

УДК 579.64

**Изучение антагонистической активности пробиотических микроорганизмов,  
используемых для молочнокислых продуктов**

Смайл Ж. М – студентка гр ХТ, Сулейменова А. А – студентка, Нарымбаева З.К.-  
руководитель, Тасыбаева Ш.Б. - руководитель

Южно-Казахстанский Государственный Университет имени М. Ауэзова,  
Казахстан. Шымкент, e-mail: [smayl.zhansaya@gmail.com](mailto:smayl.zhansaya@gmail.com)

**Аннотация**

Представлены данные по изучению антагонистической активности пробиотических штаммов бактерий рода *Streptococcus* и *Lactobacillus* выделенных из молочнокислых продуктов. Выявлены наиболее активные штаммы, перспективные для дальнейшего изучения в качестве пробиотических культур. Показан высокий ингибирующий эффект лактобацилл и стрептококков на ряд кишечных патогенов.

На сегодняшний день для создания пробиотических препаратов и продуктов функционального питания одним из перспективных и востребованных направлений микробиологии является поиск новых штаммов молочнокислых бактерий (МКБ) Заквасочными культурами для подобных продуктов и препаратов чаще всего являются бактерии рода *Lactobacillus*. В связи с этим изучение пробиотических свойств штаммов этих микроорганизмов, в частности антагонистической, является актуальной и своевременной задачей.

При создании продуктов функционального назначения с пробиотическими микроорганизмами из кисломолочных продуктов особую значимость необходимо придавать изучению антагонистических свойств. Антагонизм МКБ обусловлен продуцированием молочной кислоты, которая сама по себе обладает определенным бактерицидным действием и, кроме того, вызывает снижение pH среды до значений, неблагоприятных для многих видов микроорганизмов.

**Ключевые слова:** пробиотические микроорганизмы, антагонистическая активность, молочнокислые бактерии, антагонизм, молочнокислые продукты

**The study of the antagonistic activity of probiotic microorganisms used for lactic acid products**

Smayl J. - student of ChT. Suleimenova A. A - student, Narymbaeva Z.K.- supervisor, Tasybaeva Sh.B. - supervisor.

**Annotation**

The data on the antagonistic activity of probiotic strains of bacteria of the genus *Streptococcus* and *Lactobacillus* isolated from lactic acid products are presented. The most active strains, promising for further study as probiotic cultures, were identified. A high inhibitory effect of lactobacilli and streptococci on a number of intestinal pathogens has been shown.

Today, to create probiotic preparations and functional nutrition products, one of the promising and sought-after areas of microbiology is the search for new strains of lactic acid bacteria (LAB). *Lactobacillus* bacteria are most often starter cultures for such products and preparations. In this regard, the study of the probiotic properties of strains of these microorganisms, in particular antagonistic, is an urgent and timely task.

When creating functional products with probiotic microorganisms from fermented milk products, special importance should be given to the study of antagonistic properties. The antagonism of the ICD is due to the production of lactic acid, which in itself has a certain bactericidal effect and, in addition, causes a decrease in the pH of the medium to values unfavorable for many types of microorganisms.

**Key words:** probiotic microorganisms, antagonistic activity, lactic acid bacteria, antagonism, lactic acid products

## Введение

Пробиотическими микроорганизмами называют микроорганизмы, имеющие пробиотические свойства, которые оказывают положительное действие на ЖКТ. И к основным видам пробиотических микроорганизмов относят лактобациллы (*Lactobacillus*), бифидобактерии (*Bifidobacterium*), пропионовокислые бактерии (*Propionibacterium*), стрептококки вида *Streptococcus thermophilus*, бактерии рода *Lactococcus*.

Пробиотические микроорганизмы должны обладать определенными свойствами чтобы могли использоваться в пищевой промышленности. Штаммы пробиотических микроорганизмов, применяемых в пищевой индустрии и медицине для приготовления веществ используемых человеком, должны быть выделены из организма человека, должны быть непатогенными, должны владеть антагонистической активностью, владеть полезным действием на организм человека, подтвержденным лабораторными исследовательскими работами и клиническими наблюдениями, при долгом применении они не обязаны вызывать побочных эффектов, должны владеть колонизационным потенциалом, т. е. сберегаться в пищеварительном тракте до заслуги позитивного воздействия, должны быть устойчивы к лекарствам, должны накапливать биомассу с высочайшей численностью жизнестойких клеток: не менее  $1 \cdot 10^8 - 1 \cdot 10^9$  КОЕ в 1 см<sup>3</sup>, должны владеть высочайшей скоростью роста и размножения при их культивировании на калорийных средах для скопления биомассы.

Антагонистическая активность микроорганизмов разъясняется воздействием неспецифических и специфических факторов. К неспецифическим факторам относят: образование молочной, уксусной и иных кислот; создание невысокого окислительно-восстановительного потенциала за счет утилизации воздуха (что приводит к ингибированию становления аэробных микроорганизмов); конкурентность за калорийные препараты. К специфическим факторам: образование лекарств, бактериоцинов (высокомолекулярных препаратов с узеньким диапазоном бактерицидного действия), жирных кислот с краткой вереницей. В данной связи при подборе штаммов в состав заквасок для получения кисломолочных продуктов с пробиотическими качествами нужно отбирать культуры, владеющие вышеназванными качествами [1].

Цель настоящего исследования — изучение антагонистической активности пробиотических микроорганизмов используемых для молочнокислых продуктов.

Научная новизна работы заключается в изучении антагонистической активности наиболее активных штаммов микроорганизмов по отношению к патогенным и условно патогенным микроорганизмам, а также изучение их морфологических свойств

Практическая значимость:

Пробиотические микроорганизмы, выделенные в микробиологической лаборатории, в дальнейшем могут использоваться в пищевой промышленности в качестве заквасок, оказывающих лечебно-профилактическое действие на ЖКТ

## **Материалы и методы**

В данной работе используется: методика приготовления питательной среды с использованием агара, техника посева и пересева культур микроорганизмов, методика получения чистых культур пробиотических микроорганизмов, методика определения антагонистической активности пробиотических микроорганизмов.

Для выделения пробиотических микроорганизмов мы выбрали в качестве источника обезжиренное молоко и кисломолочные продукты. Мы готовили раствор 1:10, в пробирки наливаем 1 мл кисломолочного продукта и 10мл обезжиренного молока, которое прошло пастеризацию, и охлаждение до температуры закваски, после открывая стерильные чашки Петри разливаем раствор. И готовим 3-4 таких посевов с различными видами кисломолочных продуктов. Инкубировали до образования бактерий на поверхности среды в термостате при температуре 37 °С. После делаем посев на плотную среду с агаром для выделения чистой культуры, пересев чистой культуры (колоний) в стерильное молоко, исследовали биологические свойства выделенных штаммов в целях их идентификации.

Для определения антагонистической активности мы использовали метод лунок. Мы изучали антагонистическую активность пробиотических микроорганизмов *S. cremoris*, *S. lactis*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. plantarum* по отношению к *S. typhimurium*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *B. subtilis*.

Об антагонистической активности судили по зоне отсутствия роста тест-штаммов вокруг колонии испытуемого штамма лактобацилл и стрептококков. По антагонистической активности наблюдалась дифференциация по 4 степеням: нулевая — при ширине зоны отсутствия роста до 1,0 мм, низкая — 1,1—4,9 мм, средняя — 5,0—8,9 мм, высокая 9,0 мм и более. Результаты исследований представлены в таблице 2.

## **Основная часть**

### **Результаты**

Проведя исследования по морфологическим и культуральным свойствам было установлено, что колонии в первой чашки Петри имеют белый цвет, ровный край, выпуклый профиль, шероховатую поверхность и размеры колон 1-1,2 мм. Во второй чашке Петри

матовый цвет, ровный край, плоский профиль, гладкую поверхность и размер колон 0,9-1 мм. В третьей чашке Петри цвет матовый бахромчатый край, выпуклый профиль, гладкую поверхность и размер колон 0,8-1 мм. В четвертой чашки Петри цвет матовый, бахромчатый край, плоский профиль, гладкую поверхность и размер колон 1,5-3 мм. В пятой чашке Петри бледно-серый цвет, волнистый край, выпуклый профиль, шероховатую поверхность и размер колон 1-1,2 мм.

В ходе изучения морфологических признаков нами было показано, что клетки всех исследуемых культур были неподвижны, не содержали спор, окрашивались положительно по Граму. По этим признакам они являются типичными представителями семейства молочнокислых бактерий.

В соответствии с определителем Bergey выделенные молочнокислые бактерии были отнесены к роду *Streptococci Lactobacillus*. Изученные культуральные и морфологические признаки клеток дали возможность определить видовую принадлежность исследуемых штаммов, 2 являются представителями *S. lactis*; штаммы 1, имеют видовую принадлежность *S. cremoris*; к *L. acidophilus* относится 3; штамм 4 является представителем *L. Bulgaricus*, 5 относятся *L. plantarum*.

В своих исследованиях мы не касались природы выделяемых антибиотических веществ и ограничились только качественной стороной способности исследуемых микроорганизмов подавлять развитие других видов.

В результате исследований было выделено 5 видов штаммов ПМ: *S. cremoris*, *S. lactis*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. plantarum*.

## **Заключение**

По проведенным исследованиям на антагонистическую активность выделенных штаммов можно прийти к выводу, что по отношению к *S. typhimurium* наибольшую антагонистическую активность проявляет штамм *S. lactis*, по отношению к *E. coli* штамм *L. plantarum*, по отношению к *P.aeruginosa* штамм *S. cremoris*, по отношению к *S.aureus* штамм *L. acidophilus*, по отношению к *B.subtilis* тоже *L. acidophilus*.

Делая вывод, можно сказать что, культуру штаммов молочно кислых бактерий для использования в пищевой промышленности, мы должны выбирать в зависимости от того, какое профилактическое действие мы хотим оказать народу. Так как каждый вид штамма по отношению к различным видам патогенных и условно патогенных микроорганизмов оказывают различную антагонистическую активность. И *L. Acidophilus* оказал высокую антагонистическую активность по отношению к двум патогенным микроорганизмам, отсюда

можно предположить, что применение их в производстве кисломолочного продукта, предназначенного для диетического и профилактического питания, является целесообразным.

Степень антагонизма пробиотиков по отношению к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам зависит от ряда факторов и прежде всего от рода, вида, подвида и даже свойств конкретного штамма бактерий, которые проявляются при оптимальных условиях развития, следует сделать вывод что изучение антагонистической активности играет важную роль в выборе молочнокислых бактерий используемых в профилактике заболеваний ЖКТ и применение их в пищевой промышленности

Исследования и последующие знания о микроорганизмах с пробиотическими свойствами еще далеко не завершены, и мы, вероятно, достигаем лишь вершины айсберга, поскольку существует много различных штаммов микроорганизмов с различной пользой для здоровья. Таким образом, несмотря на то, что подавляющее количество существующих данных свидетельствует о том, что пробиотики безопасны, рекомендуется полностью рассмотреть соотношение риска и пользы перед выбором микроорганизма.

Интересная заключительная мысль этой работы заключается в том, что, хотя некоторые микроорганизмы могут вызывать болезни и даже убивать нас, некоторые микроорганизмы приносят пользу, оказывая лечебно-профилактическое действие.

### **Список использованной литературы:**

1Зайков, С. В. Нарушения микробиоценоза кишечника: всегда ли необходимы пробиотики // Рациональная фармакотерапия: журнал — 2008. — № 2. — С. 1–6.

2Концевая И.И., Микробиология Практическое пособие для студентов специальности 1-31 01 01 02 «Биология (научно-педагогическая деятельность)» Гомель УО «ГГУ им. Ф. Скорины» 2012. – 88с.

3Красникова Л.В. Микробиология: Учеб. пособие. – СПб: Троицкий мост, 2012. – 296 с.

4Молдабаевой Ж.К., Бепеевой А.Е. Методические указания к лабораторным работам по дисциплине «Биотехнология микроорганизмов» для студентов специальности 5В070100 «Биотехнология» Семей 2014. – 100с.

5Онищенко Г.Г., Методические указания, по санитарно-эпидемиологической оценке, безопасности и функционального потенциала пробиотических микроорганизмов, используемых для производства пищевых продуктов Методические указания МУ 2.3.2.2789-10 Москва 2011. – 55с.

6Степаненко П.П. Микробиология молока и молочных продуктов: Учеб. для вузов. – Сергиев Посад: ООО «Все для Вас – Подмосковь», 2002. – 413 с.

**Таблицы:**

Таблица 1 - Морфологические признаки молочнокислых бактерий рода *Streptococcus* и *Lactobacillus*

Молочнокислые бактерии	Морфологические признаки клеток
<i>S. cremoris</i> – 1	Овальные кокки одиночные, диплококки, короткие цепочки из 3-5 сегментов, величина клеток 0,8 - 1,0 мкм
<i>S. lactis</i> – 2	Кокки одиночные, диплококки, 0,8-1,0 мкм
<i>L. acidophilus</i> – 3	В виде цепочек из 3-5 сегментов палочки длиной 15-25 мкм, толщиной 1,2-1,5 мкм
<i>L. bulgaricus</i> – 4	Короткие цепочки длиной 5-10 мкм, толщиной 1-1,5 мкм
<i>L. plantarum</i> – 5	В виде цепочек из 3-5 сегментов палочки длиной 20-25 мкм, толщиной 1,2-1,5 мкм

Таблица 2 – Антагонистическая активность молочнокислых культур в отношении к патогенной и условно-патогенным микроорганизмам

Штамм	Диаметр зон подавления роста тест-культур, мм				
	<i>S.typhimurium</i>	<i>E. coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>S.aureus</i>	<i>B.subtilis</i>
<i>S. cremoris</i> – 1	6±0,5	10,7±0,5	13,5±0,5	14,6±0,5	6,3±0,5
<i>S. lactis</i> – 2	12,3±0,5	4,7±0,5	8,5±0,5	14,6±0,5	8,6±0,5
<i>L. acidophilus</i> – 3	11,0±0,5	12,6±0,5	7,3±0,5	24,6±0,5	11,5±0,5
<i>L. bulgaricus</i> – 4	4,0±0,5	11,6±0,5	6,3±0,5	10,8±0,5	6,2±0,5