

PIOTR DZIUGAN**Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii****Politechnika Łódzka**

ZASTOSOWANIE TAC Z KRATOWNICĄ W PROCESIE LIOFILIZACJI BIOPREPARATU ZAWIERAJĄCEGO BAKTERIE *LACTOBACILLUS PLANTARUM*

Opiniodawca: **dr hab. Lucjan Kala, prof. PŁ**

*Analizowano możliwość intensyfikacji procesu liofilizacji biopreparatu zawierającego bakterie *Lactobacillus plantarum* przez zastosowanie tac z kratownicą. Wykonano badania porównawcze kinetyki procesu liofilizacji biopreparatu z użyciem tac z kratownicą i tac bez kratownicy. Wykazano, że zastosowanie kratownicy skracало proces liofilizacji o 1,5 godziny i nie wpływało na obniżenie jakości produktu. Liczba drobnoustrojów przeżywających w próbach suszonych na tacy z kratownicą ($5,4 \times 10^9$ j.t.k./g.s.s.) nie różniła się znacząco od liczby mikroorganizmów w biopreparacie suszonym na tacy bez kratownicy ($5,6 \times 10^9$ j.t.k./g.s.s.).*

1. Wprowadzenie

Tradycja wyrobu mlecznych produktów fermentowanych, a zwłaszcza jogurtu jest bardzo stara i szacuje się, że technologie te były znane około 4000 lat temu. Również bardzo dawno akceptowano przekonanie o dobroczynnym wpływie na zdrowie człowieka mlecznych napojów fermentowanych. Jak podaje stara perska legenda Abraham zawdzięczał swoją długowieczność i płodność spożywaniu dużych ilości jogurtu. Legenda ta została obecnie naukowo potwierdzona. Spożywanie aktywnych biologicznie produktów fermentowanych przy udziale bakterii mlekowych pomaga utrzymać w dobrej kondycji funkcje trawienne, co ma szczególne znaczenie dla osób w podeszłym wieku.

Szerokim zainteresowaniem cieszą się fermentowane produkty pochodzenia zwierzęcego nie tylko mleczne jak jogurt, kefir, lecz także fermentowane wędliny typu Salami. W Europie Wschodniej dużym uznaniem cieszą się tradycyjne fermentowane produkty pochodzenia roślinnego, takie jak ogórki kiszone, kapusta kiszona, a nawet grzyby. Stwierdzono, że odpowiedzialne za fermentację surowców roślinnych są bakterie *Lactobacillaceae*, a głównie szczep *Lactobacillus plantarum*. Liczne badania dowodzą, że bakterie *L. plantarum* posiadają właściwości profilaktyczne przez regulację mikroflory układu pokarmowego, łagodzą one dolegliwości jelitowe występujące u przewlekle chorych oraz po zabiegach operacyjnych. W Instytucie Technologii Fermentacji i Mikrobiologii opracowano biopreparat probiotyczny, zawierający żywe bakterie *L. plantarum* (fot. 1). Jest to produkt całkowicie naturalny, bogaty w bioaktywne komponenty, niezbędne dla prawidłowego funkcjonowania organizmu ludzkiego. W skład biopreparatu wchodzi:

- mleko sojowe w postaci sproszkowanej,
- mąka sojowa,
- lecytyna wykazująca działanie ochronne na komórki *L. Plantarum*, a w organizmie ludzkim obniżająca poziom cholesterolu we krwi i wspomagająca system nerwowy.

Skład podłoża hodowlanego, warunki namnażania drobnoustrojów i utrwalania biopreparatu zostały tak dobrane, by zapewnić wysoką aktywność produktu, wykorzystując wyłącznie naturalne surowce, spełniające różne funkcje biologiczne i gwarantujące jednocześnie niskie koszty produkcji. Umożliwi to szeroką dostępność produktu dla masowego klienta, w przeciwieństwie do obecnych na rynku biopreparatów probiotycznych, których stosowanie jest ograniczone do wąskiej grupy klientów ze względu na ich wysoką cenę.

Jako metodę utrwalania biobiopreparatu wybrano liofilizację [2,3,4]. Podczas badań wstępnych suszenia sublimacyjnego w warunkach przemysłowych napotkano na problem polegający na wybrzuszeniu się biopreparatu na tacy, przez co tracił on dobry kontakt z tacą i półką grzewczą. Ciepło na przemianę fazową było pobierane z produktu, czego konsekwencją było obniżenie jego temperatury i wydłużenie czasu suszenia do 40 godzin. Opisane zjawisko obserwowano szczególnie podczas suszenia sublimacyjnego biobiopreparatu o grubości warstwy 15 mm (rys.1). Rozwiązaniem problemu może być zastosowanie tac z kratownicą (fot. 2).

2. Część doświadczalna

2.1. Materiały i metody badań

Do produkcji biopreparatu wykorzystano szczep bakterii fermentacji mlekowej – *L. plantarum* pochodzący z Kolekcji Czystych Kultur Instytutu Technologii Fermentacji i Mikrobiologii PŁ. Zaszczepione tymi drobnoustrojami podłoże DBH [1] inkubowano przez 24 godziny w temperaturze 30°C. Tak otrzymane inokulum użyto do zaszczepienia podłoża sojowego (Tabela 1).

Tabela 1
Skład podłoża sojowego

Składnik	Zawartość [%]
Mąka sojowa	20
Mleko sojowe	77
Inokulum	3

Po 24 godzinnej fermentacji mlekowej podłoża sojowego otrzymano biopreparat, do którego dodawano substancje ochronne (krioprotektanty):

- CaCO₃ w wyliczonej ilości zapewniającej pełne związanie wytworzonego kwasu mlekowego,
- lecytyna 1,5%,
- sacharoza 1,5 g/100 g.

Biopreparat po fermentacji umieszczano w warstwie 1 cm na tacach z kratownicami (fot. 2) i na tacach bez kratownic. Temperatura biopreparatu wynosiła 16°C. Następnie tace z biopreparatem umieszczono w komorze sublimacyjnej liofilizatora i załączono chłodzenie płyt. Biopreparat zamrażano do temp. –26°C. Po osiągnięciu tej temperatury załączono pompę próżniową. Po uzyskaniu ciśnienia 12 Pa włączono podgrzewanie półek liofilizatora. Zadana temperaturę 30°C płyty osiągnęły po 7 godzinach. Suszenie sublimacyjne prowadzono przy temperaturze półek 30°C. Liofilizację przerywano po 16 godzinach kiedy temperatura produktu na tacy z kratownicą zrównała się z temperaturą półki (30°C).

W badaniach wykorzystano liofilizator ZIRBUS CryoDry 75, który posiada unikalny system chłodzenia kondensora i płyt grzewczych ciekłym azotem.

W surowym i wysuszonym biopreparacie liczbę zdolnych do wzrostu bakterii fermentacji mlekowej oznaczono metodą płytkową.

2.2. Wyniki badań i dyskusja

Wytworzenie omawianego biopreparatu następuje w wyniku fermentacji mlekowej przy użyciu szczepu bakterii *L. plantarum* podłoża sojowego. Składniki podłoża hodowlanego (tabela 1) zapewniają dynamiczny rozwój *L. plantarum*.

Po 24 godz. fermentacji ich liczba wzrosła do rzędu 10^{10} j.t.k./g.s.s.. Utrwalanie biopreparatu następowało w procesie liofilizacji co zabezpieczało wartość biologiczną biopreparatu oraz długi okres jego trwałości.

Parametry liofilizacji biopreparatu na tacy z kratownicą i na tacy bez kratownicy w przemysłowym liofilizatorze ZIRBUS CryoDry 75 przedstawiono na rysunku 2.

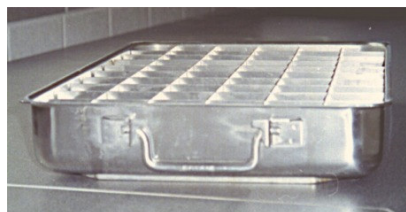
Dzięki zastosowaniu kratownicy następowała intensyfikacja wymiany ciepła, co przyczyniło się do zwiększenia szybkości zamrażania. Biopreparat na tacy z kratownicą zamraża się licząc od chwili osiągnięcia temperatury krioskopowej z szybkością 0,25 K/min. Biopreparat rozłożony na tacy bez kratownicy zamrażał się z szybkością 0,16 K/min.

W momencie, gdy biopreparat osiągnął temperaturę -26°C , uruchomiono pompy próżniowe. Po uzyskaniu w komorze sublimacyjnej zadanego ciśnienia 12 Pa załączono grzanie płyt. Rozpoczęto w ten sposób dostarczanie ciepła do biopreparatu, niezbędnego do przemiany fazowej jaką jest sublimacja lodu. Do 14,5 godziny trwania procesu suszenia, temperatura biopreparatu na tacy z kratownicą pozostawała niższa od temperatury biopreparatu znajdującego się na tacy bez kratownicy. Rozwinięcie powierzchni suszenia uzyskane dzięki kratownicy intensyfikowało sublimację wody. Ponadto podczas suszenia nie obserwowano wybrzuszania badanego biopreparatu.

Zasadniczy etap suszenia kończył się jednakowo dla obu biopreparatów po 16 godzinach, gdy osiągnęły one temperaturę 0°C . Wyraźne różnice wystąpiły w okresie dosuszania. Produkt umieszczony na tacy z kratownicą osiągnął temperaturę 20°C szybciej o 1,5 godziny niż próba suszona na tacy bez kratownicy. Wskazuje to, że w przypadku biopreparatu na tacy z kratownicą, większa ilość wilgoci była usunięta na drodze sublimacyjnej. Liczba drobnoustrojów przeżywających w próbie suszonej na tacy z kratownicą ($5,4 \times 10^9$ j.t.k./g.s.s.) nie różniła się znacząco od liczby żywych komórek w biopreparacie suszonym na tacy bez kratownicy ($5,6 \times 10^9$ j.t.k./g.s.s.).



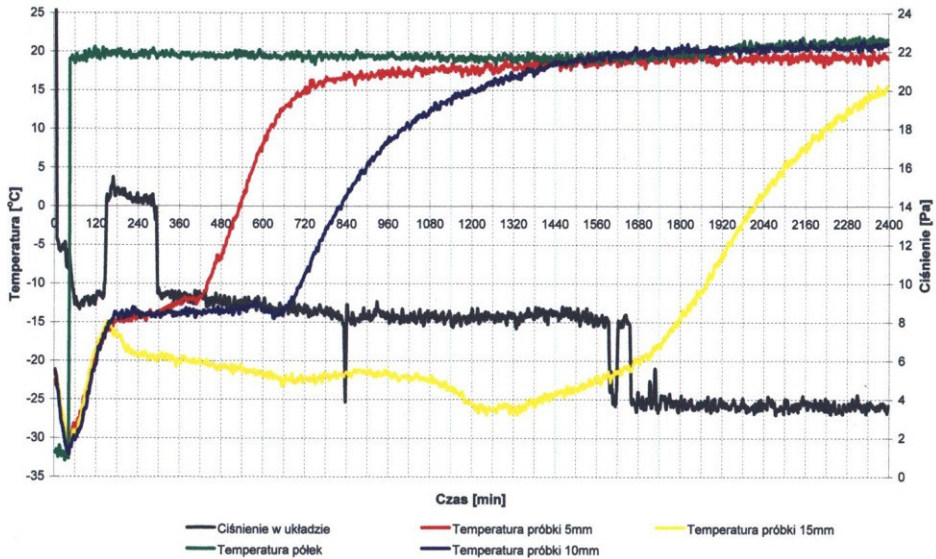
Fot. 1. Biopreparat probiotyczny suszony na tacy z kratownicą



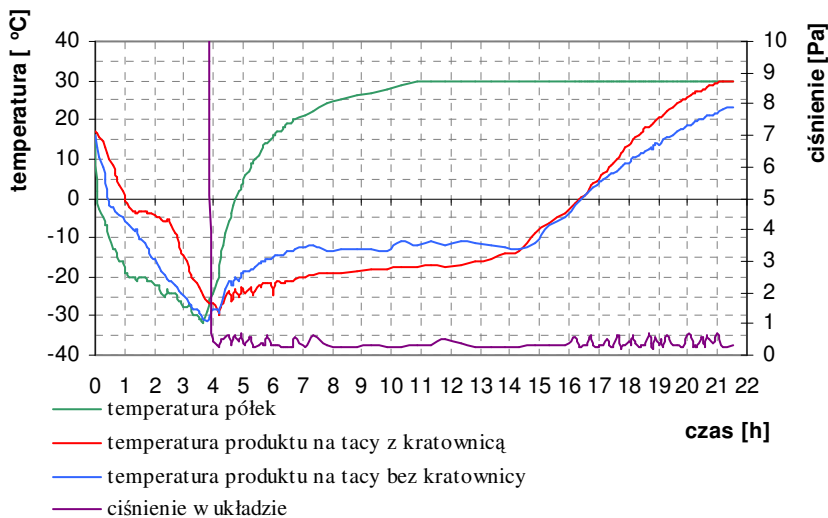
Fot. 2. Taca z kratownicą do liofilizacji biopreparatu

Podsumowując, można stwierdzić, że dzięki zastosowaniu kratownic uniknięto deformacji biopreparatu podczas suszenia i pogorszenia warunków transportu ciepła. Zastosowanie kratownicy skracало proces liofilizacji o 1,5 godziny i nie

wpływało na obniżenie przeżywalności bakterii *L. plantarum*. Wymienione efekty mają istotne znaczenie w przemysłowej produkcji biopreparatu. Wobec bardzo wysokich kosztów liofilizacji skrócenie czasu suszenia sublimacyjnego o 1,5 godziny ma wymierne znaczenie ekonomiczne.



Rys. 1. Przykładowa rejestracja suszenia sublimacyjnego prób biopreparatu o grubości warstwy 5mm, 10mm i 15mm. przy temperaturze półek 20°C



Rys. 2. Rejestracja parametrów liofilizacji biopreparatu probiotycznego na tacy z kratownicą i bez w liofilizatorze ZIRBUS CryoDry 75

Literatura

- [1] **Burbianka M., Pliszka A., Burzyńska H.:** Mikrobiologia żywności. Warszawa: PZWL, 1983, s. 60-62, 333-337.
- [2] **Geherke H.H., Pralle K., Deckwer W.D.:** Freeze Drying of Microorganisms – Influence of Cooling Rate on Survival. Food Biotechnology. 1992, vol. 6, nr 1, s. 35-49.
- [3] **Tutowa E.G., Kuc P.C.:** Suszenie produktów biosyntezy. Warszawa: WNT, 1991, s.16-29, 158-170.
- [4] **Wang W.:** Lyophilization and development of solid protein pharmaceuticals. International Journal of Pharmaceutics. 2000, nr 203, s. 1-60.

APPLICATION OF GRILLE FOR FREEZE DRYING PROCESS OF BIOPREPARATE WITH BACTERIA OF *LACTOBACILLUS PLANTARUM*

Summary

The purpose of the study was to analyse the possibility intensification of freeze drying process of biopreparate with bacteria of *Lactobacillus plantarum*. The process was leaded to use a grille.

The research of kinetic of freeze drying process was made with or without to use grille.

The result of this study show that to use a grille reduce of time of freeze drying process about 1,5 hour, without reduction of product quality.

Institute of Fermentation Technology and Microbiology
Technical University of Łódź