

Биол. журн. Армении, 3-4 (59), 2007

УДК 637.1(091)

ԿԱԹՆԱԹԹՎԱՅԻՆ ԿՈԿԵՐԻ ՆԵՐԿԱ ՏԵՍԱԿԱՅԻՆ ԲԱԶՄԱԶԱՆՈՒԹՅԱՆ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ ՄԱՃՆԻ ՆՍՈՒՇՆԵՐՈՒՄ

Լ.Գ. ԳՐԻԳՈՐՅԱՆ

«ՀԱՍՄ Միկրոբիոլոգիայի և մանրէների ավանդադրման կենտրոն, 2201, ք. Կրոկյան,
nairjan@rambler.ru

Հայաստանի տարբեր մարզերի մածոնի նմուշներից անջատվել են կաթնաթթվային կոկերի 86 մաքուր կուլտուրաներ: Հաստատվել է այդ շտամների պատկանելությունը *Lactococcus lactis*, *Lactococcus cremoris*, *Streptococcus thermophilus* և *Streptococcus bovis* տեսակներին: Հայտնաբերվել է նաև կաթնաթթվային կոկերի մոտ երկու տասնյակ ենթատեսակներ: Ցույց է տրվել, որ Հայաստանի տնային օգտագործման մերաններում նկատելի են *L. lactis* և *S. thermophilus* կոկերի տեսակային և բանակական փոփոխություններ ի համեմատություն անցյալ դարի 80-ական թվականներին բերված գրական տվյալներին:

Из образцов маццы из различных районов Армении выделено 86 чистых культур лактококков. Подтверждена принадлежность этих штаммов к видам *Lactococcus lactis*, *Lactococcus cremoris*, *Streptococcus thermophilus* и *Streptococcus bovis*. Выявлено более двух десятков подвидов лактококков. Установлено, что в домашних заквасках произошли количественные и качественные изменения у *L. lactis* и *S. thermophilus* по сравнению с литературными данными 80-ых годов прошлого века.

From yoghurts (matsohn) of various regions of Armenia 86 pure cultures of lactococci have been isolated, belonging to *Lactococcus lactis*, *Lactococcus cremoris*, *Streptococcus thermophilus* and *Streptococcus bovis*. More than twenty subspecies of lactococci have been revealed. Quantitative and qualitative changes are observed in composition of domestic yoghurt starters, currently used in Armenia, within the species *L. lactis* and *S. thermophilus* in comparison to the literature data of 1980s.

Կաթնաթթվային բակտերիաներ - լակտոկոկեր - մածուն

Կաթնամթերքների բազմազանությամբ Հայկական լեռնաշխարհը հայտնի է շատ վաղուց [1]: Այդ կաթնամթերքներից առավել հայտնի և մինչև այժմ լայն տարածում ունեցողը մածունն է: Մածունը արտասահմանյան գրականությունում կոչվում է նաև հայկական յոգուրտ [9]: Այս կաթնամթերքն այնքան տարածված էր պատմական Հայաստանի տարածքում, որ ոչ միայն ամեն մի բնակավայր, այլև ամեն մի տուն ուներ մածունի պատրաստման համար իր սեփական մերանը: Բարձր լեռնային գյուղերում մածունը ստանում են տնային օգտագործման մերաններով, որոնք բնակավայրերի կտրվածության և հեռավորության պատճառով երկար ժամանակ զարգացել են ինքնուրույն: Ղարերի ընթացքում այստեղ տեղի է ունեցել ուրույն բնական և նպատակաուղղված սելեկցիա: Արդյունաբերության և քաղաքակրթության զարգացման հետ զուգընթաց կա վտանգ կորցնելու այդ առանձնահատուկ շտամները, որոնք դեռևս պահպանվում են տնական օգտագործման մերաններում [1]:

Մերանների կազմության բնական փոփոխությունները ուսումնասիրելու համար ժամանակ առ ժամանակ անհրաժեշտ է հետազոտել այն: Բանի որ տնային մերանների միկրոֆլորայի վերջին ուսումնասիրությունները կատարվել էին նախորդ դարի 80-ական թվականներին [10], ապա գիտա-գործնական տեսակետից հետաքրքիր էր մերանների ներկայիս կաթնաթթվային միկրոֆլորայի պարզումը:

Սույն աշխատանքի նպատակն է մածունի տնային օգտագործման մերաններում ուսումնասիրել կաթնաթթվային կոկերի ներկա բազմազանությունը և ստեղծել արդյունաբերության տեսանկյունից օգտակար հատկանիշներով օտված շտամների հավաքածու կաթնամթերքների տեսականու հարստացման համար:

Նյութ և մեթոդ: Որպես սննդային միջավայրեր օգտագործվել են յուղագերծված կաթը, հիդրոլիզացված կաթը և LAPT՝ սննդամիջավայրը [13]: Պինդ միջավայր ստանալու համար ավելացվել է 1.5% ազար:

Բակտերիաների անջատման և ֆենոտիպային հատկանիշների ուսումնասիրության համար յուրաքանչյուր նմուշից վերցվել է 25 գ և ստերիլ ապամներում տեղափոխվել են սրվակի մեջ: Այնուհետև 225 մլ ստերիլ բուֆերային պեպտոնաջուր ավելացնելով հոմոգենիզացվել են Սոաջին 5 նոսրացումները (10-ական) ցանվում են LAPT՝ ազարով թասերի վրա [12]:

Շաքարայինիկ հատկությունների ուսումնասիրման համար օգտագործվել է LAPT՝-ի հեղուկ միջավայր Անդերեդեյի ինդիկատորով [3]:

Բջջի մորֆոլոգիան ուսումնասիրվել է MGB-11 մանրադիտակի օգնությամբ օգտագործելով ֆագային կոնտրաստը:

Մանրէների աճը NaCl-ի տարբեր խտություններում և 0.1% մեթիլեն կապույտի ներկայությամբ որոշվել է յուղագերծված կաթում 37° [3]:

Աճը տարբեր ջերմաստիճաններում որոշվել է յուղագերծված կաթում 10, 37 և 45° ուսումնասիրվող կուլտուրայի կողմից կաթի մակարդման աստիճանով [3, 8, 9]:

Արգինինից ամոնյակի առաքացումը որոշվել է համապատասխան մեթոդով 37° [3, 8]:

Անջատված կաթնաթթվային կուլտուրաները դասակարգվել են ըստ Բերջիի բակտերիաների որոշիչի [7]:

Արդյունքներ և քննարկում: Մածնի միկրոֆլորան ուսումնասիրելիս հիմնական ուշադրության է արժանացել ցուպիկային շտամների բազմազանությունը, իսկ կոկային բազմազանությունը չի արժանացել այդպիսի ուշադրության: Վերջինիս մասին կան տարբեր կարծիքներ՝ որոշ հետազոտողներ նշում են *Streptococcus thermophilus*-ի առկայության մասին [6], ավելի ուշ կատարված ուսումնասիրությունները վկայում են ավելի մեծ տեսակային և ենթատեսակային բազմազանության առկայության մասին [4], հետևաբար ուրոշ հեղինակներ նշում են *S. thermophilus*-ն *Lactococcus lactis*-ի առկայության մասին [2, 5], մեկ այլ աշխատանքում *Streptococcus bovis* և *Lactococcus cremoris* մասին [10]: Բայց բոլոր աշխատանքներում *S. thermophilus*-ը նշվում է որպես մածունի հիմնական և առավել հաճախ հանդիպող լակտոկոկային ներկայացուցիչ:

Հայաստանի երեսուներկու բնակավայրերում կատարվել է 59 մածնի նմուշառումներ: Անջատված նմուշների պատրաստուկների մանրադիտակային հետազոտումը ցույց տվեց, որ մածուների միկրոֆլորան հիմնականում կազմված է ցուպիկներից և կոկերից, որոշ նմուշներում հայտնաբերվեցին նաև շաքարասնկեր: Մաքուր կուլտուրաներ անջատելու նպատակով մածուների նմուշների նոսրացումներից ցանված ազարային միջավայրերի վրա աճած գաղութների մանրադիտակային հետազոտման արդյունքում նույնացվել են կոկերի և բացիլների պատկանող կաթնաթթվային շտամները: Կաթի

ֆերմենտացիայի արդյունքներով 24 ժամից ուշ մակարդող կուլտուրաների խոտանումից հետո մնացել են 86 կաթնաթթվային կոկերի շտամներ: Տարված մոնոկլոնալ և միկրոսկոպիկ ուսումնասիրությունների հիման վրա կատարվել է կուլտուրաների մորֆոլոգիական դասակարգում (աղ. 1):

Աղյուսակ 1. Ընտրված կուլտուրաների մորֆոլոգիական դասակարգումը

Խումբ	Բջջերի մորֆոլոգիան	Կուլտուրաների քանակը
I	կոկերի (0.7-0.9 մկմ) կարճ շղթաներ (4-6 բջիջ)	20
II	կոկատիկ սուրբատոկոկերի (0.7-0.9 մկմ) երկար շղթաներ (30-50 բջիջ)	16
III	մեծ էլիպսոձև (0.8-1.2 x 1.2-1.5 մկմ) և գնդաձև (0.8-1.2 մկմ), կոկեր	24
IV	դիպլոկոկային (0.8-1.0 մկմ)	17
V	փոքր չափի տրամաչափով կոկեր (0.5-0.7 մկմ), մեծամասամբ առանձին բջջեր և դիպլոկոկեր	9

Այդ կուլտուրաներից ընտրվել են նրանք, որոնք մեկ կամ մի քանի հատկանիշներով տարբերվում են միմյանցից: Հետագա աշխատանքների համար ընտրվել են կայուն հատկանիշներով օժտված 28 շտամներ:

Այդ կաթնաթթվային կուլտուրաները նույնացվել են ըստ կաթնաթթվային մանրէների տարբերակող հատկությունների: Ուսումնասիրվել է աճը տարբեր ջերմաստիճանների և նատրումի քլորիդի խտությունների պայմաններում, 0,1% մեթիլեն կապույտի առկայությամբ և արգինինից NH_4^- -ի ստացման ունակությամբ (աղ. 2):

Աղյուսակ 2. Հետազոտվող կուլտուրաների հատկությունների ուսումնասիրությունը

Տեսակներ	Աճը T°C-ում			Աճը միջավայրերում, որոնք պարունակում են				Արգինինից NH ₂ -ի առաջացում
	15	37	45	NaCl (%)			մեթիլեն կապույտ	
				2	4	6,5	0.1 (%)	
<i>L. lactis</i> (11)	+	+	-	+	+	-	+	+
<i>L. cremoris</i> (6)	+	+	-	+	-	-	+	-
<i>S. thermophilus</i> (8)	-	+	+	+	-	-	-	-
<i>S. bovis</i> (3)	-	+	+	+	+	-	-	-

Պայմանական նշաններ՝ + աճ կա կամ առաջացնում է NH_4^- , - աճ չկա կամ NH_4^- չի առաջացնում:

Համաձայն աղյուսակ 2-ում բերված արդյունքների ուսումնասիրված մածուկների լակտոկոկային միկրոֆլորան ըստ նախնական տվյալների կազմված է 4 տարբեր տեսակներից՝ *L. lactis*, *L. cremoris*, *S. thermophilus* և *S. bovis*: Նշված տեսակային կազմը ճշգրտելու նպատակով անցկացվել է շաքարալիթիկ հատկությունները ուսումնասիրությունով որի արդյունքները բերված են աղյուսակ 3-ում:

Շաքարալիթիկ և տարբերակող հատկությունների հիման վրա պարզվեց,

որ մեր կողմից ուսումնասիրված մածուկների մոլեկուլները հիմնականում պարունակում են լակտոկոկների 4 տեսակներ: Չնայած լակտոկոկների այս սահմանափակ տեսակային կազմին մածուկներում առկա է մեծ ենթատեսակային բազմազանություն, որոնցից 11 շտամներ իդենտիֆիկացվել են որպես *L. lactis*, 6-ը որպես *L. cremoris*, 8-ը *S. thermophilus*, 3-ը *S. bovis*: Անջատված շտամները առանձնացվել են արտադրական նպատակներով հետազոտելու համար:

Աղյուսակ 3. Հետազոտվող կաթնաթթվային կոկերի շաքարալիթիկ հատկությունները

Տեսակներ	Շաքարները													
	առախոս	բախիտ	գլյուկ	քսիտ	լակտոզ	մալտոզ	մաննիտ	մելիթոզ	մելիցիտոզ	ռամնոզ	սալիցին	սախարոզ	սորբիտ	ցելոբիոզ
<i>L. lactis</i> (11)	-	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-
<i>L. cremoris</i> (6)	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
<i>S. thermophilus</i> (8)	-	-	+	-	+	+	-	+	-	-	-	+	-	-
<i>S. bovis</i> (3)	+	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-	+	+	+

Պայմանական նշաններ՝ +/ խմորում է, -/ չի խմորում:

Առաջված արդյունքները ևս մեկ անգամ ապացուցում են, որ մածուկի տնային օգտագործման մերանները հարուստ են կաթնաթթվային բակտերիաների բազմաթիվ տեսակներով և ենթատեսակներով: Այժմյան մածուկներում առավել հաճախակի հանդիպում են *L. lactis* և *S. thermophilus*-ը, հազվադեպ *L. cremoris* և առավել հազվադեպ *S. bovis*-ը: Ուստի հաստատվում է այն կարծիքը, որ գլոբալիզացիայի, հաղորդակցության զարգացման և լայն գործարանային արտադրության արդյունքում կաթնամթերքների տնային մերանները դուրս են մղվում կիրառումից կամ փոխարինվում են գործարանային ծագման մերաններով: Ինչը նույնպես վկայում է տնային օգտագործման մերանների ուսումնասիրման և պահպանման անհրաժեշտության հրատապությունը: Ժամանակն է մշակելու չափորոշիչներ հայկական յոգուրտի մածուկի տեսականու ապահովման համար: Հաշվի առնելով այն հանգամանքը, որ շուկայում առկա ներկայիս յոգուրտի հայրենիքը պատմական Հայաստանի տարածքն է, ապա հայկական յոգուրտի մշակման ժամանակ առանձնահատուկ ուշադրություն պետք է դարձվի *S. thermophilus*-ի լավագույն ենթատեսակների վրա:

ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Հայաստանի Հանրապետության բնապահպանության նախարարություն Կենսաբազմազանության առաքին ազգային զեկուլոյց, 25-26, 1999.
2. Акопян А. Г., Чарян А. М. Биолог. журн. Армении, 2-3 (53), 329-333, 2001.
3. Баниникова Л. А., Королева Н. С., Семенюхина В. Ф. Микробиологические основы молочного производства. М. "Агропромиздат", 400 с. 1987.
4. Диланян З. Х., Тер-Казарьян С. Ш., Тер-Симонян П. С. Доклады Академии Наук Армянской ССР, 4, 235-238, 1972.
5. Ершанян Л. А. Биологические особенности некоторых рас молочнокислых

- бактерий, Ереван 1971.
6. *Казарян А.Д.* Вопросы питания. 6, 143, 1936.
7. Определитель бактерий Берджи 9-е изд. в 2-х т. (Дж.Хоулта, Н.Крига, П.Снита, Дж.Стейли, С.Уилльямса) Пер. с англ. под ред. акад. РАИ Г.А. Заварзина. М.: "Мир". 1997. Т. 1-432с., Т. 2-369с.
8. *Степаненко И.И.* Микробиология молока и молочных продуктов. М. 415с. 1999.
9. *Тамим А.Н., Робинсон Р.К.* Йогурты и другие кисломолочные продукты. Санкт-Петербург, "Профессия", 661 с. 2003.
10. *Тер-Казарьян С.Ш.* Материалы Всесоюзной Научно-Технической Конференции, Современная технология сыроделия и безотходная переработка молока. Ереван, Айастан. 388-396, 1989.
11. *Atkinson R.L., et al.* J. Dairy Sci., 40, 9, 1114, 1957.
12. *Harrigan W., McCance M.* Laboratory Methods in Food and Dairy Microbiology, 8th edn. Academic Press, London, UK, 1990.
13. *Vanningelgem F., Zamfir M., Adriany T., De Vuyst L.* Journal of Applied Microbiology. 97, 1257-1273, 2004.

Поступила 28.XI.2007