

Warunki mają znaczenie – wpływ różnych sposobów przechowywania preparatów mikrobiologicznych na przeżywalność bakterii i czystość produktów

Karolina Furtak¹, Anna Trojak-Goluch², Karolina Gawryjotek¹

¹Zakład Mikrobiologii, ²Zakład Biotechnologii i Hodowli Roślin
Instytut Uprawy Nawożenia i Gleboznawstwa – Państwowy Instytut Badawczy
ul. Czartoryskich 8, 24-100 Puławy
kfurtak@iung.pulawy.pl

WPROWADZENIE

Przyjmuje się, że preparaty mikrobiologiczne należy przechowywać zgodnie ze wskazaniami podanymi przez producenta na opakowaniu. Z reguły w ich składzie znajdują się żywe mikroorganizmy, które cały czas prowadzą metabolizm.

W ramach realizacji projektu OSMO-PROTECT analizowano różne sposoby przechowywania opracowywanych biopreparatów składających się wyłącznie z bakterii oraz pożywki do ich wzrostu.

MATERIAŁY I METODY

- Preparaty przechowywano przez okres pół roku:
- (a) **O4** - preparat otwierany co miesiąc przechowywany w warunkach chłodniczych (temp. 4°C);
 - (b) **O25D** - preparat otwierany co miesiąc przechowywany w temp. 25°C w ciemności (zamknięta szafka);
 - (c) **O25L** - preparat otwierany co miesiąc przechowywany w temp. 25°C w obecności światła (naturalnie występujące w pomieszczeniu);
 - (d) **C4** - zamknięty preparat (butelka została otwarta dopiero bezpośrednio przed analizą) przechowywany w warunkach chłodniczych (temp. 4°C);
 - (e) **C25D** - zamknięty preparat przechowywany w temp. 25°C w ciemności (zamknięta szafka);
 - (f) **C25L** - zamknięty preparat przechowywany w temp. 25°C w obecności światła (naturalnie występujące w pomieszczeniu).

Co miesiąc, w każdym preparacie dokonywano pomiaru przeżywalności bakterii z wykorzystaniem cytometru przepływowego (Sysmex Partec CyFlow Cube 8), określano gęstość hodowli metodą spektrofotometryczną oraz liczebność bakterii metodą posiewu płytkowego na podłożu LB. Jednocześnie badano poziom czystości – zakażenie innymi bakteriami bądź grzybami.

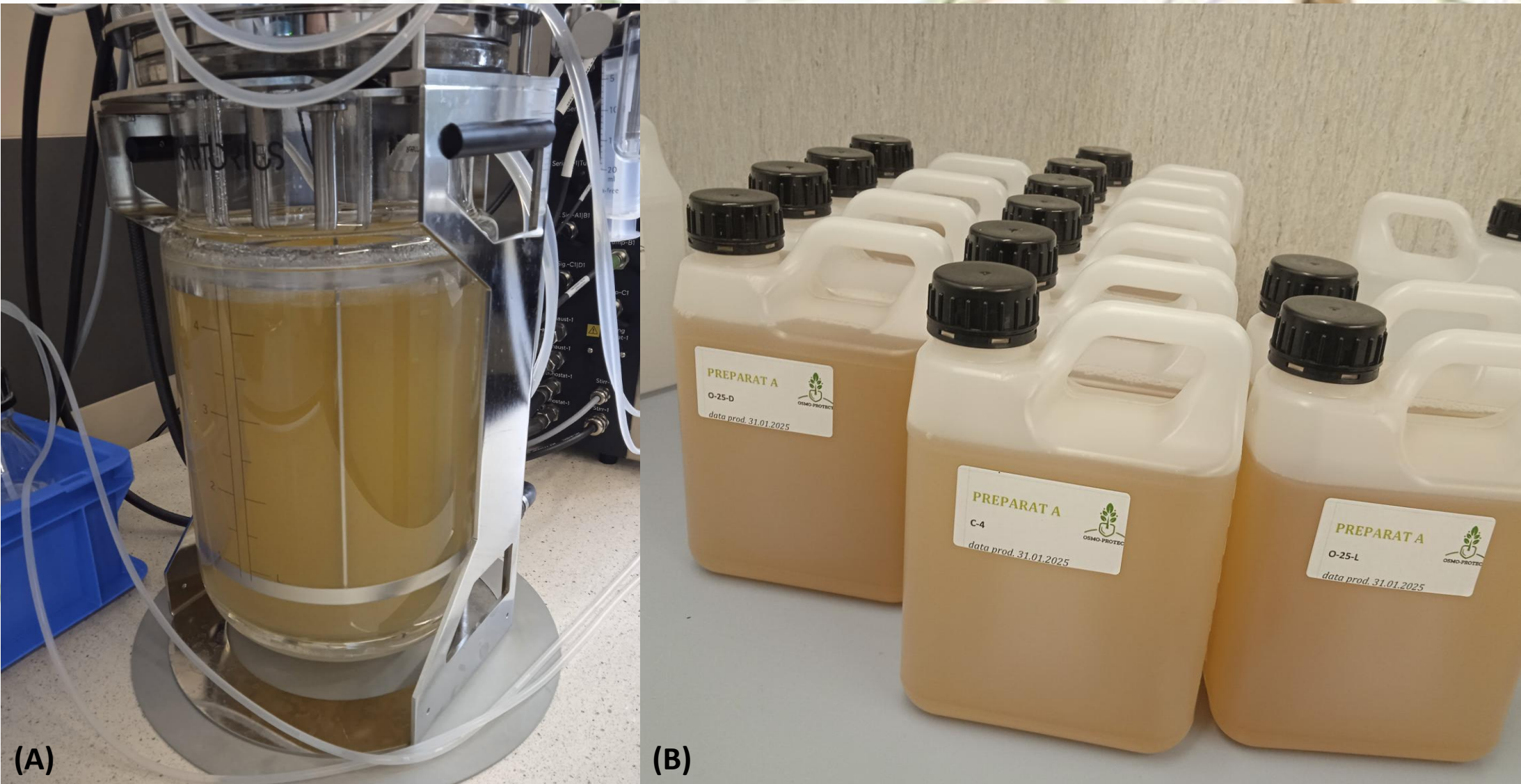


Figura 1. Analizowane prototypy: (A) hodowla w bioreaktorze; (B) preparaty w opakowaniach do przechowywania. Zdjęcia: K. Gawryjotek, K. Furtak

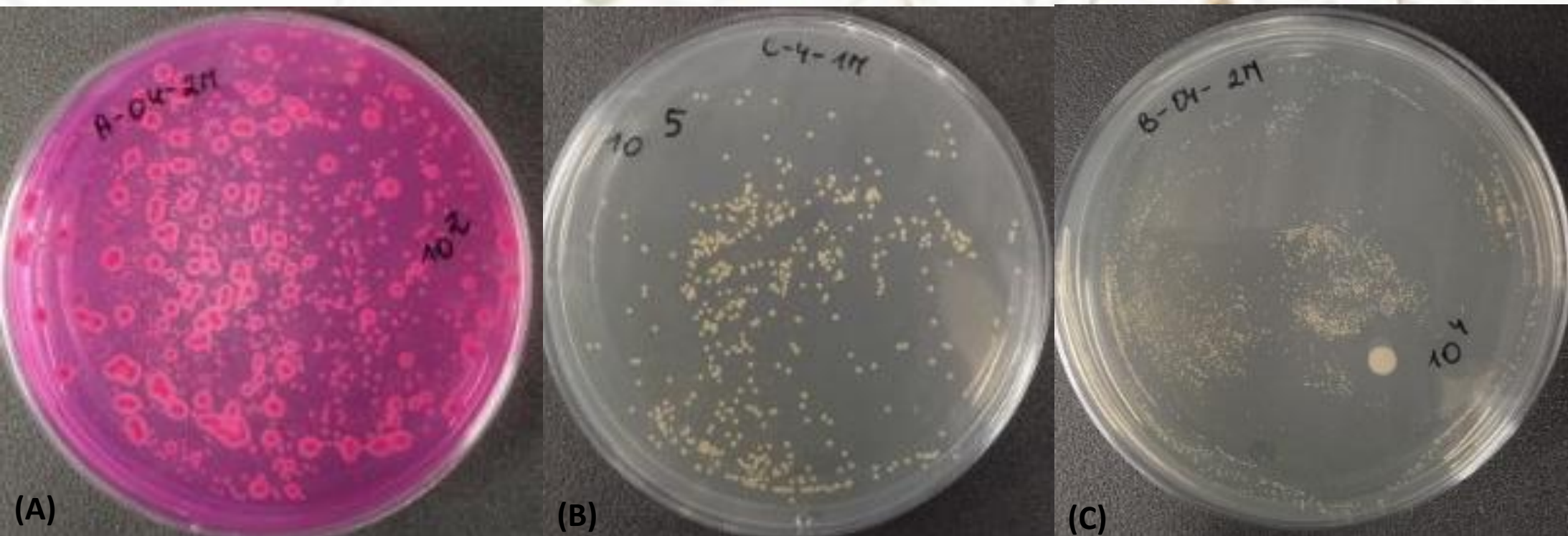


Figura 2. Posiewy preparatów: (A) preparat A wariant O4 po 2 miesiącach – posiew na podłożu Rose-Bengal Agar; (B) preparat A wariant C4 po 1 miesiącu – posiew na podłożu LB; (C) preparat B wariant O4 po 2 miesiącach – posiew na podłożu LB. Zdjęcia: K. Gawryjotek

WYNIKI

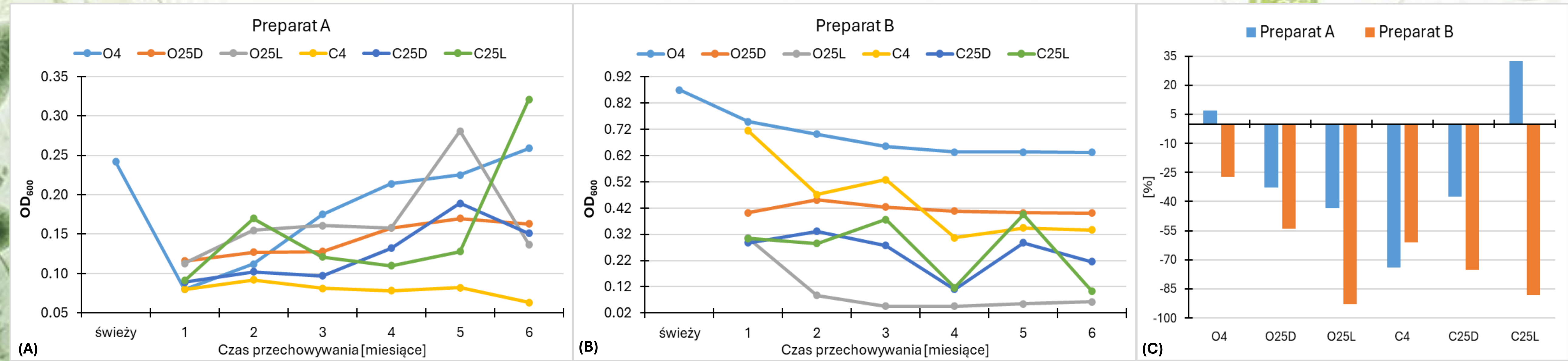


Figura 3. Wartości OD₆₀₀ mierzone co miesiąc przez 6 miesięcy przechowywania preparatu w różnych warunkach: (A) preparat A; (B) preparat B; (C) procentowa (%) zmiana wartości po 6 miesiącach przechowywania w stosunku do produktu świeżego.

Tabela 1. Liczba żywych bakterii w 1 ml biopreparatu.

Czas przechowywania	świeży	1 miesiąc	2 miesiące	3 miesiące	4 miesiące	5 miesięcy	6 miesięcy	Zmiana (%) po 6 miesiącach w stosunku do świeżego produktu
Preparat A								
O4	15 000 000	700 000	100 000	100 000	150 000	10 000	45 000	-99,7
O25D		600 000	560 000	450 000	250 000	170 000	145 000	-99,0
O25L		100 000	400 000	1 000 000	25 000	50 000	100 000	-99,3
C4		1 000 000	200 000	250 000	4 500	20 000	3 000	-99,9
C25D		500 000	300 000	85 000	250 000	35 000	300 000	-98,0
C25L		50 000	600 000	350 000	65 000	110 000	1 000 000	-93,3
Preparat B								
O4	10 000 000	65 100 000	32 000 000	17 000 000	2 250 000	120 000	80 000	-99,2
O25D		100 000	90 000	90 000	1 000	1 000	1 000	-99,9
O25L		1 200 000	60 000	30 000	35 000	130 000	150 000	-98,5
C4		20 000 000	7 000 000	14 000 000	4 100 000	800 000	4 250 000	-57,5
C25D		5 000 000	40 000	250 000	100 000	180 000	25 000	-99,7
C25L		25 000 000	150 000	100 000	100 000	1 000	100 000	-99,0

Wyniki wskazują, że w przypadku preparatu B warunki chłodnicze wiązały się z dużą liczbą żywych komórek w preparatach po 6 miesiącach przechowywania oraz niskimi stratami w gęstości optycznej. Stwierdzono również, że preparat B wykazywał dużą czystość mikrobiologiczną. W preparacie regularnie otwieranym co miesiąc dopiero po 4 miesiącach odnotowano nieliczne kolonie grzybowe. W preparatach zamkniętych nie odnotowano tego typu zakażeń.

Preparat A charakteryzował się niższymi parametrami przeżywalności w czasie w porównaniu do preparatu B, a najlepsze wyniki uzyskano w przypadku przechowywania w temperaturze pokojowej w obecności światła. Niestety, w preparacie A wykazano obecność licznych kolonii grzybowych w wariantach O4, O25L i C4 już po pierwszym miesiącu przechowywania.

Wyniki wskazują, że sposób przechowywania preparatów ma znaczenie, a ponadto powinien on być dobrany w zależności od składników danego biopreparatu.