



Сурет 2 – Зеренді көлі су сынамаcы және бақылаудағы *Chlorella sp-3K* штамының өсу динамикасы

Биотестілеу жүргізген зерттеу нәтижесінде *Chlorella sp-3K* штамы Зеренді көліндегі улы заттар концентрациясына орташа сезімтал екені анықталды.

Зерттеулерден байқағанымыздай табиғи суларға микробалдырлар көмегімен биотест жүргізу жылдам, әрі тез және химиялық зерттеулер нәтижесін толықтыратындығы анықталды.

1. Унифицированные методы исследования качества вод // Методы биологического анализа воды. Приложение I. Индикаторы сапробности. – М.: СЭВ, 1977. – С. 11-42.

2. Унифицированные методы исследования качества воды // Методы биологического анализа воды. Приложение

3. Крайнюкова А.Н. Биотестирование в охране вод от загрязнения // Методы биотестирования вод. – Черногоровка, 1988. – С. 4-14.

4. Музафаров А.М., Таубаев Т.Т., Методы массового культивирования и применения хлореллы. – Ташкент: Фан, 1974. – 120 с.

5. Шаланки Я. Биомониторинг природной среды. // Журн.общ. биол. –1985. – Т.46, №6. – С. 743-752

6. Таубаев Т.Т. Хлорелла. – Ташкент: Фан, 1980. – 150 с.

7. Биоиндикация и биотестирование природных вод. // Тез. Докл. Всес. конф. – Ростов, 1986. – С. 198.

8. Заядан Б.К., Су экожүйелеріне биологиялық тест жүргізуге жасыл балдыр *Chlorella sp-1* табиғи түрін пайдаланудың маңызы // Вестник КазГУ, Серия экологии. – 2001. – №2. – Б. 25-29.

9. Биоиндикация загрязнений наземных экосистем / Под ред. Р. Шуберт. – М.: Мир, 1988. – С. 324.

10. Шорабаев Е.Ж., Болатхан Б.К. Өндірістік қалдық суларды жасыл балдырлар көмегімен биоақылау және тазарту. // ҚазМАУ нәтижелер, ізденістер. – 1999. – №4. – Б. 183-186.

11. Ақмола облысының су қоры: Ақмола облыстық қоршаған ортаны қорғау туралы материалдар. – Көкшетау, 2008. – 105 б.

12. Өнерхан Г. Көкшетау өңірі көлдерінің экологиялық жағдайын альгофлора көмегімен бағалау: биол. ғылым. канд. ... дисс. – Алматы, 2010. – 112 б.

13. Заядан Б.К. Роль фототрофных микроорганизмов в мониторинге, функционировании и ремедиации водных экосистем: автореф. ... д-ра биол. наук. – Алматы, 2006. – 38 с.

В работе проведено биотестирование озер по штамму *Chlorella sp-3K* выделенного с водных экосистем озер Кокшетауского региона, который отличается быстрой размножаемостью и очищающей способностью загрязнений природных вод. В результате биотестирования, выявлено, что воды озера Зеренда средний уровень токсичности: рост клеток средний $16,8 \pm 0,5$ млн/мл.

Respective was biotesting lakes on cultures of microseaweed allocated with water ecosystem of lakes Kokshetau region is carried out is especial on strain *Chlorella sp-3K*, distinguished fast duplicate and clearing ability of pollution of natural waters. As a result of biotesting, is revealed, that waters of lake Zerenda an average level toxicity: growth of crates average $16,8 \pm 0,5$ mln/ml.

УДК: 579:576.6

Ратникова И.А., Н.Н. Гаврилова Н.Н., Л.П. Треножникова, К. Баякышова, А.Х. Хасенова

УСТОЙЧИВОСТЬ К ЖЕЛЧИ МОЛОЧНОКИСЛЫХ, ПРОПИОНОВОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ И ИХ АССОЦИАЦИЙ, АДАПТИРОВАННЫХ К НИЗКОМУ ЗНАЧЕНИЮ PH

(РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, e-mail: iratnikova@almanet.kz)

Исследованные штаммы молочнокислых бактерий являются более чувствительными к желчи, чем к низкому значению pH. Наиболее чувствительными к желчи оказались культуры *L. plantarum* 22, *L. brevis* Б-3, *L. plantarum* 2в и 14д. Адаптированные к низкому значению pH культуры *L. brevis* Б-3 и *L. plantarum* 22 стали более устойчивыми к желчи по сравнению с исходными. Наиболее устойчивыми к желчи являются культуры *L. fermentum* 27 и *P. shermanii*.

Непрерывным условием для получения эффективных пробиотиков является использование штаммов с высокой антимикробной активностью к наиболее часто встречающимся возбудителям заболеваний, доминирующим в данном регионе. Кроме того, в необходимых случаях для усиления лечебного действия в отношении определенных возбудителей заболеваний должна проводиться коррекция микробного состава препарата. Для этого надо иметь в резерве штаммы с высокой

антимикробной активностью к различным возбудителям заболеваний. Штаммы микроорганизмов, входящие в состав пробиотиков, должны обладать также адгезивными и ростовыми свойствами, которые позволят им быстро колонизировать слизистую поверхность желудочно-кишечного тракта.

Резистентность бактериальных клеток к реактогенной среде желудка и верхних отделов кишечника также является необходимым условием выживания пробиотических микроорганизмов. При этом основными факторами, губительно действующими на пробиотические микроорганизмы, являются низкое значение pH и желчные кислоты [1,2].

Материалы и методы

Культуры молочнокислых бактерий *L. plantarum* 2в, 22, 14д, *L. fermentum* 127 и 27, *L. brevis* Б-3 и пропионовокислых бактерий *P. shermanii*, исходные и адаптированные к низким значениям pH, выращивали в течение 18 ч при температуре 37⁰С в жидкой питательной среде MRS [3], содержащей 3% бычьей желчи. Затем в них определяли количество жизнеспособных бактерий путем посева из соответствующих разведений в чашки Петри на твердую питательную среду MRS а также антагонистическую активность методом диффузии в агар в отношении тест-культур: *Escherichia coli*, *Salmonella, gallinarum*, *Staphylococcus aureus* № 9, *Staphylococcus aureus* № 3316, *Klebsiella pneumoniae* 444, *Candida albicans*, *Mycobacterium B₅* [4]. Каталазную активность пропионовокислых бактерий устанавливали по интенсивности разложения культурой перекиси водорода. В таблице представлены средние результаты не менее чем из трех повторностей. Контролем служили те же культуры молочнокислых и пропионовокислых бактерий, выращенные в исходной среде MRS без желчи.

Результаты и их обсуждение

В предыдущих исследованиях нами проведена адаптация молочнокислых и пропионовокислых бактерий к pH 3. Целью настоящих исследований было изучение устойчивости к желчи у исходных и адаптированных к низкому значению pH молочнокислых и пропионовокислых бактерий, входящих в состав разработанных нами пробиотиков.

Результаты опыта представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Содержание бактериальных клеток и антагонистическая активность молочнокислых бактерий при росте в питательной среде с 3% желчи

| Варианты опыта | pH | Тест-культуры, мм | | | | | | | | Титр, КОЕ/мл |
|--|------|-------------------|----------------------|----------------------|-------------------------|--------------------------|---------------------|--------------------|------------------------------------|---------------------|
| | | <i>E. coli</i> | <i>S. gallinarum</i> | <i>S. aureus</i> № 9 | <i>S. aureus</i> № 3316 | <i>K. pneumoniae</i> 444 | <i>P. multocida</i> | <i>C. albicans</i> | <i>Mycobacterium B₅</i> | |
| 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 |
| Б ₃ , исходная контроль | 4,1 | 12,0 | 13,0 | 14,0 | 13,5 | 12,0 | 1,0 | 23,0 | 27,0 | 5,3x10 ⁸ |
| Б ₃ исходная опыт | 6,3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 12,0 | 9,0x10 ³ |
| Б ₃ адаптированная контроль | 4,2 | 10,5 | 13,0 | 15,5 | 12,5 | 13,0 | 9,0 | 23,0 | 2,0 | 1,2x10 ⁹ |
| Б ₃ адаптированная опыт | 5,6 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 13,0 | 15,0 | 5,2x10 ⁶ |
| 14д исходная опыт | 6,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 12,0 | 0 | 3,0x10 ³ |
| 14д исходная контроль | 4,1 | 12,5 | 12,5 | 15,0 | 12,0 | 17,0 | 10,0 | 20,0 | 27,5 | 6,3x10 ⁸ |
| 14д адаптированная опыт | 6,1 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 11,0 | 9,0x10 ³ |
| 14д адаптированная контроль | 4,1 | 11,0 | 11,5 | 15,0 | 11,0 | 16,0 | 0 | 23,0 | 24,0 | 6,6x10 ⁸ |
| 2в адаптированная контроль | 4,12 | 20 | 10,0 | 0 | 17,0 | 0 | 22,0 | 10,0 | 29,0 | 1,5x10 ⁹ |

| | | | | | | | | | | |
|-----------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|-------------------|
| 2в адаптированная опыт | 5,59 | 10,0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 11,0 | $3,2 \times 10^5$ |
| 2в исходная контроль | 4,22 | 15,5 | 0 | 0 | 12,0 | 0 | 16,0 | 0 | 19,0 | $2,0 \times 10^9$ |
| 2в исходная опыт | 5,80 | 9,5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | $1,0 \times 10^5$ |
| 22 исходная контроль | 4,26 | 19,0 | 0 | 0 | 11,0 | 0 | 16,5 | 0 | 19,0 | $2,0 \times 10^9$ |
| 22 исходная опыт | 6,20 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2×10^3 |
| 22 адаптированная контроль | 4,10 | 23,0 | 11,0 | 0 | 10,0 | 0 | 22,0 | 0 | 28,0 | $3,4 \times 10^8$ |
| 22 адаптированная опыт | 5,88 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 11,0 | $2,0 \times 10^7$ |
| 27 исходная контроль | 4,66 | 20,0 | 10,0 | 10,0 | 14,0 | 10,0 | 18,5 | 10,0 | 20,0 | $3,8 \times 10^9$ |
| 27 исходная опыт | 5,37 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 11,5 | 0 | 12,0 | $2,7 \times 10^8$ |
| 27 адаптированная контроль | 4,36 | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 14,0 | 10,0 | 17,0 | 13,0 | 23,0 | $2,0 \times 10^9$ |
| 27 адаптированная опыт | 5,76 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 11,0 | 0 | 0 | $1,6 \times 10^8$ |
| 127 исходная контроль | 4,14 | 12,0 | 9,0 | 10,0 | 11,0 | 10 | 20,0 | 13,0 | 27,0 | $2,0 \times 10^9$ |
| 127 исходная опыт | 5,42 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 12,0 | $9,6 \times 10^6$ |
| 127 адаптированная контроль | 4,21 | 10,0 | 10,0 | 10,0 | 12,0 | 10,0 | 10,0 | 12,0 | 23,0 | $3,4 \times 10^9$ |
| 127 адаптированная опыт | 6,13 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 16,0 | $8,9 \times 10^6$ |

Установлено, что под воздействием желчи существенных изменений в морфологии колоний молочнокислых и пропионовокислых бактерий исследованных штаммов не происходит. Как видно из представленной таблицы, адаптированная к низким значениям pH культура *L. brevis* Б-3 имеет более высокий титр бактериальных клеток по сравнению с исходной ($1,2 \times 10^9$ против $5,3 \times 10^8$). При росте в питательной среде с желчью снижение титра бактерий у исходной культуры произошло на 5 порядков ($9,0 \times 10^3$ против $5,3 \times 10^8$ в контроле), а у адаптированной – на 3 ($5,2 \times 10^6$ против $1,2 \times 10^9$ в контроле). В контроле исходная и адаптированная культуры *L. brevis* Б-3 обладали антагонистической активностью ко всем испытанным тест-культурам. При выращивании культур молочнокислых бактерий в питательной среде с желчью антагонистическая активность выявлена лишь в отношении *Mycobacterim* B₅ и *C. albicans*.

В контроле исходная культура *L. plantarum* 2в имела титр молочнокислых бактерий 2×10^9 КОЕ/мл, адаптированная к низким значениям pH – $1,5 \times 10^9$ КОЕ/мл. После выращивания в питательной среде с 3% желчи содержание бактериальных клеток было ниже на 4 порядка и составило у исходной культуры $1,0 \times 10^5$ КОЕ/мл, у адаптированной – $3,2 \times 10^5$ КОЕ/мл. В контроле адаптированная к низким значениям pH культура *L. plantarum* 2в превосходила исходную по антагонистической активности. В отличие от исходной культуры, она обладала активностью в отношении клинического штамма стафилококка MRSA №3316 и *S. gallinarum*, а в отношении остальных тест-культур (*E. coli*, *P. multocida*, *Mycobacterim* B₅) зоны подавления роста были больше на 5-10 мм. При выращивании культур молочнокислых бактерий в питательной среде с желчью антагонистическая активность выявлена только к *E. coli* и *Mycobacterim* B₅.

Исходная культура *L. plantarum* 22 в контроле содержала жизнеспособных клеток $2,0 \times 10^9$ КОЕ/мл, адаптированная к низким значениям pH - $3,4 \times 10^8$ КОЕ/мл. После выращивания в питательной среде с 3% желчи содержание бактериальных клеток было ниже на 6 порядков и составило у исходной

культуры 2×10^3 КОЕ/мл. У адаптированной культуры снижение титра бактерий произошло на 1 порядок ($2,0 \times 10^7$ КОЕ/мл). В контроле адаптированная к низким значениям pH культура *L. plantarum* 22 также превосходила исходную по антагонистической активности. При выращивании культур молочнокислых бактерий в питательной среде с желчью антагонистическая активность сохранилась только к *Mycobacterium* B₅.

Исходная культура *L. fermentum* 27 в контроле имела титр молочнокислых бактерий $3,8 \times 10^9$ КОЕ/мл, адаптированная к низким значениям pH – $2,0 \times 10^9$ КОЕ/мл. При выращивании в питательной среде с 3% желчи содержание бактериальных клеток было ниже на 1 порядок и составило у исходной культуры $2,7 \times 10^8$ КОЕ/мл, у адаптированной – $1,6 \times 10^8$ КОЕ/мл. В контроле исходная и адаптированная культуры *L. fermentum* 27 обладали антагонистической активностью ко всем испытанным тест-культурам. При выращивании культур молочнокислых бактерий в питательной среде с желчью антагонистическая активность выявлена в отношении *P. multocida* и *Mycobacterium* B₅.

При выращивании в питательной среде с 3% желчи содержание бактериальных клеток *L. fermentum* 127 было ниже на 3 порядка и составило у исходной культуры $9,6 \times 10^6$ КОЕ/мл, у адаптированной – $8,9 \times 10^6$ КОЕ/мл по сравнению с $2,0 \times 10^9$ с $3,4 \times 10^9$ в контроле, соответственно. В контроле исходная и адаптированная культуры *L. fermentum* 127 обладали антагонистической активностью ко всем испытанным тест-культурам. При выращивании культур в питательной среде с желчью антагонистическая активность выявлена только к *Mycobacterium* B₅.

Исходная культура *P. shermanii* в контроле содержала жизнеспособных клеток $2,5 \times 10^{10}$ КОЕ/мл, адаптированная – $6,5 \times 10^{10}$ КОЕ/мл. При выращивании в питательной среде с 3% желчи содержание бактериальных клеток было ниже на 2 порядка и составило у исходной культуры $1,0 \times 10^8$ КОЕ/мл, у адаптированной – $8,0 \times 10^8$ КОЕ/мл. Данная культура восстанавливает титр клеток и антагонистическую активность после пассажа в питательную среду без желчи.

Таким образом, исследованные штаммы молочнокислых бактерий являются более чувствительными к желчи, чем к низкому значению pH. Наиболее чувствительными к желчи оказались культуры *L. plantarum* 22 (снижение титра произошло на 6 порядков), культур *L. brevis* Б-3 (на 5 порядков), *L. plantarum* 2в и 14д (на 4 порядка). Адаптированные к низкому значению pH культуры *L. brevis* Б-3 и *L. plantarum* 22 оказались более устойчивыми к желчи по сравнению с исходными на 2 и 5 порядков, соответственно. Наиболее устойчивыми к желчи (снижение титра бактерий на 1 порядок) являются культуры *L. fermentum* 27 и *P. shermanii*.

1 Ху Юю-gang, et.al. Изучение характеристик жизнеспособности рекомбинантного *Lactobacillus casei* 393 в искусственных желудочно-кишечных средах // J. Microecol. - 2006. - N 6. - С.423-426.

2 Голод Н.А., Лойко Н.Г., Мулюкин А.Л. и др. Адаптация молочнокислых бактерий к неблагоприятным для роста условиям // Прикладная биохимия и микробиология. - 2009. - Т. 42. - № 2. - С. 317-335.

3 Ратникова И.А. Исследование микроорганизмов на способность к антиинтерфероновой активности // Известия АН РК, сер. мед. и биол. – 2000. – № 1. – С. 78-80.

4 Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках. - М.: Наука, 1986. – 273 с.

Сүт қышқылды бактерияларының зерттеліп отырған штамдары pH төменгі мәніне қарағанда, өт қышқылына сезімтал келеді. *L. plantarum* 22, *L. brevis* Б-3, *L. plantarum* 2в және 14д культуралары өт қышқылына едәуір сезімтал болса, бейімделген культуралар pH-тың төменгі мәніне сезімтал. *L. brevis* Б-3 және *L. plantarum* 22 культуралары бастапқы штамдармен салыстырғанда, өт қышқылына төзімдірек келеді. *L. fermentum* 27 және *P. shermanii* культуралары өт қышқылына жоғары төзімді болып келеді.

The investigated strains of lactic acid bacteria are more sensitive to bile than in a low pH value. Most sensitive to bile cultures were *L. plantarum* 22, *L. brevis* B-3, *L. plantarum* 2b, and 14d. Adapted to the low pH value of culture *L. brevis* B-3 and *L. plantarum* 22 were more resistant to bile compared with baseline. The most resistant to bile cultures are *L. fermentum* 27 and *P. shermanii*.

У.З. Сағындыков¹, Ж. Мамырбекова², Х.Х. Макажанова¹, С.С. Губарева³

ТҮЙЕ СҮТІ НЕГІЗІНДЕГІ ҚҰРҒАҚ БИОЛОГИЯЛЫҚ БЕЛСЕНДІ ҚОСПАНЫҢ САПАЛЫҚ МІНЕЗДЕМЕСІ

(Алматы технологиялық университеті¹, әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті²; Қазақ өңдеу және тамақ өнеркәсібі ғылыми-зерттеу институты³)

Бұл жұмыста түйе сүтінің негізінде құрғақ биологиялық белсенді қоспаны келтіру тәсілдері мен олардың сапалық көрсеткіштері зерттелген.

Қазақ халқын түрлі тағамдармен қамтамасыз етуде бие және түйе сүттерінің негізінде жасалған ұлттық қышқыл сүт өнімдерінің алатын орны ерекше. Жылқы және түйе шаруашылығы дамыған,