ՀՀ ԳԱԱ «ՀԱՅԿԵՆՍԱՏԵԽՆՈԼՈԳԻԱ» ԳԱԿ ՊՈԱԿ

ԱՌՍՏԱՄՅԱՆ ԼԻԼՅԱ ԱՇՈՏԻ

ԼԵՌՆԱՅԻՆ ՂԱՐԱԲԱՂԻ ՀԱՆՐԱՊԵՏՈՒԹՅԱՆ ԿԱԹԻՑ ԵՎ ԿԱԹՆԱՄԹԵՐՔՆԵՐԻՑ ԿԱԹՆԱԹԹՎԱՅԻՆ ԲԱԿՏԵՐԻԱՆԵՐԻ ԱՆՋԱՏՈՒՄԸ ԵՎ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

ԱՏԵՆԱԽՈՍՈՒԹՅՈՒՆ

Գ.00.14 - «Կենսատեխնոլոգիա» մասնագիտությամբ

կենսաբանական գիտությունների թեկնածուի

գիտական աստիճանի համար

Գիտական ղեկավար՝

կենսաբանական գիտությունների թեկնածու

Ֆլորա Նուբարի Տխրունի

ԵՐԵՎԱՆ – 2016

ԲՈՎԱՆԴԱԿՈՒԹՅՈՒՆ

ՕԳՏԱԳՈՐԾՎԱԾ ՀԱՊԱՎՈՒՄՆԵՐ..... 6
ՆԵՐԱԾՈՒԹՅՈՒՆ..... 7
ԳԼՈՒԽ 1. ԳՐԱԿԱՆ ԱԿՆԱՐԿ..... 14
1.1.ԿԹԲ-ների կենսաբազմազանությունը տարբեր երկրների կաթնամթերքներում..... 14
1.2. ԿԹԲ-ների որոշ հատկությունների կիրառումը..... 17
1.3. ԿԹԲ-ների դերը նորմալ միկրոֆլորայում..... 18
1.4. ԿԹԲ-ների պրոբիոտիկ հատկությունները և կիրառումը..... 22
1.5.Պրեբիոտիկների ընդհանուր բնութագիրը..... 30
1.6.Ֆունկցիոնալ սննդամթերքներ..... 33
ՓՈՐՁԱՐԱՐԱԿԱՆ ՄԱՍ
ԳԼՈՒԽ 2. ՆՅՈՒԹԵՐ ԵՎ ՄԵԹՈԴՆԵՐ..... 36
2.1.Ուսումնասիրությունների առարկան..... 36
2.2. ԿԹԲ-ների շտամների մաքուր կուլտուրաների անջատումը..... 36
2.3.Օգտագործված սննդամիջավայրեր 37
2.4. Օգտագործված թեստ կուլտուրաներ..... 37
2.5.ԿԹԲ-ների շտամների մորֆոլոգիական և կենսաքիմիական հատկությունների գնահատումը..... 38
2.6. Հակամանրէային ակտիվության քանակական հաշվարկ..... 39
2.7. ԿԹԲ-ների շտամների որոշ պրոբիոտիկ հատկությունների գնահատումը..... 40
2.7.1.ԿԹԲ-ների շտամների լեղու նկատմամբ կայունության որոշումը..... 40
2.7.2.ԿԹԲ-ների շտամների տարբեր pH-ի նկատմամբ կայունության որոշումը..... 40
2.7.3.ԿԹԲ-ների շտամների պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների նկատմամբ կայունության որոշումը..... 40

2.7.4.ԿԹԲ-ների շտամների NaCl-ի նկատմամբ կայունության որոշումը…… 40
2.7.5.ԿԹԲ-ների շտամների հակաօքսիդանտային ակտիվության գնահատումը …… 41
2.7.6.ԿԹԲ-ների շտամների հակաբիոտիկների հանդեպ զգայունության որոշումը…… 41
2.7.7.ԿԹԲ-ների շտամների ադհեզիվ հատկության որոշումը…… 41
2.8. ԿԹԲ-ների շտամների աճեցում՝ առանձին և համակցություններով…… 42
2.9. ԿԹԲ-ների շտամների կուլտուրալ հեղուկների մաքրումը… …… 42
2.9.1.ԿԹԲ-ների շտամների վերնստվածքային հեղուկների մաքրումը սպիրտով…… 42
2.9.2.ԿԹԲ-ների շտամների վերնստվածքային հեղուկների խտանյութերի մաքրումը ժել-ֆիլտրման եղանակով…… 42
2.10. Բուսական խտանյութերի ազդեցությունը ԿԹԲ-ների շտամների աճի վրա…… 43
2.11. ԿԹԲ-ների շտամների հիման վրա մշակված կաթնամթերքի օրգանոլեպտիկ հատկությունների որոշումը…… 43
2.12. ԿԹԲ-ների շտամների նույնականացումը…… 44
2.13. Ստացված տվյալների վիճակագրական վերլուծությունը…… 44

ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐ ԵՎ ՔՆՆԱՐԿՈՒՄՆԵՐ
ԳԼՈՒԽ3.ԿԹԲ-ՆԵՐԻ ՇՏԱՄՆԵՐԻ ԱՆՋԱՏՈՒՄԸ ԵՎ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ…… 46
3.1. ԿԹԲ-ների շտամների մորֆոլոգիական, որոշ ֆիզիոլոգիական և կենսաքիմիական հատկությունների ուսումնասիրությունը…… 46
ԳԼՈՒԽ4. ԸՆՏՐՎԱԾ ԿԹԲ-ՆԵՐԻ ՇՏԱՄՆԵՐԻ ՊՐՈԲԻՈՏԻԿ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ…… 53
4.1. ԿԹԲ-ների շտամների կայունությունը լեղու տարբեր խտությունների նկատմամբ…… 53
4.2. ԿԹԲ-ների շտամների կայունությունը pH-ի տարբեր

արժեքներում..... 56
4.3. ԿԹԲ-ների շտամների կայունությունը պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների նկատմամբ..... 59
4.4. ԿԹԲ-ների շտամների արգասիքների կայունությունը NaCl-ի տարբեր խտությունների նկատմամբ..... 60
4.5.ԿԹԲ-ների շտամների հակաօքսիդանտային ակտիվությունը..... 62
4.6.ԿԹԲ-ների շտամների հակամանրէային ակտիվությունը..... 63
4.7. ԿԹԲ-ների շտամների զգայունությունը հակաբիոտիկների նկատմամբ..... 65
4.8. ԿԹԲ-ների շտամների արգասիքների ադհեզիվ հատկությունները..... 66
ԳԼՈՒԽ 5. ԸՆՏՐՎԱԾ ԿԹԲ-ՆԵՐԻ ՀԱՄԱԿՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՍՏԵՂԾՈՒՄԸ..... 70
5.1. ԿԹԲ-ների շտամների համակցությունների աճեցումը կաթի տարբեր նմուշներում՝ (պաստերիզացված, մանրէազերծված, յուղալի, յուղազրկված) և համակցությունների ընտրում..... 70
5.2. Բուսական խտանյութերի ազդեցությունը ԿԹԲ-ների շտամների և համակցությունների աճի վրա..... 76
ԳԼՈՒԽ 6. ԿԹԲ-ՆԵՐԻ ՇՏԱՄՆԵՐԻ ՎԵՐՆՍՏՎԱԾՔԱՅԻՆ ՀԵՂՈՒԿՆԵՐԻ ԽՏԱՆՅՈՒԹԵՐԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ..... 79
6.1. ԿԹԲ-ների շտամների վերնստվածքային հեղուկների խտանյութերի ջերմակայունությունը 79
6.2. ԿԹԲ-ների շտամների առանձին աճեցումից ստացված վերնստվածքային հեղուկների խտանյութերի գնահատումը..... 81
6.3. ԿԹԲ-ների շտամների համակցություններով աճեցումից ստացված վերնստվածքային հեղուկների խտանյութերի գնահատումը..... 84
ԳԼՈՒԽ 7. ՏԱՐԲԵՐ ԸՆՏԱՆԻ ԿԵՆԴԱՆԻՆԵՐԻ ԿԱԹԻՑ ԱՆՋԱՏՎԱԾ ԿԹԲ-ՆԵՐԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ..... 87
ԱՄՓՈՓՈՒՄ..... 95
ԿԻՐԱՌԱԿԱՆ ԱՌԱՋԱՐԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ..... 98

ԵԶՐԱԿԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ..... 99
ՕԳՏԱԳՈՐԾՎԱԾ ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ..... 100
ՀԱՎԵԼՎԱԾ 1..... 109
ՀԱՎԵԼՎԱԾ 2..... 111
ՀԱՎԵԼՎԱԾ 3..... 113
ՀԱՎԵԼՎԱԾ 4..... 115
ՀԱՎԵԼՎԱԾ 5..... 117
ՀԱՎԵԼՎԱԾ 6..... 118
ՀԱՎԵԼՎԱԾ 7..... 119
ՀԱՎԵԼՎԱԾ 8..... 120
ՀԱՎԵԼՎԱԾ 9..... 121
ՀԱՎԵԼՎԱԾ 10..... 122

ՕԳՏԱԳՈՐԾՎԱԾ ՀԱՊԱՎՈՒՄՆԵՐ

ԱՄ/մլ- ակտիվ միավոր/մլ

ԲՖԲ-բիֆիդոբակտերիա

ԳՕՇ-գալակտոօլիգոշաքար

ԳՕՇ-Լ- գալակտոօլիգոշաքար-լակտուլոզա

ԳԱՄ/մլ- գաղութ առաջացնող միավոր/միլիլիտրում

ԴԱ– դալտոն

ԷԲՇ-էկզոբազմաշաքարներ

ընդ.-ընդհանուր

ԿԹԲ- կաթնաթթվային բակտերիա

ԿՀ- կուլտուրալ հեղուկ

ԿՀԽ- կուլտուրալ հեղուկի խտանյութ

ՀՄԿ- հակամանրէային կենսաարգասիք

ՀՄՊ- հակամանրէային պատրաստուկ

Մբ -մասնաբաժին

Մթն/Պա- մթնոլորտ Պասկալ

ՄՊԱ- մսապեպտոնային ագար

ՉՆ-չոր նյութ

պտ/ր- պտույտ րոպե

ՎՆՀ- վերնստվածքային հեղուկ

ՕԽ- օպտիկական խտություն

ՖՕՇ-ֆրուկտոօլիգոշաքար

°Տ- տիտրվող թթվայնություն, (Տյորներ)

ՆԵՐԱԾՈՒԹՅՈՒՆ

<u>Ատենախոսության թեմայի արդիականությունը:</u>

Հայտնի է, որ կաթնաթթվային բակտերիաները (ԿԹԲ) օժտված են բարձր կենսաբանական ակտիվությամբ: ԿԹԲ-ները սինթեզում են դիացետիլ, ջրածնի պերօքսիդ, օրգանական թթուներ, կաթնաթթու, ինպես նաև ցածրամոլեկուլային միացություններ՝ ինդոլներ, բակտերիացիններ, որոնք ունեն հակամանրէային ակտիվություն և լայն կիրառություն են գտել սննդարդյունաբերությունում՝ որպես կենսապահպանիչներ [Шендеров Б., 2001, Leroy F., 2007]:

Ըստ սննդային ալերգիայի հետազոտության Համաշխարհային Կազմակերպության տվյալների, կաթնամթերքների նկատմամբ ալերգիան՝ կաթի սպիտակուցները բազմաթիվ մարդկանց, հատկապես երեխաների մոտ կարող են առաջացնել ալերգիա, ինչը շատ դեպքերում կարող է հանգեցնել ծանր հետևանքների: Կաթնամթերքի նկատմամբ ալերգիան և լակտոզի նկատմամբ անընկալունակությունը հանդիսանում են բժշկության մեջ կաթից զուրկ դիետաների մշակման հիմնական պատճառները: ԿԹԲ-ների կիրառումը այս խնդրի լուծման նպատակով կայանում է նրանում, որ պրոտեոլիտիկ ակտիվությամբ օժտված ԿԹԲ-ները ճեղքում են կաթի սպիտակուցը, ինչը բերում է ալերգիայի նվազեցման: Այդ նպատակով պրոտեոլիտիկ բարձր ակտիվությամբ օժտված պրոբիոտիկ շտամների մեկուսացումը շատ արդիական է: Այսպիսի ԿԹԲ-ները կարող են օգտագործվել հիպոալերգեն կաթնամթերքներ ստանալու նպատակով [Ganesh S., 2006]:

Վերջին տասնամյակներում մեծ ուշադրություն են դարձնում ԿԹԲ-ների պրոբիոտիկ հատկությունների վրա: Պրոբիոտիկներ անվանում են կենսաբանական պատրաստուկները, որոնք բաղկացած են կենդանի ոչ ախտածին միկրոօրգանիզմներից, որոնք օժտված են անտագոնիստական ակտիվությամբ աղիքային ախտածին կամ նեխում առաջացնող մանրէների նկատմամբ [Салливан А. и др., 2003, Zacharof M. et al., 2012]: Պրոբիոտիկ մանրէները ունեն մի շարք դրական հատկություններ՝ կարգավորում են աղիքային միկրոֆլորան, իմունային համակարգը, կրճատում ալերգիկ հիվանդությունների աստիճանը, աղիքային բորբոքումները: Պրոբիոտիկները օգտագործվում են աղեստամոքսային

հիվանդությունների բուժման և կանխարգելիչ նպատակներով, մասնավորապես հակաբիոտիկներ երկարատև ընդունելուց հետո: Պրոբիոտիկ բակտերիաները ընդունակ են երկար ժամանակ գոյատևել աղեստամոքսային համակարգում և սոսնձվել ստամոքսի պատերի լորձաթաղանթին (ադհեզիա) [Schaafsma G. et al., 1998, Isolauri E., 2004]:

Հաճախ կիրառվում են կոմպլեքս պատրաստուկներ՝ պրոբիոտիկները պրեբիոտիկների հետ, այսպես կոչված սինբիոտիկներ: Պրեբիոտիկների հիանալի աղբյուր կարող են հանդիսանալ տարբեր բուսատեսակներ, ինչպես օրինակ, գետնախնձորը, կռատուկ մեծը, ցիկորիա և այլն [Sadeghi E. et al., 2010]:

Ելնելով վերը նշվածից ԿԹԲ-ների հատկություններից չափազանց կարևոր է նաև բարձր հակամանրէային ակտիվությամբ օժտված նոր շտամների հայտնաբերումը, կենսատեխնոլոգիական ներուժի բացահայտումը և ներդրումն արտադրության մեջ:

Լեռնային Ղարաբաղի Հանրապետության բնակլիմայական պայմանները, աշխարհագրական դիրքը, տարածաշրջանային բազմազանությունը նպաստել են էնդեմիկ ԿԹԲ–ների ձևավորմանը և պահպանմանը: Հայաստանի Հանրապետության, ԼՂՀ և Վրաստանի Հանրապետության ԿԹԲ-ների հետազոտությունների համեմատական տվյալները ցույց են տվել, որ ԼՂՀ կաթնամթերքներից անջատված որոշ ԿԹԲ-ները իրենց կենսաբազմազանությամբ էապես տարբերվում են և առանձին խումբ են կազմում [Bokulich N. et al., 2015]: Կարելի է ենթադրել, որ էնդեմիկ շտամները կարող են հանդես գալ որպես հարմար օբյեկտներ կաթնամթերքի արտադրության բնագավառում:

<u>Հետազոտության նպատակը և խնդիրները:</u>

Սույն ատենախոսության նպատակն է ուսումնասիրել ԼՂՀ տարբեր ընտանի կենդանիների կաթից և կաթնամթերքներից մեկուսացված էնդեմիկ կաթնաթթվային բակտերիաների պրոբիոտիկ հատկությունները: Այդ նպատակին հասնելու համար դրվել են հետևյալ խնդիրները՝

- ԼՂՀ տարբեր շրջանների կաթից և կաթնամթերքներից (մածուն, աղի պանիր, այծի, ոչխարի, գոմեշի կաթ) անջատել կաթնաթթվային բակտերիաներ,

- Ուսումնասիրել անջատված ԿԹԲ-ների մորֆոլոգիական, որոշ ֆիզիոլոգիական և կենսաքիմիական հատկությունները,
- Ուսումնասիրել ԿԹԲ-ների առանձին և համակցություններով աճը տարբեր միջավայրերում (պաստերիզացված և մանրէազերծված, յուղալի և յուղազրկված կաթի մեջ),
- Ուսումնասիրել անջատված ԿԹԲ-ների պրոբիոտիկ հատկությունները (դիմացկունությունը՝ pH–ի լայն տիրույթում, լեղու և NaCl-ի, պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների ազդեցությունից հետո, զգայունությունը հակաբիոտիկների նկատմամբ, հակաօքսիդանտային և հակամանրէային ակտիվությունները),
- Մաքրել ԿԹԲ-ների (առանձին և ընտրված համակցություններ) աճեցումից ստացված կուլտուրալ հեղուկները՝ հակամանրէային ակտիվությամբ նյութերի անջատման նպատակով,
- Աճեցնել պրոբիոտիկ ԿԹԲ-ները բուսատեսակների (նեխուր, դաղձ) հետ, որպես հիմք նոր ֆունկցիոնալ սննդամթերքի ստացման համար,
- Ստեղծել էնդեմիկ ԿԹԲ-ների շտամների հավաքածու՝ Արցախի Գիտական Կենտրոնում,
- Նույնականացնել ընտրված ԿԹԲ-ների շտամները:

<u>Գիտական նորույթը</u>

- Առաջին անգամ որոշ պրոբիոտիկ հատկություններով ընտրված ԿԹԲ-ների հիման վրա ստեղծվել են համակցություններ, որոնց աճեցման ժամանակ տեղի է ունենում բակտերիացինների սինթեզի ավելացում (***Ent durans* P13 + *Ent. durans* M44**)՝ կախված օգտագործվող շտամների տեսակային պատկանելիության,
- Առաջին անգամ ցույց է տրված, որ տարբեր ընտանի կենդանիների (այծ, ոչխար, գոմեշ) կաթից անջատված կաթնաթթվային բակտերիաները օժտված են որոշ պրոբիոտիկ հատկություններով և սինթեզում են սպիտակուցային բնույթի հակամանրէային միացություններ (բակտերիացիններ),

- Տարբեր ընտանի կենդանիների (այծ, ոչխար, գոմեշ) կաթից անջատված ԿԹԲ-ները դրսևորում են ավելի բարձր հակամանրէային ակտիվություն, քան կովի մածնի և աղի պանրի նմուշներից անջատված ԿԹԲ-ները:

<u>Կիրառական նշանակությունը</u>:

ԼՂՀ տարբեր շրջանների կաթից (ոչխարի, այծի, գոմեշ) և կաթնամթերքներից (կովի մածնի ու աղի պանրի) անջատված և ուսումնասիրված պրոբիոտիկ հատկություններով օժտված ԿԹԲ-ների շտամների հիման վրա ստեղծվել է ԿԹԲ-ների հավաքածու՝ Արցախի Գիտական Կենտրոնում: Ուսումնասիրությունների արդյունքների հիման վրա կովի մածնի ու աղի պանրի և այծի, գոմեշի, ոչխարի կաթի նմուշներից անջատված պրոբիոտիկ հատկություններով օժտված ԿԹԲ-ները կարելի է կիրառել կաթնամթերքի արտադրությունում՝ որպես մածնի, յոգուրտների արտադրության համար մերանային շտամներ, որպես առանձին կամ համակցված մերաններ՝ նոր ֆունկցիոնալ սննդամթերքի արտադրության համար:

<u>Պաշտպանության ներկայացվող հիմնական դրույթները.</u>

- Անջատվել են ԿԹԲ-ներ՝ մածունի և աղի պանրի, ընտանի տարբեր կենդանիների կաթի նմուշներից,
- Ուսումնասիրվել են մորֆոլոգիական, որոշ ֆիզիոլոգիական և կենսաքիմիական հատկությունները,
- Ուսումնասիրվել են ընտրված ԿԹԲ-ների պրոբիոտիկ հատկությունները (դիմացկունությունը տարբեր pH–ի, լեղու և NaCl-ի նկատմամբ, պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների ազդեցությունից հետո, զգայունությունը հակաբիոտիկների նկատմամբ, հակաօքսիդանտային և հակամանրէային ակտիվությունները),
- Նույնակացվել են ԿԹԲ-ների շտամները,
- Ընտրված ԿԹԲ-ները աճը տարբեր (առանձին և ստեղծված համակցություններով, պաստերիզացված և մանրէազերծված, յուղալի և յուղազրկված) կաթի մեջ,

- Ուսումնասիրվել են ԼՂՀ որոշ բուսատեսակների (նեխուր, դաղձ) խտանյութերի ազդեցությունը ԿԹԲ-ների աճի վրա (առանձին և ստեղծված համակցություններով),
- Ուսումնասիրվել են առանձին և համակցություններով ԿԹԲ-ների աճը և ընտրել հակամանրէային ակտիվությամբ համակցություններ,
- Պրոբիոտիկ որոշ հատկություններով ընտրված ԿԹԲ-ների աճեցումից (առանձին և ստեղծված համակցություններ) ստացված վերնստվածքային հեղուկների խտանյութերի մաքրումը ժել-ֆիլտրման եղանակով և մասնաբաժինների համեմատական գնահատումը:

<u>Ատենախոսական աշխատանքի կապը գիտական թեմաների հետ</u>:

Ատենախոսությունը իրականացվել է ՀՀ ԳԿՆ Գիտության Պետական Կոմիտեի կողմից ֆինանսավորվող 11AA-004 «Հետազոտել Արցախի տարբեր շրջանների կաթնաթթվային մանրէների բազմատեսակությունը՝ որպես հիմք նոր սերնդի կենսապատրաստուկների համար» (2011-2013թթ), 13AA-005 «ԼՂՀ կաթնամթերքներից ընտրված կաթնաթթվային բակտերիաների հակամանրէային հատկությունները՝ ընդդեմ մարդու և կենդանիների ախտածին մանրէների» (2013-2015թթ) և Հայ օգնության ֆոնդի ԳԿՀԱՀ (ANSEF) biochem-3820 «*Lactobacillus rhamnosus* БТК 2012 շտամի բակտերիոցինները՝ ընդդեմ դեղամիջոցների հանդեպ բազմակի կայունություն դրսևորող մարդու ախտածին մանրէների» (2015թ) դրամաշնորհների, ինչպես նաև «Արցախի Գիտական Կենտրոն» ՊՈԱԿ-ի բազային շրջանակներում:

<u>Ատենախոսի անձնական ներդրումը:</u>

Ատենախոսի անձնական ներդրումը ներառում է ձևակերպված խնդիրների իրականացում, թեմային առընչվող գիտական գրականության ուսումնասիրություն և արդյունքների վերլուծություն, տպագրված գիտական հոդվածների և ատենախոսության ձևակերպում, արդյունքների քննարկում և ամփոփում: Հիմնական խնդիրների դրվածքը և

մեթոդների մշակումը իրականացվել է ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ի Միկրոբային պատրաստուկների լաբորատորիայի վարիչ՝ կ.գ.թ. Ֆլորա Նուբարի Տխրունու ղեկավարությամբ:

Ատենախոսության քննարկումը:

Ատենախոսության հիմնական դրույթները ներկայացվել են Միջազգային գիտաժողովներում, ՀՀ ԳԿՆ Գիտության Պետական Կոմիտեի կողմից ֆինանսավորվող 11AA-004 «Հետազոտել Արցախի տարբեր շրջանների կաթնաթթվային մանրէների բազմատեսակությունը՝ որպես հիմք նոր սերնդի կենսապատրաստուկների համար» (2011-2013թթ), 13AA-005 «ԼՂՀ կաթնամթերքներից ընտրված կաթնաթթվային բակտերիաների հակամանրէային հատկությունները՝ ընդդեմ մարդու և կենդանիների ախտածին մանրէների» (2013-2015թթ) դրամաշնորհների ընթացիկ հաշվետվություններում, «Արցախի Գիտական Կենտրոն» ՊՈԱԿ-ի գիտական սեմինարներում, ինչպես նաև ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ի գիտական խորհրդի նիստերում և գիտական սեմինարներում:

Աշխատանքի իրականացման վայրը:

Աշխատանքը իրականացվել է ԼՂՀ «Արցախի Գիտական Կենտրոն» ՊՈԱԿ-ի Մանրէաբանական և ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ի Միկրոբային պատրաստուկների լաբորատորիաներում, որոշ փորձեր իրականացվել են ԼՂՀ ԱՆ «Համաճարակաբանության և հիգիենայի կենտրոն»-ում:

Ատենախոսության կառուցվածքը և ծավալը:

Ատենախոսական աշխատանքը կազմված է ներածությունից, գրականության տվյալներից, նյութերից և մեթոդներից, ստացված արդյունքներից և դրանց քննարկումներից՝ շարադրված յոթ գլուխներում, ամփոփումից, եզրակացություններից, կիրառական առաջարկություններից, օգտագործված

գրականության ցանկից, որը ներառում է 112 անուն հղումներ և 10 հավելվածներից: Ատենախոսության հիմնական ծավալը կազմում է 122 տպագրական էջ, ներառում է 32 աղյուսակ, 5 նկար:

<u>Հրատարակված գիտական աշխատությունները:</u>

Ատենախոսության հիմնադրույթները և բովանդակությունը ներկայացված են հրատարակված 9 գիտական աշխատանքներում՝ 4 հոդված, որոնցից 1-ը առանց համահեղինակների և 5 թեզիսներ՝ տպագրված Միջազգային գիտաժողովների ժողովածուներում:

ԳԼՈՒԽ 1. ԳՐԱԿԱՆ ԱԿՆԱՐԿ

1.1 ԿԹԲ-ների կենսաբազմազանությունը տարբեր երկրների կաթնամթերքներում

Տարբեր երկրներում, նույնիսկ երկրի տարբեր տարածաշրջաններում բնակչության սննդակարգը խիստ տարբերվում է՝ կախված հազարավոր տարիների ընթացքում ձևավորված սովորույթների, կրոնական պատկանելության, բնակլիմայական առանձնահատկությունների: Կաթնամթերքը համարվում է հասարակության սննդակարգի բաղկացուցիչ մաս: Վերջին տարիներին մեծ ուշադրություն է դարձվում ազգային ավանդական կաթնամթերքի միկրոֆլորայի ուսումնասիրությանը և դրանցից անջատված կաթնաթթվային բակտերիաների հիման վրա նոր սննդամթերքի ստեղծմանը: Դա նպաստում է էնդեմիկ մանրէների կենսաբազմազանության պահպանման և դրանց օրգանոլեպտիկ հատկությունների ու սննդարար արժեքների գործնական օգտագործման ավելի հաճախ կիրառվող եղանակներից մեկը [Terzic-Michele D. et al., 2009, Ivanova I. et al., 2012]:

Ներկայումս կան բազմաթիվ ապացույցներ, որոնք վկայում են ԿԹԲ-ների բնական միացությունների կենսաբանական ակտիվության հետազոտությունների և մարդու կյանքի ու կենսագործունեության վրա դրանց ազդեցության հիմնարար հետազոտությունների արդիականությունը: Բազմաթիվ ավանդական կաթնամթերքներ արտադրվել ու արտադրվում են Ասիայում, Աֆրիկայում, Մերձավոր Արևելքում, Հյուսիսային և Արևելյան Եվրոպայում: Վերոհիշյալ երկրների կաթնամթերքների միկրոֆլորայի ուսումնասիրությունը և դրանց հիման վրա նոր պրոբիոտիկ սննդամթերքների ստեղծումը ներկայումս հանդիսանում է շատ գիտնականների հետազոտությունների առարկան[Акопян Л. и др., 2005, Todorov S., 2005]:

Ցույց է տրվել, որ խմորվող մթերքների միկրոֆլորան խիստ տարբերվում է ըստ տարածաշրջանների՝ կախված կլիմայական պայմաններից: Այսպես, օրինակ, սառը բնակլիմայական պայմաններ ունեցող շրջաններում ավանդական կաթնամթերքները պարունակում են մեզոֆիլ՝ *Leuconostoc sp.*, իսկ տաք, արևադարձային և

մերձարևադարձային կլիմայական գոտիների երկրներում՝ *Lactobacillus* և *Streptococcus* ցեղերի ԿԹԲ-ներ [Akabanda F. et al., 2010]:

Գիտական գրականության աղբյուրների վերլուծությունը ցույց է տվել, որ ավանդական կաթնամթերքների արտադրության մեջ օգտագործում են տվյալ տարածաշրջաններին բնորոշ տեխնոլոգիաները և որպես մերանային կուլտուրաներ օգտագործում են այն մանրէները, որոնք գերակշռում են տվյալ տարածաշրջանում: Որոշ երկրների ավանդական կաթնամթերքների կենսաբազմազանության հետազոտությունը ցույց է տվել, օրինակ, «Լիհվան» տեսակի պանիրը պարունակում է հիմնականում *L. casei* և *L. plantarum* տեսակի մանրէներ: «Լիհվան»-ի 9 տարբեր ապրանքատեսակների հետազոտությունը ցույց է տվել, որ դրանց արտադրության մեջ որպես մերանային կուլտուրաներ կիրառվում են *L. plantarum* տեսակի 14 և *L. casei* տեսակի 11 շտամներ [Tajabadi E. et al., 2009]:

Ալժիրում ԿԹԲ-ներ մեկուսացվելով տափաստանային գոտու այծի կաթից, պարզվել է, որ ԿԹԲ-ները պատկանում են *Lactococcus sp.* (76.16%), *Streptococcus thermophilus* (14.78%), *Leuconostoc sp.* (8.6%) ցեղերին: Ցուպիկաձև մանրէներից այծի կաթում հայտնաբերվել են *L. curvatus* (25.25%), *L. helveticus* (10.98%), *L. plantarum* (9.89%), *L. reuteri* (9.89%), *L. casei* (7.69%), *L.brevis* (5.49%), *L.bulgaricus* (5.49%), *L. paracasei* (4.39%) և այլ ԿԹԲ-ներ [Zacharof M. et al., 2012]:

ԿԹԲ-ներ են մեկուսացվել նաև Ադրբեջանի Հանրապետությունում արտադրվող ավանդական՝ «Ագդաշ» կիսապինդ և «Շեկի» պինդ պանիրների տեսակներից և յոգուրտներից: Պանիրները պատրաստվում են կովի կաթից՝ առանց մերանների ավելացմամբ: Կենսաքիմիական և մոլեկուլային եղանակների կիրառմամբ հաստատվել է, որ այս պանիրներում գերակշռում են ԿԹԲ-ների հետևյալ չորս տեսակները՝ *L. plantarum, L. brevis, L. Paraplantarum* և *Ent. faecium*, մինչդեռ յոգուրտներում հանդիպում են հիմնականում՝ *L. bugaricus, L. delbruecki* և *S. termophilus, Ent. faecium* մանրէների տեսակները [Terzic-Michele D. et al., 2009]:

Սուդանի Խարտում նահանգի տարբեր շրջանների ըմպելի յոգուրտներից մեկուսացված ԿԹԲ-ների նույնականացման համար կիրառվել են մորֆոլոգիական, ֆիզիոլոգիական, կենսաքիմիական հետազոտություններ: Կենսաքիմիական

ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ այս մանրէները պատկանում են (44.44%) *L. lactis cremoris* և (55.56%) *Leuc. mesenteroides,* (15.3%) *L. helveticus,* (22.3%) *L. plantarum,* (21%) *L. brevis* ենթատեսակներին [Ashmahan A. et al., 2011]:

Ցույց է տրվել, որ իրանական սպիտակ պանիրը պարունակում է պրոբիոտիկ բակտերիաներ, այդ թվում *Lactobacillus* և *Bifidobacterium* ցեղերին պատկանող *L. plantarum, L. bulgaricus, Bif. animalis* և *Bif. angulatum* ԿԹԲ-ներ [Ehsani A. et al., 2011]:

Կաթնամթերքներից անջատված ԿԹԲ-ները ունեն ինչպես արտադրական, այնպես էլ պրոբիոտիկ և կենսապահապանիչ ներուժ: Այսպես, հունական ավանդական «Գրավիերա» պանրից մեկուսացվել են *Ent. faecium* և *L. lactis* ԿԹԲ-ները, որոնք ունեն հակամանրէային ակտիվություն *Listeria monocytogenes* ախտածին մանրէի նկատմամբ[Tajabadi E. et al., 2009]:

Մոնղոլական ավանդական «Տարագ» յոգուրտից մեկուսացվել են *L. delbrueckii* ցեղին պատկանող ԿԹԲ, որն ունի հակամանրէային ակտիվություն սնունդը փչացնող ախտածին մանրէների նկատմամբ: Խմորման եղանակով ձիու կաթից պատրաստված կաթնամթերքից (կումիս) անջատվել են *Ent. durans* ԿԹԲ, որն ունի հակամանրէային ակտիվություն *E.coli, Staph.aureus, List. innocua* ախտածին մանրէների նկատմամբ [Batdorj B. et al., 2006]:

Բազմաթիվ հետազոտություններ են կատարվել կովկասյան ավանդական մածնի միկրոֆլորայի ուսումնասիրության ուղղությամբ: Մածուն պատրաստվում է կովի, այծի, ոչխարի, գոմեշի կաթի նմուշներից: Մածունը բնութագրվում է որպես լակտոբակտերիաների և խմորասնկերի համակցություն: Մածնի բաղադրությունը կախված է էկոլոգիական պայմաններից և կաթի տեսակից: Վրացական մածնից անջատվել են *L. acidophillus, L. casei, S. termophilus, L. lactis, L. diacetylactis, Ent. durans* և այլ ԿԹԲ-ներ, սակայն չի հանդիպվել *L. bulgaricus*: Անհրաժեշտ է նշել, որ Կովկասի տարբեր շրջանների մածնի միկրոֆլորան տարբերվում է՝ կախված տարածաշրջանից [Afrikian E., 2012]:

Այսպիսով նշված երկրների կաթնամթերքներից մեկուսացված ԿԹԲ-ները տարբերվում են կախված բնակլիմայական պայմաններից, սակայն մեծ մասամբ հայտնաբերվում են *L. plantarum* տեսակի մանրէներ:

1.2. ***ԿԹԲ-ների որոշ հատկությունների կիրառումը***

Երկար տարիներ կաթը և կաթնամթերքը, որոնք պարունակում են կենսակտիվ պեպտիդներ, պրոբիոտիկ բակտերիաներ, հակաօքսիդանտներ, վիտամիններ, սպիտակուցներ, օլիգոշաքարներ, օրգանական թթուներ, կալցիում՝ համարվել են առողջ ապրելակերպի մի մասը: Այնպես որ, սպառողի մոտ աճում է հետաքրքրություն իր առողջությունը պահպանելու և բարելավելու համար սննդակարգում որպես կանոն կիրառել կաթնամթերքներ: Կաթնամթերքները համարվում են վիտամինների հիանալի աղբյուր, այդ թվում՝ վիտամին B12: Կաթնամթերքները պարունակում են բազմաթիվ ֆունկցիոնալ բաղադրիչներ, որոնք կարող են նվազեցնել խոլեստերինի առաջացմանը, զգալիորեն նվազեցնել արյան ճնշումը, կարգավորել նյութափոխանակության խանգարումները և գործադրել հակամանրէային ակտիվություն [Ivanova I. et al., 2012]:

Բացի դրանից խմորված կաթնամթերքներում կաթնաթթուն և այլ նյութափոխության արգասիքները (H_2O_2, դիացետիլ, օրգանական թթուներ, ինդոլներ, ամինաթթուներ, բակտերիոցիններ) ցուցաբերում են հակամանրէային ակտիվություն՝ ճնշելով ախտածին մանրէների աճը [Jay J., 1982, Tamime R. 1998, Акопян Л. и др., 2005, 2007, Bhat Z. et al., 2011]:

Ըստ Բերջիի ԿԹԲ-ները դասակարգվում են երեք խմբի՝ հոմոֆերմենտատիվ, ֆակուլտատիվ հետերոֆերմենտատիվ, օբլիգատ հետերոֆերմենտատիվ ԿԹԲ-ներ: Մոտավորապես 400 տեսակային անվանումներ կիրառվում են ավանդական և արդյունաբերական կաթնամթերքների խմորման արտադրությունում [Степаненко П., 1998]:

ԿԹԲ-ները ունեն «GRAS» (Generally Regarded As Safe) կարգավիճակ (ի սկզբանե անվտանգ են) [FAO/WHO, 2001, 2002]:

ԿԹԲ-ները ունեն կիրառական լայն նշանակություն, ինչը պայմանավորված է դրանց որոշակի հատկություններով: Այսպես, օրինակ, պանրի կառուցվածքի և հասունացման գործընթացում կարևոր դեր են խաղում կազեինի քայքայումը և մանրէների պրոտեոլիտիկ ու լիպոլիտիկ գործունեությունը: Որոշ պեպտիդներ նպաստում են հոտի ձևավորմանը, իսկ մյուսները (անցանկալի

պեպտիդների դառը համ) կարող են հանգեցնել համի ձևավորմանը [Tamime R. et al., 1998, Тараканов Б., 1999]:

ԿԹԲ-ների բազմաթիվ շտամեր արտադրում են էկզոբազմաշաքարներ (ԷԲՇ): Այս միացությունները կարող են արտադրվել պատիճների տեսքով, որոնք կպած են բակտերիայի բջջապատին կամ ներծծվում են միջավայր (մածուցիկ բազմաշաքարներ): ԷԲՇ-ները կարող են կազմված լինել մեկ տեսակի մոնոմերից (հոմոբազմաշաքարներ) կամ մի քանի տեսակի մոնոմերներից (հետերոբազմաշաքարներ) և կարող են կազմված լինել օրգանական կամ անօրգանական մոլեկուլներից: Մի քանի ԿԹԲ-ների տեսակներ՝ *(Lactobacillus lactis sp. lactis, Lactobacillus delbrueckii sp. bulgaricus և Streptococcus thermophilus*) արտադրում են հետերոբազմաշաքարներ, հոմոբազմաշաքարները: Շնորհիվ ԷԲՇ-ների մածուցիկության բարձրացման և կայունացման հատկությունների, դրանց օգտագործումը արդյունավետ է արդյունաբերության մեջ [Tamime R. et al., 1998, Акопян Л. и др., 2005]:

Գիտական գրականության վերլուծությունը ցույց է տվել կաթնաթթվային բակտերիաների լայն կիրառումը սննդարդյունաբերությունում և դրանց կիրառումը կարող է ունենալ բարձր կենսատեխնոլոգիական ներուժ:

1.3. ***ԿԹԲ-ների դերը նորմալ միկրոֆլորայում***

Տարբեր տեսակի մանրէների միջև տեղի են ունենում սիմբիոտիկ փոխհարաբերություններ՝ չեզոքացում, մրցակցություն, կոմենսալիզմ, պարազիտիզմ, մուտուալիզմ և այլն: Այս փոխհարաբերությունների ընթացքում միկրոֆլորան դառնում է կայուն և նպաստում աղիքային վարակների նկատմամբ զգայունության պահպանմանը: Տարբեր հեղինակներ այս հատկությունը անվանում են «բակտերիային անտագոնիզմ», «բակտերիային միջամտություն», «պաշտպանիչ արդյունավետություն», «մրցակցություն» և այլն [Fuller R., 1992]:

Նորմալ միկրոֆլորան բազմաբնույթ ազդեցություն է թողնում օրգանիզմի պաշտպանական, հարմարողական, նյութափոխանակության գործունեությունների

վրա և պահպանում ներքին միջավայրի կայունությունը: Նորմալ միկրոֆլորայի մանրէները լորձաթաղանթի բջիջներին պաշտպանում են ախտածին մանրէների ներթափանցումից: Բիֆիդոբակտերիաների (ԲՖԲ) և ԿԹԲ-ների գաղութացման հատկությունը դառնում է լորձաթաղանթի էկոլոգիական պատնեշի բաղկացուցիչ մասը: Նորմալ միկրոֆլորայի մանրէների անտոգոնիստ հատկությունը պայմանավորված է Գրամ-դրական և Գրամ-բացասական մանրէներով, ինչպես նաև՝ խմորասնկերով: ԲՖԲ և ԿԹԲ մանրէների անտոգոնիստ հատկությունը պայմանավորված է կաթնաթթվի, բակտերիացինների և ջրածնի պերօքսիդի առաջացմամբ, կուլտուրալ հեղուկի մեջ հակամանրէային հատկությամբ օժտված կենսաարգասիքների առկայությամբ, օրգանական թթուներով (կաթնաթթու, քացախաթթու), պեպտիդային միացություններով [Piard J. et al., 1992, Бондаренко В. и др., 1998, Шендеров Б., 2001, Todorov S., 2005]:

Հայտնի է, որ կաթնաթթվային մանրէների ֆերմենտներն օժտված են տրիպսինի և պրոտեազների նկատմամբ կասեցնող հատկությամբ և միևնույն ժամանակ չեն ազդում տիրոջ ֆերմենտային համակարգի հատկությունների վրա [Бондаренко В. и др., 2004]:

Հայտնի է, որ ԿԹԲ-ները ընդունակ են առաջացնելու պերօքսիդազ, որը հանդիսանում է ախտածին մանրէների նկատմամբ դիմադրողականության գործոն: ԲՖԲ-ների բնակության հիմնական վայրը հաստ աղին է: Դրանք հանդիսանում են պատնեշ աղիներում ախտածին և նեխում առաջացնող մանրէների նկատմամբ: ԲՖԲ-ները սինթեզում են նաև աղիներում գտնվող մակրոօրգանիզմներին անհրաժեշտ մի շարք ֆերմենտներ, ճարպաթթուներ և վիտամիններ [Абрамова Л., 2003]:

Վերջին տարիների աշխատություններում ցույց է տրվել, որ մի շարք աղեստամոքսային հիվանդությունների բուժման համար օգտագործվում են ԿԹԲ-ներից (*L. acidophilus, L. plantarum*), ԲՖԲ-երից և խմորասնկերից (*Saccharomyces boulardii*) ստացված կենսապատրաստուկներ [Odunbanowo S. et al., 2003, Svetoch E. et al., 2009]:

ԿԹԲ-ներն առաջացնում են անտոգոնիկ գործոններ, որոնք իրենց մեջ ներառում են հակաբիոտիկային նյութեր և բակտերիացիններ: Դրանք առաջացնում են նաև մանրէների աճը կասեցնող հատկություններով օժտված քացախաթթու,

մրջնաթթու, կաթնաթթու, ջրածնի պերօքսիդ: Նյութափոխանակության ժամանակ դրանցից շատերը միջավայրը դարձնում են pH=4.5 և ավելի ցածր: Դրա հետ մեկտեղ, ԿԹԲ-ները նյութափոխանակության արգասիքների առաջացման ընթացքում նվազեցնում են օքսիդավերականգնող հատկություններն, որն իր հերթին նպաստում է ավելի տարածական կասեցնող հատկության, մասնավորապես՝ օբլիգատ և ֆակուլտատիվ անաերոբ բակտերիաների նկատմամբ [Акопян Л., 2007, Cintas L. et al., 2001]:

ԿԹԲ-ների որոշ ներկայացուցիչներ, մասնավորապես *Lactobacillus acidophilus johnsonii* մանրէն օժտված է աղիների ախտածին մանրէների նկատմամբ կասեցնող հատկությամբ: Այդ հատկությունը պայմանավորված է այնպիսի հակաբիոտիկների առաջացմամբ, ինչպիսիք են՝ ացիդոֆիլինը, լակտոլինը, ացիդոլինը: Ացիդոլինը կաթնաթթվի հետ ապահովում է բարձր հակամանրէային ազդեցություն՝ աղիքային ախտածինների *E. coli, Salmonella typhimurium, Staph. aureus, Clostridium perfringens, Heliobacter pylori* և մի շարք այլ սպորավոր մանրէների նկատմամբ [Michetti P. et al., 1999]:

Ուսումնասիրությունների ընթացքում հայտնի է դարձել, որ *Lactobacillus acidophilus La 1* շտամը առաջացնում է հակամանրէային ազդեցությամբ օժտված մի նյութ, որը նվազեցնում է *Heliobacter pylori* մանրէի կենսունակությունը, իսկ *L. rhamnosus GG* շտամը առաջացնում է նյութ, որը կասեցնող ազդեցություն է ցուցաբերում մի շարք Գրամ-դրական և Գրամ-բացասական մանրէների նկատմամբ [Todorov S. et al., 2005]: *L. rhamnosus casei Lcr 35* և *L. rhamnosus* կուլտուրաները ոչ միայն արտադրում են հակամանրէային ազդեցությամբ օժտված նյութեր, այլ նաև ըստ in vitro հետազոտությունների, խոչընդոտում են որոշ աղիքային ախտածին մանրէների ադհեզիան՝ աղիների էպիթելերի վրա [Desai A., 2008]:

Մարդկանց և թռչունների մարսողական համակարգի միկրոֆլորայում հետերոֆերմենտատիվ *L. reuteri*-ի աճեցման ժամանակ գլիցերինը վեր է ածվում ցածր մոլեկուլային, չեզոք, ոչ սպիտակուցային, ջրալույծ հակամանրէային նյութի, որը ստացել է ռեյտերին անվանումը [Ожован И. и др., 2002, Кравцова Л. и др., 2004]:

ԿԹԲ-ների առաջացրած այլ միացությունները՝ օրինակ, բակտերիացինները սպիտակուցային բնույթի միացություններ են: Դրանք հայտնաբերվել են տարբեր տեսակի ԿԹԲ-ների մոտ: *L. fermenti* 466 տեսակի կաթնաթթվային բակտերիայի առաջացրած բակտերիացինը ցուցաբերում է հակամանրէային ազդեցություն՝ *Lactobacillus fermenti* և *Lactobacillus acidophilus* մանրէների նկատմամբ, չի ապակտիվանում pH-ի լայն սահմաններում և կատալազի ազդեցությունից: *Lactobacillus fermenti 466* շտամի առաջացրած բակտերիացինը զգայուն է տրիպսին և պեպսին ֆերմենտների նկատմամբ, դիմակայում է ջերմությանը՝ 96°C, զգայուն է միզաթթվի և լիզոցիմի նկատմամբ [Gomes A. et al., 1999]:

Lactobacillus plantarum LL 441 տեսակի մոտ հայտնաբերվել է պլանտարիցին C, որը բակտերիցիդ ազդեցություն ունի և կասեցնում է *Leuconostoc, Pediococcus* և *Streptococcus* ցեղերի մանրէների աճը: Պլանտարիցին C օժտված է լայն անտոգոնիստային հատկություններով և իրենից ներկայացնում է 3500 դալտոն մոլեկուլային կշռով պեպտիդ [Gonzales R. et al., 2013]:

Հայտնի է, որ զարգացած պետություններում պայքար է տարվում առավել վտանգավոր և արագ տարածվող վարակիչ հիվանդությունների դեմ: Այսօր մեծ ուշադրություն է դարձվում սննդամթերքները՝ *Salmonella* sp., *L. moncytogenes, MRSA* (*Methicillin-resistant Staphylococcus aureus*) մանրէներով վարակվածության դեպքերին և հակաբիոտիկակայուն մանրէների հայտնաբերման վրա [Lister P. et al., 2009]:

Վերջին տասնամյակներում մարդու և կենդանիների մոտ բժշկական նպատակներով հակաբիոտիկների լայնածավալ կիրառումը հանգեցրել է հակաբիոտիկների նկատմամբ բազմակի կայունություն դրսևորվող մանրէների տարածմանը: Վերջին տարիների ընթացքում մետիցիլինի հանդեպ կայուն *Staphylococcus aureus* և *Proteus mirabilis* մանրէները ամբողջ աշխարհում բնակչության վարակիչ հիվանդությունների պատճառ են դարձել: Մանավանդ *Staphylococcus aureus* մանրէն կարող է կենսաթաղանթներ ձևավորել բժշկական սարքավորումների մակերեսին՝ օրինակ, սրտի վիրահատման սարքերի, ներերակային ներարկիչների և այլն: *Proteus* տեսակները հաճախակի հանդիպում են մարդու աղեստամոքսային համակարգում և հանդիսանում է նորմալ միկրոֆլորայի բաղկացուցիչ մասը՝ *E. coli* և

Klebsiella տեսակների հետ միասին: *Proteus* տեսակի մանրէները հաճախակի հանդիպում են նաև բժշկական հիմնարկներում երկարատև բուժում ստացող մարդկանց մոտ: *Proteus* տեսակների հարուցիչների 90%-ը հանդիսանում է P. *mirabilis* մանրէն: *Proteus vulgaris* և *Proteus penneri* տեսակները մեկուսացնում են այն հիվանդներից, որոնք ունեն թույլ իմունային համակարգ կամ ստացել են երկարատև բուժում [Barlow M., 2009, Melik-Andreasyan G. et al., 2013]:

Ներկայումս ուսումնասիրություններ են տարվում ԿԹԲ-ների կողմից սինթեզվող բակտերիացիների հայտնաբերման ուղղությամբ, որոնք կարող են հանդես գալ որպես հակաբիոտիկների փոխարինիչներ: ՀՀ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ի Միկրոբային պատրաստուկների լաբորատորիայում հետազոտվել են ԿԹԲ-ների ԿՀ-ներից մասնակի մաքրված ՀՄՊ-ների հակամանրէային ազդեցությունները կենդանիների և թռչունների ախտածին և պայմանական ախտածին մանրէների վրա: Ցույց է տրվել ԿԹԲ-ներից ստացված ՀՄՊ-ները ունեն բակտերիցիդ հատկություն և ցուցաբերում են որոշ հակաբիոտիկներին համարժեք հակամանրէային ազդեցություն: Ստացված ՀՄՊ-ների ազդող նյութը կարող է ունենալ սպիտակուցանման բնույթ [Tkhruni F. et al., 2013]:

1.4 ***<u>ԿԹԲ-ների պրոբիոտիկ հատկությունները և կիրառումը</u>***

Ներկայումս մարդու և կենդանիների օրգանիզմում մանրէային էկոլոգիան օպտիմալ մակարդակի վրա պահպանմանը նպաստող և գործնականում կիրառվող միջոց է հանդիսանում կենդանի միկրոօրգանիզմների հիման վրա մանրէային պատրաստուկների օգտագործումը: Աղեստամոքսային համակարգի միկրոֆլորան իրենից ներկայացնում է բարդ էկոհամակարգ, որտեղ աղիքային միկրոֆլորայի մանրէների տեսակների և քանակության միջև գոյություն ունի նուրբ հավասարակշռություն [Ljungh A. 2006]: Միկրոֆլորան, մասնավորապես, բաղկացած է ֆակուլտատիվ և պարտադիր անաէրոբներից: Մարդկանց աղիքային պոպուլյացիայի մոտ 95%-ը կազմված է պարտադիր անաէրոբներից, ներառյալ՝ *Bifidobacterium, Clostridium, Eubacterium, Fusobacterium, Peptococcus, Petostreptococcus, Bacterioides* ցեղերի

ներկայացուցիչները: Աղիքային պոպուլյացիայի 1-10%-ը կազմված է ֆակուլտատիվ անաէրոբներից, *Lactobacillus, Escherichia coli, Klebsiella, Streptococcus, Staphilococcus, Bacillus* տեսակի մանրէները: Առողջ մարդու մոտ աէրոբ մանրէները աղիքային համակարգում չեն հանդիպում, բացառություն է *Pseudomonas*-ը, որը հանդիպում է քիչ քանակությամբ: Բակտերիաների մեծ մասը հանդիպում են հաստ աղիքներում՝ գաղութների խմբերի տեսքով, որտեղ բակտերիալ խտությունը հասնում է մինչև 10^{11}-10^{12} (ԳԱՄ/մլ): Բազմակողմանի մոլեկուլային բնութագրությունը բացահայտել է աղիքային միկրոֆլորայի տեսակային բաշխումը՝ ուսումնասիրելով տարբեր ապրելակերպի, տարիքի և առողջական վիճակի մարդկանց աղիների մանրէային կազմը: [Robertfroid M. et al., 1995, Avrelija C. et al., 2010]:

Այսպիսով, վերջնական հաստատվել է աղիքային միկրոֆլորայի համեմատական հաշվեկշիռը, բացի դրանից, պարզաբանվել է նաև աղիների միկրոբային կազմի հավասարակշռության խախտումները՝ կախված աղեստամոքսային համակարգի տարբեր հիվանդություններից: Աղեստամոքսային համակարգի կարգավորման համար մեծ նշանակություն ունի կաթնաթթվային բակտերիաների գործունեությունը [Behnsen J. et al., 2013] :

Միկրոօրգանիզմների (ԿԹԲ) կիրառումը սննդամթերքի խմորման մեջ ամենահին մեթոդներից է կաթնամթերքն արտադրելու և պահպանելու գործընթացում: Կուլտուրացված կաթնամթերքի լայն կիրառումը հիշատակվում է Աստվածաշնչում և Ինդուիզմի Սուրբ գրքերում: Թթվեցրած կաթը և կուլտուրացված խմորված կաթնամթերքները, ինչպիսիք են մածունը, կեֆիրը, կումիսը, լեբեն, դահինը, հաճախ օգտագործվում էին թերապեֆտիկ նպատկներով՝ նախքան մանրէների գոյության ճանաչումը [Акопян Л., 2007]:

Գերմանիա, Ճապոնիա, Ֆրանսիա և մի շարք այլ երկրներում մշակվել են կենդանի կուլտուրա պարունակող դեղորայքային պատրաստուկներ և կենսաբանորեն ակտիվ սննդային հավելումներ, որոնք նախատեսված են տարբեր հիվանդությունների

բուժման և կանխարգելման, ինչպես նաև ֆունկցիոնալ սննդի արտադրման համար [Hilton E. et al., 1992, Bhat Z. et al., 2011]:

Իլյա Մեչնիկովը առաջինն է իր աշխատանքներում դեռևս անցած դարաշրջանում նշել կաթնաթթվային բակտերիաների և *Streptococcus thermophilus*–ի հնարավոր բուժիչ հատկությունների մասին: Նա իր՝ «Կյանքի երկարացման գաղնիքը» գրքում գրել է, որ կենդանի բակտերիաների կիրառումը կաթնամթերքի տեսքով շատ օգտակար է աղեստամոքսային համակարգի առողջության համար:

Պրոբիոտիկներ անվանումը 1974թ առաջարկվել է Ռիչարդ Պարկերի կողմից և բառացիորեն նշանակում է կյանքի համար: Պրոբիոտիկներ անվանում են կենսաբանական պատրաստուկները, որոնք բաղկացած են կենդանի ոչ ախտածին մանրէներից և ուղղված են աղիքային ախտածին կամ նեխում առաջացնող մանրէների նկատմամբ [Fuller R., 1992, Simmering S., 2001]:

Տարբեր բակտերիաների պոտենցիալ ուժը որպես պրոբիոտիկներ խիստ տարբերվում է նույնիսկ նույն տեսակներին պատկանող շտամների մոտ: Դրանք կարող են տարբերվել ադհեզիայի, հատուկ իմունոլոգիական ազդեցությունների և առողջության բարելավման այլ մեխանիզմներով: Պրոբիոտիկ բակտերիաների շատ տեսակներ ընդունակ են երկար ժամանակ գոյատևել աղեստամոքսային համակարգում և սոսնձվել (ադհեզիա) ստամոքսի պատերի լորձաթաղանթին [Blum S. et al., 1999, Fernandes P. et al., 2008]: Բացի այդ, պրոբիոնտ մանրէները իրականացնում են ամինաթթուների, ֆերմենտների սինթեզ, մասնակցում են ընդհանուր նյութափոխանակությանը և լրացնում կենդանական ծագման սպիտակուցների պակասը, արագացնում սննդի մարսման գործընթացը և սննդանյութերի յուրացումը [Тараканов Б., 1999, Шендеров Б. и др., 2002]:

Որպես պրոբիոտիկներ առավել հաճախ օգտագործվում են բիֆիդոբակտերիաները և կաթնաթթվային բակտերիաները՝ ԿԹԲ: Դասական պրոբիոնտներ են՝ *Bacillus subtilis, Bifidobacterium (adolescentis, bifidum, breve, infantis, longum), Enterococcus (faecalis, faecium), Escherichia coli, Lactobacillus (acidophilus, casei, bulgaricus, lactis, rhamnosus, salivarius, plantarum), Lactococcus, Leuconostoc, Pediococcus, Saccharomyces boulardi, Streptococcus (cremoris, lactis*) *Clostridium butiricum* [Gomes A. et al., 1999]: Այս մանրէների հիման վրա պատրաստուկները կարող են

պարունակել ինչպես մեկ տեսակի պատկանող մանրէներ՝ մոնոպրոբիոտիկներ, այնպես էլ մի քանի տեսակի մանրէներ՝ ասոցացված պրոբիոտիկներ՝ սիմբիոտիկներ [Salminen S. et al., 1998, Andersson H. et al., 2001]:

Սննդային կամ այլ հավելումները, որոնք նպաստում են օգտակար միկրոֆլորայի զարգացմանը մարդու կամ կենդանիների մոտ, անվանում են պրեբիոտիկներ: Պրեբիոտիկները չեն մարսվում մարդու և կենդանիների աղեստամոքսային համակարգում, սակայն յուրացվում են պրոբիոտիկների կողմից և նպաստում են դրանց աճին ու զարգացմանը, հանդիսանում են որպես ամինաթթուների և էներգիա աղբյուր: Օգտագործելով պրեբիոտիկներ՝ որոշակի դիետայի միջոցով հնարավոր է կարգավորել աղիների միկրոկենսացենոզը: Պրեբիոտիկների օգտակար հավելումները կարող են պարունակել յուրահատուկ նյութեր, որոնք արտադրում են կաթնաթթվային մանրէները և որոնք կանխում են *E.coli*- ի և այլ ախտածին մանրէների ադհեզիան աղիքային էպիթելային բջիջների հետ: Որպես պրեբիոտիկներ կարող են օգտագործվել, օրինակ, օլիգոշաքարները, որոնք ճնշում են մի շարք մանրէների աճը [Schaafsma G. et al., 1998]:

Հաճախ կիրառվում են կոմպլեքս պատրաստուկներ՝ պրոբիոտիկները պրեբիոտիկների հետ, այսպես կոչված սինբիոտիկներ: Սինբիոտիկների ազդեցությունը պայմանավորված է պրոբիոտիկների հետ պրեբիոտիկների սիներգիզմով: Որպես պրոբիոտիկ առավել հաճախ օգտագործվում են հետևյալ խմբի մանրէները [Шендеров Б., 2001].

- Կաթնաթթվային բակտերիաներ - *L.acidophilus, L.bulgaricus, L casei, L.rhamnosus, L.brevis, L.cellobiosus, L.fermentum, L.plantarum, L.lactis.*
- Բիֆիդոբակտերիաներ - *B.bifidum, B. infantis, B.breve, Badolescentis, B.longum, B. animals, B. thermophilum.*
- Գրամ-դրական կոկեր - *Streptococcus salivarius, Str. thermophilus, Str. diacetylactis, Enterococcus faecium, Lactococcus lactis sp. cremoris.*
- Խմորասնկեր – *Saccharomyces boulardii, S. cerevisiae*

Որպես պրոբիոտիկներ օգտագործվող միկրոօրգանիզմները պետք է բավարարեն հիմնականում հետևյալ պահանջներին [ГОСТ РФ, 55577, 2013].

- Նրանք պետք է անջատված լինեն մարդու և այն կենդանիների օրգանիզմից, որոնց հանդեպ կիրառվելու են,
- Պետք է օժտված լինեն դրական ազդեցությամբ տեր օրգանիզմի վրա, ինչը պետք է հաստատված լինի լաբորատոր ուսումնասիրություններով,
- Նրանք պետք է օժտված լինեն՝ գաղութացման ներուժով, այսինքն գոյատևեն մարսողական համակարգում մինչև առավելագույն դրական ներգործության հասնելը, կայուն լինեն ցածր pH-ի արժեքների, լեղաթթուների հանդեպ, ինչպես նաև սոսնձվեն համապատասխան լորձաթաղանթներին,
- Պետք է ունենան կայուն բնութագրիչ հատկություններ, ինչպես կլինիկական, այնպես էլ արտադրական ոլորտում,
- Երկարատև օգտագործման դեպքում չպետք է առաջացնեն կողմնակի երևույթներ,
- Պետք է ունենան աճման և բազմացման բարձր արագություն՝ աղեստամոքսային համակարգի պայմաններին մոտ պայմաններում: In vitro նրանց կուլտիվացման և կենսազանգվածի կուտակման համար անհրաժեշտ է ստեղծել այնպիսի պայմաններ, որոնք առավելագույնը մոտ են աղիքային միկրոֆլորայի պայմաններին,
- Մեծ քանակություններով ներմուծման դեպքում նրանք պետք է օժտված լինեն աղիքի լուսանցքից դեպի մակրոօրգանիզմի ներքին միջավայր ներթափանցելու ցածր ընդունակությամբ,
- Պետք է ունենան հստակ գենետիկական և ֆիզիոլոգիական-կենսաքիմիական նիշեր՝ կեղծիքներից խուսափելու և սկզբնական պրոբիոտիկ շտամները և արտադրական կուլտուրաները կիրառման ընթացքում պարբերաբար հսկելու համար,
- Պետք է ախտածին չլինեն և պատկանեն Գրամ-դրական մանրէների շարքին,
- Պետք է արտազատեն հակա –*E.coli* գործոններ:

Նշված հատկանիշների ստուգման համար մշակված են հատուկ թեստեր: Նախապատվությունը տրվում է Գրամ-դրական մանրէներին, քանի որ դրանք ավելի

դիմացկուն են մարսողական ֆերմենտների և լիզոցիմի քայքայիչ ազդեցության, չորացման և սառեցման նկատմամբ: Պրոբիոնտները պետք է դիմացկուն լինեն նաև թթուների հանդեպ, որպեսզի անվնաս անցնեն աղեստամոքսային համակարգով, որտեղ առկա է քլորաջրածնական թթուն: Նրանք ևս պետք է արտազատեն թթուներ, որպեսզի ստեղծեն անբարենպաստ միջավայր ավելի թթվազգայուն կոլիբակտերիաների համար: Լեղու նկատմամբ կայունությունը հանդիսանում է պրոբիոտիկների կազմի մեջ մտնող մանրէների կարևորագույն հատկություններից մեկը: Լեղին պարունակում է լեղաթթուների աղեր, որոնք էմուլգացնում են ճարպերը, հիդրոլիզի են ենթարկում ճարպաթթուները և քայքայում չլուծվող միացությունները: Լեղին պայմանավորում է մեծ քանակությամբ բակտերիաների ոչնչացումը բարակ աղիներում, քանի որ նրանց բջջաթաղանթները, որոնք կազմված են լիպիդներից և ճարպաթթուներից, զգայուն են լեղաթթուների աղերի նկատմամբ: Այս կապակցությամբ պրոբիոտիկ մանրէների արդյունավետությունը կախված է նրանց կայունությունից լեղու նկատմամբ: [Kimoto H. et al., 1999]:

Պրոբիոտիկ շտամները ունեն մի շարք դրական հատկություններ՝ կարգավորում են աղիքային միկրոֆլորան, իմունային համակարգը, կրճատում են ալերգիկ հիվանդությունների աստիճանը, աղիքային բորբոքումները, թեթևացնում են ստամոքսային սուր ախտանիշները: Պրոբիոտիկ մանրէների կարևոր առանձնահատուկ ֆունկցիաներից է նաև նրանց կողմից կենսագործնեության ընթացքում սննդային նյութերի և նյութափոխանակության երկրորդային արգասիքների արտազատումը, օրինակ ճարպաթթուներ, ամինաթթուներ՝ արգինին, գլյուտամին և ցիստեին, վիտամիններ, ինչպես նաև հակաօքսիդանտներ, ամիններ և այլ միացութուններ (հիստամին, հիպերիդին, թիամին, կադավերին, ինդոլներ, բակտերիոցիններ), որոնք կարևոր նշանակություն ունեն ոչ միայն աղեստամոքսային համակարգի, այլև ամբողջ օրգանիզմի համար [Reid G., 2003, Fleming W. et al., 2004]:

Միկրոօրգանիզմները, որոնք օգտագործվում են որպես դեղորայք, կենսաբանորեն ակտիվ սննդային հավելումներ կամ ֆունկցիոնալ սնունդ, իրենց ազդեցությունը օրգանիզմի վրա թողնում են տարբեր միջնորդանյութերի միջոցով, որոնք իրենցից ներկայացնում են պրոբիոտիկ շտամի նյութափոխանակության

արգասիքներ [Millar M. et al., 2003]: Այն միջնորդանյութերը հասնելով իրենց նշանակետին՝ նյարդային, հորմոնային, իմունային կամ այլ հյուսվածքներում, օրգաններում և օրգան-համակարգերում, ուղղակի կամ միջնորդված փոխազդում են համապատասխան ռեցեպտորների և ֆերմենտների հետ, բերում են մակրոօրգանիզմում կենսաքիմիական, ֆիզիոլոգիական ֆունկցիաների նպաստավոր փոփոխությունների: Պրոբիոտիկ միկրոօրգանիզմների անտագոնիստական հատկությունների վրա կարող են ազդել որոշ գործոններ՝ բերելով ակտիվության նվազեցմանը, օրինակ, ի հայտ են գալիս բակտերիացինների նկատմամբ կայուն մանրէներ: Բակտերիացինները կարող են կապվել սննդանյութերի մեջ մտնող այլ բաղադրիչների հետ, ինչի հետևանքով կորցնում են իրենց ակտիվությունը: Տարբեր սննդային հավելումներ կարող են ազդեցություն թողնել հակամանրէային միացությունների վրա՝ առաջ բերելով ակտիվության ճնշման կամ սկզբնական կուլտուրաների օպտիմալ աճի և հակամանրէային միացությունների սինթեզի համար անբավարար պայմանների ձևավորում, կամ էլ սկզբնական կուլտուրաները սպոնտան կորցնում են իրենց գենետիկ առանձնահատկությունները: Պրոբիոտիկ ազդեցության մեխանիզմը պայմանավորված է նրանով, որ դրանք բնակեցնում են աղիների լորձաթաղանթը՝ դուրս մղելով ախտածին մանրէներին աղիքային միկրոֆլորայից [Zubillaga M. et al., 2001, Reid G. et al., 2003, Zacharof M., 2012]:

Աղիքային միկրոֆլորայի ազդեցության մեխանիզմները առավել ուսումնասիրված են լակտոբակտերիաների օրինակով, և ընդհանուր առմամբ կիրառելի են աղիքային նորմալ միկրոֆլորայի այլ ներկայացուցիչների նկատմամբ: Պրոբիոնտ միկրոօրգանիզմների ազդեցության մեխանիզմները իրականացնում են չորս հիմնական ուղղություններով [Blum S. et al., 1999, Bodera P. et al., 2009]:

- Ոչ ցանկալի միկրոօրգանիզմների ճնշմամբ,
- Մանրէների նյութափոխանակության փոփոխությամբ,
- Կրող օրգանիզմի իմունային համակարգի խթանմամբ,
- Էկզոգեն և էնդոգեն սուբստրատների և նյութափոխանակության արգասիքների դետոքսիկացմամբ:

Ախտածին բակտերիաների տեսակների քանակության նվազեցումը կամ նրանց լրիվ ոչնչացումը պրոբիոտիկների օգտագործումից հետո բացատրվում են ուղղակի անտագոնիստական ազդեցությամբ, որն իրականացվում են հակաբիոտիկանման միացությունների միջոցով, սննդային կամ աղիքային էպիթելի համապատասխան տեղին ամրանալու մրցակցությամբ: Էպիթելին ամրանալու ընդունակությունը շատ մանրէների համար էական պայման է հանդիսանում այնպիսի շարժուն միջավայրում դիմակայելու համար, քանի որ դրանք կխուսափեն պերիստալտիկ շարժման հետ դուրս բերվելուց և մոտ կմնան ներս մտնող թարմ սննդին: Հետևաբար աղիների բնակեցումը ախտածին մանրէներով կանխվում է ադհեզիայի ռեցեպտորների հագեցմամբ պրոբիոնտներով և նպաստում է պաշտպանությունը աղիքային հիվանդություններից: Մեկ տեսակի մանրէի ազդեցությունը մեկ այլ տեսակի վրա կարող է պայմանավորված լինել նյութափոխանակության խտության կամ դրանց ֆերմենտների ակտիվության փոփոխմամբ: Հոմոֆերմենտատիվ և հետերոֆերմենտատիվ կաթնաթթվային բակտերիաների նյութափոխանակության հիմնական արգասիքներն են հանդիսանում կաթնաթթուն և քացախաթթուն: Կաթնաթթվի հակամանրէային ակտիվությունը կախված է ոչ այնքան pH-ի արժեքից, որքան կաթնաթթվի, պրոպիոնաթթվի և քացախաթթվի համատեղ ներկայությունից [Kirjavainen P. et al., 1998, Blum S. et al., 1999, Perdigon G. et al., 2001]:

1928թ. Ռոջերսի կողմից առաջին անգամ նշվել է *Lac. lactis, Lac. bulgarcum* կողմից արտադրվող հակամանրէային միացությունների մասին: Այս միացությունները, որոնք ճնշում են ստաֆիլակոկերի և ստրեպտոկոկերի աճը, անվանվել է բակտերիացիններ [Шендеров Б., 2001]:

Բակտերիացինները բնորոշվում են բակտերիոստատիկ ազդեցության նեղ տիրույթով՝ ընդդեմ մանրէների մոտ ազգակցական տեսակների: Ըստ ֆիզիկո-քիմիական բնութագրի բակտերիոցինները հանդիսանում են ցածրամոլեկուլային սպիտակուցներ և ընդունակ են ճնշել սալմոնելլաների, շիգելլաների, կլոստրիդիաների, լիստերիաների ցեղերին պատկանող մանրէների աճը: Բակտերացիններ սինթեզելու ընդունակությամբ օժտված են կաթնաթթվային կոկերը, ացեդոֆիլ ցուպիկները, ստրեպտոկոկերը, լեյկոնոստոկները և պեդիոկոկերը

[Wanda J. et al., 1991, Todorov S. et al., 2005]: Ուսումնասիրությունները ցույց են տվել է, որ ոչ նույնականացված միացությունները դրանք ցածրամոլեկուլային նյութեր են ոչ պեպտիդային բնույթի, որոնք իրենց ակտիվությունը ցուցաբերում են թթուների և ջրածնի պերօքսիդի առկայությամբ [Garneau S. et al., 2002, Todorov S. et al., 2006, Stern N. et al., 2008]:

1.5. *Պրեբիոտիկների ընդհանուր բնութագիրը*

Պրեբիոտիկները բնական կամ արհեստական սննդային հավելումներ են, որոնք նպաստում են աղիքային նորմալ միկրոֆլորայի զարգացմանը: Պրեբիոտիկները համարվում են չմարսվող սննդային բաղադրիչներ, որոնք շահավետ են ազդում հյուրընկալող օրգանիզմի վրա՝ ընտրողաբար խթանելով մեկ կամ սահմանափակ թվով բակտերիաների աճը աղիներում: Սիմբիոտիկները պրեբիոտիկների և պրոբիոտիկների համակցություն է, որը ազդում է աղեստամոքսային համակարգի վրա՝ խթանելով կամ ակտիվացնելով միկրոօրգանիզմների նյութափոխանակությունը [Simpson O. et al., 2001]:

Ապացուցվել է, որ պրեբիոտիկները կարող են աղիներում ցուցաբերել օգտակար հատկություններ, եթե այն օգտագործում են կանոնավոր կերպով: Ուսումնասիրությունները պարզաբանել են պրեբիոտիկների հետևյալ օգտակար հատկությունների մասին. արագացնում են հանքային նյութերի յուրացումը և բարելավում իմունային համակարգը, կանխարգելում քաղցկեղը, կառավարում ախորժակը: Սննդամթերքներից ուղղակի և անուղղակի կերպով ստացված պրեբիոտիկները և վերջնական արտադրանքի հատկությունները պետք է պատշաճ կերպով ապահովվի և վերահսկվի, որպեսզի ձեռք բերի ավելի շատ սպառողներ: 2008 թ.-ին պրեբիոտիկների շուկան վաստակել էր 295,5 մլն եվրո և բացառիկ շուկայական աճը այս տեսակի ապրանքի նկատմամբ կանխատեսվում էր 2015 թ. հասցնել 766,9 մլն եվրո [Ivanova I. et al., 2012]:

Որպես պրեբիոտիկներ օգտագործում են օլիգոշաքարները, սակայն հաստատված պրեբիոտիկ ակտիվությամբ օժտված են ֆրուկտոօլիգոշաքարները (ՖՕՇ) և գալակտոօլիգոշաքարները (ԳՕՇ): ՖՕՇ-ները կարճ բազմաշաքարներ են, որոնք չեն յուրացվում աղիներում, սակայն յուրացվում են աղիքային միկրոֆլորայի կողմից, նպաստելով կաթնաթթվային և բիֆիդոբակտերիաների քանակի

ավելացմանը, ինչը բերում է ախտածին մանրէների նվազեցմանը: Բացի դրանից ՖՕՇ-ը բարելավում է լյարդի աշխատանքը, նվազեցնում խոլեստերինի քանակը պլազմայում: ՖՕՇ-երի թույլատրելի չափաբաժինը օրական 2000-3000մգ: ՖՕՇ-երի բնական աղբյուր են հանդիսանում դեղաբույսերը: Ֆրուկտաններ պարունակում են շատ բանջարեղեններ, օրինակ, պրասը, սոխը, կանկարը և տնտեսապես մատչելի ինուլին ստանում են եղեգի արմատներից [Rahbar M. et al., 2004, Barreteau H. et al., 2006, Saeedi K. et al., 2009]:

Ընդհանուր առմամբ, ընդունված պրեբիոտիկների հիմնական բնութագիրը միկրոֆլորայի կազմի բարերար փոփոխությունն է: Այս հասկացությունը ենթադրում է, որ պրեբիոտիկները պետք է լինեն կայուն ստամոքսի թթվայնության նկատմամբ և դրանք չպետք է կլանվեն մինչ հաստ աղիներ հասնելը, որպեսզի ընտրողաբար խմորվեն աղիների յուրահատուկ մանրէների կողմից: Բոլոր պրեբիոտիկները, բացի ինուլինից, հաճախ անվանվում են օլիգոշաքարներ: Օլիգոշաքարները հանդիսանում են, որպես 3-10 մոնոմերներից կազմված կարճ շղթայական ածխաջրեր: Մոնոշաքարների կազմը, գլյուկոզոիդային կապը և պոլիմերիզացիայի մակարդակը կարևոր ազդեցություն ունեն պրեբիոտիկ հատկությունների վրա: Գլյուկոզը, գալակտոզը, ֆրուկտոզը և քսիլոզը և ինուլինի տիպի տրանս գալակտո-օլիգոշաքարները և լակտուլոզը հասել են պրեբիոտիկների կարգավիճակի: Պրեբիոտիկ ակտիվության համար հաճախ ուսումնասիրում են ֆրուկտոօլիգոշաքարները (ՖՕՇ) և գալակտոօլիգոշաքարները (ԳՕՇ): Ինուլինի միջին պոլիմերիզացիայի աստիճանը կախված է անջատման աղբյուրից և արտադրության գործընթացից: ՖՕՇ-ները և ինուլինը միասին այժմ համարվում են որպես մոդելային պրեբիոտիկներ չնայած այն հանգամանքին, որ այլ պրեբիոտիկներ, որոնք կարող է ավելի արդյունավետ լինել աղիների համար: Ֆրուկտոօլիգոշաքարները (ՖՕՇ) խմորվում են հաստ աղիներում: Սակայն, ներկայումս զգալի հետաքրքրություն է ներկայացնում պրեբիոտիկների պոտենցիալ հատկություններում նոր ածխաջրերի հայտնաբերումը: Գալակտոօլիգոշաքար լակտուլոզան (ԳՕՇ-L) կարող են ստանալ տրանս-գալակտոզային ռեակցիայի լակուլոզի ազդեցությունից՝ β-գալակտոզիդազ տարբեր բակտերիայի աղբյուրներից [Barretesu H. et al., 2006, Ivanova I. et al., 2012]:

Որպեսզի պրեբիոտիկները մտնեն սննդամթերքի մեջ, որպես հավելումներ, չպետք են բացասաբար ազդեն օրգանոլեպտիկ հատկությունների վրա և լինեն կայուն

սննդամթերքի մշակման ժամանակ: Դրանք տեղի են ունենում բարձր ջերմաստիճանում շաքարների և ամինաթթուներ կրճատմամբ, որոնք հանգեցնում են բարձրամոլեկուլ և ցածրամոլեկուլ միացությունների: Այժմ հայտնի է զգալի տեղեկատվություններ՝ ԳՕՇ, ՖՕՇ և ինուլին պրեբիոտիկների կայունության մասին: Ընդհանուր առմամբ ԳՕՇ-ները շատ կայուն են թթվային պայմանների և բարձր ջերմաստիճանների նկատմամբ, այդ պատճառով նրանք կարող են մեծ ներուժ ունենալ մի շարք մթերքների, ինչպիսիք են յոգուրտների, խմորվող կաթի, թանի, պաստերիզացված, մրգային հյութերի և հացաբուլկեղենի արտադրություններում, ըստ իրենց հիմնական տնտեսական կիրառման՝ մանկական սննդամթերքի բանաձևերում, առկա են՝ 6.0-7.2 գ/լ, ՖՕՇ-ները՝ (0.6-0.8 գ/լ): Հաստատված է, որ ԳՕՇ-ները կայուն են ջրային լուծույթներում՝ 10 րոպե 100°C-ի և pH 3-ի պայմաններում, pH 2-ի դեպքում միայն 5%-ն են քայքայվում [Bovee-Oudenhoven I. et al., 2003]:

ՖՕՇ-ների կայունությունը թթու միջավայրի և բարձր ջերմաստիճանի նկատմամբ բացատրվում է այն փաստով, որ ֆրուկտոզ-ֆրուկտոզ և ֆրուկտոզ-գալակտոզ C-O թույլ կապը՝ ՖՕՇ-ի ջերմաստիճանի բարձրացման հետ վեր են ածվում գլիկոզիդային կապի: Ի վերջո, մի հետաքրքիր ուսումնասիրություն, ցույց տվեց, որ ոչ ջերմային մշակման ժամանակ ՖՕՇ-ները ներառված խնձորի խյուսում կայուն են ավելի քան 30 օր 4°C՝ բարձր հիդրոստատիկ ճնշմամբ մշակելուց հետո: Դա վկայում է պրեբիոտիկների հնարավորությունների մասին [Kleessen B. et al., 2001]:

Պրեբիոտիկների կարևոր կենսատեխնոլոգիական ասպեկտ են հանդիսանում՝ դրանց ֆիզիկո-քիմիական հատկությունների դրսևորումը սննդամթերքի արտադրման ժամանակ, ինչպես նաև սննդամթերքում օրգանոլեպտիկ ցուցանիշների պահպանումը: Այսպես, պրեբիոտիկներից ինուլինը օգտագործվում է սննդի արտադրությունում, որպես յուղի փոխարինիչ կամ կառուցվածքի մոդիֆիկատոր: Ունի չեզոք, փոքր-ինչ քաղցր համ և հեշտությամբ լուծվում է ջրում, դրա համար հարմար են հեղուկ սննդամթերքին ավելացնելու համար: Շնորհիվ վերը նշված հատկությունների՝ օգտագործվում է հիմնականում ցածր յուղայնությամբ կաթնամթերքների, այդ թվում, յոգուրների, կաթնամթերքի աղանդների, պանրի և պաղպաղակի, հացաբուլկեղենի արտադրություններում: Ինուլինի օժտված է բարձր ժելային հատկությամբ՝ շնորհիվ

ցանցի բյուրեղային հատիկների: Ինուլինի ֆիզիկաքիմիական հատկությունները զգալիորեն կախված է իր պոլիմերիզացիայի աստիճանից, ընդ որում ինչքան շղթան երկար է, այնքան բարձր է նրա ժել առաջացնելու հատկությունը: Շնորհիվ այն բանի, որ երկար շղթաներն ունեն ցածր լուծելիություն և դրանով իսկ բյուրեղացումը ավելի արագ է իրականանում: Օրինակ, պրեբիոտիկները բավականին քաղցր են (30-35% սախարոզի համեմատ) և ունեն նմանատիպ տեխնոլոգիական հատկութուն, ինչպիսին են սախարոզի և գլյուկոզի օշարակը, ընդ որում դրանք հաճախ օգտագործում են, որպես շաքարի փոխարինիչներ: Դրանք արդեն ավելացվում են մի շարք կաթնամթերքների մեջ, որոնք հանդիսանում են կաթում իդեալական բաղադրիչներ՝ քիչ կալորիականությամբ և բարձր ֆունկցիոնալ արժեքով, առանց համի փոփոխության [Ross P. et al., 2002, Sadeghi E. et al., 2010, Rezavi M. et al., 2011]:

Այսպիսով, վերջին տարիների բազմաթիվ գիտական հետազոտություններ տարբեր երկրներում և տարբեր գիտնականների կողմից ցույց են տվել, որ պրոբիոտիկ հատկություններով օժտված էնդեմիկ մանրէները կարող են հիմք հանդիսանալ նոր ֆունկցիոնալ սննդամթերքի ստացման համար:

1.6. ***Ֆունկցիոնալ սննդամթերքներ***

Ֆունկցիոնալ սնունդը հատուկ նշանակության բնական կամ արհեստական ծագմամբ մթերքեր են, որոնք նախատեսված են ամենօրյա օգտագործման համար և ազդում են ֆիզիոլոգիական ֆունկցիաների, կենսաքիմիական ռեակցիաների և մարդու վարքագծի վրա, պահպանում են նրա ֆիզիկական, հոգեկան առողջությունը և նվազացնում հիվանդությունների առաջացման վտանգը [Սաղյան Ա., 2013]:

Հաստատվել է, որ ֆունցիոնալ սննդամթերքը դրական ազդեցություն ունի օրգանիզմի վրա: Ֆունցիոնալ սննդամթերքը լայն կիրառություն ունի զարգացած և զարգացող երկրներում: «Ֆունկցիոնալ սննդամթերք» տերմինը ծագել է 1980-ից Ճապոնիայում: Այդ սննդամթերքները պարունակում են հավելյալ բաղադրիչներ, որոնք ունեն դրական ազդեցություն սպառողի առողջության վրա: Ֆունկցիոնալ սննդամթերքը կարող է ներառել պրոբիոտիկներ, պրեբիոտիկներ և սիմբիոտիկներ [Шендеров Б., 2001]:

Պրոբիոտիկ շտամերը լայնորեն օգտագործվում են կաթնամթերքի արտադրությունում, որպես նոր ֆունկցիոնալ սննդամթերքներ: Այսօր, ավելի քան

100-ավոր արտադրատեսակներ, որոնք պարունակում են պրոբիոտիկներ, այդ թվում, պաղպաղակը, ֆերմենտացված կաթը, պանիրը, մանկական խառնուրդները, մրգային հյութերը, որոնք դարձել են հասանելի ամբողջ աշխարհի համար: Պրոբիոտիկները հասանելի են բացառապես փոշիների, հաբերի կամ պատիճների տեսքով, որոնք կենսաակտիվ սննդային հավելումներ են և հաճախ արտադրվում են սառեցման-չորացման եղանակով [Zubillaga M. et al., 2001]:

Պրոբիոտիկների վերամշակման և պահեստավորման ընթացքում սառեցման և ջրազրկման ենթարկելը, կարող է հանգեցնել բջիջների վնասման և կենսունակության նվազեցմանը: Վերամշակման ժամանակ, ջերմաստիճանի փոփոխությունները և ջրազրկումը կարող է հանգեցնել բջջաթաղանթի, բջջապատերի, ռիբոսոմների վնասման, թեև թաղանթի լիպիդների օքսիդացումը կարող է տեղի ունենալ պահեստավորման ընթացքում: Այսպիսով մինչև արտադրանքի սպառումը, պրոբիոտիկների կենսունակությունը կարող է իջնել մինչև այն մակարդակի, որ օրգանիզմի վրա այլևս չունենա դրական ազդեցություն: Պատիճների կամ հաբերի տեսքով արտադրանքը հաճախ պարունակում է ոչ մեծ քանակությամբ կենսունակ պրոբիոտիկ բջիջներ: Սննդամթերքներում ներառված պրոբիոտիկները ավելի բարձր ազդեցություն են ունենում [FAO/WHO, 2001]:

ԱՄՆ-ում վաճառվող կաթնամթերքների շարքում է նաև յոգուրտը: Ամերիկայի Միացյալ Նահանգներում ըստ օրենսգրքի դաշնային կանոնակարգերի (CFR) չափանիշների, յոգուրտ ստանում են կաթնաթթվային բակտերիաների՝ *L. delbrueckii sp. bulgaricus* և *S. thermophilius* տեսակների կուլտիվացմամբ: *L. delbrueckii sp. bulgaricus* և *S. thermophilus* տեսակները հանդիսանում են որպես պրոբիոտիկներ: Չնայած այն հանգամանքին, որ դրանք չեն կարող գոյատևել աղիներում՝ ավելին, չունեն ադհեզիային ունակություն: Ներկայումս տարբեր երկրներում որպես ֆունկցիոնալ նշանակության սննդամթերքներ արտադրվում են այդ երկրների ավանդական կաթնամթերքները՝ ինչպես, օրինակ, Keshik, Tarhana, Jameed և այլն [Arunachalam K., 1999, Adel M. et al., 2010, Ivanova I. et al., 2012]**:**

Ներկայումս գիտական գրականության բազմաթիվ վերլուծություններ վկայում են հակամանրէային ակտիվությամբ պրոբիոտիկ շտամների կիրառումը սննդամթերքների

արտադրությունում՝ որպես կենսապահպանիչներ [Караханян М., 2005, Boziaris I. et al., 1998, Brul S. et al., 1999, Leroy F. et al., 2007]:

Եվրոպայի ESPGHAN սննդամթերքի կոմիտեն, հիմնվելով կլինիկական հետազոտությունների տվյալների վրա եկել է այն եզրակացության, որ պրոբիոտիկները և պրեբիոտիկները, որպես հավելումներ անվտանգ են և կարող են հանդես գալ որպես ֆունկցիոնալ սննդամթերքներ [Behnsen J. et al, 2013, Voosogh A., 2009]:

Այսպիսով, ԿԹԲ-ների կենսաբազմազանության ուսումնասիրությունը լայն հեռանկարներ է բացում նոր ֆունկցիոնալ սննդամթերքի ստացման համար, որոնք կարող են լայն կիրառություն ունենալ բժշկության, սննդարդյունաբերության և մի շարք այլ բնագավառներում:

ՓՈՐՁԱՐԱՐԱԿԱՆ ՄԱՍ

ԳԼՈՒԽ 2. ՆՅՈՒԹԵՐ ԵՎ ՄԵԹՈԴՆԵՐ

2.1. Ուսումնասիրությունների առարկան

Աշխատանքում օգտագործվել են ԼՂՀ տարբեր շրջանների որոշ կաթնամթերքների (կովի մածուն, աղի պանիր, ոչխարի, այծի, գոմեշի կաթ) տարբեր նմուշներից անջատված կաթնաթթվային բակտերիաները (ԿԹԲ): ԿԹԲ-ների մեկուսացման և մաքուր կուլտուրաների ստացման աշխատանքներն իրականացվել են Արցախի Գիտական Կենտրոնի (ԱԳԿ) Մանրէաբանական լաբորատորիայում: ԿԹԲ-ների շտամները գտնվում են Արցախի գիտական կենտրոնի (ԱԳԿ) Մանրէաբանական և ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ի Միկրոբային պատրաստուկների լաբորատորիաների կուլտուրաների հավաքածուներում:

2.2. ԿԹԲ-ների շտամների մաքուր կուլտուրաների անջատումը

Մանրէազերծված փորձանոթներով վերցվել են նմուշները: Յուրաքանչյուր նմուշից 0.1 մլ ավելացվել են հեղուկ MRS (HiMedia) սննդարար միջավայր: ԿԹԲ-ների կուլտուրաները ցանքսի միջոցով տեղափոխվել են՝ 1.0±0.2% ագարի պարունակությամբ MRS և հիդրոլիզացված կաթով պինդ սննդամիջավայրերի վրա: Աճեցվել ջերմապահարանում 37°C 24-48 ժամվա ընթացքում: Աճեցնելուց հետո ստացվել են մորֆոլոգիապես տարբերվող գաղութներ: Առանձին գաղութների հաջորդաբար վերացանքսի միջոցով մեկուսացվել են շտամների մաքուր կուլտուրաները, որոնք ցանվել են նաև կաթի մեջ և տեղադրվել ջերմապահարանում՝ 37°C: Անջատված կուլտուրաների նախնական ընտրությունը կատարվել է ըստ կաթի մերման ընդունակության: Առանձնացվել են 123 գաղութներ, որոնցից յուրաքանչյուրը տեղափոխվել է MRS արգանակի մեջ (1մլ) և աճեցվել ջերմապահարանում՝ 24 ժամ, 37°C պայմաններում: Ընտրված ԿԹԲ-ների բոլոր շտամները պահվում են 40% գլիցերինի պարունակությամբ մանրէազերծված կաթում՝ –20°C պայմաններում:

2.3. Օգտագործված սննդամիջավայրեր

Աճեցման համար օգտագործվել են MRS HiMedia (Peptonspecial 10.0, Beef Extract 10.0, Yeast Extract 5.0, Glucose 20.0, Triammonium Citrate 2.0, Sodium Acetate 5.0, Magnesium Sulphate 0.2, Manganese Sulphate 0.05, Di-Potassium Phosphate 2.0, pH 6.2±0.2 at 25ºC) արգանակ, MRS ագար, լակտոագար, կաթնային ագար և պաստերիզացված, մանրէազերծված, յուղալի (յուղի պարունակությունը՝ 3.6%) ու յուղազրկված կաթ: Կաթի մանրէազերծումը կատարվել է 0,8 մթն/Պա ճնշման տակ 15 րոպե տևողությամբ՝ մանրազերծիչ սարքում:

2.4. *Օգտագործված թեստ կուլտուրաներ*

ԿԹԲ-ների հակամանրէային ակտիվությունը որոշելու նպատակով որպես թեստ կուլտուրա օգտագործվել են պայմանականորեն ախտածին Գրամ–դրական *Bacillus subtilis* G17-89 և Գրամ-բացասական *Salmonella typhimurium* G-38 մանրէները, որոնք գտնվում են ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ ՊՈԱԿ-ի Միկրոբային պատրաստուկների լաբորատորիայի կուլտուրաների հավաքածուում: Թեստ կուլտուրաները աճեցվել են սննդային ագար (MRS HiMedia) միջավայրի վրա՝ 30°C կամ 37°C ջերմաստիճանային պայմաններում: Այնուհետև առանձին աճած 3-5 գաղութները տեղափոխվել են սննդային արգանակի (MRS HiMedia) մեջ և աճեցվել են 37 °C ջերմաստիճանային պայմաններում՝ 16-18 ժամ տևողությամբ: Ուսումնասիրություններից առաջ թեստ կուլտուրաները թարմացվում են սննդային արգանակի մեջ MRS (HiMedia)՝ 2-3 ժամ տևողությամբ 37°C ջերմաստիճանային պայմաններում, այնուհետև կատարվում է նոսրացում ֆիզիոլոգիական լուծույթով մինչև մանրէների կենսազանգվածի խտությունը կազմի 1-2x10^6 ԳԱՄ/մլ:

Օգտագործվել են ախտածին մանրէներ՝ *Escherchia coli, Citrobacter, Proteus mirabilis Pseuodomonas aeruginose, Proteus vulgaris,* անջատված ԼՂՀ ԱՆ «Համաճարակաբանության և հիգենայի կենտրոն» ՊՈԱԿ-ի աշխատակիցների կողմից, որտեղ և կատարվել են աշխատանքները:

2.5. ***ԿԹԲ-ների շտամների մորֆոլոգիական և կենսաքիմիական հատկությունների գնահատումը***

ԿԹԲ-ների շտամները բնութագրվել են ըստ բջիջների և գաղութների մորֆոլոգիական առանձնահատկությունների [Биргер Р., 1990]:

ԿԹԲ-ների շտամները բնութագրվել են ըստ Բերջիի որոշիչում, ինչպես նաև այլ ձեռնարկներում նկարագրված մեթոդների: ԿԹԲ-ների շտամները գծային կերպով ցանվել են MRS ագարում և առաջացած գաղութները նկարագրվել ըստ չափսի, գույնի, եզրերի, փայլի և այլ հատկանիշների: Բջիջների ձևերը և չափսերը որոշվել են մեթիլեն կապույտով ներկված պատրաստուկների մանրադիտակային ուսումնասիրությամբ: Ներկումն ըստ Գրամի կատարվել է համընդհանուր մեթոդով: Կատալազային ակտիվության որոշման համար առարկայակիր ապակու վրա կաթեցվել է ջրածնի պերօքսիդի 3%-ոց լուծույթ, որին մանրէաբանական ասեղով ավելացվել է հետազոտվող կուլտուրան: Կատալազի առկայության դեպքում անմիջապես, կամ մի քանի րոպեի ընթացքում առաջանում են պղպջակներ [Нетрусов А., 2005]:

ԿԹԲ-ների կողմից կատարվող գլյուկոզի խմորման տեսակը որոշելու համար օգտագործվել է Դուրհամի խողովակը, որը թույլ է տալիս հայտնաբերել խմորման ժամանակ գազի առաջացումը: Այն տեղադրվում է MRS պարունակող փորձանոթներում, որոնք այնուհետև վարակվում են ԿԹԲ-ների կուլտուրաներով և աճեցվում մինչև 7 օր: Միջավայրում գազի պղպջակների առաջացման դեպքում Դուրհամի խողովակը վեր է բարձրանում: Դա վկայում է, որ հետազոտվող շտամը հետերոֆերմենտատիվ է: Եթե միջավայրում պղպջակներ չեն առաջանում, ապա շտամը հոմոֆերմենտատիվ է [Скородумова А., 1963, Tamime R. et al., 1998]:

Ժելատինային ակտիվության ուսումնասիրության համար մսապեպտոնային ժելատինով միջավայրը ցանվել են ԿԹԲ-ների կուլտուրաներով և աճեցվել մինչև 5 օր: Այնուհետև փորձանոթները սառեցվել են մինչև 4°C՝ պարզելու համար արդյո՞ք միջավայրը պնդանում է, թե ոչ:

ԿԹԲ-ների արգինինը դեզամինացնելու հատկությունը հայտնաբերելու համար դրանք աճեցվել են սննդարար միջավայրում, այնուհետև ԿԹԲ-ների կուլտուրալ հեղուկին ավելացվել է 4-5 կաթիլ Նեսլերի ռեակտիվ: Դրական ռեակցիայի դեպքում միջավայրը ներկվում է նարնջագույն [Нетрусов А., 2005]:

Տարբեր ածխաջրեր (արաբինոզ, քսիլոզ, ռամնոզ, գլյուկոզ, ֆրուկտոզ, գալակտոզ, մանոզ, սախարոզ, լակտոզ, ցելոբիոզ, մելիբիոզ, մալտոզ, ռաֆինոզ և օսլա), ինչպես նաև սորբիտոլ, մանիտոլ, դուլցիտոլ, գլիցերոլ և միզանյութ խմորելու ունակությունը հետազոտվել է համապատասխան ածխաջուրը պարունակող MRS միջավայրում: Աճի տևողությունը՝ մինչև 7 օր [Нетрусов А., 2005]:

Տարբեր ջերմաստիճաններում մանրէների աճի ուսումնասիրության նպատակով ԿԹԲ-ների շտամները աճեցվել են MRS արգանակում՝ ջերմապահարանում՝ 30°C, 37°C և 45°C ջերմաստիճանային պայմաններում, 24 ժամ տևողությամբ:

ԿԹԲ-ների շտամների կողմից կաթի մերման ընդունակությունը գնահատվել է ըստ կաթի մերման տևողության՝ յուղազրկված և 3.6% յուղալի կաթում 37°C ջերմաստիճանային պայմաններում աճեցման դեպքում:

ԿԹԲ-ների աճեցնելուց հետո թթվայնությունը որոշվել է տիտրման եղանակով [Скородумова А., 1963]:

ԿԹԲ-ի աճը գնահատվել է ըստ օպտիկական խտության փոփոխության (μ=590 նմ ալիքի երկարության տակ, КФ-2 ֆոտոկոլորոմետրիկ սարքով):

2.6. <u>Հակամանրէային ակտիվության քանակական հաշվարկ</u>

Նմուշների հակամանրէային ակտիվությունը հաշվարկվել է հետևյալ բանաձևով [Parente E. et al, 1995]:

$$\text{ԱՄ/մլ} = \frac{1000 \times D \times d}{V},$$

որտեղ՝

ԱՄ/մլ – ակտիվ միավոր / մլ,

V - օգտագործված նմուշի ծավալը,

D - նոսրացման աստիճանը,

d - աճի ճնշման գոտու տրամաչափը:

2.7. ԿԹԲ-ների շտամների որոշ պրոբիոտիկ հատկությունների գնահատումը

2.7.1. ԿԹԲ-ների շտամների լեղու նկատմամբ կայունության որոշումը

ԿԹԲ-ների կենսունակությունը 0.20-0.80% լեղու (Bile Salt REF M1003, Micromaster Thane 400 607, Mah, India) ազդեցության հանդեպ որոշվել է ըստ ընդունված մեթոդների: ԿԹԲ-ների շտամների կենսունակությունը գնահատվել է ըստ օպտիկական խտության (μ=590նմ ալիքի երկարության տակ, ՓԿ-2 ֆոտոկոլորոմետրիկ սարքով) [Klaenhammer T., 1993; Wanda J. et al., 1991]:

2.7.2. ԿԹԲ-ների շտամների տարբեր pH -ի նկատմամբ կայունության որոշումը

ԿԹԲ-ների կենսունակությունը միջավայրի pH=2.0-9.0 տիրույթներում գնահատվել է ըստ օպտիկական խտության (μ=590նմ ալիքի երկարության տակ, ՓԿ-2 ֆոտոկոլորոմետրիկ սարքով) [Klaenhammer T., 1993; Wanda J. et al., 1991]:

2.7.3. ԿԹԲ-ների շտամների պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների նկատմամբ կայունության որոշումը

ԿԹԲ-ների շտամների կայունությունը տրիպսին, պեպսին, պրոտեինազ K ֆերմենտների ազդեցության նկատմամբ որոշվել է համապատասխան մեթոդաբանության [Fernandes P.et al., 2008]: Աշխատանքում օգտագործվել են Trypsin (Pure from bovine pancreas 3x, activity 2500 NFU/mg, HiMedia), Pepsin (Extra pure 1:3000U (HiMedia). Proteinaze K (lyophilisiert, >30 mAnson U/mg, Sigma):

2.7.4. ԿԹԲ-ների շտամների NaCl-ի նկատմամբ կայունության որոշումը

ԿԹԲ-ների զգայունությունը NaCl-ի նկատմամբ ստուգվել է աղի տարբեր տոկոսային (2-6%) պարունակությամբ MRS արգանակում 37°C ջերմաստիճանային պայմաններում 24 ժ աճեցման եղանակով [Azadnia P. et al., 2009]:

2.7.5. ***ԿԹԲ-ների շտամների հակաօքսիդանտային ակտիվության գնահատումը***

Ընտրված ԿԹԲ-ի հակաօքսիդանտային ակտիվությունը գնահատվել է ըստ օպտիկական խտության փոփոխության (2800 WV/VIS սպեկտրոֆոտոմետրիկ սարքով) [Сирота Т., 2013]:

2.7.6. ***ԿԹԲ-ների շտամների հակաբիոտիկների նկատմամբ զգայունության որոշումը***

Հակաբիոտիկների նկատմամբ զգայունությունը որոշվել է ըստ հաստատուն մեթոդի: MRS արգանակում 37°C ջերմաստիճանային պայմաններում նախօրոք աճեցված ԿԹԲ-ների կուլտուրաները ցանվել են MRS ագարի վրա: Ագարի մակերեսին տեղադրվել են համապատասխան հակաբիոտիկներով սկավառակները: Յուրաքանչյուր Պետրիի թասիկի մակերեսին տեղադրվել են 6-8 հակաբիոտիկների սկավառակներ (Liofilchem s.r.l. Roseto, Italy): Թասիկները տեղադրվել են ջերմապահարանում՝ 37°C, 16-20 ժամ տևողությամբ: Աճեցումից հետո գնահատվել է աճի ճնշան գոտու տրամաչափը [Bauer A. et al., 1966]:

2.7.7. ***ԿԹԲ-ների շտամների ադհեզիվ հատկության որոշումը***

ԿԹԲ-ների ադհեզիվ հատկության հետազոտման նպատակով շտամները աճեցվել են MRS ագար սննդամիջավայրում՝ 24-48 ժամ տևողությամբ, 37°C ջերմաստիճանային պայմաններում: Յուրաքանչյուր շտամի համար ստացվել են եզակի գաղութներ, որոնք տեղափոխվել են ֆիզիոլոգիական լուծույթի մեջ և դրանց ադհեզիվ հատկությունը ստուգվել է ըստ հաստատուն մեթոդի [Henricsson A. et al., 1991]: Հետազոտությունները իրականացվել է Երևանի Պետական Համալսարանի Կենսաբանության ֆակուլտետի մանրէաբանության, բույսերի և մանրէների կենսատեխնոլոգիայի ամբիոնի աշխատակիցների հետ համատեղ:

*2.8. ***<u>ԿԹԲ-ների շտամների աճեցումը՝ առանձին և համակցություններով</u>***

ԿԹԲ-ների 16-20 ժամանոց ցանքսանյութը ավելցվում է մանրէազերծված և պաստերիզացված, յուղալի և յուղազրկված կաթի, ինչպես նաև MRS արգանակի մեջ՝ միջավայրի 10%-ի չափով, 50մլ-ոց փորձանոթների մեջ, որոնք պարունակում են 30մլ միջավայր: Փորձանոթները տեղադրում են ջերմապահարան 37°C՝ տևողությունը ըստ դրված խնդրի: Կուլտուրալ հեղուկը մաքրելու համար աճեցման տևողությունը՝ 48 ժամ:

2.9. ***<u>ԿԹԲ-ների շտամների կուլտուրալ հեղուկների մաքրումը</u>***

Համապատասխան միջավայրերում և պայմաններում աճեցնելուց հետո ԿԹԲ-ներից ստացված կուլտուրալ հեղուկներից (ԿՀ) կենսազանգվածը հեռացվել է կենտրոնախուսմամբ՝ 4000 պտ/ր, 30 րոպե տևողությամբ: Ստացված վերնստվածքային հեղուկները (այսուհետև՝ ՎՆՀ) խտացվել է 5 անգամ ջերմապահարանում՝ 55°C պայմաններում:

*2.9.1. ***<u>ԿԹԲ-ների շտամների վերնստվածքային հեղուկների մաքրումը սպիրտով</u>***

Ստացված վերնստվածքային հեղուկի (ՎՆՀ) խտանյութը ենթակվել է սպիրտային մշակման 96% էթանոլով՝ 50% (խտանյութ/սպիրտ, 1/1) հագեցվածությամբ: ՎՆՀ խտանյութը 24 ժամ +4°C պայմաններում սառնարանում պահելուց հետո անջատված նստվածքը (բարձր մոլեկուլային կշռով նյութեր) հեռացվել է կենտրոնախուսմամբ 4000 պտ/ր, 30 րոպե տևողությամբ: ՎՆՀ-ի սպիրտային խտանյութը խտացվել է 55°C պայմաններում մինչև սպիրտի գոլորշիացում՝ նախնական ծավալի և ստացված ՎՆՀ-ի խտանյութը կիրառվել է հետագա ուսումնասիրությունների համար:

*2.9.2. ***<u>ԿԹԲ-ների շտամների վերնստվածքային հեղուկների խտանյութերի մաքրում ժել-ֆիլտրման եղանակով</u>***

ԿԹԲ-ների աճեցումից հետո ստացված վերնստվածքային խտանյութերի մաքրման համար կիրառվել է ժել-ֆիլտրման եղանակը: Խտանյութերը (3մլ) անցկացվել են Sephadex G25 (Superfine) խեժով լցված աշտարակով

(1.5×57սմ, խեժի ծավալը՝ 100մլ): Աշտարակի լվացումը կատարվել է մանրէազերծված թորած ջրով: Հավաքվել են 4-ական մլ ծավալով մասնաբաժիններ՝ ստուգվել է յուրաքանչյուր նմուշի սպիտակուցի խտությունը (մգ/մլ, 2800 WV/VIS սպեկտրոֆոտոմետրիկ սարքով) [Yang R. et al., 1992, Uteng M. et al., 2002]: Այնուհետև յուրաքանչյուր նմուշ խտացվել է ջերմապահարանում՝ 55°C պայմաններում՝ 2 ժամ և որոշվել են հակամանրէային ակտիվությունը պայմանականորեն ախտածին՝ *Bacillus subtilis* G17-89 և *Salmonella typhimurium* G-38 մանրէների նկատմամբ: Հակամանրէային ակտիվությամբ օժտված մասնաբաժինները միացվել են: Արդյունքում ստացված մասնակի մաքրված հակամանրէային կենսաարգասիքը (ՀՄԿ) օգտագործվել է հետագա հետազոտություններում:

2.10. Բուսական խտանյութերի ազդեցությունը ԿԹԲ-ների շտամների աճի վրա

Բուսական խտանյութերը ստացվել են ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ում: Ընտրված բույսերի հյութերը խտացվել են խտանյութը խտացվել է 55°C պայմաններում ջերմապահարանում՝ 4-5 ժամ տևողությամբ: Բուսական խտանյութերը տարբեր չափաբաժիններով (0.5%, 1.0%) ավելացվել են յուղազրկված պաստերիզացված կաթին՝ ցանքսանյութի հետ միասին: Աճեցումը կատարվել է 37°C պայմաններում՝ ջերմապահարանում: Ազդեցությունը գնահատվել է ըստ մերման ժամանակի և օրգանոլեպտիկ հատկությունների:

2.11. ԿԹԲ-ների շտամների հիման վրա մշակված կաթնամթերքի օրգանոլեպտիկ հատկությունների որոշումը:

Ընտրված կաթնաթթվային բակտերիաների մերանային շտամները աճեցվել են կաթում: Օրգանոլեպտիկ գնահատականը տրվել է համաձայն ՀՍՏ, ՀՀ 4959, 30 աստիճանի բալային սանդղակի, որտեղ յուրաքանչյուր օրգանոլեպտիկ ցուցանիշ ունի՝ որակի 4 աստիճան՝ գերազանց-3, լավ-2, բավարար-1, անբավարար-0:

Համեմատական նշանակության գործակիցը ունի հետևյալ սանդղակը՝ արտաքին տեսքը-1, գույնը-1, հոտը-2, հյուսվածք-3, համը-3: Բալային համակարգում գնահատականը տալու համար յուրաքանչյուր օրգանոլեպտիկ ցուցանիշ բազմապատկում են գործակցի նշանակության բալային ցուցանիշով: Համտեսը իրականացվել է ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ի Միկրոբային պատրաստուկների և ԼՂՀ «Արցախի գիտական կենտրոն» ՊՈԱԿ-ի Մանրէաբանական լաբորատորիաներում՝ յուրաքանչյուր խմբում 10 մասնակից:

2.12. <u>ԿԹԲ-ների շտամների նույնականացումը</u>

Նույնականացումն իրականացվել է 16S ՌՆԹ սեկվենավորման մեթոդի կիրառմամբ: ԿԹԲ-ների ԴՆԹ-ները անջատվել են «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ում, այնուհետև ուղղարկվել Հարավային Կորեայի «MACROGEN» ընկերություն՝ նուկլեինաթթվային հաջորդականությունն որոշելու համար: Ստացված հաջորդականություններն համեմատվել են BLAST sequencing (ԱՄՆ) տվյալների բազայում գրանցված էտալոնային շտամների հաջորդականությունների հետ:

2.13. <u>Ստացված տվյալների վիճակագրական վերլուծությունը</u>

Հետազոտման արդյունքները գնահատվել են Microsoft Office Excel 2010 ծրագրի միջոցով, տարբերությունները հավաստի համարվել են $p < 0.05$-ի դեպքում:

Փորձարարական մասի սխեմա

Մածունի, աղի պանրի (կով) և կաթի (այծ, ոչխար, գոմեշ) նմուշների հավաքագրում

▼

ԿԹԲ-ների անջատում, մաքուր կուլտուրաների ստացում

▼

ԿԹԲ-ների մորֆոլոգիական, որոշ ֆիզիոլոգիական և կենսաքիմիական հատկությունների ուսումնասիրություն

▼

Անջատված
ԿԹԲ-ների պրոբիոտիկ հատկությունների
Ուսումնասիրություն

▼

ԿԹԲ- ների մերանային շտամների ընտրություն՝ համակցությունների ստեղծման համար

▼ ▼

Առանձին աճեցված ընտրված ԿԹԲ-ների վերնստվածքային խտանյութերի ստացում	Համակցություններով աճեցված ընտրված ԿԹԲ- ների վերնստվածքային խտանյութերի ստացում

▼ ▼

Վերնստվածքային հեղուկների խտանյութերի մաքրում՝
ժել-ֆիլտրման եղանակով (Sephadex G25)

▼ ▼

Մասնաբաժինների հակամանրէային ակտիվության համեմատական գնահատում

ԱՐԴՅՈՒՆՔՆԵՐ ԵՎ ՔՆՆԱՐԿՈՒՄՆԵՐ

ԳԼՈՒԽ 3. ԿԹԲ-ՆԵՐԻ ՄԱՔՈՒՐ ՇՏԱՄՆԵՐԻ ԱՆՋԱՏՈՒՄԸ ԵՎ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

3.1. ԿԹԲ-ների շտամների մորֆոլոգիական, որոշ ֆիզիոլոգիական և կենսաքիմիական հատկությունների ուսումնասիրությունը

ԼՂՀ աշխարհագրական դիրքը, էկոլոգաերկրաբանական մեկուսացվածությունը, տարածաշրջանային բազմազանությունը և բնակլիմայական պայմանները և դարեր շարունակ տնային տնտեսություններում պատրաստվող և օգտագործվող կաթնամթերքները կարող են հանդիսանալ արժեքավոր ԿԹԲ-ների աղբյուր:

Կաթնամթերքների միկրոֆլորայի հետազոտման նպատակով՝ մեր կողմից ԼՂՀ տարբեր շրջանների տնային տնտեսությունների տարբեր ընտանի կենդանիների կաթից և որոշ կաթնամթերքներից անջատվել են 123 ԿԹԲ-ների շտամներ: ԿԹԲ-ների շտամները աճեցվել են կաթի մեջ, ուսումնասիրվել են ըստ Գրամ ներկման, կատալազային ակտիվության և ածխաջրերի յուրացման, որոնցից ընտրվել են Գրամ-դրական, կատալազա բացասական, հոմոֆերմենտատիվ մանրէները, որոնք ճեղքում են արգինինը և քայքայում ժելատինը:

Աղյուսակ 1.

Անջատված ԿԹԲ-ների որոշ հատկությունները, %

Անջատման աղբյուր	Մանրադիտակային ուսումնասիրություն		Գրամ-դրական	Կատալազա բացասական	Հոմոֆերմենտատիվ	Հետերոֆերմենտատիվ	Արգինինի յուրացում	Ժելատինի քայքայում
	Կոկեր	Ցուպիկ Ներ						
Մածուն	76	24	100	99	98	25	25	92
Աղի պանիր	86	14	100	98	92	16	16	86

Ինչպես երևում է աղյուսակ 1-ի տվյալներից մածունի տարբեր նմուշներից մեկուսացված 54 կուլտուրաներից 76%-ը ունեն գնդաձև բջիջներ, իսկ պանրի 44 նմուշներից մեկուսացված կուլտուրաների մոտ կազմում է 86%: Համեմատության համար նշենք, որ ցուպիկաձև բջիջների քանակը կազմում է 24% մածունի նմուշներից մեկուսացված

ԿԹԲ-ների մոտ, իսկ պանրի նմուշներից մեկուսացված ԿԹԲ-ների մոտ՝ 14%: Գնդաձև և ցուպիկաձև բջիջների հարաբերությունը կազմում է 3:1: Ստացված արդյունքները չեն հակասում գրականության մեջ բերված տվյալներին, որտեղ ցույց է տրված, որ տաք բնակլիմայական պայմաններում գերակշռում են գնդաձև բջիջներ ունեցող մանրէները [Tserovska L. et al., 2002, Tajabadi E. et al., 2009]:

MRS ագարի վրա աճած ԿԹԲ-ների շտամների գաղութները տարբերվում են իրենց գույնով, ձևով և չափսով: Մեկուսացված ԿԹԲ-ների բջիջների մանրադիտակային ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ ԿԹԲ-ների շտամները հիմնականում ներկայացված են տարբեր չափսերի գնդաձև և ցուպիկաձև բջիջներով: ԿԹԲ-ների գաղութների մորֆոլոգիական բնութագրությունը բերված է 2-րդ և 3-րդ աղյուսակներում:

Աղյուսակ 2.

Պանրից անջատված ԿԹԲ-ների գաղութների մորֆոլոգիական նկարագրությունը (MRS ագար)

№	ԿԹԲ	գաղութների մորֆոլոգիան
1.	***LAB* sp.(P1, P15, P34, P40)**	սպիտակ, մանր, հարթ
2.	***LAB* sp.(P2, P4, P14, P30, P31, P38, P42)**	սպիտակ, խոշոր,ուռուցիկ
3.	***LAB* sp.(P8, P28, P36, P37, P41)**	սպիտակ, խոշոր, հարթ
4.	***LAB* sp.(P16, P23)**	սպիտակ, մանր, թափանցիկ
5.	***LAB* sp.P34**	սպիտակ, մանր, ուռուցիկ
6.	***LAB* sp.(P3, P6, P7, P12, P33, P35, P39)**	դեղնավուն, մանր, հարթ
7.	***LAB* sp.(P11, P18, P27, P32, P44)**	դեղնավուն, մանր, ուռուցիկ
8.	***LAB* sp.(P5, P19, P20, P22)**	փղոսկրի գույնի, մանր, հարթ
9.	***LAB* sp.(P9, P24, P29)**	կաթնագույն, մանր, ուռուցիկ
10.	***LAB* sp.(P10, P13, P17, P21, P26)**	կաթնագույն, մանր, հարթ
11.	***LAB* sp.P25**	թափանցիկ, մանր, հարթ

Աղյուսակ 3.

Մածունից անջատված ԿԹԲ-ների գաղութների մորֆոլոգիական նկարագրությունը (MRS ագար)

№	ԿԹԲ	գաղութների մորֆոլոգիան
1.	***LAB* sp.(M2, M12, M18, M29, M35, M43)**	սպիտակ, մանր, հարթ
2.	***LAB* sp.(M3, M7, M11, M19, M44, M48, M53)**	սպիտակ, խոշոր,ուռուցիկ
3.	***LAB* sp.(M5, M17, M34, M39, M46)**	սպիտակ, խոշոր, հարթ
4.	***LAB* sp.(M20, M26, M37)**	սպիտակ, խոշոր, թափանցիկ
5.	***LAB* sp. (M4, M27, M36)**	սպիտակ, մանր, ուռուցիկ
6.	***LAB* sp.(M1, M6, M8, M10, M13, M15, M30, M42)**	դեղնավուն, մանր, հարթ
7.	***LAB* sp.(M16, M21, M24, M38, M40, M51)**	դեղնավուն, մանր, ուռուցիկ
8.	***LAB* sp.(M14, M23, M28, M33, M41, M47, M52)**	փղոսկրի գույնի, մանր, հարթ
9.	***LAB* sp. (M22, M49, M54)**	փղոսկրի գույնի, մանր, ուռուցիկ
10.	***LAB* sp. (M9, M25, M31, M50)**	կաթնագույն, խոշոր, ուռուցիկ
11.	***LAB* sp. (M32, M45)**	կաթնագույն, մանր, հարթ

Այսպիսով աղի պանրի և մածունի նմուշներից մեկուսացված ԿԹԲ-ները տարբեր են տեսքով, գույնով, չափսով:

Ըստ օպտիմալ ջերմաստիճանի մանրէները դասակարգվում են պսիխրոֆիլների, մեզոֆիլների և թերմոֆիլների [Скородумова А., 1963]: Ըստ որի մեկուսացված մանրէները աճեցվել են ջերմապահարանում տարբեր ջերմաստիճանային պայմաններում՝ 30°C, 37°C, 45°C:

Հավելված 3 և 4-ում բերված են ստացված արդյունքները, որտեղ նշվում է, որ մեկուսացված ԿԹԲ-ների շտամները ցուցաբերում են տարբեր օպտիկական խտություն և թթվայնություն՝ կախված աճման ջերմաստիճանի:

Հարկ է նշել, որ ***LAB* sp.M6, *LAB* sp.M14, *LAB* sp.M19, *LAB* sp.M22, *LAB* sp.M37, *LAB* sp.M42, *LAB* sp.M44** ԿԹԲ-ները ցուցաբերում են բարձր օպտիկական խտություն 45°C ջերմաստիճանային պայմանում (հավելված 3 և 4):

Աղյուսակ 4.

ԿԹԲ-ների աճը տարբեր ջերմաստիճանային պայմաններում, %

№	Անջատման աղբյուր	ԿԹԲ, N	30°C	37°C	45°C
1.	Պանիր	44	27	95.5	63
2.	Մածուն	54	32	94.4	68

Ամփոփված տվյալները ներկայացված են աղյուսակ 4-ում, որից երևում է, որ ըստ տոկոսային հարաբերության մածունի և պանրի նմուշներից անջատված ԿԹԲ-ների մեծ մասը ներկայացված են մեզոֆիլ (37°C) և թերմոֆիլ (45°C) մանրէներով, որը բացատրվում է նրանով, որ ԼՂՀ գտնվում է բարեխառն-մերձարևադարձային կլիմայական գոտիում:

Կաթնամթերքի արտադրության համար անհրաժեշտ է ԿԹԲ-ների կաթի խմորման արագության և թթվայնության ցուցանիշները: Այդ նպատակով մածունի և պանրի նմուշներից անջատված ԿԹԲ-ները աճեցվել են յուղալի (3.6%) և յուղազրկված կաթի մեջ և որոշվել մերման ժամանակը և թթվայնությունը: Տվյալները ներկայացված են 5-րդ, 6-րդ աղյուսակներում և ամփոփված են աղյուսակ 7-ում:

Աղյուսակ 5.

Պանրից ընտրված ԿԹԲ-ների աճի գնահատումը, (37 °C, կաթ)

№	ԿԹԲ	Կաթ					
		Յուղալի (3.6%)			Յուղազրկված		
		ժամ	°T	pH	ժամ	°T	pH
1.	***LAB* sp.P1**	7	62±10	5.30	10.0	70±20	5.10
2.	***LAB* sp.P2**	8	71±10	4.20	10.0	65±20	4.00
3.	***LAB* sp.P3**	18	70±10	5.40	20.0	55±20	5.40
4.	***LAB* sp.P4**	18	90±10	4.70	22.0	90±10	4.90
5.	***LAB* sp.P5**	17	72±20	4.70	24.0	78±20	5.00
6.	***LAB* sp.P6**	18	100±20	5.40	24.0	70±10	5.10
7.	***LAB* sp.P7**	24	75±20	5.30	28.0	78±20	5.10
8.	***LAB* sp.P8**	24	78±20	5.40	24.0	96±10	5.10
9.	***LAB* sp.P9**	9	95±10	5.00	10.0	95±20	5.04
10.	***LAB* sp.P10**	24	75±20	4.80	24.0	90±20	4.95

Աղյուսակ 5-ի շարունակությունը

11.	***LAB* sp.P11**	20	80±20	4.20	24	85±10	4.56
12.	***LAB* sp.P12**	24	80±20	5.00	24	87±10	5.08
13.	***LAB* sp.P13**	6	65±10	4.90	8	66±20	5.08
14.	***LAB* sp.P14**	28	77±20	5.00	28	77±10	5.37
15.	***LAB* sp.P15**	20	62±10	5.00	10	70±20	5.51
16.	***LAB* sp.P16**	27	80±20	4.50	28	80±20	5.64
17.	***LAB* sp.P17**	8	70±20	4.90	9	60±20	5.10
18.	***LAB* sp.P18**	18	68±10	5.20	24	64±20	4.64
19.	***LAB* sp.P19**	24	88±20	5.40	24	70±20	5.43
20.	***LAB* sp.P20**	20	61±10	5.00	22	48±20	5.62
21.	***LAB* sp.P21**	18	70±20	5.10	24	65±20	4.91
22.	***LAB* sp.P22**	20	72±10	4.80	16	92±20	5.09
23.	***LAB* sp.P23**	24	75±10	5.00	24	78±10	5.00
24.	***LAB* sp.P24**	24	68±20	5.50	24	75±10	5.21
25.	***LAB* sp.P25**	10	70±10	4.80	16	90±20	5.20
26.	***LAB* sp.P26**	24	70±10	4.50	24	84±20	5.00
27.	***LAB* sp.P27**	24	100±20	5.10	24	92±20	4.40
28.	***LAB* sp.P28**	18	75±10	5.20	24	86±20	4.50
29.	***LAB* sp.P29**	22	65±20	4.40	26	80±20	5.10
30.	***LAB* sp.P30**	26	77±10	4.90	28	50±20	4.80
31.	***LAB* sp.P31**	8	85±10	4.80	10	90±10	4.40
32.	***LAB* sp.P32**	6	90±10	5.00	9	100±20	5.00
33.	***LAB* sp.P33**	5	78±20	5.00	17	100±20	5.00
34.	***LAB* sp.P34**	6	88±20	4.80	9	95±20	4.80
35.	***LAB* sp.P35**	7	91±10	4.90	10	95±10	5.00
36.	***LAB* sp.P36**	8	105±2	5.20	20	120±20	5.10
37.	***LAB* sp.P37**	9	97±10	5.40	18	110±20	5.20
38.	***LAB* sp.P38**	8	96±20	5.00	16	105±10	5.40
39.	***LAB* sp.P39**	6	88±20	5.10	12	98±20	5.20
40.	***LAB* sp.P40**	8	98±20	4.80	10	120±10	5.00
41.	***LAB* sp.P41**	7	100±20	5.10	18	110±10	5.10
42.	***LAB* sp.P42**	7	106±20	5.00	9.3	112±20	4.80
43.	***LAB* sp.P43**	8	108±20	5.40	9	120±10	4.70
44.	***LAB* sp.P44**	5	85±10	4.60	7.3	100±20	4.20

Աղյուսակ 6.

Մածնից ընտրված ԿԹԲ-ների աճի գնահատումը, (37 °C, կաթ)

№	ԿԹԲ	Կաթ					
		Յուղալի (3.6%)			Յուղազրկված		
		Ժամ	°T	pH	Ժամ	°T	pH
1.	***LAB* sp.M1**	9	100±20	5.00	12	120±20	5.04
2.	***LAB* sp.M2**	8	130±10	4.80	10	150±10	4.95
3.	***LAB* sp.M3**	16	100±10	5.00	22	140±10	5.51
4.	***LAB* sp.M4**	5	80±10	4.20	7	230±10	4.56
5.	***LAB* sp.M5**	6.3	130±10	5.00	8	160±20	5.08
6.	***LAB* sp.M6**	7.3	150±10	4.90	8.3	170±10	5.08
7.	***LAB* sp.M7**	16	115±20	5.02	24	122±20	5.00
8.	***LAB* sp.M8**	10	100±20	5.00	12	130±10	5.37
9.	***LAB* sp.M9**	16	108±20	4.88	26	128±20	4.90
10.	***LAB* sp.M10**	18	120±20	4.90	22	140±20	5.08
11.	***LAB* sp.M11**	10	100±20	5.00	12	110±20	4.84
12.	***LAB* sp.M12**	8	100±10	3.98	10	100±20	3.64
13.	***LAB* sp.M13**	15	120±20	4.80	21	160±20	5.10
14.	***LAB* sp.M14**	5.3	200±10	4.50	14	240±10	4.64
15.	***LAB* sp.M15**	18	110±20	5.10	20	130±20	5.43
16.	***LAB* sp.M16**	6.3	100±20	5.20	18	120±20	5.62
17.	***LAB* sp.M17**	7	150±10	4.40	10	180±10	4.91
18.	***LAB* sp.M18**	22	140±10	4.90	24	170±10	5.09
19.	***LAB* sp.M19**	18	100±20	4.80	20	120±20	5.00
20.	***LAB* sp.M20**	8	130±20	5.00	12	150±10	5.21
21.	***LAB* sp.M21**	24	120±20	5.00	24	140±10	5.20
22.	***LAB* sp.M22**	5	110±20	4.80	6.3	120±10	5.00
23.	***LAB* sp.M23**	6.3	130±20	4.40	7	140±20	4.80
24.	***LAB* sp.M24**	16	110±20	3.90	18	130±10	3.80
25.	***LAB* sp.*M*25**	6	90±10	5.10	8	120±20	5.00
26.	***LAB* sp.M26**	7	95±10	4. 00	9.3	100±20	4.08
27.	***LAB* sp.M27**	7	90±10	4.88	8	100±10	4.62
28.	***LAB* sp.M28**	12	100±20	4.20	12	100±20	4.00
29.	***LAB* sp.M29**	8	70±20	5.40	10	90±20	5.40
30.	***LAB* sp.M30**	5	60±20	4.70	7	76±20	4.90
31.	***LAB* sp.M31**	6	130±20	4.40	7	140±10	5.00
32.	***LAB* sp.M32**	16	110±20	4.50	18	130±20	5.10
33.	***LAB* sp.M33**	6	90±20	5.10	8	120±20	5.10
34.	***LAB* sp.M34**	7	95±10	4.80	9	100±20	5.10
35.	***LAB* sp.M35**	18	85±10	4.40	18	92±10	4.10
36.	***LAB* sp.M36**	15	90±20	5.00	17	100±20	4.30

Աղյուսակ 6-ի շարունակությունը

37.	***LAB* sp.M37**	20	87±1	5.00	24	100±20	4.40
38.	***LAB* sp.M38**	20	60±2	4.80	22	88±10	4.50
39.	***LAB* sp.M39**	7	70±3	5.00	10	85±10	4.10
40.	***LAB* sp.M40**	20	58±1	4.10	20	75±10	4.00
41.	***LAB* sp.M41**	6	65±1	4.24	8	80±20	4.10
42.	***LAB* sp.M42**	6	70±3	4.42	8	90±20	4.00
43.	***LAB* sp.M43**	22	82±1	4.20	24	90±10	4.20
44.	***LAB* sp.M44**	7	78±3	4.10	12	90±20	4.20
45.	***LAB* sp.M45**	16	100±3	4.22	18	120±20	4.08
46.	***LAB* sp.M46**	20	82±1	4.80	20	90±10	4.25
47.	***LAB* sp.M47**	6	78±3	4.00	12	90±10	4.40
48.	***LAB* sp.M48**	20	120±3	4.60	28	135±20	4.00
49.	***LAB* sp.M49**	8	82±1	4.20	10	100±10	5.20
50.	***LAB* sp.M50**	19	128±3	5.00	22	140±20	5.00
51.	***LAB* sp.M51**	20	112±3	4.40	24	130±20	5.00
52.	***LAB* sp.M52**	8	82±1	5.20	10	90±10	4.20
53.	***LAB* sp.M53**	11	108±3	5.00	16	140±10	4.20
54.	***LAB* sp.M54**	12	92±1	4.22	22	106±10	4.00

Աղյուսակ 7.

Պանրից և մածնից անջատված ԿԹԲ-ների աճի համեմատական գնահատումը, %

№	Անջատման աղբյուր	ԿԹԲ, N	Կաթ			
			Յուղալի (3.6%)		Յուղազրկված	
			Մերման արագություն, ժամ			
			5- 10	10-24	5-10	10-24
1.	Մածուն	54	55	45	38	62
2.	Պանիր	44	45	55	31	69

Աղյուսակ 7-ում ամփոփված տվյալները ցույց են տալիս, որ մածնի նմուշներից անջատված ԿԹԲ-ների 55%-ը խմորում են յուղալի (3.6%) կաթը մինչև 10 ժամ տևողությամբ, իսկ յուղազրկված կաթի դեպքում՝ 38%-ը: Աղի պանրի նմուշներից անջատված ԿԹԲ-ները խմորում են յուղալի (3.6%) կաթը՝ մինչև 10 ժամ տևողությամբ 45%, իսկ յուղազրկվածը՝ 31%: Այսպիսով, մածունի և պանրի նմուշներից անջատված ԿԹԲ-ների հատկությունները ուսումնասիրելու համար ընտրվել են այն մանրէները, որոնք ունեն կաթնաթթվային բակտերաների բնորոշ հատկությունները (Գրամ-դրական, կատալազա բացասական, արգինինի և ժելատինի նկատմամբ դրական, հոմոֆերմենտատիվ), խմորում են կաթը մինչև 10 ժամ տևողությամբ:

ԳԼՈՒԽ 4. ԸՆՏՐՎԱԾ ԿԹԲ-ՆԵՐԻ ՇՏԱՄՆԵՐԻ ՊՐՈԲԻՈՏԻԿ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

4.1. ***ԿԹԲ-ների շտամների կայունությունը լեղու տարբեր խտությունների նկատմամբ***

Հայտնի է, որ միկրոօրգանիզմները, որոնք ընտրվում են որպես պրոբիոտիկներ, պետք է բավարարեն որոշակի պահանջների [Шендеров Б., 2001, ГОСТ РФ, 55577, 2013]:

Լեղու նկատմամբ կայունությունը հանդիսանում է պրոբիոտիկների հատկություններից մեկը: Լեղին պարունակում է լեղաթթուների աղեր, որոնք էմուլգացնում են ճարպերը, հիդրոլիզի ենթարկում ճարպաթթուները և ջրում լուծված միացությունները: Լեղին իրականացնում է մեծ քանակությամբ բակտերիաների ոչնչացումը բարակ աղիներում, այդ բակտերիաների բջջաթաղանթները կազմված լինելով լիպիդներից և ճարպաթթուներից, զգայուն են լեղաթթուների աղերի նկատմամբ: Աղեստամոքսային համակարգում լեղու քանակը կազմում է մոտավորապես 0.3% [Kimoto H. et al.1999]:

Ուսումնասիրվել են պանրի և մածունի նմուշներից ընտրված ԿԹԲ-ների շտամների դիմացկունությունը լեղու տարբեր խտությունների նկատմամբ՝ ըստ ընդունված մեթոդի [Wanda J. et al., 1991]: Աշխատանքում օգտագործել ենք 0.20-0.80% լեղու խտությունները (Գլուխ 2, 2.7.1.): Ստացված տվալները բերված են 8-րդ և 9-րդ աղյուսակներում, որտեղ ցույց է տրված, որ հետազոտվող ԿԹԲ-ները ցուցաբերում են տարբեր դիմացկունություն լեղու 0.20-0.80% խտությունների ազդեցությանը:

Ներկայացված տվյալներից (աղյուսակ 8) երևում է, որ աղի պանրի (N=20) նմուշներից անջատված ***LAB* sp.P1, *LAB* sp.P2, *LAB* sp.P9 *LAB* sp.P13, *LAB* sp.P25** և ***LAB* sp.P31** ԿԹԲ-ները դիմացկուն են լեղու 0.20-0.80% խտությունների ազդեցությանը: Աղյուսակ 9-ում բերված տվյալներից երևում է, որ մածունից (N=30) անջատված՝ ***LAB* sp.M2, *LAB* sp.M6, *LAB* sp.M8, *LAB* sp.M11, *LAB* sp.M14, *LAB* sp.M17, *LAB* sp.M22, *LAB***

sp.M27, *LAB* sp.M30, *LAB* sp.M42, *LAB* sp.M44, *LAB* sp.M47 կաթնաթթվային բակտերիաները ևս դիմացկուն են լեղու 0.20-0.80%-ի ազդեցությանը:

Աղյուսակ 8.

Պանրից ընտրված ԿԹԲ-ների դիմացկունությունը լեղու տարբեր խտությունների նկատմամբ (MRS, 37°C, λ=590նմ)

№	ԿԹԲ	Լեղի, %			
		0%	0.20	0.45	0.80
1.	***LAB* sp.P1**	4.50±0.2	4.50±0.2	2.40±0.2	2.40±0.2
2.	***LAB* sp.P2**	2.00±0.3	2.00±0.3	1.76±0.3	1.06±0.3
3.	***LAB* sp.P9**	2.12±0.3	1.82±0.2	1.44±0.2	1.10±0.3
4.	***LAB* sp.P13**	3.90±0.3	3.90±0.2	2.40±0.3	2.40±0.2
5.	***LAB* sp.P17**	2.88±0.2	1.88±0.3	0.72±0.3	0.44±0.3
6.	***LAB* sp.P25**	2.88±0.2	2.88±0.3	1.08±0.3	1.08±0.3
7.	***LAB* sp.P31**	3.90±0.2	3.90±0.2	2.64±0.2	2.64±0.2
8.	***LAB* sp.P32**	1.98±0.3	1.08±0.3	0.64±0.1	0.28±0.3
9.	***LAB* sp.P33**	2.60±0.4	1.08±0.3	0.60±0.3	0.58±0.1
10.	***LAB* sp.P34**	2.10±0.1	0.78±0.3	0.28±0.3	0.28±0.4
11.	***LAB* sp.P35**	3.50±0.4	2.40±0.2	0.64±0.1	0.44±0.3
12.	***LAB* sp.P36**	1.24±0.1	0.76±0.3	0.60±0.3	0,56±0.2
13.	***LAB* sp.P37**	1.32±0.3	0.78±0.2	0.60±0.3	0.32±0.2
14.	***LAB* sp.P38**	0.84±0.4	0.52±0.1	0.34±0.4	0.34±0.3
15.	***LAB* sp.P39**	0.84±0.1	0.80±0.3	0.52±0.3	0.44±0.2
16.	***LAB* sp.P40**	0.74±0.4	0.34±0.4	0.32±0.3	0.22±0.3
17.	***LAB* sp.P41**	1.04±0.1	1.02±0.1	0.34±0.4	0.34±0.3
18.	***LAB* sp.P42**	0.88±0.4	0.78±0.3	0.64±0.1	0.28±0.3
19.	***LAB* sp.P43**	1.40±0.1	0.80±0.3	0.60±0.3	0.58±0.1
20.	***LAB* sp.P44**	1.40±0.1	0.92±0.3	0.28±0.3	0.28±0.4

Նախկինում կատարված հետազոտությունները ցույց են տվել, որ 0.10-1.0% լեղին տարբեր ազդեցություն ունի հետազոտվող մածունի և աղի պանրի նմուշներից մեկուսացված ԿԹԲ-ների շտամների աճի վրա: Որոշ ԿԹԲ-ների շտամների պահպանում են իրենց հակամանրէային ակտիվությունը մինչև 1.0% լեղու ազդեցությանը [Карапетян К., 2010]:

Այսպիսով, կարելի է եզրակացնել, որ ՀՀ կաթնամթերքներից մեկուսացված ԿԹԲ-ները ավելի բարձր դիմացկունություն են ցուցաբերում մինչև 1.0% լեղու նկատմամբ, քան ԼՂՀ կաթնամթերքներից մեկուսացված ԿԹԲ-ները:

Աղյուսակ 9.

Մածունից ընտրված ԿԹԲ-ների դիմացկունությունը լեղու տարբեր խտությունների նկատմամբ (MRS, 37°C, λ =590նմ)

№	ԿԹԲ	Լեղի, %			
		0	0.20	0.45	0.80
1.	***LAB* sp.M1**	2.64±0.1	1.28±0.1	1.00±0.3	0.20±0.3
2.	***LAB* sp.M2**	2.16±0.4	1.64±0.4	1.44±0.3	1.20±0.1
3.	***LAB* sp.M4**	1.24±0.2	1.00±0.2	0.44±0.1	0.15±0.2
4.	***LAB* sp.M5**	3.00±0.4	1.64±0.4	1.36±0.3	1.08±0.3
5.	***LAB* sp.M6**	1.22±0.1	1.22±0.1	1.20±0.1	1.00±0.1
6.	***LAB* sp.M8**	2.06±0.3	1.54±0.3	1.40±0.2	1.20±0.2
7.	***LAB* sp.M11**	2.61±0.1	1.60±0.4	1.32±0.1	1.00±0.2
8.	***LAB* sp.M12**	1.12±0.1	0.96±0.3	0.64±0.3	0.48±0.3
9.	***LAB* sp.M14**	3.64±0.4	2.68±0.4	2.56±0.3	1.96±0.3
10.	***LAB* sp.M16**	1.17±0.4	0.80±0.2	0.72±0.1	0.52±0.3
11.	***LAB* sp.M17**	2.16±0.3	1.48±0.1	1.60±0.4	1.48±0.4
12.	***LAB* sp.M20**	1.20±0.4	0.86±0.2	0.88±0.2	0.60±0.3
13.	***LAB* sp.M22**	4.64±0.1	3.84±0.1	2.40±0.1	2.00±0.1
14.	***LAB* sp.M23**	1.48±0.4	0.96±0.3	0.64±0.3	0.48±0.3
15.	***LAB* sp.M25**	1.96±0.2	1.68±0.3	0.92±0.1	0.68±0.3
16.	***LAB* sp.M26**	1.12±0.4	0.64±0.4	0.52±0.3	0.44±0.3
17.	***LAB* sp.M27**	2.40±0.1	1.84±0.1	1.36±0.1	1.04±0.1
18.	***LAB* sp.M29**	1.52±0.1	0.66±0.4	0.52±0.3	0.48±0.3
19.	***LAB* sp.M30**	2.36±0.4	1.52±0.1	1.06±0.1	1.00±0.2
20.	***LAB* sp.M31**	1.52±0.1	0.84±0.3	0.64±0.1	0.38±0.1
21.	***LAB* sp.M33**	1.56±0.1	0.64±0.1	0.64±0.1	0.46±0.2
22.	***LAB* sp.M34**	1.60±0.4	0.80±0.2	0.64±0.2	0.44±0.1
23.	***LAB* sp.M39**	2.68±0.1	0.72±0.4	0.60±0.3	0.58±0.1
24.	***LAB* sp.M41**	2.40±0.3	0.72±0.2	0.72±0.1	0.60±0.3
25.	***LAB* sp.M42**	4.64±0.2	3.32±0.1	3.00±0.3	2.64±0.1
26.	***LAB* sp.M44**	4.90±0.2	3.80±0.2	3.64±0.4	2.40±0.3
27.	***LAB* sp.M47**	3.50±0.4	2.08±0.1	1.92±0.3	1.02±0.1
28.	***LAB* sp.M49**	2.50±0.3	2.24±0.3	1.48±0.1	0.72±0.4
29.	***LAB* sp.M50**	2.67±0.1	1.40±0.3	1.00±0.3	0.76±0.1
30.	***LAB* sp.M52**	1.56±0.3	0.96±0.1	0.44±0.3	0.20±0.3

Այսպիսով ընտրված ԿԹԲ-ների շտամները ցուցաբերում են տարբեր դիմացկունություն լեղու տարբեր խտությունների ազդեցությանը:

4.2. ***ԿԹԲ-ների շտամների կայունությունը pH-ի տարբեր արժեքներում***

Հայտնի է, որ պրոբիոտիկները պետք է դիմացկուն լինեն և պահպանեն իրենց կենսունակությունը pH-ի տարբեր տիրույթներում, որպեսզի անվնաս շարժվեն աղեստամոքսային համակարգով, որտեղ pH-ի ցուցանիշները տատանվում են 2-9 տիրույթներում [Kimoto H. et al., 1999]: Ուսումնասիրությունների համար պանրի նմուշներից մեկուսացված ԿԹԲ-ներից ընտրվել են այն ԿԹԲ-ները, որոնք դիմացկունություն են ցուցաբերել լեղու տարբեր խտությունների ազդեցությանը: Ստուգվել են ընտրված ԿԹԲ-ների դիմացկունությունը pH-ի տարբեր արժեքներում ըստ հաստատուն մեթոդի (գլուխ 2, 2.7.2.): Ստացված արդյունքները ներկայացված են աղյուսակներ 10 և 11-ում և նկար 1-ում:

Աղյուսակ 10.

Պանրից ընտրված ԿԹԲ-ների դիմացկունությունը pH-ի տարբեր տիրույթներում
(MRS, 37°C, 24 ժ, λ =590նմ)

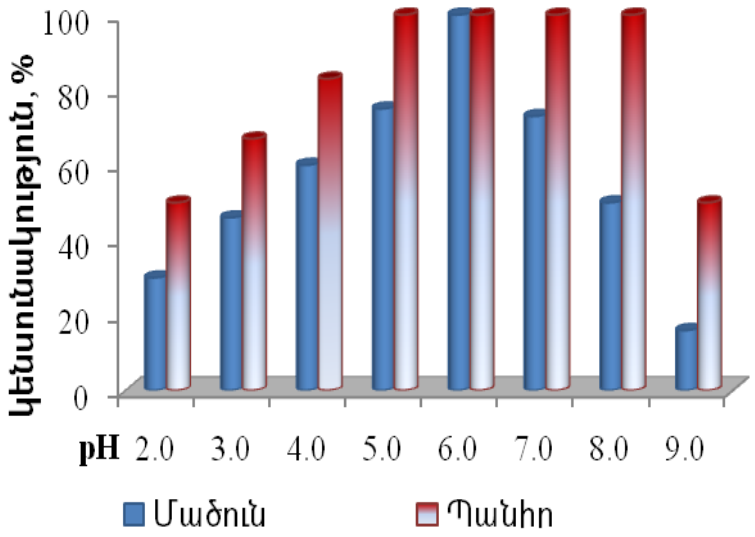
№	ԿԹԲ	Միջավայրի pH						
		3.0	4.0	5.0	6.0 Ստուգիչ	7.0	8.0	9.0
1.	***LAB* sp.P1**	1.90±0.2	2.00±0.2	2.86±0.1	3.16±0.2	2.04±0.1	2.00±0.1	1.68±0.2
2.	***LAB* sp.P2**	1.08±0.1	1.36±0.1	1.44±0.3	1.98±0.3	1.64±0.2	1.44±0.2	1.16±0.1
3.	***LAB* sp.P9**	2.24±0.1	2.64±0.2	2.84±0.2	3.48±0.1	3.00±0.1	2.12±0.1	2.00±0.1
4.	***LAB* sp.P13**	2.84±0.2	3.00±0.1	3.06±0.2	3.30±0.3	2.84±0.3	2.62±0.1	2.60±0.2
5.	***LAB* sp.P25**	1.38±0.3	1.60±0.2	1.84±0.1	2.48±0.1	1.80±0.2	2.04±0.2	3.54±0.3
6.	***LAB* sp.P31**	1.44±0.2	1.48±0.2	1.80±0.2	1.98±0.1	1.90±0.3	1.80±0.2	1.54±0.2

Աղյուսակ 11.

Մածունից ընտրված ԿԹԲ-ների դիմացկունությունը pH-ի տարբեր տիրույթներում (MRS, 37°C, 24ժ, λ=590նմ)

№	ԿԹԲ	Միջավայրի pH						
		3.0	4.0	5.0	6.0 Ստուգիչ	7.0	8.0	9.0
1.	***LAB* sp.M1**	2.44±0.1	2.44±0.1	2.82±0.2	3.16±0.1	2.24±0.1	2.20±0.1	1.00±0.1
2.	***LAB* sp.M2**	1.52±0.1	1.64±0.2	1.72±0.3	1.98±0.3	1.98±0.1	1.64±0.3	1.60±0.3
3.	***LAB* sp.M4**	1.64±0.2	2.20±0.2	2.76±0.1	4.48±0.3	2.40±0.3	2.30±0.3	2.00±0.1
4.	***LAB* sp.M5**	1.28±0.3	1.52±0.2	1.56±0.3	1.98±0.2	1.24±0.1	1.02±0.1	0.84±0.3
5.	***LAB* sp.M6**	1.12±0.3	1.14±0.2	1.16±0.2	2.42±0.1	1.24±0.2	1.12±0.2	1.00±0.1
6.	***LAB* sp.M8**	1.13±0.2	1.20±0.4	1.22±0.1	2.00±0.2	0.38±0.1	0.14±0.3	0.12±0.4
7.	***LAB* sp.M11**	1.16±0.1	1.30±0.2	1.28±0.4	2.64±0.1	0.90±0.1	0.80±0.2	0.80±0.4
8.	***LAB* sp.M12**	1.16±0.1	1.16±0.2	1.36±0.1	1.92±0.1	1.36±0.4	0.56±0.1	0.15±0.3
9.	***LAB* sp.M14**	2.64±0.3	2.80±0.1	3.00±0.2	3.36±0.1	3.32±0.3	2.92±0.1	2.00±0.1
10.	***LAB* sp.M16**	0.44±0.1	0.86±0.2	1.04±0.2	2.40±0.3	1.98±0.4	1.00±0.3	0.84±0.2
11.	***LAB* sp.M17**	1.00±0.2	1.16±0.1	1.16±0.1	2.82±0.3	1.90±0.2	1.90±0.3	1.86±0.2
12.	***LAB* sp.M20**	1.14±0.2	1.15±0.1	1.20±0.2	1.48±0.4	0.80±0.2	0.75±0.1	0.30±0.3
13.	***LAB* sp.M22**	2.20±0.3	2.22±0.2	2.42±0.1	3.96±0.4	3.90±0.3	2.76±0.1	2.60±0.4
14.	***LAB* sp.M23**	1.12±0.2	1.12±0.1	1.14±0.3	2.88±0.3	1.19±0.4	1.20±0.3	0.90±0.1
15.	***LAB* sp.M25**	1.22±0.3	1.24±0.1	1.24±0.2	2.40±0.3	1.12±0.1	0.82±0.3	0.50±0.1
16.	***LAB* sp.M26**	1.20±0.1	1.20±0.1	1.00±0.1	2.76±0.2	1.90±0.3	1.00±0.1	0.86±0.2
17.	***LAB* sp.M27**	1.12±0.4	1.13±0.2	1.40±0.1	2.52±0.1	1.90±0.1	1.36±0.2	0.38±0.2
18.	***LAB* sp.M29**	1.24±0.3	1.26±0.4	1.28±0.4	2.52±0.4	1.60±0.4	0.72±0.3	0.64±0.3
19.	***LAB* sp.M30**	1.00±0.1	1.24±0.1	1.32±0.1	1.56±0.1	0.90±0.3	0.68±0.1	0.60±0.2
20.	***LAB* sp.M31**	1.28±0.4	1.32±0.2	1.48±0.4	2.00±0.3	1.68±0.1	1.20±0.1	0.72±0.1
21.	***LAB* sp.M33**	1.12±0.3	1.30±0.2	1.32±0.1	2.00±0.1	1.60±0.1	0.96±0.4	0.60±0.3
22.	***LAB* sp.M34**	1.24±0.1	1.28±0.1	1.28±0.4	1.40±0.4	1.06±0.4	0.96±0.3	0.28±0.1
23.	***LAB* sp.M39**	1.08±0.1	1.14±0.4	1.20±0.3	1.36±0.3	0.64±0.2	0.40±0.1	0.18±0.1
24.	***LAB* sp.M41**	1.22±0.1	1.28±0.4	1.40±0.3	1.48±0.1	0.64±0.3	0.64±0.2	0.58±0.2
25.	***LAB* sp.M42**	3.10±0.2	3.16±0.1	3.86±0.1	5.10±0.2	3.04±0.3	3.00±0.1	2.64±0.2
26.	***LAB* sp.M44**	3.04±0.2	3.24±0.1	3.64±0.3	4.04±0.2	3.12±0.1	2.24±0.3	2.10±0.1
27.	***LAB* sp.M47**	0.40±0.4	0.48±0.2	0.60±0.3	1.64±0.1	1.00±0.1	0.84±0.1	0.32±0.4
28.	***LAB* sp.M49**	1.20±0.1	1.24±0.2	1.24±0.1	1.68±0.3	1.00±0.4	0.96±0.2	0.68±0.1
29.	***LAB* sp.M50**	1.14±0.3	1.28±0.2	1.44±0.2	1.64±0.1	1.02±0.1	0.98±0.2	0.28±0.3
30.	***LAB* sp.M52**	1.40±0.1	1.82±0.3	2.52±0.1	2.86±0.1	2.16±0.2	1.98±0.1	1.40±0.3

Աղյուսակ 11-ի տվյալներից մածնից անջատված ԿԹԲ-ների կենսունակությունը տարբերվում է պանրից մեկուսացված ԿԹԲ-ներից: համեմատական տվյալները ներկայացված են նկար 1-ում:



Նկար 1. ԿԹԲ-ների համեմատական դիմացկունությունը կախված աճեցման միջավայրի pH-ից

Ինչպես երևում է բերված նկարից, պանրի նմուշներից ընտրված ԿԹԲ-ները պահպանում են իրենց կենսունակությունը pH-ի ավելի լայն տիրույթում (pH 5.0-8.0), քան մածունի նմուշներից անջատված ԿԹԲ-ները, որոնք դիմացկուն են pH-ի 5.0-6.0 պայմաններում:

Այսպիսով, պանրի և մածունի տարբեր նմուշներից մեկուսացված ԿԹԲ-ների շտամները, ըստ ստացված տվյալների կարող են ունենան տարբեր ցեղային պատկանելիություն:

4.3. ***ԿԹԲ-ների շտամների կայունությունը պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների նկատմամբ***

Պրոբիոտիկ հատկությունների ուսումնասիրության համար մեծ նշանակություն ունի ԿԹԲ-ների կայունությունը պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների նկատմամբ [Шендеров Б., 2012]: Ստուգվել է ընտրված ԿԹԲ-ների կայունությունը պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների (տրիպսին, պեպսին, պրոտեինազ K) ազդեցությամբ (գլուխ 2, 2.7.3.), որի տվյալները ներկայացված են աղյուսակ 12-ում:

Աղյուսակ 12.

Մածնի և պանրի նմուշներից ընտրված ԿԹԲ-ների աճը պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների ազդեցությամբ (MRS, 37 °C, 24 ժ, λ=590 նմ)

№	ԿԹԲ	Ստուգիչ	Պրոտեոլիտիկ ֆերմենտներ		
			Տրիպսին	Պեպսին	Պրոտեի նազ K
1.	***LAB* sp.P1**	2.72±0.1	0.26±0.3	1.86±0.2	0.96±0.2
2.	***LAB* sp.P2**	2.60±0.4	0.96±0.2	0.72±0.1	1.88±0.3
3.	***LAB* sp.P9**	3.56±0.1	1.22±0.1	1.60±0.4	0.96±0.1
4.	***LAB* sp.P13**	3.60±0.2	1.64±0.1	1.64±0.2	2.00±0.1
5.	***LAB* sp.P25**	1.88±0.3	1.04±0.2	0.66±0.4	0.75±0.2
6.	***LAB* sp.P31**	2.96±0.1	1.06±0.2	0.72±0.1	0.81±0.3
7.	***LAB* sp.M1**	2.83±0.3	1.50±0.3	0.44±0.2	1.00±0.1
8.	***LAB* sp.M2**	3.16±0.4	0.56±0.3	1.38±0.4	0.66±0.2
9.	***LAB* sp.M4**	1.48±0.1	0.52±0.3	0.64±0.4	1.08±0.3
10.	***LAB* sp.M5**	3.12±0.3	0.66±0.3	0.54±0.3	1.12±0.1
11.	***LAB* sp.M6**	3.12±0.4	0.38±0.2	1.62±0.4	1.48±0.2
12.	***LAB* sp.M8**	3.16±0.3	0.75±0.2	0.54±0.1	0.64±0.1
13.	***LAB* sp.M11**	3.32±0.4	0.81±0.3	0.60±0.4	0.54±0.3
14.	***LAB* sp.M12**	3.36±0.1	1.86±0.1	0.92±0.3	1.62±0.4
15.	***LAB* sp. M14**	2.64±0.4	1.84±0.2	1.92±0.1	1.96±0.1
16.	***LAB* sp.M16**	1.20±0.2	0.32±0.3	0.40±0.1	0.84±0.2
17.	***LAB* sp.M17**	2.00±0.4	1.12±0.2	1.32±0.2	0.96±0.1
18.	***LAB* sp.M20**	2.64±0.1	1.02±0.1	0.72±0.1	0.86±0.1
19.	***LAB* sp.M22**	2.88±0.2	1.96±0.1	2.12±0.2	1.82±0.3
20.	***LAB* sp.M23**	1.12±0.1	0.66±0.3	0.32±0.1	0.36±0.1
21.	***LAB* sp.M25**	2.76±0.3	1.52±0.3	1.32±0.4	1.00±0.3
22.	***LAB* sp.M26**	3.48±0.3	1.08±0.3	1.32±0.3	0.98±0.1
23.	***LAB* sp.M27**	2.20±0.4	1.44±0.1	0.68±0.4	0.44±0.3
24.	***LAB* sp.M29**	2.96±0.4	1.40±0.3	0.60±0.4	1.44±0.2

Աղյուսակ 12-ի շարունակություն

25.	***LAB* sp.M30**	1.24±0.4	0.56±0.2	1.76±0.2	1.24±0.3
26.	***LAB* sp.M31**	1.36±0.4	0.98±0.3	1.02±0.1	1.16±0.2
27.	***LAB* sp.M33**	2.78±0.4	0.62±0.1	1.96±0.1	1.64±0.1
28.	***LAB* sp.M34**	2.54±0.3	1.56±0.2	1.89±0.1	0.92±0.1
29.	***LAB* sp.M39**	2.84±0.4	1.60±0.3	0.60±0.4	1.88±0.3
30.	***LAB* sp.M41**	1.96±0.3	1.60±0.2	0.88±0.2	0.40±0.3
31.	***LAB* sp.M42**	3.96±0.1	1.86±0.3	2.00±0.4	1.92±0.1
32	***LAB* sp. M44**	3.72±0.2	2.60±0.3	2.08±0.2	2.00±0.3
33.	***LAB* sp.M47**	3.60±0.2	0.20±0.1	0.88±0.2	0.96±0.1
34.	***LAB* sp.M49**	2.68±0.4	0.92±0.1	1.64±0.1	1.04±0.3
35.	***LAB* sp.M50**	2.72±0.1	1.38±0.2	0.60±0.2	1.24±0.2
36.	***LAB* sp.M52**	2.64±0.3	0.32±0.3	0.92±0.4	0.62±0.3

Ինչպես երևում է աղյուսակ 12-ի տվյալներից ԿԹԲ-ների շտամներից 23-ը ցուցաբերում են կայունություն տրիպսին, 17-ը՝ պեպսին, իսկ 19-ը պրոտեինազ K ֆերմենտների նկատմամբ: Ըստ ստուգիչի պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների նկատմամբ ավելի բարձր ցուցանիշներ դրսևորել են պանրից մեկուսացված ***LAB* sp.P13** և մածունից մեկուսացված ***LAB* sp.M14, *LAB* sp.M22, *LAB* sp.M42** և ***LAB* sp.M44** ԿԹԲ-ները:

Այսպիսով հետագա աշխատանքների համար ընտրվել են այն ԿԹԲ-ները, որոնք դիմացկուն են լեղու տարբեր խտությունների, տարբեր pH-ի և պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների ազդեցության նկատմամբ:

4.4. ***ԿԹԲ-ների շտամների կայունությունը NaCl-ի տարբեր խտությունների նկատմամբ***

ԿԹԲ-ները հակասթրեսային ազդեցությունը ուսումնասիրելու համար որոշվել են անջատված ԿԹԲ-ների դիմացկունությունը NaCl-ի տարբեր խտությունների հանդեպ: Ուսումնասիրվել է մինչև 6.0% NaCl-ի խտությունների նկատմամբ՝ ըստ հաստատուն մեթոդի (գլուխ 2, 2.7.4.): Ստացված արդյունքները ներկայացված են 13-րդ աղյուսակում:

Աղյուսակ 13.

Ընտրված ԿԹԲ-ների դիմացկունությունը NaCl-ի տարբեր խտությունների հանդեպ (MRS, 37°C, 24ժ, λ=590 նմ)

№	ԿԹԲ	NaCl, %			
		0	2	4	6
1.	***LAB* sp.P1**	3.42±0.2	2.92±0.2	2.65±0.3	1.48±0.2
2.	***LAB* sp.P2**	2.28±0.1	1.82±0.1	1.76±0.2	1.42±0.1
3.	***LAB* sp.P9**	3.00±0.2	1.80±0.2	0.50±0.2	0.40±0.2
4.	***LAB* sp.P13**	3.50±0.1	2.66±0.1	2.50±0.2	2.06±0.2
5.	***LAB* sp.P25**	2.67±0.2	2.28±0.4	1.98±0.3	1.60±0.1
6.	***LAB* sp.P31**	3.00±0.3	2.52±0.4	2.48±0.2	2.08±0.4
7.	***LAB* sp.M1**	2.32±0.3	1.92±0.2	1.54±0.3	1.32±0.4
8.	***LAB* sp.M2**	1.20±0.2	1.20±0.4	1.00±0.2	0.82±0.2
9.	***LAB* sp.M4**	3.50±0.4	3.24±0.3	3.00±0.3	2.60±0.1
10.	***LAB* sp.M6**	1.20±0.2	1.00±0.2	1.00±0.1	0.64±0.4
11.	***LAB* sp.M8**	2.64±0.3	2.00±0.2	1.64±0.2	1.00±0.2
12.	***LAB* sp.M12**	2.20±0.3	2.00±0.3	1.82±0.3	0.50±0.4
13.	***LAB* sp.M14**	4.00±0.1	3.82±0.4	3.64±0.1	3.00±0.2
14.	***LAB* sp.M17**	1.98±0.4	1.50±0.1	1.00±0.2	0.50±0.4
15.	***LAB* sp.M22**	3.50±0.4	2.90±0.4	2.50±0.3	2.00±0.4
16.	***LAB* sp.M25**	1.50±0.4	1.00±0.3	0.60±0.1	0.32±0.1
17.	***LAB* sp.M29**	1.16±0.3	0.80±0.1	0.66±0.3	0.44±0.1
18.	***LAB* sp.M30**	2.40±0.3	2.12±0.3	1.84±0.2	1.40±0.1
19.	***LAB* sp.M31**	2.10±0.2	1.30±0.1	1.00±0.3	0.32±0.2
20.	***LAB* sp.M33**	1.44±0.1	1.00±0.2	0.84±0.1	0.60±0.1
21.	***LAB* sp.M34**	1.56±0.4	0.98±0.3	0.56±0.1	0.28±0.4
22.	***LAB* sp.M39**	2.40±0.2	1.72±0.1	1.40±0.1	0.62±0.1
23.	***LAB* sp.M42**	6.00±0.3	5.04±0.4	4.64±0.2	3.92±0.2
24.	***LAB* sp.M44**	5.64±0.2	5.04±0.1	4.00±0.1	3.00±0.4
25.	***LAB* sp.M49**	3.00±0.4	2.40±0.3	2.24±0.3	2.00±0.2
26.	***LAB* sp.M50**	4.40±0.3	3.02±0.1	2.60±0.3	2.04±0.2

Աղյուսակ 13-ից երևում է, որ ԿԹԲ-ների դիմացկունությունը տատանվում է կախված NaCl-ի խտություններից: Ինչպես երևում է ներկայացված տվյալներից հետազոտվող ԿԹԲ-ների 56%-ը դիմացկուն են NaCl-ի մինչև 6.0%-ի ազդեցությանը:

4.5. ***ԿԹԲ-ների շտամների հակաօքսիդանտային ակտիվությունը***

Քանի որ պրոբիոտիկ շտամները պետք է օժտված լինեն նաև հակաօքսիդանտային ակտիվությամբ հետազոտվել են ընտրված ԿԹԲ-ների հակաօքսիդանտային ակտիվությունը:

Աղյուսակ 14.

Պանրից և մածնի նմուշներից ընտրված ԿԹԲ-ների հակաօքսիդանտային ակտիվությունը (MRS, 37 °C, 24 ժ, λ=590 նմ)

№	ԿԹԲ	ՕԽ	Հակաօքսիդանտային ակտիվություն, %
1.	***LAB* sp.P1**	2.64±0.3	50±0.1
2.	***LAB* sp.P2**	3.68±0.4	-
3.	***LAB* sp.P9**	3.56±0.1	33±0.2
4.	***LAB* sp.P13**	3.60±0.2	-
5.	***LAB* sp.P25**	1.88±0.3	33±0.1
6.	***LAB* sp.P31**	2.96±0.1	16±0.2
7.	***LAB* sp.M1**	2.64±0.3	-
8.	***LAB* sp.M2**	2.64±0.1	-
9.	***LAB* sp.M4**	2.96±0.4	50±0.1
10.	***LAB* sp.M6**	2.88±0.2	27±0.2
11.	***LAB* sp.M8**	1.12±0.1	-
12.	***LAB* sp.M12**	2.76±0.3	-
13.	***LAB* sp.M14**	3.64±0.3	35±0.1
14.	***LAB* sp.M17**	2.52±0.2	-
15.	***LAB* sp.M22**	3.84±0.3	30±0.1
16.	***LAB* sp.M25**	2.78±0.4	22±0.1
17.	***LAB* sp.M29**	2.68±0.4	70±0.2
18.	***LAB* sp.M30**	2.54±0.3	64±0.2
19.	***LAB* sp.M31**	2.84±0.4	-
20.	***LAB* sp.M33**	2.84±0.4	-
21.	***LAB* sp.M34**	2.72±0.1	-
22.	***LAB* sp.M39**	1.24±0.4	25±0.1
23.	***LAB* sp. M42**	3.96±0.1	55±0.1
24.	***LAB* sp.M44**	3.72±0.2	46±0.1
25.	***LAB* sp.M49**	2.54±0.3	40±0.2
26.	***LAB* sp.M50**	3.60±0.2	25±0.2

Ծանոթություն « - » հակաօքսիդանտային ակտիվության բացակայություն

Ըստ ընդունված մեթոդի օպտիկական խտությունը չափվում և վերահաշվարկվում է բանաձևով (Գլուխ 2, 2.7.5.): Ուսումնասիրվել են ընտրված պանրի 6 և մածունի 20 ԿԹԲ-ների շտամների հակաօքսիդանտային ակտիվությունը:

Ըստ հաստատուն մեթոդի 20%-ից բարձր հակաօքսիդանտության ցուցանիշի առկայությունը վկայում է, որ հետազոտվող ԿԹԲ-ները օժտված են հակաօքսիդանտային ակտիվությամբ: Ներկայացված տվյալները ցույց են տալիս, որ հետազոտված ընդհանուր ԿԹԲ-ից 16-ը, այսինքն՝ 61.5%-ը ունեն հակաօքսիդանտային ակտիվություն:

4.6. ԿԹԲ-ների շտամների հակամանրէային ակտիվությունը

Ֆունկցիոնալ սննդի նոր ապրանքատեսակների ստեղծման համար շատ կարևոր է ԿԹԲ-ների հիմնարար պրոբիոտիկ հատկությունների, այդ թվում նաև կաթնաթթվային մանրէների հակամանրէային ակտիվության ուսումնասիրությունը: Հետազոտվել է ԿԹԲ-ների ընտրված շտամների հակամանրէային ակտիվությունը պայմանականորեն ախտածին մանրէների նկատմամբ: Ընտրված 26 ԿԹԲ-ների հակամանրէային ակտիվության տվյալները ներկայացված են աղյուսակ 15-ում:

Ինչպես երևում է աղյուսակ 15-ի տվյալներից ընտրված 26 ԿԹԲ-ների շտամներից ոչ բոլորն ունեն հակամանրէային ակտիվություն՝ Գրամ-բացասական *Salmonella typhimurium* G-38 և Գրամ-դրական *Bacillus subtilis* G17-89 պայմանականորեն ախտածին մանրէների նկատմամբ: Հետազոտվող կաթնաթթվային բակտերիաները ցուցաբերում են տարբեր հակամանրէային ակտիվություն Գրամ- բացասական *Salmonella typhimurium* G-38 և Գրամ-դրական *Bacillus subtilis* G17-89 պայմանականորեն ախտածին մանրէների նկատմամբ: Օրինակ, *LAB* sp.P1 ԿԹԲ-ն ճնշում է *Bacillus subtilis* G17-89 մանրէի աճը, սակայն չի ճնշում *Salmonella typhimurium* G-38 մանրէի աճը: Իսկ *LAB* sp.M17 ԿԹԲ չի ճնշում *Bacillus subtilis* G17-89 մանրէի աճը: Ստացված արդյունքները ներկայացված են աղյուսակ 15-ում:

Աղյուսակ 15.

Ընտրված ԿԹԲ-ի հակամանրէային ակտիվությունը՝ (MRS, 37°C, 24 ժ)

№	ԿԹԲ	*Salmonella typhimurium* G-38	*Bacillus subtilis* G17-89
		Աճի ճնշման գոտիները, ∅ մմ	
1.	***LAB* sp.P1**	-	10±1
2.	***LAB* sp.P2**	8±1	10±1
3.	***LAB* sp.P9**	-	-
4.	***LAB* sp.P13**	13±1	15±1
5.	***LAB* sp.P25**	7±1	-
6.	***LAB* sp.P31**	12±1	10±1
7.	***LAB* sp.M1**	-	-
8.	***LAB* sp.M2**	-	-
9.	***LAB* sp.M4**	8±1	7±1
10.	***LAB* sp.M6**	8±1	5±1
11.	***LAB* sp.M8**	-	-
12.	***LAB* sp.M12**	-	-
13.	***LAB* sp.M14**	15±1	13±1
14.	***LAB* sp.M17**	11±1	-
15.	***LAB* sp.M22**	13±1	14±1
16.	***LAB* sp.M25**	10±1	8±1
17.	***LAB* sp.M29**	10±1	5±1
18.	***LAB* sp.M30**	14±1	9±1
19.	***LAB* sp.M31**	9±1	7±1
20.	***LAB* sp.M33**	5±1	10±1
21.	***LAB* sp.M34**	10±1	12±1
22.	***LAB* sp.M39**	-	-
23.	***LAB* sp.M42**	14±1	15±1
24.	***LAB* sp.M44**	12±1	13±1
25.	***LAB* sp.M49**	8±1	9±1
26.	***LAB* sp.M50**	12±1	10±1

Ծանոթություն « - » հակամանրէային ակտիվության բացակայություն

Այսպիսով, հետազոտվող մանրէներից 17-ը, այսինքն 65%-ը օժտված են հակամանրէային ակտիվությամբ՝ Գրամ- բացասական *Salmonella typhimurium* G-38 և Գրամ-դրական *Bacillus subtilis* G17-89 պայմանականորեն ախտածին մանրէների նկատմամբ:

4.7. ***ԿԹԲ-ների շտամների զգայունությունը հակաբիոտիկների նկատմամբ***

Ուսումնասիրվել են ԿԹԲ-ների շտամների զգայունությունը հակաբիոտիկների նկատմամբ: Քանի որ բուժական նպատակով օգտագործվող հակաբիոտիկները բացասաբար են անդրադառնում աղեստամոքսային համակարգում առկա ԿԹԲ-ների վրա և ֆունկցիոնալ սննդամթերքը պետք է պարունակի այնպիսի ԿԹԲ-ներ, որոնք դիմացկուն լինեն հակաբիոտիկների նկատմամբ [ГОСТ РФ 55577, 2013]: Այդ նպատակով հետազոտվել է ԿԹԲ-ների շտամների զգայունությունը բժշկության մեջ առավել հաճախ կիրառվող հակաբիոտիկների նկատմամբ: Աղյուսակ 16-ում ներկայացված է ընտրված ԿԹԲ-ների զգայունությունը հակաբիոտիկների նկատմամբ:

Աղյուսակ 16.

Ընտրված ԿԹԲ-ների զգայունությունը հակաբիոտիկների նկատմամբ (MRS, 37°C, 24 ժ)

№	ԿԹԲ	Հակաբիոտիկներ (30 մկգ), ∅ մմ				
		Ցեֆտազիդիմ	Տետրացիկլին	Ցեֆուրոկսիմ	Ամիկացին	Ցիպրոֆլոկսացին
1.	***LAB* sp.P1**	9±1	13±1	-	-	11±1
2.	***LAB* sp.P2**	11±1	10±1	-	12±1	16±1
3.	***LAB* sp.P9**	20±1	11±1	15±1	15±1	17±1
4.	***LAB* sp.P13**	25±1	10±1	14±1	10±1	7±1
5.	***LAB* sp.P25**	22±1	19±1	25±1	18±1	10±1
6.	***LAB* sp.P31**	16±1	10±1	8±1	23±1	9±1
7.	***LAB* sp.M4**	8±1	6±1	9±1	16±1	9±1
8.	***LAB* sp.M6**	-	21±1	-	7±1	15±1
9.	***LAB* sp.M14**	17±1	22±1	12±1	10±1	15±1
10.	***LAB* sp.M22**	10±1	14±1	12±1	15±1	22±1
11.	***LAB* sp.M25**	12±1	15±1	16±1	10±1	-
12.	***LAB* sp.M29**	-	35±1	-	21±1	7±1
13.	***LAB* sp.M30**	-	22±1	10±1	25±1	12±1
14.	***LAB* sp.M31**	-	21±1	-	10±1	12±1
15.	***LAB* sp.M33**	8±1	20±1	7±1	7±1	11±1
16.	***LAB* sp.M34**	-	18±1	9±1	-	-
17.	***LAB* sp.M42**	12±1	20±1	18±1	10±1	15±1
18.	***LAB* sp.M44**	12±1	12±1	15±1	10±1	10±1
19.	***LAB* sp.M49**	11±1	21±1	24±1	12±1	25±1
20.	***LAB* sp.M50**	-	11±1	-	11±1	9±1

Ծանոթություն «-» հակաբիոտիկների նկատմամբ զգայունության բացակայություն

Ըստ ընդունված հաստատուն մեթոդների (գլուխ 2, 2.7.6.) 20 մմ-ից բարձր ճնշման գոտին վկայում է, որ ԿԹԲ-ները հակաբիոտիկների նկատմամբ զգայուն են [Bauer A. et al., 1966]: Ելնելով ստացված տվյալներից հետագա հետազոտությունների համար ընտրվել են հետևյալ ԿԹԲ-ների շտամները՝ ***LAB* sp.M14, *LAB* sp.M22, *LAB* sp.M42, *LAB* sp.M44** և ***LAB* sp.P13**, որոնք դիմացկուն են հակաբիոտիկների նկատմամբ և բավարարում են պրոբիոտիկ մանրէներին բնորոշ որոշակի պահանջների:

4.8. ***ԿԹԲ-ների շտամների ադհեզիվ հատկությունները***

Հայտնի է, որ պրոբիոտիկ շտամները պետք է օժտված լինեն նաև ադհեզիվ հատկությամբ, այսինքն կպչեն աղեստամոքսային համակարգի լորձաթաղանթին՝ մինչև առավելագույն դրական ներգործության հասցնելը [Шендеров Б., 2012]: Այդ նպատակով նախնական ընտրված 5 ԿԹԲ-ների շտամները՝ ***LAB* sp.M14, *LAB* sp.M22, *LAB* sp.M42, *LAB* sp.M44** և ***LAB* sp.P13** ուղղարվել են Երևանի Պետական Համալսարանի Կենսաբանության ֆակուլտետի մանրէաբանության, բույսերի և մանրէների կենսատեխնոլոգիայի ամբիոն՝ ադհեզիայի հատկությունը ուսումնասիրելու համար: Ստացած արդյունքները ցույց են տվել, որ ոչ բոլոր ընտրված ԿԹԲ-ները ունեն ադհեզիվ հատկություններ: Ադհեզիան ավելի արտահայտիչ ցուցաբերվում է ***LAB* sp.M42** և ***LAB* sp.M44** ԿԹԲ-ների շտամների մոտ:

Հետազոտությունների արդյունքում մածնի և պանրի տարբեր նմուշներից մեկուսացված 98 ԿԹԲ-ներից՝ հետագա աշխատանքների համար ընտրվել են 5 ԿԹԲ-ների շտամներ, որոնք բավարարում են պրոբիոտիկ միկրոօրգանիզմների հանդեպ սահմանված հիմնական պահանջներին:

ԿԹԲ-ների շտամների որոշ պրոբիոտիկ հատկությունների տվյալները ամփոփված են աղյուսակ 17-ում:

Աղյուսակ 17.

Ընտրված ԿԹԲ-ների որոշ պրոբիոտիկ հատկությունները

Հատկությունները	ԿԹԲ				
	***L.jensenii* M14**	***Ent.faecium* M22**	***Ent.durans* M42**	***Ent.durans* M44**	***Ent.durans* P13**
Կայունությունը ֆերմենտների (տրիպսին, պեպսին, տրոտեինազ K) նկատմամբ, (%)	34	42	58	41	35
Կայունությունը լեղու (0.20-0.80%) նկատմամբ, (%)	54	27	62	56	72
Կայունությունը pH-ի (3.0-9.0) նկատմամբ, (%)	30	60	40	45	25
Հակաօքսիդանտային ակտիվություն, (%)	20	50	40.5	20	100
Պրոտեոլիտիկ ակտիվություն	-	-	+	+	+
Կայունություն NaCl-ի (2.0-6.0%) նկատմամբ , (%)	65	35	55	45	25
Կայունությունը հակաբիոտիկների նկատմամբ,(%)	50	45	80	60	55
Ադհեզիվ հատկություն	+	+	+	+	+
Հակամանրէային ակտիվություն *B.subtilils* G17-89, *Salm.typhimurium* G38	+	+	+	+	+
Կայունությունը ֆերմենտների (տրիպսին, պեպսին, տրոտեինազ K) նկատմամբ, (%)	+	+	+	+	+

Ծանոթություն « + » ակտիվության առկայություն

Այսպիսով, վերլուծելով ընտրված ԿԹԲ-ների որոշ պրոբիոտիկ հատկությունները՝ ընտրվել են պանրի նմուշներից մեկուսացված՝ ***LAB* sp.P13** և մածնի նմուշներից մեկուսացված՝ ***LAB* sp.M14, *LAB* sp.M22, *LAB* sp.M42, *LAB* sp.M44** ԿԹԲ-ների շտամները, որոնք ցուցաբերում են որոշ պրոբիոտիկ հատկություններ և կարող են կիրառվել հետագա ուսումնասիրությունների համար՝ որպես օբյեկտներ նոր ֆունկցիոնալ սննդամթերքներ ստանալու համար:

Ներկայումս բազմաթիվ հետազոտություններ են կատարվում, որոնք ուղղված են մարդուց կամ խմորված կաթնամթերքներից մեկուսացված շտամներից պրոբիոտիկ հատկություններով օժտված լակտոբացիլների հայտնաբերմանը [Heilig H. et al., 2002]: Այս նպատակով անհրաժեշտ է լակտոբացիլների նույնականացման համար արագ և արդյունավետ մեթոդների կիրառումը: Կենսաքիմիական և ֆիզիոլոգիական

հետազոտությունները և բավարար չեն նույնատիպ հատկություններով օժտված մեկուսացված բազմաթիվ բակտերիաների միջտեսակային տարբերակման համար: Այժմ լակտոբացիլների տեսակային նույնականացման, ներտեսակային դասակարգման համար կիրառվում են մոլեկուլային կենսաբանության արագ և արդյունավետ ժամանակակից մեթոդներ, ինչպես օրինակ, ԴՆԹ-ի սեկվենավորումը, ճարպաթթուների անալիզը, ռ-ՌՆԹ գեների սեկվենավորումը, 16S ռ-ԴՆԹ-ի կամ 23S ռ-ԴՆԹ-ի թիրախային պրայմերների կիրառմամբ ԴՆԹ բազմակի շղթայական ռեակցիաները (PCR), GS-PCR, Randomly amplified polymorphic PCR-RAPD PCR, Multiplex PCR և այլն [Hyuk-Sang K. et al., 2004]:

Մեր կողմից ընտրված ԿԹԲ-ների շտամների նույնականացման համար կիրառվել է 16S ռ-ՌՆԹ գենի սեկվենավորման եղանակը: Որոշ պրոբիոտիկ հատկություններով ընտրված ԿԹԲ-ների ԴՆԹ-ն անջատվել և այնուհետև ուղղարկվել է Հարավային Կորեայի «MACROGEN» ընկերություն՝ նուկլեինաթթվային հաջորդականությունն որոշելու համար: Ստացված հաջորդականություններն համեմատվել են BLAST sequencing (ԱՄՆ) տվյալների բազայում գրանցված էտալոնային շտամների հաջորդականությունների հետ, և նույնականացման արդյունքները ներկայացված են աղյուսակ 18–ում:

Աղյուսակ 18.

Ընտրված ԿԹԲ-ների նույնականացման տվյալները

ԿԹԲ-ների շտամներ	Կարգաբանական Խումբ	Համատեղելիություն,%	Մեկուսացման աղբյուր
***LAB* sp.P13**	*Enterococcus durans*	98.0	Աղի պանիր
***LAB* sp.M14**	*Lactobacillus jensenii*(?)	88.0	Մածուն
***LAB* sp.M22**	*Enterococcus faecium*	100.0	Մածուն
***LAB* sp.M42**	*Enterococcus durans*	96.0	Մածուն
***LAB* sp.M44**	*Enterococcus durans*	98.0	Մածուն

Նույնականացման տվյալները բերված են հավելված 5-10-ում:

Հետազոտական աշխատանքների արդյունքերի հիման վրա ընտրված և նույնականացված ԿԹԲ-ների շտամները ավանդադրված են ՀՀ ԳԱԱ «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ի «Մանրէների ավանդադրման կենտրոն»-ում՝ համապատասխան համարների և ծածկագրերի տակ՝

Lactobacillus jensenii M14- MDC 9634

Enterococcus durans P13- MDC 9635

Enterococcus durans M42- MDC 9636

Enterococcus durans M44 - MDC 9637

Enterococcus faecium M22- MDC 9638

Համեմատելով նույնականացման տվյալները «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ի Միկրոբային պատրաստուկների լաբորատորայում հետազոտված՝ պանրի և մածունի նմուշներից մեկուսացված 140 ԿԹԲ-ների հետ՝ նույն եղանակով նույնականացվել են հակամանրէային հատկություններով 9 ԿԹԲ-ներ, որոնցից մեծ մասը պատկանում են *Lactobacillus* ցեղին [Карапетян К., 2010]: Մինչ դեռ ԼՂՀ կաթնամթերքներից անջատված ԿԹԲ-ները պատկանում են *Enterococcus* ցեղին: Հայտնի է, որ *Enterococcus* ցեղին պատկանող մանէները ճնշում են *Heliobacter pylori* մանրէի աճը և ունեն սիմբիոտիկ փոխհարաբերություններ *Lactobacillus, Lactococcus և Bifidobacterium* ցեղի ներկայացուցիչների հետ [Суворов А. и др., 2014]: Ենթադրվում է, որ հետազոտված *Enterococcus* ցեղի և տարբեր ցեղերի մանրէները համակցություններով կարելի է օգտագործել նոր ֆունկցիոնալ սննդամթերքի ստացման համար:

Այսպիսով, ԼՂՀ-ի կաթնամթերքներից ընտրված հակամանրէային հատկություններով ԿԹԲ-ների ցեղային և տեսակային կազմը տարբերվում է ՀՀ կաթնամթերքներից անջատված ԿԹԲ-ներից:

Համեմատելով Հայաստանի, Վրաստանի և ԼՂ Հանրապետությունների կաթնամթերքներից մեկուսացված ԿԹԲ-ները հեղինակները եզրակացրել են, որ ԼՂՀ կաթնամթերքներից անջատված ԿԹԲ-ները էապես տարբերվում են իրարից և առանձին խումբ են կազմում [Bokulich N. et al., 2015]: Մեր կողմից ստացված տվյալները համընկնում են այդ հեղինակների կատարված եզրահանգումներին:

ԳԼՈՒԽ 5. ԸՆՏՐՎԱԾ ԿԹԲ-ՆԵՐԻ ՀԱՄԱԿՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԻ ՍՏԵՂԾՈՒՄԸ

5.1. ***ԿԹԲ-ների շտամների համակցությունների աճեցումը կաթի տարբեր նմուշներում (պաստերիզացված, մանրէազերծված, յուղալի, յուղազրկված) և համակցությունների ընտրում***

Ներկայումս նոր ֆունկցիոնալ սննդամթերքներ ստանալու համար մեծ նշանակություն ունի մերանային շտամների պրոբիոտիկ հատկությունների ուսումնասիրությունը: Սակայն կարևոր են նաև տեխնոլոգիական ցուցանիշները՝ մերման արագությունը, թթվայնությունը, օրգանոլեպտիկ հատկությունները:

Ներկայումս նոր ֆունկցիոնալ սննդամթերք ստանալու համար օգտագործվում են մեկից ավելի ԿԹԲ-ներ: Հայտնի է, որ ԿԹԲ-ները համակցություններում աճելու ժամանակ կարող է տեղի ունենա սիներգիզմի և անտոգոնիզմի փոխհարաբերություններ: ԿԹԲ-ները համակցություններում աճելու ժամանակ կարող են փոփոխության ենթարկվել տեխնոլոգիական պարամետրերի ցուցանիշները [Шендеров Б., 2002]:

Մեր կողմից կազմվել են մեկուսացված որոշ պրոբիոտիկ հատկություններով ԿԹԲ-ների տարբեր համակցություններ և աճեցվել կաթի մեջ: Այնուհետև ստուգվել են կաթի մերման ժամանակը և թթվայնությունը, որի տվյալները բերված են աղյուսակ 19-ում: Ինչպես երևում է բերված տվյալներից որոշ համակցություններով աճեցված ԿԹԲ-ները, հատկապես պրոբիոտիկ հատկություններով ընտրված՝ ***LAB* sp.M14, *LAB* sp.M22, *LAB* sp.M42, *LAB* sp.M44** և ***LAB* sp.P13** ԿԹԲ-ները խմորում են կաթը ավելի կարճ ժամանակում, քան մյուսները:

Աղյուսակ 19.

Մածնից անջատված որոշ ԿԹԲ-ների համակցությունների աճեցումը.

(անարատ կաթ, 37 °C)

№	ԿԹԲ	Ժամ	°T
1.	***L.jensenii* M14+ *Ent. faecium* M22**	5	55±10
2.	***L.jensenii* M14+ *LAB* sp.M25**	7.3	60±10
3.	***L.jensenii* M14+ *LAB* sp.M6**	8	62±10
4.	***L.jensenii* M14+*Ent.durans* P13**	5	67±20
5.	***L.jensenii* M14+ *LAB* sp.P31**	10	87±10
6.	***Ent. faecium* M22+ *LAB* sp.M2**	5	58±10
7.	***Ent.faecium* M22+ *LAB* sp.M6**	7.3	77±20
8.	***Ent. faecium* M22+ *Ent.durans* P13**	5	70±10
9.	***Ent. faecium* M22+ *LAB* sp.P31**	8	75±20
10.	***LAB* sp.M25+ *LAB* sp.M50**	8	66±10
11.	***Ent.durans* P13+*LAB* sp.M30**	8.3	72±20
12.	***LAB* sp.M25+ *LAB* sp.P31**	10	82±10
13.	***Ent.durans* P13+*LAB* sp.M39**	10	80±10
14.	***LAB* sp.M2+ *LAB* sp.P31**	10	80±20
15.	***Ent.durans* M42+*LAB* sp.M31**	4	58±10
16.	***LAB* sp.M41+ *LAB* sp.M43**	4	55±10
17.	***Ent.durans* M44+LAB sp.M41**	5	70±10
18.	***LAB* sp.M33+ *LAB* sp.M31**	6	61±10
19.	***LAB* sp.M34+ *LAB* sp.M50**	7	82±10
20.	***Ent.durans* M42+ *Ent.durans* P13**	7	43±10
21.	***Ent.durans* M42+ *L.jensenii* M14**	5	55±20
22.	***Ent.durans* M42+ *Ent. durans* M44**	6	60±20
23.	***Ent.durans* M42+*LAB* sp.M49**	4.3	80±20
24.	***Ent.durans* M42+*LAB* sp.M50**	5.3	45±10
25.	***Ent. durans* M44+ *Ent.durans* P13**	8	60±10
26.	***LAB* sp.M33+ *LAB* sp.M49**	8	64±10
27.	***LAB* sp.M34+ *LAB* sp.M6**	9	66±20
28.	***Ent. durans* M44+ *L.jensenii* M14**	6	75±20
29.	***Ent. durans* M44+*LAB* sp.M25**	7	70±10
30.	***Ent. durans* M44+*LAB* sp.M45**	6	75±10

Ֆունկցիոնալ սննդի ստեղծման համար մեծ նշանակություն ունի պրոբիոտիկ հատկություններով ԿԹԲ-ների օգտագործումը [Akabanda F. et al., 2010,

Ehsani A. et al., 2011]: Մեր կողմից ֆունկցիոնալ սննդի մերաններ ստեղծելու համար ընտրվել են այն համակցությունները, որոնք ցուցաբերում են հակամանրէային ակտիվություն և կաթը մերում են կարճ ժամանակում: Ներկայումս ֆունկցիոնալ սննդամթերք ստանալու համար որպես մերանային կուլտուրաներ օգտագործվում են ԿԹԲ-ների համակցություններ, որոնք օժտված են տեխնոլոգիական հատկություններով (մերման ժամանակ, ցածր թթվայնություն և այլն):

Ընտրված ԿԹԲ-ները՝ **առանձին** և տարբեր **համակցություններով** աճեցվել են պաստերիզացված և մանրէազերծված՝ յուղազրկված կաթի մեջ: Աճեցումից հետո ստացված կաթնամթերքը տեղափոխվել է սառնարան +4°C: Ստուգվել են նմուշների թթվայնությունը՝ 2-12 օրերի ընթացքում՝ սառնարանում պահպանելու ժամանակ:

Առանձին (№1) և տարբեր **համակցություններով** (№2) աճեցված ԿԹԲ-ների տվյալները բերված են աղյուսակ 20-ում: Համակցություններում օգտագործվող *L.jensenii* M14 ԿԹԲ շտամը նպաստում է մերման ժամանակի կրճատմանը: 12 օրվա ընթացքում առանձին և համակցություններով աճեցված ԿԹԲ-ները պահպանում են իրենց ընդհանուր թթվայնությունը մինչև 60-120°T տիրույթներում: Ստացված տվյալները համապատասխանում են կաթնամթերքների նկատմամբ Հայաստանում սահմանված պահանջներին: Համեմատելով ստացված տվյալները կարելի է նշել նաև, որ պաստերիզացված կաթում ԿԹԲ-ների թթվայնությունը տատանվում է ավելի ցածր տիրույթում:

Ստացված տվյալներից կարելի է եզրակացնել, որ ընտրված ԿԹԲ-ների **համակցությունները** աճեցման ժամանակ դրսևորում են դրական հատկություններ (մերման կարճ ժամանակ), որը կարելի է բացատրել սիներգիզմի երևույթով՝ փոխհարաբերություններ մանրէների միջև, որը բացատրվում է մանրէների կողմից սինթեզվող նյութափոխանակության արգասիքների ներգործությամբ:

Աղյուսակ 20.

Առանձին և համակցություններով ԿԹԲ-ների մերանների թթվայնության դինամիկան

№	ԿԹԲ	Յուղազրկված կաթ, 37 °C							
		Պաստերիզացված				Մանրէազերծված			
		Մերման ժամ	Թթվայնություն, °T			Մերման ժամ	Թթվայնություն, °T		
			Օր				Օր		
			2	6	12		2	6	12
1.	***L.jensenii* M14**	4	70±20	100±10	115±10	5	90±10	110±10	120±10
	***Ent.durans* M42**	7	60±20	80±20	90±10	8	80±10	85±20	120±10
	***Ent.durans* M44**	8	78±10	80±10	110±20	8	70±20	85±20	120±20
	***Ent.durans* P13**	8	60±10	68±10	85±10	8	65±10	88±10	100±10
2.	***L.jensenii* M14+ *Ent.durans* M42**	5	82±20	108±10	110±20	5	95±10	105±10	120±10
	***L.jensenii* M14 + *Ent. durans* M44**	6	88±10	98±10	112±20	5	90±10	108±10	120±10
	***Ent.durans*M42+ *Ent. durans* M44**	6	60±20	80±20	85±20	8	70±20	95±10	112±10
	***Ent.durans* P13+ *Ent.durans* M42**	7	70±20	80±20	95±10	7	73±10	87±10	110±10
	***Ent.durans* P13+ *Ent. durans* M44**	8	65±20	78±20	90±10	7	70±10	86±10	105±10

Կարելի է նաև ենթադրել, որ այս համակցություններով ստացված արգասիքը կունենա հակամանրէային ակտիվության լայն տիրույթ՝ *Bacillus* և *Salmonella* ցեղերի ներկայացուցիչների նկատմամբ: Ստացված ՎՆՀ խտանյութերի ազդեցությունը ստուգվել է *Bacillus և Salmonella* ցեղերին պատկանող ներկայացուցիչների աճի նկատմամբ (գլուխ 2, 2.2.4.): Ստացված տվյալները բերված են աղյուսակում 21-ում:

Աղյուսակ 21.

ԿԹԲ-ների ՎՆՀ-ների խտանյութերի հակամանրէային ակտիվությունը
(MRS, 48 ժամ, 37 °C)

№	ԿԹԲ	pH	*Salmonella typhimurium* G-38	*Bacillus subtilis* G17-89
			ԱՄ/մլ	ԱՄ/մլ
1.	***Ent..durans* M42**	5.0	2000	3600
		6.0	1500	1600
	***Ent. durans* M44**	5.2	1500	2400
		6.0	800	1200
	***Ent.durans* P13**	5.2	600	400
		6.0	500	400
2	***Ent.durans* P13+ *Ent. durans* M44**	5.1	1800	2700
		6.0	1000	2400
	***Ent.durans* P13+ *Ent.durans* M42**	5.3	2100	3600
		6.0	1000	1200
	***Ent. durans* M44+ *Ent.durans* M42**	5.2	500	2700
		6.0	700	1200

Հակամանրէային ակտիվությունը որոշվել է երկու pH-ի տիրույթներում՝ սկզբնական pH (pH=5.0-5.3) և pH=6.0 (չեզոքացված 40% NaOH): pH=6-ի տակ հակամանրէային ակտիվության որոշումը բացատրվում է սպիտակուցային բնույթի նյութերի առկայությամբ՝ ըստ Կլայնհայմերի [Klaenhammer T. et al.,1993]: Ինչպես երևում է 21-րդ աղյուսակից ընտրված ԿԹԲ-ները **առանձին** (№1) և **համակցություններով** (№2) աճեցման ժամանակ ՎՆՀ խտանյութերը տարբեր արդյունավետությամբ են ճնշում *Salmonella typhimurium* G-38 և *Bacillus subtilis* G17-89 մանրէների աճը: Թեստ կուլտուրաների աճը կախված pH-ից և ԿԹԲ-ների տեսակային պատկանելիության: Հակամանրէային ակտիվությունը pH=5.0-5.3 բացատրվում է նյութափոխանակության այլ արգասիքներով (կաթնաթթու, ջրածնի պերօքսիդ,

դիացետիլ և այլն), իսկ pH=6-ի տակ՝ սպիտակուցային բնույթի նյութերի առկայությամբ: ***Ent.durans* P13**-ը առանձին աճեցման ժամանակ ի տարբերություն ***Ent.durans* M44** և ***Ent.durans* M42** ցուցաբերում է ցածր հակամանրէային ակտիվություն՝ 400 ԱՄ/մլ, սակայն ***Ent.durans* P13+*Ent.durans* M44** համակցությունում հակամանրէային ակտիվությունը հասնում է 2400 ԱՄ/մլ: Բերված տվյալներից երևում է, որ ընտրված համակցություններում ԿԹԲ-ները ևս դրսևորում են հակամանրէային ակտիվություն:

Պետք է նշել, որ համատեղ աճեցման ժամանակ հակամանրէային ակտիվության կախվածությունը մանրէների տեսակներից ցույց է տրվել նաև այլ հեղինակների կողմից: Օրինակ, «Հայկենսատեխնոլոգիա» ԳԱԿ-ի Միկրոբային պատրաստուկների լաբորատորիայում ստացվել են նախնական տվյալներ և ցույց են տրվել, որ *L.plantarum* 66 և *Streptococcus termophillus* 103 մանրէները համատեղ աճեցման ժամանակ (MRS) կուլտուրալ հեղուկի հակամանրէային ակտիվությունը կազմում է 600 ԱՄ/մլ , իսկ *L.plantarum* 66 և *L. rhamnosus* 2012 մանրէների համատեղ աճեցման ժամանակ՝ հակամանրէային ակտիվությունը կազմում է 1600 ԱՄ/մլ:

Ցույց է տրված, որ ոչ բոլոր համակցություններն են ցուցաբերում հակամանրէային ակտիվություն: Պարզվել է, որ 12 համակցություններից միայն երկուսը՝ *L. pentosus* F85 + *L. plantarum* F15 և *L. pentosus* F85+ *L. plantarum* F81 դրսևորում են հակամանրէային ակտիվություն [Karimpur F., 2014]:

Այսպիսով, կարելի է եզրակացնել, որ համատեղ աճեցման ժամանակ հակամանրէային ակտիվությունը կախված է ընտրված ԿԹԲ-ների տեսակային պատկանելիության: Ընտրված համակցությունները կարող են պարունակել սպիտակուցային բնույթի նյութեր (pH=6) և կարելի է օգտագործել սննդարդյունաբերությունում, որպես պահպանիչներ:

ԼՂՀ ԿԹԲ-ների ընտրված շտամների հիման վրա համատեղ աճեցման տեխնոլոգիական սխեմա

***Ent.durans* P13 մերանային շտամի աճեցում կաթում (3.6% յուղայնություն, 37°C, 6ժ)**	***Ent. durans* M44 մերանային շտամի աճեցում կաթում (3.6% յուղայնություն, 37°C, 6ժ)**

▼ ▼

ԿԹԲ-ների ընտրված շտամների համատեղ աճեցում (3.6% յուղայնություն, 37°C, 6ժ)

▼

Ստացված նմուշների տեղափոխում սառնարան՝ +4°C պայմաններում, 24 ժամ

▼

Պատրաստի արտադրանքի ստացում

5.2. ***Բուսական խտանյութերի ազդեցությունը ԿԹԲ-ների շտամների և համակցությունների աճի վրա***

Հայտնի է, որ շատ երկրներում ֆունկցիոնալ սննդամթերքներում օգտագործում են պրեբիոտիկները՝ պրոբիոտիկները հետ միասին: Որպես պրեբիոտիկ օգտագործվում են այն բույսերը, որոնք ունեն հոտավետ հատկություններ: Ցույց է տրված, որ այդ պրեբիոտիկների օգտագործումը ԿԹԲ-ների հետ ցուցաբերում են սիներգետիկ արդյունավետություն: ԼՂՀ ֆլորան հարուստ է էնդեմիկ դեղաբույսերով: Մեր կողմից ընտրվել են դաղձ և նեխուր բուսատեսակները, որոնք լայն կիրառություն ունեն առօրյայում: Դաղձը ունի բուժիչ հատկություններ՝ լյարդի, ստամոքսի, աղեստամոքսային հիվանդությունների համար: Նեխուրը պարունակում է տարբեր թթուներ, որոնք հակախոլեստերինային հատկություն ունեն և օգտագործվում է մի

շարք հիվանդությունների բուժ-կանխարգելիչ նպատակներով [Moreno L. et al, 2000, Ehsani A. et al., 2011]: Այդ բուսատեսակների խտանյութերի ավելացվել են ԿԹԲ-ներին առանձին և համատեղ աճեցման ժամանակ՝ 10%-ոց ցանքսային նյութի հետ միասին: Տեղադրվել են ջերմապահարանում 37°C պայմաններում: Ստացված տվյալները բերված են աղյուսակ 22-ում:

Աղյուսակ 22.

Բուսատեսակների խտանյութերի ազդեցությունը ԿԹԲ-ների խմորման վրա, (խմորման ժամ)

№	ԿԹԲ	Խտանյութ, %					
		0.5		Օրգանոլեպտիկ ցուցանիշ	1.0		Օրգանոլեպտիկ ցուցանիշ
		Դաղձ	Նեխուր		Դաղձ	Նեխուր	
1.	***L.jensenii* M14**	7	7	28	7	7	22
	***Ent.durans* M22**	5.3	5.3	28	5.3	5.3	22
	***Ent.durans* M42**	5	5	28	5	5	22
	***Ent. durans* M44**	7	7.3	28	7.3	7.3	22
	***Ent.durans* P13**	6	6	28	6	6	22
2.	***L.jensenii* M14+ *Ent.durans* M42**	8	8	28	8	8	22
	***L.jensenii* M14+ *Ent. durans* M44**	6	6.3	28	6.3	6.3	22
	***Ent.durans* M42+ *Ent. durans* M44**	4	4	28	4	4	22
	***Ent.durans* P13+ *Ent.durans* M42**	6.0	6.0	28	6.0	6.0	22
	***Ent. faecium* M22+ *Ent. durans* M44**	10.0	10.0	28	10.0	10.0	22
	***Ent.durans* P13+ *Ent. faecium* M22**	8.0	8.0	28	8.0	8.0	22
	***Ent. faecium* M22+ *Ent.durans* M42**	10.0	10.0	28	10.0	10.0	22

Ստացված արդյունքները ներկայացված են աղյուսակ 22-ում: Բուսատեսակների խտանյութերի ավելացումը առանձին և համատեղ աճեցման պահպանում են այն խմորման ժամը, որը ըստ ստացված տվյալների բնորոշ է հետազոտվող ԿԹԲ-ներին (Գլուխ 3 և 4): Սակայն 1%-ոց նեխուր և դաղձ բուսատեսակների խտանյութերի ավելացումը բերում է օրգանոլեպտիկ հատկությունների փոփոխության՝ դառնություն և սուր հոտ: Իսկ 0.5% բուսատեսակների խտանյութերի օգտագործումը օրգանոլեպտիկ հատկությունները չի փոփոխում՝ ունենում են հաճելի համ ու հոտ: Կարելի է եզրակացնել, որ ֆունկցիոնալ սննդամթերքներում պրեբիոտիկ նյութերի ավելացումը չպետք է գերազանցի 0.5 %-ը:

Ըստ 30 աստիճանի բալային սանդղակի, յուրաքանչյուր օրգանոլեպտիկ ցուցանիշ ունի որակի 4 աստիճան՝ գերազանց-3, լավ-2, բավարար-1, անբավարար-0: Համեմատական նշանակության գործակիցը ունի հետևյալ սանդղակը՝ արտաքին տեսքը-1, գույնը-1, հոտը-2, հյուսվածք-3, համը-3 [ՀՍՏ ՀՀ, 4959]: Բալային համակարգում գնահատականը տալու համար յուրաքանչյուր օրգանոլեպտիկ ցուցանիշ բազմապատկում են գործակցի նշանակության բալային ցուցանիշով. օրինակ, (1x3)+(1x3)+(2x3)+(2x3)+(3x3)=28, (3x1)+(3x1)+(2x2)+(2x3)+(2x3)=22: Հաշվարկված արդյունքները ցույց են տալիս, որ 0.5 % բուսատեսակի խտանյութի ավելացումը ավելի գերադասելի է և կազմում է 28:

Այսպիսով կարելի է առաջարկել ընտրված ԿԹԲ-ները աճեցման ժամանակ (առանձին և համակցություններով) ներկայացված բուսատեսակների խտանյութները ավելացնել ցանքսանյութի հետ, որպես հավելում՝ նոր ֆունկցիոնալ սննդամթերքներ ստանալու համար, որը կպարունակի պրոբիոտիկ հատկություններով մանրէներ և պրեբիոտիկ:

ԳԼՈՒԽ 6. ԿԹԲ-ՆԵՐԻ ՇՏԱՄՆԵՐԻ ՎԵՐՆՍՏՎԱԾՔԱՅԻՆ ՀԵՂՈՒԿՆԵՐԻ ԽՏԱՆՅՈՒԹԵՐԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

6.1. ***ԿԹԲ-ների շտամների վերնստվածքային հեղուկների խտանյութերի ջերմակայունությունը***

ԿԹԲ-ները և դրանց կողմից սինթեզվող հակամանրէային ակտիվությամբ օժտված միացությունները հանդիսանում են բնական կենսապահածոյացման միջոցներ [Ross P. et al., 2002]: Սննդարդյունաբերության մեջ ԿԹԲ-ները կիրառվում են հիմնականում երեք եղանակով՝ բակտերիացին սինթեզող ԿԹԲ-ների աճեցում անմիջապես արտադրանքի մեջ, մաքրված կամ մասնակի մաքրված կենսաարգասիքների ավելացում ապրանքատեսակների մեջ և սննդի հումքի նախապես մշակում բակտերիացին սինթեզող ԿԹԲ-ներով [Appendini P. et al., 2002]: Քանի որ սննդամթերքը անցնում է ջերմային մշակում, ԿԹԲ-ների կողմից սինթեզվող հակամանրէային ակտիվությամբ օժտված միացությունները պետք է կայուն լինեն ջերմային մշակման հանդեպ:

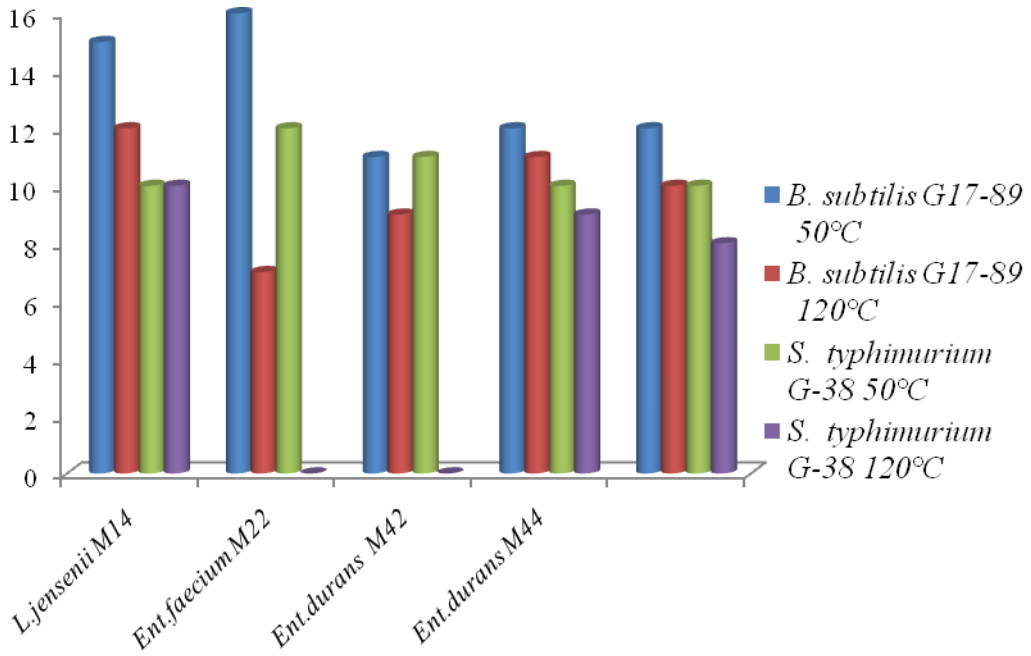
Այդ իսկ պատճառով ստացվել և հետազոտվել են ***Ent. durans* P13**, ***L. jensenii* M14, *Ent. faecium* M22, *Ent. durans* M42** և ***Ent. durans* M44** ԿԹԲ-ների վերնստվածքային հեղուկների խտանյութերի ջերմակայունությունը, որի տվյալները ներկայացված են աղյուսակ 25-ում և նկար 2-ում: Ստացված տարբեր վերնստվածքային հեղուկների խտանյութերի ջերմամշակումը (120°C 20 րոպե) ցույց տվեց, որ իջեցվում է հակամանրէային ակտիվությունը *Salmonella typhimurium* G-38 և *Bacillus subtilis* G17-89 կուլտուրաների վրա: Մյուս կողմից ստացված տվյալներից երևում է, որ ջերմամշակումից հետո ընտրված պրոբիոտիկ հատկություններով ***Ent. durans* M22** և ***Ent. durans* M42** շտամների աճեցումից ստացված վերնստվածքային հեղուկների խտանյութերը չեն ճնշում *Salmonella typhimurium* G-38 կուլտուրայի աճը, որը առկա է մինչև ջերմամշակումը: Դա կարելի է բացատրել նրանով, որ նշված ԿԹԲ-ների կողմից սինթեզվող հակամանրէային միացությունները կարող են տարբերվել են ըստ բնույթի: Հայտնի է, որ ցածր մոլեկուլային կշռով սպիտակուցային բնույթի նյութերը ջերմակայուն են մինչև 120°C [Klaenhammer T. et al., 1993]:

Ընտրված 5 ԿԹԲ-ներից 3-ի վերնստվածքային հեղուկների խտանյութերը ջերմակայուն են մինչև 120°C 20 րոպե և կարելի է եզրակացնել, որ ընտրված ԿԹԲ-ները կարող են սինթեզել տարբեր տիպի սպիտակուցային բնույթի նյութեր:

Աղյուսակ 23.

ԿԹԲ-ների ՎՆՀ խտանյութերի ջերմակայունությունը,
(MRS, 24ժ, pH=6.0, 20 րոպե, ∅, մմ)

№	ԿԹԲ	*Bacillus subtilis* G17-89		*Salmonella typhimurium* G-38	
		50°C	120°C	50°C	120°C
1.	***Ent. durans* P13**	12±1	10±1	10±1	8±1
2.	***L. jensenii* M14**	15±1	12±1	10±1	10±1
3.	***Ent. faecium* M22**	16±1	7±1	12±1	-
4.	***Ent. faecium* M42**	11±1	9±1	11±1	-
5.	***Ent. durans* M44**	12±1	11±1	10±1	9±1



Նկար 2. ԿԹԲ-ների ՎՆՀ խտանյութերի զգայունությունը ջերմային մշակման նկատմամբ

Բերված տվյալներից երևում է, որ ***Ent. durans* P13, *L. jensenii* M14 *Ent. faecium* M22, *Ent. durans* M42, *Ent.durans* M44** ԿԹԲ-ների վերնստվածքային հեղուկների խտանյութերը ցուցաբերում են տարբեր հակամանրէային ակտիվություններ՝ 120°C 20 րոպե մշակելուց հետո:

Ցույց է տրվել, որ որոշ ԿԹԲ-ների վերնստվածքային հեղուկների խտանյութերի օգտագործումը հալած պանրի արտադրության ժամանակ՝ նպաստել է ախտածին մանրէների իջեցմանը և պահպանման ժամկետի երկարացմանը [Արտոնագիր, ՀՀ, Կարախանյան Մ., 2003]: Այժմ սննդի արդյունաբերությունում որպես կենսապահպանիչներ օգտագործում են նիզին և պեդիոցին մասնակի մաքրված բակտերիացինները: Այսպիսով ընտրված ԿԹԲ-ների վերնստվածքային հեղուկների խտանյութերը **(*Ent.durans* P13, *Ent. faecium* M22, *Ent.durans* M42)** կարելի է օգտագործել սննդարդյունաբերությունում՝ որպես կենսապահպանիչներ, քանի որ սննդամթերքը կարող է վարակված լինել սպորավոր *(Bacillus)* և *Salmonella* մանրէներով:

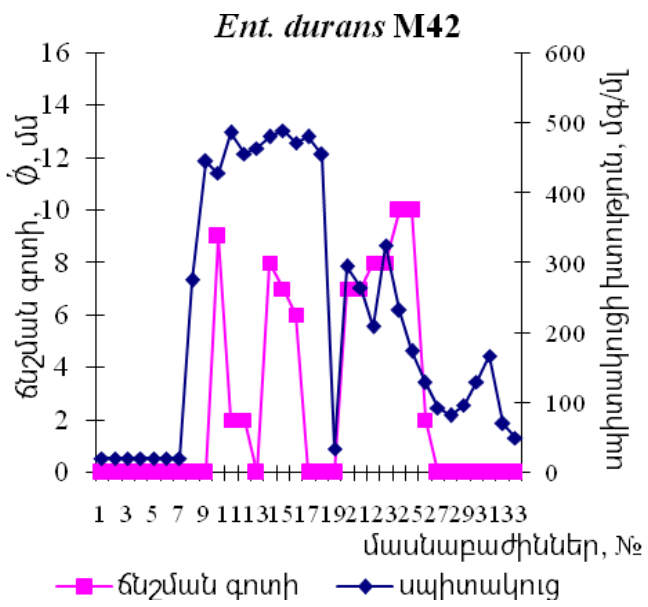
6.2. ***<u>ԿԹԲ-ների շտամների առանձին աճեցումից ստացված վերնստվածքային հեղուկների խտանյութերի գնահատումը</u>***

Գիտական գրականության բազմաթիվ աղբյուրների վերլուծությունը վկայում է, որ վերջին տասնամյակում մշակվել են բազմաթիվ մեթոդներ, որտեղ մաքրման տարբեր եղանակների համադրման միջոցով հաջողվել է հասնել բակտերիոցինների մաքրման որոշակի բարձր աստիճանի: Օրինակ, նստեցումը աղերով և թթուներով [Cintas L. et al., 2001], բակտերիոցինների ադսորբցիան որոշակի կրիչների վրա և հետագա դեսորբցիան [Yang R. et al., 1992], իոնափոխանակային և հիդրոֆոբ քրոմատոգրաֆիան, բարձր թույլատրելիության հեղուկ քրոմատոգրաֆիան (HPLC), ժել ֆիլտրումը (Sephadex) և այլն: Նկարագրված է երկու փուլերից բաղկացած մաքրման արագ եղանակ՝ պեդիոցինանման և այլ բակտերիացինների ստացման համար [Uteng M. et al., 2002]:

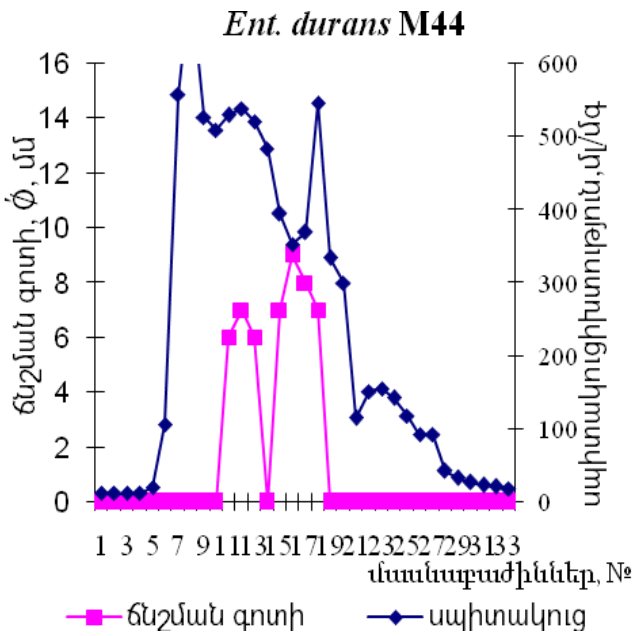
ԿԹԲ-ների կողմից սինթեզվող սպիտակուցային բնույթի հակամանրէային նյութերի անջատման և մաքրման համար մեր կողմից կիրառվել է օրգանական

լուծիչով (սպիրտ 96%) նստեցման և ժել-ֆիլտրման եղանակների համադրումը (Գլուխ 2, 2.9.1.): Այդ նպատակով ԿԹԲ-ների առանձին աճեցումից ստացված կուլտուրալ հեղուկները (ԿՀ) մշակվել են վերը նշված եղանակով և ստացվել մասնակի մաքրված ՎՆՀ խտանյութեր: Հետազոտվող ԿԹԲ-ների ՎՆՀ խտանյութերը (3մլ) մաքրվել են ժել-ֆիլտրման եղանակով (Sephadex G25):

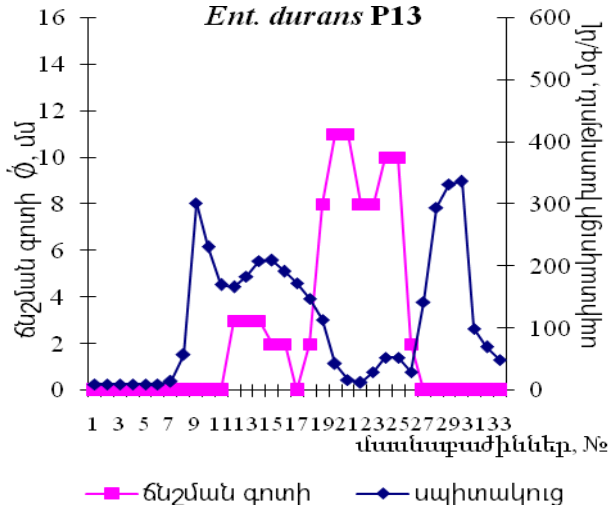
Նկար 3-ում և աղյուսակ 26-ում բերված են ***E. durans* M42, *E. durans* M44** և ***E. durans* P13** ստացված մասնակի մաքրված ՎՆՀ խտանյութերի հակամանրէային հատկություններով օժտված մասնաբաժինների ելքի համեմատական բնութագիրը:



Ա.



Բ.



Գ.

Նկար 3. ԿԹԲ-ներ՝ *Ent. durans* M42, *Ent. durans* M44 և *Ent. durans* P13 ՎՆՀ-ների խտանյութերի մասնաբաժինների ելքը (ժել-ֆիլտրում, Sephadex G25)

Նկար 3-ից երևում է, որ սպիտակուցի խտության և մասնաբաժինների հակամանրէային ակտիվության կորերը ***Ent. durans* M42, *Ent.durans* M44** ՎՆՀ խտանյութերի մոտ համընկնում են, իսկ ***Ent. durans* P13**՝ չեն համընկնում: Որոշ հեղինակներ ցույց են տվել, որ սպիտակուցի խտության և մասնաբաժինների հակամանրէային ակտիվության կորերը միշտ չեն համընկնում [Sarika et al., 2013]:

Աղյուսակ 24.

ԿԹԲ-ներ ՎՆՀ-ների խտանյութերի մասնաբաժինների բնութագիրը

ԿԹԲ-ների ՎՆՀ	Մասնա բաժիններ, №	Չոր նյութ, %	V, մլ	pH	հակամանրէային ակտիվություն *Bacillus subilis* G17-89	
					ԱՄ/մլ	Ընդանուր, ԱՄ
***Ent. durans* M42**	9-13	10±0.2	1.5±0.1	5.1	250	375
	14-16	10±0.2	1.5±0.1	4.8	600	900
	20-25	20±0.2	2.5±0.1	5.1	700	1750
***Ent. durans* M44**	11-13	6.0±0.1	1.5±0.1	5.0	800	1200
	15-18	31.0±0.1	1.5±0.1	5.0	950	1425
***Ent. durans* P13**	12-15	7±0.2	1.0±0.2	5.2	100	100
	19-25	20±0.2	2.0±0.2	5.1	1600	3200

Աղյուսակ 24-ում բերված են ԿԹԲ-ներ ՎՆՀ-ների խտանյութերի համախմբված մասնաբաժինների ելքերի բնութագրերը՝ ժել-ֆիլտրման եղանակով մաքրումից հետո: Ինչպես երևում է աղյուսակ 24-ի տվյալներից ***Ent. durans* M42** ՎՆՀ խտանյութը մաքրելուց հետո ստացվում են երեք ակտիվ մասնաբաժիններ, որոնք տարբերվում են իրարից՝ հակամանրէային ակտիվությամբ, ծավալով, չոր նյութի քանակությամբ: Համախմբված 20-25 մասնաբաժինները ցուցաբերում են ամենաբարձր հակամանրէային ակտիվություն՝ համեմատելով մնացած մասնաբաժինների հետ:

Բերված տվյալներից երևում է, որ ***Ent. durans* M44** ՎՆՀ-ի խտանյութը մասնակի մաքրումից հետո համախմբվել է երկու խմբի, որոնք նույնպես տարբերվում են իրենց հակամանրէային ակտիվությամբ, չոր նյութի քանակությամբ և ***Ent.durans* M42** ՎՆՀ խտանյութի նույնատիպ ցուցանիշներից՝ երկու մասնաբաժինները ունեն բարձր հակամանրէային ակտիվություն:

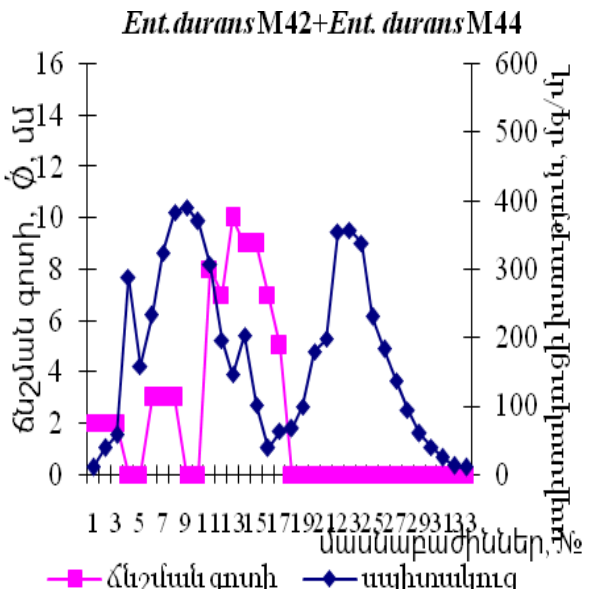
ԿԹԲ՝ ***Ent. durans* P13**-ի ՎՆՀ խտանյութը մաքրումից հետո ստացվել են երկու մասնաբաժինները տարբերվում են ծավալով, չոր նյութերի քանակությամբ, հակամանրէային ակտիվությամբ (100 և 3200 ԱՄ):

Այսպիսով, համեմատելով ԿԹԲ-ների ՎՆՀ խանյութերի ժել-ֆիլտրման եղանակով մաքրումից հետո ստացված տվյալները՝ կարելի է ենթադրել, որ ընտրված ԿԹԲ-ները սինթեզում են տարբեր բնույթի հակամանրէային ակտիվությամբ նյութեր:

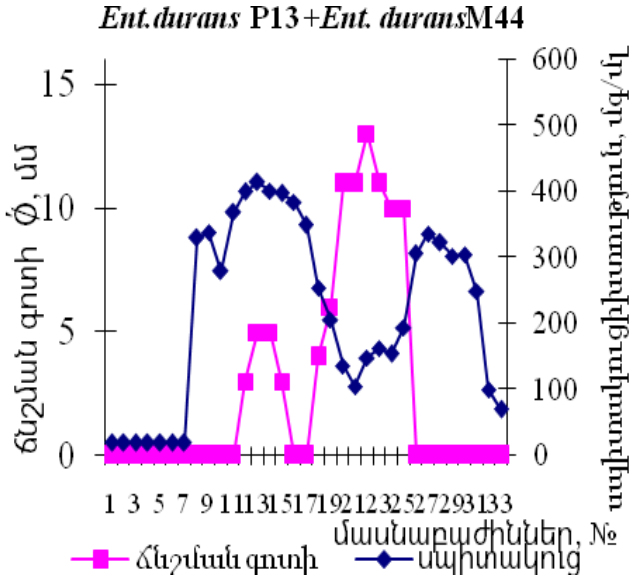
6.3. ***ԿԹԲ-ների շտամների համակցություններով աճեցումից ստացված վերնստվածքային հեղուկների խտանյութերի գնահատումը***

Հիմնվելով ստացված տվյալների վրա, պետք է ենթադրել, որ ընտրված շտամների համակցություններով աճեցման ժամանակ կարող է տեղի ունենալ հակամանրէային ակտիվության ավելացում: Հայտնի է, որ ԿԹԲ-ների համակցություններով աճեցման ժամանակ կարող է տեղի ունենալ սիներգիզմի կամ անտոգոնիզմի երևույթներ: Հետաքրքրություն է ներկայացնում ուսումնասիրել

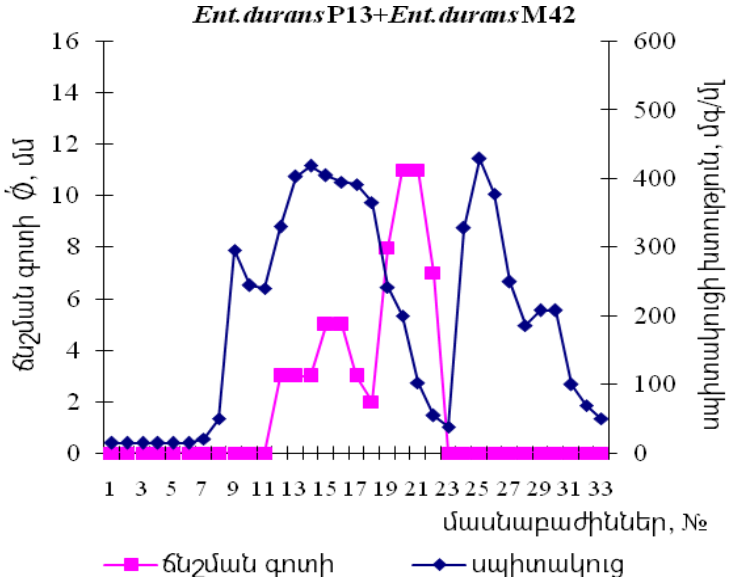
ԿԹԲ-ների համակցություններով աճեցման ժամանակ հակամանրէային ակտիվության դրսևորումը: Ստացված ՎՆՀ խտանյութերը մաքրվել են ժել-ֆիլտրման եղանակով: Մաքրված ՎՆՀ-ի խտանյութերի մասնաբաժինների ելքը ներկայացված է նկար 4-ում և աղյուսակ 25-ում:



Ա.



Բ.



Նկար 4. Համակցություններով աճեցված ԿԹԲ-ների ՎՆՀ խտանյութերի մասնաբաժինների ելքը (ժել-ֆիլտրում, Sephadex G25)

Աղյուսակ 25.

ԿԹԲ-ների ՎՆՀ-ների խտանյութերի մասնաբաժինների բնութագիրը

№	Մասնաբաժիններ, №	Չոր նյութ, %	V, մլ	pH	Հակամանրէային ակտիվություն *Bacillus subilis* G17-89	
					ԱՄ/մլ	Ընդհանուր ԱՄ
***Ent. durans* M42+ *Ent. durans* M44**	5-9	20±0.1	2.5±0.1	5.2	600	1500
	11-20	30±0.1	1.5±0.1	5.2	400	600
***Ent. durans* M42+ *Ent. durans* P13**	11-17	5±0.1	2.0±0.1	4.7	100	200
	18-22	25±0.1	2.0±0.1	4.9	1400	2800
***Ent. durans* M44+ *Ent.durans* P13**	12-15	15±0.2	2.0±0.2	4.8	100	200
	18-25	18±0.2	3.0±0.2	5.1	1400	4200

Ինչպես երևում է բերված տվյալներից՝ (նկար 4 և աղյուսակ 25) շտամների համատեղ աճեցումից հետո ՎՆՀ խտանյութերի մաքրման արդյունքում ստացվում են երկու հակամանրէային ակտիվությամբ մասնաբաժիններ, որոնք տարբերվում են ծավալով, չոր նյութի քանակով, հակամանրէային ակտիվությամբ: Համեմատելով նույն ԿԹԲ-ների առանձին աճեցումից ստացված ՎՆՀ խտանյութերի մասնաբաժինների բնութագրերի հետ երևում է իրենց տարբերությունը: Ստացված տվյալներից երևում է, որ ***Ent. durans* P13+*Ent. durans* M44** ԿԹԲ-ների համատեղ աճեցումից ստացված ՎՆՀ խտանյութը պարունակում է բարձր հակամանրէային ակտիվությամբ մասնաբաժիններ, որոնք տարբերվում են ծավալով, չոր նյութի քանակով, հետազոտվող ԿԹԲ-ների համակցություններից: Կարելի է ենթադրել, որ այս համակցությունում տեղի է ունենում նյութափոխանակության արգասիքների սիներգիզմ: Մինչդեռ մյուս համակցությունների մոտ՝ ***Ent. durans* P13+ *Ent.durans* M42**, ***Ent. durans* M42 + *Ent. durans* M44** տեղի է ունենում հակամանրէային ակտիվության անկում 50%-ով: Այսինքն, այս համակցություններում տեղի է ունենում նյութափոխանակության արգասիքների անտոգոնիզմ, սակայն հակամանրէային ակտիվությունը պահպանվում է:

Այսպիսով, համեմատելով ներկայացված արդյունքների տվյալները, կարելի է եզրակացնել, որ ԿԹԲ-ների համակցություններով աճեցման ժամանակ տեղի է ունենում հակամանրէային ակտիվության պահպանում կամ ավելացում կախված համակցություններում օգտագործվող շտամների տեսակների:

ԳԼՈՒԽ 7. ՏԱՐԲԵՐ ԸՆՏԱՆԻ ԿԵՆԴԱՆԻՆԵՐԻ ԿԱԹԻՑ ԱՆՋԱՏՎԱԾ ԿԹԲ-ՆԵՐԻ ՈՒՍՈՒՄՆԱՍԻՐՈՒԹՅՈՒՆԸ

Գիտական գրականության վերլուծությունները ցույց են տվել, որ այծի, ոչխարի, գոմեշի կաթից պատրաստված մածունները տարբերվում են իրարից: Կովի կաթից պատրաստված մածնում 5 անգամ շատ են ԿԹԲ-ները համեմատած խմորասնկերի հետ: Իսկ ոչխարի կաթում 100 անգամ շատ են խմորասնկերը , քան այլ կենդանիների կաթի մեջ: Ընդհանրապես գրականության մեջ բավականին շատ տեղեկություններ են բերված կովի կաթից անջատված ԿԹԲ-ների հակամանրէային ակտիվության մասին: Սակայն բացակայում են ընտանի կենդանիների կաթից մեկուսացված ԿԹԲ-ների պրոբիոտիկ հատկությունների մասին: ԼՂՀ տարբեր ընտանի կենդանիների՝ այծի, գոմեշի, ոչխարի կաթից մեկուսացված ԿԹԲ-ների պրոբիոտիկ հատկությունների ուսումնասիրությունը:

Մեր կողմից տարբեր բնակավայրերի տնային տնտեսությունների՝ ոչխարի, այծի, գոմեշի կաթից մեկուսացվել են 25 ԿԹԲ-ներ: Մեկուսացված որոշ ԿԹԲ-ներ դանդաղ են աճում MRS միջավայրում (37°C, 5-7 օր) և ընտրվել են այն մանրէները, որոնք աճում են 2-3 օրում: Մանրէադիտական ուսումնասիությունը ցույց տվեց, որ ԿԹԲ-ների մեծ մասը ներկայացված է կոկերի և դիպլոկոկերի բջիջների տեսքով: Աղյուսակ 26-ում ներկայացված են ընտրված 8 ԿԹԲ-ների մորֆոլոգիական նկարագրությունը:

Աղյուսակ 26.

Տարբեր ընտանի կենդանիների կաթերից անջատված ԿԹԲ-ների մորֆոլոգիական նկարագրությունը (MRS ագար)

№	ԿԹԲ	գաղութների մորֆոլոգիան	բջիջների մորֆոլոգիան
Այծ	***LAB* sp. A1**	դեղնավուն, մանր, հարթ	կոկեր
	***LAB* sp.A2**	սպիտակ, փոքր, ուռուցիկ	դիպլոկոկեր
Գոմեշ	***LAB* sp. G1**	սպիտակավուն, մանր,հարթ	կոկեր
	***LAB* sp.G2**	դեղնավուն, մանր, ուռուցիկ	կոկեր
Ոչխար	***LAB* sp. V1**	դեղնավուն, մանր, ուռուցիկ	դիպլոկոկեր
	***LAB* sp. V2**	սպիտակավուն, մանր, ուռուցիկ	դիպլոկոկեր
	***LAB* sp. V3**	դեղնավուն, մանր, հարթ	կոկեր
	***LAB* sp.V4**	կաթնագույն, մանր, ուռուցիկ	կոկեր

Աղյուսակ 27-ում ներկայացված են ընտրված ԿԹԲ-ների աճը յուղազրկված կաթում: Ինչպես երևում է աղյուսակ 27-ի տվյալներից՝ ընտրված ԿԹԲ-ները յուղազրկված կաթը մերում են տարբեր ժամերում ՝ օրինակ, ***LAB* sp.V1**՝ 5.0 ժամում, մինչդեռ ***LAB* sp. A1**՝10.0 ժամում, սակայն ցուցաբերում են նույնատիպ թթվայնություն՝ 52-60°C: Ոչխարի կաթից մեկուսացված ԿԹԲ-ները MRS միջավայրում ցուցաբերում է ավելի բարձր կենսազանգված, թթվայնություն, քան այծի և գոմեշի կաթից մեկուսացված ԿԹԲ-ները: Հակաօքսիդանտային ակտիվությունը այծի կաթից (***LAB* sp. A1, *LAB* sp. A2**) և ոչխարի կաթից (***LAB* sp. V2**) անջատված ԿԹԲ-ների մոտ բացակայում են:

Աղյուսակ 27.

Տարբեր ընտանի կենդանիների կաթից անջատված ԿԹԲ-ների նկարագրությունը, λ=590 նմ

Նմուշներ	ԿԹԲ	Աճեցում				
		Յուղազրկված կաթ		MRS, 37°C, 24 ժ		
		Մերման ժամ	Թթվայնություն °T	Թթվայնություն, °T	ՕԽ	Հակաօքսիդային ակտիվություն, %
Այծ	***LAB* sp. A1**	10	58±10	100±20	2.50±0.2	-
	***LAB* sp.A2**	9	60±10	130±20	2.40±0.4	-
Գոմեշ	***LAB* sp. G1**	6	50±10	138±10	2.64±0.4	68±0.2
	***LAB* sp.G2**	7	55±10	140±10	2.32±0.1	33±0.1
Ոչխար	***LAB* sp. V1**	5	55±10	120±20	3.60±0.2	67±0.4
	***LAB* sp. V2**	7	60±10	140±10	3.36±0.2	70±0.2
	***LAB* sp. V3**	9	58±10	115±10	2.68±0.4	75±0.3
	***LAB* sp.V4**	7	52±10	138±10	3.92±0.2	-

Ծանոթություն « - » հակաօքսիդային ակտիվության բացակայություն

Հայտնի է, որ պրոբիոտիկ ԿԹԲ-ները պետք է կայուն լինեն պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների նկատմամբ [Шендеров Б., 2012]: Ստուգվել է ընտրված ԿԹԲ-ների կայունությունը պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների նկատմամբ (գլուխ 2, 2.7.3.), որը ներկայացված է աղյուսակ 28-ում:

Աղյուսակ 28.

Տարբեր կենդանիների կաթից անջատված ԿԹԲ-ների կենսունակությունը պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների նկատմամբ (MRS, 37 °C, 24 ժ, λ=590 նմ)

№	ԿԹԲ	ստուգիչ	Պրոտեոլիտիկ ֆերմենտներ		
			Տրիպսին	Պեպսին	Պրոտեի նազ K
1.	***LAB* sp.A1**	2.16±0.4	1.44±0.3	1.44±0.4	1.56±0.2
2.	***LAB* sp.A2**	2.12±0.3	1.50±0.3	1.11±0.3	1.92±0.1
3.	***LAB* sp.G1**	3.12±0.4	1.80±0.2	1.35±0.4	0.90±0.2
4.	***LAB* sp.G2**	2.48±0.3	1.08±0.2	1.14±0.3	1.20±0.1
5.	***LAB* sp.V1**	3.16±0.3	0.98±0.3	1.74±0.1	1.12±0.1
6.	***LAB* sp.V2**	2.32±0.4	1.44±0.3	1.08±0.4	0.84±0.3
7.	***LAB* sp.V3**	2.36±0.1	1.56±0.1	1.08±0.3	1.05±0.4
8.	***LAB* sp.V4**	2.83±0.3	1.65±0.3	1.96±0.2	1.62±0.1

Տարբեր կենդանիների կաթից անջատված ԿԹԲ-ները պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների նկատմամբ ցուցաբերել են 50% միջին դիմացկունություն: Համեմատելով կովի մածունի և պանրի տարբեր նմուշներից, ինչպես նաև տարբեր կենդանիների կաթից մեկուսացված ԿԹԲ-ների պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների նկատմամբ դիմացկունությունը պարզվել է, որ տարբեր կենդանիների (ոչխարի, գոմեշի, այծ) կաթից մեկուսացված ԿԹԲ-ները ավելի դիմացկուն են:

Հայտնի է, որ պրոբիոտիկ ԿԹԲ-ները դիմացկուն են հակաբիոտիկների նկատմամբ, ուստի ստուգվել է տարբեր ընտանի կենդանիների կաթից մեկուսացված ԿԹԲ-ների զգայունությունը բժշկության մեջ հաճախակի կիրառվող հակաբիոտիկների նկատմամբ: Ստացված տվյալները ներկայացված են աղյուսակ 29-ում:

Աղյուսակ 29.

Տարբեր ընտանի կենդանիների կաթից անջատված ԿԹԲ-ներ զգայունությունը հակաբիոտիկների նկատմամբ, (MRS, 37 °C, 24 ժ)

№	ԿԹԲ	Հակաբիոտիկ-սկավառակներ (30մկգ), ∅, մմ				
		Դեկսիցի Կլին	Տետրա ցիկլին	Ցեֆուրո կսիմ	Օֆլոկ սացին	Ցիպրոֆլոկս ացին
1.	***LAB* sp.A1**	12±1	12±1	-	-	-
2.	***LAB* sp.A2**	-	15±1	-	7±1	10±1
3.	***LAB* sp.G1**	25 ±1	15±1	-	10±1	22±1
4.	***LAB* sp.G2**	28±1	30±1	-	8±1	8±1
5.	***LAB* sp.V1**	24±1	16±1	8±1	8±1	-
6.	***LAB* sp.V2**	26±1	-	-	7±1	12±1
7.	***LAB* sp.V3**	22±1	24±1	19±1	-	24±1
8.	***LAB* sp.V4**	32±1	22±1	-	8±1	8±1

Ծանոթություն «–» հակաբիոտիկների նկատմամբ զգայունության բացակայություն

Ինչպես ցույց են տալիս հետազոտությունները ուսումնասիրված ԿԹԲ-ները հակաբիոտիկների նկատմամբ ցուցաբերում են տարբեր զգայունություն: Ոչխարի և գոմեշի կաթից մեկուսացված ԿԹԲ-ները ցուցաբերել են բարձր զգայունություն դեկսիցիկլինի նկատմամբ: Ընդհանուր առմամբ, համեմատելով կովի մածնի և աղի պանրի և տարբեր ընտանի կենդանիների կաթից մեկուսացված ԿԹԲ-ների զգայունությունը հակաբիոտիկների հանդեպ, կարելի է տեսնել, որ այդ ԿԹԲ-ները ունեն տարբեր դիմացկունություն հակաբիոտիկների հանդեպ, նաև այդ պատճառով էլ հարմար օբյեկտներ կարող են հանդիսանալ՝ նոր ֆունկցիոնալ սննդամթերքի ստացման համար:

Գիտական գրականությունից հայտնի է, ԿԹԲ-ները, որպես պրոբիոտիկներ, պետք է ունենան նաև հակասթրեսային ազդեցություն, ըստ որի ստուգվել են այդ ԿԹԲ-ների դիմացկունությունը NaCl-ի տարբեր խտությունների հանդեպ: Տվյալները ներկայացված են աղյուսակ 30-ում:

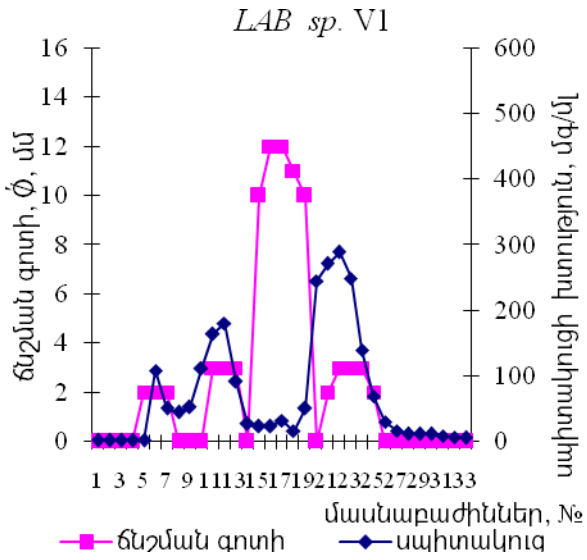
Աղյուսակ 30.

Տարբեր ընտանի կենդանիների կաթից անջատված ԿԹԲ-ների կայունությունը NaCl-ի տարբեր խտությունների հանդեպ (MRS, 24 ժամ, 37 °C, λ=590 նմ)

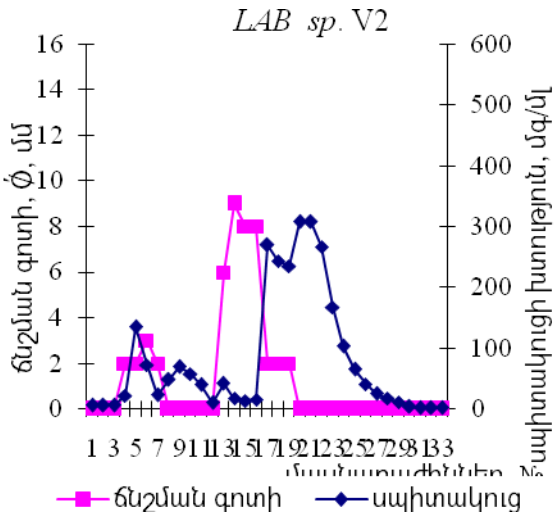
№	ԿԹԲ	NaCl, %						
		0	2	4	6	8	10	12
Այծ	***LAB* sp. A1**	1.76±0.3	1.08±0.4	1.00±0.4	0.80±0.1	0.60±0.3	0.48±0.1	0.40±0.1
	***LAB* sp.A2**	2.00±0.2	1.60±0.1	1.40±0.1	1.32±0.1	0.88±0.4	0.80±0.2	0.48±0.3
Գոմեշ	***LAB* sp. G1**	2.16±0.4	1.84±0.1	1.44±0.1	1.00±0.2	0.42±0.1	0.40±0.1	0.20±0.4
	***LAB* sp.G2**	1.60±0.4	1.40±0.3	1.22±0.3	1.02±0.4	0.92±0.4	0.78±0.2	0.48±0.4
Ոչխար	***LAB* sp. V1**	1.40±0.2	1.12±0.3	1.02±0.3	0.80±0.4	0.60±0.2	0.52±0.4	0.40±0.3
	***LAB* sp. V2**	1.48±0.2	1.28±0.4	1.12±0.4	1.08±0.2	0.98±0.3	0.48±0.3	0.40±0.2
	***LAB* sp. V3**	1.20±0.2	0.80±0.3	0.66±0.3	0.48±0.4	0.40±0.2	0.32±0.2	0.22±0.1
	***LAB* sp.V4**	1.40±0.3	1.22±0.1	1.00±0.1	0.80±0.3	0.60±0.3	0.44±0.4	0.32±0.4

Ընտրված ԿԹԲ-երը, բացի ***LAB* sp. V3**-ից՝ 50 %-ով դիմացկուն են մինչև 6.0% NaCl պարունակող միջավայրում, որը վկայում է, որ այս ԿԹԲ-ների մոտ հակասթրեսային ազդեցությունը այնքան էլ բարձր չէ:

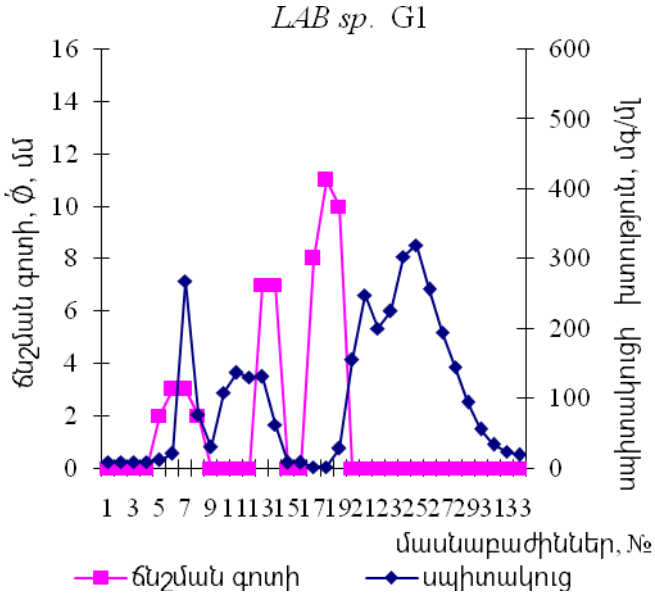
Հետաքրքիր է նաև վերնստվածքային հեղուկների (ՎՆՀ) խտանյութերում հետազոտելու ընտրված ԿԹԲ-ների հակամանարէային ակտիվությամբ նյութերի առկայությունը: Ստուգվել են դրանց հակամանրէային ակտիվությունները (գլուխ 2, 2.6.): ԿԹԲ-ները աճեցվել են MRS միջավայրում, 48 ժամ տևողությամբ (գլուխ 2, 2.3.) և ստացված ՎՆՀ խտանյութերը մաքրվել են ժել-ֆիլտրման եղանակով (գլուխ 2, 2.9.2.): Ստացված տվյալները ներկայացված են նկար 5-ում:



Ա.



Բ.



Գ.

Նկար 5. ԿԹԲ-ներ՝ *LAB sp.* V1 (Ա), *LAB sp.* V2 (Բ) և *LAB sp.* G1(Գ) ՎՆՀ-ների խտանյութերի մասնաբաժինների ելքը (ժել-ֆիլտրում, Sephadex G25)

Ինչպես երևում բերված տվյալներից, հետազոտվող ԿԹԲ-ների՝ ***LAB sp*.V1**(Ա), **LAB sp.V2** (Բ), ***LAB sp*.G1** (Գ) ՎՆՀ խտանյութերը մաքրումից հետո անջատվում են տարբեր քանակությամբ մասնաբաժիններ, որոնք տարբերվում են ծավալով, չոր նյութով, հակամանրէային ակտիվությամբ:

Աղյուսակ 31.

ԿԹԲ-ների ՎՆՀ-ների խտանյութերի մասնաբաժինների բնութագիրը

Նմուշներ	Մասնաբաժիններ, №	Չոր նյութ, %	V, մլ	pH	Հակամանրէային ակտիվություն *Bacillus subilis* G17-89	
					ԱՄ/մլ	Ընդհանուր, ԱՄ
***LAB sp*.G1**	18-22	24	2.5	5.6	800	3000
***LAB sp*.V1**	13-17	16.8	2.5	5.4	800	3000
***LAB sp*.V2**	13-16	22.8	2.0	5.6	550	2400

Այսպիսով, համեմատելով մեր կողմից կովի մածունի և աղի պանրի նմուշներից մեկուսացված ԿԹԲ-ների ՎՆՀ խտանյութերի բնութագրերը, որոնք պարունակում են 2 մանսաբաժիններ (նայիր էջ 85)՝ երևում է, որ տարբեր ընտանի կենդանիների կաթից մեկուսացված ԿԹԲ-ների ՎՆՀ խտանյութերը պարունակում են մեկական բարձր հակամանրէային ակտիվությամբ մասնաբաժիններ:

Հայտնի է, որ սպիտակուցային բնույթի նյութերը (բակտերիացինները) դիմացկուն են բարձր ջերմաստիճանի նկատմամբ [Klaenhammer T. et al., 1993]: Ուսումնասիրվել են նաև ընտրված ԿԹԲ-ների ՎՆՀ խտանյութերի ջերմակայությունը 50°C և 120°C ջերմաստիճանային պայմաններում՝ մշակումից հետո և pH-ի տարբեր տիրույթներում: Որի տվյալները ներկայացված են աղյուսակ 32-ում:

Ինչպես երևում է աղյուսակ 32-ի տվյալներից pH=6.0-ի դեպքում 120°C 20 րոպե ջերմաստիճանային պայմանում մշակումից հետո՝ միայն ***LAB* sp. G1, *LAB* sp.V1, *LAB* sp.V2** և ***LAB* sp.V4** ԿԹԲ-ների շտամների ՎՆՀ խտանյութերն են պահպանում հակամանրէային ակտիվությունը, իսկ ***LAB* sp.A1, *LAB* sp.A2, *LAB* sp.G2** և ***LAB* sp.V3** ԿԹԲ-ները կորցնում են այն:

Աղյուսակ 32.

Տարբեր կենդանիների կաթից անջատված ԿԹԲ-ների ՎՆՀ խտանյութերի հակամանրէային ակտիվությունը

№	ԿԹԲ	*Bacillus subtilis* G17-89				*Salmonella typhimurium* G-38			
		pH							
		4.7	6.0	4.9	6.0	4.7	6.0	5.0	6.0
		50°C		120°C		50°C		120°C	
		∅, մմ							
Այծ	***LAB* sp. A1**	13±1	-	10±1	-	15±1	-	10±1	-
	***LAB* sp.A2**	15±1	-	12±1	-	10±1	-	12±1	-
Գոմեշ	***LAB* sp. G1**	12±1	9±1	10±1	8±1	13±1	8±1	12±1	8±1
	***LAB* sp.G2**	15±1	-	13±1	-	12±1	-	15±1	-
Ոչխար	***LAB* sp. V1**	16±1	12±1	8±1	8±1	11±1	9±1	10±1	8±1
	***LAB* sp. V2**	15±1	12±1	12±1	10±1	12±1	10±1	11±1	9±1
	***LAB* sp. V3**	10±1	-	10±1	-	10±1	-	13±1	-
	***LAB* sp.V4**	13±1	10±1	10±1	8±1	11±1	8±1	13±1	10±1

Ծանոթություն « - » հակամանրէային ակտիվության բացակայություն

Ուատի կարելի է ենթադրել, որ ըստ ընդունված չափանիշների (բարձր ջերմաստիճանի կայունություն, pH=6.0՝ հակամանրէային ակտիվության ցուցաբերում) ընտրված ***LAB* sp. G1, *LAB* sp.V1, *LAB* sp.V2** ԿԹԲ-ները աճման ժամանակ սինթեզում են սպիտակուցային բնույթի նյութեր՝(բակտերիացիններ) ցածր մոլեկուլային կշռով: Հետազոտությունների արդյունքում ընտրված ԿԹԲ-ների ԴՆԹ-ները անջատվել և ուղղարկվել են Հարավային Կորեայի «MACROGEN» ընկերություն՝ նուկլեինաթթվային հաջորդականությունը որոշելու համար:

Այսպիսով, համեմատելով գիտական գրականության և ստացված նույնականացման տվյալները, կարելի է եզրակացնել, որ ԼՂՀ-ի կաթից և կաթնամթերքներից մեկուսացված ԿԹԲ-ները մեծ մասամբ պատկանում են *Enterococcus* ցեղին, մինչդեռ ՀՀ կաթնամթերքներից մեկուսացված ԿԹԲ-ները՝ *Lactobacillus* ցեղին:

ԱՄՓՈՓՈՒՄ

Վերջին տասնամյակներում մեծ ուշադրություն է դարձվում ԿԹԲ-ների պրոբիոտիկ հատկությունների վրա: Պրոբիոտիկ շտամերը լայնորեն օգտագործվում են կաթնամթերքի արտադրությունում՝ որպես հիմք նոր ֆունկցիոնալ սննդամթերքների ստացման համար: Այսօր ավելի քան 100 ապրանքատեսակներ, որոնք պարունակում են պրոբիոտիկներ, այդ թվում պաղպաղակը, խմորված կաթը, պանիրը, մանկական խառնուրդները, մրգային հյութերը, դարձել են հասանելի ամբողջ աշխարհի բնակչության համար: Դրա ապացույցն է վերջին տարիներին տարբեր երկրներում պրոբիոտիկ պատրաստուկների և ֆունկցիոնալ սննդամթերքի նկատմամբ հետաքրքրության մեծացումը: Այդ պատճառով ԿԹԲ-ների կենսաբազմազանության ուսումնասիրությունը և կենսատեխնոլոգիական ներուժի պարզաբանումը արդիական են և բացում են նոր հեռանկարներ՝ նոր պրոբիոտիկների ստացման համար, որոնք կարող են լայն կիրառություն ունենալ բժշկության, սննդարդյունաբերության և մի շարք այլ բնագավառներում:

Այդ նպատակով ԼՂՀ տարբեր բնակավայրերի տնային տնտեսությունների մածունի, աղի պանրի (կովի կաթից) և տարբեր ընտանի կենդանիների (այծ, գոմեշ, ոչխար) կաթի նմուշներից մեկուսացվել են ԿԹԲ-ների 123 շտամներ: Ուսումնասիրվել են անջատված ԿԹԲ-ների մորֆոլոգիական, որոշ ֆիզիոլոգիական և կենսաքիմիական հատկությունները:

Հետազոտությունները ցույց են տվել, որ մածնի տարբեր նմուշներից մեկուսացված 54 կուլտուրաներից 76%-ը ունեն գնդաձև բջիջներ, իսկ պանրի նմուշներից մեկուսացված 44 կուլտուրաների մոտ գնդաձև բջիջները կազմում են 86%: Համեմատության համար նշենք, որ ցուպիկաձև բջիջների քանակը մածունի նմուշներից մեկուսացված ԿԹԲ-ների մոտ կազմում է 24%, իսկ պանրի նմուշների մոտ՝ 14%: Գնդաձև և ցուպիկաձև բջիջների հարաբերությունը կազմում է 3:1:

Հայտնի է, որ նոր արտադրատեսակների ստացման համար կարևոր են ԿԹԲ-ների համապատասխանելիությունը տեխնոլոգիական ցուցանիշներին: Ըստ այդմ ԿԹԲ-ների շտամները աճեցվել են մանրէազերծված, պաստերիզացված յուղալի ու յուղազրկված կաթի մեջ (37°C) և ստուգել են ստացված

արտադրատեսակի մերման արագությունը, թթվայնությունը, սիներեզիսի առկայությունը և օրգանոլեպտիկ ցուցանիշները: Ստացված տվյալները ցույց են տվել, որ ԿԹԲ-ների շտամների մեծ մասը ունեն մինչև 10 ժամ մերման տևողություն, քաղցր համ, սիներեզիսը բացակայում է:

Ցույց է տրվել, որ մածունի՝ ***L. jensenii* M14, *Ent. faecium* M22, *Ent.durans* M42, *Ent. durans* M44** և աղի պանրի նմուշներից ընտրված ***Ent. durans* P13** ԿԹԲ-ները ունեն որոշ պրոբիոտիկ հատկություններ՝ կայուն են լեղու տարբեր խտության (0.20-0.80%), պրոտեոլիտիկ ֆերմենտների (տրիպսին, պեպսին, պրոտեինազ K) և հակաբիոտիկների նկատմամբ, դրսևորում են հակամանրէային ակտիվություն: Ցույց է տրվել, որ ***Ent.durans* M42** և ***Ent. durans* M44** շտամները օժտված են ադհեզիվ հատկությամբ: Պանրի նմուշներից ընտրված ԿԹԲ-ները պահպանում են իրենց կենսունակությունը pH-ի ավելի լայն տիրույթում (pH 5.0-8.0), քան մածնի նմուշներից անջատված ԿԹԲ-ները, որոնք դիմացկուն են pH-ի 5.0-6.0 պայմաններում: Ցույց է տրվել, պրոբիոտիկ հատկություններով օժտված ընտրված ԿԹԲ-ների համատեղ աճեցումը դաղձ և նեխուր բուսատեսակների խտանյութերի հետ չի ազդում ԿԹԲ-ների աճի, ստացված ֆունկցիոնալ նշանակության արտադրատեսակի հակամանրէային և օրգանոլեպտիկ հատկությունների վրա:

Հետազոտությունների արդյունքում ընտրվել են 5 ԿԹԲ-ների շտամներ, որոնք նույնականացվել են 16S ռ-ՌՆԹ գեների սեկվենավորման եղանակով՝ Հարավային Կորեայի «MACROGEN» ընկերությունում: Նույնականացման արդյունքների համեմատությունը ցույց է տվել, որ ԼՂՀ-ի կաթից և կաթնամթերքներից մեկուսացված ԿԹԲ-ները մեծ մասամբ պատկանում են *Enterococcus* ցեղին, մինչդեռ ՀՀ կաթնամթերքներից մեկուսացված ԿԹԲ-ները՝ *Lactobacillus* ցեղին (հավելված՝ 6-10):

Հակամանրէային ակտիվությամբ նյութերի ստացման նպատակով ԿԹԲ-ների ՎՆՀ խտանյութերի մաքրումը իրականացվել է ժել-ֆիլտրման եղանակով (Sephadex G25): ԿԹԲ-ները առանձին **(*Ent. durans* P13, *Ent.durans* M42, *Ent. durans* M44)** և համակցություններով **(*Ent. durans* M42+*Ent. durans* M44, *Ent.durans* M42 + *Ent. durans* P13, *Ent. durans* M44+*Ent. durans* P13)** աճեցվել են MRS միջավայրում՝ 37 °C, 48 ժամ տևողությամբ: Ցույց է տրվել, որ ***Ent. durans* P13+*Ent. durans* M44** ԿԹԲ-ների

համատեղ աճեցումից ստացված ՎՆՀ խտանյութը պարունակում է բարձր հակամանրէային ակտիվությամբ մասնաբաժիններ, որոնք տարբերվում են ծավալով, չոր նյութի քանակով: Մինչդեռ մյուս համակցությունների մոտ՝ ***Ent. durans* P13**+ ***Ent.durans* M42**, ***Ent. durans* M42** + ***Ent. durans* M44** տեղի է ունենում հակամանրէային ակտիվության անկում 50%-ով: Համեմատելով նույն ԿԹԲ-ների առանձին աճեցումից ստացված ՎՆՀ խտանյութերի մասնաբաժինների բնութագրերի հետ երևում է, որ ԿԹԲ-ների համակցություններով աճեցման ժամանակ տեղի է ունենում հակամանրէային ակտիվության պահպանում կամ ավելացում՝ կախված համակցություններում օգտագործվող շտամների տեսակային պատկանելության:

Եզրակացություն է արվել, որ որոշ պրոբիոտիկ հատկություններով օժտված ընտրված ԿԹԲ-ների հիման վրա ստեղծված հակամանրէային հատկություններով համակցությունները կարող են հանդիսանալ որպես մերանային շտամներ՝ նոր ֆունկցիոնալ սննդամթերքի ստացման համար:

Առաջին անգամ ԼՂՀ տնային տնտեսությունների տարբեր ընտանի կենդանիների կաթից անջատվել է ԿԹԲ-ների 25 շտամներ: Ուսումնասիրությունները ցույց են տվել, որ ընտրված 3 շտամները՝ ***LAB sp.*G1, *LAB sp.*V1, *LAB sp.*V2, որոնք** օժտված են որոշակի պրոբիոտիկ հատկություններով ու դրանց ՎՆՀ խտանյութերը մաքրումից հետո մասնաբաժինների հակամանրէային ակտիվությունը ավելի բարձր է, քան մածունի և աղի պանրի նմուշներից մեկուսացված ԿԹԲ-ների մասնաբաժինների ակտիվությունը: Ստացված տվյալները վկայում են այդ ԿԹԲ-ների շտամների հեռանկարային լինելը:

Այսպիսով, որոշ պրոբիոտիկ հատկություններով ընտրված ԿԹԲ-ների շտամները կարելի է կիրառել կաթնամթերքի արտադրությունում՝ որպես մածունի, յոգուրտների արտադրության համար մերանային շտամներ՝ նոր ֆունկցիոնալ սննդամթերքի արտադրության համար, ինչպես նաև դրանց ՎՆՀ խտանյութերը սննդարդյունաբերությունում, որպես պահպանիչներ:

ԿԻՐԱՌԱԿԱՆ ԱՌԱՋԱՐԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ

1. Առաջարկվում է պրոբիոտիկ հատկություններով օժտված ***Enterococcus durans* P13, *Lactobacillus jensenii* M14, *Enterococcus faecium* M22, *Enterococcus durans* M42, *Enterococcus durans* M44, *LAB* sp.G1, *LAB* sp. V3** ԿԹԲ-ների շտամները օգտագործել որպես մերաններ կաթնամթերքի արտադրության համար:
2. Առաջարկվում է ընտրված ԿԹԲ-ների շտամների ***Enterococcus durans* P13, *Lactobacillus jensenii* M14, *Enterococcus faecium* M22, *Enterococcus durans* M42, *Enterococcus durans* M44, *LAB* sp.G1, *LAB* sp.V3** վերնստվածքային հեղուկների խտանյութերը օգտագործել սննդաարդյունաբերությունում՝ որպես պահպանիչներ:
3. Առաջարկվում է օգտագործել ընտրված ԿԹԲ-ների շտամների՝ ***Enterococcus durans* P13 + *Enterococcus durans* M42, *Enterococcus durans* P13 +*Enterococcus durans* M44, *Enterococcus durans* M42 + *Enterococcus durans* M44** համակցությունները որպես մերաններ՝ ֆունկցիոնալ սննդամթերքի նոր տեսականու արտադրության համար:
4. Առաջարկվում է օգտագործել ընտրված ԿԹԲ-ների շտամների՝ ***Enterococcus durans* P13+*Enterococcus durans* M42, *Enterococcus durans* P13 +*Enterococcus durans* M44, *Enterococcus durans* M42+*Enterococcus durans* M44** համակցությունները՝ բուսատեսակների (նեխուր, դաղձ) հետ համատեղ՝ նոր բուժ-կանխարգելիչ հատկություններով օժտված կաթնամթերքների արտադրութան համար:

ԵԶՐԱԿԱՑՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐ

1. Առաջին անգամ ԼՂՀ տարբեր շրջանների կաթից և կաթնամթերքներից (կովի մածուն և աղի պանիր, ոչխարի, այծի, գոմեշի կաթ) անջատվել և ուսումնասիրվել են պրոբիոտիկ հատկություններով օժտված ԿԹԲ-ների շտամներ և դրանց հիման վրա ստեղծվել է ԿԹԲ-ների հավաքածու՝ Արցախի Գիտական Կենտրոնում:
2. Որոշ պրոբիոտիկ հատկություններով ընտրված ԿԹԲ-ների հիման վրա ստեղծվել են հակամանրէային հատկություններով համակցություններ, որոնք կարող են հանդիսանալ որպես մերանային շտամներ՝ նոր ֆունկցիոնալ սննդամթերքի ստացման համար:
3. Ցույց է տրվել, որ ***Enterococcus durans* P13, *Enterococcus durans* M42, *Enterococcus durans* M44** պրոբիոտիկ ԿԹԲ-ների առանձին աճեցման դեպքում վերնստվածքային հեղուկների խտանյութերը տարբերվում են մասնաբաժինների ելքով, հակամանրէային ակտիվությամբ, ծավալով, չոր նյութի զանգվածով:
4. ԿԹԲ-ների ***Enterococcus durans* M44+*Enterococcus durans* P13** համատեղ աճեցման ժամանակ տեղի է ունենում բակտերիացինների սինթեզի ընդհանուր ավելացում՝ կախված շտամների տեսակային պատկանելիության:
5. Տարբեր ընտանի կենդանիների (այծ, ոչխար, գոմեշ) կաթից անջատված ԿԹԲ-ները ունեն ավելի բարձր հակամանրէային ակտիվություն, քան մածունի և աղի պանրի նմուշներից անջատված ԿԹԲ-ները:

ՕԳՏԱԳՈՐԾՎԱԾ ԳՐԱԿԱՆՈՒԹՅՈՒՆ

1. Ա.Ս.Սաղյան, ԿԵՆՍԱՏԵԽՆՈԼՈԳԻԱ, 2013թ., էջ 399:
2. ՀՀ Արտոնագիր, № 2925, 2015թ., Աղաջանյան Ա. Ֆլորա Տխրունի, Գայանե Հովհաննիսյան, Կարինե Եղյան, Անդրանիկ Վարդանյան, Աշոտ Սաղյան, // Կուլտուրալ հեղուկից կենսարգելակչի անջատման և մաքրման եղանակ:
3. ՀՀ Արտոնագիր, № 2924, 2015թ., Ֆլորա Տխրունի, Աշոտ Սաղյան, Ծովինար Բալաբեկյան, Քրիստինա Կարապետյան, Տատյանա Խաչատրյան, Արմեն Աղաջանյան, // Rhamn 20-12 BCN 1 և Rhamn 20-12 BCN 2 բակտերիոցիններ արտադրող մանրէների շտամ:
4. ՀՀ Արտոնագիր, №1403, 2003թ., Մ.Կարախանյան, Ռ.Բեգլարյան, Ֆ.Տխրունի, Ծ.Բալաբեկյան, Հ.Համբարձումյան, // Հայաստանի Հանրապետության մտավոր սեփականության գործակալությունը օրենքի համաձայն տվեց Հալած պանրի պատրաստման եղանակ գյուտի սույն արտոնագիրը:
5. **ՀՍՏ, ՀՀ, 4959:**
6. Абрамова Л. Фармакотерапевтический справочник ветеринарного врача. // Ростов-на-Дону, Феникс, 2003, С. 512.
7. Акопян Л. Биологические особенности молочнокислых бактерий Армении и сферы их использования. // Дисс. на докт. биол. Наук, Ереван, 2007.
8. Акопян Л., Чарян Л., Акопян Ж., Гукасян Г., Алексанян Ю.Т. Ацидофильные молочнокислые бактерии против возбудителей потогенных микроорганизмов // Материалы международной научной конференции, посвященной 75-летию Ер. ГМУ им М. Гераци, 2005, С. 56-57.
9. Биргер Р. Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследований. Москва, 1990.
10. Бондаренко В. Рубакова Э.И., Лаврова В.А. Иммуностимулирующее действие лактобактерий, используемых в качестве основы препаратов пробиотиков // Микробиология, эпидемиология и иммунобиология. 1998, №5, С. 107-112.

11. Бондаренко В., Воробьев А. Дисбиозы и препараты с пробиотической функцией. // Микробиология. 2004, С. 84-92.

12. ГОСТ РФ 55577, 2013. Продукты пищевые функциональные. Информация об отличительных признаках и эффективности.

13. Караханян М. // Влияние белковых наполнителей вторичного сырья на биотехнологические процессы и качество плавленых сыров. Дисс. на соискание ученой степени кадидата технических наук. Ереван, 2005.

14. Карапетян, К. Дж. Сравнительное исследование свойств некоторых молочнокислых бактерий и получение антимикробных препаратов на их основе. Дисс. на соискание ученой степени кадидата биологических наук, Ереван, 2010.

15. Красильников А. Микробиологический словарь-справочник. // Москва, Наука, 1999, С. 400.

16. Кравцова Л., Несиневич Л., Олива Т. и др. Пробиотики, как элемент технологии производства безопасной продукции животноводства и птицеводства // Актуальные проблемы сельскохозяйственной биотехнологии: материалы науч.-практ. конф., Воронеж, 2004, С. 19–20.

17. Методические указания по определению чувствительности микроорганизмов к антибиотикам методом диффузии в агар с использованием дисков. Москва, 1983, С. 16.

18. Нетрусов А. Практика по микробиологии, Москва, 2005.

19. Ожован И. Ожован В.Г. Арзуманян, И.А. Баснакьян. Киллерные токсины клинически значимых дрожжей. ЖМиЭ. 2002, №4, С. 79-83.

20. Салливан А., Норд К. Место пребиотиков в терапии инфекций желудочно-кишечного тракта у человека. // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2003, Том 5, №3, С.15.

21. Сирота Т. Использование нитросинего тетразолия в реакции автоокисления адреналина для определения активности супероксиддисмутазы. Биомедицинская химия, 2013, том 59, вып. 4, С. 399-410.

22. Скородумова А.М. Практическое руководство по технической микробиологии молока и молочных продуктов. Москва, Издательство Наука, 1963, С. 211.

23. Степаненко П. Микробиология молоко и молочных продуктов. // Учебник для студентов вузов, 1998, С. 43.

24. Суворов А.Н., Симаненко В.И. *H.pylori* как возбудитель заболеваний желудочно-кишечного тракта. Генетика патогенности. Возможность эрадикации с использованием пробиотиков. Брощюра. Санкт-Петербург. 2014, С. 8.

25. Тараканов Б. Механизмы действия пробиотиков на микрофлору пищеварительного тракта и организм животных // Фармакология и токсикология. 1999, Том 3, № 4, С. 39-40.

26. Шендеров Б. Медицинская микробиология и функциональное питание // Пробиотики и функциональное питание. Москва, 2001, Т.3, С. 286.

27. Шендеров Б., Доронин А. Функциональное питание // Москва, Грант, 2002.

28. Шендеров Б. Технологии и их значение в современной профилактической и восстановительной медицине, «ОМИК», № 3, 2012, С.70-78.

29. Adel M., Muna M. Probiotics and Traditional Fermented Foods: The Eternal Connection (Mini-Review) // Jordan Journal of Biological Sciences, 2010, Vol. 3, № 4, P.133-140.

30. Afrikian E. Studies of lactic-acid bacteria in Armenia with emphasis on radio protective properties // Journal of Environmentalist, 2012, Vol. 32, № 2, P. 256-268.

31. Akabanda F., Owusu-Kwarteng J., Glover R., Tano-Debrah K. Microbiological characteristics of Ghanaian traditional fermented milk product, *nunu* // Journal of Nature and Science, 2010, Vol. 8, № 9, P. 178-187.

32. Andersson H., Asp N., Bruce A., Roos S., Wadstrom T. & A.E. Wold. Health effects of probiotics and prebiotics. A literature review on human studies // Scandinavian J. Nutrition. 2001, Vol. 45, P. 58-75.

33. Arunachalam K. Role of bifidobacteria in nutrition, medicine and technology. Nutr Res., 1999, № 19, P. 1559-1597.

34. Asmahan A. Isolation and identification of lactic acid bacteria isolated from traditional drinking yoghurt in Khartoum state Sudan // Current Research in Bacteriology, 2011, Vol. 4, № 1, P. 16-22.

35. Avrelija C. and Walter C. The role of functional foods, Nutraceuticals and food supplements in intestinal health // Nutrients Journal, 2010, Vol. 2, P. 611-625.

36. Appendini P., Hotchkiss J. Review of antimicrobial food packaging // Innov. Food Sci. Emerg. Technol. 2002, Vol. 3, P. 113-120.

37. Azadnia P., Khan Nazar A. Identification of lactic acid bacteria isolated from traditional drinking yoghurt in tribes of Fars province // Iranian Journal of Veterinary Research, Shiraz University, 2009, Vol. 10, № 3, P. 235-240.

38. Barlow M. What antimicrobial resistance has taught us about horizontal gene transfer. In: Horizontal Gene Transfer. Gogarten M.B., Gogarten J.P. and Olendzenski L (eds), New York, 2009, P. 397-411.

39. Batdorj B., Dalgalarrondo M. Purification and characterization of two bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from Mongolian airag. Journal of Applied Microbiology. 2006, P. 837-848.

40. Barreteau H., Delattre C., Michau P. Production of oligosaccharidesas promising new food additive genereation, Food Technology and Biotechnology, 2006, P. 323-333.

41. Bauer A., Kirby M., Sherris J. and Turk M. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. Am. J. Clin. Pathol. 1966, V. 45, P. 493-496.

42. Behnsen J., Deriu E., Sassone-Corsi M., Raffatellu M. Probiotics: properties, examplex, and specific applications, Cold Sring Harbor Perspectives in Medicine, 2013, P.3-8.

43. Bhat Z. and Bhat H. Milk and dairy products as functional foods: A review // International Journal of Dairy Science, 2011, Vol. 6, P. 1-12.

44. Blum S., Reniero R., Schiffrin E. Adhesion studies for probiotics: need for validation and refinement. Trends Food Science Technol. 1999, P. 405-410.

45. Bovee-Oudenhoven I., Bruggencate T., Lettink-Wissink M. // Dietary fructo-oligosaccharides and lactulose inhibit intestinalcolonisation but stimulate translocation of *Salmonella* in rat, Gut, 2003, P. 1572-1578.

46. Boziaris I., Humpheson L., Adams M. Effect of nisin on heat injury and inactivation of *Salmonella* Enteritidis PT4 // Int. Jour. Food Microbiol.1998, Vol. 43, P. 7-13.

47. Brul S. & P. Coote. Preservative agents in foods. Mode of action and microbial resistance mechanisms // Int. Jour. Food Microbiol. 1999, Vol. 50, P. 1-6.

48. Bodera P., Chcialowski A. Immunomodulatory effect of probiotic bacteria // Recent patents on inflammation & allergy drug discovery, 2009, Vol.3, № 1, P. 58-64.

49. Cintas L., Herranz C., Hernandez P., Casaus M. and Nes L. Review: Bacteriocins of lactic acid bacteria. 2001, *Food Sci. Tech. Int.*, **7**, P. 281-305.

50. Desai A. Strain identification, viability and probiotics properties of *Lactobacillus casei* // Submitted a Thesis in University of Victoria, Australia, December, 2008.

51. Ehsani A., Mahmudi R., Tokmechi A., Pajohi M. Iranian white cheese as a food carrier for probiotic bacteria // Iranian Journal of Food Science and Technology, 2011, Vol. 8, № 31, P. 77-83.

52. FAO/WHO. Expert consultation on evaluation of health and nutritional properties of probiotics in food including powder milk with live lactic acid bacteria Cordoba // Argentina, 2001, 1-4 oct.

53. FAO/WHO. Working group on drafting guidelines for the evaluations of Probiotics in Food. London, Ontano, Canada, 2002, 30 Apr–1May.

54. Fernandes P., Lopez P., Corbi A., Pelaez C., Requena T. Probiotic strains: survival under simulated gastrointestinal conditions, *in vitro* adhesion to Caco-2 cells and effect of cytokine secretion. Eur Food Res Technol. 2008, Vol 227, P. 1475-1484.

55. Fleming W. The review of natural products // 1th edition USA: Facts and Comparisons, 2004, P. 702-709.

56. Fuller R. (Ed.) Probiotics. The scientific basis. Chapman & Hall. – London. N.Y. Tokyo, 1992, 397, P. 77.

57. Garneau S., Martin N., Vedras J., Two-peptide bacteriocins produced by Lactic Acid Bacteria. Journal of Biochimie 2002, V. 84, 577-592.

58. Ganesh S. // A novel yogurt product with *lactobacillus acidophilus* // Submitted a Thesis in University of Bharathidasan. India, 2006, P. 57.

59. Gomes A., Malcata F. Bifidobacterium spp. and Lactobacillus acidophilus: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. Trends Food Sci Technol. 1999, № 10, P. 139-157.

60. Gonzalez-Rodriguez I., Ruiz L., Gueimonde M., Margolies A., Sanchez B. Factors involved in the colonization ang survival of bifidobacteria in the gastrointestinal tract, FEMS Microbiology Letters, 2013, P.1-10.

61. Ivanova I., Iliev I., Haertle T. Chobert J.-M. Editors. ¸¸Book Food of Lactic Acid Bacteria´´. NSF-Bulgaria, 2012, P. 88-92.

62. Isolauri E. Dietary modification of atopic disease: use of probiotics in the prevention of atopic disease .Rep 2004, №4, P. 270-275.

63. Jay J. Antimicrobial properties of diacetyl // Appl. Environ. Microbiol. 1982. Vol. 44, P. 525-532.

64. Henriksson A., Szewzyk R., Conway P. Characteristics of the adhesive determinants of *Lactobacillus fermentun* 104. Appl. Environ. Microbiol. 1991, V.57, P. 499-502.

65. Heilig H., Zoetendal H., Vaughan E., Marteau E., Akkermans P., A.D.L. and De Vos, W.M. (2002) Molecular diversity of Lactobacillus sp. and other lactic acid bacteria in the human intestine as determined by specific amplification of 16S ribosomal DNA. Appl. Environ. Microbiol. 68, P. 114–123.

66. Hilton E., Isenberg H., Alperstein P., et al. Ingestion of yogurt containing Lactobacillus acidophilus. Ann Int Med. 1992, 116, P. 353-357.

67. Hyuk-Sang Kwon, Eun-Hee Yang, Seung-Woo Yeon, Byoung-Hwa Kang, Tae-Yong Kim. Rapid identification of probiotic Lactobacillus species by multiplex PCR using species-

specific primers based on the region extending from 16S rRNA through 23S rRNA. FEMS Microbiology Letters 239. 2004, P. 267–275.

68. Karimpur F. Study of Iranian traditional Fermented dairy Beverage «Richal» and Investigaiton of its Production Possibility. Diss of the Candidate of biological Sciences, 2014

69. Kimoto H., Kurisaki M., Tsuj I. Lactococci as probiotic strains: adhesion to human enterocyte-like Caco-2 cells and tolerance to low pH and bile. Lett Applied Microbiol. 1999, 29, P. 313-316.

70. Klaenhammer T. Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria // Microbial Review, 1993, Vol. 1, P. 39-86.

71. Kleessen B., Hartmann L., Blaut M. Oligofructose and long –chain inulin: influence on the gut microbial ecology of rats associated with a human faecal flora, British Journal of Nutrition, 2001, P. 291-300.

72. Kirjavainen P., Ouwehand A., Isolauri E., Salminen S. The ability of probiotic bacteria to bind to human intestinal mucus. FEMS Microbiol Lett.1998, 67, P. 185-189.

73. Leroy F., De Vuyst L. Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: Production, purification, and food applications. J. Mol.Microbiol. Biotechnol, 2007, 13, P. 194–199.

74. Lister P., Wolter D., Hanson N. Antibacterial-Resistant *Pseudomonas aeruginose*: Clinical Impact and Copmlex Regulation of Chromonosomally Enncoded Resistance Mechanisms. Clin Microbipol Rev. Oct. 2009, Vol 22, №4, P.582-610.

75. Ljungh A. Wadstrom. Lactic acid bacteria as probiotics. Curr issues intest Microbiol 2006, P.73-89.

76. Melik-Andreasyan G.G., Tkhruni F.N., Tsakanyan A.V., Karapetyan K.J., Khanjyan G.J., Khachatryan T.V. Evalution of antibiotic resistance of human gut microbiota pathogens.International scientific-practical conference "Modern problems of infectious pathology of human" October 31-November1, Minsk, Belarus, 2013, Vol. 6, P. 208-213.

77. Michetti P., Dorta G., Wiesel P. Effect of wheybesed culture supernatants of *Lactobacillus acidophilus* (*johnsonii*) La1 on *Helicobacter pylori* infection in humans // Digestion 1999. 60, P. 203-209.

78. Millar M., Wilks M., Costaloe K. Probiotics for preterm infants. Arch Dis Child Fetal Neonatal Eat 2003; 88(5), P. 354-358.

79. Moreno L., Bello R., Primo-Yufera E., Esplugues J. Pharmacological properties of the methanol extract from *Menthasuaveolens* Eh // Phytotherapy Research, 2000, Vol. 16. P. 10-13.

80. Bokulich N.A., Amiranashvili L., Chitchyan K., Ghazanchyan N., Darbinyan K., Gagelidze N., Sadunishvili T., Goginyan V., Kvesitadze G., Tamas T., David A. Mills Microbial biogeography of the transnational fermented milk matsoni, 2015, Food Microbiology 50, P. 12-19.

81. Odunbanowo S., Sanni A., Onilude A. Influence of cultural conditions for the production of bacteriocin Lactobacillus brevis OGI // African Journal of Biotechnology. 2003, Vol. 2, №7, P. 179-184.

82. Partente E., Brienza C., Moles M., Riccardi A. A comparison of methods for measurement of bactriocin activity // Journal of Microbiology Methods. 1995, Vol. 22, P. 95-108.

83. Perdigon G., Fuller R., Raya R. Lactic acid bacteria and their effect on the immune system // Curr.Issues Intest.Microbiol. 2001, Vol. 2, №1, P. 27–42.

84. Piard J., M. Desmazeaud. Inhibiting factors produced by lactic acid bacteria 1. Oxygen metabolites and catabolism end-products // Lait. 1991, Vol. 71, P. 525-541.

85. Piard J., Desmazeaud M. Inhibiting factors prodused by lactic acid // 2 bacteriocins and other antibacterial substance. Lait, 1992, Vol. 72, P. 113-142.

86. Reid G. Regulatory and clinical aspects of milk products fermented by Bifidobacterium longum on blood lipidsin healthy adult male volunteers. J. Dairy science 2003, 86, №7, P. 2452-2461.

87. Rahbar M., Hossani Tagavi S., Diba K., Haybari A. Study of antibacterial activity of Shallot (*Allium hirtifolium Boiss) //* Iranian Journal of Herb., 2004, Vol. 13, P. 26-29.

88. Rezavi M., Pezeshk S., Hosseini H., Eskandari S. Effect of antioxidant activity of shallot extract (*Allium ascalonicum*), turmeric extract and their composition on changes of lipids in rainbow trout (*Oncorhynchusmykiss*) vacuum packaget // Iranian Journal of Food Science and Technology, 2011, Vol 8, №7-8, P. 47-56.

89. Robertfroid M., Bornet F., Bouley C. Colonic microflora: Nutrition and health. Summary and conclusions of and International Life Sciences Institute (ILSI) (Europe) workshop held in Barcelona, Spain. Nutr Rev 1995, 53, P. 127-130.

90. Ross P., Morgan S.&Hill C. Preservation and fermatation: past, present and future // International Journal of food Microbiology. 2002, Vol. 25, P. 2579-2586.

91. Sadeghi E., Akhondazadeh A., Misaghi A., Zahrai Salehi T., Bohloloi osgoei S. Evaluation of effects of *Cumin* and Probiotic *Lactobacillus acidophilus* on growth of *Staphylococcus Aureus* in Cheese // Journal of Medicinal Plants, 2010. Vol. 34, № 9, P. 131-141.

92. Saeedi K., Omidbaigi R. Evaluation of content and composition of fatty acids, total phenolic essential oil contect of Kelussia odoratissima Mozaff. Seed, // Iranian Journal of Medicina and Aromatic Plants, 2009, Vol. 25, №1, P. 113-119.

93. Salminen S., Boutron Ruault M. Functional food science and gastrointestinal physiology and function.Br J Nutr 1998; 80 (suppl.1), P.147-171.

94. Sarika A.R., A.P. Lipton and M.S. Aishwarya. Effect of Varied Culture Conditions on Crude Supernatant (Bacteriocin) Production from Four Lactobacillus Species Isolated from Locally Fermented Maize (Ogi), Advance Journal of Food Science and Technology. Vol. 2 №5, 2010.

95. Schaafsma G., Meuling W., Van Dokkum W. Effect of a milk product, fermented by L.acidophilus and with fructo-oligosaccharides added, on blood lipids in male volunteers. Br J Nutr 1998, 52, P. 436-440.

96. Simmering S., Blaut M. Pro- and prebiotics-the tasty guardian angels. Appl. Microbiol Biotechnol 2001.vol 55, P. 19-28.

97. Simpson O., Jadamus A., Vahjen W. Probiotic feed additives – effectiveness and expected modes of action // Journal of Animal and Feed Sciences. 2001., Vol. 10, P. 51–67.

98. Stern N., Eruslanov B., Pokhilenko V., Kovalev Y., Volodina L., Perelygin V., Mitsevich E. Bacteriocins reduce Campylobacter jejuni colonization while bacteria producing bacteriocins are ineffective // Microbial Ecology in Health and Disease. 2008, № 20. P. 74-79.

99. Svetoch E., Eruslanov B. Kovalev Y., Mitsevich E., Mitsevich I., Levchum V., Fursova N., Perelygin V., Stepanshin Y., Teymurasov M., Sael B., Stern N. Antimicrobial Activities of Bacteriocins E 50-52 and B 602 Against Antibiotic-Resistant Strains Involved in Nosocomial Infections // Probiotics & Antimicro. Prot. 2009, P.136-142.

100. Tajabadi Ebrahimi M., Hejaazi M., Jafari P. Selective screening of potential probiotic lactobacilli in traditional fermentative dairies // The Quarterly Journal of Biological Sciences, 2009, Vol. 1, № 2, P. 41-47.

101. Tamime R., Robinson K. Yoghurt science and Technology // 1998.

102. Terzic-Michele Dalgalarrondo A., Tolinacki M., Nikolic M., Lozo J., Begovic J., Gulahmadov S., Alekperovich Kuliev A., Chobert J., Haertle T., Topisirovic L. Phenotypic and genotypic characterization of lactic acid bacteria isolated from Azerbaijani traditional dairy products // African Journal of Biotechnology, 2009,Vol. 8, № 11, P. 2576-2588.

103. Tkhruni F., Karapetyan K., Danova S., Dimova S., Karimpur F. Probiotic properties of endemic strains of lactic acid bacteria. J.BioSci.Biotech., 2013, Vol.2, №2, P.1-6.

104. Todorov S., Dicks L. Lactobacillus plantarum isolated from molasses produces bacteriocins active against Gramnegative bacteria. Enzyme and Microbial Technology Journal 2005, 36, P. 318-326.

105. Todorov S., Dicks L. Screening for bacteriocin -producing lactic acid bacteria from boza, a traditional cereal beverage from Bulgaria. Comparison of bacteriocins. Process Biochemistry Journal 2006, 41, P. 11-19.

106. Tserovska L., Stefanova S., Yordanova T. Identification of lactic acid bacteria isolated from katyk, goat's milk and cheese // Journal of Culture Collectiones, 2002, Vol. 3, P. 48-52.

107. Voosogh A. Effects of mint extract on the viability of probiotic bacteria in a native Iranian dairy drink (Doogh) // Journal of Agricultural Science and Natural Resources, 2009, Vol. 16, № 1, P.156-164.

108. Uteng M., Hauge H., Brondz I., Nissen-Meyer J., Fimland, G. Rapid two-step procedure for large-scale purification of pediocin-like bacteriocins and other cationic antimicrobial peptides from complex culture medium. 2002. *Appl. Environ.* Microbiol, 68, P. 952-956.

109. Wanda J., Bonita A. Partial purification and characterization bacteriocin produced by Propionibacterium thoenii // Appl. Environ. Microbiol. 1991, Vol.57, P. 701-706.

110. Yang R, Johnson M. and Ray B. Novel method to extract large amounts of bacteriocins from lactic acid bacteria. Appl. Environ.Microbiol., 1992, V.58, P. 3355-3359.

111. Zacharof M., Lovitt R. Bacteriocins Produced by Lactic Acid Bacteria a Review Article. 3rd International Conference on Biotechnology and Food Science (ICBFS 2012), April 7-8, 2012 V. 2, 2012, P.50–56.

112. Zubillaga M., Ricardo W., Eric P., Cintha G., Ricardo C., Jose B. Effect of probiotics and functional foods and their use in different diseases // Nutrition Research. 2001, №2, P. 569-579.

ՀԱՎԵԼՎԱԾ 1

Պանրից անջատված ԿԹԲ-ների գաղութների մորֆոլոգիական նկարագրությունը (MRS ագար)

№	ԿԹԲ	գաղութների մորֆոլոգիան	բջիջների մորֆոլոգիան
1.	***LAB* sp.P1**	սպիտակ, մանր, հարթ	կոկեր
2.	***LAB* sp.P2**	սպիտակ, խոշոր,ուռուցիկ	կոկեր
3.	***LAB* sp.P3**	դեղնավուն, մանր, հարթ	կոկեր
4.	***LAB* sp.P4**	սպիտակ, խոշոր, ուռուցիկ	կոկեր
5.	***LAB* sp.P5**	փղոսկրի գույնի, մանր, հարթ	ցուպիկներ
6.	***LAB* sp.P6**	դեղնավուն, մանր, հարթ	կոկեր
7.	***LAB* sp.P7**	դեղնավուն, մանր, հարթ	կոկեր
8.	***LAB* sp.P8**	սպիտակ, խոշոր, հարթ	կոկեր
9.	***LAB* sp.P9**	կաթնագույն, մանր, ուռուցիկ	կոկեր
10.	***LAB* sp.P10**	կաթնագույն, մանր, հարթ	ցուպիկներ
11.	***LAB* sp.P11**	դեղնավուն, մանր, ուռուցիկ	կոկեր
12.	***LAB* sp.P12**	դեղնավուն, մանր, հարթ	կոկեր
13.	***LAB* sp.P13**	կաթնագույն, մանր, հարթ	կոկեր
14.	***LAB* sp.P14**	սպիտակ, խոշոր, ուռուցիկ	կոկեր
15.	***LAB* sp.P15**	սպիտակ, մանր, հարթ	կոկեր
16.	***LAB* sp.P16**	սպիտակ, մանր, թափանցիկ	կոկեր
17.	***LAB* sp.P17**	կաթնագույն, մանր, հարթ	ցուպիկներ
18.	***LAB* sp.P18**	դեղնավուն, մանր, ուռուցիկ	կոկեր
19.	***LAB* sp.P19**	փղոսկրի գույնի, մանր, հարթ	կոկեր
20.	***LAB* sp.P20**	փղոսկրի գույնի, մանր, հարթ	կոկեր
21.	***LAB* sp.P21**	կաթնագույն, մանր, հարթ	կոկեր
22.	***LAB* sp.P22**	փղոսկրի գույնի, մանր, հարթ	ցուպիկներ
23.	***LAB* sp.P23**	սպիտակ, մանր, թափանցիկ	կոկեր
24	***LAB* sp.P24**	կաթնագույն, մանր, ուռուցիկ	ցուպիկներ
25.	***LAB* sp.P25**	թափանցիկ, մանր, հարթ	կոկեր
26.	***LAB* sp.P26**	կաթնագույն, մանր,հարթ	կոկեր
27.	***LAB* sp.P27**	դեղնավուն, մանր,ուռուցիկ	կոկեր
28.	***LAB* sp.P28**	սպիտակ, խոշոր, հարթ	կոկեր
29.	***LAB* sp.P29**	կաթնագույն, մանր, ուռուցիկ	կոկեր
30.	***LAB* sp.P30**	սպիտակ, խոշոր, ուռուցիկ	կոկեր

Հավելված 1-ի շարունակություն

31.	***LAB* sp.P31**	սպիտակ, խոշոր, ուռուցիկ	կոկեր
32.	***LAB* sp.P32**	դեղնավուն, մանր, ուռուցիկ	կոկեր
33.	***LAB* sp.P33**	դեղնավուն, մանր, հարթ	կոկեր
34.	***LAB* sp.P34**	սպիտակ, մանր, ուռուցիկ	կոկեր
35.	***LAB* sp.P35**	դեղնավուն,մանր, հարթ	ստրեպտոկոկեր
36.	***LAB* sp.P36**	սպիտակ, խոշոր, հարթ	կարճ ցուպիկներ
37.	***LAB* sp.P37**	սպիտակ, խոշոր, հարթ	կոկեր
38.	***LAB* sp.P38**	սպիտակ, խոշոր, ուռուցիկ	կոկեր
39.	***LAB* sp.P39**	դեղնավուն, մանր, հարթ	կոկեր
40.	***LAB* sp.P40**	սպիտակ, մանր, հարթ	կոկեր
41.	***LAB* sp.P41**	սպիտակ, խոշոր, հարթ	կոկեր
42.	***LAB* sp.P42**	սպիտակ, խոշոր, ուռուցիկ	կոկեր
43.	***LAB* sp.P43**	դեղնավուն, մանր, ուռուցիկ	կոկեր
44.	***LAB* sp.P44**	դեղնավուն, մանր, ուռուցիկ	կոկեր

ՀԱՎԵԼՎԱԾ 2

Մածունից անջատված ԿԹԲ-ների գաղութների մորֆոլոգիական նկարագրությունը (MRS ագար)

№	ԿԹԲ	գաղութների մորֆոլոգիան	բջիջների մորֆոլոգիան
1.	***LAB* sp.M1**	դեղնավուն, մանր, հարթ	կոկեր
2.	***LAB* sp.M2**	սպիտակ, մանր, հարթ	կոկեր
3.	***LAB* sp.M3**	սպիտակ, խոշոր, ուռուցիկ	ցուպիկներ
4.	***LAB* sp.M4**	սպիտակ, մանր, ուռուցիկ	կոկեր
5.	***LAB* sp.M5**	սպիտակ, խոշոր, հարթ	կոկեր
6.	***LAB* sp.M6**	դեղնավուն, մանր, հարթ	կոկեր
7.	***LAB* sp.M7**	սպիտակ, խոշոր, ուռուցիկ	կոկեր
8.	***LAB* sp.M8**	դեղնավուն, մանր, հարթ	ցուպիկներ
9.	***LAB* sp.M9**	կաթնագույն, խոշոր, ուռուցիկ	կոկեր
10.	***LAB* sp.M10**	դեղնավուն, մանր, հարթ	կոկեր
11.	***LAB* sp.M11**	սպիտակ, խոշոր, ուռուցիկ	կոկեր
12.	***LAB* sp.M12**	սպիտակ, մանր, հարթ	կոկեր
13.	***LAB* sp.M13**	դեղնավուն, մանր, հարթ	կոկեր
14.	***LAB* sp.M14**	փղոսկրի, մանր, հարթ	ցուպիկներ
15.	***LAB* sp.M15**	դեղնավուն, մանր, հարթ	կոկեր
16.	***LAB* sp.M16**	դեղնավուն, մանր, ուռուցիկ	կոկեր
17.	***LAB* sp.M17**	սպիտակ, խոշոր, հարթ	կոկեր
18.	***LAB* sp.M18**	սպիտակ, մանր, հարթ	կոկեր
19.	***LAB* sp.M19**	սպիտակ, խոշոր, ուռուցիկ	կոկեր
20.	***LAB* sp.M20**	սպիտակ, խոշոր, թափանցիկ	կոկեր
21.	***LAB* sp.M21**	դեղնավուն, մանր, ուռուցիկ	կոկեր
22.	***LAB* sp.M22**	փղոսկրի գույնի, մանր, ուռուցիկ	կոկեր
23.	***LAB* sp.M23**	փղոսկրի գույնի, մանր, հարթ	կոկեր
24	***LAB* sp.M24**	դեղնավուն, մանր, ուռուցիկ	կոկեր
25.	***LAB* sp.M25**	կաթնագույն, խոշոր, ուռուցիկ	կոկեր
26.	***LAB* sp. M26**	սպիտակ, խոշոր, թափանցիկ	ցուպիկներ
27.	***LAB* sp.M27**	սպիտակ, մանր, ուռուցիկ	կոկեր
28.	***LAB* sp.M28**	փղոսկրի գույնի, մանր, հարթ	կոկեր

Հավելված 2-ի շարունակություն

29.	***LAB* sp.M29**	սպիտակ, մանր, հարթ	ցուպիկներ
30.	***LAB* sp.M30**	դեղնավուն, մանր, հարթ	կոկեր
31.	***LAB* sp.M31**	կաթնագույն, խոշոր, հարթ	ցուպիկներ
32.	***LAB* sp.M32**	կաթնագույն, մանր, հարթ	կոկեր
33.	***LAB* sp.M33**	փղոսկրի գույնի, մանր, հարթ	կոկեր
34.	***LAB* sp.M34**	սպիտակ, խոշոր, հարթ	կարճ ցուպիկներ
35.	***LAB* sp.M35**	սպիտակ, մանր, հարթ	կարճ ցուպիկներ
36.	***LAB* sp.M36**	սպիտակ, մանր, ուռուցիկ	կոկեր
37.	***LAB* sp.M37**	սպիտակ, խոշոր, թափանցիկ	կոկեր
38.	***LAB* sp.M38**	դեղնավուն, մանր, ուռուցիկ	երկար ցուպիկներ
39.	***LAB* sp.M39**	սպիտակ, խոշոր, հարթ	կոկեր
40.	***LAB* sp.M40**	դեղնավուն, մանր, ուռուցիկ	կոկեր
41.	***LAB* sp.M41**	փղոսկրի գույնի, մանր, հարթ	կարճ ցուպիկներ
42.	***LAB* sp. M42**	դեղնավուն, մանր, հարթ	կոկեր
43.	***LAB* sp.M43**	սպիտակ, մանր, հարթ	կարճ ցուպիկներ
44.	***LAB* sp.M44**	սպիտակ, խոշոր, ուռուցիկ	կոկեր
45.	***LAB* sp.M45**	կաթնագույն, մանր, հարթ	կոկեր
46.	***LAB* sp.M46**	սպիտակ, խոշոր, հարթ	կոկեր
47.	***LAB* sp.M47**	փղոսկրի գույնի, մանր, հարթ	երկար ցուպիկներ
48.	***LAB* sp.M48**	սպիտակ, խոշոր, ուռուցիկ	կոկեր
49.	***LAB* sp.M49**	փղոսկրի գույնի, մանր, ուռուցիկ	կոկեր
50.	***LAB* sp.M50**	կաթնագույն, խոշոր, ուռուցիկ	կոկեր
51.	***LAB* sp.M51**	դեղնավուն, մանր, ուռուցիկ	դիպլոկոկեր
52.	***LAB* sp.M52**	փղոսկրի գույնի, մանր, հարթ	կոկեր
53.	***LAB* sp.M53**	սպիտակ, խոշոր, ուռուցիկ	կոկեր
54.	***LAB* sp.M54**	փղոսկրի գույնի, մանր, ուռուցիկ	կոկեր

ՀԱՎԵԼՎԱԾ 3

Պանրից անջատված ԿԹԲ-ների աճը տարբեր ջերմաստիճանային պայմաններում (MRS, 24ժ, λ =590նմ)

№	ԿԹԲ	30°C		37°C		45°C	
		ՕԽ	°T	ՕԽ	°T	ՕԽ	°T
1.	***LAB* sp.P1**	1.80±0.3	75±2	2.36±0.3	84±4	1.44±0.4	92±4
2.	***LAB* sp.P2**	1.20±0.1	110±2	1.80±0.4	120±2	1.00±0.4	128±2
3.	***LAB* sp.P3**	1.00±0.1	80±2	2.20±0.4	100±4	2.06±0.1	110±4
4.	***LAB* sp.P4**	1.00±0.4	118±2	2.08±0.4	120±3	2.20±0.4	126±4
5.	***LAB* sp.P5**	0.82±0.2	90±1	1.62±0.1	130±4	1.20±0.4	122±4
6.	***LAB* sp.P6**	2.00±0.1	120±2	2.92±0.2	195±1	1.16±0.2	100±3
7.	***LAB* sp.P7**	1.08±0.3	121±4	1.46±0.4	100±4	1.00±0.1	128±3
8.	***LAB* sp.P8**	1.62±0.4	78±2	2.04±0.4	88±2	1.16±0.4	90±4
9.	***LAB* sp.P9**	0.32±0.3	107±4	1.52±0.4	114±2	1.94±0.4	130±4
10.	***LAB* sp.P10**	0.62±0.4	110±4	1.18±0.4	102±4	1.20±0.4	112±4
11.	***LAB* sp.P11**	0.48±0.4	80±4	1.28±0.4	70±2	1.36±0.4	90±2
12.	***LAB* sp.P12**	0.84±0.4	108±4	1.08±0.3	115±4	1.67±0.3	126±2
13.	***LAB* sp.P13**	1.20±0.4	72±2	2.24±0.4	78±2	2.62±0.4	90±3
14.	***LAB* sp.P14**	1.40±0.1	125±3	1.56±0.1	140±3	1.00±0.1	140±3
15.	***LAB* sp.P15**	0.84±0.1	76±3	1.36±0.4	82±3	1.88±0.4	90±4
16.	***LAB* sp.P16**	0.72±0.3	100±4	1.04±0.1	105±4	1.08±0.1	124±2
17.	***LAB* sp.P17**	0.68±0.4	86±4	0.88±0.4	70±2	1.32±0.1	90±4
18.	***LAB* sp.P18**	0.44±0.1	106±3	1.10±0.1	120±3	1.32±0.1	126±4
19.	***LAB* sp.P19**	0.44±0.1	105±4	1.68±0.1	124±2	1.02±0.1	132±4
20.	***LAB* sp.P20**	0.88±0.4	70±2	1.32±0.1	90±4	1.00±0.3	110±2
21.	***LAB* sp.P21**	0.66±0.2	90±4	1.62±0.1	130±4	1.28±0.4	130±1
22.	***LAB* sp.P22**	1.90±0.1	120±2	2.40±0.2	195±1	2.88±0.3	95±4
23.	***LAB* sp.P23**	1.22±0.1	106±3	2.00±0.3	100±4	0.92±0.4	80±2
24.	***LAB* sp.P24**	0.80±0.4	120±2	1.28±0.4	100±2	1.32±0.1	120±3
25.	***LAB* sp.P25**	0.75±0.3	78±4	1.52±0.4	140±2	1.90±0.3	220±3
26.	***LAB* sp.P26**	1.06±0.1	90±3	1.22±0.1	100±3	1.44±0.1	110±3
27.	***LAB* sp.P27**	0.50±0.4	86±4	2.00±0.3	92±4	2.20±0.4	100±2
28.	***LAB* sp.P28**	0.60±0.1	112±3	1.04±0.1	105±4	1.68±0.1	124±2
29.	***LAB* sp.P29**	0.32±0.4	90±2	0.88±0.4	70±2	1.32±0.1	90±4
30.	***LAB* sp.P30**	1.02±0.1	80±2	1.56±0.4	90±3	1.96±0.4	105±4
31.	***LAB* sp.P31**	1.98±0.3	110±4	2.20±0.4	116±3	0.98±0.1	140±3
32.	***LAB* sp.P32**	1.60±0.4	90±3	1.64±0.3	125±4	0.84±0.3	142±2
33.	***LAB* sp.P33**	1.90±0.1	115±3	2.40±0.4	120±3	1.20±0.1	140±4
34.	***LAB* sp.P34**	1.56±0.4	90±2	2.32±0.4	110±3	1.00±0.4	150±4
35.	***LAB* sp.P35**	1.04±0.1	90±4	2.48±0.3	100±4	2.60±0.4	134±3
36.	***LAB* sp.P36**	1.08±0.3	98±3	1.58±0.3	104±3	1.86±0.1	120±2

Հավելված 3-ի շարունակություն

37.	***LAB* sp.P37**	1.84±0.4	95±2	2.48±0.1	108±3	1.00±0.3	122±4
38.	***LAB* sp.P38**	0.84±0.1	97±4	1.24±0.1	106±4	1.88±0.4	135±3
39.	***LAB* sp.P39**	0.74±0.4	100±3	1.60±0.4	122±3	1.68±0.3	135±4
40.	***LAB* sp.P40**	1.04±0.1	105±4	1.68±0.1	124±2	0.86±0.4	143±3
41.	***LAB* sp.P41**	0.88±0.4	70±2	1.32±0.1	90±4	1.56±0.4	100±4
42.	***LAB* sp.P42**	1.00±0.1	100±3	1.62±0.3	108±3	1.36±0.3	126±2
43.	***LAB* sp.P43**	1.40±0.1	94±2	2.08±0.1	105±4	1.20±0.4	125±4
44.	***LAB* sp.P44**	1.64±0.3	92±4	2.68±0.3	98±2	2.00±0.3	105±4

ՀԱՎԵԼՎԱԾ 4

Մածնից անջատված ԿԹԲ-ների աճը տարբեր ջերմաստիճանային պայմաններում (MRS, 37°C, 24ժ, λ =590նմ)

№	ԿԹԲ	30°C		37°C		45°C	
		ՕԽ	°T	ՕԽ	°T	ՕԽ	°T
1.	***LAB* sp.M1**	1.20±0.1	123±3	2.92±0.1	130±4	3.00±0.4	170±1
2.	***LAB* sp.M2**	0.18±0.4	118±3	0.68±0.4	128±1	0.96±0.4	150±4
3.	***LAB* sp.M3**	0.52±0.3	78±2	0.75±0.1	110±2	1.00±0.3	140±3
4.	***LAB* sp.M4**	1.50±0.1	103±2	2.00±0.4	130±1	1.28±0.4	155±1
5.	***LAB* sp.M5**	1.33±0.2	80±2	2.00±0.2	90±4	1.62±0.1	130±4
6.	***LAB* sp.M6**	1.98±0.1	110±3	3.20±0.1	120±2	3.92±0.2	195±1
7.	***LAB* sp.M7**	1.60±0.2	90±2	3.00±0.1	125±2	1.40±0.1	137±1
8.	***LAB* sp.M8**	2.10±0.2	115±3	3.40±0.4	120±4	3.52±0.4	140±4
9.	***LAB* sp.M9**	1.44±0.2	90±3	2.32±0.2	98±2	2.88±0.3	130±3
10.	***LAB* sp.M10**	0.36±0.3	90±2	0.48±0.1	110±2	0.60±0.1	140±3
11.	***LAB* sp.M11**	1.32±0.4	98±2	1.52±0.4	118±4	1.66±0.2	132±3
12.	***LAB* sp.M12**	0.84±0.4	95±4	1.48±0.1	120±2	2.00±0.1	132±2
13.	***LAB* sp.M13**	0.84±0.1	97±3	1.24±0.1	117±1	2.38±0.4	135±1
14.	***LAB* sp.M14**	2.88±0.1	80±2	3.86±0.4	95±4	4.06±0.3	100±4
15.	***LAB* sp.M15**	0.94±0.2	105±3	1.20±0.2	120±2	2.00±0.1	143±3
16.	***LAB* sp.M16**	0.88±0.2	120±4	1.32±0.4	130±2	2.06±0.1	154±3
17.	***LAB* sp.M17**	1.40±0.2	100±3	3.32±0.1	116±2	2.06±0.3	137±4
18.	***LAB* sp.M18**	1.40±0.3	94±2	3.08±0.2	105±2	3.20±0.4	125±1
19.	***LAB* sp.M19**	2.80±0.3	92±2	3.68±0.3	110±4	4.00±0.1	119±3
20.	***LAB* sp.M20**	1.32±0.3	107±3	1.52±0.1	118±2	0.84±0.3	130±3
21.	***LAB* sp.M21**	1.84±0.3	135±4	3.36±0.2	143±3	2.34±0.2	150±4
22.	***LAB* sp.M22**	2.00±0.4	78±2	3.88±0.3	86±4	4.00±0.1	98±3
23.	***LAB* sp.M23**	1.74±0.4	95±2	2.88±0.3	100±2	1.66±0.2	115±3
24.	***LAB* sp.M24**	0.96±0.1	70±3	1.36±0.1	88±2	1.92±0.2	98±3
25.	***LAB* sp.*M*25**	1.88±0.1	92±4	2.92±0.1	103±2	1.20±0.1	120±4
26.	***LAB* sp.M26**	1.40±0.2	88±3	2.07±0.3	96±4	2.52±0.2	105±2
27.	***LAB* sp.M27**	2.34±0.2	93±2	3.56±0.2	105±3	1.80±0.3	118±3
28.	***LAB* sp.M28**	0.48±0.3	110±4	1.12±0.1	123±2	1.60±0.1	135±3
29.	***LAB* sp.M29**	1.56±0.4	94±3	2.34±0.3	100±2	2.40±0.2	115±4
30.	***LAB* sp.M30**	1.16±0.2	70±2	1.44±0.1	80±2	1.92±0.1	90±2
31.	***LAB* sp.M31**	2.00±0.3	80±3	2.42±0.3	88±3	2.96±0.3	100±3
32.	***LAB* sp.M32**	2.40±0.1	90±3	2.92±0.2	105±4	2.00±0.4	125±3
33.	***LAB* sp.M33**	1.67±0.1	100±3	2.84±0.1	120±2	3.00±0.1	136±4
34.	***LAB* sp.M34**	1.07±0.3	98±2	2.06±0.4	112±1	2.56±0.2	126±4

Հավելված 4-ի շարունակություն

35.	***LAB* sp.M35**	1.50±0.3	98±4	2.00±0.3	108±1	1.32±0.2	120±3
36.	***LAB* sp.M36**	1.00±0.4	135±4	2.04±0.1	78±2	1.80±0.1	130±3
37.	***LAB* sp.M37**	1.34±0.4	92±3	3.24±0.4	123±1	3.40±0.1	130±3
38.	***LAB* sp.M38**	1.02±0.2	98±3	1.68±0.1	100±2	1.94±0.3	130±3
39.	***LAB* sp.M39**	1.04±0.2	105±4	1.74±0.2	119±4	1.92±0.2	130±4
40.	***LAB* sp.M40**	1.67±0.3	75±2	2.64±0.1	86±1	2.60±0.1	98±3
41.	***LAB* sp.M41**	0.52±0.3	83±3	1.66±0.3	98±2	1.94±0.3	120±1
42.	***LAB* sp.M42**	2.00±0.4	77±3	3.82±0.2	85±4	4.96±0.2	98±4
43.	***LAB* sp.M43**	1.17±0.1	88±4	2.28±0.3	98±2	2.46±0.1	110±4
44.	***LAB* sp.M44**	2.56±0.1	70±2	3.92±0.2	76±1	4.20±0.2	92±3
45.	***LAB* sp.M45**	1.61±0.3	98±4	1.90±0.1	114±4	0.90±0.2	128±1
46.	***LAB* sp.M46**	1.02±0.3	90±3	1.84±0.3	102±1	2.82±0.2	124±1
47.	***LAB* sp.M47**	1.84±0.2	90±4	2.80±0.2	98±2	2.84±0.1	110±4
48.	***LAB* sp.M48**	1.12±0.2	88±3	2.12±0.1	110±2	2.60±0.3	128±1
49.	***LAB* sp.M49**	1.08±0.1	80±3	1.68±0.2	98±2	1.98±0.2	126±3
50.	***LAB* sp.M50**	2.64±0.1	86±4	2.80±0.2	106±4	1.66±0.1	125±3
51.	***LAB* sp.M51**	2.84±0.3	87±2	3.04±0.3	90±1	1.68±0.2	100±2
52.	***LAB* sp.M52**	1.74±0.3	100±4	2.00±0.1	110±1	2.08±0.2	125±4
53.	***LAB* sp.M53**	1.20 ±0.1	110±3	1.80±0.2	120±2	1.86±0.1	128±4
54.	***LAB* sp.M54**	2.50 ±0.1	98±4	3.20±0.1	102±2	1.36±0.2	126±2

ՀԱՎԵԼՎԱԾ 5

"ՀԱՍՏԱՏՈՒՄ ԵՄ"
ՀՀ ԳԱԱ "Հայկենսատեխնոլոգիա" գ/ա Կենտրոնի տնօրեն
ՀՀ ԳԱԱ ակադեմիկոս Ա.Ս. Սաղյան
_____
"15" 04 2016թ.

ՏԵՂԵԿԱՆՔ

ՀՀ ԳԱԱ "Հայկենսատեխնոլոգիա" գիտաարտադրական Կենտրոնի "Մանրէների ավանդադրման կենտրոն" հիմնարկում շտամների ավանդադրման վերաբերյալ

Սույն տեղեկանքը տրված է առ այն, որ 2015թ. սեպտեմբերի 25-ին «Մանրէների ավանդադրման կենտրոն» հիմնարկը (ՄԱԿ) ավանդադրման նպատակով ընդունել է ԼՂՀ "Արցախի Գիտական Կենտրոն" ՊՈԱԿ-ի մանրէաբանական լաբորատորիայի գիտաշխատող Լիլյա Առստամյանի կողմից ներկայացված կաթնաթթվային բակտերիաների 5 շտամներ՝ *Lactobacillus jensenii* (1 շտամ), *Enterococcus durans* (3 շտամ), *Enterococcus faecium* (1 շտամ), անհրաժեշտ փաստաթղթերով:

Ավանդադրված շտամներին ՄԱԿ-ում տրվել են համապատասխան շիֆրերը և համարները՝ *Lactobacillus jensenii* – MDC 9634, *Enterococcus durans* – MDC 9635, MDC 9636, MDC 9637, *Enterococcus faecium* – MDC 9638:

Համաձայն սահմանված կարգի, շտամների փոխանցումն այլ կազմակերպությունների կամ ֆիզիկական անձանց, ինչպես նաև դրանց օգտագործումն առևտրային և արտադրական նպատակներով թույլատրվում է միայն հեղինակների գրավոր թույլտվությամբ:

Հիմք՝ ԼՂՀ "Արցախի Գիտական Կենտրոն" ՊՈԱԿ-ի մանրէաբանական լաբորատորիայի գիտաշխատող Լիլյա Առստամյանի 2015թ. սեպտեմբերի 25-ի դիմումը:

ՄԱԿ-ի ղեկավար Հ. Զարգարյան

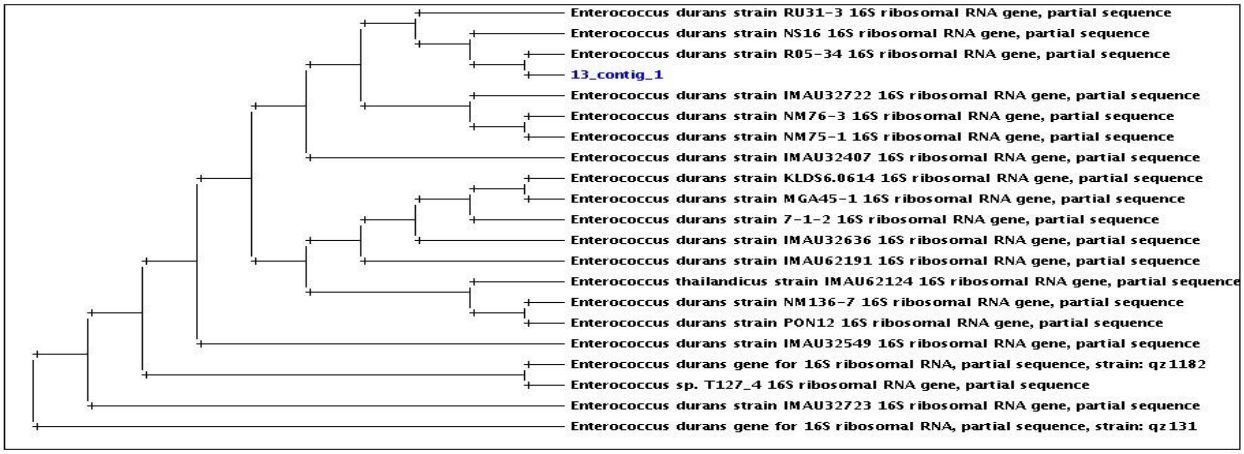
ՄԱԿ-ի Կուլտուրաների Հավաքածուի ղեկավար Մ. Կինոսյան

ՀԱՎԵԼՎԱԾ 6

Enterococcus durans P13-MDC 9635 շտամի տեսակային նույնականացման արդյունքները՝ 16S ռ-ՌՆԹ գենի նուկլեինաթթվային հաջորդականության մասնակի վերծանման հիման վրա

Query	Subject					Score			Identities			
End	**Description**	**AC**	**Length**	**Start**	**End**	**Bit**	**Raw**	**EV**	**Match**	**Total**	**Pct.(%)**	**Strand**
1169	Enterococcus durans strain NS16 16S ribosomal RNA gene, partial	KJ156980.1	1319	72	1239	2158	1168	0.0	1168	1168	100	Plus/Plus
1169	Enterococcus durans strain IMAU62191 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KF149829.1	1345	56	1223	2158	1168	0.0	1168	1168	100	Plus/Plus
1169	Enterococcus thailandicus strain IMAU62124 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KF149764.1	1339	61	1228	2158	1168	0.0	1168	1168	100	Plus/Plus
1169	Enterococcus durans strain IMAU32723 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KF149389.1	1415	91	1258	2158	1168	0.0	1168	1168	100	Plus/Plus
1169	Enterococcus durans strain IMAU32722 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KF149388.1	1331	63	1230	2158	1168	0.0	1168	1168	100	Plus/Plus
1169	Enterococcus durans strain IMAU32636 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KF149306.1	1417	88	1255	2158	1168	0.0	1168	1168	100	Plus/Plus

Name	ORF ID	Begin	End	Frame	Avg. Quality	Sequence	Protein Sequence
13_contig	orf00001	761	901	2	0.29	TTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCC GCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATT CGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGT CTTGACATCCTTTGACCACTCTAGAGATA GAGCTTCCCCTTCGGGGGCAAAGTGA	LKLKGIDGGPHKRWSMWFNSKQR EEPYQV LTSFDHSRDRASPSGAK*
13_conting	orf00002	1020	1136	3	2.25	GTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGA CGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTG GGCTACACACGTGCTACAATGGGAAGTAC AACGAGTCGCGAAGTCGCGAGGCTAAGC TAA	VTNRRKVGMTSNHHAPYDLGYTR ATMGST TSREVARLS*

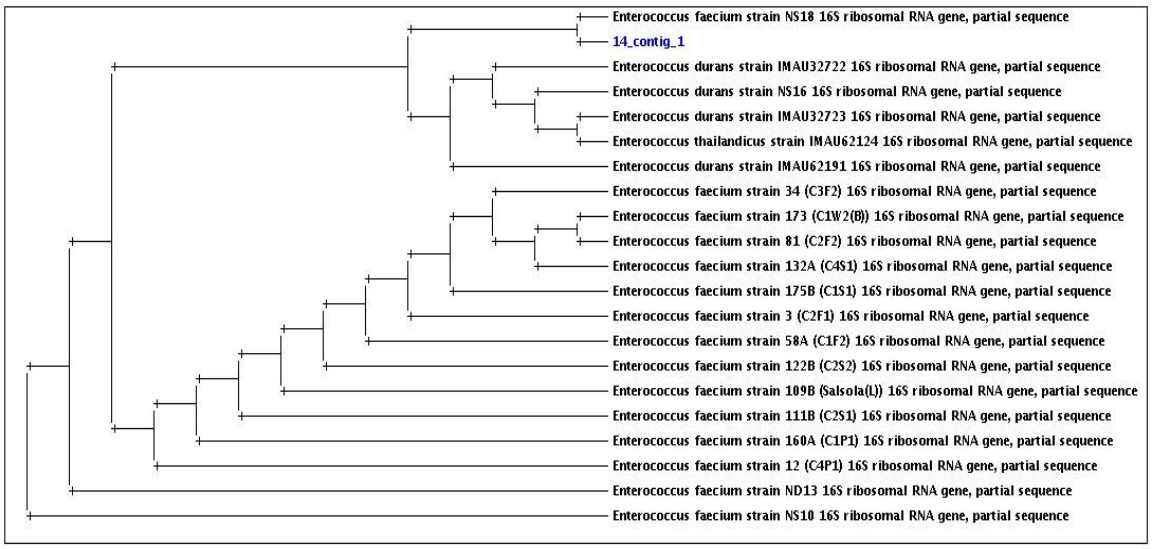


ՀԱՎԵԼՎԱԾ 7

Lactobacillus jenseni M14- MDC 9634 շտամի տեսակային նույնականացման արդյունքները՝ 16S ռ-ՌՆԹ գենի նուկլեինաթթվային հաջորդականության մասնակի վերծանման հիման վրա

Query		Subject					Score			Identities			Positives		
Star	End	Description	AC	Length	Start	End	Bit	Raw	EV	Match	Tota	Pct.(%)	Match	Tota	Pct.(%)
562	65	permease [Lactobacillus jensenii]	WP_00658	174	9	174	259	663	3e-82	138	166	83	143	166	86
436	65	hypothetical protein BN871_AB_00880 [Paenibacillus sp. P22]	CDN41090 .1	217	9 4	217	197	502	2	97	124	78	104	124	84
496	65	pg1 protein, homology to Homo sapiens [Lactobacillus crispatus ST1]	YP_00360 0533.1	144	1	144	214	544	8e-65	117	144	81	121	144	84
496	65	pg1 protein, homology to Homo sapiens [Lactobacillus crispatus ST1]	YP_00360 2124.1	144	1	144	211	538	7e-64	116	144	81	120	144	83
424	65	hypothetical protein, partial [Lactobacillus jensenii]	WP_00658 6439.1	120	1	120	201	511	3e-60	100	120	83	104	120	87

Name	ORF ID	Begin	End	Frame	Avg. Quality	Sequence	Protein Sequence
14_contig	orf00001	719	859	2	0.32	TTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCC GCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATT CGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGT CTTGACATCCTTTGACCACTCTAGAGATA GAGCTTCCCCTTCGGGGGCAAAGTGA	LKLKGIDGGPHKRWSMWFNSK QREEPYQV LTSFDHSRDRASPSGAK*
14_contig	orf00002	978	1094	3	2.25	GTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGA CGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTG GGCTACACACGTGCTACAATGGGAAGTAC AACGAGTCGCGAAGTCGCGAGGCTAAGC TAA	VTNRRKVGMTSNHHAPYDLGYT RATMGST TSREVARLS*



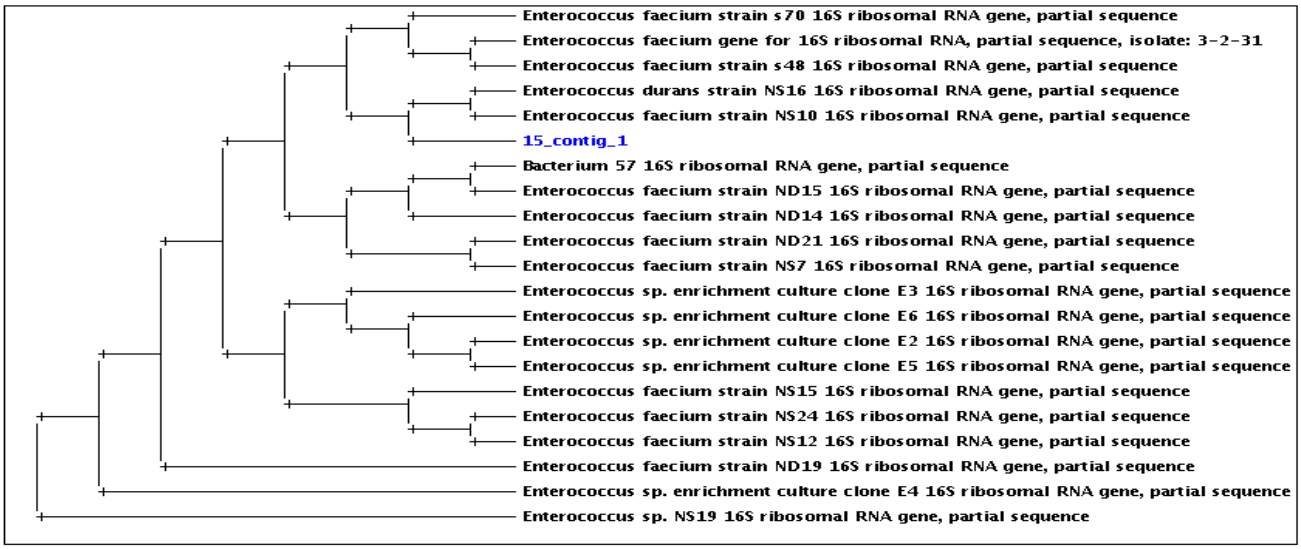
ՀԱՎԵԼՎԱԾ 8

Enterococcus faecium M22- MDC 9638 շտամի տեսակային նույնականացման արդյունքները՝ 16S ռ-ՌՆԹ գենի նուկլեինաթթվային հաջորդականության մասնակի վերծանման հիման վրա

GenBank: KJ508200.1

Query		Subject					Score			Identities			
Start	End	Description	AC	Length	Start	End	Bit	Raw	EV	Match	Total	Pct.(%)	Strand
1	979	Enterococcus faecium strain s70 16S ribosomal RNA gene, partial	KJ508200.1	1444	245	1223	1808	979	0.0	979	979	100	Plus/Plus
1	979	Enterococcus faecium strain s48 16S ribosomal RNA gene, partial	KJ508199.1	1442	242	1220	1808	979	0.0	979	979	100	Plus/Plus
1	979	Bacterium 57 16S ribosomal RNA	KJ436574.1	1144	80	1058	1808	979	0.0	979	979	100	Plus/Plus
1	979	Enterococcus faecium gene for 16S ribosomal RNA, partial sequence, isolate: 3-2-31	AB932549.1	1482	270	1248	1808	979	0.0	979	979	100	Plus/Plus
1	979	Enterococcus sp. enrichment culture clone E6 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KF670607.1	1442	244	1222	1808	979	0.0	979	979	100	Plus/Plus
1	979	Enterococcus sp. enrichment culture clone E5 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KF670606.1	1422	236	1214	1808	979	0.0	979	979	100	Plus/Plus

Name	ORF ID	Begin	End	Frame	Avg. Quality	Sequence	Protein Sequence
15_conting	orf00001	185	334	2	1.46	ATGAGAGTAACTGTTCATCCCTTGACGGT ATCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACG TGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGG CAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAA AGCGAGCGCAGGCGGTTTCTTAAGTCTGA TGTGA	MRVTVHPLTVSNQKATANYVPAA AVIRRW QALSGFIGRKASAGGFLSLM*
15_contig	orf00002	632	772	2	0.56	TTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCC GCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATT CGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGT CTTGACATCCTTTGACCACTCTAGAGATA GAGCTTCCCCTTCGGGGGCAAAGTGA	LKLKGIDGGPHKRWSMWFNSKQ REEPYQV LTSFDHSRDRASPSGAK*



ՀԱՎԵԼՎԱԾ 9

Enterococcus durans M42- MDC 9636 շտամի տեսակային նույնականացման արդյունքները՝ 16S ռ-ՌՆԹ գենի նուկլեինաթթվային հաջորդականության

Start	End	Description	AC	Length	Start	End	Bit	Raw	EV	Match	Total	Pct.(%)	Strand
3	1014	*Enterococcus durans strain NS1616S ribosomal RNA gene, partial*	KJ156980.1	1319	259	1269	1845	999	0.0	1008	1012	99	Plus/Plus
3	1014	*Enterococcus durans strain14070723 A51 16S ribosomal RNA*	KJ631376.1	1458	350	1360	1845	999	0.0	1008	1012	99	Plus/Plus
3	1014	*Enterococcus durans strain IMAU62191 16S ribosomal RNA gene, partial sequence*	KF149829.1	1345	243	1253	1845	999	0.0	1008	1012	99	Plus/Plus
3	1014	*Enterococcus thailandicus strain IMAU62124 16S ribosomal RNA gene, partial*	KF149764.1	1339	248	1258	1845	999	0.0	1008	1012	99	Plus/Plus

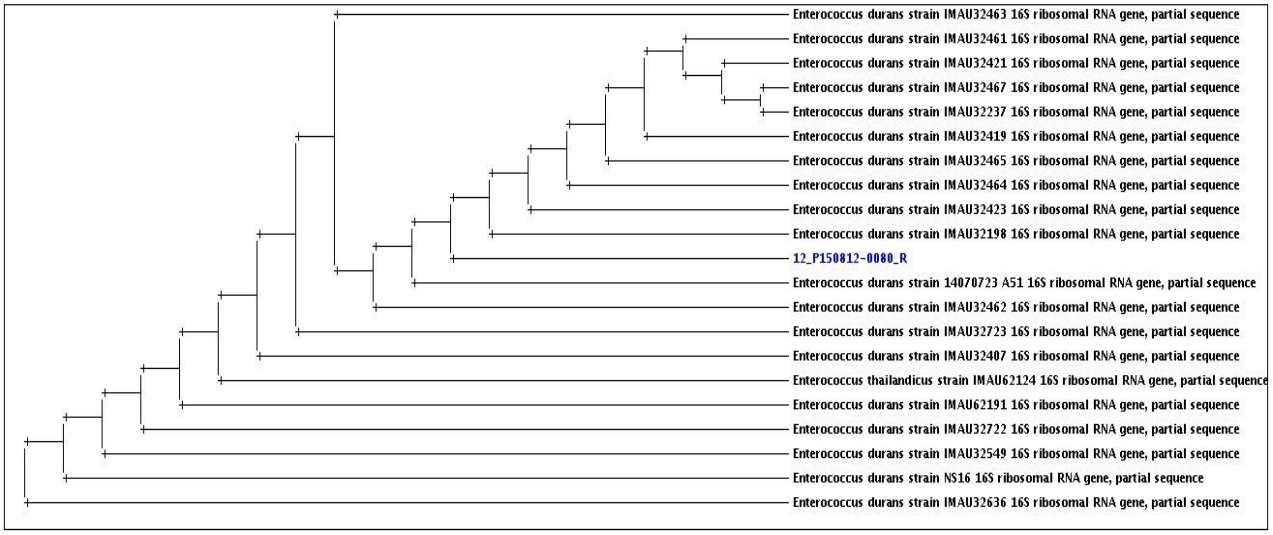
մասնակի վերծանման հիման վրա

Blast result -*Enterococcus durans* strain NS16 16S ribosomal RNA gene, partial sequence

GenBank: KJ156980.1

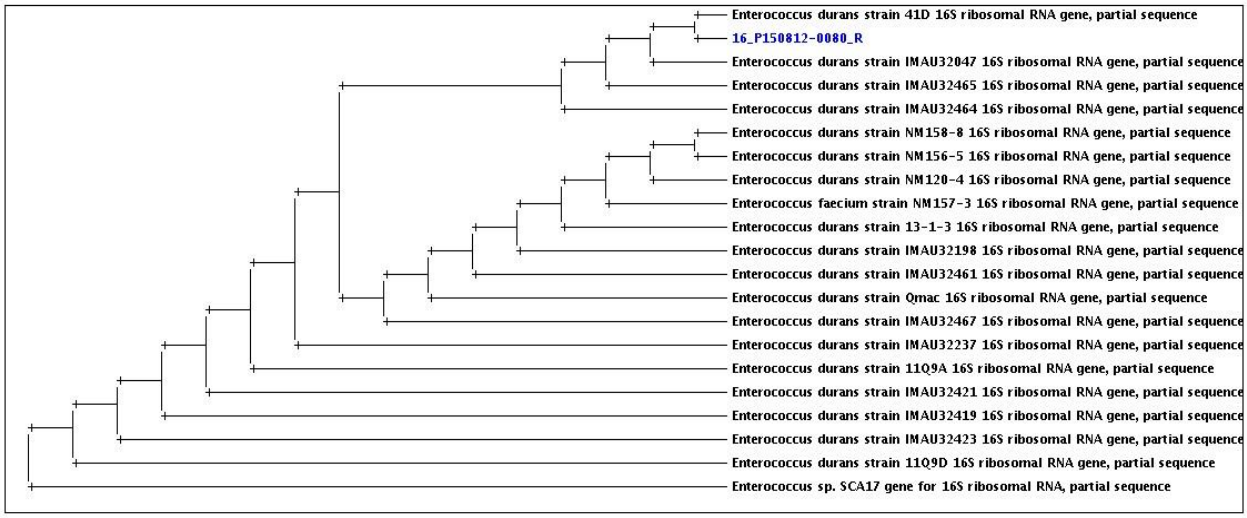
Subject	Score	Identities	

Name	ORF ID	Begin	End	Frame	Avg. Quality	Sequence	Protein Sequence
12_P150812-0080_R	orf00001	576	716	3	0.28	TTGAAACTCAAAGGAATTGACGGGGGCCCGCACAAGCGGTGGAGCATGTGGTTTAATTCGAAGCAACGCGAAGAACCTTACCAGGTCTTGACATCCTTTGACCACTCTAGAGATAGAGCTTCCCCTTCGGGGGCAAAGTGA	LKLKGIDGGPHKRWSMWFNSKQREEPYQVLTSFDHSRDRASPSGAK*
12_P150812-0080_R	orf00002	835	951	1	2.25	GTGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCTACACACGTGCTACAATGGGAAGTACAACGAGTCGCGAAGTCGCGAGGCTAAGC TAA	VTNRRKVGMTSNHHAPYDLGYTRATMGST TSREVARLS*



ՀԱՎԵԼՎԱԾ 10

*Enterococcus durans*M44- MDC 9637 շտամի տեսակային նույնականացման արդյունքները՝ 16S ռ-ՌՆԹ գենի նուկլեինաթթվային հաջորդականության մասնակի վերծանման հիման վրա

Query		Subject					Score			Identities			
Start	End	Description	AC	Length	Start	End	Bit	Raw	EV	Match	Total	Pct.(%)	Strand
1	957	Enterococcus durans strain IMAU32467 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KF149142.1	1315	176	1162	1591	861	0.0	950	987	96	Plus/Plus
1	957	Enterococcus durans strain IMAU32465 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KF149140.1	1343	182	1168	1591	861	0.0	950	987	96	Plus/Plus
1	957	Enterococcus durans strain IMAU32464 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KF149139.1	1347	186	1172	1591	861	0.0	950	987	96	Plus/Plus
1	957	Enterococcus durans strain IMAU32461 16S ribosomal RNA gene, partial sequence	KF149136.1	1329	174	1160	1591	861	0.0	950	987	96	Plus/Plus

Name	ORF ID	Begin	End	Frame	Avg. Quality	Sequence	Protein Sequence
16_P1508-0082_R	orf00001	42	182	3	3.2	ATGAGCGTGTATTCCGGCACCTTAACTCC ACGTTCGGTTCATCCCGCATCGCCAGTTCT GCTTACCAAAAATGGCCCACTAAAAGCTC TTCATTCAAATGTCCACGTTCAATTAAGC AACAAGGACTTCTTACATATTTAA	MSVYSGTLTPRSVHPAS PVLLTKNGPLKAL HSNVHVQLSNKDFLHI*
16_P1508-0082_R	orf00003	731	883	2	0.93	ATGCTGGCCCAGCGAAAGCCGAAGCAAA CGCCATGTCTGATCAAATGCCCTTCCCTTT CAACAATTTCACGTACTTTTTCACTCTCTT TTCAAAGTTCTTTTCATCTTTCCATCACTG TACTTGTTCGCTATCGGTCTCTCGCCAATA TTTAG	MLAQRKPKQTPCLIKCPS LSTISRTFSLSFQS SFHLSITVLVRYRSLANI*