

А. Я. Самуйленко, А. А. Раевский, И. В. Павленко, Н. К. Еремец,
И. В. Бобровская, З. А. Канарская, А. В. Канарский

ВЛИЯНИЕ СПОСОБОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА ВЫХОД БАКТЕРИАЛЬНОЙ МАССЫ И КАЧЕСТВО ВАКЦИН ДЛЯ ВЕТЕРИНАРНОЙ МЕДИЦИНЫ

Ключевые слов: бактерии, периодическое и непрерывное культивирование, мембранный биореактор, иммуногенные свойства вакцины.

Установлена целесообразность культивирования бактерий пастерелл и сальмонелл для получения вакцин с лучшими иммуногенными свойствами управляемыми периодическим и непрерывным способами в мембранном биореакторе. Показана возможность создания мембранного биореактора на базе традиционного биореактора с использованием ультрафильтрационной установки.

Key words: bacteria, periodic and continuous cultivation, membrane bioreactor, the immunogenic properties of the vaccine.

The expediency of cultivating bacteria Pasteurella and Salmonella for the production of vaccines with the best immunogenic properties controlled batch and continuous processes in a membrane bioreactor. The possibility of creating a membrane bioreactor based on the traditional bioreactor using an ultrafiltration unit.

Актуальность. Основой производства бактериальных препаратов, предназначенных для специфической профилактики инфекционных заболеваний бактериальной этиологии, является культивирование микроорганизмов. Теоретическое и экспериментальное обоснование методов и параметров культивирования микроорганизмов, обеспечивающих воспроизводимое получение популяций с определенными свойствами, всегда привлекали внимание исследователей [1, 2, 3, 4, 5, 6, 7]. Именно на этой технологической стадии производства вакцин происходит синтез антигенов, от которых зависит эффективность иммунных препаратов. При культивировании микроорганизмов одновременно стремятся к увеличению выхода биомассы и сохранению биологических свойств бактерий [2, 3, 7]. Для этого необходима организация управляемого культивирования микроорганизмов, позволяющая создавать и длительное время поддерживать культуры с постоянной и точно определенной концентрацией биомассы, фазой и скоростью роста [7, 8, 9, 10, 11, 12, 15].

В этой связи разработка современных способов культивирования патогенных микроорганизмов имеет важное прикладное значение в биотехнологии производства противобактериальных препаратов. В настоящее время получение бактериальной массы для вакцин от болезней сельскохозяйственных животных основано на периодическом способе глубинного культивирования микроорганизмов [3, 5, 6, 7, 8].

Стратегия разработки условий культивирования должна включать:

- выбор, поддержание и сохранение штаммов микроорганизмов; подбор питательных сред;
- оптимизацию периодического культивирования, направленную на сокращение длительности лаг-фазы, увеличение экспоненциальной фазы и числа жизнеспособных клеток;
- получение бактериальной массы с заданными свойствами;
- изучение возможности применения перспективных методов культивирования.

До настоящего времени в производстве биопрепаратов, в том числе и на стадии их разработки в

лабораторных условиях, широкое применение находит периодическое глубинное культивирования патогенных микроорганизмов [4, 10].

При культивировании получают бактериальную культуру, включающую клетки микроорганизмов, остатки питательных веществ, различные внеклеточные продукты метаболизма и др. Для получения концентрированной микробной биомассы используют различные методы: флотацию, сепарирования, фильтрацию, экстракцию, ионный обмен, адсорбцию, кристаллизацию, мембранные методы и др. Как правило, технология выделения и очистки продукта включает несколько стадий. В связи с этим весьма актуальной задачей при производстве бактериальных вакцин является разработка технологии концентрирования бактерий, применение которой способствует увеличению выхода конечного продукта и получению качественных биопрепаратов.

Наиболее простым в технике исполнения и перспективным с точки зрения расширения возможностей управления процессом является мембранный биореактор (МБР), в котором развитие популяции происходит в постоянно обновляемой среде. Это обновление осуществляется за счет постоянной или циклической подпитки субстратом и постоянного удаления метаболитов, всех или части, через полупроницаемую мембрану [11, 12, 13, 14, 16]. Сочетание ферментера с мембранным разделителем для удаления продуктов метаболизма бактерий увеличивает концентрацию клеток и продлевает длительность активной фазы роста за счет уменьшения ингибирующего эффекта. Кроме того, использование мембранного биологического реактора (МБР) дает возможность получать положительный эффект и за счет подвода питательных веществ в культуральную жидкость через полупроницаемую мембрану [16, 17, 18, 19, 20, 21, 22].

Цель настоящей работы – изучение влияния способов культивирования на выход бактериальной массы и качество вакцин для ветеринарной медицины

В работе определяли влияние периодического способа культивирования бактерий и продленного способа культивирования бактерий с использованием

мембранного биореактора на выход бактериальной массы и качество вакцин для ветеринарной медицины.

Материалы и методы

В исследованиях использовали бактерии *Salmonella cholerae suis* № 370 и *Salmonella typhimurium* № 415, *Pasteurella multocida* штаммы Пастеровский, АВ и К Краснодарской НИВС, применяемые при производстве живых сухих вакцин против пастереллеза птиц, а также штаммы А - 8683, В-681 и Д - Т - 80, применяемые при производстве вакцины против пастереллеза свиней.

Культивирование сальмонелл и пастерелл проводили на питательной среде, основой которых являлся перевар Хоттингера (%):

- пептон – 0,5;
- натрий хлористый – 0,3;
- двузамещенный фосфат натрия – 0,5.

Перевар Хоттингера, разведенный дистиллированной водой до - 100,0; содержание аминного азота 185 - 200 мг %, рН готовой среды – 8,0 - 8,2. Перед засевом в среду добавляли 0,1 % глюкозы в пересчете на сухое вещество в виде 40 % раствора. Культуру сальмонелл и пастерелл выращивали в пробирках и флаконах на шуттель-аппарате, а также в ферментере АНКУМ-2М емкостью 3 и 10 литров, которые оснащены системами автоматического контроля и регулирования основных параметров культивирования (температура, рН, рО₂, еН, расход воздуха на аэрацию, число оборотов перемешивающего устройства и оптическая плотность бактериальной суспензии). Для пеногашения при интенсивном росте бактерий в биореакторах применяли пропинол Б - 400.

Мембранный биологический реактор реализован с использованием ферментера Ф - 10 аппаратуры для непрерывного культивирования типа АНКУМ - 2М с вынесенной мембранной установкой для ультрафильтрации. В качестве мембранного разделителя использовали ультрафильтрационный модуль из полупроницаемых мембран в виде полых волокон из ароматического полиамида типа ВПУ - 15ПА с площадью фильтрационной поверхности 1 м².

Представленная на рисунке 1 технологическая схема пригодна для культивирования бактерий периодическим и непрерывным способами с отделением продуктов метаболизма, растворенных в культуральной жидкости, подачей биомассы на дальнейшую переработку с получением вакцин и подачей фильтрованной питательной среды в биореактор. Кроме того, на начальной стадии культивирования бактерий возможно интенсивное их накопление в биореакторе путем концентрирования биомассы бактерий с отбором продуктов метаболизма из культуральной жидкости, возврате концентрированной биомассы в биореактор и подачей фильтрованной питательной среды в биореактор.

Морфологические и биохимические свойства бактерий определяли стандартными методами. Жизнеспособность бактерий определяли методом КОЕ. Продолжительность фаз роста, максимальной удельной скорости роста, минимальной продолжительности удвоения (генерации) культур определяли

графическим методом.

Результаты и обсуждение

Культивирование бактерий в лабораторных условиях. Критерием оптимизации периодического способа культивирования бактерий является получение максимального количества живых клеток [18]. Ниже представлены результаты исследований, проведенных с *Pasteurella multocida* штамм Пастеровский, который используют при производстве живой вакцины в промышленных условиях.

Для экспериментов с центром в точке, в которой получено наилучшее накопление по оптической концентрации, выбран план 2-го порядка для двух факторов: X₁ - парциальное давление растворенного в культуральной жидкости кислорода (рО₂) и X₂ - рН. Шаги варьирования ΔX₁ = 5 % нас., ΔX₂ = 0,4 ед рН. Эксперименты проводили методом острых опытов при культивировании пастерелл в течение 1 час. Матрица планирования и полученные результаты приведены в таблице 1.

Таблица 1 - Матрица планирования и результаты эксперимента по рототабельному плану второго порядка

№ опытов	Значение уровней варьирования переменных				У*, мл рд/мл
	в кодированных ед.		в натуральных ед.		
	X ₁	X ₂	$\bar{X}_1$, % нас	$\bar{X}_2$, ед.рН	
1	-	-	30	7,6	0,22
2	+	-	40	7,6	0,26
3	-	+	30	8,4	0,27
4	+	+	40	8,4	0,23
5	- R*	0	28	8,0	0,24
6	+R	0	42	8,0	0,22
7	0	- R	35	7,4	0,16
8	0	+ R	35	8,6	0,21
9	0	0	35	8,0	0,32
10	0	0	35	8,0	0,31
11	0	0	35	8,0	0,30
12	0	0	35	8,0	0,32
13	0	0	35	8,0	0,32

* У - концентрация жизнеспособных бактерий.

**R = 1,414 коэффициент плеча «звездной» точки в центре униформ-рототабельного плана. Зависит от первоначального плана ПФЭ и высчитывается $R = 2^{n/4}$, где n – число опытов.

По результатам исследований получена математическая модель 2 порядка на уровне значимости α = 0,05:

$$Y = 0,314 + 0,1125X_2 - 0,0328X_1^2 - 0,0553X_2^2 - 0,020X_1X_2$$

Поверхность отклика представляет собой эллиптический параболоид с координатами максимума в кодированных единицах X₁ = - 0,03, X₂ = 0,11, т.е. рО₂ опт. = 35 % и рН_{опт} = 8,0 ед.

В результате проведенных исследований установлено, что оптимальные значения уровней рО₂ и рН на логарифмической стадии роста пастерелл с учетом жизнеспособных бактерий, практически совпадает с таковыми, полученными при опти-

мизации процесса культивирования по оптической плотности. Таким образом, оба критерия оптимизации (оптическая плотность и концентрация жизнеспособных клеток) могут в равной степени приме-

няться при разработке режимов культивирования бактерий на логарифмической стадии роста, используемых при изготовлении биопрепаратов.

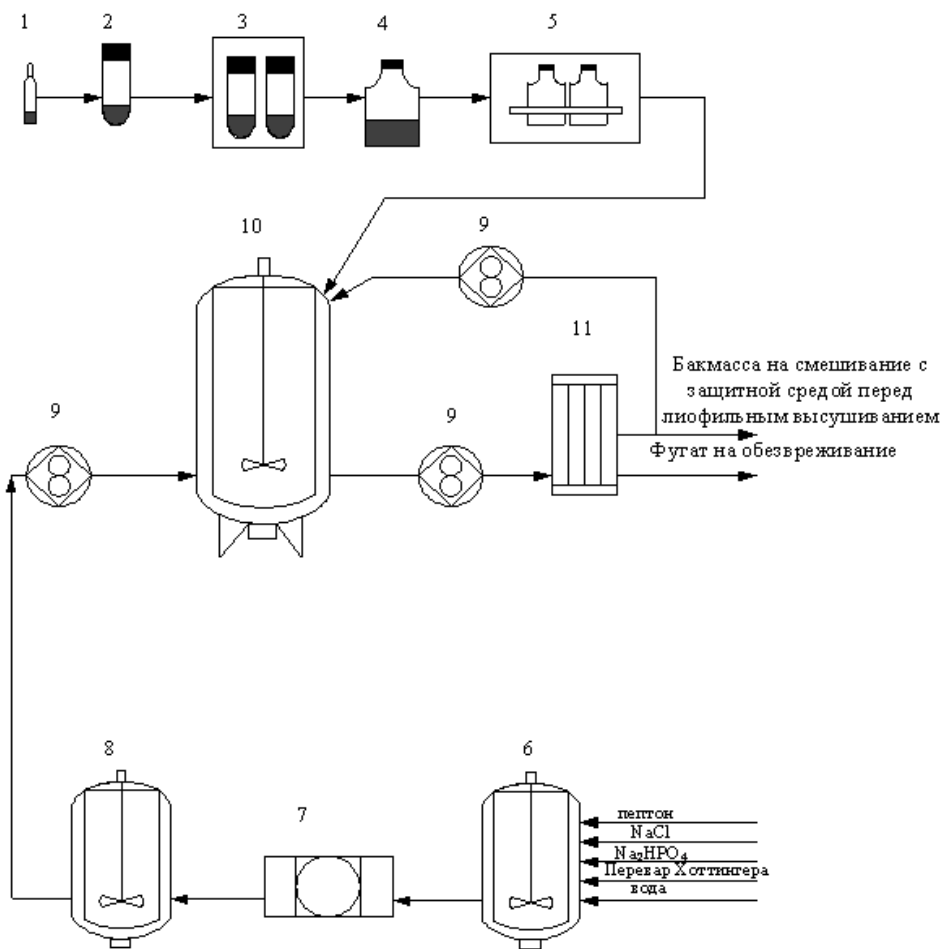


Рис. 1 - Аппаратурно-технологическая схема мембранного биореактора: 1 - ампула с лиофильно высушенными бактериями; 2 - бактерии, выращенными на скошенном агаре; 3 - бактерии, выращенные в жидкой питательной среде; 4 - бактерии, засеянные во флаконы 450мл; 5 - выращивание бактерий во флаконах 450 мл на шуттель-аппарате в термостатируемом помещении; 6-реактор для приготовления питательной среды; 7 -мембранный фильтр для очистки питательной среды; 8 – реактор для стерилизации питательной среды; 9 - насос для перекачки; 10 - биореактор (ферментер) для культивирования; 11 - установка для ультрафильтрации

При культивировании бактерий возможно истощение из культуральной жидкости источника углерода – глюкозы, которая лимитирует рост пастерелл. При этом наблюдается снижение скорости роста микроорганизмов, повышение уровня растворенного кислорода и pH. Антроновым методом определен лимитирующий уровень концентрации глюкозы, который составил 0,01%. Поэтому при выращивании пастерелл во избежание прекращения их роста и, следовательно, увеличения продолжительности технологического процесса необходимо поддерживать концентрацию глюкозы выше лимитирующей.

Алгоритм управления культивированием пастерелл можно сформулировать следующим образом: продолжительность культивирования в течение 6 - 8 ч в жидкой питательной среде на основе перевара Хоттингера. После засева pH снижают до $-20 \div$

-60 мВ и затем в течение 2 - 2,5 ч парциальное давление растворенного кислорода поддерживается на уровне 10 - 20 % нас. при pH среды 8,2 - 8,6. Затем pH снижают до 7,8 - 8,2 при pO_2 30 - 40 % нас., а концентрацию глюкозы на протяжении всего процесса поддерживают в пределах 0,01 - 0,3 %.

Культивирование бактерий в производственных условиях. Увеличение объема биореактора показана значимость для роста пастерелл парциального давления растворенного кислорода и необходимость использования на производстве для управляемого культивирования микроорганизмов аппаратов с хорошими массообменными характеристиками по кислороду.

Культивирование бактерий в модернизированном химическом реакторе емкостью 1000 л при объеме питательной среды 300 л., числе оборотов мешалки турбинного 180 об/мин, и подачи воздуха в

реактор до 270 л/мин. получить положительных результатов не представилось возможным. Через 2,5 - 3 час. при максимально возможном расходе воздуха на аэрацию и перемешивании питательной среды, pO_2 снижалось с оптимального практически до нуля, скорость роста пастерелл значительно уменьшалась и наблюдался линейный рост бактерий (выход их на стационарную фазу, где скорость гибели бактерий, компенсируется скоростью прироста биомассы), что является признаком лимитирования по кислороду. Через 6 ч выращивания накопление бактерий составляло 15 - 18 млрд/мл.

При культивировании в ферментере фирмы «Электрولюкс» со скоростью мешалки до 1000 об/мин, представилась возможность регулировать pO_2 в достаточных пределах. Динамика роста пастерелл в ферментере емкостью 400 л соответствовала динамике роста в 10 - литровых лабораторных аппаратах, максимальная удельная скорость роста составляла 1,7 - 1,8 час⁻¹ при накоплении до 50 - 60 млрд. м.к./мл после 6 - 8 часов культивирования.

Продолжительность культивирования пастерелл аргументирована тем, что через 6 - 8 часов наступает стационарная фаза роста, при которой культура пастерелл, как известно, обладает высокой иммуногенной активностью и наиболее устойчива к воздействию неблагоприятных факторов в последующих технологических процессах получения вакцин.

Оптимальные условия культивирования *Pasteurella multocida* штамм Пастеровский периодически успешно использованы для культивирования штаммов *P. multocida*, также применяемых при производстве вакцин против пастереллеза.

Разработанный управляемый режим культивирования пастерелл защищен патентом РФ № 1566533 «Способ изготовления вакцины против пастереллеза птиц».

Используя алгоритм для культивирования пастерелл, разработан алгоритм управляемого культивирования сальмонелл. Питательную среду засевают 16 - 18 часовой культурой сальмонелл, выращенной в жидкой питательной среде аналогичного состава. Засевная доза составляла 8 - 10 % к объёму питательной среды. Сальмонеллы культивируют при 36,5 - 37,5 °С в течение 8 часов. После засева окислительно-восстановительный потенциал снижали до - 90 - - 120 мВ путём выдерживания культуры без подачи воздуха на аэрацию и включения мешалки (от 0,5 до 1,5 часов). Затем до конца культивирования изменяли расход воздуха и число оборотов мешалки поддерживают парциальное давление растворённого кислорода на уровне 15 - 25 % от насыщения кислородом воздуха. Используя 10 % раствор NaOH, pH культуральной жидкости поддерживают на уровне 7,6 - 7,7. Дробную подачу глюкозы осуществляют дозами до концентрации 0,15 - 0,25 % при лимитировании роста сальмонелл глюкозой, характеризующемся резким повышением pO_2 при неизменном расходе воздуха и числе оборотов мешалки и прекращении снижения pH культуральной жидкости.

В разработанном управляемом режиме

культивирования снижение eН до необходимого уровня - 90 мВ достигали путём выдержки культуры сальмонелл в течение получаса без подачи воздуха на аэрацию и при выключенной мешалке. Затем в процессе культивирования уровень eН ко второму часу понижался до - 120 мВ и далее плавно повышался до значения - 100 мВ к четвертому часу культивирования. Значение eН поддерживалось на этом уровне до седьмого часа и затем плавно повышалось до значения - 70 мВ и оставалось на этом уровне до окончания культивирования.

Аэрация сальмонелл в разработанном процессе проводилась следующим образом: в течение первых двух часов (для снижения eН) не производили подачу воздуха и перемешивание, а затем, после снижения eН изменением расхода воздуха и числа оборотов мешалки pO_2 поддерживали на уровне 20 % от насыщения кислородом воздуха.

Дробную подачу глюкозы осуществляли дозами до концентрации 0,2 % при лимитировании роста сальмонелл глюкозой, характеризующегося резким повышением pO_2 , при неизменных расходе воздуха и числе оборотов мешалки, и прекращением закисления культуральной жидкости.

Как показали результаты опытов, накопление жизнеспособных сальмонелл составило до 40,0 млрд/см³ через 9 часов культивирования. При этом фаза приспособления продолжалась 0,15 часа, а лог-фаза - 4,5 часа. Максимальная удельная скорость роста популяции сальмонелл составила 1,21 час⁻¹, а время удвоения - 0,57 часа.

В таблице 2 представлены результаты накопления жизнеспособных сальмонелл при культивировании по экспериментальному режиму.

Таблица 2 - Накопление жизнеспособных сальмонелл при культивировании

Продолжительность культивирования, час	Накопление жизнеспособных сальмонелл, млрд. м.к.	
	<i>S.choleraesuis</i> штамм 370	<i>S.typhimurium</i> штамм № 415
0	0,035	0,02
1	0,9	0,19
2	1,7	1,6
3	2,0	2,2
4	2,3	2,3
5	5,6	4,9
6	17,7	11,2
7	20,0	19,8
8	24,3	20,1
9	24,1	18,7

Разработанный управляемый режим культивирования сальмонелл позволил сократить продолжительность фазы приспособления с 0,5 часа до 0,15 часа, увеличить продолжительность логарифмической фазы с 1,4 часа до 4,5 часов, увеличить максимальное накопление бактерий с 5,5 до 20,0 - 40,0 млрд/см³ и сократить продолжительность культивирования с 12 часов до 6 - 8 часов.

Разработанный управляемый режим культивирования сальмонелл защищен патентом №

2129016 «Способ изготовления вакцины против сальмонеллеза сельскохозяйственных животных».

Культивирование бактерий в мембранном биореакторе. Проведено сравнение традиционного периодического способа культивирования сальмонелл в биореакторе с культивированием в МБР (рисунк 1). После засева биореактора бактерии культивировали неуправляемым периодическим способом в течение 4 часов. Исследования показали, что через 4 часа культивирования сальмонелл в неуправляемом режиме культурой достигается стационарная фаза роста. Дальнейшее культивирование бактерий не целесообразно.

Периодическое культивирование бактерий в МБР при управляемом режиме (регулированием pO_2 , pH) сопровождалось непрерывным концентрированием биомассы на установке для ультрафильтрации, ее возвратом в биореактор, отбором продуктов метаболизма и одновременной подачей питательной среды в биореактор. Через 12 часов культивирования сальмонелл в данном режиме культура достигала стационарной фазы. Культивирование сальмонелл с использованием МБР периодическим способом в сочетании с управляемым режимом позволяет продлить рост бактерий и увеличить накопление жизнеспособных сальмонелл в 3 - 4 раза больше, чем при культивировании периодическим неуправляемым способом.

Показано, что культивирование бактерий сальмонелл в МБР непрерывным способом управляя режимом (регулированием pO_2 , pH), дает возможность поддерживать в течение длительного времени концентрацию клеток, удельную скорость роста и концентрацию питательных веществ. Когда культура микроорганизмов выходит на экспоненциальную фазу роста (лог-фазу) отбирается 2/3 от объема ферментера и биомасса концентрируется на установке для ультрафильтрации и подается на дальнейшую переработку. Затем в биореактор подается очередная доля питательной среды и культивирование продолжается до следующего отбора биомассы. Коэффициент разбавления питательной средой при этом поддерживался в пределах $0,5 - 0,7 \text{ ч}^{-1}$. При культивировании данным способом в культуральной жидкости концентрация сальмонелл увеличивается более чем в 7 раз.

Отбор культуры микроорганизмов на этапе лог-фазы позволяет значительно повысить концентрацию жизнеспособных бактерий и получать вакцины с лучшими иммуногенными свойствами при хранении. Культивирование бактерий в МБР снижает фактор накопления ингибирующих рост продуктов жизнедеятельности микроорганизмов, которые приводят к существенным морфологическим и физиологическим изменениям культуры – лизис клеток.

Следует отметить, что непрерывный способ культивирования микроорганизмов в МБР позволяет организовать дальнейшее непрерывное получение вакцины увеличив эффективность работы технологического оборудования..

Выводы

Установлена целесообразность культивиро-

вания бактерий пастерелл и сальмонелл для получения вакцин с лучшими иммуногенными свойствами управляемыми периодическим и непрерывным способами в мембранном биореакторе. Показана возможность создания мембранного биореактора на базе традиционного биореактора с использованием ультрафильтрационной установки.

Литература

1. С.Г. Мухачев, Ю.П. Александровская, Н.К. Филлипова. Вестник Каз. технол. ун-та. № 3 С. 168 – 172 (2003).
2. А.Я. Самуйленко. Биотехнология. М. 746 с. (2013).
3. А.А. Раевский. Материалы Межд. научно-практ. конф. «Научные основы производства ветеринарных биологических препаратов». Щелково. С. 61 - 64 (2003).
4. А.Я. Самуйленко, В.В. Меньшенин, Е. Э. Школьников. Материалы Межд. научно-практ. конф. «Научные основы производства ветеринарных биологических препаратов». Щелково. С. 358 - 359 (2009).
5. Н.В. Тарутина, А.Э. Софиев. Успехи в химии и химической технологии. Тез. докл. XIX Межд. конф. молодых ученых по химии и хим. технологии «МКХТ-2005». Москва: РХТУ им. Д.И. Менделеева. Т. XIX, № 1. С. 82 - 84 (2005).
6. Е.А. Рубан, А.Я. Самуйленко. Мат. Межд. научн. конф. «Ветеринарная медицина». Харьков. Т. 84 (2004).
7. А.А. Раевский, А.Я. Самуйленко, Е.Э. Школьников. Методика непрерывного культивирования микроорганизмов в биореакторах. Новые методы исследований по проблемам ветеринарной медицины. М., РАСХН, Ч. II. 385 с. (2006).
8. А.А. Раевский, А.Я. Самуйленко, Е.Э. Школьников. Материалы VI Московского Межд. Конгресса Биотехнология: состояние и перспективы развития. М. Т. 1. С. 195-196 (2011).
9. Н.В. Меньшутина, Е.В. Гусева, Т.А., Нижегородова, Ж., М. Фик. 1-ый Межд. Конгресс «Биотехнология – состояние и перспективы развития». М., с. 207 (2002).
10. А.Я. Самуйленко Основы технологии производства ветеринарных биологических препаратов. М. Т. 1. 375 с (2000).
11. А.Я. Самуйленко, И.В. Павленко, А.А. Раевский, В.И. Еремец, И.В. Бобровская, В.В. Меньшенин. Матер. межд. научно-практ. конф. «Роль ветеринарной науки и практики в эффективном развитии животноводства». Алматы. С. 457 – 460 (2012).
12. М. В. Емельянов, Ю.П. Александровская, Н.К. Филлипова. Постгеномная эра в биологии и проблемы биотехнологии: Матер. науч. конф., Казань, М.: МаксПресс, С.37 – 38 (2004).
13. С.Г. Мухачев, Ю.П. Александровская, Н.К. Филлипова. Постгеномная эра в биологии и проблемы биотехнологии: Матер. науч. конф., Казань, М.: МаксПресс. С. 64 - 65 (2004).
14. А.Я. Самуйленко, Е.А. Рубан, Н.В. Мельник Промышленная технология производства противобактериальных препаратов и др. М.: ИКЦ «Академкнига». 267 с. (2006).
15. А.А. Раевский. Разработка управляемого процесса культивирования *Pasterella multocida* при производстве вакцин: автореф. дисс. канд. биол. наук.. 24 с. (2002).
16. П. Брок Т. Мембранная фильтрация. М.: Мир. 462 с. (1987).
17. Boyaval P., Corre Ch., Mades M.-N./ Propioninc acid production in a membrane bioreactor// Enzyme and Microbial Technology. 1994, V.16, N.10.
18. Mouedeb H., Sanchez J., Bardot C., Fick M./ Membrane bioreactor for lactic acid production.// Journal of Membrane Science, (1996), 114, 59
19. С.Г. Мухачев, Ю.П. Александровская, Н.К. Филлипова. Постгеномная эра в биологии и проблемы биотехно-

гии: Матер, науч. конф., Казань, М.: МаксПресс. С. 64 - 65 (2004).

20. И.В. Павленко, А.А. Раевский, В.В. Меньшенин. Ветеринарный врач. Казань. № 2, С. 17 – 18 (2012).

21. Скотникова Т.А., Неминущая Л.А., Еремец Н.К., Провоторова О.В., Бобровская И.В., Малышева М.А.,

З.А. Канарская. Вестник Каз. технол. ун. Т. 15. № 4. с. 82 – 87. (2012).

22. Неминущая Л.А., Скотникова Т.А., Титова Е.И., Провоторова О.В., Еремец Н.К., Бобровская И.В., З.А. Канарская. Вестник Каз. технол. ун. Т. 15. № 4.с. 69 – 74. (2012).

© **А. Я. Самуйленко** – д-р ветер. наук, проф., академик РАСХН, дир. ГНУ ВНИТИБП РАСХН РФ, vnitibr@mail.ru; **А. А. Раевский** – канд. биол. наук, зам. дир.а института ГНУ ВНИТИБП РАСХН; **И. В. Павленко** – канд. биол. наук, зав. экспериментально-производственной лаб. отдела бактериальных препаратов, ГНУ ВНИТИБП РАСХН РФ, polt65@yandex.ru; **В. И. Еремец** - д-р биол. наук, проф., зам. директора ГНУ ВНИТИБП РАСХН РФ, biv_74@mail.ru; **И. В. Бобровская** - канд. биол. наук, зав. лаб. технологических методов контроля и доклинических испытаний; **З. А. Канарская** – канд. тех. наук, доц. каф. пищевой биотехнологии КНИТУ, zosya_kanarskaya@mail.ru; **А. В. Канарский** – д-р техн. наук, проф. той же кафедры, alb46@mail.ru.