

## **Выживание *Enterococcus faecium* M3185, иммобилизованного в силанольно-гуматный гель, при воздействии различных стрессоров**

**Научный руководитель – Николаев Юрий Александрович**

*Коротков Н.А.<sup>1</sup>, Галуза О.А.<sup>2</sup>*

1 - Московский политехнический университет, Москва, Россия, *E-mail: nkorotkov2002@gmail.com*; 2 - Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН», Москва, Россия, *E-mail: olesya\_galuza@mail.ru*

Молочнокислые бактерии (МКБ) — это распространенная группа микроорганизмов, обитающая в различных природных средах. Они являются частью микробиома пищеварительной системы человека и животных, а также используются в качестве пробиотиков в промышленном производстве кисломолочных продуктов и биопрепаратов для сельского хозяйства [1].

Сохранение высокого уровня жизнеспособности молочнокислых бактерий в процессе хранения биопрепаратов является важной задачей как для фундаментальной, так и для прикладной микробиологии. Это имеет особое значение, поскольку обеспечивает пробиотическую активность продуктов, благотворно влияющую на здоровье. Кроме того, сохранение высокой жизнеспособности бактерий позволяет продлить срок годности молочных продуктов и биопрепаратов на основе МКБ [2]. Известно несколько способов продления (поддержания) жизнеспособности МКБ [4]. Новым и перспективным является иммобилизация бактерий в силанольно-гуматные гели (СГГ). Иммобилизация в СГГ увеличивает жизнеспособность углеводородокисляющих бактерий при длительном хранении [3]. СГГ был успешно применён для иммобилизации МКБ, что привело к продлению сроков хранения биопрепаратов до шести месяцев [5], однако, оставалось не исследованным, повышается ли СГГ выживаемость клеток МКБ в условиях действия различных стрессоров, что и составило цель работы.

Объектом исследования была МКБ *Enterococcus faecium* M3185. Культуру выращивали на среде LB. Культуру стационарной фазы роста помещали в СГГ, как описано ранее [5]. Жизнеспособность бактерий оценивали по титру жизнеспособных клеток (колониеобразующих единиц) (КОЕ/мл), которые определяли путем посева аликвот десятичных разведений культуры на 2% LB-агар и последующего подсчета выросших колоний.

Стрессовыми факторами были: высокая и низкая: температура (45°C, 25°C, 5°C и -14°C), повышенная освещённость (световой поток 1400 Лм), доступ и отсутствие атмосферного воздуха, влажность 99%, 65% и 40% (создаваемая в эксикаторах). Динамику доли жизнеспособных клеток определяли в течение одного месяца.

Результаты, представленные на рисунке, показывают, что только при высокой температуре (45°C) и при замораживании защитные свойства СГГ не выражены.

Напротив, СГГ эффективно защищает клетки МКБ от гибели при других стрессорах, длительном хранении при различных температурах (25 и 4°C) и влажностях (40-95%), интенсивном освещении, доступе кислорода воздуха.

Эксперимент при условиях 99%, 65% и 40% влажности показал, что уменьшение влажности негативно влияет на свойства СГГ.

Важно отметить, что уровень выживания клеток в контроле существенно зависел от доступа воздуха (в присутствии его доступа – снижался), света (при высокой освещённости – снижался), температуры (повышался при +4°C относительно комнатных условий), и влажности (повышался при понижении влажности воздуха). В СГГ в этих условиях

клетки были менее подвержены стрессорам (выживание составляло 30-50%), поэтому защитный эффект иммобилизации относительно контроля существенно варьировал.

Обнаруженные стрессопротекторные свойства СГГ важно учитывать при производстве, хранении и использовании биопрепаратов на основе молочнокислых бактерий.

### Источники и литература

- 1) Ефременко Е.Н. Иммобилизованные клетки: биокатализаторы и процессы: монография // М.: РИОР, – 2018. – С. 523.
- 2) Кучеренко И. В., Масежная Е. С., Дуганова А. Ю. Сохранение жизнеспособности и свойств коллекционных культур молочнокислых бактерий при длительном хранении // Сыроделие и маслоделие. 2023. №. 4. С. 92-97.
- 3) Николаев Ю. А. и др. Новые биокompозитные материалы, включающие углеводородокисляющие микроорганизмы, и их потенциал для деградации нефтепродуктов //Микробиология. – 2021. – Т. 90. – №. 6. – С. 692-705.
- 4) Похиленко В. Д., Баранов А. М., Детушев К. В. Методы длительного хранения коллекционных культур микроорганизмов и тенденции развития //Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. – 2009. – №. 4. – С. 99-121.
- 5) Galuza O. A. et al. Long-Term Survival of Bacteria in Gels //Microbiology. – 2023. – Т. 92. – №. Suppl 1. – С. S17-S21.

### Иллюстрации

Условия хранения	Количество выживших клеток
25°C	600
45°C	120
5°C	260
-14°C	80
Высокая освещённость	395300
Доступ воздуха	2800
Отсутствие доступа воздуха	260
Влажность при хранении 95%	1400
Влажность при хранении 65%	280
Влажность при хранении 40%	200

Рис. : Таблица. Выживаемость культуры *Enterococcus faecium* M3185 через 1 месяц хранения в СГГ в различных условиях (в процентах относительно контрольной культуры, хранившейся в жидкой культуре без помещения в СГГ)