УДК 579.62

Т.Н. Орлова, А.Н. Иркитова, Д.Е. Дудник, А.В. Гребенщикова Т.N. Orlova, A.N. Irkitova, D.Ye. Dudnik, A.V. Grebenshchikova

# ВЛИЯНИЕ ЭКСТРАКТА ОДУВАНЧИКА НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ ПРОБИОТИЧЕСКОГО ШТАММА *L. ACIDOPHILUS* ДЛЯ СОЗДАНИЯ СИНБИОТИКА ДЛЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННЫХ ЖИВОТНЫХ

# THE EFFECT OF DANDELION EXTRACT ON THE PHYSICOCHEMICAL AND MICROBIOLOGICAL INDICES OF THE PROBIOTIC STRAIN *L. ACIDOPHILUS* FOR FARM ANIMALS

**Ключевые слова:** Lactobacillus acidophilus, пробиотики, синбиотики, экстракт, одуванчик, лактобациллы, животноводство, кислотность, пробиотические микроорганизмы.

Одной из серьезных проблем животноводства является проблема возникновения устойчивости у патогенной микрофлоры на фоне массового использования антибиотиков. Решение данной проблемы заключается в использовании пробиотиков, которые способны подавлять развитие патогенов и положительно влиять на макроорганизм. В их состав входят различные микроорганизмы, но наиболее оптимальными и безопасными являются бактерии - представители нормальной микрофлоры кишечника, такие как лактобациллы. Показано влияние различных концентраций экстракта одуванчика на физико-химические и микробиологические показатели Lactobacillus acidophilus. Для исследования был использован штамм L. acidophilus B-2515 из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ). Оценивали влияние экстракта одуванчика в концентрациях 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 0,9; 1; 2; 3% от объема пробы. У полученных образцов проверяли скорость образования сгустка, титруемую и активную кислотности, а также число КОЕ – колониеобразующих единиц в см<sup>3</sup>. В пробах с концентрациями экстракта с 0,7 по 3% происходило расслоение молока и образование осадка, поэтому их не использовали для дальнейшего исследования. Для колб с концентрациями 0,1 и 0,3% не отмечено положительных изменений по сравнению с контролем: значения времени образования сгустка не отличаются от контроля, численность клеток и титруемая кислотность ниже контроля, а активная кислотность выше. Для концентрации 0,5%, напротив, было отмечено стимулирующее действие экстракта одуванчика на L. acidophilus. При данной концентрации были получены лучшие значения времени образования сгустка (3,5 ч), численности клеток (2,8×108 КОЕ/см<sup>3</sup>), титруемой и активной кислотности  $(76,16\pm1,74$ °Т и  $4,40\pm0,04$  соответственно), в связи с чем

такая комбинация пробиотика и пребиотика может быть рекомендована для создания синбиотика.

**Keywords:** Lactobacillus acidophilus, probiotics, sinbiotics, extract, dandelion, lactobacilli, animal husbandry, acidity, probiotic microorganisms.

The problem of the emergence of resistance in pathogenic microflora due to the massive use of antibiotics is one of the serious problems of animal husbandry. The use of probiotics that can inhibit the development of pathogens and positively affect the macroorganism is a solution to this problem. Various microorganisms are part of the probiotics, but the most optimal and safe are bacteria - representatives of the normal intestinal microflora such as lactobacilli. The influence of dandelion extract on the physicochemical and microbiological characteristics of the probiotic L. acidophilus strain are shown in this research. L. acidophilus B-2515 strain from Russian National Collection of Industrial Microorganisms was used for research. Dandelion extract was used in concentrations of 0.1%, 0.3%, 0.5%, 0.7%, 0.9%, 1%, 2%, 3% of the sample volume. The clot formation rate, titratable and active acidity, and the number of CFU - colony forming units in cm<sup>3</sup> were checked for the samples. The concentrations of the extract from 0.7 to 3% caused the separation of milk and the formation of a precipitate, so they were not used for further studies. For flasks with concentrations of 0.1% and 0.3%, there were no positive changes compared with the control: the clot formation rate did not differ from the control, the number of cells and titratable acidity were lower than the control, and the active acidity was higher. In contrast, dandelion extract at a concentration of 0.5% had a stimulating effect on L. acidophilus. The best values of clot formation time (3.5 hours), cell number (2.8 × 108 CFU cm<sup>3</sup>), titratable and active acidity (76.16  $\pm$  1.74°T and 4.40  $\pm$  0.04, respectively) were obtained at a 0.5% concentration. This combination of probiotic and prebiotic may be recommended for inclusion in a synbiotic.

Орлова Татьяна Николаевна, аспирант, каф. частной зоотехнии, Алтайский государственный аграрный университет; н.с., Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий, г. Барнаул. E-mail: orlova\_tn\_92@ mail ru

**Иркитова Алёна Николаевна**, к.б.н., доцент, каф. экологии, биохимии и биотехнологии, Алтайский государственный университет. E-mail: Elen171987@mail.ru.

Дудник Дина Евгеньевна, магистрант, Алтайский государственный университет. E-mail:dudnik-dina@mail.ru. Гребенщикова Ангелина Владимировна, магистрант, Алтайский государственный университет. E-mail: gelishka96@mail.ru.

**Orlova Tatyana Nikolayevna,** post-graduate student, Altai State Agricultural University; Staff Scientist, Federal Altai Scientific Center of Agro-Biotechnologies, Barnaul. E-mail: orlova\_tn\_92@mail.ru.

**Irkitova Alena Nikolayevna**, Cand. Bio. Sci., Assoc. Prof., Chair of Ecology, Biochemistry and Biotechnology, Altai State University. E-mail: Elen171987@mail.ru.

**Dudnik Dina Yevgenyevna**, master's degree student, Altai State University. E-mail:dudnik-dina@mail.ru.

**Grebenshchikova Angelina Vladimirovna,** master's degree student, Altai State University. E-mail: gelish-ka96@mail.ru.

#### Введение

В настоящее время в животноводстве существует проблема применения антибиотиков, связанная с появлением множественной лекарственной резистентности у патогенных микроорганизмов [1, 2]. В связи с этим в качестве альтернативы антибиотикам применяются пробиотические препараты, которые помимо антагонистической активности обладают такими полезными свойствами, как способность восстанавливать кишечную микрофлору и укреплять иммунитет животных, а также оказывать положительное влияние на их продуктивность [3, 4]. Кроме того, использование пробиотиков способствует повышению качества продуктов животноводства [5].

Основу пробиотических препаратов составляют различные группы микроорганизмов: дрожжи, спорообразующие и молочнокислые бактерии [6]. Кроме того, для повышения эффективности пробиотики дополняют различными пребиотиками, например, растительными экстрактами, получая синбиотики [7].

Наиболее безопасными пробиотическими микроорганизмами являются лактобациллы и бифидобактерии, так как они являются частью нормальной микрофлоры кишечника [8]. Однако лактобациллы более устойчивы к внешнему воздействию в отличие от бифидобактерий, что делает их наиболее оптимальной основой для пробиотика.

В связи с вышеизложенным целью исследования являлось изучение влияния экстракта одуванчика на физико-химические и микробиологические показатели пробиотического штамма

L. acidophilus для создания синбиотика для сельскохозяйственных животных.

#### В задачи входило:

- 1) изучить влияние экстракта одуванчика на физико-химические и микробиологические показатели *L. acidophilus*;
- 2) подобрать концентрацию экстракта, оказывающую максимальный положительный эффект на *L. acidophilus*.

#### Материалы и методы

Объектом исследования являлся штамм L. acidophilus B-2515 из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (ВКПМ).

Производитель экстракта одуванчика – коммерческая фирма «Экстракты Алтая».

Культивирование *L. acidophilus* проводили на обезжиренном молоке (115 г сухого молока на 1 литр дистиллированной воды) и MRS-агаре [9]. Для определения титруемой кислотности использовали 0,1 Н раствор NaOH и 1%-ный раствор фенолфталеина; анализ — на цифровом титраторе Biotrate DE-M 18. Активную кислотность определяли с помощью pH-метра Mettler-Toledo Five Go FG2.

Экстракт одуванчика вносили в обезжиренное молоко в количестве 0,1; 0,3; 0,5; 0,7; 0,9; 1; 2; 3%. В каждую пробу добавляли закваску. Доля закваски *L. acidophilus* составляла 5%. Опытные колбы инкубировали при 40°C в термостате «Binder BD 115» в течение 3,5-4 ч.

Подсчет численности проводили на MRSагаре. Посевы культивировали при 40°С в течение 72 ч.

Влияние концентрации экстракта одуванчика
на физико-химические и микробиологические показатели L. Acidophilus

Концентрация	Время образова-	Титруемая	Активная кислот-	Численность,
экстракта одуванчика, %	ния сгустка, ч	кислотность, °Т	ность, ед. рН	KOE/см <sup>3</sup>
0 (контроль)	4	70,58±1,89	4,46±0,03	1,8×10 <sup>8</sup>
0,1	4	60,28±1,34	4,53±0,05	1,3×10 <sup>8</sup>
0,3	4	67,20±1,30	4,61±0,07	1,5×10 <sup>8</sup>
0,5	3,5	76,16±1,74	4,40±0,04	2,8×10 <sup>8</sup>

## Результаты и их обсуждение

Из отобранных для исследования концентраций экстракта одуванчика только 3 минимальные концентрации оказались пригодны для внесения культуры *L. acidophilus*. В пробах с концентрациями экстракта с 0,7 по 3% происходило расслоение молока и образование осадка, что сделало невозможным использование данных концентраций для дальнейшего эксперимента.

Для проб с концентрацией экстракта 0,1; 0,3; 0,5% были исследованы время образования сгустка, титруемая и активная кислотности, численность клеток (число КОЕ – колониеобразующих единиц в см³) (табл.).

При культивировании на обезжиренном молоке пробы с 0,1 и 0,3% экстракта образовывали качественные сгустки за 4 ч, как и контроль. Проба с концентрацией 0,5% обладала наименьшим временем свертывания молока — 3,5 ч.

Кислотообразующая способность исследуемых проб варьировала. Пробы с концентрацией экстракта 0,1 и 0,3% характеризовались сниженным кислотообразованием по сравнению с контролем. В отличие от них проба с концентрацией 0,5% опережала контроль по этому показателю – высокая титруемая и низкая активная кислотности.

По уровню численности проба с концентрацией 0,5% также показала результат выше контроля. Концентрации 0,1 и 0,3% не оказали положительного влияния на количество клеток в пробе.

#### Заключение

Таким образом, экстракт одуванчика способен оказывать стимулирующее действие на *L. acidophilus*. Наиболее оптимальный процент экстракта одуванчика составил 0,5%. При данной концентрации были получены лучшие значения времени образования сгустка (3,5 ч), численности клеток (2,8×108 КОЕ/см³), титруемой и активной кислотности (76,16±1,74°T и 4,40±0,04 соответственно), в связи с чем такая комбинация пробиотика и пребиотика может быть рекомендована для создания синбиотика.

#### Библиографический список

- 1. Щепеткина, С. В. Целесообразность применения пробиотиков у разных видов животных / С. В. Щепеткина, О. А. Ришко. Текст: непосредственный // Инновации в АПК: проблемы и перспективы. 2017. № 4 (16). С. 203-212.
- 2. Дускаев, Г. К. Использование пробиотиков и растительных экстрактов для улучшения продуктивности жвачных животных (обзор) / Г. К. Дускаев, Г. И. Левахин, В. Л. Королёв, Ф. Х. Сиразетдинов. Текст: непосредственный // Животноводство и кормопроизводство. 2019. Т. 102. № 1. С. 136-148.
- 3. Петраков, Е. С. Биологические свойства лактобацилл кишечной микрофлоры и их значение в нормализации физиологических функций у сельскохозяйственных животных / Е. С. Петраков, Н. С. Петракова // Проблемы биологии продуктивных животных. 2014. № 2. С. 5-31.
- 4. Папикян, Т. А. Разработка комплексной пробиотической кормовой добавки на основе

- вторичного сырья переработки моркови / Т. А. Папикян, Ю. А. Овчинникова. Текст: непосредственный // Аллея науки. 2017. № 2 С. 262-265.
- 5. Musa, H., Wu, S., Zhu, C., Seri, H., Zhu, G. (2009). The Potential Benefits of Probiotics in Animal Production and Health. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 8. 313-321.
- 6. Fijan, S. (2014). Microorganisms with Claimed Probiotic Properties: An Overview of Recent Literature. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 11. 4745-4767. 10.3390/ijerph110504745.
- 7. Казарян, Р. В. Перспективные направления применения пробиотиков для создания полифункциональных кормовых добавок / Р. В. Казарян, А. С. Бородихин, М. В. Лукьяненко [и др.]. Текст: непосредственный // Новые технологии. 2018. № 2. С. 116-121.
- 8. Vlasova, A., Kandasamy, S., Chattha, K., Rajashekara, G., Saif, L. (2016). Comparison of probiotic lactobacilli and bifidobacteria effects, immune responses and rotavirus vaccines and infection in different host species. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 172. 10.1016/j.vetimm.2016. 01.003.
- 9. De Man, J.C., Rogosa, M., Sharpe, M.E. (1960). A medium for the cultivation of lactobacilli. *Journal of Applied Bacteriology*. – 1960. – V. 23. – P. 130-135.

### References

- 1. Shchepetkina, S.V. Tselesoobraznost primeneniya probiotikov u raznykh vidov zhivotnykh / S.V. Shchepetkina, O.A. Rishko // Innovatsii v APK: problemy i perspektivy. 2017. No. 4 (16) S. 203-212.
- 2. Duskaev, G.K. Ispolzovanie probiotikov i rastitelnykh ekstraktov dlya uluchsheniya produktivnosti zhvachnykh zhivotnykh (obzor) / G.K. Duskaev,

- G.I. Levakhin, V.L. Korolev, F.Kh. Sirazetdinov // Zhivotnovodstvo i kormoproizvodstvo. 2019. T. 102. No. 1. S. 136-148.
- 3. Petrakov, E.S. Biologicheskie svoystva laktobatsill kishechnoy mikroflory i ikh znachenie v normalizatsii fiziologicheskikh funktsiy u selskokhozyaystvennykh zhivotnykh / E.S. Petrakov, N.S. Petrakova // Problemy biologii produktivnykh zhivotnykh. 2014. No. 2. S. 5-31.
- 4. Papikyan, T.A. Razrabotka kompleksnoy probioticheskoy kormovoy dobavki na osnove vtorichnogo syrya pererabotki morkovi / T.A. Papikyan, Yu.A. Ovchinnikova // Alleya nauki. 2017. No. 2 S. 262-265.
- 5. Musa, H., Wu, S., Zhu, C., Seri, H., Zhu, G. (2009). The Potential Benefits of Probiotics in Animal Production and Health. *Journal of Animal and Veterinary Advances*. 8. 313-321.
- 6. Fijan, S. (2014). Microorganisms with Claimed Probiotic Properties: An Overview of Recent Literature. *International Journal of Environmental Research and Public Health*. 11. 4745-4767. 10.3390/ijerph110504745.
- 7. Kazaryan, R.V. Perspektivnye napravleniya primeneniya probiotikov dlya sozdaniya polifunktsionalnykh kormovykh dobavok / R.V. Kazaryan, A.S. Borodikhin, M.V. Lukyanenko, A.D. Achmiz, A.N. Matvienko // Novye tekhnologii. 2018. No. 2. S. 116-121.
- 8. Vlasova, A., Kandasamy, S., Chattha, K., Rajashekara, G., Saif, L. (2016). Comparison of probiotic lactobacilli and bifidobacteria effects, immune responses and rotavirus vaccines and infection in different host species. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 172. 10.1016/j.vetimm.2016. 01.003.
- 9. De Man, J.C., Rogosa, M., Sharpe, M.E. (1960). A medium for the cultivation of lactobacilli. *Journal of Applied Bacteriology*. – 1960. – V. 23. – P. 130-135.

