

Биология

УДК 576.852.24

А. С. АКОПЯН, О. А. ПАНОСЯН, И. Л. БАЗУКЯН

ВЫДЕЛЕНИЕ И ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ  
ИЗ ЗАКВАСОК МАЦУНА РАЗЛИЧНЫХ РЕГИОНОВ АРМЕНИИ

Из образцов мацуна, собранных в разных регионах Армении, выделены молочнокислые бактерии, относящиеся к родам *Lactobacillus* и *Streptococcus*. Изучены их биологические свойства и показана высокая антимикробная активность по отношению к грамположительным и грамотрицательным бактериям.

Большое разнообразие эколого-географических условий Армении с ее выраженной вертикальной зональностью способствовало развитию уникальных ассоциаций молочнокислых микроорганизмов в молочных продуктах, среди которых особое значение имеет мацун. На протяжении многих веков армяне готовили богатые белками традиционные кисло-молочные продукты, которые обладают значительной физиологической, в частности антибактериальной и антиоксидантной активностью [1–6]. Поэтому выделение и создание коллекции культур этих микроорганизмов, изучение их биологических свойств и выявление биотехнологического потенциала актуально и открывает новые перспективы для получения разных биопрепаратов.

**Материал и методика.** Объектами исследования являлись молочнокислые бактерии, выделенные нами из проб мацуна, взятого в мелких крестьянских хозяйствах различных сел на территории Армении. Выделение чистых культур бактерий проводилось на среде МРС [7] при 37 и 45<sup>0</sup>С для мезофильных и термофильных культур соответственно. Выделение молочнокислых бактерий осуществлялось методом накопительных культур и прямого высева разведенного образца мацуна на питательную среду [7]. Культуры поддерживались путем периодических пересевов на свежие питательные среды и хранились при 4<sup>0</sup>С.

Определение антибактериальных свойств выделенных чистых культур проводилось методом диффузии в агар с использованием цилиндриков [2]. В качестве тест-организмов брали представителей различных групп микроорганизмов: *Escherichia coli*, *Staphylococcus citreus*, *St. aureus*, *Salmonella typhimurium*, *Bacillus subtilis*, *B. subtilis*, *B. mesentericus*. После 24-часовой инкубации при температуре, оптимальной для развития тест-культуры, измеряли диаметр зоны отсутствия роста.

С целью идентификации молочнокислых бактерий использовали комплекс признаков: культуральных, морфологических, физиологических и биохимических. Тестирование признаков для диагностики культур осуществляли согласно общепринятым методам [8, 9]. Штаммы идентифицировались до вида с помощью диагностических ключей определителя Берги [8, 10] и с учетом характеристик этих бактерий в первоисточниках [2, 3].

**Результаты и обсуждение.** Зоны ингибирования роста ряда тест-организмов наиболее активными культурами представлены в таблице 1.

Таблица 1

Зоны подавления роста тест-организмов в мм

Тест-организм	№ культуры						
	10.2	28.2	49.1	53.1	54.1	58.5	59.2
<i>E. coli</i>	10	10	14	10	14	12	12
<i>S. citreus</i>	12	16	14	–	10	10	10
<i>S. aureus</i>	–	10	10	10	–	18	9
<i>S. typhimurium</i>	10	12	12	10	12	10	10
<i>B. subtilis</i>	–	10	–	–	–	20	–
<i>B. mesentericus</i>	14	–	18	18	18	22	16

Как видно из таблицы 1, почти все штаммы проявляли антагонистическую активность. Особенно можно отметить культуру 58.5, которая сильно угнетала рост *B. mesentericus*, *S. aureus* и *B. subtilis*. Кроме того, все культуры проявляли антагонизм также против *E. coli* и *S. typhimurium*. Рост грамположительных бактерий угнетался сильнее, чем грамотрицательных.

Целью дальнейших исследований была идентификация отобранных культур. Для определения их таксономического статуса исследовано более 10 диагностически важных культуральных, морфологических, физиологических и биохимических признаков.

Все бактерии представлены неподвижными, не образующими спор прямыми палочками (штаммы 10.2, 28.2, 53.1) или кокками (штаммы 49.1, 54.1, 58.5, 59.2), окрашивающимися по Граму положительно. Размеры лактобацилл варьируют в пределах 0,35–0,9 мкм × 1,26–11,84 мкм. Как лактобациллы, так и стрептококки образуют мелкие, чечевицеобразные или неправильные, гладкие, плоские, тусклые, бесцветные однородные колонии с ровным краем и диаметром 1,5–2 мм.

Культуры различаются по способности к росту на средах с различными концентрациями NaCl и разными источниками углерода, имеют разные интервалы pH и температуры роста. Большинство из выделенных культур являются мезофилами (37°C), некоторые растут также и при высоких температурах (45°C), т.е. являются термотолерантными. Термофильные культуры 10.2 и 53.1 растут при температурах 50°C и более. Помимо культуры 58.5, почти все культуры растут при 10°C.

Исследованные стрептококки более стойки к воздействию высоких значений pH и концентрации NaCl, чем лактобациллы. Так, культуры стрептококков 58.5 и 59.2, растущие в среде, содержащей NaCl в концентрации от 1 до 6,5%, толерантны по отношению к высоким значениям pH (табл. 2).

Все новые изоляты являются каталазо-отрицательными гомоферментативными бактериями. Газ на среде с глюкозой не образуют, нитриты из нитратов не восстанавливают, гиппуровокислый натрий не усваивают, желатину не расщепляют. Определение аргининдезаминазной активности этих культур показало, что только две культуры стрептококков (штаммы 58.5 и 59.2) образуют аммиак из аргинина. Среди изученных культур только штамм 58.5 восстанавливает метиленовый голубой.

Таблица 2

Некоторые физиологические признаки выделенных молочнокислых бактерий

Физиологические особенности		№ штамма						
		10.2	28.2	49.1	53.1	54.1	58.5	59.2
Рост при	2% NaCl	-	-	-	-	-	+++	+++
	6,5% NaCl	-	-	-	-	-	+++	+++
	pH 7,2	+	+	+	+	+	+	+
	pH 9,6	-	-	-	-	-	±	±
	10 <sup>0</sup> C	+++	+	+	+	+	-	+
	45 <sup>0</sup> C	+	+	-	+++	-	+++	+++
	50 <sup>0</sup> C	++	-	-	+++	-	-	-

Изучалась способность изолятов усваивать различные источники углерода. Все штаммы одинаково хорошо усваивают глюкозу и арабинозу. Данные по сбраживанию остальных сахаров представлены в таблице 3.

Таблица 3

Сбраживание углеводов молочнокислыми бактериями

№ штамма	Раффиноза	Сорбит	Глюконат	Мальтоза	Лактоза	Сорбоза	Манноза	Сахароза
10.2	+	+	+	-	+	-	+	+
28.2	+	+	+	-	+	-	+	+
49.1	±	+	+	0*	0	0	0	0
53.1	+	+	+	-	-	-	-	-
54.1	-	+	-	0	0	0	0	0
58.5	+	-	+	0	0	0	0	0
59.2	+++	+	-	0	0	0	0	0

\* Условное обозначение: 0 – не определено.

Согласно полученным данным, изученные штаммы относятся к родам *Lactobacillus* (53.1, 10.2, 28.2) и *Streptococcus* (49.1, 54.1, 58.5, 59.2). Предварительные данные позволяют отнести эти штаммы к следующим видам: *Lactobacillus lactis* (53.1), *L. casei* (10.2, 28.2), *Streptococcus cremoris* (49.1, 54.1), *Str. lactis* (58.5, 59.2).

Выделенные культуры сохраняются в коллекции культур микроорганизмов кафедры микробиологии и биотехнологии микроорганизмов и растений ЕГУ и послужат в дальнейшем объектом исследований с целью выявления природы вещества с антагонистической активностью.

Кафедра микробиологии и биотехнологии  
микроорганизмов и растений

Поступило 08.09.2006

## ЛИТЕРАТУРА

1. Ерзюкян Л.А. Биологические особенности некоторых рас молочнокислых бактерий. Ер.: Изд-во АН Арм. ССР, 1971, 210 с.
2. Квасников Е.И., Нестеренко О.А. Молочнокислые бактерии и пути их использования. М.: Изд-во АН Уз. ССР, 1975, 384 с.
3. Степаненко П.П. Микробиология молока и молочных продуктов. М.: ООО «Все для Вас-Подмосковье», 1999, 413 с.
4. Goh K.T., Haisman D.R., Archer R.H., Singh H. – Food Research International, 2005, v. 38, p. 605–613.
5. Deraz S.F., Karlsson E.N., Hedstrom M., Andersson M.M., Mattiasson B. – Journal of Biotechnology, 2005, v. 117, p. 343–354.
6. Mkrtumyan M.K., Bazukyan I.L., Panosyan O.A., Akopyan A.S., Karapetyan Yu.I. III Moscow Inter. Congress «Biotechnology: State of the art and prospects of development». 2005, part 2, p. 134.
7. Практикум по микробиологии. Под ред. Нетрусова А.И. М.: Изд-во АН РФ, 2005, 603 с.
8. Краткий определитель бактерий Берги. Под ред. Хоулота Дж.М. М.: Мир, 1980, 485 с.
9. Holt J.G., Krieg N.R., Sneath P.H. A., Staley J.T. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. V. 2. Baltimore, Hong-Kong, London, Sydney: The Williams and Wilkins Co., 1986, pp. 1043–1070, 1208–1234.
10. Хоулот Дж., Криг Н., Снит П., Стейли Дж., Уильямс С. Определитель бактерий Берги. В 2-х т. М.: Мир, 1997, 800 с.

Ա. Ս. ՀԱՎՈՐՅԱՆ, Հ. Հ. ՓԱՆՈՍՅԱՆ, Ի. Լ. ԲԱԶՈՒԿՅԱՆ

ՀԱՅԱՍՏԱՆԻ ՏԱՐԲԵՐ ՇՐՋԱՆՆԵՐԻ ՄԱԾՆԻ ՄԵՐԱՆՆԵՐԻ  
ԿԱԹՆԱԹՎԱՅԻՆ ՄԱՆԲԵՆԵՐԻ ԱՆՋԱՏՈՒՄՆ ՈՒ  
ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

### Ամփոփում

Հայաստանի տարբեր շրջաններից հավաքված մաժնի մուշկներից մեկուսացվել և ուսումնասիրվել են *Lactobacillus* և *Streptococcus* ցեղերին պատկանող կաթնաթթվային բակտերիաներ: Յույց է տրվել նրանց բարձր հակամանրէական ակտիվությունը ինչպես գրամդրական, այնպես էլ գրամբացասական մանրէների նկատմամբ:

A. S. HAKOBYAN, H. H. PANOSYAN, I. L. BAZUKYAN

ISOLATION AND STUDY OF LACTIC ACID BACTERIA FROM  
MATSON'S FERMENTS OF DIFFERENT REGIONS OF ARMENIA

### Summary

Matsun samples from different regions of Armenia were collected. Lactic acid bacteria belonging to genus *Lactobacillus* and *Streptococcus* were isolated and studied. Their high antibacterial activity against gram-positive and gram-negative bacteria has been shown.