

Л. А. Ерзинкян, Е. А. Мурадян

Влияние фенола на жизнедеятельность микроорганизмов и метод определения количества фенола в молоке и кисломолочных продуктах

Вопрос об отношении микроорганизмов к различным концентрациям фенола имеет важное теоретическое и практическое значение. Работами ряда авторов выяснено, что не все микроорганизмы одинаково относятся к различным концентрациям фенола. Тогда как одни микроорганизмы лишь переносят слабые концентрации фенола, другие используют фенол в качестве источника углеродистого питания. Однако многие микроорганизмы весьма болезненно реагируют на присутствие даже незначительных количеств фенола в питательной среде. Возможно, что существуют и такие микроорганизмы, продукты жизнедеятельности которых нейтрализуют вредное действие фенола.

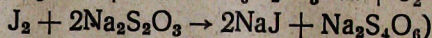
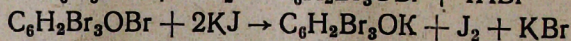
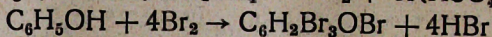
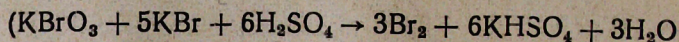
Фаулер (1910), Бах (1928), Калабина (1934), Калабина и Роговская (1934) и другие считают, что фенол распадается в результате жизнедеятельности некоторых микроорганизмов. Работами Калабина, Роговской и других доказано, что при добавлении к очищаемой фенольной воде фекальной жидкости ускоряется процесс распада фенола. Фаулер (1910) указывает, что разложение фенола происходит аэробными бактериями и что в анаэробных условиях в течение 14 суток в его опытных растворах не произошло распада фенола даже после 8 месяцев культивирования.

Калабина и Роговская (1934) указывают, что растительные формы микроорганизмов переносят более высокие концентрации фенола, чем животные формы, и что оптимальная концентрация чистого фенола в минеральном растворе для развития бактерий колеблется в пределах 200—500 мг/л (0,02—0,05 ‰), за исключением некоторых нитчатых бакте-

рий, которые были обнаружены при более высоких концентрациях фенола, т. е. от 1000 до 3000 мг/л (0,1—0,3%).

Из простейших *Ameoba* limax уже при концентрации свыше 500 мг/л (0,05%) развивалась гораздо слабее. Из различных видов флагаеллят встречались единичные виды флагаеллят, которые выносили концентрации фенола до 1500 мг/л (0,15%). Курран Рогерс и Виттер (Curran Rogers и Whittier, 1933) выяснили, что в томатно-пептонной среде Кэлпа ацидофильные молочнокислые бактерии растут при концентрации фенола от 1:250 до 1:400 (от 0,4 до 0,25%), тогда как другие палочковидные молочнокислые бактерии как *Bact. bulgaricum* не растут даже при концентрации фенола 1:400 (0,25%).

В литературе встречаются весьма скудные данные об отношении молочнокислых бактерий к различным концентрациям фенола и совершенно отсутствуют данные об отношении дрожжей к фенолу. Вопрос о влиянии фенола на молочнокислые бактерии и дрожжи, встречающиеся в молочных продуктах, имеет важное теоретическое и практическое значение. Однако для выяснения затронутого вопроса необходимо было в начале разрешить вопрос о методике определения количества фенола в молоке и кисломолочных продуктах, богатых белками, сахарами и жирами. Существует много различных методов определения количества фенола в воде. Среди них заслуживают внимания: бромометрический метод Коппшара (1876) и иодометрический метод Вильки (1911). Сущность бромометрического метода Коппшара состоит в том, что фенол с избытком брома дает трибромфенол, избыток же брома определяется иодометрическим способом.



Сущность же иодометрического метода Вильки состоит в том, что фенол определяется путем смешивания разведенного водного раствора фенола с децинормальными растворами иода и соды в подкисленной среде и оставшийся после реакции ($\text{C}_6\text{H}_5\text{OH} + 3\text{J}_2 \rightarrow \text{C}_6\text{H}_2\text{J}_3\text{OH} + 3\text{HJ}$) иод титруется де-

цинормальным раствором тиосульфата натрия, причем учитывается, что 1 грамм молекула фенола требует 6 грамм эквивалентов иода и что 1 мл децинормального раствора иода соответствует 0,001567 граммам фенола. Однако все эти и им подобные методы исследования в основном рассчитаны для определения фенола в водных растворах, не содержащих сколько-нибудь белков и сахаров. Поэтому наши попытки пользоваться этими методами исследования для определения фенола в молоке и молочных продуктах не увенчались успехом. Это объясняется и тем, что в молоке и в некоторых молочных продуктах содержится сахар, а как известно, сахар в молоке и молочных продуктах определяется также и подометрическим способом.

В своих исследовательских работах мы попытались освободиться от белков молока путем их осаждения и фильтрации, а на сахар были внесены соответствующие поправки, однако все эти попытки также не дали положительных результатов. Существуют и специальные методы определения фенола в молоке. К ним относятся реакции Аллена, Фриша, Кларка, Миллона, Хинденга и других. Среди перечисленных реакций реакция Хинденга является более чувствительной и выгодно отличается от других методов определения фенола в молоке. Однако и этот индикаторный метод более всего носит субъективный характер и хорош он для качественных анализов, а не для точного определения количества фенола в молоке. Чтобы судить, насколько реакция Хинденга субъективна и не пригодна для количественного определения фенола в молоке и в кисломолочных продуктах, ниже приводим ее краткое описание. Реакция Хинденга заключается в следующем: к 6—7 каплям раствора диазосоединения приливается 8—10 капель испытуемого раствора и несколько капель концентрированного раствора едкого натра для создания щелочной реакции среды. В зависимости от концентрации фенола, раствор принимает окраску от интенсивно красного до оранжевого цвета. По мере уменьшения концентрации фенола цвет окраски от интенсивно-красного постепенно переходит в оранжево-желтый. По полу-

ченной окраске судят о концентрации фенола в растворе, пользуясь нижеприведенной нами несколько сокращенной таблицей Хинденга (таблица 1).

Таблица 1

Концентрация фенола	Окраска при различных концентрациях водного раствора
0	Цвет реактива
1:1000	Красный
1:50000	Оранжевый
1:100000	Оранжевый
1:200000	Желто-оранжевый
1:250000	Желто-оранжевый
1:500000	Бледнооранжевый

Как видно из этой таблицы, реакция Хинденга является высокочувствительной и дает возможность обнаружить даже следы фенола. Однако эта реакция не пригодна для количественного определения фенола в растворах, так как нет особой разницы в цветах как при концентрациях фенола в растворах 1:50000 и 1:100000, так и при концентрациях 1:200000 и 1:250000. Поэтому, по нашему мнению, реакцией Хинденга более всего удобно пользоваться для качественного определения фенола.

Учитывая все вышеизложенные моменты, для определения количества фенола в молоке и кисломолочных продуктах мы пользовались видоизмененным нами методом Вильки, который состоит в следующем:

100 мл молока или кисломолочного продукта перегоняется при помощи водяного пара для отгона фенола до получения в приемнике 250—300 мл дистиллята. Конец перегонки определяется при помощи качественной индикаторной реакции на фенол*.

* Мы пользовались нижеследующими двумя индикаторными реакциями:

1) грубой чувствительности — 1:1000 и 2) высокой — 1:500000.

Качественное определение фенола индикатором грубой чувстви-

Полученный дистиллят перемешивается в приемнике. От этого дистиллята берется проба в количестве 10 мл и последовательно к ней добавляется 10 мл децинормального раствора йода, 10 мл децинормального раствора Na_2CO_3 и ставится в темное место на 5 минут, затем смесь подкисляется 5 мл трехнормального раствора серной кислоты и оставшийся йод титруется децинормальным раствором тиосульфата натрия ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) до светлосоломенного цвета, после чего прибавляется несколько капель 1% раствора свежеприготовленного крахмала и продолжается титрование до исчезновения синего окрашивания. Израсходованное количество децинормального раствора тиосульфата натрия в миллилитрах высчитывается от взятого количества децинормального раствора йода. Чтобы найти искомое количество фенола в граммах, полученную разность умножают на 0,001567.

Насколько точен видоизмененный (комбинированный) нами метод Вильки для определения количества фенола в молоке и кисломолочных продуктах, видно из данных пятикратных анализов по определению фенола по методу Вильки и видоизмененному нами методу Вильки (табл. 2). Как видно из таблицы 2, приведенные цифровые данные сравнительных анализов по определению фенола в воде полностью совпадают. В молоке, в которое не было добавлено фенола, по Вильки оказалось фенола 0,116% (в стерильном молоке) и

тельности состоит в следующем: берется 5 капель дистиллята непосредственно из-под холодильника и к нему прибавляется 1—2 капли 20% водного раствора хлорного железа ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$). От присутствия фенола смесь принимает фиолетово-голубое окрашивание.

Качественное определение фенола индикатором высокой чувствительности определяется следующим образом: к 6 каплям индикатора диазосоединения прибавляется 10 капель дистиллята, непосредственно взятого из-под холодильника. В зависимости от содержания фенола смесь принимает окраску от красного до оранжевого цвета. В отсутствии же фенола смесь принимает окраску индикатора.

Индикатор диазосоединения готовится следующим образом: к 100 мл дистиллированной воды прибавляется 5 мл концентрированной серной кислоты с удельным весом 1,84 и на кончике перочинного ножа немного паранитроанилина и все это взбалтывается до полного растворения. После охлаждения к раствору прибавляется несколько кристаллов азотистокислого натрия (NaNO_2).

0,122‰ (в сыром молоке), тогда как по нашему методу были обнаружены лишь следы фенола. В молоке иногда можно обнаружить следы фенола, в особенности в сыром молоке не первой свежести. Присутствие в молоке следов фенола объясняется присутствием в молоке белковых фенольных групп в результате минимальных сдвигов в белковой молекуле.

Аналогичные расхождения в данных анализов мы получали и при добавлении определенных количеств фенола в молоко. Как видно из табл. 2, количество фенола по Вильки получалось намного больше, чем было добавлено. Данные анализов по нашему комбинированному методу практически совпадают со взятым количеством фенола.

При сравнении полученных данных анализов не трудно убедиться, что комбинированный метод определения фенола в молоке и кисломолочных продуктах относительно точнее, чем метод Вильки и даже высокочувствительная реакция Хинденга.

Таблица 2

Определение фенола в воде и в молоке по Вильки и по видоизмененному (комбинированному) нами методу Вильки (средние арифметические данные пятикратных анализов)

Среда	Содержание фенола в процентах	Фенола	
		по Вильки	по видоизмененному нами методу Вильки
Вода	0,1	0,098	0,098
	0,2	0,199	0,199
	1,0	1,0	1,0
Молоко сырое	—	0,122	0,000294
	0,1	0,2659	0,104
	0,2	0,3037	0,2009
	0,3	0,4695	0,2828
Молоко стерильное	—	0,116	0,000148
	0,1	0,250	0,104
	0,2	0,300	0,197
	0,3	0,392	0,291
Ацидофильное молоко	0,2	0,314	0,1975

Как было изложено выше, мы попытались выяснить вопрос о влиянии различных концентраций фенола на продукты жизнедеятельности некоторых молочнокислых бактерий и дрожжей, встречающихся в молочных продуктах.

Из литературных данных и из ранее изданных наших работ видно, что среди многих видов бактерий, молочнокислые проявляют относительно высокую стойкость к определенным концентрациям фенола. Так, по нашим данным (1951 и 1953), палочковидные формы молочнокислых бактерий относительно более выносливы к фенолу, чем коккообразные формы. Из палочковидных молочнокислых бактерий ацидофильные и некоторые штаммы мапунных палочек относительно более выносливы к фенолу, чем *Bact. bulgaricum* и *Bact. casei*.

Среди ацидофильных и мапунных молочнокислых палочек встречаются и такие, которые переносят содержание 0,5% фенола в молоке.

Из коккообразных форм к более стойким к фенолу относятся высококислотообразующие расы из группы гомоферментативных *Streptococcus lactis*. Менее стойки к фенолу слабокислотообразующие расы из гетероферментативной группы *Strept. cremoris*, *Strept. citrovorus*, *Strept. paracitrovorus*. Ниже приводим некоторые цифровые данные о влиянии различных концентраций фенола на кислотообразующую способность палочковидных ацидофильных молочнокислых бактерий.

Перечисленные в таблицах 3 и 4 штаммы молочнокислых ацидофильных палочек и палочек, выделенных из мацуна, перед высевом в молоко с содержанием от 0,1 до 0,5% фенола в течение 19 суток выдерживались в молоке с содержанием 0,1% фенола. Отсюда эти культуры были перевиты в молоко с содержанием от 0,1 до 0,5% фенола. Первоначальная активность культур почти полностью сохранилась в молоке с содержанием фенола 0,1% (табл. 3 и 4).

Как видно из таблицы 3, средняя кислотность первого пассажа составляла 368°Т, а второго—354°Т. Концентрация фенола 0,1% отнюдь не отразилась на кислотообразующей способности ацидофильных палочек, как это обычно имеет

место с другими микроорганизмами. Однако при дальнейшем повышении концентрации фенола в молоке, мы наблюдаем постепенное падение кислотообразующей способности означенных культур. Так, в молоке с содержанием фенола 0,2%, средняя кислотность составляла 289°Т или на 20% ниже по сравнению с кислотностью исходной культуры. В молоке с содержанием фенола 0,3% соответственно 175°Т или на 53% ниже кислотности исходной культуры. В молоке с 0,4% фенола средняя кислотность резко падает, составляя 127°Т или на 66% ниже первоначальной исходной культуры. Из перечисленных 34 штаммов 4 почти полностью потеряли кислотообразующую способность при концентрации 0,4% фенола. Дальнейшее повышение концентрации фенола болезненно отражается на жизнедеятельности ацидофильных бактерий, а при концентрации 0,6% полностью прекращается их жизнедеятельность.

Однако среди молочнокислых встречаются и такие штаммы, на которых концентрация фенола 0,2% почти не отразилась на их кислотообразующей способности (табл. 4). Однако и здесь при дальнейшем повышении концентрации фенола в молоке мы наблюдаем постепенное падение кислотообразующей способности приведенных в табл. 4 молочнокислых культур. Как видно из таблицы 4, кислотообразующая способность означенных штаммов культур начинает падать в молоке, начиная с концентрации фенола 0,3%. Так, в молоке с содержанием фенола 0,3% средняя кислотность составляла 193°Т или на 17% ниже кислотности исходной культуры. В молоке с содержанием 0,4% фенола средняя кислотность составляла 161°Т или на 31% ниже кислотности исходной культуры. В молоке с фенолом 0,5% средняя кислотность составляла 114°Т или соответственно на 50% ниже исходной культуры.

Аналогичные данные мы имеем в отношении образования летучих кислот молочнокислыми палочками группы 335 (табл. 5). Как видно из табл. 5, с повышением концентрации фенола наряду с понижением титруемой кислотности понижаются и летучие кислоты. Так, в молоке с содержанием 0,1% фенола, заквашенном молочнокислыми бактериями

Т а б л и ц а 3

Влияние различных концентраций фенола на кислотообразующую способность ацидофильных бактерий

№№ штаммов	Кислотность исходной культуры в молоке по Тернеру	Концентрация фенола в молоке в процентах			
		0,1	0,2	0,3	0,4
		кислотность в градусах Тернера			
3 М+аг/4	324	346	269	197	138
Ац. аг/ппп.	355	335	306	170	147
Ац. а/3	391	359	265	152	133
26 аг/5	338	348	282	147	32
26 М аг/5	338	346	315	131	115
27 М	364	360	317	—	162
26 аг/1	359	335	270	283	34
125 аг/1	361	365	270	163	34
125 аг/6	377	363	354	—	158
125 а	364	360	—	—	209
127	364	349	262	—	—
128 аг/6	375	360	236	163	105
128	390	360	306	190	34
317/384	385	372	—	—	191
317/386	375	372	354	190	117
317/385	382	372	262	168	137
317/389	359	349	242	178	183
317/390	371	368	263	170	110
317/391	377	400	284	178	131
317/392	359	369	—	170	110
317/393	364	369	354	190	117
317/401	390	349	288	190	109
317/402	375	—	415	131	195
317/385 аг/1	373	372	270	177	117
317/385 аг/2	386	322	—	204	94
317/385 аг/3	353	325	328	168	110
317/385 аг/4	361	326	—	178	138
317/385 аг/5	—	368	267	168	131
317/385 аг/6	405	368	308	180	115
317/402 аг/1	385	347	284	—	195
317/402 аг/2	371	353	262	190	190
317/402 аг/3	347	299	270	170	181
317/402 аг/4	371	372	—	190	—
317/402 аг/6	331	304	227	147	147
317/401 аг/1	390	368	262	147	—
Средняя кислот- ность	368	354	289	175	127

группы 335, через два дня на нейтрализацию летучих кислот было израсходовано — 5,771 мл децинормальной щелочи или на 2,2% меньше, чем в среде, не содержащей фенола. При содержании фенола 0,25% образовалось летучих кислот 5,599 или на 5,1% меньше, чем в исходной культуре.

Таблица 4

Влияние различных концентраций фенола на кислотообразующую способность палочковидных молочнокислых бактерий, выделенных из мауна

№ № штаммов	Кислотность исходной культуры в молоке по Тернеру	Концентрация фенола в молоке в процентах				
		0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
		кислотность в градусах Тернера				
I	298	299	294	247	122	96
II	287	290	262	203	144	98
III	175	193	167	146	120	99
IV	187	161	187	162	176	106
V	181	208	175	154	—	136
VI	198	222	175	171	—	144
VII	294	294	301	270	243	120
Средняя кис- лотность	231	238	223	193	161	114

Таблица 5

Влияние различных концентраций фенола на продукты жизнедеятельности молочнокислых палочек группы 335 (средние цифровые данные 5 повторных анализов двухсуточных культур)

Концентра- ция фенола в молоке в процентах	Кислотность по Тернеру	pH	На 100 г кисло-молочного продукта израсходовано г/10 NaOH в мл			Количество оставшегося фенола после броже- ния в про- центах
			летучие кислоты	общий эфир	укусно- этиловый эфир	
—	285	—	5,900	—	—	—
0,1	271	—	5,771	—	—	0,1
0,2	225	3,55	5,814	1,745	0,013	0,19
0,25	217	3,55	5,599	1,358	0,0101	0,24
0,3	227	3,57	4,737	1,552	0,0115	0,29
0,4	187	3,73	3,230	1,358	0,0101	0,39

На 100 г культуры с содержанием 0,3% фенола на летучие кислоты израсходовано децинормальной щелочи 4,737 мл или на 20% меньше, чем в культуре, не содержащей фенол. В культуре при содержании фенола 0,4% образовалось летучих кислот 3,230 или на 45,3% меньше, чем в исходной культуре. Подобные результаты мы имеем и в серии опытов, изучающих влияние фенола на продукты жизнедеятельности молочнокислых стрептококков, палочек и дрожжей при совместном их культивировании на молоке (табл. 6).

Как видно из таблицы 6 (штамм 338a/1), с повышением концентрации фенола, наряду с понижением титруемой кислотности и летучих кислот, снижается также количество эфиров. Так, в пятисуточной культуре штамма № 338 а/1 при содержании фенола 0,33% на общий эфир израсходовано 2,523 мл и на уксусно-этиловый эфир 0,0187 мл децинормальной щелочи. При содержании фенола 0,13% на общий эфир израсходовано 1,458 мл или на 42% меньше и на уксусно-этиловый эфир 0,010 мл щелочи или на 47% меньше, чем в культуре с фенолом 0,033%.

В основном аналогичные данные с некоторыми колебаниями мы имеем и в тринадцатисуточной культуре штамма № 338 а/1 и в трехсуточной культуре штамма № 338 а/2.

Из приведенных в таблицах 3, 4, 5 и 6 данных анализов видно, что на жизнедеятельность молочнокислых бактерий влияние фенола начинает заметно сказываться начиная с концентрации фенола 0,2% и выше. С дальнейшим повышением содержания фенола в молоке жизнедеятельность молочнокислых палочковидных бактерий постепенно начинает подавляться и, наконец, в концентрациях фенола 0,6% полностью прекращается.

В таблице 7 мы приводим данные о влиянии различных концентраций фенола на продукты жизнедеятельности дрожжей, выделенных из различных кисломолочных продуктов. Как видно из таблицы 7, из приведенных 4 штаммов дрожжей лишь три штамма (312¹, 338 Д-1, 338 Д-3) сбраживают лактозу с выделением углекислоты. Считаем необходимым отметить, что, по данным Ф. Г. Саруханян, не все дрожжи,

Таблица 6

Влияние различных концентраций фенола на продукты жизнедеятельности молочнокислых стрептококков, палочек и дрожжей при совместном их культивировании на молоке

Концентрация фенола в молоке в процентах	Кислотность по Тернеру	Летучие кислоты	Общий эфир	укусно-этиловый эфир	Количество оставшегося фенола после брожения
--	------------------------	-----------------	------------	----------------------	--

Пятисуточная смесь культуры № 338 а/1

0,033	196	—	2,523	0,0187	—
0,066	194	3,492	1,746	0,0129	0,07
0,1	175	2,318	1,746	0,0129	0,10
0,13	123	2,283	1,458	0,0100	0,13

Тринадцатисуточная смесь культуры № 338 а/1

0,1	—	2,063	0,911	0,0068	0,11
0,2	—	1,852	1,292	0,0096	0,189
0,3	—	1,852	0,516	0,0038	0,288
0,4	—	2,064	1,090	0,0081	0,379

Трехсуточная смесь культуры № 338 а/2

0,05	203	2,624	4,462	0,3312	0,05
0,1	181	2,320	—	—	0,09
0,15	199	2,783	1,746	0,1296	0,135
0,2	140	1,624	—	0,0302	0,168
0,25	150	1,624	1,746	0,1296	0,238
0,3	181	2,555	1,358	0,0101	0,224
0,4	70	2,320	1,164	0,0086	—
0,5	62	1,196	1,164	0,0086	0,432

которые встречаются в кисломолочных продуктах, имеют способность сбраживать лактозу. Если можно будет судить о развитии дрожжей лишь только по газообразованию, т. е. выделению углекислого газа, то можно было бы отметить, что штаммы 312 и 338 Д-1 в молоке с содержанием 0,1% фенола не прекращают сбраживание лактозы, тогда как штамм 338 Д-3 при той же концентрации совершенно потерял способность сбраживать лактозу с выделением углекислого газа.

Как видно из той же таблицы 7, с повышением концентрации фенола наряду со снижением количества эфиров снижаются кислотообразующие и спиртообразующие способности дрожжевых клеток. Так, при концентрации фенола 0,1% штамм № 312 образовал 2,16 объемных процентов спирта, а при концентрации 0,2% фенола — 0,13 объемных процентов спирта. Как видно из приведенных данных, дрожжи, при концентрации фенола в молоке 0,3%, полностью прекращают свою жизнедеятельность. Аналогичные данные мы имеем с образованием летучих кислот. Так, при концентрации фенола 0,1% образовалось летучих кислот 6,79 (штамм 312¹) и 0,82512

Таблица 7
Влияние различных концентраций фенола на продукты жизнедеятельности дрожжей, выделенных из кисломолочных продуктов

№№ штаммов	Концентрация фенола в молоке в ‰, до брожения	Кислотность в молоке по Тернеру	Летучие кислоты	Общий эфир	Уксусно-этиловый эфир	Колич. фенола после брожения	Колич. спирта		Выделение углекислоты
							в ‰	в ‰	
312 ¹	—	50	—	—	—	—	—	—	—
	0,1	55	6,79	3,03804	0,02255	0,113	1,715	2,16	+++
	0,2	29	0,60138	1,09804	0,00815	0,1974	0,110	0,13	+++
159	—	50	—	—	—	—	—	—	—
	0,1	29	0,82512	2,05224	0,01478	0,1188	—	—	—
	0,2	23	0,41256	2,65004	0,01967	0,2088	—	—	—
338 Д-1	—	50	—	—	—	—	—	—	+++
	0,1	48	—	—	—	—	—	—	+++
	0,2	48	—	—	—	—	—	—	—
338 Д-3	—	20	—	—	—	—	—	—	+++
	0,1	48	—	—	—	—	—	—	—
	0,2	44	—	—	—	—	—	—	—

(штамм № 159). В концентрациях фенола 0,2% те же штаммы соответственно образовали летучих кислот 0,60138 и 0,41256. То же самое явление мы наблюдаем с образованием эфиров.

Небезинтересно отметить, что с повышением концентрации фенола в молоке количество кислот и эфиров у некоторых штаммов вначале понижается, затем в пределах концентрации фенола 0,3, 0,4% мы наблюдаем вторичное повышение количества продуктов жизнедеятельности, после чего наступает резкое снижение, а затем и полное прекращение жизнедеятельности микроорганизмов. Так, вторичное повышение продуктов жизнедеятельности мы наблюдаем у 13-суточной культуры 338 а/1 при концентрации фенола 0,4% (таблица 6), у трехсуточной культуры 338 а/2—при концентрации фенола 0,3—0,4% (таблица 6). Аналогичное явление вторичного повышения количества продуктов жизнедеятельности мы наблюдаем у ацидофильных молочнокислых бактерий штамма 317/401 при концентрациях фенола 0,3 и 0,4% и у штамма С при концентрациях фенола 0,2% (табл. 8).

Как видно из вышеуказанного, концентрации фенола в молоке в пределах 0,1—0,2% слабо отражаются на нормальной жизнедеятельности молочнокислых палочковидных форм бактерий, причем это количество фенола полностью остается и после молочнокислого брожения. Однако, начиная с концентрации фенола 0,3% и выше, мы наблюдаем, что количество фенола после брожения несколько снижается, что особенно заметно при концентрациях фенола 0,4 и 0,5% (табл. 6 и 8).

Как видно из таблицы 8, при первоначальной концентрации фенола 0,4% у штамма 317/401 после брожения осталось фенола 0,37%, а у штамма С—0,35%, при концентрации фенола 0,5% у штаммов 317/401 и С после брожения осталось фенола 0,4%. Возможно, что эти явления связаны с глубокими морфологическими и физиологическими изменениями, которые претерпевают клетки микроорганизмов под влиянием различных концентраций фенола, о чем несколько подробнее изложено в другой статье, посвященной морфологическим изменениям микроорганизмов под влиянием фенола.

Таблица 8

Влияние различных концентраций фенола на продукты жизнедеятельности ацидофильных молочнокислых бактерий штаммов 317/401 и С (данные двухсуточных культур)

Концентрация фенола в молоке в процентах	Кислотность по Тернеру	рН	На 100 г ацидофильного молока израсходовано п/10 NaOH в мл			Количество оставшегося фенола после брожения в процентах
			летучие кислоты	общий эфир	укусно-этиловый эфир	

Штамм № 317/401

0,1	270	3,39	4,306	2,716	0,020	0,094
0,2	226	3,92	4,953	2,560	0,019	0,19
0,3	152	4,09	5,168	2,560	0,019	0,28
0,4	108	4,48	4,306	3,919	0,029	0,37
0,5	94	4,72	2,153	0,795	0,006	0,4

Штамм № С

0,1	200	3,55	2,584	6,635	0,049	0,094
0,2	197	3,79	4,953	5,238	0,0101	0,19
0,3	194	3,83	3,879	0,776	0,0058	0,29
0,4	154	3,95	3,233	0,385	0,00288	0,35
0,5	114	4,15	3,007	0,194	0,00114	0,4

В ы в о д ы

1. Иодометрический метод Вильки и бромометрический метод Коппшаар и другие подобные им методы не пригодны для определения количества фенола в молоке и кисломолочных продуктах, так как они рассчитаны для определения фенола в водных растворах.

2. Реакция Хинденга, которая является высокочувствительной и выгодно отличается от реакции Аллена, Фриша, Кларка и Миллона, также не пригодна для определения количества фенола в молоке. Эта индикаторная реакция скорее всего относится к субъективному методу исследования и хороша для качественных определений фенола в молоке.

3. Видоизмененный нами метод Вильки для определения количества фенола в молоке и кисломолочных продуктах является наиболее точным и приемлемым.

4. Повышение концентрации фенола весьма пагубно отражается на росте и жизнедеятельности молочнокислых бактерий и дрожжей, встречающихся в молочных продуктах. Под влиянием фенола вначале ослабляются, затем полностью подавляются физиологические функции и, наконец, прекращается обмен веществ молочнокислых бактерий и дрожжей.

5. С повышением концентрации фенола в молоке понижается количество продуктов жизнедеятельности микроорганизмов, что сказывается и на уменьшении кислотообразования, спиртообразования и эфиробразования.

В пределах концентрации фенола 0,3 и 0,4% в зависимости от вида микроорганизмов у некоторых штаммов имеют место случаи вторичного повышения количества продуктов жизнедеятельности микроорганизмов, после чего наступает резкое снижение, а затем и полное прекращение жизнедеятельности микроорганизмов.

6. С повышением концентрации фенола в молоке, начиная от 0,1%, постепенно понижается жизнедеятельность молочнокислых бактерий и в первую очередь коккообразных форм, затем болгарской, мацунной и сырной палочки и, наконец, ацидофильных и некоторых разновидностей мацунных палочек.

7. Фенолостойкость дрожжей, встречающихся в молочных продуктах, почти совпадает с фенолостойкостью молочнокислых стрептококков.

Л И Т Е Р А Т У Р А

- Бродский Б. А., Перельман Я. М. 1938, Анализ готовых лекарственных форм. Медгиз, Москва, стр. 160 и 225.
- Государственная фармакопея СССР, 1952, стр. 385.
- Ерзинкян Л. А., Пахлевanian М. Ш., Мурадян Е. А. 1953. К вопросу фенолостойкости *Lactobact. acidophilum*. Вопросы сельскохозяйственной и промышленной микробиологии АН АрмССР, вып. 1 (VII), стр. 163.
- Калабина М. М. и Роговская Ц. И. 1934. Распад фенола под влиянием микроорганизмов. ОНТИ, Госстройиздат, стр. 5.
- Калабина М. М. 1934. Распад фенола в стоячих и текущих водах. ОНТИ, Госстройиздат, стр. 39.

- Bach H. Dr. 1928. Phenolschwund im Wasser, „Gesundheitsingenieur“, H. 46.
- Fowler C., Ardern E. and Lockett W., 1910. The oxidation of phenol by certain Bacteria in pure Culture. Proceedings of the Royal Society.
- Curran H. R., Rogers L. A. and Whittier E. O. 1933. The distinguishing characteristics of *Lactobacillus acidophilus*. Journ. Bact. 25.
- Hingeng, Bach. H. 1929. Gas und Wasserfach, 375.
- Koppeschaar. 1876, Zschr. analyt. Chem., 15. 230.
- Wilkie. 1911. J. Loc. Chem. Ind., 30, 398.

Լ. Ն. ԵՐՁԻՆԿՅԱՆ, Ե. Ն. ՍՈՒՐԱՊՅԱՆ

ՖԵՆՈԼԻ ԱՋԴԵՑՈՒԹՅՈՒՆԸ ՄԻԿՐՈՐԳԱՆԻԶՄՆԵՐԻ
ԿԵՆՍԱԳՈՐԾՈՒՆԵՈՒԹՅԱՆ ՎՐԱ ԵՎ ԿԱԹԻ ՈՒ ԹԹՈՒ
ԿԱԹՆԱՄԹԵՐՔՆԵՐԻ ՄԵՋ ՖԵՆՈԼԻ ՔԱՆԱԿԸ
ՈՐՈՇԵԼՈՒ ԵՂԱՆԱԿԸ

Ա Մ Փ Ո Փ Ո Ւ Մ

Կաթնաթթվային բակտերիաների նյութափոխանակման վիճակը ֆենոլի տարբեր կոնցենտրացիաներում կարևոր տեսակետից ու գործնական նշանակություն ունի մարդու և կենդանիների աղեստամոքսային տրակտում կաթնաթթվային ձողաձև բակտերիաների ընտելացման աստիճանը որոշելու համար:

Գրականության մեջ սակավ են տվյալները կաթնաթթվային բակտերիաների ֆենոլադիմացկունության մասին և բոլորովին տեղեկություններ չկան շաքարասնկերի վերաբերյալ: Մակայն, վերոհիշյալ հարցերը բազմակողմանիորեն լուծելու համար անհրաժեշտ էր որոշել ֆենոլի քանակը կաթի և թթու կաթնամթերքների մեջ՝ կաթնաթթվային բակտերիաների կենսագործունեության սկզբում, ընթացքում և վերջում:

Դոյություն ունեն ֆենոլի քանակական որոշման տարբեր եղանակներ, որոնցից ուշագրավ են Կոպպշաարի բրոմոմետրիկ և Վիլկիի յոդամետրիկ եղանակները: Մակայն այդ եղանակները պիտանի են միայն ջրի մեջ ֆենոլի քանակը որոշելու համար: Այս եղանակները կիրառելի չեն կաթի և թթու կաթնամթերքների մեջ ֆենոլի քանակական որոշման համար այն պատճառով, որ կաթն ու կաթնամթերքները պարունակում են

սպիտակուցներ և շաքարներ, որոնք խոչընդոտ են հանդիսանում վերոհիշյալ եղանակներով կաթի ու կաթնամթերքների մեջ ֆենոլի քանակական որոշմանը: Գոյություն ունենալի կաթի մեջ ֆենոլի որոշման հատուկ եղանակներ: Թեև համեմատած Ալլենի, Ֆրիշի, Կլարկի և Միլլոնի ուսուցիչների հետ, ունի մի շարք առավելություններ, սակայն դարձյալ պիտանի է կաթի ու թթու կաթնամթերքների մեջ ֆենոլի քանակը ճիշտ որոշելու համար: Հինդենի ուսուցիչի համար է ֆենոլի որակական որոշման համար: Հաշվի առնելով այս հանգամանքները, մենք կաթի ու թթու կաթնամթերքների մեջ ֆենոլի ճշգրիտ քանակական որոշման համար կիրառել ենք Վիլկի մեր կողմից ձևափոխված եղանակը, որը տվել է միանգամայն դրական արդյունք: Մեր ձևափոխած եղանակի էությունն այն է, որ կաթի ու թթու կաթնամթերքի մեջ եղած ֆենոլը սկզբում թորում ենք ջրային գոլորշիների օգնությամբ և ապա թորվածքի մեջ որոշում ֆենոլի քանակը Վիլկի յոգամետրիկ եղանակով:

Մեր կատարած փորձերը ցույց են տվել, որ ֆենոլի նույնիսկ թույլ կոնցենտրացիաները չափազանց բացասաբար են ազդում կաթնաթթվային բակտերիաների և շաքարասնկերի աճի ու կենսագործունեության վրա: Ֆենոլի աճող կոնցենտրացիաների ազդեցության տակ կաթնաթթվային բակտերիաների և շաքարասնկերի կենսագործունեությունը հետզհետե թուլանում է, ճնշվում և, վերջապես, ֆենոլի կոնցենտրացիաների հետագա աճի պատճառով բոլորովին կանգ է առնում նրանց կենսագործունեության ընթացքում տեղի ունեցող նյութափոխանակությանը:

Ֆենոլի կոնցենտրացիայի բարձրացման դուրընթաց, կաթի ու թթու կաթնամթերքների մեջ աստիճանաբար նվազում է միկրոօրգանիզմների նյութափոխանակության հետևանքով առաջացած արտադրանքների, այդ թվում թթուների, էթերների, և սպիրտների գոյացումը: Սակայն կաթնաթթվային բակտերիաների մի քանի շտամների մոտ նկատվել է, որ ֆենոլի 0,3—0,4% կոնցենտրացիայի դեպքում թթուների ու էթերների գոյացման քանակը զգալի չափով բարձրանում է:

Սակայն ֆենոլի խտության հետագա բարձրացման հետևանքով նորից տեղի է ունենում նյութափոխանակության ավել-

լի խիստ թուլացում, որի շնորհիվ նյութափոխանակման արտադրանքների քանակը մեծապես նվազում է և, վերջապես, դադարում:

Սննդանյութի մեջ ֆենոլի քանակի աճմանը զուգընթաց, աստիճանաբար նվազում է կաթնաթթվային կոկիների, ապա բուլղարական, մածնի ու պանրի ձողաձև բակտերիաների և, ի վերջո, մի քանի այլ մածնաձողերի այլատեսակների ու ացիդոֆիլ կաթնաթթվային բակտերիաների նյութափոխանակութունը: Քաթի ու կաթնամթերքների մեջ հանդիպող շաքարառանկերի ֆենոլադիմացկունութունը համարյա համընկնում է կաթնաթթվային ստրեպտոկոկների ֆենոլադիմացկունության հետ: