

Л. А. Ерзинкян, М. Ш. Пахлеванян, Л. М. Чарян, А. Б. Акопова

Новые питательные среды для выделения молочнокислых бактерий

В связи с бурным ростом молочной промышленности в СССР и применением чистых культур высокоактивных молочнокислых бактерий для производства новых диетических и лечебных молочных продуктов особо важное значение приобретает подбор избирательных питательных сред для выделения, роста и воспитания ценных форм молочнокислых бактерий.

С этой целью нами были проведены работы по подбору селективных питательных сред для роста и развития кокковидных и палочковидных форм молочнокислых бактерий.

Были испытаны общепринятые жидкие и агаризованные питательные среды, в том числе сывроточный агар и гидролизованная среда по В. М. Богданову, а также питательные среды по Л. А. Ерзинкяну.

Ввиду того, что общепринятые среды для выделения и развития молочнокислых бактерий неоднократно были опубликованы в печати, а питательные среды, по Ерзинкяну, до сих пор не были опубликованы, считаем целесообразным, прежде чем привести результаты сравнительных данных наших исследований, вкратце изложить рецептуру и методы приготовления некоторых из этих сред.

ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА № 1

а) Пептонизированное молоко. В литр стерильного молока вносится эмульсия* бактерий протеолитической куль-

* Метод приготовления эмульсии: в пробирку с 5-суточной культурой № 1 вносится 1 мл физиологического раствора, клеточный осадок снимается с агара, разводится в растворе и содержимое переносится в колбу со стерильным молоком.

туры № 1, относящейся к группе *Bac. mesentericus* и *Bac. subtilis*.

Затем колба встряхивается и помещается в термостат при температуре 30–35°C до пептонизации содержимого от 50 до 100%. Пептонизированное молоко кипятится, затем снова помещается в термостат при той же температуре. Так в течение трех дней оно подвергается дробной стерилизации. На четвертые сутки содержимое колбы фильтруется и стерилизуется при 1 атм. 15 минут.

б) **Молочная сыворотка А.** На литр молока добавляется 0,15–0,2 г пепсина, который заранее разводится в 10 мл теплой воды. Для быстрого разведения пепсина добавляется поваренная соль в количестве 0,4 г. Молоко перед внесением пепсина подогревается до 32°C, и эта температура поддерживается до появления плотного сгустка. Для усиления выделения сыворотки сгусток разбивается металлическим шпателем. Полученная сыворотка процеживается, определяется кислотность по Тернеру. Для полного осаждения белков в полученную сыворотку добавляется 40% раствор CaCl_2 (на 1 л 4–5 мл) и кипятится. После этого содержимое колбы фильтруется через стерильную вату, затем через бумажный фильтр и стерилизуется при 0,5 атм. 20 минут.

в) **Молочная сыворотка Б.** 1 л молока подогревается до 40°C и заквашивается мацунной закваской из расчета 3 мл на 100 мл молока и выдерживается при той же температуре до появления сгустка. После этого сыворотка процеживается через стерильную вату и определяется кислотность по Тернеру. Для осаждения белков в сыворотку добавляется 40% (на 1 л 4–5 мл) раствор CaCl_2 . Затем сыворотка фильтруется через бумажный фильтр и стерилизуется при 1 атм. 15 минут.

ЖИДКАЯ ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА № 1

Берется 195 мл сыворотки А + 85 мл сыворотки Б + 30 мл пептонизированного молока и 1% фекального эк-

стракта из расчета 1 мл на 100 мл смеси. Все это смешивается и устанавливается $pH=6,9-7$. Среда стерилизуется при 1 атм. 10 минут.

АГАРИЗИРОВАННАЯ ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА № 1

К смеси жидкой питательной среды № 1 добавляется 1,5—2% агар-агара, растапливается, фильтруется и стерилизуется при 1 атм. 15 минут.

МОЛОЧНО-ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ

1. К 90 мл стерильного молока добавляется 10 мл смеси жидкой питательной среды № 1 и полученная смесь стерилизуется при 1 атм. 15 минут.

2. К 98 мл стерильного молока добавляется 1 мл автолизата дрожжей или дрожжевой воды и 1 мл пептонизированного молока. Полученная смесь стерилизуется при 1 атм. 15 минут.

3. К 98 мл стерильного молока добавляется 1 мл фекального экстракта*, и полученная смесь стерилизуется при 1 атм. 15 минут.

В табл. 1 приводятся сравнительные данные роста молочнокислых бактерий и прочих микроорганизмов на различных агаризированных питательных средах.

Как видно из табл. 1, сравнительно с сывороточным агаром для роста палочковидных форм молочнокислых бактерий наиболее подходящими являются гидролизованное молоко по Богданову и агаризованная среда № 1 по Ерзинкяну.

На гидролизованном молоке по Богданову наряду с молочнокислыми бактериями успешно развиваются и другие микроорганизмы, в том числе и дрожжи.

Агаризованная среда № 1 отличается от среды Богданова тем, что она более избирательна. Кро-

* Берется 500 г свежего овечьего весеннего фекалия, растирается в ступке, постепенно добавляется к нему до 1 литра воды. Затем эта кашнеобразная масса фильтруется, полученный фильтрат разбавляется 4—5 раз водопроводной водой, добавляется в качестве стабилизатора витамина B_{12} $NaNO_2$ из расчета 0,25% или KCN 0,002% ко всему объему жидкости и автоклавирется при 1 атм. 15 минут.

Таблица 1

Сравнительный рост молочнокислых бактерий на различных твердых питательных средах

Агаризованная среда № 1 по Л. А. Ерзникяну	Сывороточный агар	Агаризованное гидролизованное молоко по В. М. Богданову
--	-------------------	---

Г л у б и н н ы й п о с е в

Очень хорошо растут палочковидные, молочнокислые бактерии R формы. Сравнительно мало растут кокковые формы молочнокислых бактерий. Редко растут дрожжи. Рост других микроорганизмов не наблюдается	Хорошо растут кокковидные, слабо растут палочковидные формы молочнокислых бактерий. Одновременно хорошо растут дрожжи, сарцины и прочие микроорганизмы	Очень хорошо растут палочковидные и кокковидные формы молочнокислых бактерий, дрожжи, сарцины и прочие микроорганизмы
--	--	---

П о в е р х н о с т н ы й п о с е в

За исключением кокковых форм молочнокислых бактерий развитие других микроорганизмов не наблюдается	То же самое, за исключением палочковидных форм молочнокислых бактерий	То же самое, за исключением палочковидных форм молочнокислых бактерий
--	---	---

ме молочнокислых бактерий, рост прочих микроорганизмов резко ограничен. Как на среде Богданова, так и на среде Ерзникяна в глубинных посевах одинаково растут палочковидные формы молочнокислых бактерий, а на поверхностных посевах—кокковидные формы молочнокислых бактерий.

Считаем необходимым отметить, что молочнопитательные среды № 1, 2 и 3 имеют свойство несколько активизировать рост молочнокислых бактерий.

Контрольные исследования показали, что некоторые культуры молочнокислых бактерий, потерявшие свойство свертывать обычное стерильное молоко, при пересеве их в вышеуказанные молочные среды восстанавливают прежнюю способность свертывать молоко, что видно из нижеприведенной табл. 2.

Таблица 2

Рост молочнокислых бактерий, потерявших способность
развиваться на стерильном молоке

(++ слабый сгусток; +++ плотный сгусток; — отсутствие сгустка)

№ культур	Молочнопитательные среды			Обычное стерильное молоко (контроль)
	№ 1	№ 2	№ 3	
1288 (кокки)	++	+++	+++	---
1298	++	+++	+++	---
1287 (кокки)	++	+++	+++	---
1244	++	+++	+++	---
1245	++	+++	+++	---
1247	++	+++	+++	---
1248	++	+++	+++	---
1251	++	+++	+++	---
1252	++	+++	+++	---
<i>Lactobact. arabinosus</i>	++	+++	+++	---

Как видно из данных табл. 2, молочнопитательные среды № 2 и 3 являются наиболее лучшими для восстановления роста кокковидных и палочковидных форм молочнокислых бактерий. При обратном пересеве этих культур в обычное стерильное молоко образуют плотный хороший сгусток.

Преимущество агаризированной питательной среды № 1 заключается еще в том, что она не только сугубо избирательна и требует мало времени для ее приготовления, но и на ней особенно хорошо растут палочковидные формы молочнокислых бактерий.

В ы в о д ы

1. Агаризированная питательная среда № 1 по Ерзиняну является сугубо избирательной. На этой среде, за исключением молочнокислых бактерий, другие микроорганизмы почти не развиваются. Особенно хорошо растут палочковидные формы молочнокислых бактерий.

2. Культуры молочнокислых бактерий, потерявшие свойство свертывать обычное стерильное молоко при пересеве в молочнопитательные среды № 3 и 2, восстанавливают свою прежнюю способность свертывать молоко,

3. Агаризированная среда № 1, молочнопитательные среды № 2 и 3 являются наиболее подходящими для выделения и роста молочнокислых бактерий. Эти среды могут быть рекомендованы для выделения и усиления роста молочнокислых бактерий.

1. Հ. ԵՐԶԻՆԿՅԱՆ, Մ. Շ. ՓԱՀԼԵՎԱՆՅԱՆ, Լ. Մ. ՉԱՐՅԱՆ, Ա. Բ. ԱԿՈՊՈՎԱ

ԿԱԹԵՆԱԹԹՎԱՅԻՆ ԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԸ ՄԵԿՈՒՍԱՏՆԵԼՈՒ ՀԱՄԱՐ ՆՈՐ ՍՆՆԴԱՄԻՋԱՎԱՅՐԵՐ

Ա մ փ ո փ ու մ

Կաթնամթերքների որակի բարձրացման, նոր դիետիկ և բուժիչ թթու կաթնամթերքների արտադրության համար կարևոր նշանակություն ունի կաթնաթթվային բակտերիաների մեկուսացման համար սննդամիջավայրի ընտրությունը:

Կոկկաձև և ձողաձև կաթնաթթվային բակտերիաների մեկուսացման ու զարգացման համար մեր կողմից առաջարկվում են ագարացված № 1 սննդամիջավայրը:

1. Ագարացված № 1 սննդամիջավայրում (Վ. Երզնկյան), բացի կաթնաթթվային բակտերիաներից, այլ խմբերի միկրոօրգանիզմներ համարյա չեն զարգանում: Այնտեղ լավ են աճում, հատկապես ձողաձև կաթնաթթվային բակտերիաները: Երբ կաթնաթթվային բակտերիաները կորցնում են կաթը մակարդելու իրենց ունակությունը, ապա № 2 և № 3 սննդամիջավայրում կրկնացանքից հետո նորից վերականգնում են կաթ մակարդելու իրենց նախկին ունակությունը:

2. Ագարացված № 1 սննդամիջավայրն ունի հետևյալ կազմը.
ա) կաթնաթթվային բակտերիաներով մակարդված կաթնաշիճուկ—195 միլիլիտր,

բ) պեպսինով մակարդված կաթնաշիճուկ—85 միլիլիտր,

գ) *Bac. mesentericus* և *Bac. subtilis*-ներով պեպտոնացված կաթ—30 միլիլիտր,

դ) գարնանային թարմ ոլխարակղանքի մզվածք 2 միլիլիտր,

ե) ագար-ագար՝ 2%:

L. H. Yerzingian, M. S. Pahlevanian, L. M. Charian, A. B. Hakopova

New nutrient mediums for the isolation of lactic acid bacteria

S u m m a r y

In order to raise the quality of milk products and to produce new dietetic and curing sour milk products, the choice of the culture medium is of great importance for the isolation of lactic acid bacteria.

The following culture mediums have been proposed by us for the growth and development of coccus and bacilliform lactic acid bacteria.

1. The agar № 1 culture medium was proposed by L. Yerzingian. In this culture medium, besides lactic acid bacteria, other groups of microorganisms do not grow. The rodform lactic acid bacteria grow especially well in it. If the lactic acid bacteria loose their ability to coagulate sterile milk in the same culture medium without agar, then in the agar culture medium after double graft, they again regain their former ability to coagulate milk.

2. The agar № 1 culture medium has the following composition.

a) Milk serum coagulated with lactic acid bacteria—195 milliliter.

b) Milk serum coagulated with peptone—85 milliliter.

c) Peptonized milk with *Bac. mesentericus* and *Bac. subtilis*—30 milliliter.

d) The expellent of fresh spring sheep feces—2 milliliter.

e) Agar—1 percent.

Л И Т Е Р А Т У Р А

- Войткевич А. Ф. 1940. Микробиология молока и молочных продуктов. Пищепромиздат.
- Богданов В. М. 1951. Питательные среды для микробиологического исследования. „Молочная промышленность“, 4, стр. 37.
- Богданов В. М. 1948. Методика выделения ароматообразующих бактерий. „Молочная промышленность“, 5, стр. 20.

- Ерзинкян Л. А. 1953. Местные штаммы *Lactobacterium acidophilum* и некоторые продукты их жизнедеятельности. Вопросы сельскохозяйственной и промышленной микробиологии, вып. 1 (7), стр. 123.
- Королев С. А. 1940. Техническая микробиология молока и молочных продуктов. Пищепромиздат.
- Омелянский В. Л. 1940. Практическое руководство по микробиологии.
- Скородумова А. М. 1949. Практическое руководство по молочному делу. Пищепромиздат.