

## BİOLOGİYA

**АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ МОЛОЧНОКИСЛЫХ  
БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ТРАДИЦИОННЫХ МОЛОЧНЫХ  
ПРОДУКТОВ АПСХЕРОНСКОГО ПОЛУОСТРОВА АЗЕРБАЙДЖАНА****С.Г.ГЮЛЬАХМЕДОВ**

*Из традиционных молочных продуктов Апшеронского полуострова Азербайджана выделены, характеризованы молочнокислые бактерии (МКБ), и впервые изучена их антибактериальная активность против сопутствующих условно-патогенных и патогенных микроорганизмов. 27,5% выделенных линий МКБ проявили бактерицидную активность. Спектр антибактериальной активности охватывал *L.bulgaricus* 340, *E.coli* НВ 101, *Enterococcus*, *Candida ps.* и других патогенов. При изучении антибактериальной активности использована принципиально новая методика.*

Для ферментации различных мясомолочных и растительных продуктов в качестве закваски используются молочнокислые бактерии (МКБ). Последние продуцируют ряд антимикробных агентов, необходимых для пищевой и кормовой ферментации, а также для хранения пищевых продуктов. Поэтому они имеют экономическое значение. Большое количество метаболитов МКБ обладают специальными функциями, которые прямо или косвенно участвуют в процессах формирования вкусовых качеств, а также в созревании ферментированных продуктов. Одним из важных свойств МКБ является их способность продуцировать ряд биологически-активных веществ с антимикробными свойствами, которые позволяют использовать эти бактерии в качестве биопрезерватива. Антагонизм МКБ в ферментированных продуктах ассоциируется с главными конечными продуктами их метаболизма, такими как молочная и уксусная кислота, перекись водорода, ферменты и литические агенты (1). Эти свойства МКБ используются для консервирования ферментированных продуктов со времен Вавилонии.

Кроме конечных продуктов метаболизма некоторые МКБ способны продуцировать так называемые “бактериоцины”, которые образуют антибактериальные пептиды, убивающие сопутствующие бактерии (2).

В последние годы антибактериальные вещества, продуцируемые МКБ, интенсивно изучаются (3,4). Кроме того, описаны типичные антимикробные вещества с их узким бактерицидным спектром (5,6). Некоторые из этих активных веществ способны подавлять рост не только грамположительных патогенных, но и некоторых грамотрицательных видов тоже (2, 4, 5, 7, 8). К другой категории вторичных микробных метаболитов относятся обычные антибиотики.

В настоящей работе описываются методы изолирования МКБ-штаммов, обладающих бактерицидными свойствами, из нативных молочных продуктов (сыр, мацони) Апшеронского полуострова Азербайджана. Аналогичные исследования наших традиционных домашних продуктов проводятся впервые.

### Экспериментальная часть

#### Материалы и методы исследования

Produüirovanie vehestv s antimikrobnoy aktivnostgö, ştammami izolirovannix MKB vıvleni modifiüirovannım antaqonizm-metodom s ispolgızovanıem ukazannix indikatornix mikroorqanizmov (tabl. 1).

*Lactobacillus bulgaricus* 340 (LB340) и *Enterococcus* были выращены в MRS-среде (Difko, MI, USA) при 30°C или 37°C. *Listeria innocua* и *Staphylococcus aureus* – в ВН (30°C) и ВНИ-среде (37°C), соответственно (Difko, USA). Другие штаммы-индикаторы выращены в LB-среде (*E.coli*) и IPD-среде (*Saccharomyces cerevisiae*, *Candida pseudotropicalis*). Для выделения МКБ из сыра и мацони был использован MRS-агар. Индикаторные штаммы были получены из ENITIAA (Нант, Франция). Перед использованием полученные штаммы были выращены дважды (18-24 ч) в соответствующих средах.

Tabliüa 1

#### İndikatornie ştammi

| №  | Ştamm                      | İstocnik            | Среда |
|----|----------------------------|---------------------|-------|
| 1. | <i>L. bulgaricus</i> 340   | Rhodia Food.Tex.Fr. | MRS   |
| 2. | <i>L. innocua</i> F        | CIP 046             | BH LB |
| 3. | <i>E.coli</i> HB 101       | BAS                 | MRS   |
| 4. | <i>Enterococcus</i>        | ENITIAA             | BH    |
| 5. | <i>S. aureus</i>           | ENITIAA             | IPD   |
| 6. | <i>S.cerevisiae</i>        | ENITIAA             | IPD   |
| 7. | <i>C. pseudotropicalis</i> | ENITIAA             |       |

Для выделения активных МКБ сыры и мацони (1 г) были гомогенизированы в стерильной дистиллированной воде, серийно разбавлены в 10 раз и нанесены на MRS-агар (1,5%).

Антимикробная активность МКБ измерялась методом диффузии. Для этого агаризованная среда (0,8%), содержащая индикаторный штамм, разливалась в чашки Петри. После затвердевания с помощью специального прибора на среде делались лунки диаметром 9 мм. Изолированные штаммы МКБ выращивали в жидкой MRS-среде в течение

17 часов при 37°C. Полученную суспензию центрифугировали (7000 gх20 мин), довели pH до 6,5 (0,5 N NaOH). Затем по 100 мкл из супернатанта или суспензии наносили в разные лунки. После адсорбции закрывали чашку и инкубировали в течение 20-24 ч при оптимальной, индивидуально для каждого индикатор-штамма, температуре. Об антимикробной активности судили по чистой зоне вокруг каждой лунки, измеряемой обычной линейкой.

### Результаты и их обсуждение

İz pəti raznıx produktov (2 sorta sıra (iz korovğeqo i oveçğeqo moloka) i 3 vida maüoni iz korovğeqo moloka) bilo videleno okolo 40 liniy MKB. Moloçnie produktı poluçem iz raznıx gkoloqiçeskiç zon Azerbaydjana (qornie reçioni, ravninnie i pribrejnie zoni Kaspıyskoço morə). Analiz gtıx liniy pokazal, çto 27,5% (40/11) iz nıx obladaöt bakteriüidnımi svoystvami.

Bakterii odnoy iz liniy əvləötsə qrampolojitelğnımi, ostalğnie 10 liniy – qramotriüatelğnie. Obe linii, videlennie iz maüoni korovğeqo moloka po forme – kokki. Ostalğnie 9 – baüilli.

Таким образом, можно сказать, что молочные продукты Азербайджана обладают целебным потенциалом.

В табл.1 представлен список различных индикаторных микробов, привлеченных для идентификации антибактериальных активностей изолированных МКБ-линий. Среди них существуют разные грамположительные, грамотрицательные, даже патогенные штаммы. Спектр антибактериальной активности некоторых изолированных МКБ представлен в табл.2. Из таблицы видно, что все линии ингибировали рост LB340, причем рост этих бактерий подавлен больше клеточной суспензией, чем фильтратом. Бактерицидное влияние выделенных линий ярко выражено также по отношению к E.coli и Enterococcus. Рост Candida был подавлен в присутствии только одной линии МКБ. L.innocua, S.cerevisiae и S.aureus были резистентными по отношению ко всем проверенным линиям.

**Таблица 2**

**Спектр антибактериальной активности выделенных линий**

| № ştammov | LB-340 | E.coli | E.spp | C.pseud | L.innoc. | S.aur. | S.cerev. |
|-----------|--------|--------|-------|---------|----------|--------|----------|
| KM. a (1) | +      | +++    | -     | -       | -        | -      | -        |
| b (1')    | +++    | +++    | -     | -       | -        | -      | -        |
| KM. a (2) | ++     | +++    | -     | -       | -        | -      | -        |
| b (2')    | +++    | +++    | +     | -       | -        | -      | -        |
| KS. a (3) | ++     | -      | +     | -       | -        | -      | -        |
| b (3')    | +++    | +      | +++   | -       | -        | -      | -        |
| KS. a (4) | ++     | -      | +     | +       | -        | -      | -        |
| b (4')    | +++    | +      | +++   | +++     | -        | -      | -        |
| KS. a (5) | ++     | +      | +     | -       | -        | -      | -        |
| b (5')    | +++    | ++     | +++   | -       | -        | -      | -        |
| KS. a (6) | +      | +      | +     | -       | -        | -      | -        |

|               |     |   |     |   |   |   |   |
|---------------|-----|---|-----|---|---|---|---|
| <i>b (6')</i> | +++ | + | +++ | - | - | - | - |
|---------------|-----|---|-----|---|---|---|---|

a – filğtrat; b – kletəçnəə suspenziə; “-” – inqibirovanie; “+” – zona inqibirovanie < 2 mm; “++” – zona inqibirovanie 2-4 mm; “+++” – zona inqibirovanie > 4 mm; (1), (1') – no-mera lunok

Krome koneçnıx produktov metabolizma (moloçnəə kislota, uksusnəə kislota, perekisğ vodoroda) MKB produüiruöt bakteriüidnie vehestva, pod obhim nazvaniem “bakteriüinopodobnie aqenti” (BPA). K nim otnosətsə bakteriüini (2); lantibiotičeskiy niüin, ubivaöhiy bolğşinstvo qrapmolojitelğnıx bakteriy (11); Paktaüin V (12); Glvetiüin (13), Kazeiüin (14) i t.d. Vse oni əvləötsə bakteriüidnimi vehestvami belkovoqo proisxojdeniə.

Интересно отметить, что все охарактеризованные до сих пор БПА обладают различными спектрами бактерицидного действия. Некоторые из них ингибируют рост только грамположительных, другие – только грамотрицательных бактерий и дрожжей в том числе (15).

**Таблица 3**

*Энзиматическое тестирование линий с бактерицидной активностью*

| <i>№ линий</i> | <i>Каталаза-тест</i> | <i>Оксидаза-тест</i> |
|----------------|----------------------|----------------------|
| <i>КМ-1</i>    | -                    | -                    |
| <i>КМ-2</i>    | -                    | -                    |
| <i>КС-3</i>    | -                    | -                    |
| <i>КС-4</i>    | -                    | -                    |
| <i>КС-5</i>    | -                    | -                    |
| <i>КС-6</i>    | -                    | -                    |

В ходе работы мы изолировали и частично охарактеризовали БПА-продуцирующие линии МКБ из традиционных молочных продуктов Азербайджана. Обнаруженные БПА ингибировали рост как грамположительных, так и грамотрицательных бактерий. В этом отношении они отличаются от аналогичных агентов, ингибирующих только эволюционно близкие микроорганизмов, выделенных из других источников (16). Например, БПА, выделяемый *Lactobacillus*, ингибировал рост только *Listeria* и *B.subtilis*. наш же БПА проявлял бактерицидную активность по отношению к разным патогенам таким, как *Enterococcus* и *Candida*.

**КМ-2**

**КС-3**

**Рис. 1. Фото МКБ продуцирующих антимикробные вещества.**



10. Farias, M. E., Ruiz Hidalgo, A., and Sesma, F. Bacteriocin production by lactic acid bacteria isolated from regional cheeses: inhibition of food borne pathogens. *J. Food Prot.* 57, 1013-1015 (1994).
11. Jack, R. W., Tagg, J. R., and Ray, B. Bacteriocin of Gram-positive bacteria. *Microbiol. Rev.* 59, 171-200 (1995).
12. Klaenhammer, T.R. Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Biochimie* 70, 337-349 (1988).
13. Klaenhammer, T.R. Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 12, 39-86 (1993).
14. Lindgren, S.E., and Dobrogosz, W.J. Antagonistic activities of lactic acid bacteria in food and feed fermentations. *FEMS Microbiol. Rev.* 87, 149-164 (1990).
15. Tagg, J.R., Dajan, A.S., and Wannamaker, L.W. Bacteriocins of Gram-positive bacteria. *Bacteriol. Rev.* 40, 722-756 (1976).
16. Villani, F., Pepe, O., and Mauriello, G. Antilisterial activity of termophilin 347, a bacteriocin produced by *Streptococcus thermophilus*. *Int. J. Food Microbiol.* 25, 179- 190 (1995).

**AZƏRBAYCANIN ABŞERON YARIMADASINDA HAZIRLANMIŞ  
ƏNƏNƏVİ SÜD MƏHSULLARINDAN AYRILMIŞ SÜD TURŞUSU  
BAKTERİYALARININ ANTİMİKROB FƏALLIĞI**

*S.Q.GÜLƏHMƏDOV*

*ANNOTASIYA*

Abşeron yarımadasında ev şəraitində hazırlanmış ənənəvi süd məhsullarından süd turşusu bakteriyaları (STB) ayrılmış, xarakterizə edilmiş və ilk dəfə olaraq onların bakterisid fəallığı öyrənilmişdir. STB-nin ayrılmış ştammlarının 27,5%-i bakterisid fəallıq nümayiş etdirmişlər. Ayrılmış ştammların antibakterial fəallıq spektri *L.bulgaricus* 340, *E.coli* HB 101, *Enterococcus*, *Candida ps.* kimi şərti və həqiqi patogenləri əhatə etmişdir. Antibakterial fəallıq prinsipə yeni metodla müəyyən edilmişdir.

**THE ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF LACTIC ACID  
BACTERIA ISOLATED FROM TRADITIONAL  
AZERBAIJANI DAIRY PRODUCTS**

*S.G.GYULAKHMEDOV*

**ABSTRACT**

**Approximately about 40 Lactic acid bacteria colonies were isolated from traditionally manufactured, home made two kinds of cheeses (cow and sheep) and three kinds of yogurts (cow) using various isolation media. 11 out of 40 (27,5%) tested LAB isolated showed antibacterial activity against one or more taxonomically related microorganisms.**

The LAB strains, producing "bacteriocin-like substances"(BLS) were partially characterized. These antimicrobial substances were found to inhibit both Gram-positive and Gram-negative bacteria. The wide activity spectra of isolated Azerbaijani LAB strains differ from known BLS of this origin, most of which inhibit only closely related bacterial strains

***Blaqodarnost'g***

Dannie issledovaniã osuhestvleni pri sodeystvii ECO-NET qranta №08139XA. Avtor blaquadaren zaveduõhemu Gruppoy Belkov LEIMA-INRA, Nantes, Franüia, za priqlaøenie v INRA i za üennie soveti pri rabote s patoqennimi bakteriãmi. On takje blaquadaren vsem sotrudnikam LEIMA-INRA za pomohg i obsujdenie poluqennix rezulgtatov.