

^{1,2,3}Ахметсадыкова Ш.Н., ¹Баубекова А.С., ¹Райымбек Г., ²Файе Б.,
³Луазо Ж., ¹Конуспаева Г.С.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ СПОСОБНОСТИ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ ВЕРБЛЮЖЬЕГО МОЛОКА И ШУБАТА ФИКСИРОВАТЬ ИОНЫ СВИНЦА И КАДМИЯ

(¹Казахский национальный университет им. аль-Фараби,
²CIRAD – ES, Campus International de Baillarguet, ³ UMR Qualisud, France)

В данной статье приведены результаты исследования металл фиксирующей способности молочнокислых бактерий, выделенных из верблюжьего молока и шубата Алматинской, Южно-казахстанской, Кызылординской и Атырауской областей в отношении ионов свинца и кадмия. Показано, что некоторые виды молочнокислых бактерий способны к фиксации ионов свинца и кадмия.

Загрязнение пищевых продуктов ионами свинца и кадмия, является постоянным риском для здоровья потребителей. Согласно нормативным документам Казахстана предельно допустимая концентрация свинца в молоке и молочных продуктах составляет 0,1 мг/л, а концентрация ионов кадмия 0,03 мг/л. В условиях нынешнего Казахстана попадание тяжелых металлов в продукты питания, к сожалению, является не редким случаем. В пищевых продуктах ежедневного потребления были обнаружены следовые количества опасных для организма человека химических соединений [1-6]. Современные исследования свидетельствуют о попадании в верблюжье молоко и шубат таких загрязнителей как тяжелые металлы, пестициды, радионуклиды. Все это происходит на фоне экологического загрязнения регионов традиционного разведения верблюдов [7, 8, 9]. По исследованиям в этой области следует также добавить, о результатах действия молочнокислых бактерий, которые имеют способность «связываться» с ионами тяжелых металлов [10-12].

Данная работа была выполнена с целью выявления способности взаимодействия культур молочнокислых бактерий, выделенных из верблюжьего молока и шубата Алматинской, Южно-Казахстанской, Кызылординской и Атырауской областей с ионами свинца и кадмия.

Материалы и методы

В работе исследовались 141 культура микроорганизмов, выделенных из 23 проб верблюжьего молока и шубата Алматинской, Южно-Казахстанской, Кызылординской и Атырауской областей.

В качестве питательных сред для проведения опыта использовали: МРС (Man, Rogosa and Sharpe) (Merck, Германия) для лактобацилл; М17 (Merck, Германия) для стрептококков. Штаммы культивировали при 37° С в течение 48 часов.

Выявление фиксирующей способности молочнокислых бактерий в отношении ионов свинца и кадмия проводили по качественной реакции с двойным слоем питательной среды. Этот метод был проведен со всеми культурами, но с разными концентрациями ионов свинца и кадмия: 20 мг/л, 200 мг/л, 50 мг/л [13-15].

Результаты и их обсуждение

1. Предварительный эксперимент на связывающую способность

В результате проведения тестирования, способность микроорганизмов к фиксации ионов свинца и кадмия оценивали по следующим показателям:

1. Полное отсутствие роста в среде с ионами свинца и кадмия.
2. Рост в присутствии ионов свинца, без фиксирующей способности.
3. Рост в присутствии ионов кадмия, без фиксирующей способности.
4. Рост в присутствии ионов обоих металлов, без фиксирующей способности на оба металла.
5. Рост в присутствии ионов свинца, с фиксирующей способностью на свинец.
6. Рост в присутствии ионов кадмия, с фиксирующей способностью на кадмий.
7. Рост в присутствии ионов обоих металлов, с фиксирующей способностью на свинец.
8. Рост в присутствии ионов обоих металлов, с фиксирующей способностью на кадмий.
9. Рост и фиксирующая способность на ионы обоих металлов.

Выявление способности выделенных молочнокислых бактерий связывания тяжелых металлов проводили при разных концентрациях ионов свинца и кадмия.

Первый тест был проведен с 14 культурами, выделенными из молока и шубата Алматинской области, на питательной среде, содержащей ионы свинца и кадмия. Для первоначального эксперимента концентрации металлов, вносимые в среду, были подобраны эмпирически, для выявления способности микроорганизмов к фиксации низких и высоких концентраций металлов (20 мг/л и 200 мг/л), результаты эксперимента показаны в таблице 1.

Из полученных данных видно, что использованные микроорганизмы способны к росту в присутствии металлов, как при низкой (20 мг/л), так и при высокой концентрации (200 мг/л), однако с увеличением концентрации количество микроорганизмов, способных к фиксации металлов снижается. Так, при 20 мг/л 8 из 14-ти культур проявили способность к росту и фиксирующую способность ионов Pb и Cd, а при увеличении концентрации до 200 мг/л их количество снизилось до 4 культур.

В присутствии двух металлов в среде при концентрации 20 мг/л 2 культуры фиксировали свинец, а при 200 мг/л 1 из них фиксировала свинец и 1 кадмий. Следует отметить, что исследуемые бактерии не росли в

средах с добавлением только одного из исследуемых металлов, проявляя способность к росту при наличии двух металлов, что свидетельствует о синергетическом взаимодействии.

Таблица 1 - Способность к росту молочнокислых бактерий верблюжьего молока и шубата в присутствии металлов в двойном слое питательной среды (в %)

№	Характер роста молочнокислых бактерий	20 мг/л	200 мг/л
1	Отсутствие роста с Pb и Cd	0	0
2	Рост с Pb, без фиксирующей способности Pb	0	0
3	Рост с Cd, без фиксирующей способности Cd	0	0
4	Рост с Pb и Cd, без фиксирующей способности	4	8
5	Рост с Pb, с фиксирующей способностью Pb	0	0
6	Рост с Cd, с фиксирующей способностью Cd	0	0
7	Рост с Pb и Cd, с фиксирующей способностью Pb	2	1
8	Рост с Pb и Cd, с фиксирующей способностью Cd	0	1
9	Рост и фиксирующая способность Pb и Cd	8	4
	ИТОГО	14	14

Помимо культуральной оценки (рост бактерий), способность бактерий фиксировать ионы тяжелых металлов оценивали по качественной реакции. После добавления индикатора оценивали ширину ареола взаимодействия культур микроорганизмов с ионами тяжелых металлов, т.е. чем больше ареол, тем выше активность микроорганизмов фиксировать ионы металла [13]. В зависимости от величины образовавшихся ареолов различали культуры с «высокой» (0,5-0,7 мм), «средней» (0,3-0,4 мм) и «низкой» (0,1-0,2 мм) фиксирующей способностью.

Так, из 14-ти исследованных культур, «высокой» фиксирующей способностью обладало – 6 культур, «средней» - 3 и «низкой» - 5.

Таким образом, полученные данные свидетельствуют о том, что некоторые виды молочнокислых бактерий способны к росту и фиксации как низких, так и высоких концентрации ионов свинца и кадмия. В связи с чем, в дальнейших экспериментах были протестированы молочнокислые бактерии, выделенные из проб верблюжьего молока и шубата различных регионов Казахстана для выявления культур, обладающих подобной активностью.

2. Исследование по областям

Из верблюжьего молока и шубата Алматинской, Южно-Казахстанской, Кызылординской и Атырауской областей было выделено 118 культур молочнокислых бактерий, которые были исследованы на способность взаимодействия с ионами свинца и кадмия в концентрации 50 мг/л.

Ниже представлены результаты активности культур по каждой области в отдельности. В таблице 2 показаны результаты тестирования микроорганизмов Алматинской и Южно-Казахстанской областей.

Таблица 2 - Фиксация ионов свинца и кадмия в концентрации 50 мг/л культурами молочнокислых бактерий верблюжьего молока и шубата Алматинской и Южно-Казахстанской областей

№	Характер роста молочнокислых бактерий	Алматинская область			Южно-Казахстанская область		
		Всего	Бациллы	Кокки	Всего	Бациллы	Кокки
1	отсутствие роста с Pb и Cd	0	0	0	4	0	4
2	рост с Pb, без фиксирующей способности Pb	0	0	0	7	0	7
3	рост с Cd, без фиксирующей способности Cd	0	0	0	7	0	7
4	рост с Pb и Cd, без фиксирующей способности	1	0	1	26	5	21
5	рост с Pb, с фиксирующей способностью Pb	0	0	0	3	2	1
6	рост с Cd, с фиксирующей способностью Cd	0	0	0	1	0	1
7	рост с Pb и Cd, с фиксирующей способностью Pb	0	0	0	11	0	11
8	рост с Pb и Cd, с фиксирующей способностью Cd	1	0	1	12	1	11
9	рост и фиксирующая способность Pb и Cd	0	0	0	6	1	5
	ИТОГО	2	0	2	77	9	68

В связи с тем, что основная часть культур молочнокислых бактерий выделенных из верблюжьего молока Алматинской области были использованы в подготовительном тесте, на среде с концентрацией 50 мг/л были использованы 2 культуры, проявившие активность в варианте «Рост с Pb и Cd, без фиксирующей способности» и «Рост с Pb и Cd, с фиксирующей способностью Cd».

Из проб верблюжьего молока и шубата Южно-Казахстанской области было выделено наибольшее количество культур молочнокислых бактерий - 77. Из них почти 95 % показали способность к взаимодействию с ионами свинца и кадмия. Основная часть культур проявила способность в вариантах:

- «Рост с Pb и Cd, без фиксирующей способности» - 26;
 «Рост с Pb и Cd, с фиксирующей способностью Pb» - 11;
 «Рост с Pb и Cd, с фиксирующей способностью Cd» - 12.
 «Росту и фиксирующая способность свинца и кадмия» - 6.

Из выделенных культур 68 оказались кокками и 9 - палочками.

Следует отметить, что палочковидные молочнокислые бактерии не росли в среде, в состав которой входил кадмий. В то время как кокки не росли на средах, в которые вносился только один из исследуемых металлов, проявляя способность к росту при наличии двух металлов одновременно.

Таблица 3 - Фиксация ионов свинца и кадмия в концентрации 50 мг/л культурами молочнокислых бактерий верблюжьего молока и шубата Кызылординской и Атырауской областей

№	Характер роста молочнокислых бактерий	Кызылординская область			Атырауская область		
		Всего	Бациллы	Кокки	Всего	Бациллы	Кокки
1	отсутствие роста с Pb и Cd	1	0	1	1	0	1
2	рост с Pb, без фиксирующей способности Pb	6	0	6	2	1	1
3	рост с Cd, без фиксирующей способности Cd	0	0	0	0	0	0
4	рост с Pb и Cd, без фиксирующей способности	8	1	7	5	1	4
5	рост с Pb, с фиксирующей способностью Pb	0	0	0	0	0	0
6	рост с Cd, с фиксирующей способностью Cd	0	0	0	0	0	0
7	рост с Pb и Cd, с фиксирующей способностью Pb	3	2	1	1	0	1
8	рост с Pb и Cd, с фиксирующей способностью Cd	5	0	5	3	0	3
9	рост и фиксирующая способность Pb и Cd	3	0	3	1	0	1
	ИТОГО	26	3	23	13	2	11

Как видно из таблицы 3, из образцов верблюжьего молока и шубата Кызылординской и Атырауской областей было выделено 39 культур (26 и 13 соответственно). Как и в предыдущих экспериментах, наибольшее количество культур выросло в варианте «Рост с Pb и Cd, без фиксирующей способности» - 13 культур. К связыванию ионов свинца было способно 4 исследованных культуры, но только в присутствии кадмия. К фиксации кадмия – 8 культур, только при наличии в среде ионов свинца. И только 4 культуры молочнокислых кокков были способны расти в среде с ионами Pb и Cd и связывать их.

Обобщая полученные данные, из верблюжьего молока и шубата Алматинской, Южно-казахстанской, Кызылординской и Атырауской областей было выделено 118 молочнокислых бактерий, среди которых 14 палочковидных и 104 кокковидных культур, которые были проверены на способность к росту и фиксации ионов свинца и кадмия (таблица 4).

Таблица 4 - Суммарные результаты тестирования 118 культур молочнокислых бактерий на способность к росту и фиксации ионов свинца и кадмия в концентрации 50 мг/л

№	Характер роста молочнокислых бактерий	Всего	Бациллы	Кокки
1	Отсутствие роста с Pb и Cd	6	0	6
2	Рост с Pb, без фиксирующей способности Pb	15	1	14
3	Рост с Cd, без фиксирующей способности Cd	7	0	7
4	Рост с Pb и Cd, без фиксирующей способности	40	7	33
5	Рост с Pb, с фиксирующей способностью Pb	3	2	1
6	Рост с Cd, с фиксирующей способностью Cd	1	0	1
7	Рост с Pb и Cd, с фиксирующей способностью Pb	15	2	13
8	Рост с Pb и Cd, с фиксирующей способностью Cd	21	1	20
9	Рост и фиксирующая способность Pb и Cd	10	1	9
	ИТОГО	118	14	104

Как показано в таблице 4, из 118 протестированных культур 40 росло на среде с добавлением 50 мг/л ионов свинца и кадмия при совместном их внесении. Из этих 40 культур только 21 была способна к фиксации кадмия и 15 к фиксации свинца. При внесении в среду только одного из металлов, количество бактерий способных к росту резко сокращалось. Так, в среде с добавлением ионов свинца выросло 15 культур, однако способность к фиксации проявили только 3 культуры. В среде с добавлением кадмия выросло 7 культур, а фиксировать могла только одна из них. При этом способность к росту и фиксации как ионов свинца, так и кадмия при одновременном внесении в среду проявили 10 из 118 культур, которые представляют большой интерес. Из них 1 палочковидная бактерия и 9 кокков.

Следует отметить, что из микрофлоры шубата и верблюжьего молока различных областей Казахстана выделялись преимущественно кокковидные молочнокислые бактерии, что составило 72,03 %, по сравнению с молочнокислыми палочками – 27,97 %.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что некоторые виды молочнокислых бактерий, способны фиксировать ионы тяжелых металлов, таких как свинец и кадмий. Это свойство бактерий в будущем можно учитывать при создании заквасок для кисломолочных продуктов, которые принимают участие не только в сквашивании молока, но и в выведении токсинов, выступая в роли «естественного биосорбента», связывая ионы тяжелых металлов.

Литература

- 1 IARC, 1994. *Beryllium, cadmium, mercury, and exposures in the glass manufacturing industry*. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans 58, 1–444.
- 2 WHO, 1995. *Environmental Health Criteria 165: Inorganic Lead*. World Health Organization, Geneva.
- 3 IARC, 2006. *Inorganic and organic lead compounds*. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans 87, 1–519.
- 4 Satarug S., Moore M.R., 2004. *Adverse health effects of chronic exposure to low-level cadmium in foodstuffs and cigarette smoke*. *Environmental Health Perspectives*. 112: 1099–1103.
- 5 Meldebekova A., Konuspayeva G., Diacono E., Faye B *Heavy metals and trace elements content in camel milk and shubat from Kazakhstan*. *Proceed. of the NATO Advanced Res. Workshop on “Impact of pollution on animal products”*. B. Faye and Yu. Sinyavskiy Eds. Springer Science+Business Media B.V. - Dordrecht, The Netherlands. 2008. - P. 117-123.
- 6 Diacono E., Faye B., Meldebekova A., Konuspayeva G. *Plant, water and milk pollution in Kazakhstan*. *Proceed. of the NATO Advanced Res. Workshop on “Impact of pollution on animal products”*. B. Faye and Yu. Sinyavskiy Eds. Springer Science+Business Media B.V. - Dordrecht, The Netherlands. 2008. - P. 107-116.
- 7 Мелдебекова А.А., Қалдыбекова Н.Б., Конуспаева Г.С. *Faye B. Түйе сүтіндегі поллютанттардың мөлшері // ҚазҰУ Хабаршысы. Экол. Сер. - 2008. - №1. - 97-103 б.*
- 8 Akhmetsadykova Sh., Loiseau G., Faye B., Le Guillou M., Konuspayeva G., 2010. *Pollution index and potential detoxification of fermented camel milk face to heavy metals*. *Proc. Intl Camel Symp. « Camel science & development for sustainable livelihoods »*, Garissa (Kenya), KARI Ed., 10-15th June 2010, poster n°26.
- 9 Konuspayeva G., Faye B., Loiseau G., Diacono E., Akhmetsadykova S., 2008. *Pollution of camel milk by heavy metals in Kazakhstan*. *Proceeding of the 1st international symposium on minerals and dairy products*. Saint-Malo, France, 1-3 october, 3p.
- 10 Мелдебекова А.А., Абайлдаев А.О., Нармуратова Г.Х., Конуспаева Г.С., Иващенко А.Т. *Шұбат микроорганизмдерінің мырши пен қорғасын иондарын адсорбциялау қасиеті // ҚазҰУ Хабаршысы. Биол. Сер. - 2010. - № 4(46). - 171-175 б.*
- 11 Fandi I., Halttunen T., Tahvonen R., and Salminen S., 2006. *Probiotic bacteria as potential detoxification tools: assessing their heavy metal binding isotherms*. *Can. J. Microbiol.* 52(9): 877–885.
- 12 Serikbayeva A., Konuspayeva G., Faye B., Loiseau G., Narmuratova M., 2005. *Probiotic properties of a sour-milk shubat from the camel milk*. In: “Desertification Combat and Food Safety. The Added Value of Camel producers”, Ashkabad (Turkmeniatan), NATO Science Series, Life and Behavioural Sciences. Vol. 362. Faye B., Esenov P. (Eds), IOS Press, Amsterdam (Pays-Bas): 187-191.
- 13 Ахметсадыкова Ш.Н., Loiseau G., Faye B., Конуспаева Г.С., Баубекова А.С. 2009. *Разработка метода определения способности молочнокислых бактерий связывать ионы свинца и кадмия по качественной реакции*. *Ізденістер, нәтижелер - Исследования, результаты, №3, 2009, стр. 27-31.*
- 14 Romer M., *Fixation du Plomb et du Cadmium par des Bactéries lactiques isolees de camelides du Kazakhstan*. *Rapport de stage*. Universite Montpellier II, 2010.
- 15 T. Halttunen, S. Salminen and R. Tahvonen . 2007. *Rapid removal of lead and cadmium from water by specific lactic acid bacteria*. *International Journal of Food Microbiology, Volume 114, Issue 1, pages 30-35.*

Тұжырым

Бұл мақалада сүтқышқылды бактериялардың ауыр металдармен әрекеттесу қабілеттілігінің зерттеу нәтижелері келтірілген. Сапалық реакция бойынша сүтқышқылды бактериялардың қорғасын мен кадмий иондарын адсорбциялай алатындығы зерттелініп, дамытылған жолы бойынша 125 түйе сүті мен шұбаттан бөлініп алынған сүтқышқылды бактерия штамдары сипатталған.

Summary

In this article we give the results lactic acid bacteria have the ability to interact with ions of heavy metals. We used method of qualitative reaction which shows lactic acid bacteria's ability to absorb lead and cadmium ions on. 125 strains of lactic acid bacteria isolated from camel milk and shubat were tested.