

УДК 579.23

¹Т.В. Кузнецова, ¹М.Г. Саубенова, ¹А.Е. Халымбетова, ¹М.М. Шорманова, ¹А.А. Айтжанова,
¹М.Е. Елубаева, ¹Б.А. Кулназаров
¹РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, г. Алматы, Казахстан
 *e-mail: raduga.30@mail.ru

Влияние растительных добавок на антагонистическую активность ассоциации КГ молочнокислых микроорганизмов

Исследовано влияние растительных добавок на антагонистическую активность ассоциации КГ, состоящей из молочнокислых бактерий и лактозосбраживающих дрожжей. Показано, что антагонистическую активность ассоциация КГ в отношении мицелиальных грибов наиболее сильно повышали добавки семян таких культур, как нут, овес, чечевица. Антагонизм по отношению к грибам рода *Candida* повышался при добавлении семян маша и нута. Антибактериальная активность увеличивалась при введении семян фасоли и пшеницы.

Ключевые слова: антагонистическая активность, растительные добавки, молочнокислые бактерии, лактозосбраживающие дрожжи.

Т.В. Кузнецова, М.Г. Саубенова, А.Е. Халымбетова, М.М. Шорманова, А.А. Айтжанова,
 М.Е. Елубаева, Б.А. Кулназаров

Сүтқышқылды микроорганизмдердің КГ ассоциациясының антагонистік белсенділігіне өсімдіктестес қоспалардың әсері

Сүтқышқылды микроорганизмдердің КГ ассоциациясының антагонистік белсенділігіне өсімдіктестес қоспалардың әсері зерттелді. Зерттеу нәтижелері көрсеткендей, мицелиальды саңырауқұлақтарға қарсы КГ ассоциациясының антагонистік белсенділігін нұт, сұлы және жасымық дақылдарының тұқымдарының қоспалары жоғарылататындығы анықталды. *Candida* туысының ашытқыларына қарсы антагонизм маш пен нұт қоспаларын қосқан жағдайда жоғарылайтындығы, ал бактерияға қарсы белсенділік үрмебұршақ пен бидай қоспалары жоғарылататындығы анықталды.

Түйін сөздер: антагонистік белсенділік, өсімдіктестес қоспалар, сүтқышқылды бактериялар, лактозаны ыдыратушы ашытқылар.

T.V. Kuznetsova, M.G. Saubanova, A.E. Khalymbetova, M.M. Shormanova, A.A. Aitzhanova,
 M.E. Elubaeva, B.A. Kulnazarov

Effect of vegetable supplements on the antagonistic activity of lactic acid microorganisms of association KG

It was observed the influence of vegetable supplements on the antagonistic activity of the association KG. It was shown that the antagonistic activity of the association KG against fungi the most strongly increased supplements seeds of such cultures as chickpeas, oats and lentils. Antagonism against yeast of the genus *Candida* increased with the addition of mung bean and chickpea. The antibacterial activity increased with the addition of beans and wheat.

Keywords: antagonistic activity, vegetable supplements, lactic acid bacteria, yeast of lactose fermenting.

Неблагоприятная экологическая обстановка, а также неправильное питание, способствуют нарушению сложившегося веками гармоничного равновесия в составе микрофлоры желудочно-кишечного тракта человека, что приводит к росту численности условно-патогенных и патогенных микроорганизмов, числа дисбактериозов, хронических и инфекционных болезней [1-3]. По данным разных исследователей [4-6], состояние дисбактериоза испытывает около 60-90% населения. В микрофлоре желудочно-

кишечного тракта человека увеличивается содержание микромицетов, в частности дрожжей рода *Candida*. Отмечено возрастание частоты обнаружения дрожжевых грибов у больных дисбактериозами: у взрослых – до 76,47%, у детей – до 81,25%. Прогнозируется, что микозы будут наиболее распространенными болезнями недалекого будущего [7, 8]. При этом, микозы приобретают системный характер, а вызывающие их микроорганизмы – множественную лекарственную устойчивость

[9]. Поэтому, для решения данной проблемы наибольшее признание получили пробиотики – живые культуры молочнокислых бактерий и лактозосбраживающих дрожжей, способствующие элиминации из желудочно-кишечного тракта патогенных и условно-патогенных микроорганизмов [10].

Материалы и методы

Для исследования противогрибковой активности была взята отобранная ранее ассоциация КГ, в состав которой входят молочнокислые бактерии *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacterium bulgaricus* и лактозосбраживающие дрожжи *Saccharomyces lactis*, выделенные из молочнокислых продуктов, производимых в Алматинской области. В качестве тестовых культур взяты дрожжи *Candida albicans* и *C. guilliermondii*, два изолята мицелиального гриба *Penicillium sp.1*, *Penicillium sp.3*, выделенных в качестве засорителей из молочнокислых продуктов, а также бактериальные тест-культуры микроорганизмов *Salmonella dublin* T-4, *Sarcina flava*, *S. flava* T-5, *Escherichia coli*, *E. coli* (Y), *Pseudomonas aeruginosa*, *Mycobacterium citreum*, I вакцина Ценковского.

Для определения влияния различных растительных добавок на антагонистическую активность ассоциации КГ были использованы добавки из зерновых и бобовых культур. Размолотые добавки (горох, фасоль, соя, нут, маш, чечевица, рис, гречиха, ячмень, пшеница,

овес, пшено, кукурузная крупа, сбор зерновых культур «Тамаша», отруби) вносили в количестве 1% в обезжиренное молоко.

Антагонистическую активность ассоциации КГ определяли диффузионным методом лунок. Ассоциацию культивировали на коровьем молоке с 1% жирности в течение 24 ч при 30° и 40°С. Заквашенное молоко с добавками вносили в лунки диаметром 10 мм, подготовленные в газоне тест-культуры, в количестве 0,3 мл. Культивировали при 30°С в течение 1-2 суток для бактериальных и дрожжевых тест-культур и 5-7 суток для культур мицелиальных грибов. За диаметром зон подавления роста вели наблюдение еще в течение месяца.

Статистическую обработку результатов исследований проводили по стандартной методике с использованием критерия Стьюдента для уровня значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Влияние добавок на ассоциацию КГ, обладающую активностью в отношении почти всех тест-культур, зависело от уровня антагонизма ассоциации. Если ассоциация КГ (кефирный гриб) в контроле проявляла невысокую активность в отношении всех бактериальных тестов, то при введении добавок ее активность значительно повышалась на 45-55%. Влияние растительных добавок на антибактериальную активность ассоциации КГ представлена в таблице 1.

Таблица 1 – Влияние добавок из зерновых и бобовых культур на антибактериальную активность ассоциации КГ

| Добавки | Бактериальная тест-культура (зоны подавления роста, мм 30/40°С) | | | | | | |
|------------------|--|-------------------------------|--------------------|-----------------------------|----------------------|----------------|-----------------------|
| | <i>Sarcina flava</i> T-5 | <i>Salmo-nella dublin</i> T-4 | <i>E. coli</i> (Y) | <i>Mycobacterim citreum</i> | <i>Sarcina flava</i> | <i>E. coli</i> | I Вакцина Ценковского |
| Кукурузная крупа | 14±0,1/0 | 13±0,2/0 | 12±0,2/15±0,1 | 26±0,3/0 | 19±0,2/20±0,4 | 12±0,4/18±0,1 | 12±0,5/16±0,1 |
| Соя | 0 | 13±0,3/0 | 13±0,2/14±0,4 | 25±0,1/0 | 22±0,1/15±0,2 | 13±0,3/16±0,1 | 17±0,2/16±0,1 |
| Пшено | 10±0,2/0 | 12±0,3/14±0,1 | 12±0,5/13±0,2 | 24±0,2/0 | 14±0,4/21±0,3 | 14±0,2/15±0,4 | 14±0,4/18±0,3 |
| Чечевица | 16±0,3/0 | 12±0,6/13±0,3 | 20±0,2/15±0,4 | 24±0,4/0 | 15±0,3/17±0,1 | 12±0,5/15±0,3 | 14±0,2/18±0,1 |
| Маш | 23±0,4/24±0,6 | 14±0,3/16±0,5 | 14±0,1/28±0,4 | 18±0,1/0 | 22±0,6/21±0,4 | 15±0,5/17±0,1 | 17±0,6/17±0,5 |
| Нут | 24±0,2/21±0,1 | 14±0,4/14±0,2 | 13±0,4/25±0,3 | 15±0,1/0 | 20±0,2/20±0,4 | 14±0,3/14±0,5 | 18±0,4/16±0,1 |
| Овес | 22±0,3/26±0,1 | 14±0,1/16±0,3 | 13±0,4/25±0,3 | 17±0,3/0 | 23±0,1/21±0,4 | 16±0,1/14±0,3 | 18±0,6/20±0,2 |

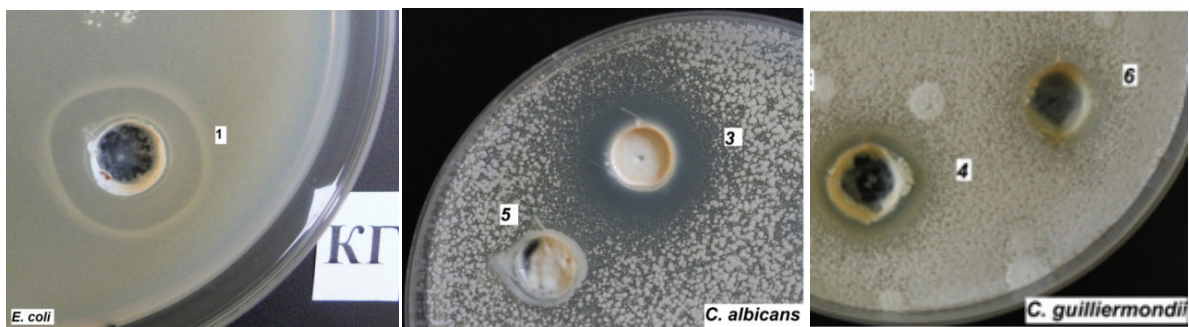
Продолжение таблицы 1

| | | | | | | | |
|---------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|----------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Тамаша Сбор зерн. культур | 22±0,1/ 25±0,3 | 12±0,4/ 14±0,5 | 16±0,4/24 ±0,2 | 15±0,3/0 | 22±0,1/20± 0,4 | 16±0,5/14 ±0,3 | 18±0,4/ 14±0,1 |
| Ржано-пшеничная мука | 27±0,3/ 22±0,1 | 25±0,4/ 20±0,2 | 24±0,5/23 ±0,3 | 27±0,2/0 | 23±0,1/20± 0,3 | 22±0,5/20 ±0,2 | 23±0,4/ 18±0,6 |
| Пшеница | 24±0,3/ 16±0,5 | 24±0,1/22±0,4 | 25±0,1/25 ±0,2 | 27±0,4/0 | 23±0,2/21± 0,3 | 27±0,1/23 ±0,4 | 20±0,3/ 20±0,1 |
| Отруби | 26±0,3/ 20±0,2 | 25±0,4/21±0,2 | 23±0,5/24 ±0,1 | 29±0,6/0 | 23±0,2/25± 0,3 | 23±0,5/22 ±0,1 | 22±0,4/ 20±0,2 |
| Ячмень | 20±0,1/ 22±0,4 | 22±0,5/20±0,2 | 25±0,3/25 ±0,4 | 22±0,2/0 | 21±0,4/20± 0,3 | 25±0,1/26 ±0,4 | 24±0,5/ 25±0,3 |
| Гречиха | 23±0,6/ 20±0,2 | 30±0,2/24±0,4 | 18±0,1/0 | 26±0,4/0 | 24±0,4/20± 0,1 | 26±0,2/25 ±0,5 | 17±0,2/ 25±0,1 |
| Рис | 24±0,3/ 23±0,1 | 29±0,4/25±0,3 | 25±0,5/27 ±0,4 | 22±0,2/0 | 21±0,1/20± 0,3 | 24±0,2/20 ±0,4 | 15±0,3/ 20±0,1 |
| Фасоль | 26±0,2/ 22±0,3 | 25±0,5/24±0,2 | 28±0,3/27 ±0,1 | 25±0,2/0 | 22±0,1/19± 0,3 | 20±0,2/13 ±0,1 | 22±0,4/ 13±0,5 |
| Горох | 20±0,4/ 24±0,6 | 21±0,5/22±0,7 | 27±0,5/27 ±0,3 | 20±0,4/0 | 21±0,4/20± 0,6 | 25±0,6/26 ±0,3 | 20±0,1/ 25±0,2 |
| Контроль «КГ» | 13±0,3/ 10±0,2 | 11±0,4/12±0,6 | 10±0,3/13 ±0,1 | 0 | 10±0,2/11± 0,3 | 10±0,6/12 ±0,4 | 0 |

Наиболее выражено влияние таких добавок, как фасоль, пшеница, на все бактериальные тест-культуры при 30°C культивирования. Зоны подавления их роста при введении этих добавок увеличивались на 45-50%. При 40°C антагонистическая активность бактерий увеличивалась при добавлении практически всех растительных добавок, так, например, в присутствии овса зона подавления роста

Sarcina flava T-5 увеличилась на 40%, маша и риса на 50-55% (*E. coli* (Y)). А рост *Mycobacterium citreum* не подавляет ни одна растительная добавка, так же как и сама ассоциация КГ. Соя не проявляет антагонизма к *Sarcina flava* T-5.

Наиболее выраженным было влияние добавок маша и нута на подавление роста дрожжей рода *Candida* (*C. albicans*, *C. guilliermondii*) при 30°C (Рисунок 1).



1 – фасоль, 3 – маш, 4 – нут, 5 – соя, 6 – горох

Рисунок 1 – Антагонистическая активность ассоциации КГ

Указанный факт говорит о проявлении противогрибковой активности не термофильными микроорганизмами ассоциации (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacterium bulgaricus*), а лактококками (*Lactococcus lactis*), имеющими оптимум культивирования 30°C, но растущими также и

при 40°C. По отношению к мицелиальным грибам, антагонистическая активность присутствовала к *Penicillium sp. 1* и *Penicillium sp. 3* при добавлении в молоко семян нута и овса (30°C), а также чечевицы (40°C).

Таким образом, в результате исследований было показано стимулирующее влияние

добавок из зерновых и бобовых культур на антагонизм молочнокислых микроорганизмов, входящих в состав ассоциации КГ. Наиболее высокая противогрибковая и антибактериальная активность выявлена при 30⁰С. Влияние той или иной добавки было различным в отношении различных тест-культур. Однако, наиболее часто противогрибковую активность повышало введение в молоко добавок из маша и нута,

антибактериальную – маша, фасоли, пшеницы, овса. Дальнейшие исследования будут направлены на разработку рецептур новых столовых продуктов с противогрибковой активностью на основе ассоциации КГ с добавлением растительных добавок как для усиления антагонистической активности, так и для улучшения органолептических показателей нового столового продукта.

Литература

- 1 Шарманов Т.Ш. Мировое здравоохранение до и после великой Алма-Атинской конференции. – Алматы, 2003. - 232 с.
- 2 Кравченко Л.В., Тутельян В.А. Биобезопасность. Микотоксины – природные контаминанты пищи // Вопросы питания. - 2005. - №3. - С. 3-13.
- 3 Бондаренко В.М. Роль условно-патогенных бактерий кишечника в полиорганной патологии человека. М: ООО «Триада», 2007. - 63 с.
- 4 Fungal allergy and pathogenecity / Eds. Breitenbach M. et al. Basel. Freiburg. Paris.London. N.Y. Karger, 2002. - 310 p.
- 5 Каламкарлова Л.И., Багрянцева О.В., Билялова К.И. Микробный пейзаж толстого кишечника детей и взрослых при различных патологиях // Известия МОН РК, НАН РК. Сер. биол.и мед. - 2002. - №2. - С. 43-51.
- 6 Билялова К.И., Машкеев А.К., Каламкарлова Л.И. Особенности микробиоценоза детей в норме и в патологии. – Алматы, 2002. - 114 с.
- 7 Катлинский А.В., Сазыкин Ю.О., Бибикова М.В., Орехов С.Н. Антифунгальные агенты. Новые предпосылки их создания и новые трудности // Антибиотики и химиотерапия. - 2003. - Т. 4. - №9. - С. 20-27.
- 8 Марфенина О.Е., Кулько А. Б., Иванова А.Е., Согонов М.В. Микроскопические грибы во внешней среде города // Микология и фитопатология. - 2002. - Т. 36. – Вып. 5. - С. 22-32.
- 9 Shah N.P. Probiotic Bacteria: Selective Enumeration and Survival in Dairy Foods //Journal of Dairy Science. – 2000, V. 83. - Issue 4. – P. 894-907.
- 10 Tuohy K. M., Probert H. M., Smejkal Ch. W., Gibson G. R. Using probiotics and prebiotics to improve gut health // Drug Discovery Today. – 2003. – V. 8. – P. 692-700.