

«Сейфуллин окулары – 16: Жаңа формациядағы жастар ғылыми – Қазақстанның болашағы» атты халықаралық ғылыми-теориялық конференциясының материалдары = Материалы Международной научно-теоретической конференции «Сейфуллинские чтения – 16: Молодежная наука, новой формации – будущее Казахстана». - 2020. - Т.1, Ч.3 - С.249-251

АНАЛИЗ ВЛИЯНИЯ ГУМАТА КАЛИЯ НА РОСТ И РАЗВИТИЕ *LACTOBACILLUSRHAMNOSUS*

*Муханбетжанов Н.А., Кухар Е.В.,
Кожжахметов С.С.*

Пробиотические бактерии, принадлежащие к роду *Lactobacillus*, являются на сегодняшний день одним из наиболее важных и перспективных объектов биотехнологии.

Результаты многочисленных экспериментальных и клинических исследований свидетельствуют о выраженной профилактической и терапевтической эффективности пробиотических препаратов и продуктов функционального питания, созданных на основе промышленных штаммов лактобацилл. Было показано, что использование пробиотических препаратов, содержащих лактобациллы, стимулирует рост животных и увеличивает их продуктивность [1].

Лактобациллы предположительно обладают низкой патогенностью; они редко обнаруживаются в культуре крови. К примеру, штамм *L. rhamnosusGG*, который происходит из кишечника человека, стал доступен для использования в качестве пробиотика в 1990 году в Финляндии. Лактобациллы были выделены в 0,02% всех культур крови и 0,2% всех культур крови с положительными результатами в центральной больнице Хельсинского университета и в Финляндии в целом, и не было замечено никаких тенденций, которые указывали бы на увеличение бактериемии лактобацилл [2-3].

Живые молочнокислые бактерии традиционно широко используются в кисломолочных продуктах во многих странах. Кроме того, отобранные штаммы лактобацилл, выдерживающих кишечные заболевания, все чаще используются в пище человека из-за их предполагаемого воздействия на здоровье. Эти штаммы, называемые «пробиотиками», описываются как «живые микробные кормовые добавки, оказывающие положительное воздействие на животное-хозяина, улучшая его микробный баланс» [4].

При изучении влияния гумата калия на рост и развитие штамма *L. rhamnosus*, было выявлено положительное влияние гумата в концентрации 2% на рост лактобацилл [5].

Целью нашей работы является определение максимального накопления биомассы бактерий штамма *L. Rhamnosus* в присутствии гумата калия в разные периоды времени при поверхностном культивировании методом подсчета выросших колоний.

Работа выполнялась в рамках инициативной темы № гос.рег. 0119РКИ0349 «Анализ биологической активности отечественных гуматов и их использование в животноводстве». Исследования проводились в лаборатории «Микробиома Человека и Долголетия, «NLA» Назарбаев Университет. В качестве исходного материала были использованы штаммы микроорганизмов рода *L. rhamnosus*, любезно предоставленные сотрудниками лаборатории.

Для изучения влияния гуминовых кислот на интенсивность роста развития микроорганизмов готовили MRS-агар из расчета 4,17 г на 100 мл дистиллированной воды, также был использован гумат калия №4 «Майкубен» в 2% концентрации.

Нами проводилось изучение влияния гумата калия на интенсивность развития лактобацилл спустя 6, 12, 24 часа. Результаты исследования отражены на рисунке 1-3.

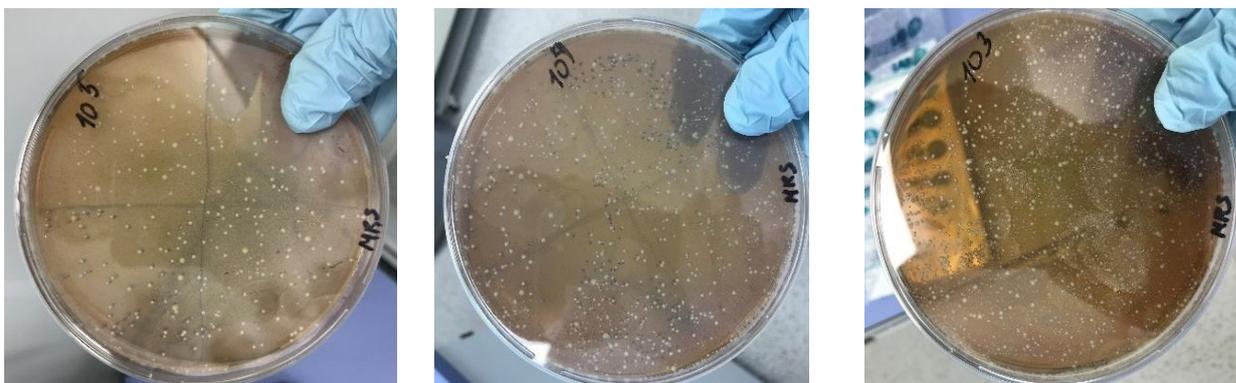


Рисунок 1 – Рост *L. rhamnosus* на MRS-агаре в присутствии гумата калия через 6 часов культивирования

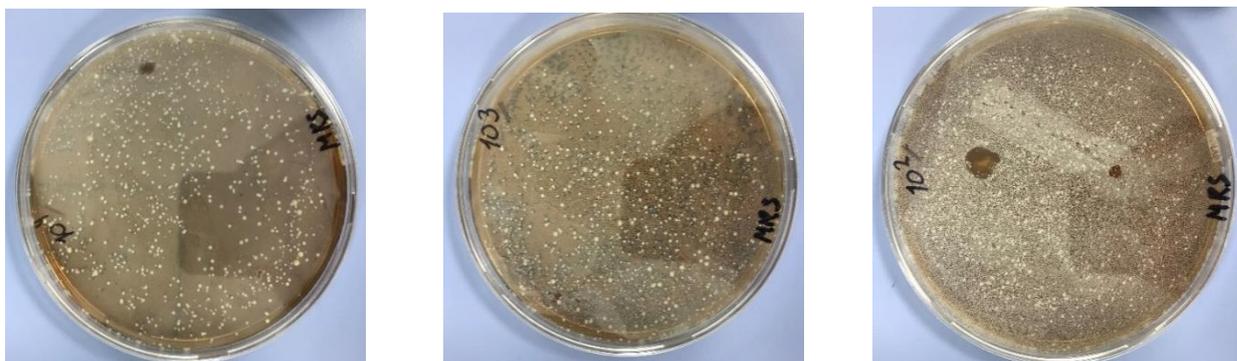


Рисунок 2 – Рост *L. rhamnosus* на MRS-агаре в присутствии гумата калия

через 12 часов культивирования



Рисунок 3 – Рост *L. rhamnosus* на MRS-агаре в присутствии гумата калия через 24 часа культивирования

Как видно из рисунков 1-3, после культивирования *L. rhamnosus* в присутствии гумата калия в течении 6, 12, 24 часов наблюдается активный рост лактобацилл, что подтверждается обильным ростом многочисленных колоний на поверхности питательной среды. Полученные результаты позволяют сделать вывод о положительном влиянии гумата калия на рост *L. rhamnosus*.

Для повышения достоверности полученного результата нами было подсчитано общее количество колоний и определено среднее количество КОЕ (таблица 1).

Таблица 1 – Результаты подсчета колоний *L. rhamnosus*

Разведение	Спустя 6 часов культивирования	Спустя 12 часов культивирования	Спустя 24 часа культивирования
10^4	715	890	504
10^5	256	275	130
10^6	39	58	36
10^7	5	8	9
10^8	Нет роста	Нет роста	Нет роста
10^9	Нет роста	Нет роста	Нет роста
Контроль			57

Количество клеток в 1 см^3 исследуемого субстрата вычисляют по формуле:

$$M = \frac{a \cdot 10^a \cdot 10^a}{V \cdot V}$$

где:

M – количество клеток в 1 см^3 ;

a – количество колоний, которые выросли после посева из этого разведения;

V – количество питательной среды, взятой для посева, см^3 ;

10^n – коэффициент разведения.

Согласно расчетам по выше приведенной формуле, нами получены следующие результаты:

- спустя 6 часов культивирования – количество клеток равнялось $7,6 \times 10^7 \text{ кл/см}^3$;

- спустя 12 часов – $12,3 \times 10^6 \text{ кл/см}^3$

- спустя 24 часа – $6,3 \times 10^6 \text{ кл/см}^3$ (рисунок 4).

Рисунок 4 – Рост *L. rhamnosus* в присутствии гумата калия через 6,12,24 часов культивирования

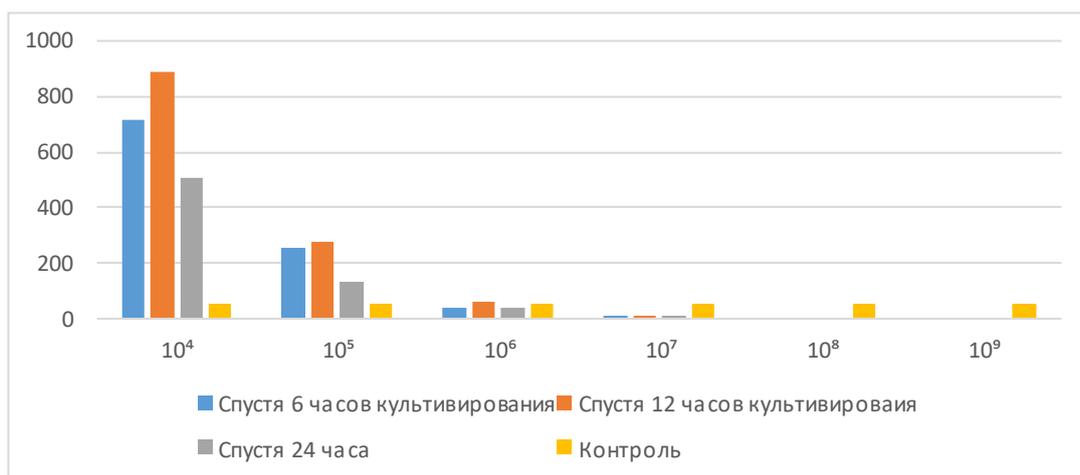
Как видно из диаграммы, наибольший результат был получен при культивировании штамма *L. rhamnosus* в присутствии гумата калия через 12 часов – $12,3 \times 10^6 \text{ кл/см}^3$

Данный рост был достигнут в течение двух суток в термостате при температуре 37 градусов.

Таким образом, определение максимального накопления биомассы бактерий штамма *L. rhamnosus* в присутствии гумата калия в разные периоды времени при поверхностном культивировании методом подсчета выросших колоний позволило установить оптимальные параметры культивирования лактобацилл.

Список литературы

1. Банникова, Л.А. Микробиологические основы молочного производства: Справочник / Л.А. Банникова, Н.С. Королева, В.Ф. Семенихина; под. ред. канд. тех. наук Я.И. Костина. - М. : Агропромиздат.,



1987. – 400 с.

2. Gasser F. Safety of lactic acid bacteria and their occurrence in human clinical infections, *Bull Inst Pasteur*, 1994, vol. 92 (pg. 45-67)

3. Saxelin M, Chuang N-H, Chassy B, et al. Lactobacilli and bacteremia in southern Finland, 1989–1992, *Clin Infect Dis*, 1996, vol. 22 (pg. 564-6)

4. Fuller R. Probiotics in human medicine // *Gut*, 1991, vol. 32. –P. 439-42.

5. Муханбетжанов Н.А, Кожаметов С.С, Кухар Е.В «Сейфулинские чтения - 15: молодежь, наука, технологии новые идеи и перспективы». Том 1 С. 103