

Уламжлалт сүүн бүтээгдэхүүнээс ялгасан сүүн хүчлийн бактерийн биологийн идэвхийн судалгаа

Викторын Оюунтуяа¹, Сэнгэноровын Мөнхжаргал², Ганзоригийн Оюундэлгэр¹, Мөнгөнхуягийн Хонгорзул¹, Жигжиддоржийн Энх-Амгалан², Батдоржийн Батжаргал^{1*}

¹Биологийн тэнхим, Шинжлэх ухааны сургууль Монгол Улсын их сургууль, Залуучуудын өргөн чөлөө 1, 14200, Улаанбаатар хот

²Микробиологийн лаборатори, Биологийн хүрээлэн, Шинжлэх ухааны академи, Баянзүх дүүрэг 13330, Энхтайвны өргөн чөлөө 54б, Улаанбаатар хот

*Холбоо баригч зохиогч: batjargal@num.edu.mn

 <https://orcid.org/0000-0001-5704-0087>

Хүлээн авсан: 03.02.2022

Хянасан: 23.05.2022

Хэвлэлтэд орсон: 10.06.2022

Хураангуй

Сүүн хүчлийн бактериуд амьдралын үйл ажиллагааны дүнд олон төрлийн биологийн идэвхт бодисын солилцооны бүтээгдэхүүнүүдийг үүсгэж байдаг. Жишээ нь, сүүн хүчлийн бактерийн протеолитик энзимийн нөлөөгөөр сүүний уургийн задралын дүнд үүсдэг бага молекулт уураг, пептидүүд дархлаа дэмжих, цусны даралт бууруулах, бактерийн эсрэг үйлчлэх, исэлдэлтийн эсрэг идэвх үзүүлэх зэрэг биологийн олон чухал үйлчлэл үзүүлдэг. Энэхүү судалгаагаар уламжлалт аргаар бэлтгэсэн гүүний айраг, сарлагийн сүү, сүүн бүтээгдэхүүнээс сүүн хүчлийн бактери байх магадлалтай нийт 18 цэвэр өсгөврийг ялгаж, биологийн идэвхийг тодорхойлов. Сүүн хүчлийн бактериудын протеолитик идэвхийг сүүний казеин задлах идэвх болон ОРА аргаар тодорхойлоход D3-1, D13-1, A19-7, A19-9 өсгөврүүд сүүтэй агарт 4-10 мм тунгалаг зон, 1338 – 1872 ммоль/л чөлөөт амин хүчлийг үүсгэж байв. Бактерийн эсрэг идэвхийг шалгахад D3-1, D6-1, A19-6, A19-7 өсгөврүүд грам эерэг болон сөрөг 5 өөр зүйлийн өвчин үүсгэгчийн өсөлтийг хүчтэй дарангуйлж байсан бол дээрх өсгөврүүд DPPH чөлөөт радикалыг 56.67-86.64% дарангуйлах идэвхтэй болохыг илрүүллээ. Биологийн идэвхийн үр дүнд үндэслэн протеолитик болон антиоксидант идэвхтэй сүүн хүчлийн бактерийн 4 өсгөврийг 16S рРНХ генийн дарааллыг харьцуулах аргаар тодорхойлоход D3-1 өсгөвөр *Lactobacillus plantarum* (98.76%), D13-1 өсгөвөр *Lactobacillus fermentum* (99.42%), A19-7 өсгөвөр *Streptococcus thermophilus* (99.90%), A19-9 өсгөвөр *Lactobacillus kefir* (98.04%) зүйлд хамаарагдаж байгааг тогтоов. Эдгээр өсгөврүүд хүний хоол боловсруулах системийн ходоодны хүчил, цөстэй орчныг 3-8 цаг тэсвэрлэдэг пробиотик шинж чанартай учраас цаашид нарийвчлан судалж, функциональ хүнсний хөрөнгө болгон ашиглах, биологийн идэвхт бүтээгдэхүүн гарган авах технологи хөгжүүлэлтийн судалгаанд ашиглах боломжтой хэмээн дүгнэж байна.

Түлхүүр үг: Протеолитик идэвх, пробиотик идэвх, биологийн идэвхт пептид

Оршил

Сүүний ферментацийн явцад сүүн хүчлийн бактерийн протеолитик энзимийн нөлөөгөөр сүүний уураг задарч, биологийн идэвхтэй нэгдэл болох пептид, чөлөөт амин хүчлүүд үүсдэг. Эдгээр биоидэвхт пептидүүд дархлаа дэмжих, цусны даралт бууруулах болон өвчин үүсгэгч бактерийн ба исэлдэлтийн эсрэг идэвх үзүүлэх зэрэг биологийн олон чухал үйлчлэл үзүүлдэг. Сүүн хүчлийн бактериудын уураг задлах чадварт эсийн

доторх эндо-, тэжээлийн орчиндоо ялгаруулдаг экзо-энзимүүд оролцдог байна. *Lactobacillus helveticus*, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis* зүйлийн сүүн хүчлийн бактериуд стрептококкуудтай харьцуулахад уураг задлах идэвх өндөртэй болох нь тогтоогджээ [1–5]. Сүүн хүчлийн бактерийн протейназууд өндөр молекул жинтэй (180-190 кДа) [6], оптимум рН 5.5-6.5 ба изоэлектрик цэг нь 4.40-4.55, Ca²⁺ ионоор

идэвхжиж, тогтворждог мономер серин-протейназа бөгөөд бактерийн эсийн хананд байрладаг [3, 7]. Протейназа энзимийн тусламжтай сүүний задрал явагдаж, үүссэн урт олигопептидууд пептидаза ферментээр дахин гидролизд орсноор биологийн идэвхтэй пептидүүд үүсгэдэг[3]. Эдгээрээс гадна сүүн хүчлийн бактериуд нь бодисын солилцооны явцдаа өвчин үүсгэгч бактериудын эсрэг идэвх үзүүлэх чадвартай сүүний хүчил, бактериоцин, устөрөгчийн хэт исэл, додецил гэх мэт олон төрлийн нэгдүүдийг үүсгэж байдаг [8].

Гүүний айраг нь сүүн хүчлийн бактери, дрожжийн өвөрмөц исэлдэлтийн дүнд бий болдог ба исэлдэлтийн явцад олон төрлийн биологийн идэвхт нэгдлүүд, уураг пептидүүдийг үүсгэдэг нь түүний эмчилгээний ач холбогдолтой шууд холбоотой байна. Ялангуяа уламжлалт аргаар исгэсэн гүүний айрагны эмчилгээ,

Судалгааны материал, арга зүй

Судалгаанд Монгол Улсын Их Сургуулийн Шинжлэх Ухааны Сургуулийн Биологийн тэнхимийн Хүнсний биотехнологийн лабораторид -80°C -д хадгалагдаж байсан айраг (Дундговь, 2018), сарлагийн өрөм, тараг, сүүний (Архангай аймаг Булган сум, 2018) дээжийг ашиглав.

Сүүн хүчлийн бактерийн цэвэр өсгөвөр ялгах
Айраг болон сарлагийн сүүгээр бэлтгэсэн тараг, өрөмний дээжээс (5%) авч ариутгасан тослоггүй сүүнд тарьж, 37°C -д 24 цаг өсгөвөрлөж, MRS шингэн тэжээлийн орчинд адил нөхцөлд 2 удаа баяжуулсны дараа MRS агар хатуу тэжээлт орчинд гүний тарилга хийж, цэвэр өсгөврүүдийг ялгана. Ялгасан цэвэр өсгөврүүдийн морфологи, биохимийн шинж чанарууд дээр үндэслэн грам эерэг [9], каталаза сөрөг [10] өсгөврүүдийг цаашдын судалгаанд сонгон авна. Цэвэр өсгөврүүдийг глицеролтой (20%) MRS шингэн тэжээлийн орчинд -20°C температурт хадгална.

Сүү бүрэлдүүлэх, ерөнхий хүчиллэгийг тодорхойлох

Цэвэр өсгөврийн колониос микробиологийн гогцоогоор авч 10 мл тослоггүй сүүнд тарьж 37°C термостатад 24 цаг өсгөвөрлөнө. Өсгөвөрлөх явцад 2 цаг тутам сүүний бүрэлдэлтийг шалгана. 150-200 мл конус колбонд 10 мл дээж хэмжин авч 20 мл нэрсэн ус, 2-3 дусал 0.1% фенолфталеины спиртэн уусмал дусааж сайтар холиод 0.1 н натрийн шүлтийн уусмалаар титрлэнэ. Титрлэлтийн

сувилгааны чанарыг 19-р зууны үеэс судалсаар ирсэн бөгөөд хүний ходоод гэдсэнд хялбархан боловсорч шингэдэг онцлогтой. Ялангуяа сүрьеэ, уушгины архаг үрэвсэлт өвчнүүдийн үед айргийг өргөн хэрэглэдэг байсан төдийгүй чийг бам, ходоод гэдэсний өвчтэй хүмүүс, мөн удаан хугацаагаар өвдөж бие сульдсан, эмийн хордлого, ядаргаатай хүмүүс уухад хялбархан тэнхэрдэг тухай тэмдэглэсэн байна. Ahmed. M [8] нарын судалгаагаар айргийг өдөрт 250 мл хэрэглэхэд цусан дахь холестеролын хэмжээг бууруулж байгааг тогтоожээ. Иймд бид энэхүү судалгааны ажлын хүрээнд сүүн хүчлийн бактери, дрожжийн өвөрмөц исэлдэлтийн дүнд бий болдог гүүний айраг, сарлагийн сүүгээр бэлтгэсэн тараг, өрөмний дээжээс протеолитик идэвхтэй сүүн хүчлийн бактери ялган авч, биологийн идэвхийг судлах зорилго тавин ажиллалаа.

цэгийг 15 секунд ягаан өнгө арилахгүй байхаар тогтооно. Тернерийн градусаар илэрхийлэгдэх сүүний исгэлэн нь 10 мл сүүг саармагжуулахад зарцуулсан 0.1 н натрийн шүлтийн хэмжээг (мл) 10-аар үржүүлсэнтэй тэнцэнэ [11].

Сүүн хүчлийн бактерийн протеолитик, бактерийн эсрэг идэвхийг тодорхойлох

Сүүн хүчлийн бактерийн протеолитик идэвхийг сүүтэй агар задлах Мөнхцэцэг [12] нарын аргаар, протеаза энзимийн идэвхийг Graciela Savoy de Giori [13] нарын офталальдегид (OPA) болон β -меркаптоэтанол анхдагч аминуудтай ордог урвал дээр үндэслэн OPA аргаар тус тус тодорхойлов.

Сүүн хүчлийн бактерийн цэвэр өсгөврийн шингэнд грам эерэг, сөрөг *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* болон *Staphylococcus aureus* 5 зүйлийн өвчин үүсгэгч бактерийн эсрэг идэвхийг агар диффузийн аргаар тодорхойлов [10, 14]. Өвчин үүсгэгчдийн өсөлтийг дарангуйлах идэвхийг үүсгэсэн ариун зоны хэмжээгээр тодорхойлно.

Пробиотик идэвх тодорхойлох арга

Сүүн хүчлийн бактерийн хүчтэй хүчиллэг орчинд тэсвэрлэх чадварыг Chang [15, 16] нарын аргаар, цөс тэсвэрлэх чадварыг Graciela Font de Valdez [17] нарын аргаар тус тус тодорхойлов.

Антиоксидант идэвх тодорхойлох арга

Өсгөврийн шингэнийг бэлтгэхдээ MRS шингэн тэжээлт орчинд өсгөврөөс 1%-иар тарьж 37°C-д 18 цаг өсгөвлөж, 10000 грм хурдаар 5 минут центрифугдэн 0.45 мкм шүүлтүүрээр шүүнэ [18]. DPPH (1.1-дифенил-2-пикрилгидразил, 0.004%) уусмалыг 95%-ийн этанолд уусган 2 мл-ийг

авч 2 мл дээжтэй холино. Холимгийг тасалгааны температурт харанхуй газар 30 минут байлгаад гэрлийн шингээлтийг 517 нм долгионы уртад хэмжинэ. 0.02 мг/мл концентрацитай аскорбины хүчлийг харьцуулах уусмалаар ашиглана.

$$\text{DPPH дарангуйлах идэвх (\%)} = [(A(\text{хяналт}) - A(\text{дээж})) / A(\text{бланк})] \times 100$$

Сүүн хүчлийн бактерийн ангилал зүйг тодорхойлох арга

Сүүн хүчлийн бактерийн геномын ДНХ-г Prepman@ultra sample preparation reagent цомгийг ашиглан ялгана. 16S рРНХ генийг 9F (5'-GAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'), 1541R (5'-AAGGAGGTGATCCAGCC-3') хос праймер ашиглаж полимеразын гинжин урвал (ПГУ)-ын аргаар олшруулав. ПГУ-ыг GeneAmp PCR system 9700 (Applied Biosystem) машинд 95°C-д 3 мин, (95°C-д 30

сек, 55°C-д 15 сек, 72°C-д 1 мин) x 30 цикл, 72°C-д 5 мин нөхцөлөөр явуулсан. ПГУ-ын бүтээгдэхүүнийг "Quick Tissue/Culture Cells DNA Extraction Kit" цомгийг ашиглаж цэвэршүүлсэн. Үр дүнг NCBI-мэдээллийн санд оруулж BLAST хайлтын системийн үр дүнд харьцуулан тодорхойлов. Энэхүү туршилтуудыг 3 давталттай гүйцэтгэж, стандарт хазайлт, алдааг тооцоолов.

Судалгааны үр дүн

Айраг болон сарлагийн тараг, өрөмний дээжээс тослоггүй сүү, MRS шингэн тэжээлийн орчинд 3 удаа баяжуулан, бактерийн 21 цэвэр өсгөвөр ялгаснаас сүүн хүчлийн бактери байх магадлалтай грам эерэг, каталаза сөрөг 18 өсгөврийг сонгон авч, эсийн хэлбэрзүйг тогтооход кокк, гинжилсэн кокк, савханцар хэлбэртэй байв. Колоний

шинж чанарыг хэлбэр, өнгө, зах, гадаргуу, хэмжээгээр тодорхойлоход 0.5-1.5 мм хэмжээтэй, колони цагаан өнгөтэй, дугуй хэлбэртэй, тэгш захтай, гөлгөр гадаргуутай байв. Сонгосон 18 өсгөврийн протеолитик идэвх, сүү бүрэлдүүлэх идэвх, хүчиллэг үүсгэлтийг тодорхойлсон ба үр дүнг Хүснэгт 1-д үзүүлэв.

Table 1

The result of proteolytic activity and total acidity of Lactic acid bacteria

№	Isolates	Clear zone size produced on milk agar medium, mm	Milk clotting time, hour				Titratable acidity, °T
			2	4	6	24	
1	D3-1	+++	-	-	+	+	100
2	D6-1	++	-	-	-	+	105
3	D6-2	++	-	-	-	+	95
4	D10-1	++	-	-	-	+	100
5	D13-1	+++	-	-	+	+	118
6	A19-6	++	-	-	+	+	135
7	A19-7	+++	-	-	+	+	110
8	A19-8	+	-	-	+	+	110
9	A19-9	++	-	-	+	+	125.5
10	A19-10	+	-	-	-	+	85
11	A19-11	-	-	-	-	+	90.5
12	A19-12	++	-	-	-	+	85
13	A19-13	-	-	-	-	+	70.5
14	A19-14	++	-	-	-	+	80

15	A19-15	-	-	-	-	+	70
16	A19-16	-	-	-	-	+	85
17	A19-17	+++	-	-	-	+	95
18	A19-18	++	-	-	-	+	85

Үр дүнгээс харахад D3-1, D6-1, D6-2, D10-1, D13-1, A19-6, A19-7, A19-8, A19-9, A19-17 өсгөврүүд сүүний казейныг 3-5 мм хүрээ үүсгэн задалсан. D3-1, D13-1, A19-6, A19-7, A19-8, A19-9 өсгөврүүд 6 цагт сүүг бүрэлдүүлэв. Мөн өсгөврүүдийн 24 цагт хүчиллэг үүсгэлтийг тодорхойлоход D3-1, D13-1, A19-6, A19-7, A19-8 болон A19-9 өсгөврүүд 100-135 °Т хүчиллэг үүсгэх

чадвартай байлаа.

Сүүтэй агар задлах идэвх өндөр, хүчиллэг үүсгэх чадвартай өсгөврүүдийг сонгон авч протеолитик идэвхийн тоон тодорхойлолтыг ОРА аргаар тодорхойлоход D3-1, D13-1, A19-7, A19-9 өсгөврүүд 1338-1872 ммоль/л амин хүчлийг чөлөөлж байгааг тогтоолоо (Figure 1).

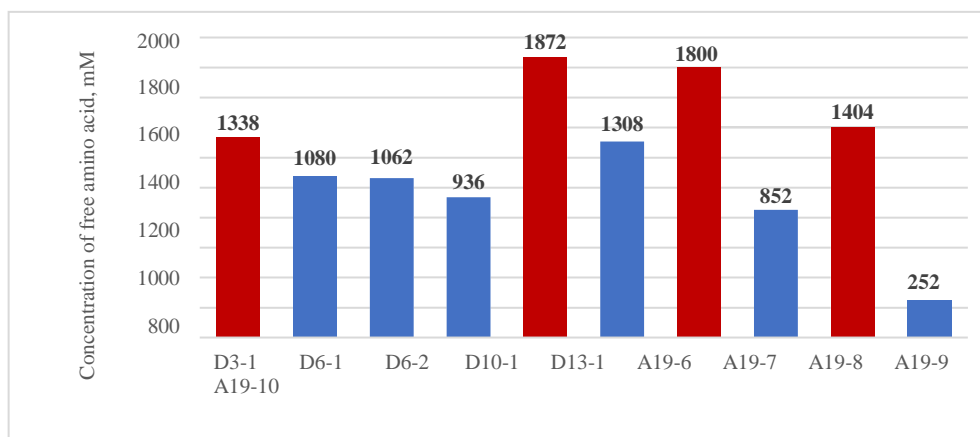


Figure 1. The result of proteolytic activity by OPA method of Lactic acid bacteria

Бактерийн эсрэг идэвх тодорхойлсон үр дүн Сонгосон 18 өсгөврийн бактерийн эсрэг идэвхийг *E.faecalis*, *P.aeruginosa*, *B.subtilis*, *E.coli* болон *S.aureus* өвчин үүсгэгч омгуудыг ашиглан тодорхойлоход сарлагийн сүү, тараг, өрөмний дээжээс ялгасан D3-1, D6-1, D6-2

өсгөврүүд бүх омгуудын өсөлтийг 2-10 мм ариун зон үүсгэж дарангуйлсан. Айргийн дээжээс ялгасан өсгөврүүдээс A19-6, A19-7 өсгөврүүд 4-10 мм ариун зон үүсгэж омгуудын өсөлтийг тус тус дарангуйлж байлаа.

Table 2

Antibacterial activity of Lactic acid bacteria from Mongolian traditional milk products

№	Isolates	pH	Inhibition zone, mm				
			<i>E.coli</i>	<i>E.faecalis</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>B.subtilis</i>	<i>S.aureus</i>
1	D3-1	4.5	+++	++	+	++	++
2	D6-1	4	+++	++	+	++	++
3	D6-2	4	++	++	++	+	++
4	D10-1	5	+	+	-	-	+
5	D13-1	5	+	-	+	-	+
6	A19-6	4	++	+++	+++	++	+++
7	A19-7	4	+++	+++	++	++	+++
8	A19-8	5	+	-	+	-	+
9	A19-9	4.5	+	-	+	-	+
10	A19-10	5.5	-	-	-	-	-
11	A19-11	6	-	+	+	+	+

12	A19-12	6.5	+	-	-	-	-
13	A19-13	6	+	+	-	-	-
14	A19-14	5.5	-	+	+	+	+
15	A19-15	4.5	-	-	-	-	-
16	A19-16	6	-	-	+	-	+
17	A19-17	4	++	++	+	-	+
18	A19-18	4.5	+	-	-	+	-

Notes: +++ (6-10 мм); ++ (4-5); + (1-3); - (Not detected)

Сүүн хүчлийн бактерийн пробиотик идэвхийг тодорхойлсон үр дүн

Сүүн хүчлийн бактерийн пробиотик шинж чанарыг илтгэх гол үзүүлэлтүүд нь хоол боловсруулах системийн хүчтэй хүчил, шүлтийн орчинг тэсвэрлэх чадвар юм. Эрүүл насанд хүрсэн хүний хоол боловсруулах эрхтэн тогтолцоонд цэсний концентраци 0.3% байдагт үндэслэн ялгаж авсан сүүн хүчлийн бактериудын цэс тэсвэрлэх чадварыг 0.3%-ийн цэстэй орчинд, ходоодны хүчилд тэсвэрлэх чадварыг рН 1.5, 2.0 хүчиллэг орчинд тус

тус өсгөвөрлөн шалгав.

Зураг 2а-ийн үр дүнгээс харахад протеолитик идэвх өндөртэй D3-1, D13-1, A19-7, A19-9 өсгөврүүд цэстэй орчинд 8 цагийн турш тасралтгүй өсөж байгаа нь эдгээр өсгөврүүд нарийн, бүдүүн гэдэсний замын цэстэй орчинг тэсвэрлэн амьдрах чадвартайг илтгэж байна. Мөн хүчиллэг орчинг тэсвэрлэх чадварыг шалгахад дээрх 4 өсгөвөр 3 цагийн хугацаанд хүчиллэг орчинг тэсвэрлэх чадвартай байв.

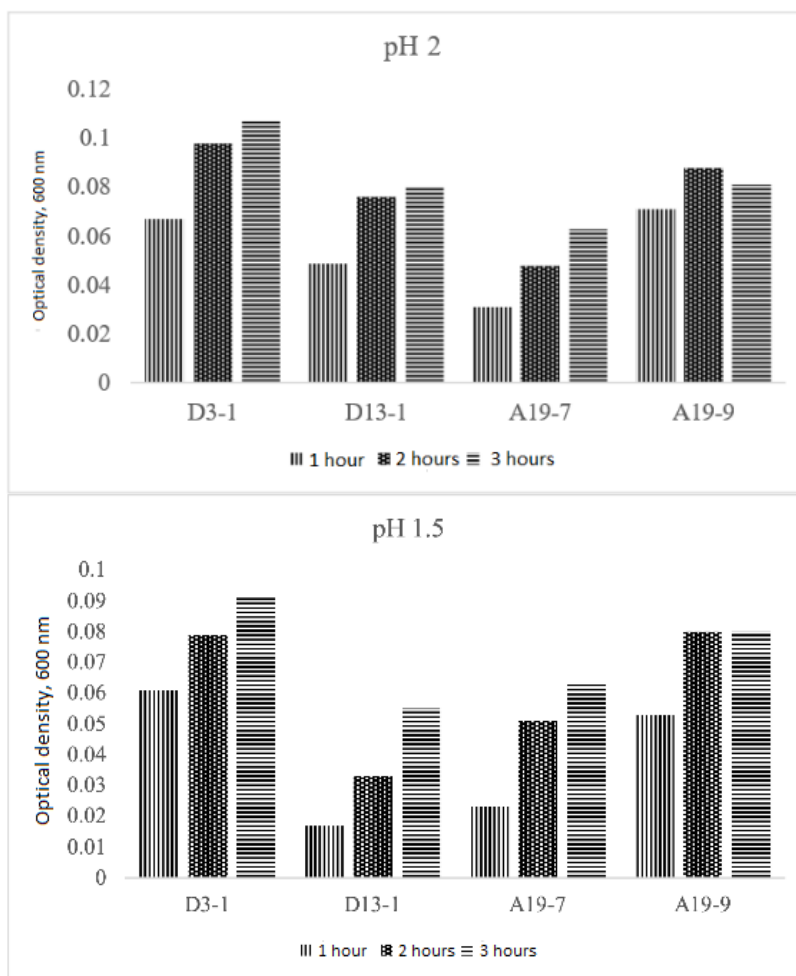


Figure 2a. Gastric acid tolerance of LAB with potent proteolytic activity

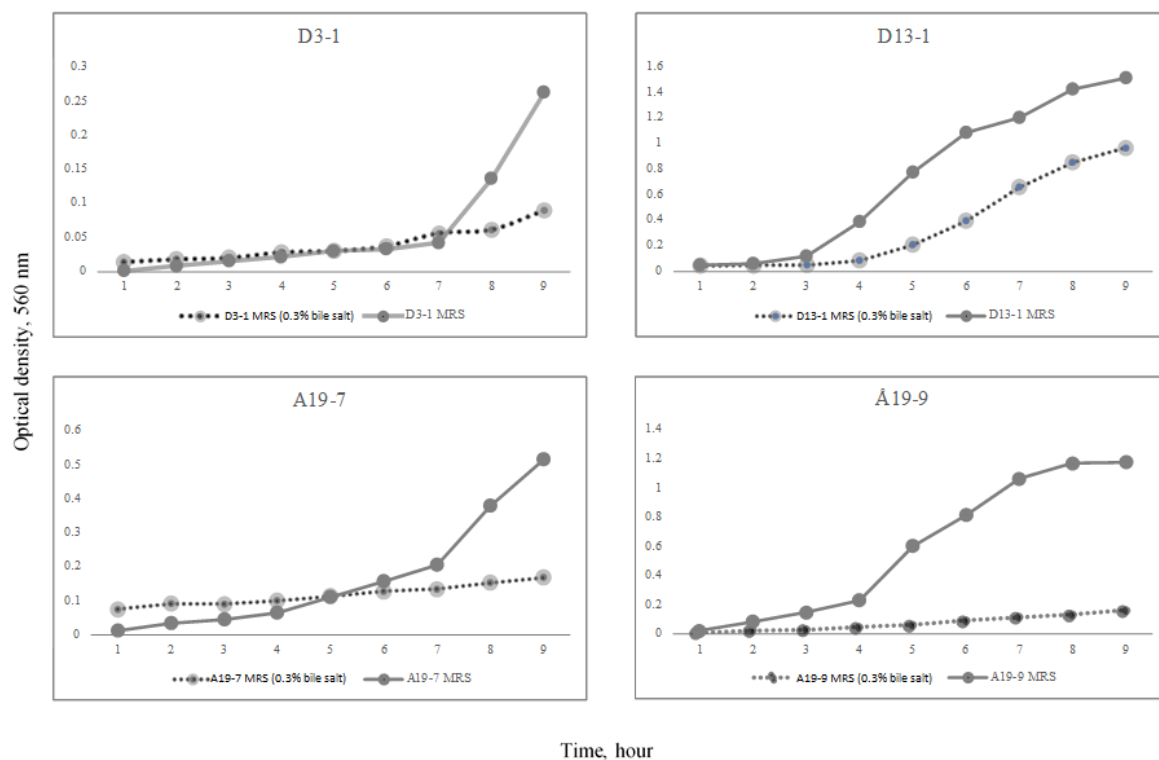


Figure 2b. Bile salt tolerance of LAB with potent proteolytic activity

Ферментацийн бүтээгдэхүүнээс казейныг салган антиоксидант идэвхийг тодорхойлоход D3-1, D13-1, A19-7, A19-9 өсгөврүүд DPPH чөлөөт радикалийг 56.67-

86.64% дарангуйлах идэвх үзүүлсэн. Үр дүнг Зураг 3-т нэгтгэн харуулав.

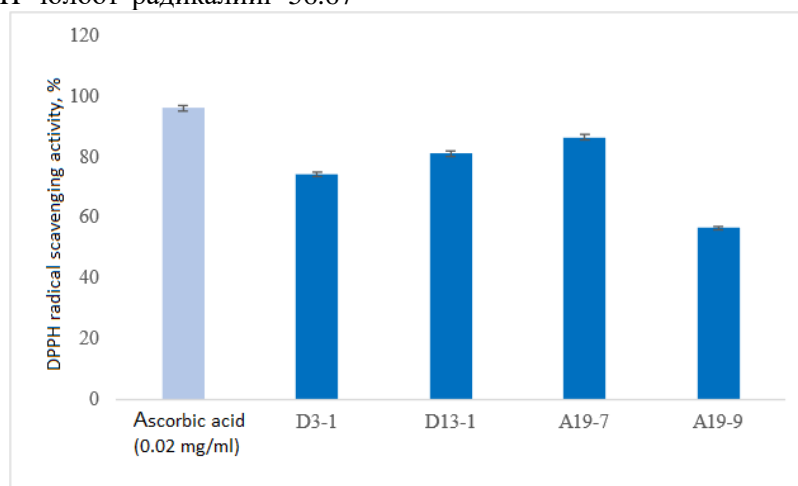


Figure 3. Antioxidant activity of LAB with potent proteolytic activity

Эцэст нь протеолитик энзимийн идэвх өндөр, антиоксидант идэвхтэй сүүн хүчлийн бактерийн 4 өсгөврийн (D3-1, D13-1, A19-7, A19-9) ангилал зүйг 16S рРНХ генийн дарааллыг харьцуулах аргаар тодорхойлоход D3-1 өсгөвөр *Lactobacillus*

plantarum (98.76%), D13-1 өсгөвөр *Lactobacillus fermentum* (99.42%), A19-7 өсгөвөр *Streptococcus thermophilus* (99.90%), A19-9 өсгөвөр *Lactobacillus kefir* (98.04%) зүйлд хамаарагдаж байгааг тогтоолоо.

Шүүн хэлэлцэхүй

Монголын уламжлалт сүү цагаан идээ түүний дотор гүүний айргийн микрофлорын судалгаа харьцангуй сайн хийгдсэн байдаг ба *L.helveticus*, *L.kefiri*, *L.paracasei*, *L.plantarum*, *L.farciminis*, *L. casei*, *L.delbrueckii ssp. bulgaricus*, *L.fermentum*, *L.hilgardii*, *E.faecalis*, *E.durans* *S.dairensis* зүйлийн сүүн хүчлийн бактериуд зонхилон тохиолддог [14, 19]. Харин сарлагийн сүүний микрофлорын бүрдэлд *L. casei*, *L.fermentum*, *L.kefiranoferens*, *L.plantarum*, *L.brevis*, *L. buchneri*, *L.lactis*, *L.mesenteroides*, *L. lactis ssp. cremoris*, *S.thermophilus*, *E.faecalis*, *E.durans* зүйлүүдийг илрүүлсэн байдаг [20]. Эдгээр зүйлийн сүүн хүчлийн бактериуд сүүний ферментацид чухал үүрэг гүйцэтгэж исгэлэн сүүн бүтээгдэхүүний өвөрмөц амт, үнэр, тэжээллэг чанарыг бүрдүүлэх гол хүчин зүйл болдог [18, 21]. Сүүлийн жилүүдэд функциональ хүнс түүний дотор сүүн хүчлийн бактерийн ялгаруулдаг биологийн идэвхт нэгдлийн судалгаа эрдэмтдийн анхаарлыг ихээр татаж энэ талын судалгаа эрчимжиж байна. Сүүний уургийн задралын дүнд сүүн хүчлийн бактерийн протеолитик энзимийн нөлөөгөөр биологийн идэвхт пептидүүд үүсэх [11, 22, 23] ба сүүний уургийн гаралтай пептидүүд хүнс тэжээлийн ач холбогдолтойгоос гадна дархлаа дэмжих, цусны даралт бууруулах, бактерийн эсрэг үйлчлэх, исэлдэлтийн эсрэг идэвх үзүүлэх зэрэг биологийн олон чухал үйлчлэл үзүүлдэг [21, 22]. Бид энэхүү судалгаагаар протеолитик идэвхтэй *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus fermentum*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus kefiri* 4 зүйлийн сүүн хүчлийн бактерийг ялган авсан ба тус зүйлүүдийн протеолитик идэвхийн судалгааг БНХАУ (Jin-cai, 2015), Австралийн (Donkor, 2006) эрдэмтэд

Дүгнэлт

Энэхүү судалгаагаар гүүний айраг болон сарлагийн сүү, сүүн бүтээгдэхүүнээс сүүн хүчлийн бактериудыг ялгаж, тэдгээрийн биологийн идэвхийг судлахад *Lactobacillus plantarum* (D3-1), *Lactobacillus fermentum* (D13-1), *Streptococcus thermophilus* (A19-7), *Lactobacillus kefiri* (A19-9) 4 зүйлийн сүүн хүчлийн бактериуд протеолитик, антиоксидант идэвх өндөртэй, хоол

тодорхойлж байжээ [23, 24]. Jivka (2014), Jin-cai (2015) нарын судалгаагаар сүүн хүчлийн бактерийн протеолитик идэвх ферментацийн 0-12 цагийн хугацаанд чөлөөлөгдсөн амин хүчлийн хэмжээ 0.01-0.50 mM байсантай бидний судалгааны дүн ойролцоо байна. Сүүн хүчлийн бактерийн протеолитик энзимийн идэвх ферментацийн хугацаа, нөхцөл, бактерийн зүйл гэх мэт олон хүчин зүйлээс хамаардаг [1, 25].

Сарлагийн сүүний дээжээс ялгасан сүүн хүчлийн бактерийн пробиотик шинж чанарыг тодорхойлсон судлаачдын үр дүнгээс харахад *Lactobacillus plantarum* [20], айргаас ялгасан *Lactobacilli* төрлийн сүүн хүчлийн бактерийн 7 өсгөврийн пробиотик идэвхийг судлахад хоол боловсруулах замын ходоодны хүчил, цөстэй орчинг 3-8 цаг тэсвэрлэх чадвартай байсан нь бидний судалгааны үр дүнтэй дүйцэж байна. Мөн Magyam [26] нар протеолитик идэвх бүхий сүүн хүчлийн бактерийн 7 өсгөврийг тослоггүй сүүнд тарьж 72 цаг ферментаци явуулж, ферментацийн хугацаа антиоксидант идэвхийг хамааруулан судлахад 24-72 цагт 14.7-50.8% чөлөөт радикалыг дарангуйлах идэвхтэй байжээ. Бидний судалгааны дүнд 4 зүйлийн сүүн хүчлийн бактерийн DPPH чөлөөт радикалыг дарангуйлах идэвх 24 цагт 56.67-86.64% байгаа нь өндөр үзүүлэлт юм.

Бид энэхүү судалгааны үр дүнгээс протеолитик идэвх өндөртэй бактерийг ашиглан биологийн идэвхт пептид агуулсан сүү сүүн бүтээгдэхүүн, хүнсний нэмэлтүүд үйлдвэрлэх бололцоотой ба энэ нь пробиотик, антиоксидант идэвхтэй тул дархлааг дэмжих, биед үүссэн исэлдүүлэгч нэгдлүүдийг саармагжуулах, улмаар олон төрлийн өвчнөөс сэргийлэх хүнс тэжээлийн болон эрүүл мэндийн ач холбогдолтой.

боловсруулах системийн хүчтэй хүчил, шүлтийн орчинд тэсвэрлэн ургах чадвартайг судлан тогтоолоо.

Цаашид энэхүү өсгөврүүдийг нарийвчлан судалж, биологийн идэвхт бүтээгдэхүүн гарган авах технологи хөгжүүлэлтийн судалгаанд ашиглах боломжтой хэмээн дүгнэж байна.

Ашигласан бүтээлийн жагсаалт

- [1] A. Shihata and N.P. Shah. (2000). "Proteolytic profiles of yogurt and probiotic bacteria," *International Dairy Journal*. vol. 10, no. 5, pp. 401-408. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(00\)00072-8](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(00)00072-8)
- [2] B.A. Law and J. Kolstad. (1983). "Proteolytic systems in lactic acid bacteria.," *Antonie van Leeuwenhoek*. vol. 49, no. 3, pp. 225-245. <https://doi.org/10.1007/BF00395933>
- [3] J. Atanasova, P. Moncheva, and I. Ivanova. (2014). "Proteolytic and antimicrobial activity of lactic acid bacteria grown in goat milk.," *Biotechnology, biotechnological equipment*. vol. 28, no. 6, pp. 1073-1078. <https://doi.org/10.1080/13102818.2014.971487>
- [4] M. Moslehisad, S. Mirdamadi, M. Ehsani, H. Ezzatpanah, and A. Moosavi-Movahedi. (2013) "The proteolytic activity of selected lactic acid bacteria in fermenting cow's and camel's milk and the resultant sensory characteristics of the products." *Inter. Journal of Dairy Technology*. vol. 66, <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12017>
- [5] O. Baldorj, J.-M. Chobert, M. Dalgalarondo, and T. Haertlé. (2000). "Characterization of mare caseins. Identification of α _S1 and α _S2-caseins.," *Dairy Science & Technology*. vol. 80, no. 2. <https://doi.org/10.1051/lait:2000121>
- [6] H. Laan and W.N. Konings. (1989). Mechanism of Proteinase Release from *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* Wg2., *Applied and environmental microbiology*, vol. 55, no. 12. <https://doi.org/10.1128/aem.55.12.3101-3106.1989>
- [7] O.E. Mills and T.D. Thomas. (1981). "Nitrogen sources for growth of lactic streptococci in milk.," *New Zealand journal of dairy science and technology*, vol 16. p. 43.
- [8] A.M. Abdel-Salam, A. Al-Dekheil, A. Babkr, M. Farahna, H.M. Mousa. (2010). High fiber probiotic fermented mare's milk reduces the toxic effects of mercury in rats. *N Am J Med Sci.*, vol. 2. <https://doi.org/10.4297/najms.2010.2569>
- [9] B. Batdorj, V. Trinetta, M. Dalgalarondo, et al. (2007). "Isolation, taxonomic identification and hydrogen peroxide production by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* T31, isolated from Mongolian yoghurt: Inhibitory activity on food-borne pathogens.," *J Appl Microbiol.* vol. 103, no. 3. <https://doi.org/10.1111/j.1365-672.2007.03279.x>
- [10] B. Batdorj, M. Dalgalarondo, Y. Choiset, et al. (2006). "Purification and characterization of two bacteriocins produced by lactic acid bacteria isolated from Mongolian airag.," *J. Appl Microbiol.*, vol. 101, no. 4, pp. 837-848. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2006.02966.x>
- [11] B. Myagmardorj, M.-E. Purev, and B. Batdorj. (2018 Dec) "Functional properties of fermented soymilk by *Lactobacillus fermentum* BM-325", *Mong. J. Chem.*, vol. 19, no. 45, pp. 32-37. <https://doi.org/10.5564/mjc.v19i45.1087>
- [12] B. Munkhtsetseg, M. Margad-Erdene, and B. Batjargal. (2009 Dec). "Isolation of Lactic Acid Bacteria with High Biological Activity from Local Fermented Dairy Products", *Mong. J. Biol. Sci.*, vol. 7, no. 1-2. <https://doi.org/10.22353/mjbs.2009.07.09>
- [13] G.S. de Giori and E.M. Hébert, "Methods to Determine Proteolytic Activity of Lactic Acid Bacteria.," In: J.F.T. Spencer and A.L. Ragout Spencer, Eds. *Food Microbiology Protocols*. pp. 197-202, 2001. <https://doi.org/10.1385/1-59259-029-2:197>
- [14] O. Ganzorig, F. Sumisa, B. Batdorj, and T. Yoshida. (2016). "Isolation and Identification of new Lactic Acid Bacteria with Potent Biological Activity and Yeasts in Airag, a Traditional Mongolian Fermented Beverage," *Food Science and Technology Research*. vol. 22, no. 5, pp. 575-582. <https://doi.org/10.3136/fstr.22.575>
- [15] K. Kailasapathy and J.Chin. (2000). Survival and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. *Immunol Cell Biol.* Vol. 78, No. 1, pp. 80-88. <https://doi.org/10.1046/j.1440-1711.2000.00886.x>
- [16] JH Chang, YY Shim, SK Cha, KM Chee. (2010). Probiotic characteristics of lactic acid bacteria isolated from kimchi. *J Appl Microbiol.*, vol.109, no. 1. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04648.x>
- [17] G.F. de Valdez and M.P. Taranto, "Probiotic Properties of Lactobacilli.," In: J.F.T. Spencer and A.L. de Ragout Spencer, Eds. *Food Microbiology Protocols*. pp. 173-181. Humana Press, Totowa, NJ, 2001
- [18] E. Uugantsetseg and B. Batjargal. (Dec. 2014). "Antioxidant activity of probiotic lactic acid bacteria isolated from Mongolian airag", *Mong. J. Chem.*, vol. 15, pp. 73-78. <https://doi.org/10.5564/mjc.v15i0.327>

- [19] M Bilige & et al. (2009). Evaluation of potential probiotics properties of the screened Lactobacilli isolated from home-made koumiss in Mongolia. *Ann. Microbiol.* vol. 59, pp. 493-498. <https://doi.org/10.1007/BF03175136>
- [20] Y. Qian, X. Long, Y. Pan, G. Li and X. Zhao. (2018). Isolation and identification of lactic acid bacteria (*Lactobacillus plantarum* YS2) from yak yogurt and its probiotic properties, *Biomedical Research*, vol. 29, issue 4. <https://doi.org/10.4066/biomedicalresearch.29-17-3418>
- [21] J. Yu & et al. (2011). "Diversity of lactic acid bacteria associated with traditional fermented dairy products in Mongolia.," *Journal of Dairy Science*. vol. 94, no. 7, pp. 3229-3241. <https://doi.org/10.3168/jds.2010-3727>
- [22] A. Pihlanto and H. Korhonen, "Bioactive peptides and proteins.," In: *Advances in Food and Nutrition Research*. pp. 175-276. Academic Press, 2003. [https://doi.org/10.1016/S1043-4526\(03\)47004-6](https://doi.org/10.1016/S1043-4526(03)47004-6)
- [23] O.N. Donkor, A. Henriksson, Vasiljevic Todor, and N.P. Shah, "Proteolytic activity of dairy lactic acid bacteria and probiotics as determinant of growth and in vitro angiotensin-converting enzyme inhibitory activity in fermented milk.," *Le Lait*. vol. 87, no. 1, pp. 21-38, 2007. <https://doi.org/10.1051/lait:2006023>
- [24] J. cai Hou, F. Liu, D. xi Ren, W. wei Han, and Y. ou Du, "Effect of culturing conditions on the expression of key enzymes in the proteolytic system of *Lactobacillus bulgaricus*.,," *Journal of Zhejiang University: Science B*. vol. 16, no. 4, pp. 317-326, 2015. <https://doi.org/10.1631/jzus.B1400230>
- [25] A. Fuglsang, F.P. Rattray, D. Nilsson, and N.C.B. Nyborg. (2003). "Lactic acid bacteria: inhibition of angiotensin converting enzyme in vitro and in vivo.," *Antonie van Leeuwenhoek*. vol. 83. <https://doi.org/10.1023/A:1022993905778>
- [26] M.A.S. Abubakr, Z. Hassan, M.M.A. Imdakim, and N.R.S.A. Sharifah. (2012). "Antioxidant activity of lactic acid bacteria (LAB) fermented skim milk as determined by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and ferrous chelating activity (FCA).," *African Journal of Microbiology Research*. vol. 6, no. 34, pp. 6358-6364. <https://doi.org/10.5897/AJMR12.702>

Determination of biological activities of lactic acid bacteria from traditional milk and milk products

Victor Oyuntuya¹, Sengenorov Munkhjargal², Ganzorig Oyundelger¹, Mungunkhuyag Khongorzul¹, Jigjiddorj Enkh-Amgalan², Batdorj Batjargal^{1*}

¹Department of Biology, School of Arts and Sciences, National University of Mongolia, Youth Avenue 1, 14200, Ulaanbaatar, Mongolia

²Laboratory of Microbiology, Institute of Biology, Mongolian Academy of Sciences, Bayansurkh district, 133308 Peace Avenue 54b, Ulaanbaatar, Mongolia

* Corresponding author: batjargal@num.edu.mn

 <https://orcid.org/0000-0001-5704-0087>

Received: 03.02.2022

Revised: 23.05.2022

Accepted: 10.06.2022

Abstract

Lactic acid bacteria produce various biologically active molecules such as low molecular weight proteins, small peptides and free amino acids during their life cycle. The small peptides have many critical biological functions: immune support, lowering blood pressure, antibacterial activity, and antioxidant activity etc. In this study, 18 lactic acid bacteria were isolated from traditional milk products. The study of all strains was carried out using morphological and biochemical methods. The proteolytic activity of lactic acid bacteria was determined by milk agar diffusion and the OPA method. From the results, D3-1, D13-1, A19-7, and A19-9 strains displayed 4-10 mm clear zone on the skim milk agar and produced 1338 - 1872 mM of free amino acids. These strains inhibited cell growth of five different gram-positive and -negative pathogenic bacteria. We also examined four isolates that exhibited potent antioxidant and probiotic activities. Based on the biological activities selected, four lactic acid bacteria were identified by sequencing of 16S rRNA gene analysis; *Lactobacillus plantarum* (98.76%), *Lactobacillus fermentum* (99.42%), *Streptococcus thermophilus* (99.90%), *Lactobacillus kefir* (98.04%), respectively.

Key words: Proteolytic activity, probiotic property, bioactive peptide