

11. Brando, R J. F. (2008). Renal damage and death in weaned mice after oral infection with shiga toxin 2-producing *Escherichia coli* strains. *Clin. Exp. Immunol.*, Vol. 153(2), 297-306.
12. Levchenko, V.I., Sokoljuk, V.M., Bezuh, V.M. et al. (2002). *Doslidzhennja krovi tvarin ta klinichna interpretacija otrimanih rezul'tativ: Metodichni rekomendacii* [Studies of animal blood and clinical interpretation of the results: Guidelines]. Bila Cerkva [in Ukrainian].
13. Ivchenko, V.M., Pavlenko, M.S., Gorbatjuk, O.I. et al. (2002). *Metody imunologichnyh doslidzhen' u laboratorijah veterynarnoi' medycyny: Metodichni rekomendacii'* [Methods immunological research in laboratories of Veterinary Medicine: Guidelines]. BDAU [in Ukrainian].
14. Kozljuk, A.S., Anisimova, L.A. & Shrojt I.G. (1987). *Immunologicheskie metody v gigienicheskikh issledovanijah* [Immunological methods in hygienic studies]. Kishinev: Shtiinca [in Russian].
15. Ojvin, I.A. (1960). Statisticheskaja obrabotka rezul'tatov jeksperimental'nyh issledovanij [Statistical analysis of experimental results]. *Patologicheskaja fiziologija i jeksperimental'naja terapija – Pathological Physiology and Experimental Therapy*, 4, 396-401 [in Russian].

УДК 619:[616.98+579.834]

БИНДА А.В.*,
НИЧИК С.А., д-р вет. наук, проф.,
КУЛИКОВА В.В., канд. вет. наук, ст. наук. сп.
Інститут ветеринарної медицини НААН

ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ ПОТОЧНОГО РЕАКТОРНОГО КУЛЬТИВУВАННЯ ЛЕПТОСПІР

*У статті проведений аналіз літературних джерел стосовно біореакторів для поточного реакторного культивування мікроорганізмів та визначено перспективи його застосування для виробництва вакцин. Наведені дані щодо культивування *L. interrogans* серовар *Grippotyphosa* (штам *Moskva V*) за поточного реакторного культивування. Проведений порівняльний аналіз методу культивуванням лептоспір на рідких поживних середовищах із поточним реакторним культивуванням. Схематично показано прототип біореактори, та наведені переваги істотного та поточного реакторного культивування лептоспір в лабораторії лептоспірозу з музеєм мікроорганізмів ІВМ НААН.*

Ключові слова: біореактор, культивування, мікроорганізми, ферментер, лептоспіра.

Вступ. Біореактор (прилад, який здійснює перемішування культурального середовища в процесі мікробіологічного синтезу) застосовується в біотехнологічній промисловості при виробництві лікарських і ветеринарних препаратів, вакцин, продуктів харчової промисловості (ферменти, харчові добавки, глюкозні сиропи), а також при біоконверсії крохмалю та виробництві полісахаридів і нафто деструкторів.

Культуру лептоспір у виробничих умовах на біологічних фабриках вирощують за температури 28°C протягом 72–90 годин і парціального тиску розчиненого кисню в межах 15–20% від насичення киснем повітря. Для

* Аспірант, науковий керівник, д-р вет. наук, проф. **Ничик С.А.**

культивування використовують метод культивування мікробних клітин на рідких середовищах, а саме: середовище Терських; сироватка крові (5–10%), антиген. На початку культивування лептоспир окислювально-відновлювальний потенціал знижують до 180–200 мВ. Відносні переваги більшості мікроорганізмів як біологічних об'єктів наступні: більша «простота» організації геному; досить легка пристосованість (лабільність) до середовища існування у природних і штучних умовах; виражені швидкісні характеристики перебігу ферментативних реакцій і наростання клітинної маси за одиницю часу.

Мета роботи. Провести аналіз існуючих біореакторів, вибрати прототип біореактора для проведення дослідів у лабораторних умовах, визначити перспективи застосування поточного реакторного культивування для накопичення біомаси лептоспир.

Матеріали і методи досліджень. Для проведення дослідів використали антиген *L. interrogans* серовар *Grippotyphosa* (штам *Moskva V*) з накопиченням 40 млн. кл./см³; середовище Терських (KH₂PO₄, Na₂HPO₄); ліофільно висушена сироватка ВРХ, ферментер – КС 6.00.00 з блоком культиватора (ємністю 36,5 л – від 8 до 30 л з прошарком простору для культивування лептоспир), які складаються з блоку живлення, набору модульних столів, колб для культивування, індивідуальні приводи, система термостатування, система стислого очищеного повітря. Дані ферментери розрізняються тільки за геометричними розмірами. Схематично прототип ферментера представлений на рис. 1.

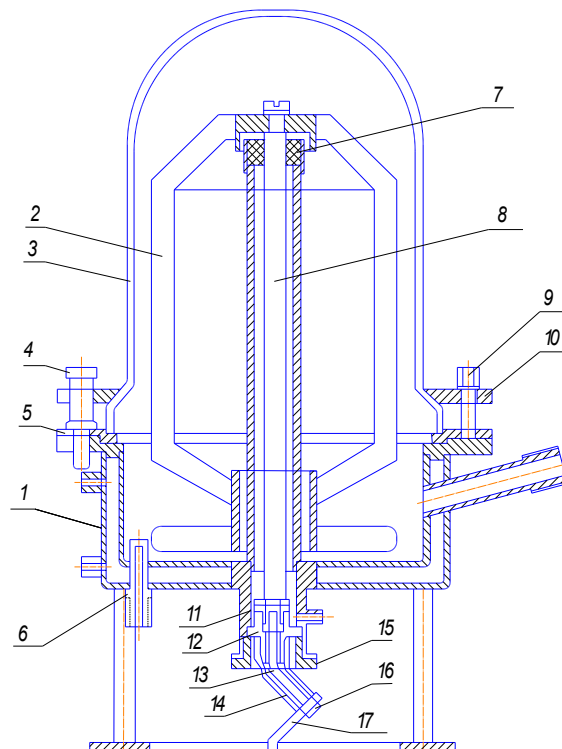


Рис. 1. Схематична модель прототипа ферментера:

1 – корпус металевий; 2 – мішалка рамна; 3 – скляна колба; 4 – вінт кріплення; 5 – фланець колби; 6 – елемент фільтруючий титановий; 7 – втулка фторопластова; 8 – вал; 9 – гайка; 10 – фланець нерезжимний; 11 – втулка; 12 – корпус; 13 – поводок; 14 – трубка силіконова; 15 – фланець; 16 – пробка; 17 – поводок.

Результати досліджень та їх обговорення. Біореактор (прилад, який здійснює перемішування культурального середовища в процесі мікробіологічного синтезу) застосовується в біотехнологічній промисловості при виробництві лікарських і ветеринарних препаратів, вакцин, продуктів харчової промисловості (ферменти, харчові добавки, глюкозні сиропи), а також при біоконверсії крохмалю та виробництві полісахаридів і нафтодеструкторів [1].

Призначенням будь-якого біореактора є створення оптимальних умов для життєдіяльності культивованих в ньому клітин і мікроорганізмів, а саме забезпечення дихання, підведення живлення і відведення метаболітів шляхом рівномірного перемішування газової і рідкої складових вмісту біореактора. При цьому небажано піддавати клітини тепловому або механічному впливу [3].

Розрізняють механічні, аерліфтні і газо-вихрові біореактори, а також аеробні (з подачею повітря або газових сумішей з киснем), анаеробні (без подачі кисню) і комбіновані аеробно-анаеробні. В останньому випадку в комбінованому біореакторі проводять культивування як аеробних, так і анаеробних культур одночасно. Зазвичай це застосовується для отримання біогазу, коли тепловиділення в аеробному процесі використовують для підігріву анаеробної культури.

У механічному біореакторі перемішування здійснюється механічною мішалкою, розбиваючи великі бульбашки повітря, розносять їх по всьому реактору і збільшують час перебування в культуральному середовищі. Ефективність розподілу повітря залежить від типу мішалки, числа обертів, фізико-хімічних властивостей середовища.

При інтенсивному перемішуванні культурального середовища відбувається її спінення, тому робочий об'єм біореактора не перевищує 70% загального обсягу. Вільний простір над поверхнею розчину використовується як буферна зона, де накопичується піна, і таким чином запобігає втраті культуральної рідини [5].

У аерліфтному біореакторі перемішування здійснюється завдяки повітрю, яке подають в нижню частину вертикального каналу. Піднімаючись, повітря захоплює за собою рідину до верхньої частини каналу, де розташований газорідинний сепаратор (тут частково виходить повітря). Більш щільна деаерірована рідина опускається по іншому вертикальному каналу до дна реактора і процес повторюється. Таким чином, в аерліфтних біореакторах культуральне середовище разом з клітинами циркулює безперервно.

У біореакторі газо-вихрового типу перемішування здійснюється квазістаціонарним потоком з осьовою протитечією, який створюється аеруючим газовим вихором за рахунок перепаду тиску над поверхнею і сили тертя повітряного потоку об поверхню суспензії [4]. Біореактори використовуються для отримання великих кількостей мікробної біомаси при виробництві антибіотиків, ферментів, вітамінів, амінокислот, білково-вітамінних концентратів та інших біологічно активних речовин [5].

У своїй роботі ми проаналізували дані літературних джерел, і вирішили використати ферментер з механічною мішалкою.

Ми поставили дослід з культивування мікроорганізмів на ферментері КС 6.00.00 (рис. 1). Для цього було взято *L. interrogans* серовар *Grippotyphosa* (штам *Moskva V*) з накопиченням 40 млн. кл./см³; в кількості (10%), з додаванням 10 % сироватки крові ВРХ на середовище Терських – до 1 л. До цього дослід, серовар *Grippotyphosa* (штам *Moskva V*) при звичайному культивуванні у скляних бутлях, з неодноразовим пасажуванням, було максимальне накопичення 40–60 млн.кл /см³. Щоденно спостерігали накопичення культури лептоспир шляхом їх перегляду у темному полі мікроскопа. На 2–3 добу накопичення було 30 млн. кл./см³; на 4–5 добу накопичення було незмінним; на 7–8 добу спостерігали зниження кількості мікробних клітин до 20 млн. кл./см³. Відмічали піноутворення та осад. В результаті дослід ми не досягли потрібної кількості мікробних клітин (> 80 млн. кл./см³).

Застосування скляних бутлів для культивування лептоспир дуже трудомісткий процес, який оснований на важкій ручній праці, включає численні операції з бутлями при монтажі, фільтруванні середовища, посіві культури лептоспир, перегляді культури на накопичення, перекачуванні культури лептоспир для складання серії вакцини та інше. Такий спосіб культивування може призводити до контамінації окремих бутлів сторонньою мікрофлорою, а в подальшому до збільшення витрат сировини та часу на приготування вакцини. В даний час позначається брак скляного посуду, її дорожнеча і відносно короткий термін експлуатації.

Таким чином, поточне реакторне культивування, як безперервний процес культивування мікроорганізмів, має істотні переваги перед періодичним, тому що безперервна ферментація здійснюється за умов сталого режиму, коли мікробна популяція та її продукти найбільш однорідні. Застосування безперервних процесів ферментації створює умови для ефективного регулювання й керування процесами біосинтезу.

Висновки та перспективи подальших досліджень:

1. Встановлено, що культивування лептоспир у ферментері доцільно використовувати у лабораторних умовах, виключить необхідність використання скляного посуду, подовжить термін експлуатації біореактора, ніж бутлів; зменшить витрати на первинні компоненти (середовище, сироватку крові і т.д.); виключить можливість контамінації; скоротить час культивування та дозволить одержати максимальну врожайність мікробних клітин.

2. Накопичення мікробних клітин – *L. interrogans* серовар *grippotyphosa* (штам *Moskva V*) – у біореакторі при поточному реакторному культивування становило 20 млн. кл./см³. Дана концентрація є недостатньою для виготовлення вакцин, тому необхідно доопрацювати параметри при поточному реакторному культивуванні.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Алмагамбетов К.Х. Биотехнология микроорганизмов / К.Х. Алмагамбетов. – Астана: ЕНУим. Л. Н. Гумилева, 2008. – 244 с.

2. Бирюков В.В. Основы промышленной биотехнологии/ В.В. Бирюков. – М.: Колос: Химия, 2004. – 296 с.
3. Божков А.И. Биотехнология. Фундаментальные и промышленные аспекты/ А.И. Божков. – Харьков, 2005. – 364 с.
4. Егорова Т.А. Основы биотехнологии / Т.А. Егорова, С.М. Клунова, Е.А. Живухина. – М.:Академия, 2003. – 208с.
5. Klaas van't R. Basic bioreactor design/ R. van't Klaas, H. Tramper. – NY(USA), 1991. – P. 465.

ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ ТЕКУЩЕГО РЕАКТОРНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЛЕПТОСПИР / Бында А.В., Нычик С.А., Куликова В.В.

В статье проведен анализ литературных источников по биореакторам для текущего реакторного культивирования микроорганизмов и определены перспективы применения в ветеринарной медицине. Схематически показано прототип биореакторов, и приведены преимущества существенного и текущего реакторного культивирования лептоспир в лаборатории лептоспироза с музеем микроорганизмов ИВМ НААН.

*Приведены результаты по культивированию *L. interrogans* серовар *Grippotyphosa* (штамм Москва V) текущего реакторного культивирования. Показан сравнительный анализ метода культивирования лептоспир на жидких питательных средах с текущим реакторным культивированием.*

*Накопление микробных клеток – *L. interrogans* серовар *Grippotyphosa* (штамм Москва V) – в биореакторе при текущем реакторном культивировании составило 20 млн. кл./см³. Данная концентрация недостаточна для изготовления вакцин, поэтому необходимо доработать параметры при текущем реакторном культивировании. Текущее реакторное культивирования лептоспир может быть рекомендовано для производства вакцин на биологических фабриках для повышения эффективности производства.*

Ключевые слова: биореактор, культивирование, лептоспира, ферментер, микроорганизмы.

PROSPECTS FOR THE CURRENT REACTOR CULTIVATING OF LEPTOSPIRES / Bynda A.V., Nychyk S.A., Kulykova V.V.

In the article analysis of literary sources is conducted in relation to fermenters for current reactor cultivation of microorganisms and the prospects of application in veterinary medicine are studied.

The goal of the work. *To conduct the analysis of existent fermenters and to define prospects of application of current reactor cultivation for leptospires, and to create the prototype of the bioreactor for its usage in the laboratory conditions.*

A fermenter is a device that carries out interfusion of cultural environment in the process of microbiological synthesis. It is used at biotechnological industry at the production of medicinal and veterinary preparations, vaccines, foods of food industry (enzymes, food additions, glucose syrups), and also at to bioconversion of starch and production of polysaccharides and oil destructors.

The relative advantages of most microorganisms as biological objects include: greater "simplicity" of the genome; pretty easy adaptability (labile) to the habitat in natural and artificial conditions; pronounced flow speed characteristics of enzyme reactions and growth of cell mass per unit time. Compared to the plant and animal cells microbial cells multiply, usually much faster, therefore, they quickly run across all metabolic (metabolic) processes.

Fermenters or bioreactors are cameras in which a liquid or solid medium growing microorganisms. The process takes place in the fermenter is called fermentation.

There are mechanical, airlifting and gas-vortex bioreactors and aerobic (with air supply or gas mixture of oxygen), anaerobic (without oxygen) and combined–aerobic-anaerobic. In the latter

case, the combined bioreactor cultivation is carried out both aerobic and anaerobic cultures simultaneously. Usually it is used for biogas as heat in the aerobic process is used to heat the anaerobic culture.

Bioreactors are divided into three main groups: 1) reactor with mechanical stirring; 2) bubble column through which to pass the air mixing content; 3) airlifting reactors with internal or external circulation.

Materials and Methods: In the experiment it was used the antigen – *L. interrogans* serovar Grippotyphosa (strain Moskva V) with accumulation of 40 million cells/cm³; medium Tersky (KH₂PO₄, Na₂HPO₄); lyophilized bovine serum; fermenter KS 6.00.00 with power cultivator (capacity 36.5 liters capacity – from 8 to 30 L with the air zone for cultivating), consisting of a power supply, a set of modular tables for culturing flasks, individual drives, system thermostat system, purified compressed air.

Results of research and discussion. It was established that the cultivation of leptospira in the fermenter eliminate the need for glassware, extend the life of the bioreactor than bottles; reduce the cost of primary components (environment, serum, etc.); eliminate the possibility of contamination; reduce the manufacture of vaccines and will receive a maximum yield of microbial cells.

Accumulation of microbial cells – *L. interrogans* serovar Grippotyphosa (strain Moskva V) – in the bioreactor at current cultivation reactor was 20 million cells/cm³. This concentration is insufficient for the manufacture of vaccines, so it is necessary to finalize parameters for the current reactor cultivation.

Prospects of the usage. The current reactor cultivation leptospira can be used to collect a sufficient amount of antigen for vaccine production in biofactory.

Keywords: bioreactor, fermenter, cultivation, microorganisms, leptospira.

REFERENCES

1. Almagambetov, K.H. (2008). *Biotehnologiya mikroorganizmov [Biotechnology of microorganisms]*. Astana: ENUim [in Russian].
2. Biryukov, V.V. (2004). *Osnovy promyshlennoj biotekhnologii [The basic of industrial biotechnology]*. Moscow: Kolos: Himiya [in Russian].
3. Bozhkov, A.I. (2005). *Biotehnologiya. Fundamental'nye i promyshlennye aspekty [Biotechnology. Fundamental and industrial aspects]*. Har'kov [in Russian].
4. Egorova, T.A., Klunova, S.M. & Zhivuhina, E.A. (2003). *Osnovy biotekhnologii [The basic of biotechnology]*. Moscow: Akademiya [in Russian].
5. Klaas van't, R., Tramper, H. (1991). *Basic bioreactor design*. NY(USA) [in English].

УДК 639:615.918:636.5.085

ВАСЯНОВИЧ О.М., канд. с.-г. наук, ст. наук. сп., e-mail: myso-ivm@rambler.ru

САПСАЙ І.С., e-mail: isapsail7@gmail.com

ЯНГОЛЬ Ю.А., e-mail: juliajangol@gmail.com

Інститут ветеринарної медицини НААН

ЗАСТОСУВАННЯ СОРБЕНТІВ ТА КОРМОВИХ ДОБАВОК ДЛЯ ДЕТОКСИКАЦІЇ КОРМІВ

У статті наведені порівняльні дані досліджень адсорбційних властивостей сорбентів вітчизняного та іноземного виробництва. Встановлено ступінь сорбції мікотоксинів: Т-2 токсину, зеараленону, стеригматоцистину, афлатоксину В₁ відносно запропонованих виробником норм та збільшених вдвічі.