штами *Lactococcus lactis* можуть забруднювати сири та рости під час виробництва та витримки. Дикі штами можуть виготовляти фруктові ароматизатори за рахунок утворенню складних ефірів, таких як етилгексаноат та етилбутират [6].

Для людей *Lactococcus lactis* важливість полягає у зміцненні імунної системи. Як і всі кисломолочні бактерії (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus* GG), *Lactococcus lactis* мають властивість інгібувати Th2-імунну відповідь. Спочатку *Lactococcus lactis* причисляли до стрептококів, але у

1985 році цю бактерію віднесли до роду *Lactococcus*. На сьогодні *L. lactis* поділяється на три підвиди:

- *L. lactis subsp. lactis*;
- *L. lactis subsp. cremoris*;
- *L. lactis subsp. hordniae*.

Підвид *L. lactis subsp. Lactis*, на відміну від іншого підвиду, *L. lactis lactis* здатен проявляти адаптивну реакцію на стрес. Тобто, ці бактерії менше піддаються впливу навколишнього середовища. Наприклад, штами *L. lactis ssp. lactis* можуть рости при 40 ° С, при високолужній рН 9,2, а також у присутності 4% солі NaCl, тоді як *L. lactis* не можуть рости за жодної з цих умов. Застосування *L. lactis subsp. lactis* у молочній промисловості забезпечує швидке виробництво молочної кислоти та, відповідно, продукування сиру. Тоді як *Lactococcus lactis subsp. cremoris* більш "повільні". Але, натомість, надають сирам кращих смакових властивостей та використовуються для протидії гірким сполукам та небажаному фруктовому аромату в сирах. Він може виникати внаслідок дії *L. lactis ssp. lactis*. Тому в заквасочних культурах, як правило, поєднуються обидва підвиди [11].

*L. lactis ssp. lactis* здатен продукувати унікальний, нетоксичний бактеріоцин – нізин. Це єдина антибіотична речовина, якій надано статус "GRAS". Тобто її дозволяється застосовувати як харчовий консервант (E234). Також вона належить до класу лантибіотиків – окремого класу поліциклічних антибіотиків білкової природи, синтезованих живими організмами.

Нізін – це низькомолекулярний білок. Тому людині легко розділити його на амінокислоти під час травлення. Відтак, нізин не впливає на мікробіоту шлунково-кишкового тракту. Крім того, цей білок активний проти грампозитивних бактерій, а також проти інших неспорутворюючих бактерій, стрептококів, стафілококів, лістерій. Лантибіотики нізин та лактицин 3147, визнано корисними для профілактики дискінезії, маститу, деяких видів хронічних дерматитів, тощо. Один з виділених штамів *L. lactis subsp. lactis* – 194, який було отримано з сирого молока корів в Бурятії, має здатність пригнічувати грампозитивні та грамнегативні патогенні бактерії, а також впливає на гриби родів *Aspergillus*, *Fusarium* та *Candida*.



Речовини, що виділені штамом *L. lactis subsp lactis* HV219 пригнічували ріст *L.plantarum*, *Lactobacillus sakei* та *Lact. salivarius*. Інший штам – *L. lactis subsp lactis* 194 вважається потенційним перспективним біоконсервантом для запобігання грибковому псуванню харчових продуктів та їстівної сировини з пробіотичним ефектом [11].

Окрім своєї важливої функції в їжі, *L. lactis* став зразком LAB, коли справа стосується генної інженерії. Кілька факторів, включаючи його невеликий повністю секвенований геном (2,3 Мбіт / с), та розробку успішно сумісних інструментів генної інженерії, таких як системи клонування та експресії з настроюваними опціями, зробили його бажаною моделлю. За останні два десятиліття *L. lactis* значно розширив своє застосування від їжі до успішної фабрики мікробних клітин і багато разів виступаючи грампозитивною альтернативою *Bacillus subtilis* та *Lactobacillus plantarum*, або їх грамнегативний аналог, кишкова паличка.

### **2.3. Методики експериментальних досліджень**

Для свого нормального росту та розвитку мікроорганізми, як і будь-яка жива істота, потребують органічних та неорганічних субстратів, які забезпечують їх енергією та матеріалом для біосинтезу. У природних умовах усі необхідні мікроорганізмам поживні речовини отримують із навколишнього середовища. При вирощуванні в лабораторії з використанням живильних середовищ, в яких харчові потреби мікроорганізмів штучно задовольняються. Клітини потребують для свого розвитку макроелементи (вуглець, азот, водень, кисень, фосфор та ін.) Та мікроелементи(цинк, марганець, йод, мідь тощо). Деякі мікроорганізми також потребують факторів росту

(амінокислоти, нуклеотиди, жирні кислоти) та вітаміни. Отже, поживні середовища містять збалансований набір органічних та неорганічних речовин і придатні для росту та розвитку мікроорганізмів [17]. Поживні середовища повинні відповідати наступним вимогам:

- містити всі необхідні джерела макро- та мікроелементів та, якщо потрібно, вітаміни та фактори росту;

- усі сполуки, що входять до їх складу, повинні бути в певній збалансованій пропорції;- містити необхідну кількість води;

- мають оптимальні значення рН та Еh для мікроорганізмів;- бути ізотонічними, тобто мати такий же осмотичний тиск, що і внутрішнє середовище мікробної клітини;

- бути стерильним. Середовища, що використовуються в мікробіології, поділяються на групи за такими критеріями: походження, консистенція, призначення. Рідкі середовища використовуються для накопичення біомаси або метаболітів мікроорганізмів, для визначення їх фізіологічних та біохімічних характеристик тощо. Напіврідкі середовища містять від 0,75% до 1% агар-агару (полісахарид, отриманий з бурих водоростей, температура плавлення близько 100 ° С) або 5% до 7,5% желатину (білкові речовини, отримані з сполучної тканини тварин, температура плавлення 25 ° В) і використовуються для визначення утворення газів та характеру росту мікроорганізмів [30].

Щільні середовища містять 1,5–2% агар-агару або 10–15% желатини. Вони використовуються для виділення чистих культур мікроорганізмів, вивчення їх культуральних особливостей та антагоністичних властивостей.

Сипучі середовища (розварене зерно, а також сипучі субстрати, просочені поживними речовинами) використовуються, як правило, в промисловості.

Натуральні середовища мають рослинне або тваринне походження та невизначений склад. До них належить м'ясо-пептонний бульон (МПБ), м'ясо-пептонний агар (МПА), м'ясо-пептонна желатина та ін.

Синтетичні середовища готуються з певних хімічно чистих речовин у точно вказаних концентраціях. Вони мають визначений склад і легко відтворюються.

Напівсинтетичні середовища мають частково невизначений склад. Вони містять як хімічно чисті сполуки (вуглеводи, фосфати, нітрати), так і компоненти з не встановленим чітко складом (дріжджовий екстракт, пивне сусло, пептон).

Для ідентифікації бактерій застосовуються різні методи [30].

Метод визначення молочнокислих бактерій ґрунтується на здатності мезофільних молочнокислих бактерій розвиватися у знежиреному молоці за температури 30 °С, а термофільних – при 40 °С і утворювати згусток протягом 72 год. Вибір розведень для посівів, кількість продукту, який засівають, встановлюють з урахуванням найбільш вірогідного вмісту цих мікроорганізмів у продукті. Із кожної проби роблять до 10 послідовних розведень. Із останніх 3...4 розведень вносять по 1 см<sup>3</sup> у дві паралельні пробірки зі стерильним знежиреним молоком. Пробірки з посівами поміщають у термостат і витримують при 30 °С для обліку мезофільних молочнокислих бактерій або за температури 40 °С для обліку термофільних молочнокислих бактерій. Посіви витримують 72 год. За цей час молоко, у якому містились молочнокислі бактерії, згортається. Із згустку готують мікроскопічний препарат. Для приготування препарату на чисте предметне скло наносять стерильною петлею невелику краплю досліджуваного продукту і розподіляють на площі близько 1 см<sup>3</sup>. Препарат висушують за кімнатної температури, фіксують у полум'ї пальника і забарвлюють метиленовим блакитним через фільтрувальний папір. При визначенні кількості молочнокислих лактококів і/або стрептококів і/або паличок, за мікроскопічним препаратом відмічають три останніх розведення, в яких є ці мікроорганізми [31].

Таблиця 2.8

Найбільш вірогідне число мікроорганізмів

Числова характеристика	Найбільш вірогідне число мікробів при засіванні двох паралельних пробірок	Числова характеристика	Найбільш вірогідне число мікробів при засіванні двох паралельних пробірок
120	2	210	6
121	3	211	13,6
122	-	212	20
200	2,5	220	25
201	5	221	70

202	-	222	110
-----	---	-----	-----

Спочатку складіть числову характеристику. Він складається з трьох цифр, які показують кількість молочних пробірок, які згорнулися за останні три розведення. Перша цифра числової характеристики відповідає розведенню, до якого згущувалось молоко у двох пробірках. Наведені нижче цифри вказують кількість молочних балонів, які згорнулися в останніх двох розведеннях. Відповідно до числової характеристики, знайдіть у таблиці 2.8 [31] найбільш вірогідну кількість мікроорганізмів, яка множитья на розведення, з якого починається перша цифра характеристики. Отримане число відповідає кількості клітин молочнокислих бактерій в 1 г або 1 см продукту.

Поживне середовище, таке як гідролізоване молоко, використовується для вирощування молочнокислих бактерій. Він готується наступним чином. Натуральне або відновлене знежирене молоко кип'ятять або готують на пару протягом 20 хв і охолоджують до температури  $(45 \pm 2)^\circ \text{C}$ . Відрегулюйте активну кислотність до рН  $(7,7 \pm 0,1)$ , додавши водний розчин з масовою часткою 40% NaOH . До 1000 см<sup>3</sup> молока додають 0,5-1,0 г порошку панкреатину. Потім до молока додають від 5 до 6 см<sup>3</sup> хлороформу. Колбу закривають пробкою і витримують при температурі  $(40 \pm 2)^\circ \text{C}$  протягом 18-24 годин. Протягом перших 3-5 годин молоко струшують 2-3 рази (кришку відкривають для видалення хлороформу після змішування) [31].

Потім гідролізоване молоко фільтрують через паперовий фільтр, розбавляють дистильованою водою у співвідношенні 1: 1, встановлюють рН активної кислотності  $(7,1 \pm 0,1)$ , додають водний розчин з масовою часткою 40% NaOH і використовується для приготування гідролізованого молочного агару. У разі зберігання гідролізоване молоко стерилізують в автоклаві при температурі  $(121 \pm 1)^\circ \text{C}$  протягом 15 хвилин. Для приготування гідролізованого молочного агару беруть гідролізоване молоко в кількості 1000 см<sup>3</sup> і 15 г агару. До гідролізованого молока додають агар, середовище нагрівають до повного розплавлення агару та фільтрування через ватний диск, виливання в пробірки або колби та стерилізацію в автоклаві при  $(121 \pm 1)^\circ \text{C}$  протягом  $(10 \pm 1)$  хвилин. Для самої культури

*Lactococcus lactis* використовується живильне середовище Редді, яке готується наступним чином. Спочатку підготуйте основу для середовища Редді. У колбу, що містить 500 см<sup>3</sup> дистильованої води, додають 15,0 г агару і нагрівають на водяній бані, поки агар не розчиниться. В іншу колбу, що містить 500 см<sup>3</sup> дистильованої води, додають 10,0 г цитрату калію і 15,0 г карбоксиметилцелюлози і розчиняють при нагріванні. Вміст обох колб змішують і додають 3,0 г пептону, 25 см<sup>3</sup> дріжджового екстракту, 1,25 г двозаміщеного фосфату калію, 5,0 г L-аргініну гідрохлориду, нагрівають на водяній бані. До повного розчинення компонентів, охолодити до температури 45-55 ° С і відрегулювати рН так, щоб після стерилізації він становив 25 ° С (6,3 ± 0,2). Середовище стерилізують при (121 ± 1) ° С протягом 15 хв і зберігають при (4 ± 1) ° С не більше 30 днів.

Поживне середовище MRS (розроблене ДеМан-Рогозою-Шарпом у 1960 р.) Призначене для виділення та вирощування лактококів. Згідно з рецептом на 1000 мл дистильованої води (г), беруть таку кількість інгредієнтів: дріжджовий екстракт - 4,0; екстракт-10,0 гідролізований казеїн 10,0; глюкоза - 20,0; цитрат амонію (двозаміщений) -2,0; ацетат натрію -5,0; K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> -2,0; MgSO<sub>4</sub> • 7H<sub>2</sub>O -0,2; MnSO<sub>4</sub> • 4H<sub>2</sub>O -0,05; іноді також: сорбінова кислота - 0,4; цистеїн HCl - 0,4. Для отримання щільного середовища додають 20 г агару. [32]Компоненти розчиняють у воді, доводять рН до 6,2-6,5 і стерилізують в автоклаві при 0,5 атм. протягом 20-30 хвилин. Для приготування живильного молочного середовища для культури лактококів на 1000 мл дистильованої води (г) беруть знежирене сухе молоко -100; цитрат натрію -1,5; глюкоза -10; агар -20; Сухе знежирене молоко містить жиру - 1%, білка - 36%, лактози -52%, мінеральних речовин - 6%. Казеїн у молоці утворює буферну систему, яка пов'язує велику кількість метаболітів кислоти з казеїнатами. Щоб запобігти коагуляції казеїну в молочній основі, вводять розчин цитрату натрію, який має сильні стабілізуючі та буферні властивості. Вміст лактози та глюкози підвищують властивості росту живильного середовища.

Середовище для виділення молочнокислих бактерій (за даними Нетрусової А.І.)

Для отримання овочевого відвару зі 100 г свіжої подрібненої капусти або моркви залийте 1 літр дистильованої води і кип'ятіть 30 хвилин. Фільтрують відвар через ватно-марлевий фільтр, а потім доводять об'єм фільтрату водопровідною водою до 1 літра.

На 1000 мл овочевого бульйону (г): дріжджовий автолізат 10,0; пептони -10,0; глюкоза -20,0;

Стерилізуйте середовище в автоклаві при 0,5 атм. протягом 20-30 хв. Інокують рідким середовищем субстрату через 18-24 год культури, отримуючи 8-16% етилового спирту. Щоб приготувати щільне середовище такого ж складу, додайте 2% агару та 4% подрібненої крейди та автоклавуйте при 0,5 атм. Протягом 20-30 хвилин. Не додавати алкоголь. Коли молочнокислі бактерії ростуть у цьому середовищі, вони утворюють зону освітлення навколо колоній завдяки перетворенню нерозчинного карбонату кальцію в розчинний лактат кальцію [32].

Стерилізоване знежирене молоко. Молоко містить усі поживні речовини, необхідні для розвитку гетеротрофних мікроорганізмів. Молоко без добавок містить приблизно 0,01% вільних амінокислот, що становить менше 20% амінокислот, що містяться в середовищі, що забезпечує оптимальний ріст бактерій. Щоб досягти нормального росту в середовищі, де основним джерелом азоту є молочний казеїн, організми повинні мати певну протеолітичну здатність [33]. Оскільки жир у молоці може негативно впливати на ріст деяких мікроорганізмів, молоко знежирюється. Для цього цільне молоко центрифугують протягом 15 хв при 700-1500 г, потім кип'ятять і відстоюють у холодильнику протягом 2 днів, а потім стерилізують в автоклаві при 0,5 атм. За 30 хвилин до стерилізації кислотність знежиреного молока не повинна перевищувати 22 ° Т, інакше воно буде згортатися. Під час автоклавування іноді спостерігається побуріння молока через карамелізацію лактози та пептонізацію казеїну. Під час тривалої стерилізації на дно випадає осад казеїну, який може бути частково пептонізований. Перегріте коричневе молоко не можна використовувати як середовище. Для росту молочнокислих мікроорганізмів знежирене молоко можна розбавляти водою у співвідношенні 2: 1.

Дослідження мікроорганізмів проводяться в живому або фіксованому (кольоровому) стані.

Живі препарати використовують для вивчення розміру, форми, будови, рухливості, характеру розмноження, зв'язку клітин з різними подразниками (хімічними, фізичними та ін.). Живі типи наркотиків бувають «подрібненими» та «висячими» у формі краплі. Такі препарати можна фарбувати лише наднизькими концентраціями барвників, від 0,0001% до 0,001%. Для того, щоб побачити форму багатьох мікроорганізмів (особливо дрібних та слабозабарвлених), їх потрібно розфарбувати. Для цього використовують препарати фіксованого кольору. Такі препарати готуються в кілька етапів: мазок, підсушування, фіксація та фарбування. Застосування різних барвників, їх концентрація та тривалість дії визначаються характеристиками досліджуваних структур, завданням дослідження (яку із структур слід ідентифікувати) та властивостями барвників [33].

У мікробіологічній практиці використовуються прості (за допомогою одного фарбника) та складні методи фарбування (за допомогою кількох фарбників). Найважливіше діагностичне значення має метод фарбування за Грамом. По відношенню до фарбування за Грамом всі мікроорганізми діляться на дві групи: грампозитивні (Г+, фірмакутні) та грамнегативні (Г-, грацилікутні).

Існує також група грамваріабельних мікроорганізмів, у яких відношення до фарбування за Грамом змінюється впродовж росту та розвитку клітин (наприклад, коринеподібні бактерії). Сутність цього методу полягає в тому, що барвники трифенілметанового ряду (генціан фіолетолвий, кристалічний фіолетовий та метиловий фіолетовий) у комплексі з йодом затримуються клітинними стінками Г+ бактерій навіть при знебарвлюванні спиртом. Такі бактерії залишаються забарвленими у синьо-фіолетовий колір. Г– ж бактерії при дії спирту знебарвлюються і їх виявляють додатково забарвлюючи контрастним барвником (водним фуксином). Тобто, Г- бактерії стають червоно-рожевими.

Тому метод фарбування за Грамом заснований на особливостях хімічного складу та структури клітинних стінок бактерій. Коли бактерії обробляють спиртом, пептидоглікан набрякає, а діаметр пір клітинної стінки зменшується, що, як

правило, призводить до зменшення проникності клітинної стінки. Оскільки бактерії Г + характеризуються високим вмістом муреїнового пептидоглікану (50-80%, а іноді і до 95% загальної маси клітинної стінки), в результаті лікування алкоголем їх стінки стають майже непроникними для барвників і не витік. У бактеріях Г вміст пептидоглікану низький (5-10% від загальної маси клітинної стінки), тому під дією алкоголю його проникність лише збільшується за рахунок розчинення та вимивання ліпідного шару клітинної стінки. (що досягає 22% загальної маси). Оскільки головну роль у фарбуванні за Грамом відіграє клітинна стінка, протопласти бактерій Г + перетворюються на Г-. Сферопласти (клітини, в яких клітинна стінка частково відсутня або порушена) - усі Г-. Бактерії Г + і Г - розрізняють за рядом характеристик: структурні (товщина і високомолекулярна структура клітинної стінки, структурні елементи клітини); хімічні (вміст і склад пептидогліканів, полісахаридів, білків, ліпополісахаридів клітинних стінок); фізіологічні (щодо барвників, поверхневого натягу, тиску, ультразвуку, ізоелектричної точки, стійкості до дії кислот та лугів та ін.). Як правило, більшість коків, спороутворюючих паличок є Г +.

Потрібно підкреслити, що фарбування за Грамом є діагностичною ознакою лише по відношенню до прокариот, які мають клітинну стінку, і не може бути використане у таксономії мікоплазм та еукаріот. Існує багато модифікацій методу фарбування за Грамом. Розглянемо одну з них – модифікацію Синьова. Виготовляють тонкий мазок з рівномірно розподіленими по поверхні скла клітинами, без скупчень (а особливо без шматочків агару), так як це перешкоджає оцінці результату фарбування. Мазок висушують на повітрі та фіксують жаром. На мазок кладуть папірець Синьова (з розчином кристалічного фіолетового). Наносять на папір воду та витримують 2-4 хв. Знімають папірці, зливають надлишок фарби. Не промиваючи препарат водою, наливають розчин Люголя на 1-2 хв. до почорніння препарату. Зливають надлишок розчину Люголя та наносять на препарат 1-2 краплини 96 % етилового спирту на 20-50 с.

Препарат швидко (щоб не збільшувати експозицію дії спирту) та ретельно промивають водою, додатково фарбують водним розчином фуксину протягом 2-



3 хв, промивають водою, висушують фільтрувальним папером та переглядають за допомогою мікроскопа з об'єктивом 90× та імерсійною системою [33].

#### **2.4. Висновки до розділу**

В даному розділі надано коротку характеристику продукті бджільництва, а саме меду натурального, пилка, прополісу та інших; особливу увагу приділено властивостям меду натурального та бджолиного підмору. Визначено багатий поживний склад цих продуктів та доречність використання цих продуктів в якості функціональних інгредієнтів. Зазначено, що якість меду в Україні регламентується ДСТУ 4497:2005 «Мед натуральний. Технічні умови».

Розглянуто морфологію та фізіологію *Lactococcus lactis* як одного з основних елементів заквасок для виробництва кисломолочних продуктів. З'ясовано, що для нормального росту і розвитку мікроорганізмів, як і будь-яким живим істотам, потрібні органічні і неорганічні субстрати, які надають їм енергію та матеріал для біосинтезу. Такими середовищами для *L. lactis* можуть бути поживне середовище MRS; середовище для виділення молочнокислих бактерій, стерильне знежирене молоко та інші. Також описані методи дослідження та ідентифікації бактерій.

## РОЗДІЛ 3

### ВПЛИВ ПРОДУКТІВ БДЖІЛЬНИЦТВА НА ЖИТТЄДІЯЛЬНІСТЬ *L. LACTIS*

#### 3.1. Вплив компонентів меду натурального на життєдіяльність *L. lactis*

Дослідженнями Семенової Н.О. вивчався вплив технологічних факторів, пов'язаних з внесенням закваски, на процес сквашування кисломолочних напоїв [21].

При підборі молочнокислих заквасок проводили в їх присутності сквашування нормалізованого молока з додаванням меду було вибрано наступні параметри сквашування: доза заквасок (*Lac. Lactis*, *Lac. lactis* + *B. bifidum*, *Str. thermophilus*, *Str. thermophilus* + *B. bifidum*, *Lbm. acidophilum*, *Lbm. acidophilum* + *B. bifidum*, *B. bifidum*, кефірна закваска) склала 3%, масова частка меду відповідно до розрахунку склала 10%, а температура сквашування – оптимальна для кожного виду закваски.

Оцінка органолептичних показників показала, що при однакових параметрах сквашування напої, отримані з використанням заквасок *Lac. lactis*, *Lac. lactis* + *B. bifidum* і *B. Bifidum*, мали приторно солодкий смак і недостатньо щільний згусток, а інші – в міру солодкий смак і щільний згусток. Кисломолочні напої, отримані з використанням *Lac. lactis* і *Lac. lactis* + *B. bifidum*, отримали низьку оцінку в порівнянні з іншими напоями. Це пояснюється тим, що *Lac. lactis* і *B. bifidum* є менш активними кислотоутворювачами, ніж *Str. thermophilus* і *Lbm. acidophilum*. В процесі сквашування кислий смак напоїв нівелював солодкий смак меду і в результаті отримані напої, що мають в міру солодкий смак.

Кисломолочні напої з додаванням меду за органолептичними показниками виявилися кращими за титрованої кислотності в межах від 90 до 110 ° Т – кефірний напій, від 90 до 100 ° Т – інші напої [34].

Динаміка зміни титрованої кислотності в процесі сквашування кисломолочних напоїв з медом різними заквасками показана на рисунку 7.

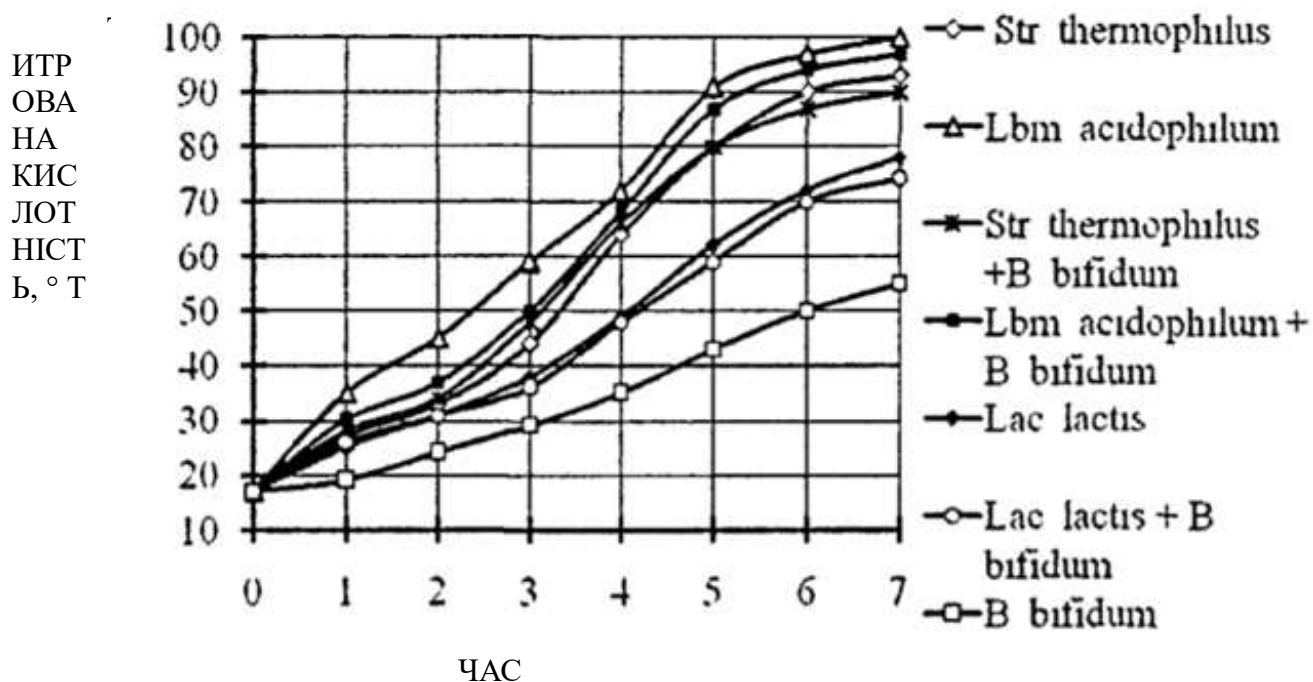


Рис. 3.1. Динаміка зміни титрованої кислотності в процесі сквашування кисломолочних напоїв з медом

### 3.2. Вплив компонентів бджолиного підмору на життєдіяльність *L. lactis*

Хітин – широко розповсюджений біополімер, що складається з  $\beta$  (1,4)- зв'язаного N- ацетилглюкозаміну, який забезпечує структурну та хімічну стійкість в екзоскелеті ракоподібних та членистоногих, а також у клітинній стінці грибів. Хітин існує майже виключно у нерозчинній кристалічній формі, яка комплексує з білками та / або мінералами, утворюючи міцний композиційний матеріал. У літературі описано три кристалічні поліморфи, що зустрічаються в природі: домінуючий поліморф  $\alpha$ -хітину (антипаралельна упаковка ланцюгів хітину);  $\beta$ -хітин (паралельна упаковка ланцюгів хітину); і незначний поліморфний  $\gamma$ -хітин (суміш паралельної та антипаралельної упаковки ланцюга). У природі хітину в надлишку перевищують лише структурні біополімери рослин (целюлоза та геміцелюлоза) і він є важливим джерелом енергії для різноманітних організмів [35].

Основними деградаторами хітину є мікроорганізми, які виділяють один або кілька хітин-руйнуючих ферментів (хітиназ). На основі послідовності та структури хітинази класифікуються на два окремі сімейства (18 та 19) глікозидгідролаз. Нещодавно, повний огляд трихідермальних хітиназ запропонував подальшу класифікацію сімейства 18 хітиназ на підгрупи А (бактеріальні / грибкові), В (рослинні / грибкові) та С (токсиноподібні хітинази-вбивці). Сімейства 18 хітиназ представлені в більшості живих організмів, тоді як ферменти сімейства 19 знаходяться здебільшого в рослинах, де вони сприяють захисту від хітинових збудників.

В результаті непокірливості хітинових матриць мікроорганізми розробили безліч взаємодоповнюючих стратегій для отримання доступу та розкладання окремих полімерних ланцюгів [35].

По-перше, ланцюги деградують як ендохітинази, які випадково атакують хітиновий ланцюг, так і екзохітинази, які атакують хітинові ланцюги як з відновлюючого, так і з невідновлюваного кінця. Оскільки ендо-діючі ферменти збільшують доступність субстрату для екзо-діючих ферментів, спостерігаються синергетичні ефекти. По-друге, деякі хітинази діють процесивно, тобто вони залишаються пов'язаними з одним і тим же полімерним ланцюгом, одночасно відщеплюючи послідовні димери (також званий механізмом багаторазової атаки). Процесивність вважається вигідною при деградації кристалічних субстратів, оскільки вона запобігає повторному зв'язуванню окремих полімерних ланцюгів з нерозчинним матеріалом. Більше того, більшість хітиназ, націлених на кристалічний хітин, оснащені додатковими хітинозв'язуючими доменами [їх також називають модулями або модулями, що зв'язують вуглеводи (СВМ)], які, як вважають, збільшують спорідненість ферменту до нерозчинного субстрату. На додаток до ферментного механізму, який розкладає полімери, мікроорганізми, що руйнують хітин, продукують N-ацетилгексозамінідаза (хітобіаза), яка перетворює хітобіозу в N-ацетилглюкозамін.

Нещодавно була визначена додаткова стратегія деградації хітину, яка передбачає секрецію негідролітичного білка, що зв'язує хітин (СВР), який діє

синергічно з хітиназами, імовірно, шляхом збільшення доступності субстрату. Ці негідролітичні білки класифікуються як сімейство 33 СВМ, але, за одним винятком, вони трапляються як окремі білки, а не як допоміжні домени в гідролітичних ферментах. Геномний аналіз показує, що секретоване сімейство 33 СВР виробляється більшістю мікроорганізмів, що руйнують хітин, але лише деякі з них характеризуються біохімічно. Дослідження зв'язування сімейних 33 СВР були проведені для СВР21 від *Serratia marcescens*, ChbV та Chb3 від *Streptomyces coelicolor*, СНВ1 від *Streptomyces olivaceoviridis*, СНВ2 від *Streptomyces reticuli*, СbpD від *Pseudomonas aeruginosa* та білків E7 та E8 від *Thermobifdia fusca*, що демонструє велику різноманітність переваг зв'язування. Функція сімейства 33 СВР вперше була продемонстрована для СВР21 від *S. marcescens*, а другий приклад нещодавно був описаний у дослідженні вуглеводв'язуючих білків та доменів *T. Fusca* [35].

Гени, що кодують сімейство 33 СВР, зустрічаються навіть у бактерій, що містять, здавалося б, прості хітинолітичні механізми, такі як молочнокисла бактерія (LAV) *Lactococcus lactis ssp lactis* IL1403. LAV є грампозитивними, факультативно, анаеробними, ферментативними бактеріями, які мають головне значення в харчовій промисловості для виробництва ферментованих продуктів. Загалом, про здатність LAV деградувати хітин відомо мало, але одне дослідження показало, що *L. lactis* здатний рости на мінімальному середовищі, що містить олігомери N-ацетилглюкозаміну як єдине джерело вуглецю. За даними бази даних CAZy, лише деякі з послідовних геномів LAV містять гени, які разом кодують повний хітинолітичний механізм. Послідовність геному *L. lactis* демонструє три гени, потенційно задіяні в обміні хітину, кодуючи наступне: секретоване сімейство 18 хітинази (назва гена chiA; білок, званий L1 Chi18A); секретоване сімейство 33 СВР (білок, званий L1 СВР33A); і сімейство 20 N-ацетилгексозамінази (LnbA). Chia і uucG гени розділяються на 19 bp в опероні, починаючи з передбачуваного регулятора транскрипції, розташованого на 166 bp вище за течією від стартового кодону хітинази.

У дослідженні дотримувались біохімічного підходу до питання, чи містить *L. lactis* функціональний хітинолітичний механізм. Гени, що кодують LI Chi18A та LI CBP33A, були клоновані та охарактеризовані генні продукти. На додаток до того, щоб дати уявлення про хітинолітичний потенціал *L. lactis*, нинішні результати дають лише третій приклад ролі сімейства 33 CBP у деградації непокірливих полісахаридів. Крім того, результати дають перший приклад сімейства 33 CBP, який сприяє деградації  $\alpha$ -хітину, найпоширенішої форми хітину в природі.

Окрім одного дослідження, яке показало, що *L. lactis* може рости на хито-олігосахаридах, нічого не відомо про здатність LABs метаболізувати хітин. Була спроба культивувати *L. lactis* IL1403 на мінімальному середовищі, що містить різні форми хітину як єдине джерело вуглецю. Хітинвмісні середовища (стерилізовані автоклавуванням) інокулювали клітинами з культури протягом ночі, яку промивали стерильним 0,9% сольовим буфером для видалення слідів глюкози. За цих умов бактерія не росла, і виявити хітинолітичну активність у супернатантах культури навіть після кількох днів інкубації дослідники не змогли [35].

Більшість мікроорганізмів при голоду виділяють різноманітні гідролітичні ферменти, щоб отримати доступ до нових джерел вуглецю. Для подальшого аналізу, чи буде *L. lactis* шукати хітин як альтернативне джерело вуглецю, бактерію вирощували в середовищі, що містить лише 0,1% (мас. / Об.) глюкози. Протягом періоду росту та періоду голодування відбирали зразки культури та аналізували їх на хітинолітичну активність. Виявлено хітинолітичну активність, що досягає максимуму через 7 год після щеплення. Через 7 год хітинолітична активність знизилася, але все ще залишалася значною. Виявити хітинолітичну активність у неінокульованому культуральному середовищі або в культурах, вирощених із нормальною концентрацією глюкози, було неможливо.

Також з відкритих літературних джерел стало відомо, що вчені Айтекін та Елібол досліджували характеристики хітину з відходів креветок, використовуючи бактеріальну систему (окремі штами, а також їх спільну культуру) у присутності різних концентрацій глюкози.

*Lactococcus lactis*, продуцент протеази та морської бактерії *Teredinobacter turneraewere*, оцінювали порівняно з хімічною обробкою. *L. lactis* був більш ефективним у видаленні мінералів у порівнянні з *T. turnerae*, тоді як зворотнє стосувалося видалення білка. Порівняння врожайності процесів при цих обробках показало, що *L. lactis* і *T. turnerae*, що використовуються окремо, не є хорошим вибором для комерційної екстракції хітину. Навпаки, у всіх процесах спільної культури значення ДМ були вище, ніж при монокультивуванні при тому ж рівні глюкози.

Найвищий урожай у процесі (95,5%) був отриманий при спільному культивуванні двох бактерій, *T. turinae-L. lactis*, у середовищі, що містить 5% глюкози. Екстракція хітину не була повною, як при хімічному способі. Однак шкаралупи креветок були демінералізовані та депротейнізовані значною мірою. Ці результати свідчать про те, що біологічне оброблення може бути альтернативою хімічному методу.

### 3.3. Висновки до розділу

В цьому розділі нами було проаналізовано літературні джерела, що стосуються теми нашої роботи. Визначено, що Семеновою Н.О. за характером процесу сквашування кисломолочних напоїв із додаванням меду, а саме динаміці зміни кислотності в процесі сквашування, досліджувався його вплив на розвиток *L. lactis*.

Розглянуто дослідження, яке присвячене вивченню послідовності геному *L. lactis*, що містить три гени, потенційно задіяні в обміні хітину, оскільки він є основним компонентом бджолиного підмору. Також розглянуто результати дослідження таких вчених, як Айтекін та Елібол, які вивчали процес спільного культивування *L. lactis* та *Teredinobacter* на мінімальних середовищах, що містить хітин з відходів креветок як єдине джерело вуглецю.

## ВИСНОВКИ

В даній роботі було розглянуто статистичні дані та визначено, що екологічний стан в Україні призводить до збільшення захворюваності населення забруднювачами, що викидаються переважно в навколишнє повітря, є оксид азоту, оксид вуглецю, діоксид та інші сполуки сірки, пилу.

Визначено, що одним із засобів вирішення проблеми захворюваності є створення функціональних продуктів харчування. До функціональних продуктів відносять продукти, які здійснюють позитивний вплив на здоров'я людини при їх регулярному споживанні в ефективних дозах. Крім поживних інгредієнтів вони містять функціональні інгредієнти, які здійснюють біологічно значущий позитивний вплив на організм людини, що допомагає адаптуватись до впливу зовнішнього середовища, запобігти виникненню захворювань та попередити завчасне старіння.

Охарактеризовано властивості меду та деяких інших продуктів бджільництва як функціональних інгредієнтів. Визначено, що вони є джерелами різних корисних речовин цінним джерелом вуглеводів, вітамінів, антиоксидантів і біологічно активних протеїнів, і саме тому вони є перспективними компонентами для функціональних продуктів, зокрема кисломолочних. Оскільки складовою багатьох заквасок для цих продуктів є *Lactococcus lactis*, тому важливо досліджувати вплив продуктів бджільництва на її життєдіяльність.

Було проаналізовано результати взятих з відкритих джерел досліджень, які стосуються теми нашої роботи. Визначено, що вплив меду досліджувався за характером процесу сквашування кисломолочних напоїв із додаванням меду, а саме динаміці зміни кислотності в процесі сквашування.

Нами було проаналізовано літературні джерела, що стосуються властивостей хітину та його впливу на розвиток *L. lactis*. Встановлено, що основним компонентом бджолиного підмору є хітин. Розглянуто дослідження, яке присвячене вивченню



послідовності геному *L. lactis*, що містить три гени, потенційно задіяні в обміні хітину.

Досліджень, присвячених впливу хітину саме бджолиного підмору на життєдіяльність *L. lactis* не знайдено, але вчені Айтекін та Елібол досліджували процес спільного культивування *L. lactis* та *Teredinobacter* на мінімальних середовищах, що містить хітин з відходів креветок як єдине джерело вуглецю. Була спроба культивувати *L. lactis* на мінімальному середовищі, За цих умов бактерія не росла, і виявити хітинолітичну активність у супернатантах культури навіть після кількох днів інкубації дослідники не змогли.

Таким чином, можна сказати, що вивчивши результати розглянутих досліджень, ми узагальнили наше уявлення про взаємодію окремих компонентів продуктів бджільництва та молочнокислих бактерій, зокрема *L. lactis*, та визначили необхідність подальших практичних досліджень у цьому напрямку.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Administration of lactobacilli and bifidobacteria on *Apis mellifera* L. beehives to increase health of the bee super-organism / Alberoni D, Baffoni L, Gaggia F.]. – Chicago:, 2015. – 108 p.

2. Beneficial microorganisms for honey bees: problems and progresses [Електронний ресурс] // Appl Microbiol Biotechnol. – 2016. – Режим доступу до ресурсу: <https://doi.org/10.1007/s00253-016-7870-4>.

3. Caplice E. Food fermentations: role of microorganisms in food production and preservation / Caplice E, Fitzgerald G. – Madrid: Int. J. Food Microbiol., 1999. – 150 p.

4. Підмор бджолиний, його властивості [Електронний ресурс] // Монографії видані в Україні. – 2016. – Режим доступу до ресурсу: [https://medova.poltava.ua/blog/pidmor\\_bdzholinij/2021-01-29-6](https://medova.poltava.ua/blog/pidmor_bdzholinij/2021-01-29-6).

5. Hugenholtz, J. *Lactococcus lactis* as a cell factory for the production of high levels of diacetyl / Hugenholtz, J., 2000. – 347 p.

6. Ткаченко Н. А. Ветеринарно-санітарна та технологічна експертиза молока / Ткаченко Н. А., Чагаровський О. П., Ланженко Л. О. – Рівне: Овід, 2018. – 235 с.

7. Показники здоров'я населення. Стан здоров'я населення [Електронний ресурс] // Центр медичної статистики Міністерства охорони здоров'я України. – 2018. – Режим доступу до ресурсу: <http://medstat.gov.ua/ukr/MMXIV.html>.

8. Зубар Н.М. Основи фізіології та гігієни харчування / Зубар Н.М.. – Київ: Центр учбової літератури, 2010. – 260 с

9. Канарейкина С.Г. Пастеризованные молочные напитки из сухого кобыльего молока / Канарейкина С.Г.// Актуальная биотехнология. – 2013. – №7. – С. 17

10. Кім Зн Рен. Диференціація підвидів *Lactococcus lactis* підвидів *lactis* та підвидівза їх адаптивною реакцією на стреси / Кім Зн Рен, Джен Данн Пн. – Шеньчжень: FEMS мікробіол, 1999. – 172 с
11. Кумар Р.О. Огляд хітину та хітозану / Кумар Р.О. – Рим: React Funct Polym, 2000. – 189 с.
12. Литвинова А.А. Разработка технологии желеиноого мармелада на основе пасты из топинамбура и натурального меда : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. техн. наук / Литвинова, А.А. – Воронеж, 2013. – 205 с
13. ДСТУ 4497:2005. Мед натуральний.– Київ : Держспо живстандарт України, 2005. 21 с.
14. Ващенко В.О. Методичні вказівки до лабораторних робіт з технічної мікробіології для студентів напрямку підготовки 6091501 «Харчові технології та інженерія» / Ващенко В.О. – Харків: НТУ «ХПІ», 2008. – 89 с.
15. Нетрусов А.И. Практикум по микробиологии / Нетрусов А.И., Егорова М.А. – Москва: «Академия», 2005. – 608 с.
16. Омаров Ш. Апитерапия: продукты пчеловодства в мире медицины / Ш. М. Омаров. – Ростов: Феникс, 2009. – 350 с.
17. Стратегія державної екологічної політики України. // Відомості Верховної Ради України. – 2011. – №26. – С. 38.
18. Семенова Н.А. Исследование влияния пчелиного меда на размножение бифидобактерий в кисломолочном напитке / Семенова Н.А., Перова Н.А. – Кемерово: КемТИПП, 2007. – 172 с.
19. Синяков А. Ф. Мед и медолечение / 19. Синяков А. Ф. – Москва: Вече, 2000. – 464 с.
20. Смоляр В. І. Фізіологія та гігієна харчування / Смоляр В. І.. – Київ: Здоров'я, 2000. – 306 с
21. Стеблов И. И. Медовые рецепты. Пчелиный подмор, эликсир молодости, медовый массаж, золотая глина / Стеблов И. И. – Санкт-Петербург: АреаллПринт, 2005. – 209 с.

22. Єрмакова О. Д. Технологія отримання екстракту із бджолиного підмору / Єрмакова О. Д., Синчикова Б. П. // Біотехнологія. – 2010. – №2. – С. 105.
23. Уголев А. М. Теорія адекватного харчування і Харчова промисловість / Уголев А. М. – Санкт-Петербург: Наука, 1991. – 271 с.
24. Шлегель Г. Общая микробиология./ Шлегель Г. П. – Москва : Высшая школа, 1987. – 239 с.
25. Ротмистров М. Н. Большой практикум по микробиологии / Ротмистров М.Н., Гвоздяк П.И. – Москва: Высшая школа, 1962. – 174 с.
26. Перова Н.А. Роль кисломолочных продуктов в питании человека / Перова Н.А. – Кемерово: КемТИПП, 2006. – 264 с.
27. Мишустин Е.Н. Микробиология / Мишустин Е.Н, Емцев В.Т. – Москва: Колос, 1970. – 203 с.
28. Канарейкина С.Г. Кобылье молоко – уникальное сырьё для продуктов здорового питания / Канарейкина С.Г., Канарейкин В.И. // Оренбургского государственного аграрного университета. – 2016. – №4. – С. 162.
29. Чорна Т. М. Мікробіологія : навчальний посібник / Чорна Т. М.. – Ірпінь: УДФСУ, 2020. – 451 с.
30. Jawan R.T. In vitro evaluation of potential probiotic strain *Lactococcus lactis* Gh1 and its bacteriocin-like inhibitory substances for potential use in the food industry. / Jawan R.T., Abbasiliasi S.R.. – Hong Kong: Probiotics Antimicrob, 2020. – 357 p.
31. Todorov S. D. Partial characterization of bacteriocins produced by three strains of *Lactobacillus* / Todorov S. D., Vaz-Velho M.S. – Braga: Food Control, 2013. – 241p.
32. Канарейкина С. Г. Разработка линейки молочно-растительных йогуртов / Канарейкина С.Г., Канарейкина В. И. – Оренбург: Оренбургского государственного университета., 2016. – 321 с.
33. Квасников Е. И. Биология молочнокислых бактерий / Квасников Е. И.– Минск: БГУ, 2013. – 232 с.
34. Muzarelli R.A. Chitin handbook / Muzarelli R.A. – Rome: European Chitin Society, 2010. – 214 p.

35.Ленгелера Г.О. Современная микробиология / Ленгелера Г.О. – Москва:  
Мир, 2007. – 281 с.