

УДК 637.146.2

Боднарчук О.В., к.т.н. © (dnistranka@mail.ru)
Технологічний інститут молока та м'яса НААН, м. Київ

ДОСЛІДЖЕННЯ АНТАГОНІСТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ЗАКВАСОК ДЛЯ КИСЛОВЕРШКОВОГО МАСЛА

Досліджено антагоністичну активність заквашувальної композиції для виробництва кисловершкового масла щодо умовно-патогенної мікрофлори. Показано особливості спільного культивування у молоці та вершках заквашувальної мікрофлори для кисловершкового масла та тест-культур бактерій групи кишкової палички.

Ключові слова: заквашувальна композиція, молочнокислі бактерії, антагоністична активність, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Proteus morganii*.

Забезпечення високої якості та конкурентоспроможності будь-якого продукту набуває особливої значимості в умовах ринкової економіки. Відомо, що під час виробництва молочних продуктів основні проблеми безпечності та якості пов'язані з мікробіологічними процесами, викликані розвитком небажаної мікрофлори. Значний бактеріостатичний потенціал щодо технічно небажаної та небезпечної мікрофлори мають молочнокислі бактерії, які не лише формують смакові особливості кінцевого продукту, але й пригнічують розвиток контамінантної мікрофлори впродовж технологічного процесу та запобігають появі різних вад [1].

За даними численних дослідників, антагоністичні взаємовідносини лактобактерій з умовно-патогенними та патогенними мікроорганізмами обумовлені високим ступенем конкурентності мікрофлори, що залежить від енергії кислотоутворення, стійкості до кінцевих продуктів бродіння (молочної, оцтової та інших кислот), потреб у поживних речовинах, низького рівня окисно-відновного потенціалу (неспецифічний антагонізм) та спричинені дією специфічних факторів (утворення перекису водню, метаболітів антибіотикоподібної природи, бактеріоцинів) [2-3].

Зокрема, було визначено, що молочна кислота інгібує розвиток гнильних бактерій, а діацетил – ріст *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* [3].

Однак у разі недотримання технологічних режимів і санітарних правил зростає ймовірність присутності потенційно небезпечних мікроорганізмів у готовому продукті. Незважаючи на те, що кислотність є важливим чинником регулювання росту та виживання сторонньої мікрофлори, ферментовані молочні продукти навіть з високою кислотністю все ж таки є причиною спалахів харчових отруень. Є свідчення, що кислоторезистентні штами бактерій

групи кишкової палички, спороутворювальних бактерій та стафілококів можуть виживати і впродовж довготривалого зберігання продукту [4].

У Технологічному інституті молока та м'яса розроблено заквашувальну композицію для виробництва кисловершкового масла, до якої залучено штами молочнокислих бактерій видів *Lactococcus lactis* ssp. *diacetilactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*.

Оскільки відомо, що молочнокислі бактерії пригнічують життєдіяльність патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів і здатні до їхнього конкурентного витіснення, науковий та практичний інтерес становило вивчення антагоністичних властивостей розроблених заквашувальних композицій та їх складових.

Метою роботи було дослідити антагоністичну активність розроблених бактеріальних композицій для виробництва кисловершкового масла щодо основних небезпечних контамінантів.

Об'єктами досліджень були заквашувальні композиції та її окремі складові штами, 5 штамів тест-культур видів *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermis*, *Proteus morgani*.

Матеріали та методи досліджень. Антагоністичну активність бактеріальних композицій та окремих штамів молочнокислих бактерій щодо тест-культур визначали методом «лунок» за величиною зон затримки росту [5], а також за приростом чисельності відповідної тест-культури порівняно з її початковим вмістом під час спільного культивування у молоці впродовж 4 діб за кількості інокуляту 1%.

Добові тест-культури змивали з поверхні м'ясо-пептонного агару (МПА) фізіологічним розчином та доводили густину бактеріальної суспензії за стандартом мутності Мак-Ферлана до 10^8 КУО/см³.

Кількість життєздатних клітин бактерій визначали стандартними методами: молочнокислої мікрофлори – згідно з ГОСТ 10444.11-89. Чисельність мікроорганізмів *Escherichia coli* аналізували методом висіву серійних розведень на селективне хромогенне середовище (Coliform-agar).

Рівень активної кислотності визначали потенціометрично.

Повторюваність дослідів триразова.

Результати досліджень. Отримані результати експериментальних досліджень з визначення антагоністичної активності бактеріальних композицій та окремих штамів, що входять до їх складу, показали, що вони мають неоднозначний вплив на інгібування умовно-патогенних мікроорганізмів (табл. 1).

Встановлено, що найбільш чутливими до дії молочнокислих культур була кишкова паличка. Як свідчать експериментальні дані, бактеріальні композиції №3 та №7 активніше інгібували ці тест-культури (20 мм), тоді як її складові лише до 12-18 мм. Для більшості із проаналізованих штамів притаманна висока здатність до пригнічення *E. coli* 926.

Децю помірніше пригнічували ріст *S. aureus* окремі штами лактобактерій та їх композиції. Так, величина затримки росту золотистого стафілококу становила від 8 до 12 мм. Слід відзначити, що тільки штами *L. diacetilactis* та

заквашувальні композиції, до яких залучено ці штами, володіли антагоністичною дією до *S. epidermis* (13-14 мм).

Таблиця 1

Антагоністична активність заквашувальних композицій та їх окремих складових лактобактерій для виробництва кисловершкового масла

Заквашувальні культури	Величина зон затримки росту тест-культур, мм				
	<i>Escherichia coli</i> 906	<i>Escherichia coli</i> 926	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Staphylococcus epidermis</i>	<i>Proteus morganii</i>
<i>L. diacetylactis</i> 1353	15	18	8	13	–
<i>L. diacetylactis</i> 1320 ₂	15	12	8	13	–
<i>S. thermophilus</i> 21132	15	5	10	–	–
<i>S. thermophilus</i> 21135	18	4	10	–	–
<i>L. bulgaricus</i> 3509 ₄	–	4	12	–	11
ЗК №3	20	12	12	14	13
ЗК №7	20	11	12	14	13

Водночас, ароматоутворювальні лактококи виду *L. diacetylactis* та термофільні стрептококи *S. thermophilus* взагалі не проявляли антагонізму до протею виду *Proteus morganii*, про що свідчать відсутність зон затримки його росту. Штам болгарської палички *L. bulgaricus* 3509 характеризувався низьким рівнем інгібування патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів.

Аналізуючи отримані результати дослідження, було встановлено, що на відміну від окремих штамів молочнокислих бактерій, їхні сполучення в заквашувальних композиціях, проявляють вищі антагоністичні властивості відносно всіх, взятих до дослідження, тест-культур.

Наявність зон пригнічення небезпечних контамінантів заквашувальною мікрофлорою на твердих середовищах недостатньо висвітлює характер їх взаємовідносин у виробничих умовах. Слід враховувати, що у рідкому середовищі – молоці та вершках, кількість життєздатних клітин мікроорганізмів та виділених ними антимікробних речовин знижується.

З огляду на це, оцінка росту заквашувальної мікрофлори та виживання шкідливої у ході технологічного процесу виробництва будь-якого продукту є доречною і привертає увагу, насамперед, з питань його безпеки та якості. Зокрема, важливим у виробничому процесі є контролювання бактерій групи кишкової палички, які є одними з найпоширеніших представників санітарно-показової мікрофлори.

Відомо, що рівень БГКП у маслі залежить здебільшого від вторинного контамінування продукту. Основною причиною попадання в продукт даних мікроорганізмів – незадовільний санітарно-гігієнічний стан виробництва, відсутність ефективної санітарної обробки обладнання.

Вивчення впливу новостворених бактеріальних композицій на розвиток кишкової палички під час технологічного процесу виробництва КВМ, за їх спільного культивування у молоці та вершках з масовою часткою жиру 35% показало, що заквашувальна мікрофлора згубно діє на них (рис. 1).

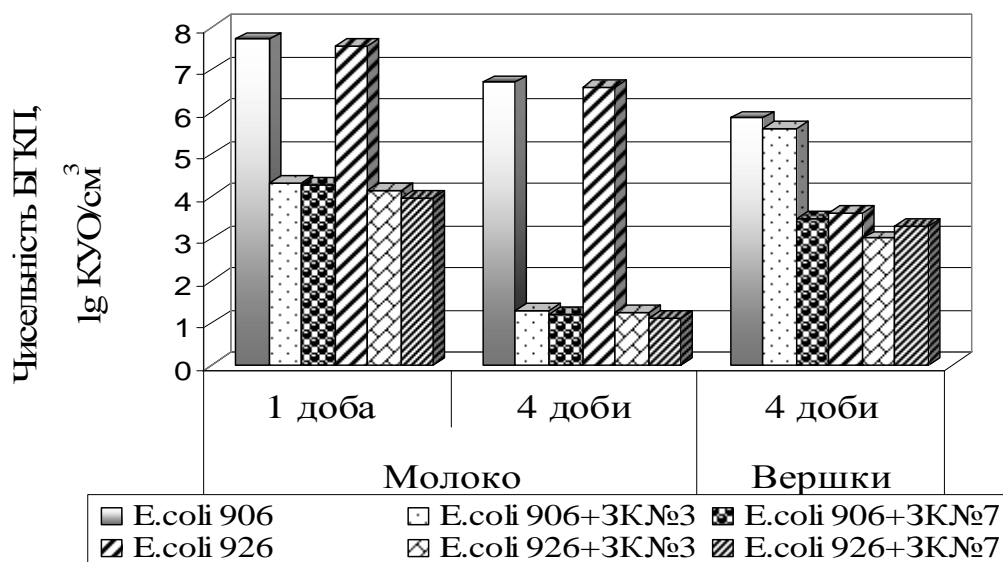


Рис. 1. Зміна чисельності тест-культур бактерій групи кишкової палички за спільного культивування у молоці та вершках впродовж 4 діб:

Про це свідчить істотне зниження чисельності обраних тест-культур у молоці та вершках, ферментованими заквасками. Зокрема, вразливішими були клітини *E. coli* 926 до заквашувальної композиції №3.

Слід відзначити, що під час спільного культивування у молоці з заквасками чисельність кишкової палички особливо стрімко спадала після 1 доби від 3,95-4,30 lg KUO/cm³ до 2,11-2,28 lg KUO/cm³ після 4 діб за температури зберігання 12 °С порівняно з вмістом тільки тест-культури. У разі інокулювання молока тільки тест-культурою їх кількість наприкінці зберігання досягала 6,6-6,7 lg KUO/cm³.

Звертає увагу той факт, що клітини контамінантних мікроорганізмів не тільки в сполученні з заквасками, але й у чистій культурі після 4 діб відмирали.

Слід зазначити, що у разі спільного нарощування у вершках заквашувальна мікрофлора слабше (майже на 1 порядок) гальмувала розвиток бактерій *Escherichia coli*, ніж у молоці. Так, рівень пригнічення цих контамінантів під впливом заквашувальних композицій становив до 70% у молоці та 60% у вершках. Очевидно, це пов'язано зі збереженням залишкової сторонньої мікрофлори, яка витримала температуру пастеризації вершків.

У ході досліджень встановлено, що рівень активної кислотності у молочних згустках коливався у межах 3,54-3,64 од. рН, тоді як у ферментованих вершках цей показник сягав значень тільки до 4,27-4,30 од. рН. Проте, навіть за умови такої низької кислотності середовищ досліджувані штами *Escherichia coli* були здатні до виживання. Контамінування молока сторонньою мікрофлорою позначалося на розвитку заквашувальних культур. У всіх дослідних варіантах у порівнянні з контролем (молоко та вершки не інфікували кишковою паличкою) помічено зниження заквашувальної мікрофлори (рис. 2).

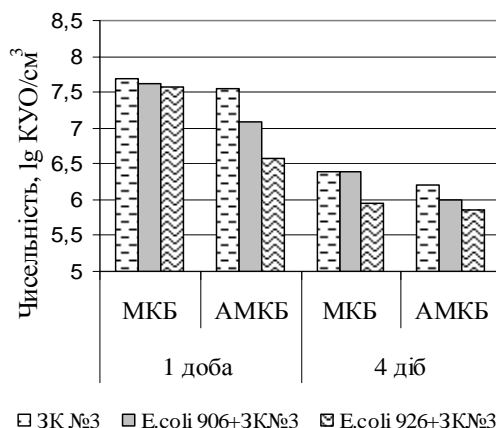


Рис. 2. Розвиток мікрофлори бактеріальних композицій у стерильному знежиреному молоці за спільного культивування з тест-культурами *Escherichia coli*

Так, вміст загальної чисельності молочнокислої мікрофлори під час спільного культивування з бактеріями групи кишкової палички знижувався від 3% до 8%, для ароматоутворювальних лактококів – від 4% до 7%.

Майже подібні результати отримано для заквашувальних культу, які вирощували спільно з тест-культурами у вершках. Однак у вершках краще розвивалася заквашувальна композиція №7 за сумісного розвитку з *Escherichia coli* 926 (рис.3).

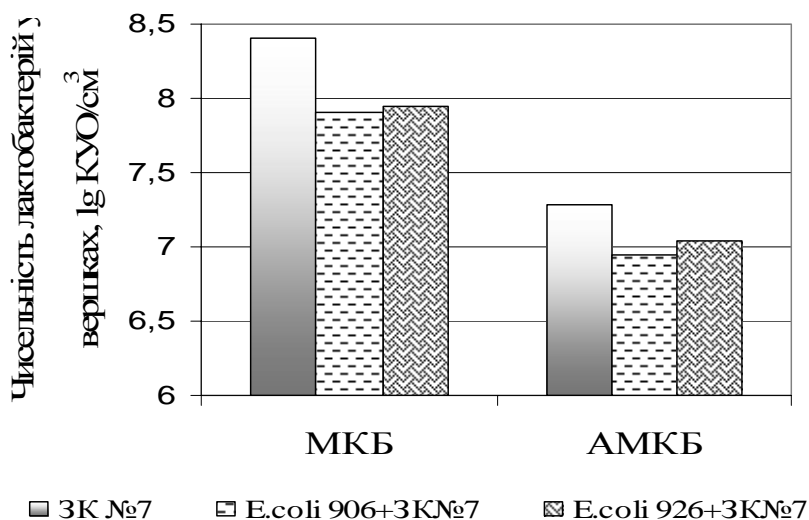


Рис. 3. Розвиток мікрофлори бактеріальних композицій у пастеризованих вершках за спільного культивування з тест-культурами *Escherichia coli*

Ймовірним поясненням такої динаміки розвитку заквашувальної мікрофлори може бути конкуренція за поживні речовини, а також часткове інгібування продуктами метаболізму сторонньої мікрофлори.

Спостерігаючи за зміною чисельності заквашувальних композицій за спільного культивування їх з тест-культурами впродовж 4 діб, було відзначено, що їх розвиток має подібний характер.

Таким чином, новостворені бактеріальні композиції для виробництва кисловершкового масла володіють високим рівнем антагоністичної активності щодо умовно-патогенних бактерій.

Висновки

1. Встановлено, що розроблені бактеріальні композиції для виробництва кисловершкового масла володіють антагоністичною активністю до умовно-патогенних бактерій. Найбільші зони затримки росту на твердому середовищі встановлено для родини *Enterobacteriaceae* – від 11 мм до 20 мм.

2. Доведено, що контамінування молока сторонньою мікрофлорою призводить до пригнічення розвитку молочнокислих мікроорганізмів на 3-8%, що гарантує формування бажаних для кисловершкового масла смакових характеристик.

Література

1. Панченко В.Г. *Вчера, сегодня, завтра украинского национального питания. Уроки здоровья.* — Днепропетровск. Пороги. 2004. — 274 с.

2. R. Lanciotti, F. Patrignani, F. Bagnolini, M. E. Guerzoni and F. Gardini. Evaluation of diacetyl antimicrobial activity against *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus*// Food Microbiology — 2003 — Vol. 20, No 5 — p.537-543.

3. James M. Jay. Antimicrobial properties of diacetyl // Applied and Environmental Microbiology — 1982 — Vol. 44, No 3 — p. 525-532.

4. Г.М. Свириденко, Е.В. Топникова. Влияние БГКП на безопасность и качество сливочного масла // Сыроделие и маслоделие. — 2007. — №5. — С. 32-34.

5. Егоров Н.С. Микробы-антагонисты и биологические методы определения антагонистической активности. — М.: Высшая школа, 1975. — 209 с.

Summary

Bodnarchuk O.

ANTAGONISTIC ACTIVITY OF STARTERS FOR SOUR CREAM BUTTER

Antagonistic activity of starter composition for sour cream butter manufacture against same pathogens was investigated. Specificity of simultaneous cultivation of starters and test-cultures of coli-forms bacteria in milk and cream.

Рецензент – д.с.-г.н., професор Цісарик О.Й.