

предварительного этапа исследований была проведена отработка режима накопления биомассы бифидобактерий в обезжиренном молоке, включавшая определение оптимальной подготовки и дозировки инокулята, а также продолжительности процесса. В качестве перспективного был выбран вариант 2-суточной культуры, которая по уровню накопления жизнеспособных бифидобактерий (10^8 КОЕ/мл) была сопоставима с производственными бактериальными взвешями, получаемыми с помощью регламентированных питательных сред.

Экспериментальные образцы бактериальных суспензий, содержащие в качестве протектора молочную культуру бифидобактерий, получали с соблюдением стандартных соотношений всех компонентов высушиваемого материала. В исходной и лиофилизированной биомассе определяли содержание жизнеспособных клеток. Результаты исследований свидетельствуют о сохранении протективных свойств обезжиренного молока и о пропорциональном увеличении КОЕ в жидком и сухом вариантах биомассы экспериментальных образцов по сравнению с контролем. Полученный технологический эффект можно использовать для уменьшения объемной дозировки препарата и, следовательно, для сокращения длительности цикла сублимационного высушивания. Следует отметить, что молочная культура *B. bifidum* 1 может быть применена при разработке технологии комплексных бактериальных препаратов, включающей раздельное культивирование штаммов и их сведение на этапе подготовки бактериальной суспензии к лиофилизации.

Традиционный подход при подготовке бактериальной суспензии к лиофилизации в технологии пробиотиков базируется на использовании культур, находящихся в стационарной фазе роста и характеризующихся большей устойчивостью клеток к стрессовым воздействиям по сравнению с экспоненциальной фазой. На достижение стационарной фазы и максимальное накопление бактерий ориентированы режимы глубинного культивирования производственных штаммов. Этот классический подход позволяет эффективно использовать возможности периодического культивирования. В то же время известно, что физиологическое состояние клеток к началу наступления экспоненциальной фазы роста культуры характеризуется высоким адаптационным потенциалом, который обеспечивает высокую резистентность к неблагоприятным воздействиям. Возможность использования этих свойств бактериальной культуры, находящейся в лаг-фазе, применительно к условиям лиофилизации вызвала практический интерес.

Модуляция производственной бактериальной культуры, связанная с переходом из стационарной в лаг-фазу роста, предполагает использование питательного субстрата и, следовательно, снижение концентрации клеток на этом этапе и при последующем внесении защитной среды. Оработка технологического приема по управляемому трансфазовому переходу бактериальной культуры с помощью обезжиренного молока включала определение оптимального соотношения компонентов в получаемой суспензии и продолжительности ее инкубации при 37 °С. Полученные результаты свидетельствуют о том, что раз-

ведение культуры компенсируется повышением устойчивости клеток к лиофилизации.

Таким образом, комплексное использование питательных и протективных свойств молока представляется перспективным технологическим приемом.

ПОВЫШЕНИЕ ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОЦЕССА ЛЬОФИЛИЗАЦИИ В ТЕХНОЛОГИИ ПРОБИОТИКОВ

Несчислав В.А., Семченко А.В., Арчакова Е.Г.,
Моховикова В.Б., Белова И.В.

ФГУП «НПО Микроген», Москва - Пермь, Россия

В настоящее время наиболее распространенным способом стабилизации бактериальных культур в производстве пробиотических препаратов остается сублимационное высушивание. Доступность именно этого способа длительного сохранения жизнеспособности и биологической активности клеток производственных штаммов позволила в середине прошлого века организовать промышленный выпуск лекарственных форм препаратов для нормализации кишечной микрофлоры. Последующие разработки всех отечественных медицинских пробиотиков базировались, как правило, на лиофилизации бактериальных культур, что в значительной степени определяло показатели качества, сроки годности и понятие дозы препарата.

Повышение эффективности использования сублимационной техники при традиционном выпуске пробиотиков в виде сухой биомассы во флаконах предполагает применение защитных сред, позволяющих при сохранении жизнеспособности клеток обеспечить необходимую структуру (внешний вид) сухого препарата в условиях непродолжительного и интенсивного режима высушивания. Практика разработки защитных сред свидетельствует, что для минимизации гибели клеток и отходов продукции по физическим свойствам состав ксеропротектора для каждого вида бактерий должен включать сбалансированный качественно и количественно набор компонентов. При этом существенное значение имеет количество клеток в бактериальной суспензии, ее эвтектические параметры, характер температурного воздействия при замораживании и обезвоживании, конфигурация и высота слоя замороженной биомассы.

Унификация защитных сред, применяемых в производстве пробиотиков, предполагала ограничение количества используемых компонентов, необходимых в составе ксеропротекторов для «жестких» режимов сублимации. При таких режимах высушивания негативный биологический и структуродеформирующий эффект нивелируется, как правило, увеличением концентрации ксеропротектора в бактериальной суспензии. При этом добиться улучшения структуры сухой биомассы значительно сложнее, чем получить необходимое количество живых клеток в сухом препарате.

В качестве модели для отработки оптимального состава защитной среды был выбран лактобакте-

рин, так как бактериальная суспензия штамма *L. plantarum* 8P-A3 отличается высоким содержанием клеток (до 10^{10} КОЕ/мл) и низкой эвтектикой (температура замерзания не выше минус 40 °С). Бактериальную суспензию (по 2,5 мл во флаконах) замораживали при температуре минус 50 °С не менее 16 ч и помещали в сублиматор. После выхода аппарата на рабочие параметры сразу задавался нагрев полок до максимальной температуры (35°С). По окончании сушки в препарате определяли содержание жизнеспособных клеток и оценивали структуру сухой биомассы по наличию дефектов.

Подбор вариантов защитных сред базировался на результатах предварительных исследований, свидетельствующих о возможности использования традиционных компонентов: обезжиренного молока и сахарозы, которые в известной концентрации обеспечивают приемлемый уровень сохранения живых клеток при различных режимах сублимации. Основная задача была связана с выбором высокомолекулярного структурообразующего компонента, который, наряду с биологическим эффектом, способствовал бы получению препарата с удовлетворительными физическими свойствами. Было проведено сравнительное испытание следующих веществ: желатина, крахмала картофельного, натрий карбоксиметилцеллюлозы и поливинилпирролидона, известных своим применением в комплексных ксеропротекторах.

Результаты исследований показали, что все варианты защитных сред оказывали практически аналогичный протективный эффект, обеспечивая необходимый уровень выживаемости клеток. По структуре сухой биомассы лактобактерина лучший результат отмечен у варианта ксеропротектора на основе желатина. Сахарозо-желатино-молочная среда была выбрана в качестве производственного ксеропротектора для «жестких» режимов высушивания при изготовлении лактобактерина и бифидумбактерина.

Следует отметить, что значительному (в 2-3 раза) снижению количества некондиционных образцов готовых препаратов по структуре биомассы способствовал прием наклонного замораживания продукции. Отклонение от вертикальной оси флакона позволяет увеличить площадь свободной поверхности замороженного препарата. Эффект от такой заморозки связан с ускорением процесса сублимации и предотвращением образования дефектов структуры лиофилизата.

Адаптированные режимы интенсивного сублимационного высушивания позволили снизить на 20-30% общую продолжительность процесса лиофилизации пробиотических препаратов.

ОСОБЕННОСТИ НАПРЯЖЕННО - ДЕФОРМИРОВАННОГО СОСТОЯНИЯ ЗАГОТОВКИ ПРИ ОСАДКЕ КОЛЬЦА В СТУПЕНЧАТУЮ МАТРИЦУ

Ткач О.А.

Тульский государственный университет,
Тула, Россия

С целью расширения номенклатуры изделий, выпускаемых с помощью процесса осадки кольцевой заготовки, проведено исследование операции закрытой осадки кольцевой заготовки в ступенчатую матрицу. Особенностью исследуемого процесса является наличие ступенчатой матрицы, и формирование в ходе деформирования ступицы втулки переменного диаметра. При реализации процесса металл заготовки на начальной стадии перемещается в зазор, образованный первой ступенью матрицы и внутренней оправкой, заполняет его, формируя полуфабрикат изделия, после чего идет истечение материала образца в меньший зазор, образованный второй ступенью матрицы и внутренней оправкой. Таким образом, часть металла при деформировании всегда составляет свободную поверхность заготовки, а другая его часть попадает в область контакта с криволинейной границей матрицы. При этом в угловой области заготовки между матрицей и внешней оправкой образуется область затрудненного деформирования, которая затем расширяется. При формировании первой ступени ступицы втулки появляется вторая зона затрудненного деформирования, сосредоточенная на радиусе ступенчатой матрицы. На момент завершения процесса деформирования эти две области сливаются. Технологическая особенность ведения процесса оказывает влияние и на напряженное состояние материала свободной поверхности заготовки, которая заключается в изменение характера компонент напряжений, т.е. их переходе из зоны сжатия в зону растяжения.

Исследовано влияние технологических параметров, таких, как трение на границе контакта материала заготовки и инструмента μ и относительного диаметра полости матрицы на напряженно-деформированное состояние материала заготовки. Показано, что с уменьшением коэффициента трения с 0,3 до 0,1 снижаются величины компонент напряжения на свободной поверхности заготовки на 9 – 21,5%. Тогда, как при $\mu = 0,2$ в исследуемой области реализуются наибольшие величины компонент напряжения. В свою очередь на границе контакта заготовки и внешней оправки величины напряжения не изменяются.

Увеличение относительного диаметра полости матрицы приводит к существенному снижению компонент напряжений и деформаций, как на свободной поверхности, так и в области контакта материала заготовки с внешней оправкой, что объясняется увеличением зазора между оправкой и матрицей, а, следовательно, более легкими условиями ведения процесса обработки.