

М. Г. САУБЕНОВА, Т. В. КУЗНЕЦОВА, А. Е. ХАЛЫМБЕТОВА, М. М. ШОРМАНОВА

(РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, Алматы, Казахстан)

ПРОТИВОГРИБКОВАЯ АКТИВНОСТЬ АССОЦИАЦИЙ МОЛОЧНОКИСЛЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

Аннотация. Из национальных казахских напитков, а также продуктов домашнего изготовления выделены и отобраны молочнокислые микроорганизмы, обладающие противогрибковой активностью. На основе отобранных микроорганизмов составлены и отселекционированы ассоциации с повышенной противогрибковой активностью. Показано, что антагонистическая активность ассоциаций проявляется в отношении мицелиальных грибов рода *Penicillium*, вызывающего дисбиоз кишечника.

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

Тірек сөздер: сүтқышқылды бактериялар, лактоза ыдыратушы ашытқылар, антагонистік белсенділік.

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

Введение. При производстве и дальнейшем хранении пищевых продуктов происходит контаминация их посторонними микроорганизмами, что имеет следствием не только преждевременную порчу, но также нарушение безопасности их использования из-за возможного развития возбудителей различных заболеваний или накопления токсических метаболитов. Известно, что при хранении продовольственного сырья и пищевых продуктов потери от микробиологической порчи составляют не менее, а зачастую и более 30% товарного веса. Более того, болезни, вызываемые различными микроорганизмами при использовании недоброкачественных продуктов не только в странах третьего мира, но и в развитых странах уносят большое количество жизней. Эта проблема в первую очередь решается использованием различных способов защиты готовой продукции – стерилизация, сушка, применение химических консервантов или синтетических органических кислот, что отрицательно отражается на ее качестве, изменяя вкус и биологическую ценность. Наиболее перспективным направлением в решении этой проблемы является использование биотехнологии микробиологического синтеза с участием непатогенных и нетоксических бактерий, продуцирующих органические кислоты и другие метаболиты направленного действия, такие как бактериоцины, которые могут быть использованы как природные консерванты пищевых продуктов [1]. К основным продуцентам этих метаболитов, оказывающих консервирующее действие и

используемых человечеством на протяжении веков для сохранения пищевых продуктов (мяса, рыбы, овощей и фруктов), а также кормов (силос) являются молочнокислые бактерии. В связи с ухудшением экологической обстановки и все возрастающей агрессивностью микробных патогенов различной природы, а также неблагоприятными последствиями применения химических консервантов, молочнокислые бактерии привлекают в этом плане все большее внимание. Так, антагонистическая активность молочнокислых бактерий предложена для защиты хлеба от картофельной болезни [2], для предотвращения болезней рыбного фарша [3], для совершенствования технологии производства мясных продуктов [4]. В последние годы в ряде ведущих научных изданий стали появляться статьи, посвященные изысканию молочнокислых бактерий, пригодных для предохранения от плесневения различных продуктов питания, консервирующий эффект которых обусловлен действием молочной и других органических кислот, спиртов, перекисей, а главное, бактериоцинов, снижающих рН среды и подавляющих размножение потенциальных засорителей. Это *Lactobacillus coryformis* [5, 6], *L. plantarum* [7], *L. fermentum* [8], *L. casei* [9], то есть гетероферментативные бактерии, относительно же гомоферментативных молочнокислых бактерий подобных сведений в доступной нам литературе мы не встречали.

Исследование микрофлоры молочнокислых продуктов как домашнего, так и промышленного производства, поступающих в продажу населению, показало их высокую обсемененность посторонней микрофлорой, в частности, спорами плесневых грибов, что может вызывать их преждевременную порчу, а также явиться причиной нарушения нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта человека. Наиболее часто встречается такой засоритель как грибы пенициллы. Эта проблема может быть решена путем введения в состав закваски для приготовления того или другого кисломолочного продукта молочнокислых бактерий, обладающих антагонистической активностью по отношению к плесневым грибам. Между тем, несмотря на большую изученность молочнокислых бактерий, относительно противогрибковой активности их гомоферментативных штаммов практически нет сведений. Компания Жерве Данон (Франция) выделила бактерию *L. Caseis sp. paracasei*, придающую противогрибковые свойства ферментированному молочнокислому продукту [9]. Настоящая работа посвящена поиску молочнокислых микроорганизмов, обладающих этими свойствами.

Объекты и методы

Объектом исследования служили ассоциации №53, 58, 60, состоящие из молочнокислых бактерий *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* (ассоциация 53), *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis* (ассоциация 58), *Lactococcus lactis subsp. lactis*, *Streptococcus lactis* (ассоциация 60) и лактозосбраживающих дрожжей *Saccharomyces sp.*, выделенных из национальных молочнокислых продуктов, производимых в Алматинской области. Ассоциации были составлены путем комбинирования молочнокислых бактерий и подбора штамма лактозосбраживающих дрожжей, обеспечивающих максимальное проявление фунгицидной активности бактериальных культур. Культивировали ассоциацию на обезжиренном молоке при 30 и 40°C.

В работе были использованы тест-культуры мицелиальных грибов, выделенные при дисбиозах кишечника и полученные из ТОО «Нутритест»: *Penicillium lanoso-viride*, *Penicillium notatum*, *Cephalosporium humicola*, *Penicillium sp. 3*, а также изолят *Penicillium sp. 1* – засоритель кисломолочных продуктов. Из коллекции лаборатории физиологии и биохимии микроорганизмов РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК взяты для исследования культуры: *Torulopsis vermiculatus*, *Aspergillus niger*.

Антагонистическую активность ассоциаций определяли методом диффузии в агар из лунок. На питательную среду Чапека для мицелиальных грибов рассеивали тест-культуры, затем делали лунки с помощью блокореза диаметром 8 мм. В лунки вносили по 0,3 мл сквашенного молока и культивировали при 30°C. Оценку антагонистической активности ассоциаций в отношении мицелиальных грибов осуществляли на 7-е сутки инкубации по диаметру стерильных зон, образующихся вокруг лунок.

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

Результаты и их обсуждение

Ранее нами было показано, что смешанные культуры молочнокислых бактерий с лактозосбраживающими дрожжами проявляют значительно более высокую противогрибковую активность по сравнению с монокультурами молочнокислых бактерий. Поэтому в настоящей работе исследования проводили с разными ассоциациями микроорганизмов. На рисунке представлены данные по исследованию активности подавления роста гриба *Penicillium sp.* различными ассоциациями молочнокислых микроорганизмов.



Величина зон подавления роста *Penicillium sp.* ассоциациями молочнокислых бактерий и дрожжей

Далее из имеющихся в наличии ассоциаций были отобраны те, которые при использовании их в качестве заквасок способствуют получению кисломолочных напитков с высокими органолептическими показателями. В таблице приведены результаты исследования антагонистической активности трех ассоциаций молочнокислых бактерий и лактозосбраживающих дрожжей по отношению к различным штаммам плесневых грибов, являющихся наиболее распространенными контаминантами молочных продуктов.

Противогрибковая активность ассоциаций молочнокислых микроорганизмов № 53, № 58 и № 60

Тест-культура	Ассоциация 53	Ассоциация 58	Ассоциация 60
<i>P. lanoso-viride</i>	0	0	0
<i>T. vermiculatus</i>	0	0	0
<i>A. niger</i>	0	0	0
<i>P. notatum</i>	13±1/13±2	13±2/18±1	0
<i>C. humicola</i>	0	18±2/0	19±1/4±2
<i>Pen. sp. 1</i>	11±2/12±1	18±3/0	25±1/10±1
<i>Pen. sp.3</i>	12±1/13±1	10±1/0	20±2/14±1

Как можно судить по диаметру зон подавления роста, наиболее выражена антагонистическая активность исследованных ассоциаций по отношению к *Penicillium sp. 1*, достаточно эффективно они подавляют также рост грибов рода *Penicillium sp. 3* и *P. notatum*. Отобранные ассоциации проявляют также антагонистическую активность по отношению и к *C. humicola*. Однако по отношению к *P. lanoso-viride*, *T. vermiculatus*, *A. niger* все исследованные ассоциации оказались неактивными.

Полученные данные показали возможность использования в производстве молочнокислых продуктов заквасок, представленных ассоциациями молочнокислых бактерий и дрожжей, предохраняющих от развития в кисломолочных продуктах плесневых грибов рода *Penicillium*, а также показали необходимость продолжения исследований в этом направлении, способствующих обеспечению безопасности готовой продукции.

ЛИТЕРАТУРА

- 1 Куксова Е.В. Разработка технологии комплексных пищевых добавок с использованием кислотообразующих бактерий: Автореф. дис. ... канд. техн. наук. – М., 2008. – 215 с.
- 2 Витавская А.В. и др. Предотвращение картофельной болезни хлеба // Хлебопекарная и кондитерская промышленность. – 1972. – № 11. – С. 9.
- 3 Сагындыкова С.З. Предотвращение болезни рыбного фарша молочнокислыми бактериями // Объединенный научный журнал РФ. – 2004. – № 21.
- 4 Рскелдиев Б.А. и др. Использование бактериальных культур для улучшения технологии соленых мясных продуктов // Пищевая и перерабатывающая промышленность Казахстана. – 2005. – № 4. – С. 13-14.
- 5 Magnusson J., Schn?rer J. Lactobacillus coriformissubsp.coriniformis strain Si3 products a broad-spectrum proteinaceous antifungal compound // Appl. Environ. Microbiol. – 2001. – Vol. 67 – . P.1-5.
- 6 Magnusson J., et al. Broad and complex antifungal activity among environmental isolates of lactic acid bacteria // FEMS Microbiology Letters. – 2003. – Vol. 219. – Issue 1. – P. 129-135.
- 7 Ho P.-H., Luo J.B., Adams M.C. Lactobacilli and dairy Propionibacterium wict potential as bioconcentratives against food fungi and yeast contamination // Прикладная биохимия и микробиология. – 2009. – Т. 45, № 4. – С. 460-464.
- 8 Str?m K., Schn?rer J., Petter M. Co-cultivation of antifungal Lactobacillus plantarum Mi LAB 393 and Aspergillus nidulans, evaluation of effects on fungal growth and protein expression // FEMS Microbiology Letters. – 2005. – Vol. 246. – Issue 1.– P. 119-124.
- 9 Перрье Л. И др. Применение *L. casei*ssp. *paracasei* в качестве противогрибкового средства / Заявка RU 2010127276 /10. 2008.

REFERENCES

- 1 Kuksova Ye.V. Razrabotka tekhnologii kompleksnykh pishchevykh dobavok s ispolzovaniyem kislotoobrazuyushchikh bakteriy: Avtoref. dis. ...kand. tekhn. nauk. M., **2008**. 215 s. (inRuss.).
- 2 Vitavskaya A.V. i dr. Predotvrashcheniye kartofelnoy bolezni khleba. Khlebopekarnaya i konditerskaya promyshlennost. **1972**. № 11. S. 9. (inRuss.).
- 3 Sagyndykova S.Z. Predotvrashcheniye bolezni rybnogo farsha molochnokislymi bakteriyami. Obyedinenny nauchnyy zhurnal RF. **2004**. № 21. (inRuss.).
- 4 Rskeldiyev B.A. i dr. Ispolzovaniye bakterialnykh kultur dlya uluchsheniya tekhnologii solenykh myasnykh produktov. Pishchevaya i pererabatyvayushchaya promyshlennost Kazakhstana. **2005**. № 4. S. 13-14. (inRuss.).
- 5 Magnusson J., Schn?rer J. Lactobacillus coriformis subsp.coriniformis strain Si3 products a broad-spectrum proteinaceous antifungal compound. Appl. Environ. Microbiol. **2001**. Vol. 67. P. 1-5. (in Eng.).
- 6 Magnusson J., et al. Broad and complex antifungal activity among environmental isolates of lactic acid bacteria. FEMS Microbiology Letters. **2003**. Vol. 219. Issue 1. P. 129-135. (in Eng.).
- 7 Ho P.-H., Luo J.B., Adams M.C. Lactobacilli and dairy Propionibacterium wict potential as bioconcentratives against food fungi and yeast contamination. Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya. **2009**. T. 45. № 4. S. 460-464.(in Eng.).
- 8 Str?m K., Schn?rer J., Petter M. Co-cultivation of antifungal Lactobacillus plantarum MiLAB 393 and Aspergillus nidulans, evaluation of effects on fungal growth and protein expression. FEMS Microbiology Letters. **2005**. Vol. 246. Issue 1. P. 119-124.(in Eng.).
- 9 Perrye L. i dr. Primeneniye *L. casei* ssp. *paracasei* v kachestve protivogribkovogo sredstva / Zayavka RU 2010127276 /10. **2008**. (inRuss.).

Резюме

М. Г. Саубенова, Т. В. Кузнецова, А. Е. Халымбетова, М. М. Шорманова

(ҚР БҒМ ҒК «Микробиология және вирусология институты» РМК, Алматы, Қазақстан)

СҮТ ҚЫШҚЫЛДЫ МИКРООРГАНИЗМДЕР АССОЦИАЦИЯСЫНЫҢ
САҢЫРАУҚҰЛАҚҚА ҚАРСЫ БЕЛСЕНДІЛІГІ

Қазақтың ұлттық сусындарынан, сонымен қатар үй жағдайында жасалған өнімдерден саңырауқұлаққа қарсы белсенділігі бар сүтқышқылды микроорганизмдер бөлініп алынды және сұрыпталды. Сұрыптап алынған микроорганизмдер негізінде ассоциациялар құрылды және саңырауқұлаққа қарсы жоғары белсенділігі бар ассоциациялар сұрыпталды. Алынған нәтижелер, ассоциацияның ішектің дисбиозын тудыратын *Penicillium* туысының мицелиальды саңырауқұлақтарына қарсы антагонистік белсенділігі бар екендігін көрсетті.

Тірек сөздер: сүтқышқылды бактериялар, лактоза ыдыратушы ашытқылар, антагонистік белсенділік.

Summary

M. G. Saubenova, T. V. Kuznetsova, A. E. Khalymbetova, M. M. Shormanova

(«Institute of microbiology and virology» CS MES RK, Almaty, Republic of Kazakhstan)

ANTIFUNGAL ACTIVITY OF ASSOCIATION OF LACTIC ACID BACTERIA

From the national Kazakh drinks and homemade dairy products were isolated and selected lactic acid microorganisms with antifungal activity. On the basis of the selected microorganisms were made and selected association with heightened antifungal activity. It is shown, that antagonistic activity of association against filamentous fungi genus *Penicillium*, which causes intestinal dysbiosis.

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

Поступила 20.05.2014 г.