

УДК: 619: 631. 147: 616 – 053. 2

УДОСКОНАЛЕННЯ ТЕХНОЛОГІЇ КУЛЬТИВУВАННЯ ЛАКТОБАКТЕРІЙ ТА БІФІДОБАКТЕРІЙ

Завгородній А. І., Гужевська С. О.

Національний науковий центр «Інститут експериментальної і клінічної ветеринарної медицини», м. Харків, Україна, e-mail: admin@vet.kharkov.ua

У статті наведено результати удосконалення технології культивування лактобактерій та біфідобактерій. Встановлено, що на запропонованому середовищі бактерії росли і активно накопичували значну кількість життєздатних клітин: $6,2\text{--}8,2 \times 10^6$ КУО/см³ (контроль $6,1 \pm 0,07 \times 10^6$ КУО/см³) за технологічними параметрами рН–7,0 і температури 37 °С.

Ключові слова: лактобактерії, біфідобактерії, технологія

Вивчення біологічних властивостей лактобактерій і біфідобактерій, як і інших мікроорганізмів, вимагає вміння тривалого збереження та культивування культур. Це необхідно як для підтримки колекцій молочнокислих бактерій у високоактивному стані, так і для виготовлення і зберігання пробіотичних препаратів [1, 2].

У біотехнологічному процесі створення лікувально-профілактичних пробіотиків велику увагу приділяють досягненню максимального рівня виходу біомаси життєздатних клітин бактерій та відповідно синтезованих ними біологічно активних речовин, важливо при підборі штамів враховувати їх технологічність у виробничих умовах і стабільність при культивуванні з урахуванням збереження пробіотичних властивостей. Ці показники визначають продуктивність, конкуренто здатність і рентабельність технологічного процесу [3–5].

З метою прискорення росту накопичення бактеріальної маси, а також більш тривалого терміну збереження культур, проведена робота по удосконаленню технології культивування лактобактерій та біфідобактерій.

Матеріали та методи. Об'єктом досліджень були штами родів *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*.

Було виготовлено 6 варіантів дослідних поживних середовищ для культивування лактобактерій та біфідобактерій. Були підібрані компоненти до основного складу середовища: лактоза, натрій фосфорнокислий двозаміщений, натрій лимоннокислий при наступному співвідношенні компонентів, мас. %: натрій фосфорнокислий двозаміщений – 0,2–0,4, натрій лимоннокислий 0,5–0,8. Контролем служило середовище МРС. Підбір та оптимізацію середовищ проводили по наступним критеріям: рН середовища, кількістю мікробних клітин після інкубації та температури культивування.

Кількість живих мікробних клітин визначали методом серійних розведень одержаної суспензії в фізіологічному розчині з наступним висівом культур бактерій по 0,1 см³ із розведень 10⁶ на середовища з наступним підрахунком кількості колонієутворюючих одиниць. рН середовища та температурний режим культивування визначали загальноприйнятими методами.

Результати досліджень. Виготовлено 6 варіантів дослідних поживних середовищ для культивування лактобактерій та біфідобактерій. Були підібрані компоненти до основного складу середовища: лактоза, натрій фосфорнокислий двозаміщений, натрій лимоннокислий при наступному співвідношенні компонентів, мас. %: натрій фосфорнокислий двозаміщений – 0,2–0,4, натрій лимоннокислий 0,5–0,8. У кожне середовище додавали лактозу у концентрації від 1,0 до 1,5 %. Встановлено, що середовищі № 3 бактерії росли і активно накопичували значну кількість життєздатних клітин: $6,2\text{--}8,2 \times 10^6$ КУО/см³ (контроль $6,1 \pm 0,07 \times 10^6$ КУО/см³). Встановлено, що при культивуванні лактобактерій на середовищі № 3 збільшується вихід біомаси у 1,3 рази у порівнянні з контрольним середовищем. (табл. 1).

Таблиця 1 – Компонентний склад поживного середовища для культивування лактобактерій та біфідобактерій

Варіант середовища	Співвідношення компонентів в середовищі, мас %			Кількість мікробних клітин, $\times 10^6$ КУО/см ³
	Лактоза	Натрій фосфорнокислий двозаміщений	Натрій лимоннокислий	
1	1,0	0,20	0,50	7,0±0,23
2	1,1	0,25	0,55	6,7±0,07
3	1,2	0,30	0,60	8,2±0,11
4	1,3	0,35	0,65	7,7±0,09
5	1,4	0,40	0,70	7,6±0,21
6	1,5	0,45	0,80	6,9±0,21
Контрольне середовище				6,1±0,07

У процесі вивчення живильного середовища встановлено, що ріст мікроорганізмів залежить від рН живильного середовища. Чим вище рН середовища тим менша кількість молочнокислих клітин розвивається в живильному середовищі, результати наведені в таблиці 2.

Таблиця 2 – Вплив рН живильного середовища на ріст молочнокислих бактерій ($M \pm m$, $n=3$)

Початкове значення рН	Кількість мікробних клітин, $X 10^6$ кл/см ³	
	$M \pm m$	
	контроль	дослід
5,5	13,7±0,15	14,1±0,14
6,0	14,4±1,16	14,5±1,10
6,5	23,2±1,70	2,40±1,16
7,0	24,3±1,30	25,0±1,14
7,5	22,5±1,10	23,0±1,01
8,5	10,1±0,50	12±4,10

Результати досліджень рН дослідного середовища було від 5,5 до 8,5, в результаті статистичної обробки отриманих результатів виявилось, що найінтенсивніший ріст відзначався при рН 6,5–7,5. Необхідно зазначити, що максимальне накопичення культур спостерігалось при рН – 7,0 (контроль 24,3±1,30; дослід 25,0±1,14 клітин). Найменша концентрація мікроорганізмів в поживному середовищі спостерігалась при рН – 8,5.

Отримавши позитивні результати по визначенню оптимальних умов рН було визначено оптимальні температурні режими вирощування молочнокислих бактерій на запропонованому середовищі. У досліді інкубацію посіяних культур проводили за температури 30 °С – мінімальна та 50 °С – максимальна (табл. 3).

Таблиця 3 – Вплив температури вирощування на ріст молочнокислих бактерій, ($M \pm m$, $n=3$)

Температура, °С	Кількість мікробних клітин, $X 10^6$ кл/см ³	
	$M \pm m$	
	контроль	дослід
30	14,5±1,77	1,25±0,15
37	24,7±0,36	25,0±0,34
40	2,35±0,92	24,0±0,87
45	8,05±0,92	9,0±0,87
50	9,05±0,06	1,2±0,05

При статистичній обробці було встановлено, що найкращий ріст та розвиток лактобактерій проходить за температури 37–40 °С.

Таким чином дослідження показали, що при різних температурних режимах і рН середовища найкращим з них є те що має рН – 7, а інкубація посівного матеріалу проходить при 37 °С.

Висновки. Запропоновано середовище для культивування лактобактерій, на якому бактерії росли і активно накопичували значну кількість життєздатних клітин $6,2\text{--}8,2 \times 10^6$ КУО/см³. Встановлено, що при різних температурних режимах і рН середовища найкращим з них є те, що має рН–7,0, а інкубація посівного матеріалу проходить за температури 37 °С.

Список літератури

1. Банникова, Л. А. Селекция молочнокислых бактерий и их применение в молочной промышленности [Текст] / Л. А. Банникова // М.: Пищевая промышленность, 1975. - 256 с.
2. Квасников, Е. И. Молочнокислые бактерии и пути их использования [Текст] / Е. И. Квасников, О. А. Нестеренко // М.: Наука, 1975. - 384 с.
3. Кігель Н. Ф. Технології бактеріальних препаратів для функціональних продуктів і біологічно активних добавок [Текст]: автореф. дис. ... д-ра техніч. наук : 03.00.20 / Н. Ф. Кігель; [Укр. держ. ун-т харч. технологій]. – К., 2003. – 46 с.

4. Коваленко, Н. К. Биотехнология культивирования молочнокислых бактерий [Текст] / Н. К. Коваленко // Молочная промышленность. - 2002. - № 2. - С. 24 - 25.
5. Полтавська, О. А. Біологічні властивості біфідобактерій, ізольованих з різних природних джерел [Текст]: дис. ... канд. биол. наук / О. А. Полтавська. - К., 2006. - 132 с.
6. Янковський, Д. С. Микробная экология человека: современные возможности ее поддержания и восстановления [Текст] / Д. С. Янковський // К.: Эксперт ЛТД, 2005. - 362 с.

IMPROVEMENT OF TECHNOLOGY OF CULTIVATION OF LAKTOBAKTERIY AND BIFIDOBAKTERIY

Zavgorodniy A. I., Gujvinska S. A.

National Scientific Center "Institute of Experimental and Clinical Veterinary Medicine"

Study of biological properties of laktobakteriy and bifidobakteriy, as well as other microorganisms, requires ability of the protracted maintainance and cultivation of cultures. It is necessary both for support of collections of lactobacillus in the high-activity state and for making and storage of probiotichnikh preparations

Materials and methods. The object of researches were stamms: Lactobacillus, Bifidobacterium. 6 variants of experimental nourishing environments were made for cultivation of laktobakteriy and bifidobakteriy. There were neat components to the first team of environment. The environment of MRS served as control. A selection and optimization of environments was conducted for to the criteria: rN environments, by the amount of microbial cages after incubation and temperature of cultivation.

The amount of living microbial cages determined the method of the serial breedings. rN environments and temperature condition of cultivation determined the generally accepted methods.

Results of researches. The results of improvement of technology of cultivation of laktobakteriy are resulted and bifidobakteriy. It is set that on the offered environment of bacterium grew and actively accumulated the far of viable cages: 6,2–8,2 kh 10⁶ KUO/ of sm³ (control of 6,1±0,07 kh 10⁶ KUO/ of sm³) after the technological parameters of rN–7,0 and temperatures of 37 °C.

Conclusions. An environment is offered for cultivation of laktobakteriy, on which bacteria grew and actively accumulated the far of viable cages of 6,2–8,2 kh 10⁶ KUO/ of sm³. It is set that at different temperature conditions and rN environments the best of them are that which has rN–7,0, and incubation of sowing material prokhodit' for the temperatures of 37 °C.

Keywords: *lactobacilli, bifidobacteria, technology*

УДК: 619:615.37:636.22/.28.0532:619:616.2

ПОДБОР И ИЗУЧЕНИЕ АНТИГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ШТАММОВ ДЛЯ РАЗРАБОТКИ СРЕДСТВА СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ПРОФИЛАКТИКИ ВИРУСНО-БАКТЕРИАЛЬНЫХ РЕСПИРАТОРНЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ ТЕЛЯТ

Красочко П. А., Ломако Ю. В., Борисовец Д. С., Зуйкевич Т. А., Новикова О. Н., Амосова Л. А.
*РУП «Институт экспериментальной ветеринарии им. С.Н. Вышелесского»,
г. Минск, Республика Беларусь, e-mail: krasochko@mail.ru*

Проведены исследования по подбору и изучению антигенной активности штаммов возбудителей вирусно-бактериальных респираторных заболеваний телят. Для конструирования вакцины были отобраны авирулентные вакцинные штаммы вирусов: инфекционного ринотрахеита КМИЭВ-V123, диареи КМИЭВ-V120, парагриппа-3 КМИЭВ-V124, а также штаммы бактерий Mannheimia haemolytica КМИЭВ – В158 и Pasteurella multocida тип А КМИЭВ – В166. Титр противовирусных антител в крови иммунизированных телят по результатам изучения антигенной активности отобранных штаммов составил 4–4,5 (log₂).

Ключевые слова: *телята, респираторные заболевания, профилактика, вакцина, штаммы, антигенная активность*

Рост числа респираторных заболеваний крупного рогатого скота является острой проблемой во всем мире и одной из основных причин экономического ущерба в животноводстве.