

14. Юдина, М.А. Перспективы применения бациллярных бактериофагов / М.А. Юдина, Н.А. Феоктистова, Д.А. Васильев // Научно-техническое творчество молодежи – путь к обществу, основанному на знаниях: сборник докладов III Международной научно-практической конференции. – Москва, 2011. - С. 449-451.

DEVELOPMENT OF TECHNOLOGICAL PARAMETERS OF PRODUCTION OF THE BIOLOGICAL PRODUCT OF BACILLUS PUMILUS (PUMILUS) DESIGNED BY FAGOVOGO

N. A. Feoktistova, M. A. Lydina, E.O. Efreytorova, D. A. Vasilyev, B. I. Shmorgun

Key words: *bacteriophages, Bacillus mesentericus (pumilus) of Bacillus mycoides, Bacillus megaterium, bacterium, strains, parameters, potato illness of bread.*

Work is devoted to development of technological parameters of production of the biological product designed by us for definition of a potato illness of bread of wheat flour. Strains of bacteria and isolates of phages, temperature and temporary parameters of cultivation and storage, a method of cleaning of phages of bacterial cultures, appearance of a biological product are defined.

УДК 579. 64

ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ, КАК ОСНОВА ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА ЭФФЕКТИВНЫХ БИОПРЕПАРАТОВ

В.А. Жирнов, кандидат биологических наук,
Нижегородский НИИ Эпидемиологии и микробиологии им. И.Н. Блохиной
тел. 89050132038, E-mail: lab-lb@yandex.ru

А.П. Мансуров, доктор сельскохозяйственных наук, профессор
ФГОУ ВПО Нижегородская ГСХА,
тел. 89108993839, E-mail: ap. mansurow@yandex.ru

Н.Н. Кучин, доктор сельскохозяйственных наук, профессор,
ГОУ ВПО Нижегородский государственный инженерно-экономический институт,
тел. 89056646347; E-mail: kuchin53@mail.ru

Ключевые слова: *состав питательных сред, культивирование, молочнокислые бактерии, пептиды, углеводы, минеральные вещества, витамины.*

Молочнокислые бактерии отличаются сложными трофическими потребностями и полностью зависят от питательной среды, поэтому для их культивирования используются богатые по составу аминокислот, витаминов, микроэлементов питательные среды. Питательные среды определяют качество препаратов, получаемых на основе живых микроорганизмов. Разработанная питательная среда отвечает предъявляемым требованиям и позволяет получать препараты с требуемой концентрацией микроорганизмов.

Введение. В сельскохозяйственном производстве в постоянно увеличивающихся объемах используются продукты микробиологического синтеза. Популярность этих препаратов связана с их эффек-

тивностью, экологической безопасностью и относительной дешевизной. К числу таких препаратов относятся добавки для консервирования кормов различных составов и назначения.

Целью нашей работы было создание питательной среды для производства препарата из гомоферментативных молочнокислых бактерий для силосования зелёной массы с сохранением в максимальной мере её исходных питательных свойств.

Одной из наиболее важных стадий получения эффективных биопрепаратов для силосования, является стадия наращивания биомассы и дальнейшего сохранения клеток микроорганизмов в жизнеспособном состоянии в течение срока хранения препарата. Недостаток даже одного из них вызывает замедление роста или гибель клетки. В связи с этим качество питательных сред культивирования имеет первостепенное значение [1]. Штаммы молочнокислых бактерий не удается культивировать в синтетических средах. Они требовательны к источникам питания и, соответственно, для их выделения и культивирования требуются сложные питательные среды.

Наилучшими источниками конструктивного обмена молочнокислых бактерий являются продукты неполного расщепления белков животного и растительного происхождения (пептоны), которые состоят из смеси гидролизатов белка с разным молекулярным весом: полипептидов, олигопептидов и свободных аминокислот. Для осуществления энергетического обмена бактерий в питательную среду обязательно вводятся сахара. При этом следует помнить, что всякое изменение в соотношениях азота и углерода в питательном субстрате, а также замена одних форм азота другими, менее усвояемыми, приводит к нежелательным изменениям в биомассе микроорганизмов. Молочнокислые бактерии также нуждаются в неорганических элементах. Калий, натрий, магний, сера, кальций, хлор и железо потребляются ими в небольших количествах, марганец, цинк, молибден, бор, хром, кобальт – в ничтожно малых концентрациях. Замедленное накопление биомассы бактерий наблюдается при недостатке фосфора. Водорастворимые витамины группы В (тиамин, пиридоксин, рибофлавин, парааминобензойная и фолиевая кислоты) выполняют роль факторов роста молочнокислых бактерий в питательных средах [2, 3, 4].

Материалы и методы исследований.

Исследования ряда лет в области создания питательных сред для культивирования молочнокислых бактерий в основном были направлены на поиски заменителей пищевого сырья, являющегося ценным продуктом питания в рационе человека. В качестве заменителей мяса, молока предлагалось использовать растительные компоненты или отходы переработки животноводческой продукции. Так, для накопления биомассы молочнокислых бактерий при производстве биологических препаратов была предложена питательная среда, которая содержала гидролизат гороха, а также среда на основе белков, выделенных из молочной сыворотки методом ультрафильтрации [5]. Для снижения затрат при производстве лакто-содержащих препаратов также предложено использование панкреатического гидролиза творога [6].

Однако питательные субстраты, приготовленные с использованием обеднённого по пищевой ценности белка, в частности отходов производств, как правило, по ряду причин не являются полноценной заменой. Во-первых, их получение связано с дополнительными технологическими процессами (осветление, фильтрация); во-вторых, они не однородны по составу; в-третьих, как показывает практика, не обеспечивают требуемую ростовую активность.

Водорастворимые витамины в питательные среды вносятся с гидролизатом обезжиренного молока, соевого шрота и др., однако их количество недостаточно для полноценного развития молочнокислых бактерий. Поэтому в питательные среды дополнительно вносят экстракты печени или дрожжей пекарских в качестве источников витаминов. Иногда витамины, являющиеся фактором роста для конкретного штамма при его выращивании, добавляют непосредственно в виде химических соединений (фолиевая и аскорбиновая кислоты). Создание эффективной технологии приготовления питательных сред, научный подход к разработке рецептур и методов их конструирования, на основе использования новых экономичных источников сырья, является актуальной задачей.

Результаты исследований и их обсуждение.

Задачей данного этапа исследований явилась разработка промышленной питательной среды, пригодной для накопления биомасс бактерий.

В паспортах выбранных нами штаммов основной средой указана среда МРС (мясопептонная среда). Эта среда богата питательными веществами, хорошо поддерживает рост бактерий, но состав её очень сложен, требует длительной подготовительной работы. Многие компоненты, входящие в её состав, дороги, а также для её приготовления используется пищевое сырьё. Другая среда, которая часто используется для культивирования молочнокислых бактерий, имеющая в основе неохмелёное пивное сусло, подходит по цене. Однако доставка горячего нестерильного сусла в больших объемах (до 400 литров на ферментацию) трудновыполнима. Кроме того, при остывании оно подвергается контаминации воздушной микрофлорой и портится, т. е. теряет первоначальные свойства в течение 1-2 часов. Количество клеток, вырастающих на сусле, составляет всего 400 ± 50 млн/мл. Кроме того, для штамма *Lactobacillus* sp. В 23 рекомендуется питательная среда на основе кукурузного экстракта, который в нашей области не производят.

Следовательно, перед нами стояла задача создать универсальную питательную среду, пригодную для всех отобранных нами микроорганизмов, которая обеспечивала бы высокую концентрацию живых клеток в конце культивирования.

Более подходящими для реализации нашей цели являются среды МДС и ГМС (молочно-дрожжевая гидролизатно-молочная среды), часто применяемые в производстве препаратов на основе молочнокислых бактерий.

– МДС: 1. Гидролизат обезжиренного молока – 650 мл.; 2. Дрожжевой автолизат – 50 мл; 3. Дрожжевой ферментализат; 4. NaOH pH 6,6-6,7; 5. Вода дистиллированная - до 1 л. Аминный азот в готовой среде должен быть 120-140 мг%;

– ГМС: 1. Гидролизат обезжиренного молока - 0,5 л; 2. пептон - 2 г;

3. цистеин - 100 мг; 4. натрий хлористый - 3,5г; 5. агар - 0,75г; 6. вода - до 1 л.

Контрольное культивирование, проведенное на этих средах, показало хороший рост бактерий – до $1,0 \pm 0,25$ млрд. клеток в 1 мл среды. Однако недостатком этих сред является большое количество обезжиренного молока, используемого для их приготовления. Кроме того, гидролиз молока приводится в аппаратах с вымешивающим устройством при температуре 70-80 °С.

В результате проведения серии экспериментов была разработана ферментационная среда, в основе которой взяты автолизат и гидролизат хлебопекарских дрожжей, а также минеральные соли. В состав 1 л данной питательной среды входит:

- дрожжевой автолизат – 0,3 л.

- вода – 0,6 л.

- кислотный гидролизат дрожжей – 0,2 л.

- глюкоза 40 % - 0,08 л.

- калий фосфорнокислый двухзамещенный – 0,2 г.

- магний сернокислый – 0,2 г.

- марганец сернокислый – 0,05 г.

- аммоний лимоннокислый – 0,2 г.

- натрий уксуснокислый- 4,8 г.

Контрольные выращивание культур в лабораторных условиях на этой среде показали, что количество живых клеток через 8 часов составило $1 \pm 0,25$ млрд. клеток в 1 мл, что является высоким показателем.

Заключение. В результате проведенных исследований нами была разработана новая технологичная ферментационная среда, на основе пекарских дрожжей, пригодная для накопления необходимой живой биомассы лактобактерий, пригодной для использования в качестве биопрепарата при силосовании растительного сырья, которую мы назвали ПДС – полная дрожжевая среда.

Библиографический список:

1. Красильникова, Б.Н. К вопросу о химизме гомоферментативного молочнокислого брожения и его изменения в зависимости от состава среды: Автореф. канд. дисс. - М.: Медицина, 1989. – 25с.
2. Козлов, Ю.А. Питательные среды в медицинской микробиологии. /Ю.А. Козлов. – М., 1950. – С.56-58.
3. Квасников, Е.И. Молочнокислые бактерии и пути их использования. /Е.И. Квасников, О.А. Нестеренко. – М.: «Наука», 1975. – 384с.
4. Стейниер, Р. Мир микробов. /Р. Стейниер, Э. Эдельберг, Дж. Ингрэм. - М.: «Наука», 1979. – Т.3. – С.229-230.
5. Тиняков, В.Г. Способ получения бактериально-ферментного препарата. / В.Г. Тиняков, Ж.Л. Гучок, В.И. Усаков [и др.] // Патент РФ 93031946 С 12 // БИ № 1/20 – М. - 1996. – 10с.
6. Терновская, Л.Н. Способ получения гидролизата творога для приготовления питательных сред. /Л.Н. Терновская, Т.Э. Калинина, Ф.П. Шепелев [и др.] // Патент РФ 94018505 С 12 – БИ № 1\20 - М., 1996. –12 с.

NUTRIENT MEDIUM AS THE BASIS OF TECHNOLOGY PRODUCTION OF EFFECTIVE BIOPREPARATIONS

C. A. Zhirnov, A. P. Mansurov, N. N. Kuchin

Keywords: *nutrient media, culturing Bactotories lactic bacteria, peptides, carbohydrates, minerals and vitamins.*

Lactic acid bacteria are different trophic complex needs and are completely dependent on the nutrient medium, so for their cultivation are used rich composition of amino acids, vitamins, trace elements medium. Nutrient media determine the quality of preparations based on living organisms. Developed nutrient medium meets the requirements and enables agents to the desired concentration of microorganisms.