

УДК 576.8.095.3:641.3:639:2

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОТХОДОВ ИЗ МОРЕПРОДУКТОВ В ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

Шмыгалева Т.П., Блинкова Л.П., Горобец О.Б., Мухин В.А., Новиков В.Ю.

НИИ вакцин и сывороток им. И.И. Мечникова РАМН, Москва, Россия

Проблема поиска белковых субстратов, пригодных для изготовления питательных сред, остается по-прежнему актуальной. В последние годы нами проведено изучение сине-зеленых и зеленых водорослей в качестве белковой основы микробиологических питательных сред. [1, 2, 3, 4]. Эти микроводоросли, а также бурые водоросли ламинария и фукус были испытаны как добавки к питательному агару. Обнаружены стимуляция или ингибирование роста микроорганизмов различных групп и воздействие некоторых водорослей на синтез пигментов бактерий.

Выявленные свойства добавок из бурых водорослей, которые в большом количестве существуют в акваториях Северных морей и Дальнего Востока, указывают на перспективность их использования в составе питательных сред. Кроме того, после отлова и переработки морепродуктов остается большое количество некондиционного материала (лома). Наиболее существенными объектами среди морепродуктов являются северная креветка, камчатский краб, исландский гребешок, кукумария (морской огурец).

Материалы и методы

Для приготовления жидких и плотных питательных сред использовали ферментативные гидролизаты северной креветки, камчатского краба, исландского гребешка, кукумарии. Испытания проводили в соответствии с «Методическими рекомендациями по контролю питательных сред», М., 1977 с использованием микробных отечественных и зарубежных тест-штаммов, рекомендованных ГИСК им. Л.А. Тарасевича для контроля качества питательных сред.

Оценку ростовых свойств плотных сред (1,5% питательные агары), приготовленных на основе указанных белковых гидролизатов, проводили через 24 часа выращивания при оптимальных для каждой культуры условиях по количеству сформировавшихся КОЕ клеток/мл среды, а также по способности синтезировать пигмент. Суспензию культур для посева готовили смывом 18-часовых культур с косяков 1,5% агара (коммерческая среда) физиологическим раствором. Далее использовали стандартизованную суспензию по ОСО 42-28-85П ГИСК им. Л.А. Тарасевича. Жидкие среды тестировали после 48 часов выращивания культур, определяя оптическую плотность (ОП) суспензии ($\lambda=540$ нм, кюветы - 10 мм).

Контролем в экспериментах были 1,5% питательный агар и бульон, белковой основой которых являлся ферментативный гидролизат каспийской кильки (НПО «Питательные среды», Дагестан).

Результаты подвергали статистической обработке с применением параметрических методов статистики [5].

Результаты и обсуждение

Биохимический анализ гидролизатов этих морских организмов (табл. 1) свидетельствует об их высокой питательной ценности. Так, помимо белковой составляющей имеется значительное количество незаменимых аминокислот, витаминов, микроэлементов. Сравнение химического состава ферментативных гидролизатов из указанных морепродуктов и ПГРМ (пептический гидролизат рыбной муки), который используется в качестве белковой основы промышленных питательных сред, выявило наиболее высокое

содержание белка у кукумарии. По аминокислотному составу эти гидролизаты также имели характерные отличия. Так, в гидролизате северной креветки доминировал глицин, у морского гребешка - лейцин, у краба - пролин. ПГРМ существенно уступал им по многим показателям.

Результаты экспериментов, проведенных с выращиванием культур на 1.5% питательных агарах, которые приготовлены на белковых основах из отходов морепродуктов, представлены в таблице 2.

Как видно из таблицы 2, тест-штаммы *S.flexneri* NCTC 8516 и *S.sonnei* "S form" на плотной среде имели более высокий выход биомассы на среде из кукумарии (среда №5) ($6,45 \pm 0,90 \times 10^7$ КОЕ/мл и $3,16 \pm 0,47 \times 10^7$ КОЕ/мл). Эти результаты достоверно ($p < 0,05$) отличались от данных по ростовым свойствам других сред, за исключением контрольной среды. Экспериментальная среда из кукумарии обеспечивала концентрацию микроорганизмов, статистически однозначную с коммерческим питательным агаром (контроль). Следует отметить, что с учетом вариации средние показатели КОЕ/мл среды на основе креветки (среды № 1 и №2) близки к аналогичным величинам в контроле.

Изучение пигментирования на этих средах показало (табл. 2), что отсутствовал синтез липохромного золотистого пигмента у *S.aureus* ATCC 6538P, желтого у *Mluteus* NCTC 2665, сине-зеленого пигмента у *Ps.aeruginosa* 27/99 и красного пигмента у *S.marcescens* Ia на среде с гидролизатом из исландского гребешка (среда №3). На средах 1,2,4,5 и в контроле пигментообразование соответствовало стандартному кутьурапному признаку гота иногда было несколько слабее.

Помимо этого было проведено культивирование тест-штаммов *S.pyogenes* Dick 1 и *C.xerosis* 1911 на питательных бульонах, основу которых составляли гидролизаты из указанных морепродуктов. Визуальная оценка цветности жидких сред по 5-балльной системе указывает, что наиболее окрашенными были бульоны на основе гидролизатов из отходов камчатского краба (5+), морского гребешка (4+). Окраска питательных бульонов с использованием гидролизатов из кукумарии и креветки оказалась сходной с контрольным бульоном.

Результаты экспериментов, в которых концентрацию микробных клеток оценивали по оптической плотности через 48 часов выращивания, представлены в таблице 3. Как видно из табл. 3, прихотливый штамм *S.pyogenes* Dick-1 имел слабый рост на коммерческой среде. Среди экспериментальных сред статистически однозначные результаты получены при выращивании этой тест-культуры на средах 1,2,4,5. Питательный бульон из исландского гребешка оказался менее пригодным для роста как *S.pyogenes* Dick 1, так и *C.xerosis* 1911. Рост коринебактерии на других белковых основах, включая контрольную среду, оказался на одном количественном уровне.

Таким образом, использование испытанных нами гидролизатов из отходов морских промыслов в составе питательного агара питательного бульона позволяет выделить как наиболее пригодные для дальнейшего изучения лом креветки, а также отходы камчатского краба и кукумарии.

Реферат

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ОТХОДОВ ИЗ МОРЕПРОДУКТОВ В ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

В работе представлены результаты изучения отходов переработки морепродуктов как компонентов питательных сред для выращивания микроорганизмов. Показано, что использование испытанных нами гидролизатов из отходов морских промыслов в составе питательного агара питательного бульона позволяет выделить как наиболее пригодные для дальнейшего изучения лом креветки, а также отходы камчатского краба и кукумарии.

RECOVERY FROM SEAFOODS IN NUTRIENT MEDIUMS

In work results of studying of processing waste of seafoods as components of nutrient mediums for cultivation of microorganisms are presented. It is shown, that use of the hydrolysates tested by us from waste of sea crafts in structure of nutrient agar of nutrient broth allows to evolve as the most suitable for the further studying a breakage of the shrimp, and also waste of the Kamchatka crab and kukumaria.

Таблица 1. Химический состав гидролизатов и соотношение молекулярных фракций белковых веществ % от массы навески

Показатели	Отходы промысла гребешка	«Лом» северной креветки	Отходы промысла краба	Кукумария (целиком)	Панкреатический гидролизат из рыбы ОАО «Протеин»
Влага	0,43	0,32	1,36	1,66	2,00
Липиды	0,56	0,72	0,01	0,00	0,80
Зола	12,6	15,3	8,94	6,74	17,4
Вещества белковой природы	86,4	84,7	89,7	91,6	79,8
белки с ММ > 150 кДа	0,67	0,86	0,46	0,95	0,79
пептиды с ММ < 4 кДа	50,8	51,0	60,5	62,1	57,7
свободные аминокислоты	34,9	32,8	28,7	28,5	21,3

Таблица 2. Результаты выращивания тест-культур на плотных средах из отходов морепродуктов (через 24 часа)

№ п/п	Среды на основе белковых гидролизатов из отходов	Количество микроорганизмов (x107КОЕ/мл)		Активность синтеза пигментов, условные единицы			
		S.flexneri 1a NCTC 8516	S.sonnei "S form"	S.aureus ATCC 6538P	M.luteus NCTC 2665	Psaeraginososa 27/99	S.marcescens la
1	Сыро-мороженая креветка	2,68 ±0,40	2,6 ± 0,39	+	+	+	+
2	Варено-мороженая креветка	3,03 ±0,42	2,97 ±0,40	+	+	+	+
3	Исландский гребешок	1,84 ±0,20	1,22 ±0,17	—	—	—	—
4	Камчатский краб	1,1 ±0,1	1,24 ±0,18	±	±	±	+
5	Кукумария	6,45 ±0,90	3,16 ±0,41	±	+	±	+
Контроль	Питательный агар на гидролизате из каспийской кильки (коммерческая среда)	4,3 ±0,55	4,3 ±0,64	+	+	+	+

Таблиця 3. Концентрація мікроорганізмів при вирощуванні в бульоне на основі гідролізатів із морепродуктів (через 48 годин)

№ п/п	Белковый гидролизат в среде	Визуальная характеристика сред		Концентрация микроорганизмов	
		Цвет среды	Интенсивность	<i>S.pyogenes</i> Dick 1	<i>C.xerosis</i> I911
1	Сыро-мороженая креветка	Светло-коричневый	2+	0,20 ±0,01	1,1 ±0,1
2	Варено-мороженая креветка	Светло-коричневый	1+	0,19 ±0,01	1,1 ±0,1
3	Исландский гребешок	Темно-коричневый	4+	0,13 ±0,01	0,88 ±0,09
4	Камчатский краб	Темно-коричневый	5+	0,21 ± 0,01	1,15 ±0,1
5	Кукумария	Светло-коричневый	3+	0,21 ± 0,01	1,17±0,1
Контроль	Питательный бульон (коммерческая среда)	Светло-коричневый	2+	0,04 ±0,01	0,85 ±0,09

*) Примечание: Оценка по 5-балльной системе.

Литература

- [1] Блинкова Л.П., Бутова Л.Г., Ахапкина И.Г. и др. Экологически чистые питательные среды. В сб.: «Принципы и практика борьбы с холерой в республике Дагестан. Актуальные вопросы разработки микробиологических питательных сред и тест-систем». Махачкала, 1994.
- [2] Горобец О.Б. Изучение пищевых добавок из водорослей в питательных средах. Автореф. дис. канд. мед. наук. М., 2000, 24 с.
- [3] Ахапкина И.Г., Блинкова Л.П., Бутова Л.Г. Культивирование *Pseudomonas aeruginosa* на средах с использованием ферментативного гидролизата хлореллы в качестве питательной основы. Журн. микробиол. 2002, 5: 67-68.
- [4] Блинкова Л.П., Горобец О.Б., Батуро А.П. Выявление биологически активных веществ с антагонистическим и стимулирующим действием у *Spirulina platensis*. Журн. микробиол. 2002, 5: 11-15.
- [5] Ашмарин И.П., Воробьев А.А. Статистические методы в микробиологических исследованиях. М., Медгиз, 1962, 179 с.