

Լ. А. Ерзинкян, М. Ш. Пахлеванян, Е. А. Мурадян

К вопросу фенолостойкости *Lactobacterium acidophilum*

Как известно, не все микроорганизмы одинаково относятся к различным концентрациям фенола. Тогда как одни микроорганизмы лишь переносят определенные концентрации фенола, другие используют фенол как источник углерода для ассимиляции.

М. М. Калабина и Ц. И. Роговская (1934), М. М. Калабина (1934) проведенными опытами показали, что фенол может распадаться даже в дестиллированной воде при условии добавления 0,05%, солей азота и фосфора в качестве минерального питания, необходимого для жизнедеятельности бактерий. Упомянутые авторы констатировали распад фенола в нестерилизованной водопроводной воде при добавлении 10 и 50% фекальной жидкости без добавления каких-либо других азотистых и фосфорных солей. Было также установлено, что энергия распада фенола в разных условиях в фекальной жидкости происходит гораздо быстрее, чем в минеральных растворах, так как в фекальной жидкости находится огромное количество микроорганизмов. Во всех случаях опыта в растворах с фенолом были обнаружены: различные бактерии с их зооглейными скоплениями и различные простейшие. В опытных фенольных растворах бактерии главным образом питались растворенными в них органическими веществами, в том числе и фенолом, а простейшие — бактериями. Ими же было установлено, что оптимальная концентрация чистого фенола в минеральном растворе для развития бактерий колеблется в пределах 0,02—0,05%. Некоторые бактерии были обнаружены при более высоких концентрациях фенола, (от 0,1 до 0,3%), тогда как некоторые из флагеллят уже при

концентрации фенола выше (0,05%) развивались гораздо слабее. Из различных видов флагеллят встречались лишь единичные виды, которые выносили концентрации фенола в растворах до 0,15%. На основании проведенных опытов авторы приходят к выводу, что, как правило, бактерии переносят более высокие концентрации фенола, чем прооцессы.

Несмотря на то, что среди микроорганизмов бактерии относительно более выносливы к определенным концентрациям фенола, однако и среди них имеются различные формы и виды, которые неодинаково переносят различные концентрации фенола. Как известно, среди многих видов бактерий, молочнокислые проявляют относительно более высокую стойкость к определенным концентрациям фенола.

По нашим данным установлено, что палочковидные формы молочнокислых бактерий относительно более стойки к фенолу, чем коккообразные.

Из коккообразных форм относительно более сильнодействующие кислотообразующие расы — из группы гомоферментативных — *Streptococcus lactis* более выносливы к относительно высоким концентрациям фенола, чем слабо кислотообразующие расы из гетероферментативной группы — *Strept. cетоморрис*, *Strept. citrovorus*, *Strept. paracitrovorus*.

Как правило, акклиматизировавшиеся в кишечнике ацидофильные молочнокислые бактерии более выносливы к относительно высоким концентрациям фенола, чем обычные палочковидные формы молочнокислых бактерий, например, *Bact. bulgaricum*, *Bact. casei* и *Bact. mazupi*.

Фенолостойкость молочнокислых бактерий имеет и только теоретическое, но и важное практическое значение для определения приживаемости молочнокислых бактерий в желудочно-кишечном тракте человека и сельскохозяйственных животных.

Многочисленными работами отечественных и заграничных исследователей установлено, что не все молочнокислые бактерии хорошо приживаются в желудочно-кишечном тракте человека и животных, и что лучше всех приживаются ацидофильные молочнокислые палочки.

Однако опыт тех же исследователей показал, что молочнокислая ацидофильная палочка, культивируемая в течение 2—4 месяцев в лабораторных условиях *in vitro*, теряет способность приживаться в кишечнике, ввиду утраты фенолостойкости.

Некоторые исследователи пытались восстановить утраченную способность приживаться в кишечнике путем периодических пассажей ацидофильных молочнокислых палочек через организм человека и животных, однако эти работы не увенчались успехом.

Установлено, что ацидофильные бактерии, потерявшие способность приживаться в кишечнике, не растут в молоке с содержанием фенола выше 0,2%. Поэтому некоторые исследователи особое внимание начали уделять фенолостойкости ацидофильных бактерий, так как это свойство является характерным и отличительным признаком для естественных обитателей кишечника—молочнокислых ацидофильных бактерий.

H. R. Currان, L. A. Rogers и E. O. Whittier (1933) выяснили, что в томатно-пептонной среде Кэлпа ацидофильные молочнокислые бактерии растут при концентрации фенола от 0,25 до 0,4%, тогда как другие палочковидные молочнокислые бактерии, как *Bact. bulgaricum*, не растут даже при концентрации фенола 0,25%.

Аналогичные явления установлены и для индола. Так, например, ацидофильные молочнокислые бактерии растут при концентрации индола в растворах 1:900—1:1100, тогда как различные штаммы *Bact. bulgaricum* в этих концентрациях индола не растут.

В противовес вредным микроорганизмам молочнокислые бактерии весьма благотворно действуют на желудочно-кишечный тракт, уничтожая или приостанавливая действие вредных для здоровья микроорганизмов, создают условия для нормальной работы желудочно-кишечного тракта человека и животных.

Однако было доказано, что не все молочнокислые бактерии могут приспособливаться или развиваться в условиях желудочно-кишечного тракта, в особенности при

его заболеваниях, при общих нарушениях нормальных функций желудочно-кишечного тракта, вследствие развития в нем вредных для здоровья бактерий. Поэтому особо важное значение имеет выделение, подбор и воспитание таких молочнокислых бактерий, которые являются естественными обитателями желудочно-кишечного тракта или обладают высокой фенолостойкостью и легко приживаются в желудочно-кишечном тракте человека и животных.

Таким образом, учитывая важное значение получения активных штаммов молочнокислых бактерий в целях отбора из них наилучших фенолостойких штаммов для практического применения в медицине, одним из авторов настоящей статьи Л. А. Ерзиняном (1950, 1951 гг.) были изучены различные штаммы молочнокислых бактерий, выделенных из фекалий новорожденных детей и ягнят и из мазуна из различных районов Армянской ССР.

В результате микробиологических, биохимических и органолептических исследований из различных штаммов молочнокислых бактерий были отобраны 120 штаммов, которые по своим морфологическим, культуральным, биохимическим и органолептическим свойствам оказались активными молочнокислыми бактериями.

В настоящей работе мы приводим результаты исследования вышеупомянутых 120 различных штаммов молочнокислых бактерий, растущих в молоке с содержанием относительно высоких концентраций фенола (0,3—0,5%), сгруппированные в 7 таблицах. В таблице 1 приводятся средние цифровые данные 11—27 штаммов молочнокислых бактерий, растущих в молоке с фенолом (0,3%), выделенных из мазуна и фекалий новорожденных ягнят.

Средняя кислотность сгустка молока, без добавления фенола, составляет 154°Т , а максимальная — 288° , в то время как в сгустке молока с фенолом (0,3%) средняя кислотность 101°Т , а максимальная — 181° .

Как в таблице 1, так и во всех последующих таблицах, приводятся данные по динамике изменения титруемой кислотности сгустка молока, pH и величины клеток бактерий, растущих в молоке с содержанием от 0,071 до 0,5%.

фенола. В приведенных (в таблицах 1—7) средних цифровых данных мы наблюдаем определенную общую закономерность, указывающую на то, что с последовательным увеличением концентрации фенола в молоке уменьшается кислотность получаемого сгустка, соответственно увеличиваются pH и величины клеток бактерий.

Как видно из таблицы 1, в то время как величина клеток бактерий в сгустке молока, без добавления фенола, на 90% колеблется в пределах 2—20 микрон и лишь 10% клеток имеют величину 30—40 микрон в сгустке молока, содержащем 0,071%, фенола, количество клеток, достигающих до 20 микрон составляет 67,6%, при феноле 0,083—63,3%, 0,09—52%, 0,1—72,9%, 0,2—67,9% и 0,3—57,3%. Одновременно с этим соответственно увеличивается количество клеток величиною выше 20 микрон. Так, если в сгустке молока без добавления фенола количество клеток величиною 20—40 микрон составляет 10% от общего количества клеток, то в сгустке молока с содержанием 0,071% фенола это количество составляет 16,1%, при феноле 0,3 до 24%.

Если в сгустке молока с фенолом 0,071% величина самой большой клетки не превышала 60 микронов, то в молоке с фенолом 0,2% количество клеток размерами от 80 до 100 микрон составляет 8,9%, а в молоке с фенолом 0,3% количество клеток, величиною от 80 до 100 микрон, достигает до 9,2% от общего количества клеток бактерий.

В таблице 2 приведены средние цифровые данные 35 штаммов палочковидных форм молочнокислых бактерий, растущих в молоке с фенолом 0,4%, выделенных из мазуя и фекалий новорожденных детей и ягнят.

Средняя кислотность сгустка молока без фенола составляет 223°Т, а максимальная—317°Т, в то время как в сгустке молока с 0,4% фенола средняя кислотность равна 9°Т, а максимальная—137°Т. Как видим закономерная тенденция—уменьшение кислотности сгустка и увеличение размеров клеток с увеличением концентрации фенола в молоке наблюдается и в данной таблице. В то время как величина 99% клеток бактерий в сгустке молока без фе-

нола колеблется в пределах 2—20 микрон и лишь 1% клеток имеет величину выше 20—50 микрон, в сгустке молока с содержанием 0,083% фенола количество клеток, достигающих до 20 микрон, составляет 83,4%, при феноле 0,4% падает до 52,2%. Наряду с этим соответственно увеличивается количество клеток величиной выше 20 микрон. Так, если в сгустке молока без фенола количество клеток, величиною 20—50 микрон, составляет 1% от общего количества клеток, то в сгустке молока с содержанием 0,071% фенола это количество составляет 40%, а при феноле 0,3—23,1% и. др.

Если в сгустке молока с фенолом 0,071% величина самой большой клетки не превышает 50 микрон, то в молоке с фенолом 0,4% количество клеток, величиною 50—150 микрон, составляет 24,3%.

При сравнении градусов кислотности сгустков молока без фенола, получаемых вследствие жизнедеятельности фенолостойких молочнокислых бактерий с градусами кислотности сгустка молока с фенолом 0,1—0,3%, видно, что штаммы молочнокислых бактерий, обладающих низкой фенолостойкостью, в основном являются более слабыми кислотообразователями, чем штаммы бактерий, обладающие относительно высокой фенолостойкостью.

В таблице 3 приводим средние цифровые данные 6 штаммов ацидофильных молочнокислых бактерий, растущих в молоке с фенолом 0,5%, выделенных из фекалий новорожденных детей, а в таблицах 4 и 5 приводим средние данные 5 штаммов ацидофильных бактерий группы „А“ и 12 штаммов бактерий группы 317..., растущих в молоке при концентрации фенола 0,5%. Аналогичные данные о высокофенолостойких штаммах приводим в таблицах 6 и 7.

В литературе имеются данные об ацидофильных молочнокислых бактериях, растущих при концентрации фенола, максимум 0,4%, тогда как наши местные штаммы в большинстве растут в молоке при концентрации фенола 0,4—0,5%.

Как видно из таблиц 3, 4 и 5, величина клеток высокофенолостойких (0,5%) штаммов бактерий, выделенных

из фекалий новорожденных детей, в массе намного мельче, что особенно заметно у бактерий группы „А“ (табл. 4), у которых размеры клеток при концентрации фенола в молоке 0,12% не превышают $10 \times 0,8$ микрон. Закономерная тенденция постепенного уменьшения кислотности сгустка молока и увеличения величины клеток бактерий с увеличением концентрации фенола в молоке наблюдается особенно рельефно. Так, например, бактерии размерами $2-20 \times 0,8$ микрон, при концентрации фенола от 0—0,1% составляют 100% от общего числа клеток бактерий (табл. 3 и 4), при концентрации же 0,2% фенола они составляют 95,6% (табл. 3), 85,8% (табл. 4), 82,3% (табл. 5). При концентрации фенола в молоке 0,3% они составляют 72,4% (табл. 3), 81,3% (табл. 4) и 61,51% (табл. 5), а при концентрации фенола 0,4% они составляют 42,8% (табл. 3), 83,2% (табл. 4), 53,3% (табл. 5) и, наконец, при концентрации фенола 0,5% клетки бактерий, размерами 2—20 микрон, составляют 49,9% (табл. 3), 66,6% (табл. 4) и 58,8% (табл. 5).

Одновременно с увеличением концентрации фенола соответственно увеличивается количество клеток бактерий, размерами выше 20 микрон, в некоторых случаях достигающих до 100—120 и выше микрон.

В таблице 6 приводим средние цифровые данные 24 штаммов ацидофильных молочнокислых бактерий группы 313..., растущих в молоке с фенолом 0,5%, выделенных из фекалий новорожденных ягнят, а в таблице 7 приводим средние цифровые данные 11 штаммов палочковидных форм молочнокислых бактерий группы III б, растущих в молоке с фенолом 0,5%, выделенных из мацунов различных районов Армянской ССР.

Как видно из таблиц 6 и 7, закономерная тенденция последовательного уменьшения кислотности сгустка, с некоторыми колебаниями, и увеличения размеров клеток бактерий с увеличением концентрации фенола в молоке остается в силе и для высокофенолоустойчивых молочнокислых бактерий, выделенных из фекалий новорожденных ягнят и мацунов.

В литературе нет данных о высокофенолоустойчивых

штаммах молочнокислых бактерий, выделенных из фекалий новорожденных ягнят или мацуна.

Можно лишь встретить скудные данные о фенолостойкости *Bact. bulgacis* и то лишь растущих в молоке при концентрациях фенола до 0,25%.

Как видно из приведенных данных таблиц, средняя кислотность и размеры клеток высокофенолостойких молочнокислых бактерий, выделенных из фекалий новорожденных детей и ягнят и мацуна, очень сходны.

Так, средняя кислотность сгустка молока без добавления фенола составляет 219°C (табл. 6), 218°C (табл. 7), а минимальная — 162°C (табл. 6) и 166°C (табл. 7). Аналогичные данные мы имеем относительно величин основной массы клеток бактерий.

Так, например, размеры клеток бактерий в сгустке молока без добавления фенола на $96,8\%$ (табл. 6) и на $89,7\%$ (табл. 7) колеблются в пределах от $2-20 \times 0,6-0,8$ микрон и лишь $3,1\%$ (табл. 6) и $8,4\%$ (табл. 7) от общего количества клеток составляют клетки бактерий размерами от 20 до 40 микрон.

Из вышеприведенных данных таблиц видно, что среди молочнокислых палочковидных форм бактерий, выделенных из мацуна, встречаются штаммы бактерий, которые растут в молоке с содержанием фенола $0,4-0,5\%$, поэтому мы считаем ошибочным утверждавшееся мнение, будто только ацидофильные молочнокислые бактерии могут расти в молоке с содержанием фенола $0,4\%$. Мы полагаем, что ацидофильными бактериями могут считаться не только те молочнокислые бактерии, которые выделяются из содержимого кишечника человека и животных, но и те, которые попадают в молоко из окружающей среды, обладая высокой фенолостойкостью и способностью приживаться в кишечнике.

Выводы

1. Из молочнокислых бактерий палочковидные формы относительно более стойки к фенолу, чем коккообразные.
2. Выделенные из фекалий новорожденных детей и

Таблица 3
**Средняя, максимальная и минимальная кислотность по Т°, рН, спусткообразование и величина молочнокислых ацидо-
 фициальных бактерий, растущих в молоке с содержанием до 0,5% фенола.**
(В таблице приводятся средние цифровые данные бактерий, выделенных из фекалий новорожденных детей)

Колич. штамм.	Концентр. фенола в прио.	Кислотность по Т°			рН средний	рН максим, миним. мальши	Наличие густки	Величина клесток в микро- нах и соотношение по не- личию клесток в процен- тах
		средняя	максим. мальши	мини- мальная				
6	0,00	242	302	191	3,52	3,70	3,43	+
6	0,1	255	326	144	3,64	3,85	3,49	+
6	0,2	182	324	115	3,91	4,20	3,49	+
6	0,3	130	240	90	4,17	4,58	3,76	+
6	0,4	101	144	72	4,28	4,66	3,80	+
6	0,5	77	88	67	4,91	5,15	4,20	+
6	0,6	—	—	—	—	—	—	—

Таблица 2

Средняя, максимальная и минимальная кислотность по Т°, pH, сгустокобразование и величина молочнокислых бактерий, развивающихся в молоке с содержанием до 0,4% фенола.

(В таблице приводятся средние цифровые данные 35 штаммов бактерий, выделенных из фекалий новорожденных детей, занятых на машинах)

Tagalog

Средняя, максимальная и минимальная кислотность T° , рН, сгусткообразование и величина молочнокислых бактерий.

(В таблице приводятся средние цифровые данные 5 штаммов бактерий группы А, выделенных из фекалий новорож- развивающихся в молоке с содержанием до 0,5% фенола.

Таблица 5

Средняя, максимальная и минимальная кислотность по Т°, рН, сгусткообразование, величина молочно-кислых ацидофильных бактерий группы 317 ..., растущих в молоке, с содержанием до 0,5% фенола, (в таблице приводятся средние цифровые данные 4 и 12 плаггамм бактерий, выделенных из фекалий новорожденных детей)

Количество штаммов	Концентрация фенола в плаггаммах	Кислотность по Т°			рН	Наличие спустка	Величина клеток в микронах и соотношение по величине клеток в процентах
		средний	максим.	минимальный			
12	0,00	270	317	151	3,55	4,01	3,56 + 4—20×0,8=15,48 — 0,8=84,28
12	0,1	281	366	216	3,53	3,69	3,43 + 4—20×0,8=7,35 22—40×0,8=86,73 — 5,88
12	0,2	247	324	115	3,72	4,20	3,38 + 4—20×0,8=5,40 22—40×0,8=76,95 44—52×0,8=14,85 — 2,70
12	0,3	140	201	92	4,13	4,65	3,78 + 4—20×0,8=8,22 24—40×0,8=52,0 46—60×0,8=17,81 70—150×1,0=10,96 — 9,59
12	0,4	100	126	72	4,37	5,13	4,14 + 4—20×0,8=8,3 24—40×0,8=45,0 44—60×0,8=26,7 64—90×0,8=5,0 100—150×0,5—1,0=6,68 — 8,3
4	0,5	74	88	63	4,88	5,15	4,72 + 4—20×0,8=11,76 24—60×0,8=47,04 70—100×0,8=23,52 — 1,0=17,64
16	0,6	—	—	—	—	—	—

новорожденных ягнят молочнокислые палочковидные формы бактерий растут в молоке с содержанием 0,4—0,5% фенола.

3. В некоторых образцах мацуна, взятых из высокогорных районов Армянской ССР, встречаются молочнокислые палочковидные формы бактерий, которые растут в молоке с содержанием 0,4—0,5% фенола.

4. С увеличением концентрации фенола в молоке от 0,0 до 0,5%, соответственно уменьшается титруемая кислотность, увеличиваются pH и размеры клеток бактерий в сгустке молока.

5. Высокая фенолостойкость молочнокислых бактерий имеет теоретическое и практическое значение для выяснения степени приживаемости молочнокислых бактерий в желудочно-кишечном тракте человека и животных.

Л И Т Е Р А Т У Р А

Ерзинян Л. А. 1950. О лечебных свойствах молочнокислых ацидофильных бактерий. Микробиол. сборник АН Арм. ССР, вып. V.

Ерзинян Л. А. и Мурадян Е. А. 1951. О культуральных и биохимических свойствах ацидофильных бактерий. Микробиол. сборник АН Арм. ССР, вып. VI.

Калабина М. М. и Роговская Ц. И. 1934. Распад фенола под влиянием микроорганизмов.

Калабина М. М. 1934. Распад фенола в стоячих и текущих водоемах.

Curran H. R., Rogers L. A. and Whittier E. O.—The Distinguishing Characteristics of *Lactobacillus acidophilus*. Journ. Bact. 25, 1933.

Լ. Հ. ԵՐԶԻՆԿԱՆ, Մ. Դ. ՓԱՇՆԵՎԱՆԻՆ ԵՎ Ե. Հ. ՄՈՒՐԱԴՅԱՆ

Lactobacterium acidophilum-ի

ՖԵՆՈԼՍՏՈՅԿՈՒՄ ԱՎԱՐԱՐԱԿԱՆ ՀԱՐՑԻ ՇՈՒՐԳԸ

Ա Մ Փ Ո Փ Ո Ւ Մ

Կաթնաթթվային բակտերիաների ֆենոլադիմացկունության վերաբերյալ մեր կատարած բազմաթիվ հետազոտությունները ցույց են տալիս, որ՝

1. Կաթնաթթվային բակտերիաներից ձողածեւ բակտերիաները համեմատաբար ավելի են գիմանում ֆենոլի թույլ խտություններին, քան կաթնաթթվային կոկածեւ բակտերիաները:

2. Նորածին երեխաների և նորածին գառների կղանքից մեկուսացված կաթնաթթվային ձողածեւ բակտերիաներն աճում են ֆենոլի $0,4-0,5\%$ խտություն պարունակող կաթի մեջ:

3. Հայկական ՍՍՌ-ի լեռնային շրջաններից մածունների որոշ նմուշների կաթնաթթվային ձողածեւ բակտերիաները նույնպես աճում են ֆենոլի $0,4-0,5\%$ խտություն պարունակող կաթի մեջ:

4. Կաթի մեջ ֆենոլի բարձր խտության գեպքում կաթնաթթվային ձողածեւ բակտերիաների զարգացման դինամիկան աստիճանաբար թուլանում է, ափարվող թթվության աստիճանն իջնում է թՀ-ի և բակտերիաների բջիջները մեծանում են:

5. Կաթնաթթվային ձողածեւ բակտերիաների համեմատաբար բարձր աստիճանի ֆենոլադիմացկունությունը տեսական ու գործնական նշանակություն ունի մարդու և կենդանիների աղեստամոքսային տրակտում կաթնաթթվային ձողածեւ բակտերիաների ընտելացման աստիճանը որոշելու համար: