

DOI: 10.25205/978-5-4437-1691-6-73

**ВЫДЕЛЕНИЕ И ВИДОВАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ  
ПРОБИОТИЧЕСКИХ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ *LACTOCOCCUS LACTIS* SPP.**

**IDENTIFICATION AND SPECIES IDENTIFICATION OF POTENTIAL PROBIOTIC  
LACTIC ACID BACTERIA *LACTOCOCCUS LACTIS* SPP.**

М. С. Каночкина<sup>1,3</sup>, А. Р. Галимова<sup>1,2</sup>, М. В. Виноградов<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Российский биотехнологический университет, Москва

<sup>2</sup>Институт биохимической физики им. Н. М. Эмануэля РАН, Москва

<sup>3</sup>ООО «Микробные нутриенты иммунокорректоры», Москва

M. S. Kanochkina<sup>1,3</sup>, A. R. Galimova<sup>1,2</sup>, M. V. Vinogradov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Russian Biotechnological University, Moscow

<sup>2</sup>Emanuel Institute of Biochemical Physics RAS, Moscow

<sup>3</sup>Microbial Nutrients Immunocorrectors, LLC, Moscow

✉ alinkamx79@gmail.com

**Аннотация**

В ходе исследования было проведено выделение потенциальных пробиотических бактериальных культур рода *Lactococcus* из сырого коровьего молока, а также видовая идентификация определением фенотипических и биохимических свойств.

**Abstract**

The study was conducted to isolate potential prototic bacterial cultures of the genus *Lactococcus* from raw cow's milk, and species identification by the determination of phenotypic and biochemical properties.

**Введение**

*Lactococcus lactis* ssp. *lactis* является одной из важнейших заквасочных бактериальных культур, используемых в производстве молочных продуктов и имеет большое экономическое значение. Характеристика пробиотических и технологических свойств штаммов, выделенных из сырого молока, важна для производства функциональных молочных продуктов. *L. lactis* ssp. *lactis* могут быть использованы в качестве функциональных заквасок благодаря их антимикробной активности, высокой гидрофобности, антиоксидантной активности и способности деконъюгировать желчные соли [1]. Также *Lactococcus lactis* секретирует нетоксичный антибактериальный пептид низин, широко используемый бактериоцин для предотвращения порчи мясных и молочных продуктов, низин способен сохранять относительно высокую стабильность при низком pH [2].

**Цель** исследования — выделение потенциальных пробиотических молочнокислых бактерий рода *Lactococcus*, видовая идентификация выделенных штаммов.

**Методы**

Штаммы молочнокислых бактерий рода *Lactococcus* выделялись из сырого коровьего молока, проверенного на отсутствие спорных микроорганизмов. Образец свежего молока помещали в оптимальные для данного вида микроорганизма условия:  $t = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ , культивирование без доступа воздуха. Из образовавшегося в образцах равномерного, плотного сгустка без посторонних включений делали высевы и рассеивали до единичных колоний на питательной среде агар MRS по микробиологическим разведениям от 1 до 10. Образцы культивировали на чашках Петри в термостате при  $t = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 72 ч. Завершение этапа культивирования оценивали по характерному росту поверхностных колоний на среде. Образцы колоний исследовались методами микроскопии и окраски по Граму.

Для изучения фенотипических свойств выделенных бактерий колонию масштабировали путем засева на питательный бульон MRS. Образцы культивировали в термостате при  $t = 30\text{ }^{\circ}\text{C}$ , 72 ч. Завершение культивирования оценивали по характерному росту в пробирке с питательным бульоном или образованием осадка бактериальной массы. В образцах питательных бульонов, предварительно засеянных колониями, определяли фенотипические свойства бактериальной клетки. Результаты приведены в таблице.

### Фенотипические и биохимические свойства выделенных колоний

Номер образца	Культуральные, морфологические, тинкториальные и фенотипические показатели	Биохимические свойства — ферментация углеводов	Технологические свойства — время ферментации до образования плотного, однородного сгустка, ч
1	Грамположительные клетки сферической, реже овальной и вытянутой формы, расположенные	Фруктоза, глюкоза, лактоза, мальтоза, раффиноза, сахароза, трегалоза	6
2	в монококках и диплококках, реже в небольших извилистых цепочках по 3–7 звеньев и небольших скоплениях, неподвижны, спор и капсул не образуют	Фруктоза, глюкоза, лактоза, мальтоза, раффиноза, сахароза, манноза, глюконат	7
3		Фруктоза, глюкоза, лактоза, мальтоза, раффиноза, сахароза, трегалоза, галактоза, манноза, декстрин	5

Для оценки биохимических свойств проводился анализ по культивированию бактерий на среде MRS с замещением классического углевода (глюкоза) на другие углеводы. Для визуальной оценки характерного роста (сбраживания углеводов бактериями в процессе ферментации) в питательный субстрат добавлялся индикатор, позволяющий оценить уровень ацидификации. Результаты приведены в таблице.

#### Результаты

В ходе ферментации свежего молока в оптимальных условиях для роста бактериальных культур *Lactococcus* spp. были выявлены 3 образца сгустков, которые образовались за 5–8 ч, их использовали для дальнейших исследований. Эти данные с технологической точки зрения показывают потенциальную активность микроорганизма в ферментационном цикле.

#### Заключение

На основании полученных культуральных, морфологических, фенотипических, тинкториальных и биохимических характеристик образцы молочнокислых бактерий отнесены к виду *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. Высокие технологические и ферментационные свойства бактериальных культур дают основания для дальнейшего их исследования для применения в качестве заквасочных культур в пищевой промышленности.

#### Литература

1. Yerlikaya O. Probiotic potential and biochemical and technological properties of *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* strains isolated from raw milk and kefir grains. // Dairy Sci. 2019. Vol. 102 (1). P. 124–134.
2. Tian K., Li Y., Wang B. et al. The genome and transcriptome of *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* F44 and G423: Insights into adaptation to the acidic environment // Dairy Sci. 2019. Vol. 102 (2). P. 1044–1058.