

**Имбай Сейсембай Молдагалиулы**

канд. с.-х. наук, доцент

**Жумабаев Хосмырза Жалмаганбетович**

канд. ветеринар. наук, доцент

**Аубакирова Бакыт Манаповна**

магистрант

АО «Казахский агротехнический

университет им. С. Сейфуллина»

г. Астана, Республика Казахстан

**ВЫДЕЛЕНИЕ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ РОДА  
LACTOBACILLUS ИЗ ЙОГУРТА, ПРИГОТОВЛЕННОГО В  
ДОМАШНИХ УСЛОВИЯХ, И ИЗУЧЕНИЕ ИХ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ  
И КУЛЬТУРАЛЬНЫХ СВОЙСТВ**

***Аннотация:** как отмечают авторы статьи, одним из важных и перспективных направлений является поиск новых высокопродуктивных штаммов молочнокислых бактерий для конструирования пробиотических биопрепаратов. Исследовали домашний йогурт на основе кобыльего молока. При исследовании использовали питательные среды для выделения и культивирования *Lactobacillus*: *Lactobacillus* MRS broth (Himedia); *Lactobacillus* MRS agar (Himedia). В результате подсчета колонеобразующих единиц установлено, что содержание *Lactobacillus acidophilus* в 3 раза превышает стандарт производственного йогурта, тем самым положительно характеризую домашний продукт.*

***Ключевые слова:** чашки Петри, окраска по Грамму, домашний йогурт, питательные среды, микроорганизмы рода *Lactobacillus*.*

В микробиологии одним из важных и перспективных направлений является поиск новых высокопродуктивных штаммов молочнокислых бактерий для конструирования пробиотических биопрепаратов. Поэтому важной задачей является

вопрос изучения таксономии и биохимических свойств потенциально новых штаммов микроорганизмов.

Созданы классификации этих микроорганизмов, основанные на различных признаках, и методики для их идентификации на основе биохимических признаков. Тем не менее, развитие биотехнологии и промышленной микробиологии требует разработки удобной, быстрой и экономичной методики для индикации и идентификации лактобацилл. Для идентификации молочнокислых бактерий изучают их морфологические, культуральные и физиолого-биохимические свойства штаммов. Так же используя генотипирование по 16SRRNA коду с наиболее высокой достоверностью можно определить видовую принадлежность молочнокислых бактерий. Но основной же подбор штаммов по производственно-ценным показателям ведется на основании биохимических и физиологических исследований.

*Материалы и методы.* Объектом исследования в настоящей работе был домашний йогурт на основе кобыльего молока из п. Коянды Акмолинской области.

Питательные среды для выделения и культивирования *Lactobacillus*: *Lactobacillus* MRS broth (Himedia); *Lactobacillus* MRS agar (Himedia).

Основное оборудование для проведения исследований:  $CO_2$  инкубатор, термостат, источник тока, микроскоп, специальный полуавтоматический счетчик для подсчета колоний WTW серии BZG 30, микропипетки-дозаторы с одноразовыми наконечниками.

Выделение чистой культуры включает три этапа: 1) получение накопительной культуры; 2) выделение чистой культуры; 3) определение чистоты выделенной культуры.

Для создания накопительной культуры в пробирки, содержащие по 6 мл *Lactobacillus* MRS бульона, было перенесено 100 мкл исследуемого материала. Культивирование проходило в  $CO_2$  инкубаторе при температуре  $37^\circ C$ , с 5% содержанием  $CO_2$  в течение 1 суток. Затем было проведено микроскопирование полученной биомассы клеток, для наблюдения всей микрофлоры йогурта.

Приготовление среды *Lactobacillus*MRS бульон на 100 мл:

- 5,515 г среды *Lactobacillus*MRS бульон;
- 94,5 мл дистиллированной воды.

Выделение чистой культуры из отдельной колонии. Рассевали накопительную культуру бактериологической петлей методом истощающего штриха на чашки Петри, содержащие питательную среду – MRSагар. Накопительную культуру отбирали петлей и на поверхности среды проводят z-образные штрихи. Перед каждым новым штрихом петлю стерилизуют в пламени горелки. Закладывали на культивирование чашки Петри в термостате на 48 часов.

При осмотре изолированных колоний использовали бинокулярную оптическую систему. Мазки из материала колоний, обладающие культуральными свойствами лактобактерий, окрашивали по Грамму, с помощью набора красителей для окрашивания по Грамму производства «HiMediaLaboratoriesPvt. Limited» (Индия):

Результаты исследований. Для проведения исследований была использована проба йогурта, приготовленного в домашних условиях, из п. Коянды Акмолинской области. Полученный образец культивировали на питательной среде MRS при 37°C в термостате в течении 24 часов для накопления культуры.

Выделили чистую культуру из изолированной колонии методом истощающего штриха на чашки Петри, содержащие питательную среду – MRS агар. Закладывали на культивирование при 37°C на 48 часов и микроскопировали общепринятыми методами.

Результат микроскопирования показал, что культура микроорганизмов морфологически однородна: все клетки являются грамположительными палочками правильной формы, спор не образовали, неподвижные, одиночные либо расположенные цепочками. Результаты микроскопических исследований представлены на рисунке 1.

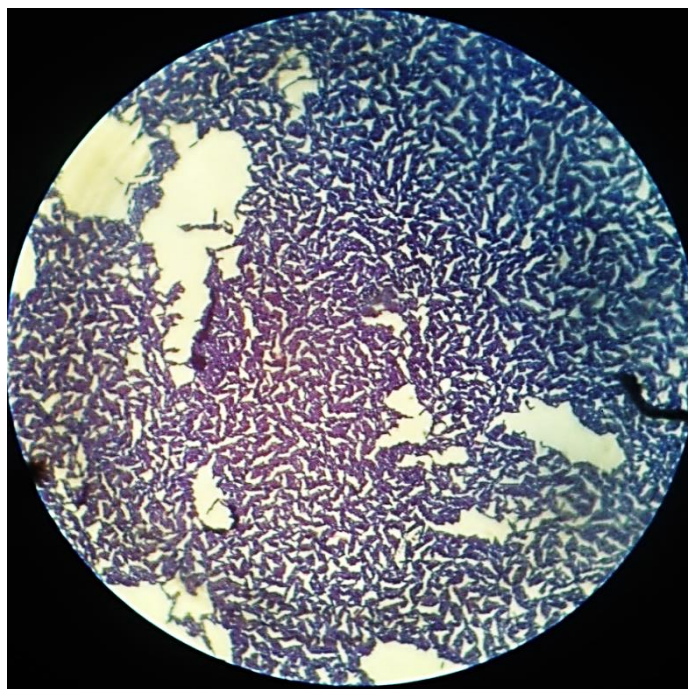


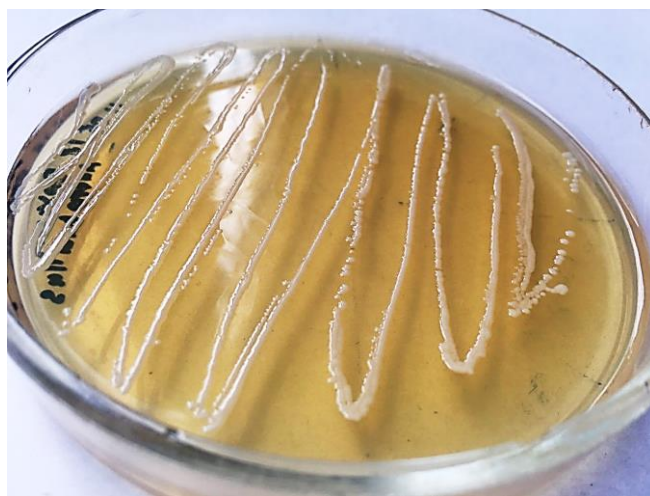
Рис. 1. Двухсуточная культура лактобацилл (x1000)

По окончании предельных разведений и посева из них исследуемой культуры на чашки Петри с помощью шпателя Дригальского, произвели подсчет количества жизнеспособных клеток (КОЕ) в 1 мл субстрата по формуле (1), используя специальный полуавтоматический счетчик WTW серии BZG 30, КОЕ составило  $2.42 \cdot 10^9$  кл./мл.

Рост исследуемого микроорганизма на агаризованной среде изображен на рисунке 2.



А



Б

Рис. 2. Рост культуры лактобацилл на MRSaгаре: А – вид сверху; Б – вид сбоку

Как видно из рисунков 2А и 2Б и на плотной MRS среде молочнокислые бактерии образовали поверхностные колонии, округлой правильной формы, размером 2–5 мм (средние), поверхность гладкая, профиль выпуклый, цвет слегка белый, край цельный, структура однородная и консистенция слизистая.

Исходя из литературных данных, приведенных выше, по культурально-морфологическим свойствам исследуемые микроорганизмы предположительно относятся к роду *Lactobacillus*.

### *Выводы*

В ходе выполнения статьи были сделаны следующие выводы:

1. Отработана методика выделения чистых культур, подсчета и культивирования клеток лактобацилл.
2. Выделенные микроорганизмы идентифицированы до вида *Lactobacillus acidophilus* на основании анализа культурально-морфологических свойств, в сравнении с литературными данными по определителю бактерий Берджи. В результате подсчета колонеобразующих единиц можно сделать вывод, что содержание *Lactobacillus acidophilus* в 3 раза превышает стандарт производственного йогурта, тем самым положительно характеризуя домашний продукт.

### *Список литературы*

1. Канарейкина С.Г. Новые направления переработки кобыльего молока. – Уфа: Башкирский ГАУ, 2014. – 40с.
2. Давидов Р.Б. Молоко и молочные продукты в питании человека / Р.Б. Давидов, В.П. Соколовский. – М.: Медицина, 1968. – 236 с.
3. Долинов К.Е. Основы технологии сухих биопрепаратов. – М.: Медицина, 1969. – 230 с.
4. Миронова И.В. Основы лечебно-профилактического питания / И.В. Миронова, З.А. Галиева, М.Б. Ребезов, Л.И. Мотавина, Ф.Х. Смольникова. – Алматы: Международное агентство печати, 2015. – 109 с.
5. Канарейкина С.Г. Технология молока и молочных продуктов / С.Г. Канарейкина, А.В. Савельев. – Уфа: БашГАУ, 2008. – 64 с.

6. Молоко кобылье: свойства // XCOOK.info [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://xcook.info/product/moloko-kobylje.html> (дата обращения: 4.04.2018).

7. Канарейкин В.И. Разработка йогурта из кобыльего молока для работников с вредными условиями труда / В.И. Канарейкин, С.Г. Канарейкина // Нефтегазовое дело. – 2015. – №6.

8. Тамим А.Й. Йогурт и аналогичные кисломолочные продукты: научные основы и технологии / А.Й. Тамим, Р.К. Робинсон. – СПб.: Профессия, 2003. – 664 с.

9. Stamen G.G. Étude sur une lait fermenté comestible. Le «Kissélomléko» de Bulgarie. Revue Médicale de la Suisse Romande. Genève. Georg&G., Libraires-Éditeurs. LibrairiedeL'Université. 1995.