

ИССЛЕДОВАНИЕ БАКТЕРИЦИДНОГО ДЕЙСТВИЯ СУСПЕНЗИИ ХЛОРЕЛЛЫ НА МИКРОБИОТУ ПИВОВАРЕННОГО ЯЧМЕНЯ

*Белокурова Елена Сергеевна, доцент,
Левчук Ольга Романовна, магистрант,
Кузьмина Диана Романовна, магистрант,
Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого*

***Аннотация:** статья посвящена исследованиям бактерицидных свойств суспензии микроводоросли *Chlorella vulgaris*, содержащей до 100 млн клеток в 1 мл, на микробиоту пивоваренного ячменя. Обработка раствором хлореллы в течение 30 минут позволяет снизить общее количество микроорганизмов и ингибировать споры плесневых грибов родов *Aspergillus* и *Mucor*.*

***Ключевые слова:** ячмень пивоваренный, микробиота, суспензия хлореллы, мицелиальные грибы*

Введение. Ячмень (от лат. *Hordeum*) – род растений семейства Злаки, является одной из древнейших зерновых культур, которая возделывается человеком. Достоинствами этой культуры привлекательными для сельхозпроизводителей, является её неприхотливость к условиям выращивания и относительно короткий период созревания, позволяющий выращивать ячмень в разных регионах Российской Федерации. Это привело к тому, что наша страна по итогам 2020 года заняла первое место в мире по валовому сбору ячменя - 20,6 млн тонн зерна. На втором месте Австралия - 11 млн тонн. На третьем месте – Канада со сбором зерна в 10,7 млн тонн. Собирая большой урожай ячменя, наша страна много выращенного зерна продаёт и входит в первую тройку стран-экспортеров ячменя [1].

Ячмень возделывают для пивоваренных и фуражных целей. Пивоваренный ячмень на мировом рынке ценится выше фуражного, поэтому его выгоднее выращивать, так как он стоит дороже. В настоящее время в России выращиванием ячменя на пивоваренные цели занимаются Рязанская, Тульская, Белгородская, Воронежская, Курская, Липецкая, Орловская, Тамбовская, Волгоградская, Самарская, Саратовская, Ростовская, Оренбургская, Челябинская, Омская области, Республика Татарстан, Краснодарский край и Республика Башкортостан. Однако лучшие пивоваренные ячмени получают в Центрально-Черноземном районе.

На качество пивоваренного ячменя и на его показатели при хранении и транспортировке, что очень важно при поставках ячменя на экспорт, большое влияние оказывает обсеменённость зерна микроорганизмами. В составе микробиоты ячменя пивоваренного имеются различные бактерии, плесневые

грибы и дрожжи. По своему воздействию на зерновую массу встречающиеся в ней микроорганизмы можно разделить на три группы: сапрофитные, фитопатогенные, патогенные для животных или человека.

Основную часть микроорганизмов в зерновой массе ячменя пивоваренного составляют сапрофиты, нуждающиеся в различных органических соединениях. Некоторые из представителей этой группы способны при известных условиях питаться органическими веществами ячменного зерна и в процессе питания частично или полностью разрушать зерно, изменяя его физические свойства, биохимический состав, функционально-технологические показатели качества [2].

Из литературных источников известно, что на сохранность и качество зерна влияют главным образом грибы из родов *Aspergillus* и *Penicillium*, за что они получили название грибов хранения или плесеней хранения. В последние годы чаще всего ячмень поражают грибы рода *Fusarium*. Многие из микромицетов способны образовывать микотоксины - ядовитые продукты обмена веществ (метаболизма) плесневых грибов.

В последние годы проблема заражения зерновых культур плесневыми грибами встала с особой остротой. Так, по данным исследований Всероссийского НИИ защиты растений (ВИЗР): поражение зерна фузариозом и др. микозами и микотоксинами представляет очень серьёзную проблему, т.к. фитопатогенные грибки переносятся с семенами, заражают зерно в ходе вегетации растений, в период уборки и при хранении зерна. В последние годы значительно увеличилось количество ячменя пивоваренного, поражённого фузариозом [3].

В нашей работе проводились исследования по определению обеззараживающих свойств суспензии хлореллы для обработки зерен ячменя пивоваренного.

Материалы и методы исследования. В качестве объекта исследования были выбраны 2 сорта ячменя пивоваренного двурядного ярового отечественной селекции «Владимир» и «Суздалец», выращенные в Центрально-Черноземном регионе Российской Федерации.

Для исследования микробицидных свойств суспензии хлореллы сначала выращивали биомассу водоросли на питательной среде Тамия следующего состава (г/л): KNO_3 - 5,0; $\text{MgSO}_4 + 7\text{H}_2\text{O}$ - 2,5; KH_2PO_4 - 1,25 [3]. Питательная среда и растворы солей были приготовлены на основе дистиллированной воды и не подвергались стерилизации. Процесс выращивания проходил в лабораторных ферментерах объемом 1 л периодическим методом при искусственном освещении [4].

Затем выращенную биомассу хлореллы подвергали концентрированию. Суспензию хлореллы подвергали центрифугированию, отделяли воду и получали осадок с концентратом микроводоросли, содержащем до 100 млн клеток в 1 мл. Этой концентрированной суспензией обрабатывали зерна пивоваренного ячменя. Экспозиция составила 30 минут. В качестве контроля

служили образцы ячменя пивоваренного, не обработанные суспензией хлореллы.

Подсчёт количества клеток в суспензии проводили в камере Горяева. Покровное стекло камеры Горяева притирали к камере до появления так называемых ньютоновских колец. Затем суспензию хлореллы из пипетки осторожно вносили под покровное стекло в «бороздки» камеры, расположенные справа и слева от сетки, и проводили микроскопию на увеличении $\times 400$. Количество клеток микроводоросли подсчитывали, перемещая квадраты по диагонали. Подсчет клеток начинали через 3–5 мин после заполнения камеры. Данное время необходимо, чтобы клетки осели и при микроскопировании были видны в одной плоскости.

Контроль бактерицидного действия суспензии хлореллы на зерна ячменя пивоваренного проводили по таким микробиологическим показателям как КМАФАнМ и содержание дрожжей и плесеней. При определении показателей пользовались стандартными методами, разведения готовили методом титра. При определении КМАФАнМ рост микроорганизмов проходил на ГМФ – агаре при 37°C в течение 48-72 часов. При определении количественного содержания дрожжей и плесневых грибов использовали среду Сабуро, выращивали при 25°C в течение 120 часов.

При проведении исследований были приняты следующие обозначения: образец 1 – ячмень пивоваренный сорта «Владимир» необработанный; образец 2 – ячмень пивоваренный сорта «Владимир», обработанный суспензией хлореллы; образец 3 – ячмень пивоваренный сорта «Суздалец» необработанный; образец 4 – ячмень пивоваренный сорта «Суздалец», обработанный суспензией хлореллы. Результаты определения общего количества микроорганизмов, а также дрожжей и плесневых грибов представлены в таблице.

Таблица. Микробиологические показатели качества ячменя пивоваренного

Наименование образцов	КМАФАнМ, КОЕ/г	Количество дрожжей и плесеней, КОЕ/г
Образец 1	$1,72 \times 10^6$	$5,1 \times 10^4$
Образец 2	$5,60 \times 10^4$	$2,3 \times 10^3$
Образец 3	$2,15 \times 10^6$	$6,3 \times 10^4$
Образец 4	$8,23 \times 10^4$	$4,6 \times 10^3$

После выращивания проводили оценку выращенных колоний по культуральным и морфологическим свойствам. В необработанных образцах присутствовали грибы родов *Aspergillus*, *Mucor*. В образцах, обработанных суспензией хлореллы, плесневые грибы обнаружены не были.

Выводы:

Проведённые исследования показали, что обработка суспензией хлореллы концентрацией 100 млн клеток в 1 мл снижает микробную обсеменённость ячменя пивоваренного.

Изучение культуральных и морфологических характеристик микробиоты образцов ячменя пивоваренного, обработанных суспензией хлореллы, показало

отсутствие колоний мицелиальных грибов. Это свидетельствует о том факте, что полученная суспензия обладает фунгицидным действием.

Предпосевная обработка семенного пивоваренного ячменя суспензией хлореллы позволит уменьшить количество бактерий, ингибировать имеющиеся споры некоторых плесневых грибов, что позволит повысить устойчивость растения к стрессам и заболеваниям. Исследования в данном направлении продолжаются.

Библиографический список

1. Урожай зерна в России составил более 133 миллионов тонн, Прайм, Агентство экономической информации, 26 Февраля 2021
2. Белокурова Е.С. Ячмень пивоваренный Монография. Изд-во «Лань», 2019, 124 с.
3. Белокурова Е.С., Афолина А.З., Панкина И.А. *Lactobacillus acidophilus* - ингибиторы технически вредной микробиоты пивоваренного солода. // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия: Процессы и аппараты пищевых производств. 2017. №2. С. 50-57.
4. Методические рекомендации по изучению биохимических свойств одноклеточных зеленых водорослей (на примере *Chlorella vulgaris*) / И. А. Ильючик, В. Н. Никандров. – Пинск : ПолесГУ, 2020. – 29 с.

Investigation of the bactericidal effect of chlorella suspension on the microbiota of malting barley

E.S.Belokurova, associate professor, O.R.Levchuk, undergraduate, D.R.Kuzmina, undergraduate Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University Russia, 195251, St.Petersburg, Polytechnicheskaya, 29

*Abstract: The article is devoted to the study of the bactericidal properties of a suspension of microalgae *Chlorella vulgaris*, containing up to 100 million cells in 1 ml, on the microbiota of malting barley. Treatment with chlorella solution for 30 minutes reduces the total number of microorganisms and inhibits the spores of molds of the genera *Aspergillus* and *Mucor*.*

Keywords: Malting barley, microbiota, chlorella suspension, filamentous fungi