

УДК 54-3:57.086.83:579.842.1/.2(045)

## ВПЛИВ ПЕРФТОРОРГАНІЧНИХ СПОЛУК НА ПРОЦЕС КУЛЬТИВУВАННЯ ЕНТЕРОБАКТЕРІЙ

**Р. І. ПРИШЛЯК, В. О. ГОЛУБИЦЬКА**

Національний авіаційний університет, м. Київ

*Досліджено вплив перфторорганічних сполук, як одного з основних факторів росту ентеробактерій. Порівняно основні методи стерилізації перфтордекаліну. Отримані результати дають змогу вибрати оптимальну концентрацію перфтордекаліну і проаналізувати криву росту *E. coli*.*

**Ключові слова:** *перфторорганічні сполуки, перфтордекалін, ентеробактерії, оптимізація культивування.*

В останні роки авторами проводяться дослідження, пов'язані з оцінкою можливості використання перфторорганічних сполук (ПФОС) з газотранспортною функцією з метою інтенсифікації швидкості росту і підвищення біосинтетичної продуктивності мікроорганізмів різних груп при глибинному культивуванні для подальшого впровадження отриманих результатів в біотехнологічне виробництво [1]. Доведено, що перфторорганічні сполуки мають унікальні властивості і знаходять широке застосування в трансфізіології, хірургії, реаніматології та інших областях медицини [3]. Однак, застосування ПФОС в інших областях біологічної науки і в біотехнології поки не знайшло гідного обговорення і реалізації. На наш погляд, біотехнологія стоїть на порозі прориву і ланцюгової реакції в розширенні напрямків і областей використання ПФОС. Попит для біотехнології на ПФОС, зважаючи на їх унікальні газотранспортні властивості, у найближчі роки має зрости в десятки і сотні разів [4]. Теоретичного і практичного розгляду перспективності

використання ПФОС в біотехнологічних процесах, пов'язаних з глибинним культивуванням мікроорганізмів, присвячена дана стаття.

Метою роботи була оцінка можливості інтенсифікації темпів зростання біомаси *E. coli* УКМ В-926 при глибинному культивуванні з використанням перфторорганічних сполук в якості стимулятора росту.

**Матеріали і методи.** Для оцінки можливості впливу перфторорганічних сполук на інтенсифікацію росту мікроорганізмів в експериментах з глибинного культивування мікроорганізмів використовували перфтордекалін (ПФД). В якості культивованого біооб'єкту використовували штам *E. coli* УКМ В-926. Режим культивування відпрацьовувався на лабораторному ферментері з робочим об'ємом колби для культивування 1,5 дм<sup>3</sup>. Температурний оптимум росту культури знаходився у межах 37 °С. Рідке поживне середовище (РПС), приготовлене за рекомендованими рецептами і технологіями [5]. Інтенсивність росту культури *E. coli* УКМ В-926 оцінювали методом посіву серійних розведень культуральної рідини, відібраної в різні проміжки часу. Режим автоклавування поживних середовищ, тонкостінного лабораторного посуду для допоміжних матеріалів для ведення процесу і перфторорганічних сполук для внесення в поживне середовище відпрацьовувався на лабораторному автоклаві.

**Результати дослідження.** В ході попередніх досліджень була оцінена стійкість ПФД до найбільш частих маніпуляцій з компонентами мікробіологічних поживних середовищ – стерилізації. Проаналізовано основний метод стерилізації поживних середовищ – стерилізація парою під надлишковим тиском (в автоклаві) при температурному впливі пари в 126 °С, що відповідало надлишкового тиску в 1,5 атмосфер. При цьому була обрана експозиція в 60 хв. Необхідно відзначити, що в процесі і після стерилізації в автоклаві перфтордекалін не змінив свого вихідного зовнішнього вигляду і початкової маси, навіть після п'яти циклів стерилізації. Результати оцінки чутливості бактерій, представлені в таблиці 1, показали відсутність інгібуючої дії перфтордекаліну на життєздатність і розвиток бактерій в рідкому середовищі в статичних умовах при періодичному струшуванні.

Таблиця 1

**Вплив різних концентрацій перфтордекаліну на ріст *E. coli***

Вміст перфтордекаліну, %	Концентрація клітин ( $\cdot 10^7$ ) КУО / мл			
	Контроль	Методи стерилізації		
		111 °С, 30 хв	134 °С, 60 хв	Ультрафільтрація
0	16	16	16	16
0.1	15	17	15	16
0.5	27	26	29	28
5	47	48	48	48
15.5	45	46	46	47

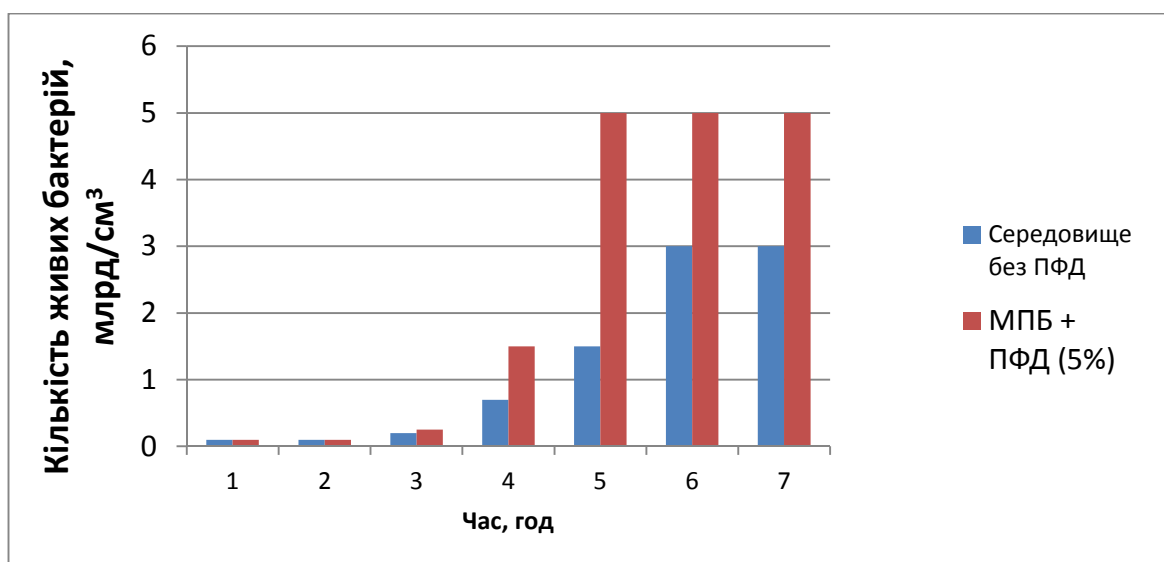
Крім того, при вирощуванні бактеріальної культури відзначалася виражена тенденція до збільшення швидкості росту культури і виходу загальної кількості бактеріальних клітин в 2 рази (при концентрації перфтордекаліну в середовищі культивування 0,5–12,5 %). Подальше підвищення концентрації перфтордекаліну не призводило до збільшення виходу біомаси використаного штаму, це дозволяє припустити, що оптимальна концентрація перфтордекаліну в середовищі знаходиться в діапазоні 0,5–12,5 %.

З огляду на те, що вихід біомаси був максимальним при концентрації перфтордекаліну в середовищі 5 %, слід визнати цю концентрацію оптимальною для даного етапу досліджень.

В ході основного експерименту – оцінки можливості інтенсифікації динаміки зростання *E. coli*, при внесенні в поживне середовище перфтордекаліну – послідовно проводили два експерименти з глибинного культивування мікроорганізмів (експеримент № 1 і експеримент № 2). В експерименті № 1 використовували рідке поживне середовище без додавання ПФД, в експерименті № 2 в рідке поживне середовище додавали ПФД 5 об. %. Температурні параметри, показники рН, склад поживного середовища, щільність посіву та інші технологічні параметри процесу в обох експериментах задавали однаковими. При виконанні експерименту № 2 вводили ПФД (5 об.%) у МПБ. Час адаптивної фази росту *E.coli* УКМ В-926 у рідкому поживному

середовищі з додаванням ПФД скоротилося більш ніж у 1,5 рази, в порівнянні з часом адаптації культури в середовищі без ПФД. Слід зазначити, що тривалість фази експоненціального росту в експерименті з ПФД зменшилася в 1,6 рази.

Час виходу культури *E. coli* на стаціонарну фазу росту, при культивуванні в рідкому поживному середовищі з ПФД, склав 5,0 год., без додавання ПФД – 5,8 год. Визначення загальної кількості живих клітин за результатами підрахунку колоній, що вирости, свідчить про те, що в наслідок додавання ПФД кількість мікроорганізмів склала ( $5,0 \pm 0,3$  млрд.) В той час як без додавання ПФД – ( $3,5 \pm 0,3$  млрд.) живих мікробних клітин в  $1 \text{ см}^3$  отриманої культуральної рідини (рис. 1).



**Рис. 1. Накопичення клітин *Escherichia coli* при додаванні перфтордекаліну у поживне середовище**

Можна висловити припущення, що позитивний вплив ПФОС на ріст кишкової палички реалізується за рахунок більш інтенсивного транспорту в бактеріальну клітину основних компонентів рідкого поживного середовища наноконтейнерами на основі перфторвуглеводів.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Адхья С. Современная микробиология. Прокариоты: В 2-х томах. Т.1: пер. с англ.; под ред. А.И. Нетрусова, Т.С. Ильиной / С. Адхья, К.-А. Альперт / под ред. Й. Ленгелера, Г. Дрекса, Г. Шлегеля. – М.: Мир, 2005. – 656 с.
2. Бакулин В.М. Влияние перфтордекалина на рост и антибиотическую активность культур *Streptomyces albus* и *S. rimosus* в жидкой среде / В.М. Бакулин, Е.А. Мартинсон // Ветеринарная медицина. – 2012. – № 3–4. – С. 15–17.
3. Глик Б. Молекулярная биотехнология. Принципы и применение / Б. Глик, Д. Пастернак. – М.: Мир, 2002. – 589 с.
4. Иваницкий Г.Р. Наноконтейнеры на основе перфторуглеродов с функцией переноса оксида азота / Г.Р. Иваницкий // Биофизика. – 2008. – № 2. – С. 367–377.
5. Равилов А.З. Микробиологические среды / Равилов А.З., Гильмутдинов Р.Я., Хусаинов М. Ш. // Казань. – 1999. – 398 с.

### ***ВЛИЯНИЕ ПЕРФТОРОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ НА ПРОЦЕСС КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ***

***Р. И. ПРИШЛЯК, В. О. ГОЛУБИЦКАЯ***

*Национальный авиационный университет, г. Киев*

*Исследовано влияние перфторорганических соединений, как одного из основных факторов роста энтеробактерий. Проанализованы основные методы стерилизации перфтордекалина. Полученные результаты позволяют выбрать оптимальную концентрацию перфтордекалина и проанализировать кривую роста *E. coli*.*

***Ключевые слова:*** *перфторорганические соединения, перфтордекалин, энтеробактерии, оптимизация культивирования.*

***THE INFLUENCE OF ORGANOFLUORINE COMPOUNDS ON  
CULTIVATION OF ENTEROBACTERIACEAE***

***R.I. PRYSHLJAK, V.O. GOLUBITSKA***

*National Aviation University, Kyiv*

*Investigated the influence of organofluorine compounds, as one of the main growth factors for Enterobacteriaceae. Compared the basic methods of fluorodecaline sterilization. The results make it possible to choose the optimal concentration fluorodecaline and analyze the growth curve of E. coli.*

***Keywords:*** *organofluorine compounds, fluorodecaline, Enterobacteriaceae, optimization of the cultivation.*