

О.С. Кузнецова, канд. техн. наук  
И.С. Хамагаева, д-р техн. наук, проф.

УДК 637.146.1:546.23

## ИССЛЕДОВАНИЕ СРОКОВ ХРАНЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КОНЦЕНТРАТОВ, ОБОГАЩЕННЫХ СЕЛЕНОМ

*Изучены сроки хранения бактериальных концентратов бифидобактерий и пропионовокислых бактерий, обогащенных селеном.*

**Ключевые слова:** селен, пропионовокислые бактерии, бифидобактерии.

O.S. Kuznetsova, PhD, I.S. Hamagaeva, Dr. of Tech. Sci., Prof.

## SHELF LIFE STUDY OF BACTERIAL CONCENTRATES ENRICHED WITH SELENIUM

*The article is devoted to bacterial concentrates of bifidobacteria shelf life study and propionic acid bacteria enriched with selenium.*

**Key words:** selenium, propionic acid bacteria, bifidobacteria.

В последнее время возрос интерес исследователей к микроэлементу селену. Селен играет огромную роль во многих жизненно важных процессах организма человека. Основными функциями селена являются разрушение гидроперекисей и перекисей липидов и защита организма от оксидантного стресса. Также селен определяет активность целого ряда важнейших ферментов. Дефицит селена является одним из факторов риска возникновения злокачественных новообразований, заболеваний сердца и сосудов, болезней суставов, катаракты. Селен – необходимый для жизни, но в определенных концентрациях достаточно токсичный элемент, участие которого в метаболизме довольно интенсивно изучается [1].

Способностью накапливать селен обладает широкий ряд представителей царства растений, животных, грибов и прокариот. Однако в качестве наиболее удобных объектов для биотехнологического получения селена в органической форме в настоящее время рассматривают одноклеточные микроорганизмы как эукариотической, так и прокариотической природы.

Ранее нами было установлено [2], что пропионовокислые бактерии и бифидобактерии, как представители прокариотической природы, обладают высокой устойчивостью к селениту натрия, и являются перспективными объектами для получения новых пищевых форм селена. Также было выявлено, что при добавлении селенита натрия в питательную среду для культивирования увеличивается концентрация экзополисахаридов и антимуtagenных веществ. Была разработана технология получения бактериальных концентратов пропионовокислых бактерий и бифидобактерий, обогащенных селеном [3]. Полученные бактериальные концентраты пробиотических микроорганизмов содержат селен в биологически активной форме, характеризуются высоким содержанием жизнеспособных клеток бифидобактерий и пропионовокислых бактерий. Они могут быть рекомендованы для непосредственного употребления в качестве биологически активных добавок к пище для профилактики и в комплексной терапии при селенодефицитных состояниях.

Сроки хранения являются важной характеристикой любого продукта. В связи с этим целью настоящего исследования явилось изучение влияния сроков хранения на количество жизнеспособных клеток пробиотических микроорганизмов и концентрацию селена.

Бактериальные концентраты хранили при температуре  $4\pm 2^\circ\text{C}$ . На первом этапе изучали влияние сроков хранения на количество жизнеспособных клеток бифидобактерий в селеносодержащих бактериальных концентратах. Данные исследования представлены в таблице 1.

Как показывают данные таблицы 1, при хранении бактериальных концентратов в течение двух месяцев количество клеток бифидобактерий оставалось таким же при всех концентрациях селенита натрия. При более продолжительном хранении данных концентратов, до 4-х месяцев, количество жизнеспособных клеток практически не меняется. При хранении до шести месяцев происходит незначительное понижение количества клеток. Так, при концентрации селенита натрия 0,92 мкг/мл количество клеток понижается от  $4\cdot 10^{11}$  до  $1\cdot 10^{11}$ , при концентрации 1,84 мкг/мл – от  $9\cdot 10^{11}$  до  $3\cdot 10^{11}$ , при концентрации 2,76 мкг/мл – от  $7\cdot 10^{11}$  до  $2\cdot 10^{11}$ , при концентрации 3,68 мкг/мл – от  $1\cdot 10^{11}$  до  $8\cdot 10^{10}$ . При этом в

контрольном образце происходит более значительное снижение роста клеток – от  $8 \cdot 10^{11}$  до  $7 \cdot 10^{10}$ . При хранении до 10 месяцев количество клеток уменьшается до  $10^9$ , в контроле – до  $10^8$ .

Таблица 1

Изучение сроков хранения бактериального концентрата бифидобактерий, обогащенного селеном

Доза селена, мкг/мл	Продолжительность хранения, мес.					
	0	2	4	6	8	10
Контроль	$8 \cdot 10^{11}$	$6 \cdot 10^{11}$	$1 \cdot 10^{11}$	$7 \cdot 10^{10}$	$1 \cdot 10^9$	$1 \cdot 10^8$
0,92	$4 \cdot 10^{11}$	$3 \cdot 10^{11}$	$2 \cdot 10^{11}$	$1 \cdot 10^{11}$	$9 \cdot 10^{10}$	$7 \cdot 10^9$
1,84	$9 \cdot 10^{11}$	$8 \cdot 10^{11}$	$6 \cdot 10^{11}$	$3 \cdot 10^{11}$	$9 \cdot 10^{10}$	$8 \cdot 10^9$
2,76	$7 \cdot 10^{11}$	$6 \cdot 10^{11}$	$4 \cdot 10^{11}$	$2 \cdot 10^{11}$	$8 \cdot 10^{10}$	$9 \cdot 10^9$
3,68	$1 \cdot 10^{11}$	$1 \cdot 10^{11}$	$9 \cdot 10^{10}$	$8 \cdot 10^{10}$	$6 \cdot 10^{10}$	$7 \cdot 10^9$

На следующем этапе изучали влияние сроков хранения на количество жизнеспособных клеток пропионовокислых бактерий в селенированных бактериальных концентратах. Данные, полученные в результате исследования, представлены в таблице 2.

Таблица 2

Изучение сроков хранения бактериального концентрата пропионовокислых бактерий, обогащенного селеном

Доза селена, мкг/мл	Продолжительность хранения, мес.					
	0	2	4	6	8	10
Контроль	$6 \cdot 10^{12}$	$6 \cdot 10^{12}$	$5 \cdot 10^{12}$	$1 \cdot 10^{12}$	$9 \cdot 10^{10}$	$1 \cdot 10^9$
0,92	$7 \cdot 10^{12}$	$7 \cdot 10^{12}$	$6 \cdot 10^{12}$	$2 \cdot 10^{12}$	$2 \cdot 10^{11}$	$1 \cdot 10^{10}$
1,84	$8 \cdot 10^{12}$	$8 \cdot 10^{12}$	$7 \cdot 10^{12}$	$3 \cdot 10^{12}$	$3 \cdot 10^{11}$	$3 \cdot 10^{10}$
2,76	$2 \cdot 10^{12}$	$2 \cdot 10^{12}$	$1 \cdot 10^{12}$	$8 \cdot 10^{11}$	$2 \cdot 10^{10}$	$1 \cdot 10^{10}$
3,68	$2 \cdot 10^{12}$	$1 \cdot 10^{12}$	$8 \cdot 10^{11}$	$2 \cdot 10^{11}$	$4 \cdot 10^{10}$	$1 \cdot 10^{10}$

Из данных таблицы 2 видно, что в течение 6 месяцев хранения концентратов пропионовокислых бактерий, обогащенных селеном, произошли незначительные изменения содержания жизнеспособных клеток по сравнению с контролем. Но при более продолжительном хранении – до 10 месяцев количество клеток уменьшается до  $10^{10}$  при всех изученных концентрациях, при этом в контрольном образце количество клеток уменьшается до  $10^9$ .

Таким образом, селенобогатые бактериальные концентраты обладают более длительным сроком хранения. Известно, что при хранении жидких бактериальных концентратов даже при низкой температуре (4-6)<sup>0</sup>C происходит уменьшение количества жизнеспособных клеток, так как происходит изменение pH и в связи с этим окислительные процессы протекают особенно быстро. При обогащении селеном эти окислительные процессы вероятно замедляются, так как известно, что соединения селена обладают антиоксидантными свойствами [4]. Селен вовлечен в значительное количество биохимических процессов, наиболее важные из них - репродукция РНК и ДНК, включение в активные центры глутатионпероксидазы, форматдегидрогеназы, глутатионредуктазы и пероксидазы. В процессе обмена веществ возникают определенные взаимоотношения между селеном и серосодержащими аминокислотами, как компонентами антиокислительной системы. Восстановленный глутатион и селенсодержащая глутатионпероксидаза (ГП) предотвращают повреждение биоструктуры. При этом пополнение глутатиона осуществляют серосодержащие аминокислоты. Селен участвует в разрушении свободных радикалов через ферментную систему. Эффективное удаление свободных радикалов обеспечивает сохранение целостности мембран клеток, замедляет процесс отмирания клеток.

На следующем этапе исследовали влияние сроков хранения на содержание селена в селенированных концентратах. Концентрацию селена определяли флуориметрическим методом (МУК 4.1.033-95). Метод основан на том, что селенистая кислота реагирует с 1-диаминами с образованием диазоселенола, который обладает флуорисценцией. Содержание селена определяют данным методом с использованием мокрого сжигания образцов смесью азотной и хлорной кислот и флуориметрирования комплекса селенистой кислоты с 2,3-диаминонафталином. В качестве стандартов применяли лиофилизированную сыворотку крови №23-КТ (фирма Nirpan, Осло) с содержанием селена 72 мкг/л.

Данные исследований представлены на рисунке 1. Как видно из рисунка 1, в течение трех месяцев происходит незначительное понижение концентрации селена в бактериальных концентратах. Содержание селена в бактериальном концентрате бифидобактерий снизилось на 7,6 %, а в бактериальном концентрате пропионовокислых бактерий на 9,7 %.

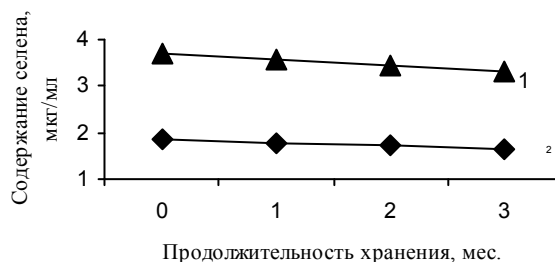


Рис. 1. Зависимость концентрации селена от сроков хранения (1- бифидобактерии, 2- пропионовокислые бактерии)

Несущественное изменение количества селена можно объяснить тем, что селен в бактериальных концентратах находится в связанном состоянии, что препятствует его улетучиванию. Согласно современным представлениям селен поступает в клетку с участием тех же транспортных систем, что и сера, и включается в обмен серы, заменяя ее в метионине и цистеине. Неорганические селенит- и селенат-ионы при поступлении в клетку подвергаются быстрому восстановлению до селеноводорода и его алкильных производных. Эти соединения гидрофобны и могут входить в состав липофильной внутриклеточной фракции биомассы. Строго определенные количества селена через промежуточную стадию селенофосфата включаются в селенсодержащие аминокислоты, а затем в специфические селенопротеины. Применительно к остатку селеноцистеина механизм такого включения детально исследован. Установлено, что он определяется наличием в составе мРНК триплета UGA в сочетании со специфическим нетранслируемым петлевым фрагментом Se-CYS. В процессе включения остатка селеноцистеина в белок участвует специфическая сериновая UGA-тРНК длиной 95 нуклеотидов и 4 фактора трансляции Sel-A, B, C и D. У прокариот этот нуклеотидный участок расположен в непосредственной близости от триплета UGA, в отличие от эукариот, где они разделены по крайней мере 1200 остатками нуклеотидов. Предполагают также, что как у прокариот, так и у эукариот процесс включения Sec в белковую цепь осуществляется в момент непосредственной близости этих двух участков, когда вследствие конформационного перехода происходит перекодирование кодона UGA и вместо останков синтеза белка полипептидная цепочка достраивается на остаток Sec.

Таким образом, обогащение селеном способствует увеличению сроков хранения бактериальных концентратов пробиотических микроорганизмов.

#### Библиография

1. Гореликова Г.А., Маюрникова Л.А., Позняковский В.М. Нутрицевтик селен: недостаточность в питании, меры профилактики (обзор) // Вопр. питания. - 1997.-№5.- С.18-21.
2. Хамагаева И.С., Кривоносова А.В., Кузнецова О.С. Биологически активные добавки, обогащенные эссенциальными микроэлементами. - Улан-Удэ: Изд-во ВСГТУ, 2009.
3. Патент RU № 2333655, A23C9/12, A23L1/304, C12N1/18, 20.09.2008.
4. Тутельян В.А. Голубкина Н.А., Кушлинский Н.Е., Соколов Я.А. Селен в организме человека: метаболизм, антиоксидантные свойства, роль в канцерогенезе. - М.: Изд-во РАМН, 2002. - 224 с.

#### Bibliography

1. Gorelikova G.A., Mayurnikova L.A., Poznyakovski V.M. Nutraceuticals Selenium: deficiency in nutrition, prevention (Review) // Questions of nourishment. – 1997. - №5. - P.18-21.
2. Hamagaeva I.S., Krivonosova A.V., Kuznetsova O.S. Food supplements, fortified with essential microelements. - Ulan-Ude, 2009.
3. Patent RU № 2333655, A23C9/12, A23L1/304, C12N1/18, 20.09.2008.
4. Tutelian V.A., Golubkina N.A., Kushlinski N.E., Sokolov Y.A. Selenium in the human body: the metabolism, antioxidant properties, role in carcinogenesis. – M.: Publishing House of Medical Sciences, 2002. - P. 224.