РАЗДЕЛ VI. МЕДИЦИНА

Аккузина С.Г., Засухина Е. С.
Лактококки кефира и их метаболиты

*«Кировский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации
(Россия, Киров)*

doi: 10.18411/sr-10-02-2018-12

idsp: 000001:sr-10-02-2018-12

Аннотация

Кефир - единственный кисломолочный напиток, вырабатываемый на естественной симбиотической закваске - кефирных грибах, включающих более 22 видов микроорганизмов. Молочнокислые микробы в процессе жизнедеятельности выделяют комплекс биологически активных веществ, которые участвуют в формировании органолептических показателей продукта, а также оказывают благоприятное воздействие на организм человека. В работе выделены чистые культуры лактококков и установлено выделение ими в процессе жизнедеятельности лизоцима, органических кислот.

Ключевые слова: кефир, лактококки, метаболиты

В соответствии данным ТР ТС 033/2013 «О безопасности молока и молочной продукции» кефир - кисломолочный продукт, произведенный путем смешанного (молочнокислого и спиртового) брожения с использованием закваски, приготовленной на кефирных грибах, без добавления чистых культур молочнокислых микроорганизмов и дрожжей.

В состав бактериальной закваски кефира входят молочнокислые микроорганизмы: *Acetobacter aceti*, *Saccharomyces unisporus*, *Streptococcus salivarius* subsp. *Thermophilus*, *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *Diacetylactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*, *Lactobacillus casei*. Микроорганизмы находятся в установленном соотношении и выполняют определенные функции.

Лактококки запускают процесс сквашивания, формируют приятный кисломолочный аромат у продукта, придают кефиру его неповторимый вкус, обладают антибактериальным действием на грамотрицательную микрофлору. Лактобактерии, в отличие от бифидобактерий не заселяют кишечник на длительное время. Они обладают «положительным действием» на микрофлору кишечника, как сильные кислотообразователи. Они также стимулируют иммунную систему организма человека за счет вытеснения патогенных клостридий, стафилококков и кишечной палочки. В процессе жизнедеятельности лактококки выделяют биологически активные вещества, которые и определяют их функции.

Целью нашей работы стало изучение продуктов метаболизма лактококков кефира.

Материалы и методы исследования

В качестве объекта исследований был выбран кефир в полиэтиленовой упаковке.

Изучение видового состава микроорганизмов кефира проводили методом микроскопии, путем окраски мазка-отпечатка метиленовым синим с использованием иммерсионной микроскопии при увеличении $\times 1000$ раз. Исследования мазков осуществляли путем рассмотрения трех полей зрения, а количество микроорганизмов устанавливали по среднеарифметическому значению.

Динамику изменения кислотности кефира изучали титрометрическим методом.

Первое исследование состава молочнокислых микроорганизмов и кислотности кефира проводилось в дату его производства, затем с периодичностью 7 дней в течение 28 дней.

Хранение кефира проводили в условиях холодильника при температуре +4 °С.

Для определения наличия метаболитов лактококков использовали бифидосреду. Культивирование лактококков осуществляли в течение 7 дней.

Наличие органических кислот выявляли в бифидосреде с помощью универсальной индикаторной бумаги Lachema. Культивировали лактококки на бифидосреде при температуре 37° С в течение 7 суток. Значение pH определяли по прилагаемой шкале.

Уровень лизоцима, выделяемого лактококками, исследовали на ФЭК (фотометр фотоэлектрический КФК-3). В качестве тест культуры использовали *Micrococcus lysodeikticus* на МПА. Выделенную из кефира культуру лактококка культивировали на лактобакагаре. В опытную пробирку наливали 0,4 мл фосфатного буфера, 0,1 мл взвесь лактококков, 2,0 мл взвеси микрококка. В контрольную пробирку вносили 0,5 мл фосфатного буфера, 2,0 мл взвеси микрококка. Смеси инкубировали 30 мин при $t=37^{\circ}\text{C}$, после чего измеряли оптическую плотность смеси из каждой пробирки. Зная данные контроля и опыта, определяли значение лизоцима в мкг/мл, для этого умножали коэффициент поглощения на 0,2 (коэффициент поглощения устанавливается путем вычитания из коэффициента поглощения в опыте коэффициента поглощения в контроле).

Для установления присутствия перекиси водорода в среде применяли стандартную методику. В пробирку помещали 1 мл исследуемого кефира, не перемешивая, добавляли 2 капли раствора серной кислоты и 0,2 мл крахмального раствора йодистого калия. Через 10 мин наблюдали за изменением цвета раствора в пробирке, не допуская встряхивания ее.

Изучение антибактериального влияния метаболитов лактококков проводили путем совместного выращивания их с кишечной палочкой в течение 7 суток, и дальнейшим пересевом исследуемого материала на МПА.

Результаты и обсуждение собственных исследований

При микроскопии окрашенных метиленовым синим мазков-отпечатков обнаружены *Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris* (сливочный стрептококк), который представлен длинными цепочками; *Streptococcus salivarius* subsp. *Thermophilus* (молочнокислый стрептококк), представляющий собой короткие цепочки из двух клеток; *Lactococcus lactis* ssp. *Diacetylactis* (ароматообразующий стрептококк), располагающийся в поле зрения короткими цепочками по 3-4 клетки.

Далее с периодичностью 7 дней проводилось изучение изменения видового состава микрофлоры кефира и его кислотности. В процессе исследований количество молочнокислых палочек и ароматообразующих стрептококков первоначально возросло с 6% и 4% до 25% и 10%, а затем резко снизилось до 0% и 3% соответственно; количество сливочного стрептококка уменьшалось постепенно с 13% до 0% на 14 сутки; через 7 суток концентрация молочнокислого стрептококка понизилось на 16%. Далее наблюдался постепенный рост количества клеток и на последний день исследований микрофлора кефира состояла практически из одной микробной культуры *Streptococcus thermophilus*.

Титруемая кислотность кефира в течение опыта изменялась незначительно от 92° Т до 104° Т. Накопление органических кислот лактококками в бифидосреде (pH=7,2) в течение 7 суток подтверждено при помощи универсальной индикаторной бумаги Lachema. Цвет бумаги соответствовал значению pH=4 шкалы.

Исследованиями, проведенными на фотометре фотоэлектрическом КФК-3, установлено, что лактококки в процессе культивирования на бифидосреде выделяют лизоцим в объеме 1,36 мкг/мл (при оптической плотности «контроля» - 57, 3 ЕОП, а «опыта» - 64, 1 ЕОП).

При изучении присутствия в бифидосреде, содержащей 7 суточную культуру лактококков, перекиси водорода - наличие последней не выявлено.

Для определения антибактериальных свойств бифидосреды с 7 суточной культурой лактококка проводили совместное культивирование лактококков и

E. coli. Через неделю выполнили пересев с опытной среды на МПА. Роста кишечной палочки в течение 3 суток не наблюдалось.

Выводы

1. В результате бактериоскопии установлен видовой состав бактериальной закваски объекта исследований (кефира): *Lactococcus lactis* subsp. *Cremoris*, *Streptococcus salivarius* subsp. *Thermophilus*, *Lactococcus lactis* ssp. *Diacetylactis*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Количественный состав микрофлоры кефира в процессе хранения при 4°C находился в постоянной динамике и на конец срока годности практически не изменялся. Только на 28 день исследования микрофлора кефира состояла практически из одних кислотообразователей - *Streptococcus salivarius* subsp. *Thermophilus* (99%). При этом титруемая кислотность напитка увеличилась незначительно (на 12 °Т).

2. При помощи бактериологических методов, установлено, что выделенные лактококки в процессе жизнедеятельности выделяли в бифидосреду незначительное количество органических кислот и лизоцима.

3. В процессе совместного выращивания кишечной палочки и лактококков определена бактерицидная активность последних.

1. ГОСТ 31454-2012. Кефир. Технические условия.
2. ГОСТ 3624-92 Молоко и молочные продукты. Титриметрические методы определения кислотности.
3. ГОСТ 24067-80. Метод определения перекиси водорода.
4. <http://sfera.fm/articles/tekhnologiya-proizvodstva-kefira>
5. <https://elibrary.ru/item.asp?id=21567262>

Валынов А.С., Чиркова Н.В., Вечеркина Ж.В., Крючков М.А., Калинин В.С. Обоснование выбора материала для фиксации несъемных конструкций зубных протезов

*Воронежский государственный медицинский университет им. Н.Н. Бурденко
(Россия, Воронеж)*

doi: 10.18411/sr-10-02-2018-13

idsp: 000001:sr-10-02-2018-13

В настоящее время конструкции зубных протезов, применяемых в ортопедической стоматологии, разнообразны. Особое место среди них занимают несъемные литые конструкции зубных протезов, имеющие ряд преимуществ: более высокие показатели прочности, высокая степень восстановления функциональных показателей зубов, физиологичность, функциональность, короткий период адаптации [1,5].

Однако, основываясь на собственный опыт и клинические наблюдения, процент осложнений в клинике ортопедической стоматологии и несмотря на стремительное развитие технологий в несъемном протезировании остается достаточно высоким и составляет более 87 % [4]. Наиболее типичными из них являются возникновение пришеечного кариеса или кариеса под искусственной коронкой, пульпита или некроза пульпы с последующим верхушечным периодонтитом, заболеваний краевого пародонта, дефектов облицовки, разгерметизации. Преждевременное нарушение фиксации несъемных зубных протезов в 15-20% наблюдений является причиной неудачных исходов лечения [1,5].

Анализ осложнений в клинике ортопедической стоматологии показал, что нарушение фиксации и развитие кариеса опорных зубов и его осложнений наиболее часто связаны с неправильным выбором материала для фиксации несъемных зубных протезов [2]. Известно, что этап фиксации несъемных конструкций зубных протезов несомненно