

Information about the authors

Dinara Akimbaevna Akimova* – Doctoral student of the Department of «Food Production Technologies and Biotechnology»; Shakarim University of Semey, Republic of Kazakhstan; e-mail: akdilife@mail.ru ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-4787-4966>.

Aitbek Kalievich Kakimov – Doctor of Technical Sciences, Professor of the Department of Technological Equipment and Mechanical Engineering; Shakarim University of Semey, Republic of Kazakhstan; e-mail: bibi.53@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9607-1684>.

Zhanibek Serikbekovich Yesimbekov – PhD, Semey branch of Kazakh Research Institute of Processing and Food Industry LLP, Republic of Kazakhstan; e-mail: ezhanibek@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8556-9954>.

Yerlan Sauykovich Zharykbassov – PhD, Acting Associate Professor of the Department of «Food Production Technology and Biotechnology» Shakarim University of Semey, Republic of Kazakhstan; e-mail: erlan-0975@mail.ru. ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9707-0539>.

Поступила в редакцию 08.01.2024

Принята к публикации 06.02.2024

DOI: 10.53360/2788-7995-2024-2(14)-18

МРНТИ: 34.27.17



Г.С. Альжанова^{1,*}, С.С. Ануарбекова¹, А.Е. Хасенова², А.М. Садыков¹

¹ТОО «Научно-аналитический центр «Биомедпрепарат»,
021500, Республика Казахстан, г. Степногорск, 9 мкр, 4

²Филиал ТОО «Национальный центр биотехнологии»,
021500, Республика Казахстан, г. Степногорск, 6 мкр. 6

*e-mail: gulzhan-12@mail.ru

ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ДЛИТЕЛЬНОГО ХРАНЕНИЯ КУЛЬТУР МИКРООРГАНИЗМОВ В ЛИОФИЛЬНОВЫСУШЕННОМ СОСТОЯНИИ

Аннотация: Развитие промышленной биотехнологии базируется на использовании ресурсов таких объектов, как культуры микроорганизмов. В коллекциях культур микроорганизмов находятся на хранении штаммы, которые используются в научно-исследовательской работе и прикладных разработках. Расширение ресурсов промышленных микроорганизмов, оптимизация способов их хранения и улучшения биопроductive свойств является актуальной задачей коллекции микроорганизмов. В данной работе нами был изучен максимальный показатель жизнеспособности и морфо-культуральные характеристики коллекционных культур, заложенные на хранение более 10 лет методом лиофильного высушивания. Проводилось это с целью оценки эффективности данного метода хранения и используемых защитных сред. Объектом исследования были 32 штамма различных таксономических групп бактерий, грибов, дрожжей и актиномицетов. В итоге, нами получены следующие результаты: 2 культуры не дали рост после реактивации, 30 культур соответствуют свои паспортным характеристикам и имеют показатель жизнеспособности в допустимых для промышленных культур пределах, более 10^6 КОЕ/мл: 10^8 – 10^{10} КОЕ/мл. Полученные данные подтверждают эффективность хранения методом лиофилизации и применяемых защитных сред на желатине, сахарозе и обезжиренном молоке. Объекты исследования могут применяться в различных сферах жизнедеятельности человека.

Ключевые слова: Штамм; хранение; реактивация; лиофилизация; защитные среды; коллекция; жизнеспособность.

Введение

Для сохранения культур микроорганизмов существуют коллекции культур микроорганизмов, роль которых с годами растёт.

История развития коллекционного дела, связана с возможностью, выделять чистую культуру микроорганизмов. Первая лаборатория была основана в Праге Франтишком Кралем (1846-1911), она стала всемирно известной как «Коллекция микроорганизмов Кральшека». Находилась эта коллекция в Праге с 1890 по 1911 годы, затем в Вене до 30-х

годов XX века. Первые коллекции служили для обучения микробиологии и демонстрации бактерий. Только после 30-х годов было оценено значение коллекций для таксономии бактерий, сохранения штаммов для исследований и как стандартных культур [1].

Коллекция в Баарне (Голландия) была основана в 1904 году. В Англии национальная коллекция типовых культур в институте Листера в Лондоне основана в 1920 году, в Америке – American Type Culture Collection в Вашингтоне – в 1925 году [1]. Известны российские коллекции, коллекция Беларуси и др. С 2001 года существует Республиканская коллекция микроорганизмов Казахстана [2]. Коллекционное дело в целом получило развитие благодаря деятельности Всемирной федерации коллекций культур (WFCC) [1].

WFCC разработано положение, согласно которому, микробные культуры, выделяемые на территории государства, являются его национальным достоянием. В связи с этим, возрастает ценность коллекций культур, так как они являются не только центром поддержания и предоставления штаммов микроорганизмов, но и хранилищем фондов микробного разнообразия страны.

В коллекциях культуры должны храниться несколькими методами во избежание потери штамма и его свойств. Более эффективными являются длительные методы хранения: криоконсервация – заморозка в условиях жидкого азота или низких температур; и лиофилизация – высушивание под вакуумом [3-6].

В статье Похиленко В.Д. с соавторами [7] детально представлены методы хранения микроорганизмов, практикуемых в международных, национальных, региональных, институтских и университетских коллекциях живых культур.

Одной из задач научной программы, выполняемой нами, является «Мониторинг профильных коллекций промышленных микроорганизмов», в связи с этим оценивали свойства коллекционных культур микроорганизмов, находящихся на хранении в наших лабораториях.

Материалы и методы исследования

Объектами исследований являются коллекционные штаммы культур микроорганизмов в количестве 32 различных бактерий, дрожжей, грибов и актиномицетов.

Для реактивации коллекционных культур посев проводили истощающим штрихом методом Гоулда, с помощью которого также проводили подсчёт выросших колоний с оценкой максимального показателя жизнеспособности (ЖСП) в секторах с использованием таблицы Гоулда [8, 9].

Чистоту и морфологические признаки изучали микроскопическим методом по Граму [8, 9].

Результаты исследования

Поддержание штаммов в рабочем состоянии, сохранение их ценных свойств являются важными условиями практически любой работы с микроорганизмами – от первичного изучения до использования их в производстве различных биопрепаратов [3, 7].

Одним из способов является лиофильное высушивание.

Ллиофилизация – один из самых эффективных и экономичных методов длительного хранения, заключающийся в удалении воды из замороженных суспензий под вакуумом с использованием аппаратов для лиофилизации [10].

Микробы после длительного хранения перед использованием подлежат реактивации. Для этого их выращивают в оптимальных условиях на средах, обогащенных питательными веществами.

В качестве объекта исследований использованы коллекционные штаммы, в количестве 32, хранящиеся в лиофильновысушенном состоянии от нескольких до десятков лет (рисунок 1).

Культуры хранились в защитной среде следующего состава: желатин – 1 г.; сахароза – 10 г.; вода дистиллированная – 100 мл. (ЖСС), также молоко обезжиренное (ОСМ) для молочнокислых бактерий.

На ОСМ обычно закладывают молочнокислые бактерии, дрожжи, а остальные на ЖСС, хотя имеются литературные данные и наш опыт, подтверждающий, что ОСМ может эффективно применяться для различных групп микроорганизмов.



Рисунок 1 – Ампула с лиофильновысушенным штаммом *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* w 346 (1501) №14 (1993 г.)

Наименование исследуемых штаммов, их промышленная ценность и наименование защитной среды представлено в таблице 1.

Таблица 1 – Перечень промышленно-ценных культур микроорганизмов

Наименование штамма	Биологическая (целевая) активность штамма	Наименование защитной среды
<i>Streptococcus thermophilus</i> S-1	Антагонистическая активность	ОСМ
<i>Streptococcus lactis</i> №7	Гидролитический ферментный комплекс, антагонистическая активность	ОСМ
<i>Streptococcus cremoris</i> K7	Антагонистическая активность	ОСМ
<i>Lactobacillus plantarum</i> C-2 B-665	Антагонистическая активность	ОСМ
<i>Lactobacillus bulgaricus</i> №31 ЛК	Антагонистическая активность	ОСМ
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> 12a	Антагонистическая активность	ОСМ
<i>Lactobacillus acidophilus</i> A-2 B-679	Антагонистическая активность	ОСМ
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-1 B-669	Для получения этилового спирта	ЖСС
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (5) 6A K-25 Y-94	Для получения этилового спирта	ЖСС
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> Y-448	Для получения этилового спирта	ЖСС
<i>Bifidobacterium</i> Y-1	Антагонистическая активность, для производства препарата «Бифидумбактерин»	ЖСС
<i>Streptomyces roseoflavus</i> var. <i>rossefungini</i> 2-91	Продуцент БАВ	ЖСС
<i>Penicillium cyclopium</i> 1 F-84	Продуцент БАВ	ЖСС
<i>Bacillus subtilis</i> 720 B-18	Продуцент БАВ	ЖСС
<i>Bacillus polymyxa</i> ДН	Продуцент полимиксина	ЖСС
<i>Bacillus thuringiensis</i> A1	Энтомопатогенный препарат	ЖСС
<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i> w 346 (1501) №14	Энтомопатогенный препарат	ЖСС
<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>thuringiensis</i> 620 M	Энтомопатогенный препарат	ЖСС
<i>Dietzia maris</i> MB3	Нефтедеструктор	ЖСС
<i>Bacillus licheniformis</i> 356	Продуцент БАВ	ЖСС
<i>Candida tropicalis</i> СК-4 Y-4	Продуцент БАВ	ЖСС
<i>Pseudomonas boreopolis</i> 2-3K	Нефтедеструктор	ЖСС
<i>Rizobium meliloti</i> Rh-3 B-105	Для увеличения плодородия почвы	ЖСС
<i>Sinorhizobium fredii</i> SR-1	Для увеличения плодородия почвы	ЖСС
<i>Rhizobium leguminosarum</i> Rh1	Для увеличения плодородия почвы	ЖСС
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> Z-9	Для увеличения плодородия почвы	ЖСС
<i>Bacillus megaterium</i> F-4 B-RKM0513	Продуцент БАВ	ЖСС
<i>Bacillus subtilis</i> S-1 B-RKM0535	Продуцент БАВ	ЖСС
<i>Propionibacterium shermanii</i> P-3 B-354	Антагонист, перспективный для сельского хозяйства	ЖСС
<i>Staphylococcus aureus</i> 436	Тест-штамм для оценки антагонистической активности	ЖСС
<i>Rhizobium pusence</i> Z-8	Для увеличения плодородия почвы	ЖСС
<i>Escherichia coli</i> um 209-P	Тест-штамм для оценки антагонистической активности	ЖСС

Реактивацию проводили общепринятым методом с посевом на селективные среды истощающим штрихом по Гоулду [8, 9]. Инкубация проводилась в соответствии с условиями для каждого штамма. Выросшие изолированные колонии подсчитывали в четырёх секторах: А, I, II, III, учитывали максимальный рост, оценивали чистоту и соответствие культурально-морфологическим признакам по росту на чашках Петри и в мазках, окрашенных по Граму [8, 9].

Для реактивации флакон с лиофилизированной сухой культурой стерильно вскрывали, медленно по стенке добавляли 1 мл. стерильной питательной жидкой среды комнатной температуры и выдерживали 30 минут в термостате при 37°C.

Далее активированные культуры пассировали в пробирке с жидкой элективной средой. Для этого 1,0 мл. реактивированных культур инокулировали в 10 мл. жидкой питательной среды.

Инкубация проводилась в соответствии с требованиями культивирования.

Далее проводили второй пассаж: 1,0 мл. свежей культуральной взвеси инокулировали в пробирку с 10 мл. питательной средой выращивания и инкубировали.

Затем проводили посев по Гоулду, в результате которого сразу проводился подсчёт колоний.

Итак, культуры микроорганизмов были реактивированы на селективных средах, соответствующих таксономическим группам и описаны их культурально-морфологические признаки.

Использовались такие питательные среды как капустный агар, МРС-агар, среда Блаурокка, картофельно-лактозная среда, МПА, среда Сабуро, среда Чапека, среда РФ-1, среда Эшби.

Хотим представить характеристики таксономических групп микроорганизмов, исследованные нами.

Например, стрептококки представляют собой непрозрачные матовые белые или бесцветные, выпуклые колонии с ровным краем и гладкой поверхностью, диаметром 1-3 мм. Грамположительные неподвижные кокки, располагающиеся в основном цепочками, встречаются парные и одиночные клетки. Диаметр клеток 1-2 мкм Спор не образуют.

Молочнокислые стрептококки представлены видами *thermophilus*, *lactis*, *cremoris*.

Бактерий рода *Lactobacillus* 4 штамма: *L. plantarum* C-2 B-665, *L. bulgaricus* №31 ЛК, *L. rhamnosus* 12a, *L. acidophilus* A-2 B-679.

На поверхности плотной питательной среды МРС колонии белые, выпуклые, гладкие с ровными краями, также встречаются с неровным изрезанным краем, неровной бугристой поверхностью, профиль колонии плоский, полупрозрачные белого цвета. Грамположительные палочки с закругленными концами, прямые, расположение одиночное, парами, редко цепочками. Спор не образуют. Характерный рост в жидкой среде.

Дрожжевые грибы на поверхности плотной питательной среды МПА с глюкозой и среды Сабуро, колонии белые, выпуклые, имеют округлую форму, края ровные, поверхность гладкая. Грамположительные специфические дрожжевые клетки различной формы.

Представлены дрожжи родами *Saccharomyces* и *Candida*.

Бациллы дают различный рост на плотных и жидких средах. Являются в основном грамположительными спорообразующими палочками, подвижны. Споры округлой или овальной формы, центрального и субтерминального расположения. Клетки располагаются одиночно, парно, скученно, цепочками.

Bifidobacterium Y-1 – грамположительные палочки, имеющие аморфную структуру с раздвоенными концами, похожими на букву «Y», «V» с характерным ростом на полужидких средах Блаурокк и капустно-лактозном агаре.

Streptomyces roseoflavus var. *rossefungini* 2-91 при росте на среде РФ-1 колонии круглые, диаметром 3-5 мм., непрозрачные, лимонно-желтые, складчатость радиальная, профиль кратерообразный, край колоний волнистый, консистенция плотная. Грамположительные ветвящиеся тонкие гифы в виде нитей.

Penicillium cyclopium 1 F-84 при росте на агаре Чапека зернистые, светло-голубые или зеленоватые, затем голубовато-сери-зелёные, зелёно-серые колонии. Реверс бледный или

желтоватый, затем оранжево-коричневый до пурпурного. Колонии достигают диаметра 2-3,5 см. за 7 дней, бархатистые до пучковатых. Спороношение в голубовато-зелёных или зелёных тонах. Запах резкий, плесневый. Конидии шаровидные или почти шаровидные, 2,6-3,2 мкм. в диаметре, гладкостенные.

Представители родов *Pseudomonas*, *Rizobium*, *Agrobacterium*, *Staphylococcus* также показали характеристики, соответствующие паспортным данным и определителю бактерий Берджи [11].

На рисунках 2 и 3 представлены фото с ростом штамма культуры *Lactobacillus acidophilus* A-2 на капустном агаре и штамма *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* um. 620 M, также микроскопия мазков, выполненных по Граму.



Рисунок 2 – Рост на капустном агаре и мазок по Граму штамма *Lactobacillus acidophilus* A-2

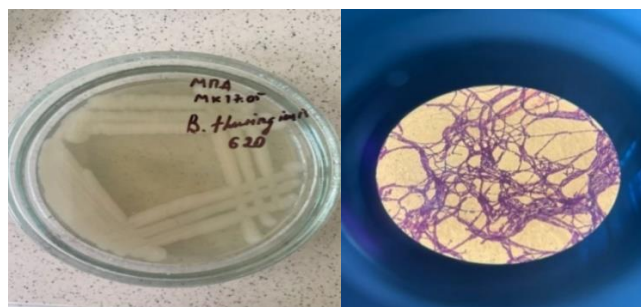


Рисунок 3 – Рост на МПА и мазок по Граму штамма *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* um. 620 M

Итак, изученные коллекционные культуры микроорганизмов соответствуют своим паспортным данным и культурально-морфологическим характеристикам.

Лишь штаммы культур *Sinorhizobium fredii* SR-1 и *Propionibacterium shermanii* P-3 не дали рост после реактивации.

Далее оценивался максимальный показатель ЖСП 30 коллекционных культур микроорганизмов, исключая *S. fredii* SR-1 и *P. shermanii* P-3.

Результаты исследования ЖСП предоставлены в таблице 2.

Показатель ЖСП в пределах допустимого по требованиям к промышленным и коллекционным штаммам – 10^7 - 10^{10} КОЕ/мл. 1 штамм – 10^7 (*Lactobacillus acidophilus* A-2 В-679), 110^{10} (*Streptococcus thermophilus* S-1), основную массу составляют штаммы в 10^8 (10 штаммов) и 10^9 степени (18 штаммов).

Обсуждение

В результате мониторинга коллекционных культур, 32 штамма были подвергнуты исследованию эффективности хранения в лиофильновысушенном состоянии. Данные объекты находились на хранении от нескольких до десятков лет с использованием общепринятых эффективных защитных сред: желатино-сахарозная среда и обезжиренное стерильное молоко [12].

Культуры представлены различных таксономических групп и различного направления: для получения молочнокислых продуктов; пробиотических препаратов для медицины и животноводства; для растениеводства; для очистки почвы и т.д.

Микроорганизмы были реактивированы на соответствующих питательных средах, из 32 штаммов рост не дали 2 культуры.

Штаммы культур *Sinorhizobium fredii* SR-1 и *Propionibacterium shermanii* P-3 не дали рост после реактивации, что может свидетельствовать о не жизнеспособности культур или не эффективности защитной среды, наиболее достоверно первое предположение.

Нами установлено, что 30 штаммов коллекционных культур микроорганизмов соответствуют своим паспортным данным, видовым и родовым характеристикам.

Также полученные результаты свидетельствуют об эффективности метода хранения в лиофильновысушенном состоянии и подобранной защитной среды, так как культуры хранились на протяжении нескольких десятков лет. Об этом свидетельствуют цифры жизнеспособных клеток: более 10^6 КОЕ/мл, а именно 10^7 – 10^{10} КОЕ/мл. Такие результаты представлены в работе М.Б. Куплецкой и А.И. Нетрусова, которые исследовали эффективность хранения в лиофильновысушенном состоянии в течение 50 лет. В ампулах содержалось значительное количество жизнеспособных клеток (во многих культурах 10^6 – 10^9 клеток), этого достаточно для поддержания культуры и соответствует требованиям к производственным культурам [13].

Установлено, что метод лиофилизации также способствует сохранности биотехнологических свойств культур микроорганизмов [7, 14-17].

Таблица 2 – Результаты оценки максимального показателя ЖСП штаммов

Наименование штамма	ЖСП, КОЕ/мл
<i>Streptococcus thermophilus</i> S-1	10^{10}
<i>Streptococcus lactis</i> №7	10^8
<i>Streptococcus cremoris</i> K7	10^8
<i>Lactobacillus plantarum</i> C-2 B-665	10^9
<i>Lactobacillus bulgaricus</i> №31 ЛК	10^9
<i>Lactobacillus rhamnosus</i> 12a	10^9
<i>Lactobacillus acidophilus</i> A-2 B-679	10^7
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> S-1 B-669	10^8
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> (5) 6A K-25 Y-94	10^8
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> Y-448	10^8
<i>Bifidobacterium</i> Y-1	10^9
<i>Streptomyces roseoflavus</i> var. <i>rossefungini</i> 2-91	10^8
<i>Penicillium cyclopium</i> 1 F-84	10^9
<i>Bacillus subtilis</i> 720 B-18	10^8
<i>Bacillus polymyxa</i> ДН	10^8
<i>Bacillus thuringiensis</i> A1	10^8
<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i> w 346 (1501) №14	10^9
<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>thuringiensis</i> шт. 620 M	10^9
<i>Dietzia maris</i> MB3	10^9
<i>Bacillus licheniformis</i> 356	10^9
<i>Candida tropicalis</i> CK-4	10^9
<i>Pseudomonas boreopolis</i> 2-3K	10^9
<i>Rizobium meliloti</i> Rh-3 B-105	10^9
<i>Sinorhizobium fredii</i> SR-1	-
<i>Rhizobium leguminosarum</i> Rhl	10^9
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> Z-9	10^9
<i>Bacillus megaterium</i> F-4 B-RKM0513	10^9
<i>Bacillus subtilis</i> S-1 B-RKM0535	10^8
<i>Propionibacterium shermanii</i> P-3 B-354	-
<i>Staphylococcus aureus</i> 436	10^9
<i>Rhizobium pusence</i> Z-8	10^9
<i>Escherichia coli</i> um 209-P	10^9

Заключение

Сохранение имеющегося коллекционного фонда промышленно-ценных штаммов важно для проведения прикладных и фундаментальных работ, для образования и развития науки. Использование стандартных коллекционных штаммов значительно повышает безопасность и эффективность работ, связанных с использованием микроорганизмов.

Необходимым условием успешной работы с микроорганизмами является правильное поддержание их с целью сохранения не только жизнеспособности клеток, но и таксономических, а также любых других важных свойств.

В результате научной работы выяснили, что культуры микроорганизмов при хранении методом лиофилизации более десятков лет сохраняют чистые (контаминация отсутствует), жизнеспособные клетки с сохранением признаков.

Из 32 коллекционных культур 2 культуры не дали рост, остальные культуры жизнеспособны и соответствуют своим паспортным данным, видовым и родовым характеристикам.

Таким образом, обе используемые для длительного хранения защитные среды сохраняют культуры микроорганизмов в стабильно жизнеспособном состоянии, что подтверждается и литературными источниками, практикой ведущих коллекций и результатами собственных исследований, следовательно, любая из изученных нами защитных сред может использоваться в практике хранения и в дальнейшем.

Список литературы

1. Васильев Д.А. История микробиологии: Курс лекций / Д.А. Васильев, Н.А. Феоктистова, С.Н. Золотухин. – Ульяновск, 2007. – 74 с.
2. Алмагамбетов К.Х. О создании коллекции микроорганизмов для биотехнологии / К.Х. Алмагамбетов, А.Р. Кушугулова, С.С. Ануарбекова // Биотехнология. Теория и практика. – 2001. – № 3-4. – С. 96-97.
3. Коскараева Ш.С. Основы распространенных методов хранения культур микроорганизмов (обзор) / Ш.С. Коскараева, С.С. Ануарбекова // Вестник ЕНУ им. Л.Н. Гумилева. – 2017. – Часть 2. – С. 133-141.
4. Robert J. Heckly. Preservation of Bacteria by Lyophilization / Robert J. Heckly. // Advances in Applied Microbiology. – 1961. – Vol. 3. – P. 1-76.
5. Effect of cryopreservation and lyophilization on viability and growth of strict anaerobic human gut microbes / Lea Bircher, Annelies Geirnaert, Frederik Hammes et al // Microb Biotechnol. – 2018. – Vol. 11(4). – P. 721-733.
6. Preservation of micro-organisms by drying; A review / C.A. Morgan, N. Herman, P.A. White, G. Vesey // Journal of Microbiological Methods. – 2006. – Vol. 66, Issue 2. – P. 183-193.
7. Похиленко В.Д. Методы длительного хранения коллекционных культур микроорганизмов и тенденции развития / В.Д. Похиленко, А.М. Баранов, К.В. Детушев // Известия ВУЗ. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2009. – № 4(12). – С. 99-121.
8. Руководство к практическим занятиям по микробиологии // Под ред. Н.С. Егорова. – М.: Московский Университет, 1995. – 220 с.
9. Лабинская А.С. Микробиология с техникой микробиологических исследований / А.С. Лабинская. – М.: Медицина, 1978. – 392 с.
10. Phillips Th. How Lyophilization Preserves Biological Material [Electronic resource] / Th. Phillips. – 2020: thoughtco.com/lyophilization-preserving-biological-material-375590.
11. Хоулт Дж. Определитель бактерий Берджи: в 2-х т., пер. с англ. / под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита и др. – М.: Мир, 1997. – 800 с.
12. Improving survival and storage stability of bacteria recalcitrant to freeze-drying: a coordinated study by European culture collections / J. Peiren et al // Appl Microbiol Biotechnol. – 2015. – Vol. 99. – P. 3559-3571. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6476-6>.
13. Kupletskaya M.B. Viability of lyophilized microorganisms after 50-year storage / M.B. Kupletskaya, A.I. Netrusov // Microbiology. – 2011. – Vol. 80 – P. 850-853. <https://doi.org/10.1134/S0026261711060129>.
14. Жураева Р.Н. Влияние длительного хранения на сохранность пробиотических свойств молочнокислых бактерий / Р.Н. Жураева, Л.И. Зайнитдинова, Р.Б. Эргашев / Мат. Междунар. н.-практ. конф. «Фундаментальные и прикладные аспекты микробиологии в науке и образовании». – Рязань, 2022. – С. 18-20.

15. Отработка условий лиофильного хранения азотфиксирующих микроорганизмов / Э. Нагызбеккызы и др. // Новости науки Казахстана. – 2014. – № 3(121). – С. 97-106.
16. Dietrich S. Optimization of a freeze-drying process for the biocontrol agent *Pseudomonas* spp. and its influence on viability, storability and efficacy / S. Dietrich, A.-P. Matos Da Silva, I.L. Bisutti // *Biological Control*. – 2016. – Vol. 94. – P. 74-81. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.12.004>.
17. A strategy to promote the convenient storage and direct use of polyhydroxybutyrate-degrading *Bacillus* sp. JY14 by lyophilization with protective reagents / S.H. Kim et al // *Microbial Cell Factories*. – 2023. – Vol. 22, Article number: 184. <https://doi.org/10.1186/s12934-023-02173-4>.

References

1. Vasilev D.A. Istoriya mikrobiologii: Kurs lektsii / D.A. Vasilev, N.A. Feoktistova, S.N. Zolotukhin. – Ulyanovsk, 2007. – 74 s. (In Russian).
2. Almagambetov K.KH. O sozdanii kollektsii mikroorganizmov dlya biotekhnologii / K.KH. Almagambetov, A.R. Kushugulova, S.S. Anuarbekova // *Biotekhnologiya. Teoriya i praktika*. – 2001. – № 3-4. – S. 96-97. (In Russian).
3. Koskaraeva SH.S. Osnovy rasprostranennykh metodov khraneniya kul'tur mikroorganizmov (obzor) / SH.S. Koskaraeva, S.S. Anuarbekova // *Vestnik ENU im. L.N. Gumileva*. – 2017. – Chast' 2. – S. 133-141. (In Russian).
4. Robert J. Heckly. Preservation of Bacteria by Lyophilization / Robert J. Heckly. // *Advances in Applied Microbiology*. – 1961. – Vol. 3. – P. 1-76. (In English).
5. Effect of cryopreservation and lyophilization on viability and growth of strict anaerobic human gut microbes / Lea Bircher, Annelies Geirnaert, Frederik Hammes et al // *Microb Biotechnol*. – 2018. – Vol. 11(4). – R. 721-733. (In English).
6. Preservation of micro-organisms by drying; A review / C.A. Morgan, N. Herman, P.A. White, G. Vesey // *Journal of Microbiological Methods*. – 2006. – Vol. 66, Issue 2. – P. 183-193. (In English).
7. Pokhilenko V.D. Metody dlitel'nogo khraneniya kollektsionnykh kul'tur mikroorganizmov i tendentsii razvitiya / V.D. Pokhilenko, A.M. Baranov, K.V. Detushev // *Izvestiya VUZi. Povolzhskii region. Meditsinskie nauki*. – 2009. – № 4(12). – S. 99-121. (In Russian).
8. Rukovodstvo k prakticheskim zanyatiyam po mikrobiologii // Pod red. N.S. Egorova. – M.: Moskovskii Universitet, 1995. – 220 s. (In Russian).
9. Labinskaya A.S. Mikrobiologiya s tekhnikoi mikrobiologicheskikh issledovaniy / A.S. Labinskaya. – M.: Meditsina, 1978. – 392 s. (In Russian).
10. Phillips Th. How Lyophilization Preserves Biological Material [Electronic resource] / Th. Phillips. – 2020: thoughtco.com/lyophilization-preserving-biological-material-375590. (In English).
11. Khoult Dzh. Opredelitel' bakterii Berdzhii: v 2-kh t., per. s angl. / pod red. Dzh. Khoult, N. Kriga, P. Snita i dr. – M.: Mir, 1997. – 800 s. (In Russian).
12. Improving survival and storage stability of bacteria recalcitrant to freeze-drying: a coordinated study by European culture collections / J. Peiren et al // *Appl Microbiol Biotechnol*. – 2015. – Vol. 99. – P. 3559-3571. <https://doi.org/10.1007/s00253-015-6476-6>. (In English).
13. Kupletskaya M.B. Viability of lyophilized microorganisms after 50-year storage / M.B. Kupletskaya, A.I. Netrusov // *Microbiology*. – 2011. – Vol. 80 – P. 850-853. <https://doi.org/10.1134/S0026261711060129>. (In English).
14. Zhuraeva R.N. Vliyanie dlitel'nogo khraneniya na sokhrannost' probioticheskikh svoistv molochnokislykh bakterii / R.N. Zhuraeva, L.I. Zainitdinova, R.B. Ehrgashev / *Mat. Mezhdunar. n.-prakt. konf. «Fundamental'nye i prikladnye aspekty mikrobiologii v nauke i obrazovanii»*. – Ryazan', 2022. – S. 18-20. (In Russian).
15. Otrabotka uslovii liofil'nogo khraneniya azotfiksiruyushchikh mikroorganizmov / EH. Nagyzbekkыzy i dr. // *Novosti nauki Kazakhstana*. – 2014. – № 3(121). – S. 97-106. (In Russian).
16. Dietrich S. Optimization of a freeze-drying process for the biocontrol agent *Pseudomonas* spp. and its influence on viability, storability and efficacy / S. Dietrich, A.-P. Matos Da Silva, I.L. Bisutti // *Biological Control*. – 2016. – Vol. 94. – R. 74-81. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2015.12.004>. (In English).
17. A strategy to promote the convenient storage and direct use of polyhydroxybutyrate-degrading *Bacillus* sp. JY14 by lyophilization with protective reagents / S.H. Kim et al // *Microbial Cell Factories*. – 2023. – Vol. 22, Article number: 184. <https://doi.org/10.1186/s12934-023-02173-4>. (In English).

Г.С. Альжанова^{1,*}, С.С. Ануарбекова¹, А.Е. Хасенова², А.М. Садыков¹

¹«Биомедпрепарат» ғылыми-аналитикалық орталығы» ЖШС

Степногорск қ., 9 шағын аудан 4 ғимарат, индекс: 021500, Қазақстан Республикасы

²Степногорск қаласындағы «Ұлттық биотехнология орталығы» ЖШС филиалы

Степногорск қ., 6 шағын аудан 6 ғимарат, индекс: 021500, Қазақстан Республикасы

*e-mail: gulzhan-12@mail.ru

ЛИОФИЛЬДИКЕПТИРІЛГЕН КҮЙДЕГІ МИКРОАҒЗАЛАР ДАҚЫЛДАРЫНЫҢ САҚТАЛУ ҰЗАҚТЫҒЫНЫҢ ӘСЕРІН БАҒАЛАУ

Өндірістік биотехнологияның дамуы микроағзалардың дақылдары сияқты нысанды ресурстарды қолдануға негізделген. Микроағзалар дақылдарының жинағында ғылыми-зерттеу жұмыстарында және қолданбалы жұмыстарда қолданылатын штаммдар болады. Өндірістік микроағзалар ресурстарының кеңеюі, оларды сақтау әдістерін жетілдіру және биоөнімділік қасиеттерін жақсарту микроағзалар жинағының өзекті міндеті болып табылады. Бұл жұмыста біз 10 жыл бұрын лиофильді кептіру әдісімен сақтауға қалдырылған жинақтағы дақылдардың морфо-дақылды сипаттамалары мен максималды өміршеңдік көрсеткішіне зерттеу жүргіздік. Зерттеу жұмысы аталған әдіс пен қолданылған қорғаныш ортасының тиімділігін бағалау мақсатымен жүргізілді. Зерттеу нысаны бактериялардың, саңырауқұлақтардың, ашытқылардың және актиномицеттердің әр түрлі таксономиялық топтарының 32 штаммдары болды. Қорытындысында келесі нәтижелерді алдық: реактивациядан кейін 2 дақыл өсім бермеді, 30 дақыл өздерінің төлқұжаттық сипаттамаларына сәйкес және өндірістік дақылдарға рұқсат етілген 10^6 КОЕ/мл: 10^8 - 10^{10} КОЕ/мл ден көп өміршеңдік көрсеткішіне ие. Алынған мәліметтер лиофильдеу әдісімен сақтаудың және желатинде, сахарозада және майсыздандырылған сүтте қолданылатын қорғаныш орталарының тиімділігін растайды. Зерттеу нысандары адам өмірінің әр түрлі салаларында қолданысқа ие бола алады.

Түйін сөздер: Штамм, сақтау, реактивация, лиофилдеу, қорғаныш орталары, жиынтық, өміршеңдік.

G.S. Alzhanova^{1,*}, S.S. Anuarbekova¹, A.E. Khasanova², A.M. Sadykov¹

¹LLP «Scientific and Analytical Center «Biomedpreparat»,

021500, Kazakhstan, Stepnogorsk city, 9 microdistrict 4 buildings

²Branch LLP «National center for Biotechnology» in the city Stepnogorsk

021500, Kazakhstan, Stepnogorsk city, 6 microdistrict 6 buildings

*e-mail: gulzhan-12@mail.ru

ASSESSMENT OF THE EFFECTIVENESS OF LONG-TERM STORAGE OF MICROORGANISMS CULTURES IN A LYOPHILE-DRIED CONDITION

The development of industrial biotechnology is based on the use of resources from objects such as microbial cultures. Collections of microorganism cultures contain strains that are used in research and applied development. Expanding the resources of industrial microorganisms, optimizing methods for their storage and improving bioproducing properties is an urgent task for the collection of microorganisms. In this work, we studied the maximum viability rate and morpho-cultural characteristics of collection cultures stored for more than 10 years using the freeze-drying method. This was done to evaluate the effectiveness of this storage method and the protective environments used. The object of the study were 32 strains of various taxonomic groups of bacteria, fungi, yeasts and actinomycetes. In sum, we obtained the following results: 2 cultures did not grow after reactivation, 30 cultures corresponded to their passport characteristics and had a viability rate within the acceptable limits for industrial crops, more than 10^6 CFU/ml: 10^8 - 10^{10} CFU/ml. The data obtained confirm the effectiveness of storage by lyophilization and the protective media used on gelatin, sucrose and skim milk. Objects of research can be used in various spheres of human life.

Key words: Strain, storage, reactivation, lyophilization, protective environments, collection, viability.

Сведения об авторах

Сандугаш Сакеновна Ануарбекова* – кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник ТОО «Научно-аналитический центр «Биомедпрепарат», г. Степногорск, Республика Казахстан; e-mail: sanuarbekova@rambler.ru.

Гульжан Сержановна Альжанова – Магистр биотехнологии, и.о. ВНС ТОО «Научно-аналитический центр «Биомедпрепарат», г. Степногорск, Республика Казахстан, заведующая лабораторией в лаборатории прикладной биотехнологии в филиале ТОО «Национальный центр биотехнологии» в г. Степногорск, Казахстан; e-mail: gulzhan-12@mail.ru.

Акмарал Есенбаевна Хасенова – руководитель филиала ТОО «Национальный центр биотехнологии» в г. Степногорск, Казахстан; e-mail: a.hasenova@biocenter.kz.

Азамат Мухамедьярович Садыков – и.о генерального директора ТОО «Научно-аналитический центр «Биомедпрепарат», г. Степногорск, Республика Казахстан; e-mail: aza_sadykov@mail.ru.

Авторлар туралы мәліметтер

Сандугаш Сакеновна Ануарбекова* – медицина ғылымдарының кандидаты, «Биомедпрепарат» ғылыми-аналитикалық орталығы» ЖШС-нің жетекші ғылыми қызметкері, Степногорск қ., Қазақстан, e-mail: sanuarbekova@rambler.ru.

Гульжан Сержановна Альжанова – «Биомедпрепарат» ғылыми-аналитикалық орталығы» ЖШС-нің жетекші ғылыми қызметкерінің міндетін атқарушы, Степногорск қаласы, Қазақстан, Қазақстан Республикасы, Степногорск қаласындағы «Ұлттық биотехнология орталығы» ЖШС филиалындағы қолданбалы биотехнология зертханасының зертхана меңгерушісі; e-mail: gulzhan-12@mail.ru.

Акмарал Ертугановна Хасенова – Степногорск қаласындағы «Ұлттық биотехнология орталығы» ЖШС филиалының басшысы, Қазақстан; e-mail: a.hasenova@biocenter.kz.

Азамат Мухамедьярович Садыков – «Биомедпрепарат» ғылыми-аналитикалық орталығы» ЖШС-нің бас директорының м.а Степногорск қ., Қазақстан; e-mail: aza_sadykov@mail.ru.

Information about the authors

Sandugash Sakenovna Anuarbekova* – is Candidate of Medical Sciences, Leading Researcher in LLP «Scientific and Analytical Center «Biomedpreparat», Stepnogorsk, Kazakhstan.; e-mail: sanuarbekova@rambler.ru.

Gulzhan Serzhanovna Alzhanova – acting as a leading researcher at the Scientific Analytical Center «Biomedpreparat» LLP, Stepnogorsk, Republic of Kazakhstan, head of the laboratory in the laboratory of applied biotechnology in the branch of the National Center of Biotechnology LLP in Stepnogorsk, Kazakhstan; e-mail: gulzhan-12@mail.ru.

Akmaral Ertuganovna Khasenova – head of the branch of the National Center of Biotechnology LLP in Stepnogorsk, Kazakhstan; e-mail: a.hasenova@biocenter.kz.

Azamat Mukhamedyarovich Sadykov – Acting General Director of the LLP Scientific and Analytical Center «Biomedpreparat», Stepnogorsk, Republic of Kazakhstan; e-mail: aza_sadykov@mail.ru.

Поступила в редакцию 18.04.2024

Принята к публикации 21.05.2024

DOI: 10.53360/2788-7995-2024-2(14)-19

IRSTI: 34.27.19/62.09.37



A.N. Aralbaev¹, A.N. Aralbaeva^{2*}, Z.Zh. Seydakhmetova¹, N.K. Aralbai³

¹Almaty Technological University,

050012, Republic of Kazakhstan, Almaty, Tole bi str., 100

²Al-Farabi Kazakh National University,

050040, Republic of Kazakhstan, Almaty, 71 al-Farabi Ave.

³H.A. Yassavi International Kazakh-Turkish University,

161200, Republic of Kazakhstan, Turkestan, Sattarkhanov Avenue, 29/3

*e-mail: a_aralbaeva83@bk.ru

INVESTIGATION OF PREBIOTIC PROPERTIES OF AQUEOUS-ALCOHOLIC EXTRACTS OF ROOTS OF CRAMBE KOTCHIANA AND BUNIAS ORIENTALIS

Abstract: Nutrition is one of the fundamental factors of human health. Today the use of biologically active food additives, enrichment of products with nutraceuticals, consumption of target foods is justified due to the increasing effect of stress along with unbalanced diet and lifestyle. The main resource of nutrients is plant foods and substances derived from them. The use of additional plant components in the manufacture of food products contributes to increasing its biological and nutritional value. Non-traditional plant species have a high potential along with traditional crops. A lot of research is aimed at identifying the positive effects of bioactive substances of plants on the body and the possibility of using them to expand the range of useful food products. We investigated the prebiotic properties of the underground part of plants from the Brassicaceae