

Қазақстан Республикасы Тәуелсіздігінің 30 жылдығына арналған «Сейфуллин оқулары – 17: «Қазіргі аграрлық ғылым: цифрлық трансформация» атты халықаралық ғылыми – тәжірибелік конференцияға материалдар = Материалы международной научно – теоретической конференции «Сейфуллинские чтения – 17: «Современная аграрная наука: цифровая трансформация», посвященной 30 – летию Независимости Республики Казахстан.- 2021.- Т.1, Ч.1 - С.340-343

## **ОТРАБОТКА ПАРАМЕТРОВ ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ПРИ ИЗГОТОВЛЕНИИ НОВОГО БИОПРЕПАРАТА**

*Мухадди Б.Т.,  
Кухар Е.В.*

Антибиотики являются полезными химиотерапевтическими средствами при лечении бактериальной диареи крупного рогатого скота. Однако они не эффективны против устойчивых к антибиотикам бактериям. Следовательно, требуется новая альтернативная стратегия профилактики диареи крупного рогатого скота [1].

Было предложено несколько замен, из которых использование пробиотиков доказало свою эффективность. Международная научная ассоциация пробиотиков и пребиотиков определяет пробиотики как «живые микроорганизмы, которые при введении в адекватных количествах приносят пользу здоровью хозяина». Использование живых микробных пробиотиков было связано с улучшением продуктивности животных и повышением устойчивости к болезням в большом количестве исследований [2].

Недавний отчет об использовании пробиотиков, снижающих скорость развития устойчивых к противомикробным препаратам штаммов у животных также поддерживает идеи по его применению для замены профилактических противомикробных препаратов в животноводстве. Однако наблюдаемые эффекты пробиотиков, стимулирующие рост или подавление патогенов, не соответствовали различным исследованиям. Одно из объяснений заключается в том, что положительные эффекты могут зависеть от штамма, и, следовательно, разные штаммы одного и того же вида пробиотиков могут приводить к разным результатам. Кроме того, есть много свидетельств, указывающих на индивидуальную микробиоту кишечника хозяина и иммунитет, что указывает на то, что взаимодействие между ними и пробиотиками с добавками может быть различным, в то время как в этом аспекте было проведено очень ограниченное исследование. Следовательно, важно понимать, как пробиотики моделируют взаимодействие хозяина и микроба и иммунитет хозяина, что приносит пользу хозяину и микробам мутуалистическим способом, обеспечивая стабильную, богатую питательными веществами среду для кишечной микробиоты, что, в свою

очередь, повышает эффективность пищеварения и иммунную функцию хозяина [3].

В промышленных процессах производства пищевых культур, включая пробиотики, исключительно важно использовать обычную периодическую ферментацию с автоматизированным ферментером. Как правило, температуру и рН можно строго контролировать до желаемых данных; растворенный кислород (DO) также измеряются в режиме онлайн. Аэрация осуществляется через полупроницаемую мембрану, которая отделяет газ от жидкой фазы. рН регулируется добавлением газа  $\text{CO}_2$  и  $\text{NH}_3$  через ту же мембрану. Применение периодических глубинных систем культивирования позволяет более рационально получать не только биомассу и эндометаболиты, но и экзопродукты микробного синтеза, выделяемые клеткой в окружающую среду [4].

Целью наших исследований был подбор оптимальных параметров периодического глубинного культивирования нового пробиотического препарата с гуматом калия: концентрация гумата калия, температура, аэрация, пеногаситель, показатели рН.

На первом этапе была определена оптимальная концентрация гумата калия для микроорганизмов. Для этого готовили градиент концентрации гумата калия от 0% до 0,1%, 1%, 10% и 100% в питательном агаре, после чего на поверхность агара вносили посевную дозу консорциума микроорганизмов. Характер роста пробиотических микроорганизмов в градиенте гумата калия представлен на рисунке 1.

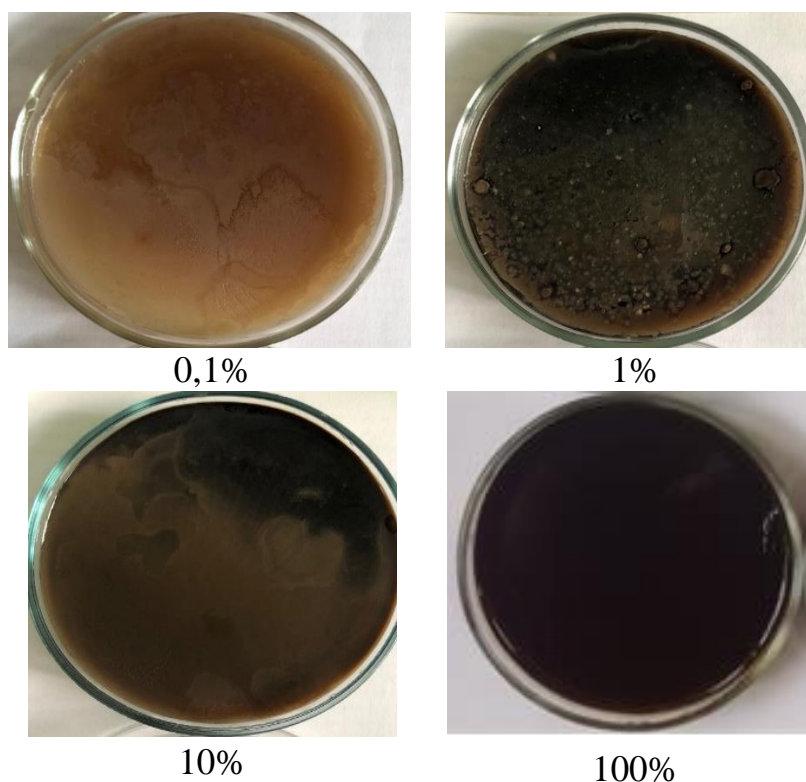


Рисунок 1 – Рост пробиотических микроорганизмов в присутствии различных концентраций гумата калия

Как видно из рисунка 1, пробиотические микроорганизмы отлично растут в присутствии гумата калия. Было отмечено, что они выдерживают концентрации от 0,1 до 10% и при этом накапливают достаточное количество биомассы. Однако, при концентрации гумата калия в питательных средах от 0,1% до 1% происходило максимальное накопление биомассы. Напротив, при концентрации гумата калия от 10 до 100% рост микроорганизмов практически отсутствует.

Температуру культивирования пробиотического консорциума подбирали с учетом действия этого фактора на характер развития микроорганизмов и скорость накопления биомассы. В таблице 1 показаны результаты оптимальной температуры для роста консорциума микроорганизмов.

Таблица 1 – Культивирование пробиотического консорциума в глубинных условиях при различных температурах культивирования

Температура культивирования, °С	Количество биомассы, г/л			M±m
	1	2	3	
25	1,06	1,11	1,15	1,11±0,03
28	1,34	1,56	1,52	1,47±0,09
37	3,2	3,08	3,5	3.26±0,16

Как видно из таблицы 1, температура 37°С является оптимальной для развития пробиотических микроорганизмов. Нами установлено выход биомассы при 37°С выше, чем при температуре 25°С и 28°С. При снижении температуры до 25°С накопление биомассы лактобацилл, почвенных бактерий и дрожжей замедляется.

При исследовании влияния аэрации в колбах общее количество биомассы определяли весовым методом в боксах (таблица 2).

Таблица 2 – Влияние скорости перемешивания на накопление биомассы пробиотического консорциума

Скорость вращения мешалки, об/мин	Количество биомассы, г/л			M±m
	1	2	3	
110	3,72	3,28	3,67	3,56±0,18
120	1,20	0,89	1,06	1,05±0,11
130	0,61	0,90	0,81	0,77±0,11

Как видно из полученных данных, интенсивное накопление биомассы консорциума наблюдается при аэрации 110 об/мин. Дальнейшее увеличение числа оборотов не приводит эквивалентному возрастанию выхода биомассы.

Для подбора пеногасителя при периодическом глубинном культивировании использовали вазелиновое, подсолнечное, облепиховое масло и рыбий жир. На рисунке 2 изображен характер образования пены при культивировании пробиотического консорциума до и после внесения пеногасителя.

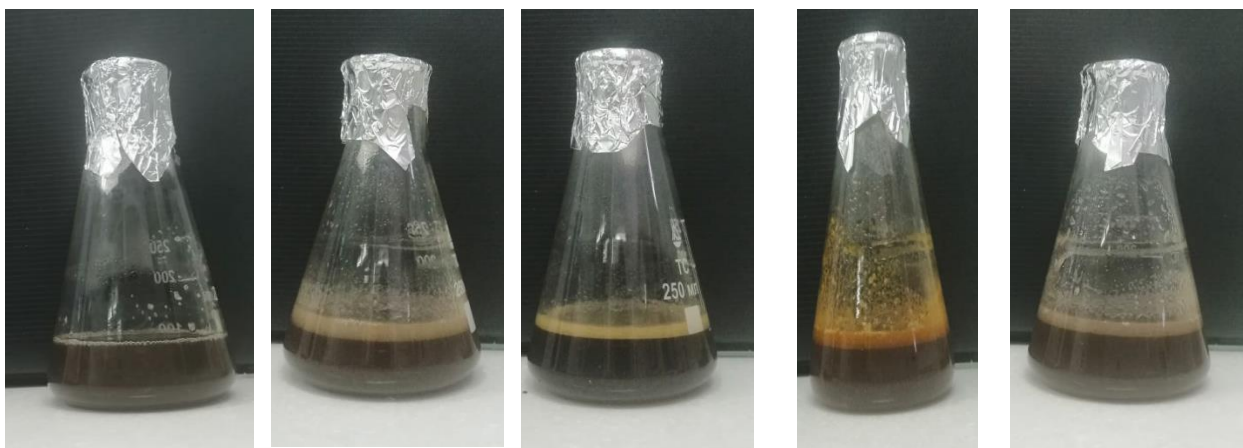


Рисунок 2 – Характер образования и гашения пены при культивировании микроорганизмов: а – контроль, б – подсолнечное масло, в – рыбий жир, г – облепиховое масло, д – вазелиновое масло.

Как видно из рисунка 2, при глубинном культивировании консорциума пробиотических микроорганизмов отмечается наличие пены небольшого объема либо ее полное отсутствие, а также слабый пристеночный рост культуры в результате действия вазелинового и рыбьего жира (таблица 2).

Таблица 2 – Культивирование пробиотического микроорганизмов в глубинных условиях с различными пеногасителями

Название пеногасителя	Высота пены, см	Пристеночный рост, см	Толщина пристеночного слоя, см
Вазелиновое	0,6	0,5	3,7
Облепиховое	0,8	0,7	3,4
Подсолнечное	0,7	0,5	3,3
Рыбий жир	0,4	0,3	3,0
Контроль	отсутствует	0,2	3,5

Как видно из таблицы 2, наличие небольшого пристеночного роста микроорганизмов в виде небольшого налета наблюдается в колбах с подсолнечным маслом и с рыбьим жиром. Эти показатели пеногасителей являются самыми эффективными при пеногашении в процессе культивирования. В контрольной колбе при культивировании без добавления пеногасителя выявлен феномен отсутствия пенообразования.

При отборе оптимального показателя кислотности выявлено, что наиболее подходящим рН для глубинного культивирования пробиотических микроорганизмов является показатели рН от 5,3-5,5.

Таким образом, для проведения глубинного культивирования пробиотического консорциума в условиях лабораторного ферментера нами была подобрана оптимальные параметры глубинного культивирования и концентрация гумата калия, способствующая активному накоплению биомассы микроорганизмов.

#### Список литературы

1. Smulskiy S., Turlevi H., Podbelska A., Wielandowska J., Vlodarek. Opportunities without antibiotics in the prevention and treatment of calf diarrhea // J. Vet. Res., 64 (2020), p. 119-126.
2. Yu Cho, K.J. Yun. Review of calf diarrhea - infectious etiology, diagnosis and intervention // J. Vet. Sci., 15 (2014), pp. 1-17.
3. NC Maldonado, J. Chiaraviglio, E. Bru, L. De Chazal, V. Santos, MEF Néder-Macías. Effect of milk fermented with lactic acid bacteria on the incidence of diarrhea, growth parameters, microbiological profile and blood profile of newborn dairy calves // Probiotics Antimicrob. Proteins, 10 (2018), pp. 668–676D.L.
4. Renault, D.F. Kelton, J.S. Wise, K. Noble, T.F. Duffield. Evaluation of a multispecies probiotic as a maintenance treatment for diarrhea in dairy calves: a randomized clinical trial // J. DairySci., 102 (2019), p. 4498-4505.