

ИЗУЧЕНИЕ ЗАВИСИМОСТИ ПЕРЕВАРИМОСТИ МИНЕРАЛЬНО-РАСТИТЕЛЬНЫХ КОМПЛЕКСОВ ОТ СТЕПЕНИ АДГЕЗИИ МИКРООРГАНИЗМОВ К ПОВЕРХНОСТИ ЧАСТИЦ ПИЩИ

В ходе исследования разработана и апробирована методика количественного учета микроорганизмов, адгезированных на кормовых частицах с помощью люминесцентного микроскопа. Отмечено, что внесение минеральных добавок оказывает влияние на адгезию бактерий к субстрату. Установлена корреляционная зависимость между количеством адгезированных микроорганизмов и переваримостью исследуемых пищевых субстратов.

Ключевые слова: адгезия, переваримость, экструзия, пищевые волокна, соли металлов.

Актуальность

В последние годы в условиях нарастания неблагоприятных факторов окружающей среды обострилась проблема микроэкологии ЖКТ. Переоцениваются и научно обосновываются пути нормализации микрофлоры ЖКТ, где на первое место выходят про- и пребиотические препараты [2]. Пищевые волокна в качестве пребиотиков создают дополнительную поверхность для фиксации микроорганизмов, что способствуют избирательной стимуляции роста и метаболической активности одной или нескольких групп бактерий [1]. В то же время известно, что основная часть рубцовой ферментации грубых кормов осуществляется микроорганизмами в контакте с пищевыми частицами. Поэтому микробные популяции, обладающие адгезивной активностью, имеют важнейшее значение для пищеварения, оказывая непосредственное влияние на степень и темпы переваримости пищевых субстратов. Локализация прикрепленных бактерий и характер адгезии зависят от многих факторов, среди которых существенная роль отводится физическим и химическим свойствам пищи [3, 4].

Таким образом, исследования в данной области необходимы для лучшего понимания механизма адгезии и нахождения приемов, повышающих интенсивность роста, развития, адгезивную и биохимическую активность микрофлоры, позволяющей полноценно использовать субстрат. Поэтому нами была проведена работа, направленная на разработку методики учета адгезированных микроорганизмов с помощью люминесцентного микроскопа и изучение влияния экструзионной обработки пищевых средств и использования минеральных добавок на способность микрофлоры к адгезии, что имеет немаловажное научное и практическое значение.

Объект и методы исследования

Исследования были выполнены в условиях лабораторий института биоэлементологии Оренбургского государственного университета. В качестве

объектов исследования были выбраны пшеничные отруби, соли металлов (CaCO_3 , $\text{CaSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{Ca}(\text{H}_2\text{PO}_4)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, $3\text{MgCO}_3 \cdot \text{Mg}(\text{OH})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$, NaHCO_3 , $\text{NaHSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$, Na_2HPO_4). Пшеничные отруби в натуральном виде и в смеси с разными минеральными добавками подвергали экструзионной обработке с использованием универсального одношнекового пресс-экструдера ПШ – 30/1, при давлении 10 МПа и температуре не более 120°C, при влажности смеси 30 %.

Подсчет адгезированных микроорганизмов на частичках субстрата с помощью люминесцентного микроскопа проводили в соответствии с собственной оригинальной методикой, которая включала: отбор и подготовку рубцовой жидкости; смешивание исследуемого образца (кормовой смеси, добавки) с подготовленной рубцовой жидкостью; инкубирование данной взвеси при температуре 38°C 3 ч периодически помешивая; центрифугирование исследуемых проб при 500 об/мин; приготовление препаратов из разведений супернатанта (10^{-3} - 10^{-5}) и окраску их водным раствором акридина оранжевого в течении 15 мин. Препараты исследовали с помощью люминесцентного микроскопа. Количество клеток, адгезированных на частичках субстрата, подсчитывали на 10 частичках и более чем в 3-х параллелях.

Переваримость сухого вещества определяли методом «in vitro» при помощи «искусственного рубца KPL 01» по методике Попова В.В., Рыбиной Е.Т. (1983) в модификации Г.И. Левахина, А.Г. Мещерякова (2003).

Полученные результаты были статистически обработаны с применением общепринятых методик при помощи пакета статистического анализа «STATISTICA 6».

Результаты и их обсуждение

В ходе исследований с помощью люминесцентного микроскопа дана количественная оценка адгезионной активности бактерий к частицам экст-

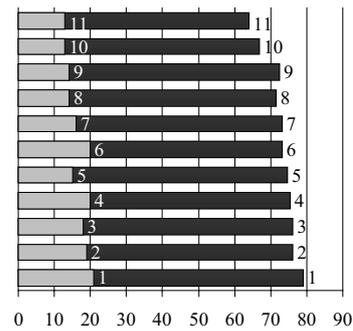
рудированных пищевых субстратов с металлосо-держателями добавками (рис. 1). В качестве контро-ля использовались пшеничные отруби без обра-ботки.

Отмечено, что к экструдированным субстра-там адгезия микроорганизмов была выше, чем к образцам без обработки. Это согласуется с ранее полученными данными и объясняется тем, что эк-струзия растительного волокна приводит к раз-рыву структурных полимерных молекул, что от-крывает дополнительные места связывания мик-роорганизмов с субстратом. Кроме того, внесение углекислых солей кальция, магния, натрия и фос-фата магния способствует более высоким показате-лям адгезии бактерий к частицам пищи. Воз-можно взаимодействие между бактериальной клеткой и двухвалентными катионами Ca^{+2} , Mg^{+2} а также Na^{+} является одним из механизмов, обес-печивающих адгезию.

Далее была определена переваримость сухо-го вещества *in vitro* исследуемых субстратов (рис. 1). Отмечено, что сочетание экструзионной обра-ботки и внесение углекислых солей кальция, на-трия, сульфата и фосфата магния способствует более высоким показателям переваримости сухо-го вещества. Полученные результаты дали возмож-ность предположить наличие корреляционной за-висимости между изучаемыми показателями.

Результаты корреляционного анализа между переваримостью исследуемых образцов и адгези-ей микроорганизмов микрофлоры ЖКТ к части-цам пищевых субстратов, подсчитанной с помо-щью люминесцентной микроскопии представле-ны на рисунке 2. Отмечен относительно высокий коэффициент корреляции ($r = 0,78$, $P < 0,01$). По-лученные данные могут рассматриваться как под-тверждение прямой функциональной зависимо-сти между числом адгезированных микроорганиз-мов и степенью переваримостью исследуемых пи-щевых минерально-растительных комплексов.

Таким образом, в ходе исследования разра-ботана и оптимизирована методика количествен-ного учета адгезированных на пищевых частицах микроорганизмов с использованием люминесцен-тного микроскопа. Установлена корреляционная



■ Переваримость *in vitro*, %

□ Количество адгезированных микроорганизмов, шт/частицу субстрата

1 – отруби пшеничные экструдированные (ОПЭ) + 10 % $CaCO_3$; 2 – ОПЭ + $NaHCO_3$ (10%); 3 – ОПЭ + $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (10%); 4 – ОПЭ + $Mg_3(PO_4)_2$ (10%); 5 – ОПЭ + $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ (10%); 6 – ОПЭ + $3MgCO_3 \cdot Mg(OH)_2 \cdot 3H_2O$ (10%); 7 – ОПЭ; 8 – ОПЭ + Na_2HPO_4 (10%); 9 – ОПЭ + Na_2HPO_4 (10%); 10 – ОПЭ + $Ca(H_2PO_4)_2 \cdot H_2O$ (10%); 11 – отруби пшеничные без обра-ботки

Рисунок 1. Количественная оценка адгезированных микроорганизмов, подсчитанная с помощью люминесцентного микроскопа

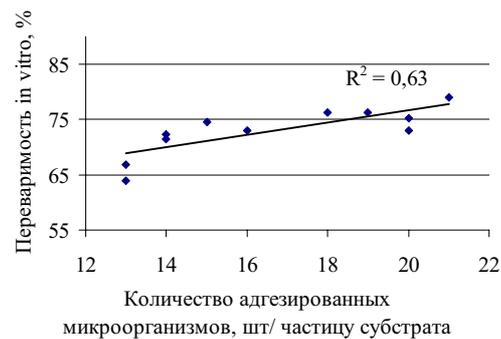


Рисунок 2. Корреляция переваримости исследуемых образцов и адгезии микроорганизмов, подсчитанной с использованием люминесцентного микроскопа

зависимость между количеством адгезированных микроорганизмов и переваримостью исследуемых кормов. Отмечено, что внесение солей $CaCO_3$, $NaHCO_3$, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $Mg_3(PO_4)_2$, $CaSO_4 \cdot 2H_2O$ способствуют более высоким показателям адгезии бактерий к частицам субстрата.

21.09.2011

Список литературы:

1. Доронин, А.Ф. Функциональное питание / А.Ф. Доронин, Б.А. Шендеров // М.: ГРАНТЬ. – 2002. – 296 с.
2. Коршунов, В.М. Дисбактериозы кишечника / В.М. Коршунов, В.В. Володин, Б.А. Ефимов // Детская больница. – 2000. – № 1. – С. 66-74.
3. Miron, J. Mechanisms of Rumen Cellulolytic Bacteria / J. Miron, D. Ben-Ghedalia, M. Adhesion Morrison // J. Dairy Sci. – 2001. – Vol. 84 – S. 1294-1309.
4. Weimer, P.J. Studies of the extracellular glycoalyx of the anaerobic cellulolytic bacterium *Ruminococcus albus* 7 / P.J. Weimer, N.P. Price, O. Kroukamp [et al.] // Appl Environ Microbiol. – 2006. – Vol. 72(12). – S. 7559-7566.

Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ в рамках ФЦП «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы по гранту № 16.740.11.0676 от 07.06.2011 г.

Сведения об авторах:

Кондакова Кристина Сергеевна, научный сотрудник института биоэлементологии
Оренбургского государственного университета, e-mail: lekva.vlasova2010@yandex.ru

Япрынцева Екатерина Владимировна, студент кафедры микробиологии
Оренбургского государственного университета, e-mail: katerina-orb@mail.ru

Дроздова Елена Александровна, доцент кафедры микробиологии
Оренбургского государственного университета, кандидат биологических наук,
e-mail: DRozdova15@mail.ru

Мищенко Наталия Валерьевна, научный сотрудник института биоэлементологии
Оренбургского государственного университета, кандидат биологических наук,
e-mail: inst_bioelement@mail.ru
460018, г. Оренбург, пр-т Победы, 13

UDC 636.085.57:579.6

Kondakova K.S., Yapryntseva E.V., Drozdova E.A., Mishchenko N.V.

THE DEPENDENCE OF THE DIGESTIBILITY OF MINERALS AND VEGETATION COMPLEXES ON THE DEGREE OF ADHESION OF MICROORGANISMS TO THE SURFACE OF FOOD PARTICLES

The survey was developed and tested methodology quantifying microorganisms adhered to feed particles by means of a fluorescence microscope. It is noted that the application of mineral supplementation has an effect on bacterial adhesion to the substrate. Established correlation between the number of adhered micro-organisms and food digestion study of substrates.

Key words: adhesion, digestibility, extrusion, fiber, metal salts.

Bibliography:

1. Doronin, A.F. Functional food / A.F. Doronin, B.A. Shenderov // M.: GRANT . – 2002 . – 296 sec.
2. Korshunov VM Dysbacterioses bowel / VM Korshunov, V.V. Volodin, B.A. Efimov // Children's Hospital. – 2000. – № 1. – P.66-74.
3. Miron, J. Mechanisms of Rumen Cellulolytic Bacteria / J. Miron, D. Ben-Ghedalia, M. Adhesion Morrison // J. Dairy Sci. – 2001. – Vol. 84 – S. 1294-1309.
4. Weimer, P.J. Studies of the extracellular glycocalyx of the anaerobic cellulolytic bacterium Ruminococcus albus 7 / P.J. Weimer, N.P. Price, O. Kroukamp [et al.] // Appl Environ Microbiol. – 2006. – Vol. 72(12). – S. 7559-7566.