

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ЭКОЛОГИЧЕСКИ ЧИСТОГО ГИДРОЛИЗАТА ИЗ АКТИВИРОВАННЫХ КАЛИФОРНИЙСКИХ ЧЕРВЕЙ

Ткаченко И.Н.¹

¹ФГАОУ ВПО «Северо-Кавказский федеральный университет», Институт математики и естественных наук, Ставрополь, Россия (355009, Ставрополь, ул. Пушкина, 1; e-mail: tkachenko_inna21@mail.ru

Доказана возможность использования биомассы калифорнийских червей в качестве субстрата для гидролиза. Разработаны технологические приемы, способные максимально обеспечивать усиление эффективности и полноценности предполагаемых субстратов. Гидролизат изготавливается из экологически чистого, биологически полноценного сырья, обработанного по рациональной технологии, способствующей достижению высокой концентрации биологически активных веществ. Представляет собой жидкость коньячного цвета, без примесей, с высокими показателями аминного азота. Подтверждена эффективность использования гидролизата в качестве основы для питательных сред при выращивании широкого спектра микроорганизмов. Способствует интенсивному наращиванию объема бактериальной массы, при сохранении или активизации биологических свойств микроорганизмов.

Ключевые слова: биомасса калифорнийских червей, гидролизат, активация сырья, микроорганизмы.

DEVELOPMENT OF TECHNOLOGY OF RECEIVING THE ENVIRONMENTALLY FRIENDLY HYDROLYZATE FROM THE ACTIVATED CALIFORNIAN WORMS

Tkachenko I.N.¹

¹North-Caucasian federal University, Institute of mathematic and natural sciences, Stavropol, Russia (355009, Stavropol, Pushkin St., 1; e-mail: tkachenko_inna21@mail.ru

Possibility of use of biomass of the Californian worms as a substratum for hydrolysis is proved. The processing methods capable most to provide strengthening of efficiency and full value of estimated substrata are developed hydrolyzate is made of the environmentally friendly, biologically full-fledged raw materials processed on rational technology, high concentration of biologically active agents promoting achievement. Represents liquid of cognac color, without impurity, with high rates of aminny nitrogen. Efficiency of use of a hydrolyzate as a basis for nutrient mediums is confirmed at cultivation of a wide range of microorganisms. Promotes intensive accumulation of volume of bacterial weight, at preservation or activization of biological properties of microorganisms.

Keywords: biomass of the Californian worms, hydrolyzate, raw materials activation, microorganisms.

Введение

Производственные питательные среды чаще всего готовят на основе белковых гидролизатов. Гидролиз белков представляет собой технологический процесс расщепления протеина с образованием азотистых соединений, легко усвояемых микробной клеткой.

Несмотря на то что белковые гидролизаты получили широкое распространение, работы по изысканию нового сырья, а также изучению оптимальных методов гидролиза белков по-прежнему актуальны [1].

Чаще всего для приготовления питательных сред используются гидролизаты из мяса. В настоящее время, в связи со сложной экологической обстановкой и антропогенным воздействием на окружающую среду, мясное сырье содержит антибиотики, химикаты, нитраты, токсические продукты, что отрицательно отражается на культивировании промышленных штаммов [2], а также является дорогостоящим [7].

Высокая пищевая и биологическая ценность вермикультуры калифорнийских червей предоставляют широкие возможности для ее использования в различных отраслях промышленности. Белок, полученный из червей, используется в качестве основного компонента при производстве кормов для животных, а также в рационе питания человека. В Китае вермикультуру используют для приготовления БАВ [3; 6].

Важную роль в оценке биомассы калифорнийских червей (*Eisenia fetida*) играет его биохимический состав. В теле червя содержится 67-72% белка, 7-19% жиров, 18-20 углеводов, 2-3% минеральных веществ, полный набор аминокислот [8; 10]. Кроме того, красный червь пригоден для домашнего и промышленного разведения.

Несмотря на высокий биологический потенциал биомассы калифорнийских червей, нами предприняты дополнительные попытки его повышения с помощью ряда манипуляций.

Известным технологическим приемом, который способен максимально обеспечить усиление эффективности и полноценности, предлагаемых субстратов является методика получения тканевых препаратов по В.П. Филатову (1955) [9]. В основе данной методики лежит учение о биогенных стимуляторах, которые возникают в организме в результате воздействия на него неблагоприятных для жизни факторов среды. Некоторые авторы к этим веществам относят, прежде всего, низкомолекулярные пептиды [5].

Сочетание этих принципов (лазерная активация и метод получения тканевых препаратов по Филатову), а также использование собственных модификаций этого метода положено в основу отработки технологии повышения биологической активности сырьевых объектов, используемых нами, и направлено именно на сохранение и увеличение концентрации большинства биологических компонентов вермикультуры калифорнийских червей, в соответствии с питательными и другими физиологическими потребностями большинства микроорганизмов (дыхание, размножение, рост).

В процессе работы весь технологический процесс получения гидролизатов из вермикультуры калифорнийских червей включал в себя 4 этапа: выращивание в экологически чистых условиях; отбор, очищение биомассы от частиц гумуса, активацию и гидролиз.

Первый этап подготовительной стадии заключался в выращивании калифорнийских червей в лабораторных условиях. За один месяц от тридцати особей калифорнийских червей примерно получили порядка 3500 экземпляров.

На втором этапе биомассу калифорнийских червей отбирали из субстрата живыми и очищали от частиц гумуса.

На третьем этапе проводили активацию биомассы калифорнийских червей с учетом предложенных выше принципов.

На четвертом этапе проводили гидролиз.

Выбранные нами модификации путей активации субстрата получаемого из биомассы калифорнийских червей заключались в поочередном воздействии на живое сырье полупроводниковым низкочастотным лазерным аппаратом АЛ-01 «Семикон» с интервалом в одни сутки и помещением их в холодильную камеру при температуре плюс 4...8°C после каждого сеанса облучения.

В процессе эксперимента всех калифорнийских червей, после отбора и очищения от частиц гумуса, делили на две группы по 300 штук. Червей первой группы не подвергали лазерному облучению, а лишь закладывали в холодильную камеру на трое суток. Червей второй группы подвергали лазерному облучению по указанной выше методике на расстоянии до 1 см.

После первого этапа облучения (в течение часа) отмечены существенные микроструктурные изменения, свидетельствующие об активации тканей червя. В кожно-мышечном мешке червей наблюдается гиперемия и увеличение количества клеток-макрофагов, при этом многие из них с крупными ядрами.

В то же время в группе червей, которые не подвергались облучению, на этом этапе существенных структурных изменений по сравнению с морфологией червей до начала эксперимента не обнаружено.

Гистологические исследования после вторичного лазерного облучения (на вторые сутки) свидетельствуют, что у червей, подвергнутых облучению, еще сохраняется умеренная макрофагальная реакция. Присутствуют также признаки гиперемии, выраженные, однако, несколько ниже, чем после первого облучения.

Вышеупомянутые факты свидетельствуют о том, что применение лазерного облучения для вермикультуры, вызывает морфологические изменения, свидетельствующие о его стимулирующем влиянии на кровоснабжение тканей и иммунную систему червя, в частности на лимфоцитоподобные амебоциты. По нашему мнению, это связано со стимулирующим эффектом на обменные процессы в тканях.

Через трое суток после начала эксперимента в обеих экспериментальных группах отмечено выраженное снижение активности червей по сравнению с предыдущими сутками. На этом этапе в обеих группах черви не проявляли двигательной активности. Поэтому несмотря на некоторые гистологические различия, четвертое облучение сочли нецелесообразным.

В целом, полученные результаты свидетельствуют о высоком активирующем воздействии лазера на первых этапах облучения, а также о высокой степени

целесообразности использования низкочастотного облучения лазером АЛ-01 «Семикон» вермикультуры с целью ее активации.

После активации вермикультуры калифорнийских червей переходили к основному этапу – технологии приготовления гидролизата. Основой для получения ферментативного гидролизата явились рекомендации, изложенные Ю.А. Козловым (1950) [4] .

Сущность приготовления ферментативного гидролизата из калифорнийских червей заключалась в следующем. Биомассу калифорнийских червей в количестве 0,5 кг соединяли с 1 л водопроводной водой и кипятили в течение 10 мин. Затем червей отделяли от бульона и измельчали в гомогенизаторе до однородной массы. Бульон охлаждали до температуры 45-50°C, подщелачивали Na₂CO₃ до pH 8,2 по фенолфталеину. Фарш калифорнийских червей помещали в трехлитровый стеклянный баллон, заливали готовым остывшим бульоном, добавляли 150 г поджелудочной железы крупного рогатого скота. К общему объему содержимого баллона вливали 2 % хлороформа, закрывали плотно ватно-марлевым тампоном с пергаментом. Баллон помещали в термокамеру при температуре 37°C. Выдерживали в течение 14 суток, встряхивали в течение первых суток через каждые 15 минут по 5 минут, а в последующие дни через каждые два часа по 5 минут. Со вторых суток измеряли уровень аминного азота: 446 мг%; 549 мг%; 653 мг%; 661 мг%; 675 мг%; 681 мг%; 697 мг%; 727 мг%; 749 мг%; 766 мг%; 781 мг%; 786 мг%; 786 мг%; 786 мг%. В конце переваривания жидкость фильтровали через ткань Бельтинга и 4 слоя фильтровальной бумаги. Измеряли аминный азот. В фильтрат добавляли 2 % хлороформа, пробковали и хранили при температуре от 2 до 8°C. Гидролизат представлял собой жидкость коньячного цвета.

Для оценки эффективности использования полученного гидролизата проводили микробиологический контроль. В качестве тест-штаммов выбрали *S. flexneri 1a 8516*; *S. typhi H-901*; *S. faecalis-602*; *Y. pestis Ev*; *P. aeruginosa 27/99*; *S. marcescens-1*; *Lactobacterium-cn*; *E. coli CA-18*. Параллельно производили контрольные высевы на агар Хоттинера. На новой питательной среде, по сравнению с агаром Хоттинера, культуральные и морфологические свойства этих микроорганизмов были более выраженными.

Подобные свидетельства о том, что новые питательные среды по химическому составу вполне обеспечивают физиологические потребности вышеуказанных микроорганизмов, что обуславливает их универсальность.

Список литературы

1. Бабаян Г.Л., Латов В.К. Способ оценки протеиназной активности комплексного ферментного препарата по данным кинетики протеолиза модельного белкового субстрата // Биотехнология. – 2003. - № 6. – С. 47-51.
2. Вартанова Н.О., Арзуманян В.Г., Сердюк О.А., Темпер Р.М. Создание новой синтетической среды для культивирования *Helicobacter pylori* // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2005. – Т. 139. - № 5. – С. 538-543.
3. Городний Н.М., Мельник И.А., Повхан М.Ф. Биоконверсия органических отходов в биодинамическом хозяйстве. – К.: Урожай, 1990. – 256 с.
4. Козлов Ю.А. Питательные среды в медицинской микробиологии. – М.: Медгиз, 1950. – 251 с.
5. Кузник Б.И., Морозов В.Г., Хавинсон В.Х. Цитомедины: 25-летний опыт экспериментальных и клинических исследований. – СПб.: Наука, 1998. – 310 с.
6. Пилат Т.Л., Иванов А.А. Биологически активные добавки к пище (теория, производство, применение). – М.: Авваллон, 2002. – 710 с.
7. Султанов З.З. Разработка и усовершенствование технологий получения микробиологических питательных основ и сред: Автореф. дис. докт. биол. наук: – Махачкала, 2008. – 45 с.
8. Томе М.Ф., Мартыненко Р.В. Аминокислотный состав кормов. – М.: Колос, 1972. – 288 с.
9. Филатов В.П. Тканевая терапия. – М.: Знание, 1955. – 180 с.
10. Pokarzhevskii A.D. Microbial links and element flows in nested detrital food-webs // Pedobiologia. 2003. – Vol. 47. – P. 213-224.

Рецензенты:

Хе В.Х., д.б.н., доцент, проректор по научной работе ННОУ ВПО «Институт Дружбы народов Кавказа» Министерства образования и науки РФ, г. Ставрополь.

Мишвелов Е.Г., д.б.н., профессор, профессор кафедры экологии и природопользования Института математики и естественных наук ФГАОУ ВПО «Северо-Кавказский федеральный университет», г. Ставрополь.