

УДК 582.26

А.С. Кистаубаева*, А.А. Жубанова, И.С. Савицкая, Н.Ш. Акимбеков, М. А. Абдулжанова
Казахский национальный университет имени аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан
*e-mail: aida_kaz@mail.ru

Получение сорбированного пробиотика-биокompозита иммобилизацией клеток *Bacillus subtilis* ж-16 на поверхности карбонизованной рисовой шелухи

Определена эффективность сорбции и подобраны условия для осуществления эффективной сорбционной иммобилизации вегетативных клеток бактерий *Bacillus subtilis* Ж-16 на поверхности карбонизованной рисовой шелухи.

Ключевые слова: Сорбция, иммобилизация, биокompозит

A.S. Kistaubaeva, A.A. Zhubanova, I.S. Savitskaya, N.Sh. Akimbekov

Production of sorbed probiotic – biocomposite by immobilization of *bacillus subtilis* g-16 on carbonized rice husk surface

Efficiency of sorption has been defined and conditions for implementation of effective sorption immobilization of vegetative *Bacillus subtilis* G-16 cells on the surface of carbonized rice husk have been carried out.

Keywords: sorption, immobilization, biocomposite

Кистаубаева А.С., Жубанова А.А., Савицкая И.С., Акимбеков Н.Ш.

Карбонизделген күріш қауызының бетіне иммобилизделген *bacillus subtilis* ж-16 клеткаларынан сорбцияланған пробиотик-биокompозит алу

Bacillus subtilis Ж-16 бактерияларының вегетативті клеткаларының сорбциялық иммобилизациясының эффективті жүргізу жағдайлары таңдалып, сорбцияның эффективтілігі анықталған.

Түйін сөздер: Сорбция, иммобилизация, биокompозит

Пробиотики, иммобилизованные на сорбентах, по своей эффективности превосходят широко распространенные в настоящее время жидкие формы или сухие концентраты пробиотических культур [1, 2]. Преимущество таких биокompозитов в синергическом действии микробной (антагонистическая активность в отношении патогенной микрофлоры и протеолитическое действие) и сорбционной (детоксикационное (детоксикационное действие и защита клеток микробов-антагонистов) составляющих [3].

Для получения биоконпозита проводили адсорбционную иммобилизацию вегетативных клеток штамма *Bacillus subtilis* Ж-16 на сорбент – карбонизованную рисовую шелуху (КРШ). Рассчитывали показатели эффективности этого процесса и анализ факторов, влияющих на степень закрепления клеток на поверхности носителя. Такими факторами в предпринятом эксперименте служили: время контакта клеток с сорбентом, его предварительная специальная обработка и условия проведения иммобилизации (в питательной среде или физиологическом растворе) [4].

Процесс иммобилизации проводили при температуре 20° С и рН 6,0 после предварительной стерилизации сорбента в автоклаве. Для более полного контакта сорбента с клетками флаконы с бактериальной суспензией и сорбентом периодически встряхивали на шуттель-аппарате. Эффективность сорбции бактерий рассчитывали по разнице концентраций клеток микроорганизмов в культуральной среде до и после сорбционного процесса. Результаты этого эксперимента представлены в таблице 1.

Характер изменений значений емкости сорбции свидетельствует о постепенном приросте биомассы клеток *B. subtilis* Ж-16 на сорбенте уже начиная с 1 - 6 часового контакта, что приводит к снижению количества суспендированных клеток. Уже к 10 часам эксперимента изменение концентрации клеток на носителе достигает плато, которое измеряется динамическим балансом между сорбцией и откреплением клеток, т.е. зависит от действия сил десорбции. Т.е. дальнейшее увеличение времени контакта суспензии микроорганизмов с носителем не приводило к возрастанию количества прикрепившихся клеток (Рисунок1). На основании полученных данных можно сделать вывод, что 10 часов - оптимальное время для иммобилизации клеток *B. subtilis* ЖК-16 на КРШ в условиях проведенного нами эксперимента.

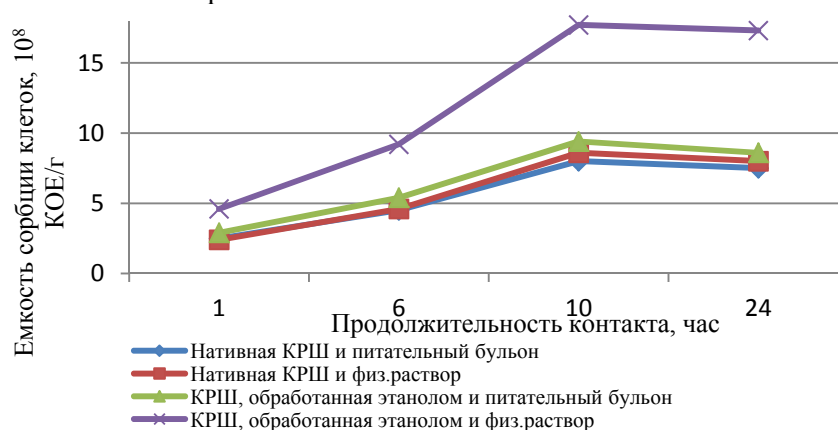


Рисунок 1 – Динамика сорбции клеток *Bacillus subtilis* ЖК-16 на поверхности КРШ

Таблица – Сорбция клеток *Bacillus subtilis* Ж-16 на КРШ

Условия эксперимента	Исходная концентрация клеток в суспензии, 10 ⁸ КОЕ/мл	Максимальная эффективность сорбции, %
Нативная КРШ и питательный бульон	25±1,9	32
Нативная КРШ и физ.раствор	20±1,5	43
КРШ, обработанная этанолом и питательный бульон	18±1,4	52
КРШ, обработанная этанолом и физ.раствор	23±2,4	77

Оңтүстіктік, қызылордалық және солтүстіктік қыздардың қанындағы лейкоциттердің орташа мөлшері семестрдің басында ҚӨК-сіз бақылауларда тиісінше (5,8±0,5), (5,5±0,5) және (5,8±0,3) x10⁹/л тең болса, тыныс жаттығулары жүргізілген эксперимент тобында (5,6±0,5), (5,7±0,4) және (5,6±0,7)x10⁹/л көрсетті. Семестрдің соңында ҚӨК-сіз топта олардың мөлшері оңтүстіктің қыздарында өзгермесе, қызылордалықтарда 1,8%-ға көтеріліп, солтүстіктік қыздарда 1,7%-ға төмендеді, ал ҚӨК-ті топта барлық жағдайда да тиісінше 5,4, 1,8 және 1,8%-ға төмендеді. Семестрдің соңындағы ақ қан клеткаларының мөлшері оңтүстіктік, қызылордалық және солтүстіктік қыздарда ҚӨК-сіз бақылауларда тиісінше (5,8±0,5), (5,6±0,5) және (5,7±0,3) x10⁹/л тең болса, тыныс

жаттығулары жүргізілген эксперимент тобында $(5,29 \pm 0,5)$, $(5,59 \pm 0,4)$ және $(5,49 \pm 0,7) \times 10^9$ /л тең болды (сурет 1).

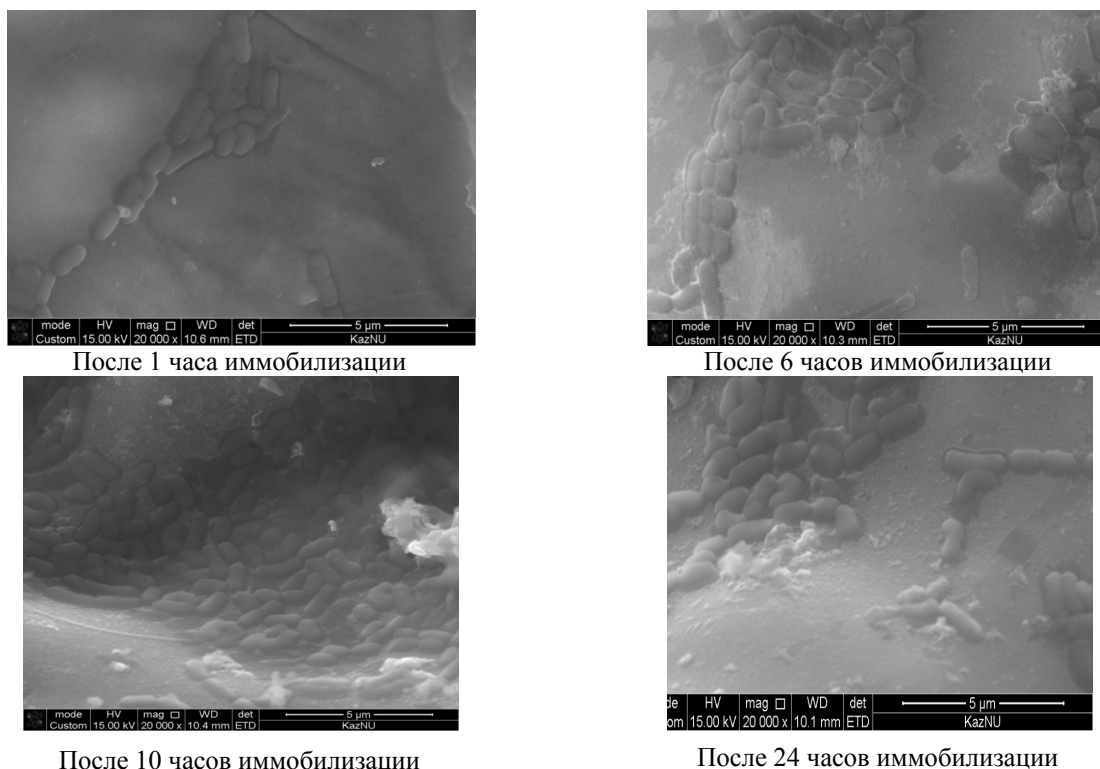


Рисунок 2 – Электронограмма поверхности КРШ с клетками *B. subtilis* Ж-16

ч

Электронно-микроскопическое исследование образовавшейся на поверхности КРШ биопленки, позволило обнаружить микроколонии *B. subtilis* Ж-16, что также подтверждало факт их успешной иммобилизации на поверхности сорбента (Рисунок2).

Таким образом, итогом проделанной работы является получение композитного материала на основе сорбента КРШ с закрепленными на нем клетками *B. subtilis* ЖК-16 в количестве $(4 \pm 2) \times 10^8$ микробных тел в 1 г.

Литература

1. Волков М.Ю. Эффективные формы пробиотиков, иммобилизованных на природных адсорбентах // Пищевые ингредиенты. Сырье и добавки. – 2007. - №1. – С.48-51.
2. Решетников В.И. Разработка лекарственных форм препаратов с иммунобиологической и сорбционной активностью // Фармация. – 2002. - №5. – С. 40-44.
3. Авдеев В.Г. Пробиотики и пребиотики в лечении заболеваний желудочно-кишечного тракта // Клиническая фармакология и терапия. - 2006. – В. 15. - №1. - С. 36-40.
4. Bhinu V.S. Insight into biofilm-associated microbial life. – J. Mol. Microbiol. – 2005. - Vol. 3. – P. 197-214.
5. Zhu Y., Smits J.P., Knol W., Bol J. A novel solid-state fermentation system using polyurethane foam as inert carrier // Biotechnol. Lett. - 1994. -Vol. 16, №6. - С. 643-648.
6. Курдиш И.К. Взаимодействие микроорганизмов с твердыми материалами и его биотехнологическое значение // Микробиологический журнал. – 1999. - Т. 61, № 1. - С. 60-73.