

Լ. Հ. ԵՐԶՐԵՆԿՅԱՆ, Լ. Հ. ՀԱԿՈՐՅԱՆ, Ա. Բ. ԱՎՈՊՈՎՅԱՆ

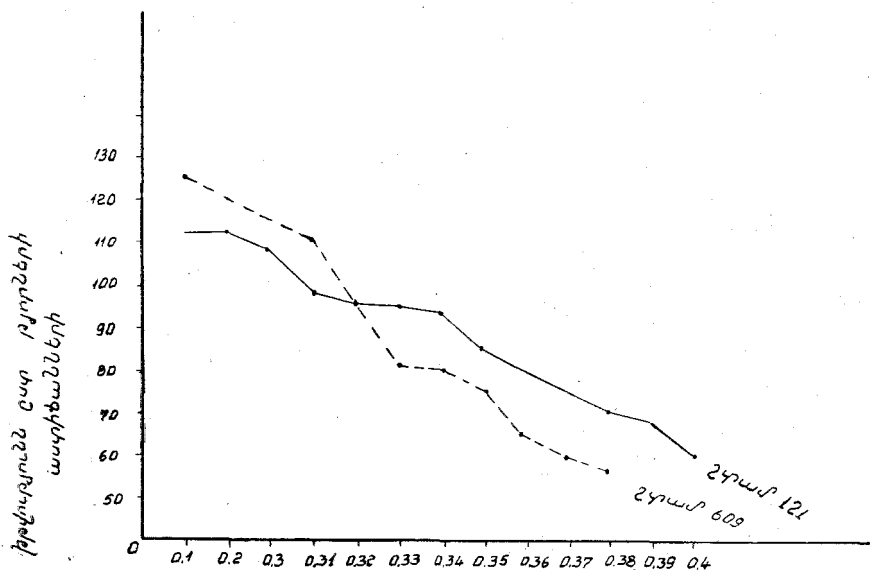
ՖԵՆՈԼԱԳԻՄԱՑԿՈՒՆ ԿԱԹՆԱԹՔՎԱՅԻՆ ՍՏՐԵՊՏԱԿՈՎԵՐԻ ՍՍԱՑՈՒՄԸ

Կաթնաթթվային բակտերիաների կենսագործունեությունը մարդկանց և կենդանիների ստամոքսաաղիքային տրակտում որոշվում է նաև նրանց ֆենոլադիմացկունությամբ: Ֆենոլադիմացկուն կաթնաթթվային բակտերիաները դիմացկուն են նաև սուլֆամիդային, քիմիատերապևտիկ և հակաբիոտիկ նյութերի նկատմամբ: Ուստի դիետիկ և բուժիչ կաթնամթերքների պատրաստման համար ֆենոլադիմացկուն կաթնաթթվային բակտերիաների ընտրությունը ալժմյան ակտուալ հարցերից մեկն է: Ֆենոլադիմացկուն կաթնաթթվային բակտերիաների ստացումը կապված է որոշ դժվարությունների հետ: Կաթնաթթվային բակտերիաների զարգացման և մեկուսացման համար ընդունված սննդամիջավայրերը հնարավորություն չեն տալիս արագ կերպով մեկուսացնել ֆենոլադիմացկուն կաթնաթթվային բակտերիաներ: Այդ նպատակների համար նախ պետք է ստանալ կաթնաթթվային բակտերիաների մեծ թվով շտամներ, որպեսզի հետագայում նրանցից ընտրվեն ֆենոլադիմացկունները: Այդ աշխատանքները ոչ միայն երկարացնում են մեկուսացման տևողությունը, այլև հաճախ նպատակին չեն ծառայում, քանի որ տվյալ դեպքում մեկուսացումը կատարվում է պատահաբար:

Ինչպես հայտնի է, գոյություն ունեն մի շարք եղանակներ՝ հատկապես կաթնաթթվային բակտերիաներ մեկուսացնելու համար [1, 3, 8, 9]: Սակայն ֆենոլադիմացկուն կաթնաթթվային բակտերիաներ մեկուսացնելու համար գոյություն չունեն մեկուսացման հատուկ եղանակներ:

Մեր հետազոտությունները ցույց տվեցին, որ կաթնաթթվային բակտերիաների համար ընդունված ընտրողական սննդանյութի վրա կարող են աճել ինչպես թույլ, այնպես էլ համեմատաբար ուժեղ ֆենոլադիմացկուն կաթնաթթվային բակտերիաների շտամներ: Սակայն մեկուսացման ժամանակ վերցվում է կաթնաթթվային բակտերիաների պատահական դադուկներ, որոնք կարող են ֆենոլադիմացկուն լինել կամ չլինել: Այսպես օրինակ, Հայաստանի 32 շրջաններում վերցված թթու կաթնամթերքներից և կերային խոտաբույսերի 600 նմուշներից մեկուսացված 800 շտամներից ընտրվել է 240-ը և որոշվել նրանց ֆենոլադիմացկունությունը ֆենոլի 0,1—0,4% խտություններում: Պարզվել է, որ ֆենոլի խտությունների բարձրացմանը զուգընթաց ընկնում է կաթնաթթվային ստրեպտոկոկների աճման ունակությունը: Այսպես, օրինակ, եթե ֆենոլի 0,1—0,2% խտությունների դեպքում կաթնաթթվային ստրեպտոկոկները լավ աճել և կաթը մակարդել են, ապա 0,3—0,35 տոկոս խտության դեպքում ֆենոլադիմացկուն կաթնաթթվային ստրեպտոկոկների շտամների թիվը 240-ից հասնում է 114-ի (աղ. 1): Միևնույն ժամանակ ստացված տվյալները ցույց են տալիս, որ որքան մեծանում են ֆենոլի խտությունները, այնքան

ընկնում է կաթնաթթվային ստրեպտոկոկերի թիվը արտադրելու ունակությունը (աղ. 2 և նկ. 1)։ Նվե ֆենոլի 0,1—0,2% խտության դեպքում կաթնաթթվային ստրեպտոկոկերի առաջացրած թթվությունը մոտ է ստուգիչին, ապա 0,3%-ի դեպքում այն ընկնում է, իսկ 0,36—0,4%-ի դեպքում թթուգոյացման ունակությունը պակասում է մեծ չափով։



Ֆենոլի խտությունները կարուժ փոկոսներով

Նկ. 1. Ֆենոլի ազդեցությունը կաթնաթթվային ստրեպտոկոկերի թիվը առաջացման վրա։

Հարկ է նշել, որ այդ մեթոդներով ֆենոլադիմացկուն կաթնաթթվային ստրեպտոկոկերի շտամներ ստանալը պահանջում է երկար ժամանակ և ծավալուն աշխատանք։ Բացի դրանից, մնում են շատ քիչ թվով շտամներ, որոնք դիմանում են ֆենոլի 0,39—0,4% խտություններին։

Աղյուսակ 1

Ֆենոլի տարբեր խտություններին դիմացած կաթնաթթվային ստրեպտոկոկերի շտամների թիվը

Մեկուսացման միջավայրը	Ստուգիչ երկհեռային շտամների թիվը	Ֆենոլի խտությունները ստերիլ յուզազրկված կաթում, %												
		0,1	0,2	0,3	0,31	0,32	0,33	0,34	0,35	0,36	0,37	0,38	0,39	0,4
կաթնաթերքներ	182	182	182	175	150	125	111	100	96	81	42	39	22	13
Բուլսեր	58	58	58	53	50	32	21	18	18	12	10	8	5	3
Ընդամենը	240	240	240	228	200	157	132	118	114	93	52	47	27	16

1. 2. Երգինկյանի կողմից առաջարկվել է մի նոր եղանակ, որի էությունն այն է, որ բարձր ֆենոլադիմացկուն կաթնաթթվային բակտերիաներ կարելի է ստանալ ոչ միայն դաստիարակման կամ արժեքավոր մուտանտներ ստանալու եղանակներով, այլ նաև բնության մեջ եղածներից անմիջապես ընտրե-

Ֆենոլի աուրերը խտությունները և ազդեցությունը կաթնամթնային ստրեպտոկոկների թիվը առաջացման, բջիջների թվի և մեծությունը վրա

Մեկուսացման միջավայրը	Ստուգիչ	Ֆենոլի խտությունները ստերիլ կաթում, ‰												
		0,1	0,2	0,3	0,31	0,32	0,33	0,34	0,35	0,36	0,37	0,38	0,39	0,4
		Մակարդների թվում թյունն ըստ թյունների աստիճանի												
Կաթնամթերքներ	90—138	90— 130	90— 130	80— 125	80— 125	90— 120	70— 120	70— 112	70— 100	60—90	60—78	60—68		
Բույսեր	75—120	75— 120	75— 120	70— 118	70— 115	70— 112	70— 110	70— 98	65— 98	60—90	60	60		

Ստրեպտոկոկների բջիջների մեծությունը միկրոններով և շղթայում եղած բջիջների թիվը

Կաթնամթերքներ	մեծ թվով կոկեր, գիպլա- կոկեր, ստրեպտոկոկեր 0,6—1,0, ստրեպտոկոկե- րի շղթայում 5—10 բջիջ	կոկեր, գիպլա-կոկեր ստրեպտոկոկեր 0,6—1,2, ստրեպ- տոկոկերի շղթա- յում 10—15 բջիջ	բջիջի մեծությունը 0,8—1,5, ստրեպտոկոկերի շղթայում 13—18 բջիջ	բջիջի մեծությունը 0,8—2,0, ստրեպտոկոկերի շղթայում 18—22 բջիջ
Բույսեր	կոկեր, գիպլա-կոկեր 0,6—0,9	կոկերի մեծությունը 0,6—0,9, ստրեպտոկոկերի շղթայում 5—8 բջիջ	բջիջի մեծությունը 0,8—1,35, ստրեպտոկոկերի շղթայում 5—12 բջիջ	բջիջի մեծությունը 0,6—1,8, ստրեպտոկոկերի շղթայում 10—15 բջիջ

լու, նախապես բնական սննդամիջավայրին 0,3—0,6% ֆենոլ ավելացնելու միջոցով: Բարձր ֆենոլադիմացկուն կաթնաթթվային ստրեպտոկոկներ ստանալու նպատակով վերցրել ենք ֆենոլի 0,3—0,35% խտություններ ունեցող ստերիլ յուղազրկված կաթը և նրա մեջ գցել թթու կաթնամթերքներից և կերային խտաբույսերից վերցրած նմուշները (70 նմուշ): Մի քանի անգամ 0,3—0,35% խտությամբ ֆենոլ պարունակող կաթում վերացանք կատարելուց հետո այդ խտությանը ֆենոլադիմացկուն նմուշները ցանվել են ազարացված պինդ սննդամիջավայրի վրա, որտեղից արդեն մեկուսացվել են 160 շտամ և որոշվել է նրանց ֆենոլադիմացկունությունը: Փորձերը ցույց տվեցին, որ այդ եղանակով ստացված շտամներն ունեն բարձր ֆենոլադիմացկունություն (0,39—0,4%) : Սակայն ֆենոլի խտության աճմանը զուգընթաց բնկնում է կաթնաթթվային ստրեպտոկոկների թիվը արտադրելու ունակությունը: Այսպես, եթե № 642 շտամը ստուգիչում առաջացրել է 120° Թյորներին թթվություն, ապա 0,35% խտության դեպքում այն հասել է 100°, 0,36% -ի դեպքում՝ 89°, 0,37—0,4% -ի դեպքում՝ 76—62° Թյորներին (աղ. 5): Համաձայնաբեր է ստացվել աղյուսակում նշված մյուս շտամների մոտ:

Աղյուսակ 3

Ֆենոլի տարբեր խտություններին դիմացած կաթնաթթվային ստրեպտոկոկների շտամների թիվը

Մեկուսացման միջավայրը	Ստուգիչ	Ֆենոլի խտությունները ստերիլ յուղազրկված կաթում, %					
		0,35	0,36	0,37	0,38	0,39	0,4
Կաթնամթերքներ	130	130	120	92	51	48	29
Բույսեր	30	30	25	22	14	11	6
Ընդամենը	160	160	145	114	65	59	35

Սորֆոլոգիական ուսումնասիրությունները ցույց տվեցին (աղ. 2), որ յուղազրկված ստերիլ կաթում ֆենոլի բարձր խտությունները որոշակի ազդեցություն են գործում կաթնաթթվային ստրեպտոկոկների բջիջների կիսման արագության վրա: Երբ ֆենոլի 0,1—0,2% խտությունների դեպքում մեծությունը չի փոխվել, ապա ֆենոլի 0,31—0,35% խտության դեպքում կաթնաթթվային ստրեպտոկոկների շղթայի բիջջների թիվն ավելանում է, բիջջների մեծությունը հասնում է 0,8—1,5 միկրոնի, իսկ ֆենոլի 0,35—0,4% խտության դեպքում կրկնապատկվել է: Միևնույն ժամանակ կաթնաթթվային ստրեպտոկոկների շղթաները մեծանում են (աղ. 2, 4):

Ուսումնասիրվել են նաև ֆենոլադիմացկուն կաթնաթթվային ստրեպտոկոկների ընդհանուր տիրալուծող, ցնդող թթուները և pH-ը: Պարզվել է, որ զարգացման տարբեր օրերում թթու արտադրելու ունակությունը տարբեր է (աղ. 6): Մաքսիմում թիվը արտադրվում է զարգացման 7—10-րդ օրերում: Այսպես՝ եթե № 724 շտամը մակարդակելու մոմենտին առաջացրել է Թ. 60° թթվություն, իսկ 2—4-րդ օրերում՝ 92—94°, ապա 7-րդ օրը թթուարտադրման ունակությունը հասնում է Թ. 120°:

Ա Ղ յ ու ս ա կ 4

Ֆենոլի տարրեր խտությունների ազդեցությունը կաթնաթթվային ստրեպտոկոկների
թթու առաջացնելու, բջիջների թվի և մեծություն վրա

Մեկուսաց- ման միջա- վայր	Ստուգիչ	Ֆենոլի խտությունները ստերիլ յուղադրկված կաթում, ‰					
		0,35	0,36	0,37	0,38	0,39	0,4
		Մակարդների թթվությունը ըստ թյուրների աստիճանի					
Կաթնա- մթերքներ	85—125	80—125	80—120	70—111	70—92	70—80	64—78
Բույսեր	75—100	75—100	70—98	70—81	65—80	60—77	55—68

Ստրեպտոկոկների բջիջների մեծությունը միկրոններով և շղթայում եղած բջիջների թիվը

Կաթնա- մթերքներ	կոկեր, դիպ- լակոկեր, ստրեպտոկո- կեր 0,6—0,9, շղթայում 5—10 բջիջ	մեծությունը 0,9—1,7, ստրեպտոկոկների շղթայում 13—15 բջիջ	բջիջների մեծությունը 0,8—2,0, ստրեպտոկոկների շղթայում 15—20 բջիջ
Բույսեր	կոկեր, դիպ- լակոկեր 0,6—0,9	կոկեր, դիպլակոկեր, ստրեպ- տոկոկեր, մեծությունը 0,9—1,35, շղթայում 3—8 բջիջ	մեծությունը 0,8—1,7, ստրեպտոկոկների շղթայում 5—8 բջիջ

Ա Ղ յ ու ս ա կ 5

Ֆենոլի տարրեր խտությունների ազդեցությունը կաթնաթթվային ստրեպտոկոկների թթու
դոյացնելու վրա

Շտամներ	Թթվությունը կաթում 7-րդ օրը	Ֆենոլի խտությունները կաթում, ‰					
		0,35	0,36	0,37	0,38	0,39	0,4
		Թթվությունը ըստ թյուրների աստիճանի					
623	116	115	100	85	83	80	80
626	102	91	85	80	79	79	75
628	124	100	80	71	66	60	—
642	120	100	89	76	72	70	62
646	108	85	85	80	70	66	62
655	100	97	90	81	79	77	76
648	100	85	80	77	70	70	66
654	107	95	80	77	70	69	64
661	100	90	80	69	65	65	62
677	115	100	82	80	80	78	72
690	110	85	85	80	77	76	72
691	102	80	80	80	75	69	54
692	98	90	80	70	68	62	60
695	100	80	78	76	76	70	70
704	106	100	85	72	69	70	51
707	100	90	81	70	70	64	56
709	102	80	75	70	69	61	60
710	98	80	80	70	64	62	60
713	86	80	70	70	66	64	—
715	90	90	80	75	76	70	60
717	81	75	70	65	60	54	—
718	112	87	86	80	72	70	68
724	120	92	85	80	80	73	64
728	112	100	92	90	85	77	60
729	102	87	80	80	79	70	60
774	110	95	90	81	80	73	70

Համանման տվյալներ են ստացվել նաև №№ 709, 710 և 715 շտամների մոտ: Իսկ № 690 շտամը, եթե մակարդման պահին և զարգացման 2-րդ օրն առաջացրել է 74—78°, 4—7-րդ օրերում՝ 90—110°, ապա 10-րդ օրը նրա թթուառաջացման ունակությունը հասնում է Թյորնների 123° թթվություն:

Ֆենոլադիմացկուն կաթնաթթվային ստրեպտոկոկների pH-ը զարգացման տարբեր օրերում տարբեր է: Այսպես, եթե № 655 շտամը երկու օրում ունեցել է 4,87 pH և Թյորնների 90° թթվություն, ապա 7-րդ օրը՝ 3,9 pH և Թյորնների 100° թթվություն: Համանման տվյալներ են ստացվել նաև մյուս շտամների մոտ (աղ. 6):

Աղյուսակ 6

կաթնաթթվային ստրեպտոկոկների թթու արտադրելու ունակությունը զարգացման տարբեր օրերում

Շտամների №-ները	Թթվությունն ըստ Թյորնների աստիճանով				pH		Ընդհանուր ցնդող թթուները ԴԹ-ով	
	Օրերը							
	2	4	7	10	2	7	2	4
623	98	100	116	117	4,7	3,92	2,328	2,340
626	86	100	102	102	4,8	3,8	2,713	2,713
628	90	93	124	125	4,85	3,5	3,78	3,88
642	100	112	120	120	4,7	3,7	2,340	2,713
646	98	100	108	116	4,65	4,0	1,94	2,328
655	90	95	100	108	4,87	3,9	2,713	2,713
648	92	100	100	106	4,44	3,95	1,94	3,78
654	81	96	107	107	4,9	3,88	2,713	3,492
661	98	96	100	106	4,65	4,03	1,94	2,328
677	100	100	115	124	3,85	3,5	1,94	1,94
690	78	90	110	123	5,07	4,38	2,713	3,492
691	94	99	102	112	4,62	3,85	1,94	2,713
692	92	94	98	109	4,7	4,67	2,713	3,104
695	90	96	100	92	4,8	4,01	3,492	3,492
704	80	90	106	106	5,06	3,97	1,94	2,713
707	86	100	100	102	4,95	3,98	5,432	5,82
709	80	100	102	92	4,95	3,95	2,713	2,713
710	86	94	98	92	4,85	4,07	5,82	6,984
713	75	86	86	90	5,08	4,7	2,713	3,492
715	86	90	90	86	4,87	3,87	3,492	3,88
717	75	80	81	82	5,01	4,89	10,610	11,64
718	84	90	112	112	4,8	3,7	3,104	3,88
724	92	94	120	92	4,7	3,4	3,104	3,88
728	93	100	112	112	4,65	3,7	1,94	3,104
729	92	94	102	102	4,77	3,95	2,713	2,713
774	96	100	110	107	4,85	3,87	1,94	2,713

Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ ֆենոլադիմացկուն կաթնաթթվային ստրեպտոկոկների շտամներն արտադրում են նաև զգալի քանակությամբ ցնդող թթուներ (աղ. 6): Այսպես՝ փորձարկված շտամների մեծամասնությունն առաջացրել է 1,94—3,38° ԴԹ ցնդող թթուներ, որ բնորոշ է հոմոֆերմենտատիվ կաթնաթթվային ստրեպտոկոկներին: Աղյուսակ 6-ից երևում է նաև, որ №№ 710, 717 շտամների արտադրած ցնդող թթուների քանակը զգալի չափով բարձր է և հասնում է 6,98, 11,64 ԴԹ-ի:

Մեր հետազոտությունների արդյունքները հիմք են տալիս մեզ անելու հետևյալ եզրակացությունները.

Բարձրաֆենոլադիմացկուն կաթնաթթվային ստրեպտոկոկների մեկուսա-

ցումը սովորական ընդունված եղանակներով կաթնաթթվային միկրոֆլորայի պոպուլյացիայից հնարավոր չէ, նրանց միջավայրից հնարավոր է մեկուսացնել՝ օգտվելով Լ. Հ. Երզնկյանի առաջարկած եղանակից:

Այս դեպքում ոչ ֆենոլադիմացկուն միկրոօրգանիզմները, այդ թվում կաթնաթթվային բակտերիաները, ոչնչանում են, իսկ դիմացկունները պահպանվում են (աղ. 1 և 3):

Բարձրաֆենոլադիմացկուն կաթնաթթվային ստրեպտակոկերի թթու առաջացնելու (ընդհանուր, ցնդող) ունակութունը հասնում է առավելագույնի 7—10-րդ օրերում, ճիշտ այնպես, ինչպես դա տեղի է ունենում ոչ ֆենոլադիմացկուն կաթնաթթվային ստրեպտակոկերի դեպքում:

ՀՍՍՀ ԳԱ միկրոբիոլոգիայի ինստիտուտ

Ստացված է 14. VIII 1970 թ.

Л. А. ЕРЗИНКЯН, Л. Г. АКОПЯН, А. В. АКОПОВА

ПОЛУЧЕНИЕ ВЫСОКОФЕНОЛОУСТОЙЧИВЫХ МОЛОЧНОКИСЛЫХ СТРЕПТОКОККОВ

Р е з ю м е

Получение высокофенолоустойчивых молочнокислых бактерий имеет не только теоретическое, но и важное практическое значение, особенно для производства лечебных молочных продуктов. Однако обычный метод получения фенолоустойчивых молочнокислых стрептококков из популяций молочнокислой микрофлоры не гарантирует выделение из среды самых высокофенолоустойчивых форм молочнокислых бактерий.

Данные наших исследований показывают, что для выделения из популяций самых высокофенолоустойчивых форм молочнокислых бактерий служит метод, предложенный Л. А. Ерзинкяном.

Сущность этого метода заключается в том, что из образцов исследуемых веществ делают высевы в молоко с содержанием 0,3—0,6% фенола. В такой среде фенолонеустойчивые формы микроорганизмов, в том числе молочнокислые бактерии, погибают, а устойчивые формы не погибают, что видно из данных исследований (табл. 1 и 3).

Полученные высокофенолоустойчивые формы молочнокислых стрептококков хорошо растут в молоке, содержащем 0,35—0,4% фенола. Максимум кислотообразования (общая и летучие кислоты) у высокофенолоустойчивых молочнокислых стрептококков, также как у фенолонеустойчивых форм, наблюдается на 7—10 сутки.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Богданов В. М. Микробиология молока и молочных продуктов. Медгиз, М., 1968.
2. Ерзинкян Л. А., Пахлеванян М. Ш., Мурадян Е. А. Вопросы сельско-

хозяйственной и промышленной микробиологии АН АрмССР, вып. I (VII), стр. 163, 1953.

3. Ерзинкян Л. А., Пахлеванян М. Ш. Вопросы сельскохозяйственной и промышленной микробиологии, АН АрмССР, вып. II (VIII), стр. 51, 1955.
4. Ерзинкян Л. А., Мурадян Е. А. Вопросы сельскохозяйственной и промышленной микробиологии, АН АрмССР, вып. II (VIII), 1955.
5. Ерзинкян Л. А. Вопросы сельскохозяйственной и промышленной микробиологии, АН АрмССР, IV (X), 1958.
6. Ерзинкян Л. А., Пахлеванян М. Ш., Акопова Л. Б., Чарян Л. М. Вопросы микробиологии, вып. II (XII), 1964.
7. Ерзинкян Л. А. Биологические особенности некоторых рас молочнокислых бактерий. Из-во АН АрмССР, Ереван, 1970.
8. Квасников Е. И. Биология молочнокислых бактерий, Ташкент, 1960.
9. Королева Н. С. Техническая микробиология кисломолочных продуктов, М., 1966.
10. Скородумова А. М. Практическое руководство по технической микробиологии: молока и молочных продуктов, М., 1949.