

«Сейфуллин оқулары – 18: « Жастар және ғылым – болашаққа көзқарас» халықаралық ғылыми -практикалық конференция материалдары = Материалы международной научно-практической конференции «Сейфуллинские чтения – 18: « Молодежь и наука – взгляд в будущее» - 2022.- Т.І, Ч.ІІІ. - С. 225-227

ВЫДЕЛЕНИЕ, ИДЕНТИФИКАЦИЯ И КУЛЬТИВИРОВАНИЕ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

*Штинёва Ю. А., магистрант 1-го курса
Евразийский Национальный Университет им. Гумилёва, г. Нур-Султан
Абдуллаева А.Н., магистр
Кирибаева А.К., магистр
РГП на ПХВ «Национальный центр биотехнологий», г.Нур-султан*

В настоящее время молочнокислые бактерии насчитывает более 100 различных видов. Многие виды лактобактерий являются нормальной микрофлорой желудочно-кишечного тракта, в том числе полости рта и толстой кишки [1]. В пищевых технологиях лактобактерии используются в сбраживании и переработки молока в кисломолочные продукты, творог, сыр. Штаммы бактерий рода *Lactobacillus* обладают обширным спектром полезных свойств, что позволяет успешно использовать их для создания современных продуктов функционального питания, а также пробиотических препаратов. Это обуславливает актуальность вопроса поиска новых штаммов данного рода. Изучение пробиотических продуктов является одним из самых быстрорастущих направлений среди других функциональных продуктов питания из-за повышения осведомленности потребителей о его пользе [2]. Пробиотики - это функциональные продукты питания, которые, как было продемонстрировано результатами многих исследований, являются эффективным методом лечения и профилактики таких заболеваний, как аллергия, диарея, воспаление ЖКТ и т.д. [3] Многие виды микроорганизмов можно рассматривать как потенциальные пробиотики, но широкое коммерческое применение в пробиотических продуктах получили *Lactobacillus* и *Streptococcus* [4]. *Lactobacillus* особенно популярен из-за его штаммспецифических свойств, которые полезны для здоровья, особенно в отношении микрофлоры желудочно-кишечного тракта [5,7]. Положительное влияние молочнокислых бактерий также заключается в улучшении пищеварения и адсорбции питательных веществ, модуляции иммунного ответа и снижении токсических соединений в кишечнике и уровня холестерина в сыворотке крови [6]. Однако для грамотного использования потенциально новых штаммов в различных отраслях биотехнологии, в частности при производстве пробиотиков, необходимо провести корректную идентификацию и тщательно изучить их биологические свойства. Вследствие всего вышеуказанного выделение, идентификация и изучение биологических свойств молочнокислых бактерий является важной и актуальной задачей.

Объектом исследования являются молочнокислые бактерии, выделенные из домашних пищевых продуктов: домашнее козье молоко, домашняя коровья сметана, домашний кумыс, квашенная капуста и домашний сыр.

В проведении экспериментальных исследований использовали методы микробиологии, молекулярной биологии и биотехнологии. В представленной работе идентификацию штаммов бактерий проводили с использованием системы MALDI TOF масс-спектрометрии BiotyperMicroflex LT (Bruker Daltonics, Бремен, Германия).

В ходе исследовательской работы из домашних продуктов питания были выделены изоляты микроорганизмов. Бактериальные изоляты были исследованы на основе внешних морфологических характеристик культуры, макро- и микроскопического анализа. Было отмечено, что большинство изолятов образовывали мелкие серо-белые глянцевые не прозрачные или полупрозрачные колонии с ровными краями и имели достаточно приятный, не резкий кисловатый запах, что является типичным для молочнокислых бактерий. При окрашивании клеток бактерий по Граму наблюдали грамположительные палочки и собранные в цепочку кокки, что характерно для бактерий рода *Lactobacillus* и *Streptococcus* соответственно. Так же были подобраны оптимальные условия для культивирования выделенных культур. Оптимальной питательной средой для выделения чистых культур лактобактерий была определена среда MRS (Himedia), условия роста - 37°C, 48 часов.

Культивирование клеток молочнокислых бактерий в условиях глубокой ферментации проводили в 5% сухом обезжиренном молоке в объеме 5 л при +37°C, 24 ч. После 24 ч культивирования клетки были собраны центрифугированием при +4°C, 6000g, 7 минут. Далее клетки суспендировали в среде с добавлением криопротекторов: 10% сухое обезжиренное молоко, 10% сахара. Далее, полученную массу разливали в стерильные поддоны и замораживали при -20°C в течение 16 часов. Перед лиофилизацией образцы охлаждали до -80°C в низкотемпературном морозильнике New Brunswick Scientific U570 (США) течение 8 часов. Лиофилизацию проводили в сублимационной сушке Christ BETA 2-8 LDplus (Германия) при температуре -90°C и давлении 5,2 Па, в течение 48 часов. После полного высушивания лиофилизат перемалывали на мельнице до получения порошка однородной консистенции. Контроль жизнеспособности бактерий в лиофилизате проводили путем разведения порошка в физиологическом растворе и посева культуры методом серийных разведений путем десятикратных разведений на твердой питательной среде – MRS-агаре. В результате наработаны клетки молочнокислых бактерий с титром $1,2 \times 10^{12}$ КОЕ/г.

Все полученные штаммы были идентифицированы методом MALDI TOF масс-спектрометрии. В результате были определены следующие виды: *Lactobacillus curvatus*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus harbiensis*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus delbrueskii*, *Streptococcus galloyticus*, *Streptococcus thremophilus*. В целях сохранения культур микроорга-

низмов была осуществлена криоконсервация при -80°C в защитной среде с добавлением 20% глицерола.

Выводы:

В нашем исследовании поднимается важный вопрос поиска новых штаммов молочнокислых бактерий, их корректной идентификации, и проверки на пригодность в качестве компонентов пробиотических препаратов. В результате проведенных работ были выделены молочнокислые бактерии рода *Lactobacillus* и *Streptococcus*. Были определены оптимальные питательные среды и условия для культивирования молочнокислых бактерий. Результаты данной работы обеспечат необходимый уровень информации о свойствах выделенных штаммов, что, в свою очередь, поможет в последующем использовании штаммов в технологиях получения пищевых биопрепаратов.

Проведенные исследования были финансированы Министерством сельского хозяйства Республики Казахстан (BR10764998).

Список использованной литературы

- 1 Новокшенов А.А. Физиологические функции лактобактерий в организме и эффективность их применения в составе пробиотиков в педиатрической практике [Текст]/ Новокшенов А.А., Соколова Н.В.// Эффективная фармакотерапия. – 2012. – №53. – С. 52-57.
- 2 Stanton C. Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites [text]/ Stanton C., Ross R.P., Fitzgerald G.F., Van Sinderen D.// Curr. Opin. Biotechnol. – 2005. – №16. – С. 198–203.
- 3 Sen M. Role of Probiotics in Health and Disease: a review[text]/ Sen M.// Int. J. Adv. Life Sci. Res. – 2019. – С. 1-11.
- 4 Tripathi M.K. Probiotic functional foods: Survival of probiotics during processing and storage [text]/ / Tripathi M.K., Giri S.K.// J. Funct. Foods. – 2014. – №9. – С. 225–241.
- 5 Oh N.S. Probiotic and anti-inflammatory potential of *Lactobacillus rhamnosus* 4B15 and *Lactobacillus gasseri* 4M13 isolated from infant feces [text]/ / Oh N.S., Joung J.Y., Lee J.Y., Kim Y.// PLoS ONE. – 2018. – №13. – С. 2.
- 6 Lebeer S. Genes and molecules of lactobacilli supporting probiotic action [text]/ / Lebeer S, Vanderleyden J, De Keersmaecker SC.// Microbiol Mol Biol Rev. – 2008. – №72. – С. 728–764.
- 7 Angmo K. Probiotic characterization of lactic acid bacteria isolated from fermented foods and beverage of Ladakh [text]/ Angmo K., Kumari A., Savitri, Bhalla T.C.// Lwt Food Sci. Technol. – 2016. – №66. – С. 428–435.