

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.2, Ч.1 - С.53-55

ОТРАБОТКА ПЕРИОДИЧЕСКОГО ГЛУБИННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ПРИ ИЗГОТОВЛЕНИИ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ

Жумакаев.А.И.

Проблемы заболеваемости молодняка с/х животных болезнями желудочно-кишечного тракта остаются актуальными и по сей день. В последнее время большим спросом пользуются комплексные пробиотические препараты, содержащие различные микроорганизмы, что позволяет им быстро и эффективно проявлять свои антагонистические свойства в отношении патогенных микроорганизмов [1].

Пробиотики – это живые клетки, относящиеся к полезным микроорганизмам, которые могут иметь питательные преимущества из-за различных полезных свойств. Они также обеспечивают здоровье, когда регулируются в достаточных суммах. Пробиотические штаммы проявляют мощную активность в улучшении здоровья человека. Основными пробиотическими группами являются штаммы *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, *Vacillus* и дрожжей, которые часто используются. Пробиотики в последнее время стали предметом большого интереса в области микробиологии, особенно их роли в нормальной физиологии и ее влиянии на здоровье человека во время инфекции. Использование пробиотиков дало многообещающие результаты в многочисленных хорошо спланированных клинических исследованиях [2].

Периодические процессы культивирования находят применение в технической микробиологии при получении продуктов второй фазы роста и при культивировании патогенных бактерий в производстве вакцин и анатоксинов. Дальнейшее усовершенствование процесса глубинного культивирования направлено на разработку систем контроля условий культивирования при производстве пробиотических препаратов. Периодическое культивирование представляет собой процесс увеличения концентрации некоторых или всех компонентов популяции. Обычно характеристики этого процесса устанавливаются путем измерений тех или иных его показателей [3].

Ранее более широкое применение находило культивирование микроорганизмов на поверхности плотных питательных сред. Применение жидких питательных сред позволило избежать некоторых недостатков, связанных с культивированием поверхностным способом, требуя

постоянного перемешивания культуры с целью выравнивания условий роста организма в различных частях рабочего объема сосуда, Эту систему можно уже назвать динамической в отличие от описанной выше статической при стационарном культивировании [4].

Периодический метод культивирования предусматривает внесение посевного материала в питательную среду (инокуляция клетками среды) начале процесса и получение культуры по достижении заданной фазы развития популяции. Концентрация микроорганизмов в периодической культуре нарастает и останавливается либо из-за лимитирования субстратом, либо из-за ингибирования токсичными продуктами жизнедеятельности. Для этого типа культивирования характерно непрерывное изменение физиологического состояния клеток, вызванное изменениями условий, производимыми жизнедеятельностью самих клеток. Отсюда следует, что периодическая система может поддерживать размножение клеток только в течение ограниченного времени. После фазы экспоненциального (логарифмического) роста популяция начинает испытывать недостаток элементов питания и угнетается продуктами метаболизма, что ведет к нарушению физиологического состояния клеток. Периодические культуры находятся в неустойчивом состоянии, что является серьезным недостатком, особенно когда их применяют при изучении свойств микроорганизмов [5].

Практически все системы периодического культивирования являются закрытыми, поскольку микроорганизмы в них размножаются и проходят все фазы развития без притока питательной среды и оттока культуральной жидкости, При изучении динамики роста культур микроорганизмов необходимо строго соблюдать некоторые условия: жизнеспособность засева: наличие в среде культивирования всех необходимых питательных веществ: отсутствие в среде ингибиторов, подавляющих рост клеток: поддержание в среде оптимальными всех физико-химических условий.

Научная работа выполнялась в течение 2020 года в рамках инициативной прикладной темы с номером гос.регистрации №0119РКИ0349 от 27.11.2019 г.

Целью исследований является отработка периодического глубинного культивирования микроорганизмов при изготовлении пробиотических препаратов. В задачи исследований входило: подготовить посевную культуру и питательные среды для культивирования пробиотических микроорганизмов, подготовить и запустить лабораторный ферментер «*Minifors*», описать особенности роста и накопления биомассы пробиотических микроорганизмов при культивировании на ферментере «*Minifors*».

Объектом исследования послужили штаммы *B. subtilis* и *L. rhamnosus*, предоставленные магистратами Жамантаевом Р. и Мухамеджановым Н.

Были определены параметры: рН, температура, состав питательной среды, оптимальная концентрация гумата калия, количество оборотов мешалки.

В целях получения обычного посевного материала применяются кусочки колоний, выращенных на плотных питательных средах. В качалочные пробирки с питательной средой вносится по 0,1 см² посевной культуры на 100 см².

Для получения бактериальных суспензий *B. subtilis* и *L. rhamnosus* в ферментере «Minifors» исследования проводились в четыре этапа.

Этап I. Подбор и разработка питательных сред.

Этап II. Подбор и отработка состава жидких питательных сред для глубинного культивирования бифидо- и лактобактерий.

Этап III. Оптимизация условий приготовления и оценка качества посевных культур *B. subtilis* и *L. rhamnosus*.

Этап IV. Культивирование *B. subtilis* и *L. rhamnosus* в ферментере.

Ферментеры Minifors — продукт от швейцарских создателей фирмы Infors, 1-го из основных изготовителей предоставленной области в Европе. Изготовители гарантируют высшую точность итогов, надёжность и комфорт в работе.

Minifors обустроен компонентами, измеряющими и регулируемыми температуру и рН-уровень среды, для чего в комплектацию заходит всё важное, охватывая девайсы, детекторы и программное обеспечение. Набор поставки имеет возможность дополняться датчиком значения и сосредоточении растворённого воздуха, датчиком значения пены, устройством химического гашения пены, устройством подачи стерильного воздуха и СО₂, ёмкостями для сбережения компонент калорийной среды и насосами для их неизменного поступления в ферментер.

Перед началом работы ферментер стерилизуют в автоклаве при 1 атм. В течение 1.5 часа. Заполняют сосуд 1/3 ее объема. Объем сосуда ферментера «Minifors» составляет 5 л, объем вносимой питательной среды 2 л. Параллельно с этим подключается программа *Iris*. Программное обеспечение *Iris* дает возможность: отображать на дисплеи в одном окне и в виде графика параметры ферментации. Не только заносить данные в память компьютера, но и переносить переносить их, в случае возникающей необходимости, в другие программы. Установить сигнализацию, индицирующую критические значения параметров. Выполнять программирование последовательности этапов изменения параметров в процессе ферментации. Она нужна для графического изображения всего технологического процесс (рисунок – 1).

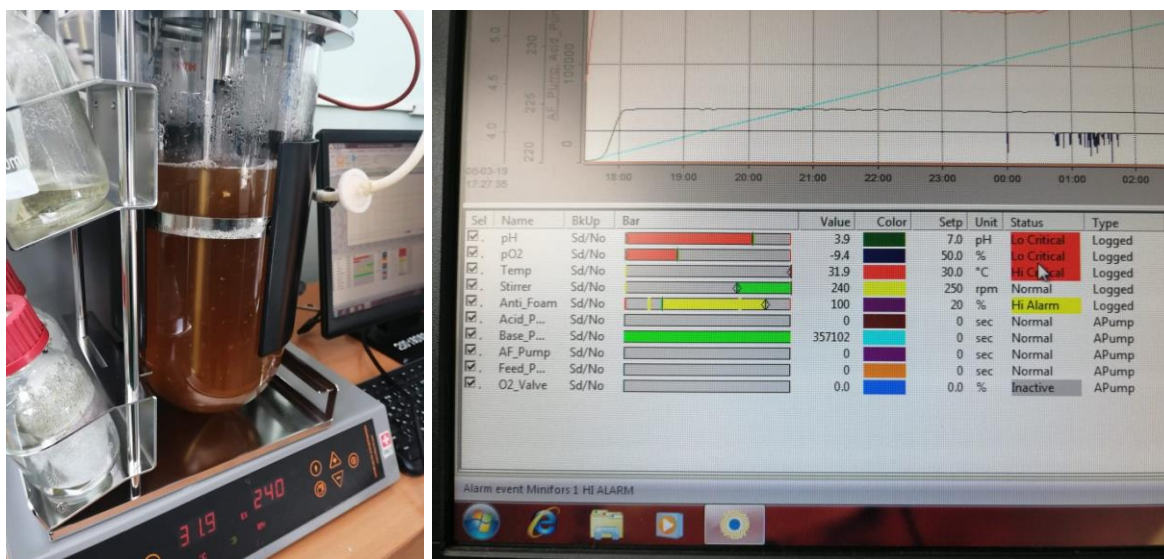


Рисунок 1 – Подготовка ферментера «Minifors» и программы Iris к культивированию

Посевной материал, необходимый для засева ферментера, готовили путем глубинного выращивания в ферментере с принудительной аэрацией и перемешиванием в течение 48 суток в качалочных колбах.

Перед внесением питательную среду автоклавировали при 1 атм. в течение 1 часа.

Объем посевного материала, состоящего из 50 мл и 100 мл, соответственно для каждого микроорганизма. Исходное значение рН 7,5.

Глубинное культивирование проводится в течение 48 часов.

В рамках выполнения научной работы была подобрана оптимальная питательная среда для поверхностного и глубинного культивирования пробиотиков, отработаны технологические параметры выращивания пробиотиков в биореакторе (Minifors).

Список литературы

1. А.с. 1491884, МКИ⁴ C12N1/20, A61K35/74. Штамм бактерий *Lactobacillus acidophilus*, используемый для приготовления препаратов для нормализации микрофлоры при нарушении микробиоценоза влагалища / В.М. Коршунов, Н.Н. Володин, Л.И. Кафарская (СССР). – 3 с.
2. Бондаренко В.М. Иммуностимулирующее действие лактобактерий, используемых в качестве основы препаратов пробиотиков /Бондаренко В.М., Рубакова Э.И., Лаврова В.А. //Микробиол. журн. – 1998. – №4. – С. 107-111.
3. Варфоломеев С.Д. Биотехнология. Кинетические основы микробиологических процессов / Варфоломеев С.Д., Калужный С.В. – М.: Высшая школа, 1990. – 260 с.
4. [Tony Allman](https://www.infors-ht.com/en/blog/the-difference-between-batch-fed-batch-and-continuous-processes/). The Difference Between Batch, Fed-batch and Continuous Processes. 23. Jul 2020 // <https://www.infors-ht.com/en/blog/the-difference-between-batch-fed-batch-and-continuous-processes/>

5. Mazzoleni, S., Landi, C., Carteni, F. *et al.* A novel process-based model of microbial growth: self-inhibition in *Saccharomyces cerevisiae* aerobic fed-batch cultures. *Microb Cell Fact* 14, 109 (2015). <https://doi.org/10.1186/s12934-015-0295-4>