

USE OF THE MEDIUM BASED ON MEAT HYDROLYSATES FOR THE SALMONELLAS' CULTIVATION

Samujlenko A.Ya., Raevskii A.A., Eremets N.K., Shkolnikov E.E., Anisimova L.V., Solovyov L.B., Pavlenko I.V., Koroteeva L.A., Timofeev S.V.
All-Russian Scientific-Research and Technological Institute of Biological Industry RAAS,
Shchelkovo, Russian Federation

The paper presents the results of research concerning the cultivation of Salmonella vaccine strains in nutrient media based on Hottinger's broth. The main technological parameters of deep-managed cultivation were defined, pre-production series of vaccines were obtained and the optimal storage time was determined.

Keywords: Hydrolysates, Salmonella, vaccine strains, cultivation, vaccine.

УДК 619:579.842.11

**КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ЭШЕРИХИЙ ШТАММА *E. COLI* VL-613
ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА СИМБИОТИЧЕСКИХ ПРЕПАРАТОВ**

*Самуйленко А.Я., Школьников Е.Э., Раевский А.А., Еремец В.И.,
Соловьев Л.Б., Анисимова Л.В., Еремец Н.К., Павленко И.В.*

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности», г. Щелково, Российская Федерация, e-mail: vnitibr@mail.ru

*В статье приведены результаты исследований по культивированию штамма *E. coli* VL-613 для получения симбиотического препарата. Определены значимые технологические параметры глубинного управляемого культивирования штамма VL-613. Изготовлены опытные серии симбиотического препарата.*

Ключевые слова: эшерихии, штамм, культивирование, симбиотический препарат, технологические параметры.

Производство мяса птицы и свинины требует сбалансированного кормового рациона по основным показателям, в которых кроме других компонентов обязательным является включение в рацион кормления одной из незаменимых аминокислот – лизина.

В практике кормления продуктивных животных проблему дефицита лизина решают путем ввода в состав рациона компонентов животного происхождения, а также синтетического лизина.

Применение синтетического лизина повышает стоимость продукции животноводства и птицеводства, а также влияет на качество получаемого продукта.

Альтернативным подходом к решению проблемы восполнения дефицита незаменимой аминокислоты в рационах кормления продуктивных животных и птиц является использование симбиотического препарата на основе штамма *E. coli* VL-613, который в тонком отделе кишечника синтезирует достаточное количество необходимого лизина.

Культивирование в жидких питательных средах эшерихий штамма VL-613, обладает рядом недостатков: процесс культивирования эшерихий производится в неуправляемом режиме, т.е. без регулирования окислительно-восстановительного потенциала, количества растворенного в культуральной жидкости кислорода, *pH*, продолжителен (6–12 часов); температура культивирования находится в большом диапазоне (25–37 °С); и не обеспечивает стабильного накопления жизнеспособных клеток; трудоемок; не позволяет использовать современное оборудование и приборы, что сказывается на качестве конечного продукта, а также на эффективности производства.

Целью исследования являлось сокращение времени культивирования, снижение себестоимости препарата, а также повышение качества и стабильности получения симбиотического препарата на основе штамма *E. coli* VL-613.

Методы исследования. Технология получения симбиотического препарата осуществляют следующим образом.

В стерильный ферментер, который снабжен системой автоматического контроля и регулирования основных технологических параметров (температура, обороты мешалки, *pH*, *pO₂*, *eH*), загружают жидкую питательную среду на основе перевара Хоттингера.

Готовая стерильная питательная среда должна содержать 160–180 мг% аминного азота и иметь *pH* 7,4–7,6 ед.

Результаты исследований. В ферментер с питательной средой инокулируют 18–24-часовую матриксную культуру эшерихий (*E. coli*, штамм VL-613), выращенную в жидкой питательной среде по составу аналогичному со средой основного культивирования в соотношении 5–10 % от объема питательной среды в ферментере и культивируют при 37±1 °С в течение 4–6 часов.

После засева окислительно-восстановительный потенциал (eH) культуральной жидкости в ферментере снижают до (-100) – (-80) мВ, путем выдержки культуры без подачи воздуха на аэрацию и выключенной мешалке, для чего до окончания процесса культивирования с помощью изменения расхода воздуха на аэрацию и скорости вращения мешалки поддерживают парциальное давление растворенного кислорода (pO_2) в культуре на уровне (20 ± 5 %) от насыщения кислородом воздуха, pH культуральной жидкости регулируют на уровне (7,2–7,4) ед. pH подачей 10%-ного раствора $NaOH$, а дробную подачу глюкозы осуществляют дозами до концентрации (0,1–0,2 %) при лимитировании роста эшерихий глюкозой, характеризующимся резким повышением pO_2 при неизменных расходе воздуха и оборотах мешалки и прекращением снижения pH культуральной жидкости. Общая концентрация эшерихий по окончании культивирования составляет 16–30 млрд.м.к/см³.

Полученную бактериальную культуру концентрируют, осадок смешивают с защитной средой высушивания. После тщательного перемешивания бактериальную суспензию расфасовывают с соблюдением условий асептики в стерильные 20 см³ флаконы по 2 мл, нативный материал замораживают в холодильной установке, типа NZ-280/75. При достижении температуры в материале минус 52 °С его выдерживают в течение четырех часов, после чего проводят сублимацию.

Замороженный материал перегружают в сублиматор типа ТГ-50.5. Непосредственно этап сублимации проводят при температуре материала в диапазоне минус 36 – минус 30 °С в течение 12 часов. Этап досушивания проводят при температуре материала 25–27 °С в течение 5 часов.

По окончании сублимационного высушивания камеру сублиматора заполняют стерильным, сухим воздухом. Флаконы закупоривают пробками типа АБ, накрывают алюминиевыми колпачками и закатывают.

Препарат, приготовленный по данной технологии, после сублимационного высушивания содержит 80–85 % жизнеспособных клеток и соответствует требованиям технических условий.

При использовании симбиотического препарата, который полностью заменяет в рационах кормления бройлеров синтетический лизин, осложнений и побочного действия не установлено. Противопоказания для применения симбиотического препарата не выявлены. Ограничений в использовании мяса бройлеров, получавших симбиотический препарат, нет.

Выводы. На основе проведенных исследований можно сделать вывод о целесообразности использования разработанной технологии в промышленном производстве симбиотического препарата на основе штамма *Escherichia coli* VL-613.

Список литературы

1. Бирюков В.В., Кантере В.М. Оптимизация периодических процессов микробиологического синтеза / М: Наука, 1985. - 293 с.
2. Воронин Е.С. Иммунология / М.: Колос-пресс. - 2002. -406 с.
3. Кантере В.М. Теоретические основы технологии микробиологических производств. - М: Агропромиздат, 1991. - 272 с.
4. Маслиева О.И. Анализ качества кормов и продуктов птицеводства / М.: Колос. - 1970. -176 с.
5. Нежута А.А., Токарик Э.Ф., Самуйленко А.Я., Безгин В.М., Сербис Е.С. Теоретические и практические основы технологии сублимационного высушивания биопрепаратов // Курск. Издательство Курской государственной сельскохозяйственной академии, 2002, - 240 с.
6. Самуйленко А.Я., Рубан Е.А. Основы биотехнологии производства биологических препаратов (Теоретические основы, оборудование, технологические линии). - М., 2000.
7. Фисинин В.И., Егоров И.А., Околелова Т.М., Имангулов Ш.А. Кормление сельскохозяйственной птицы. // Сергиев Посад: изд. ВНИТИП, 2002, - 360 с.

CULTIVATION OF E.COLI VL-613 STRAIN FOR THE SYMBIOTIC PREPARATION MANUFACTURE

*Samujlenko A.Ya., Shkolnikov E.E., Raevskii A.A., Eremets V.I., Solovyov L.B.,
Anisimova L.V., Eremets N.K., Pavlenko I.V.*

*All-Russian Scientific-Research and Technological Institute of Biological Industry RAAS,
Shchelkovo, Russian Federation*

The paper presents the results of studies concerning the cultivation of E. coli VL-613 strain for the symbiotic preparation obtaining. It was determined the significance of the process-dependent parameters of deep-managed cultivation strain VL-613. Pre-production series of symbiotic preparation were produced.

Keywords: *E. coli*, strain, cultivation, symbiotic preparation, process-dependent parameters.