

УДК 579.672

Даниленко С.Г., к.т.н., svet1973@gmail.com[©]*Інститут продовольчих ресурсів Національної академії аграрних наук,
м. Київ, Україна***СЕЛЕКЦІЯ МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ З НЕКОМЕРЦІЙНИХ
М'ЯСНИХ ПРОДУКТІВ**

*Описано послідовні етапи вилучення мікроорганізмів з некомерційних м'ясних продуктів. Вилучено 7 біологічно активних штамів молочнокислих бактерій (МКБ) із сиров'яленої бастурми непромислового виробництва, які відносяться до виду *Lactobacillus casei*, *L. rhamnosus*, *L. plantarum* та *L. brevis*. Всі штами були мікроаерофільними, грампозитивними, каталазонегативними, нерухливими паличками, не здатними до утворення спор. Ці штами зброджували вуглеводи без утворення вуглекислого газу, але розрізнялись за спектром ферментованих вуглеводів. Досліджено їхню здатність до росту в діапазоні температур (15-50) °С, вмісту NaCl (1,5-10) %, концентрації молочної кислоти (2,5-15) %, рівня кислотності середовища (3,0-8,6), що є характерними для м'ясної сировини та готових ферментованих м'ясних продуктів. Майже всі досліджені культури росли у межах температур (10-45) °С. Зі зростанням гідрофільності середовища зменшувалась кількість штамів, здатних до росту. Суттєвим фактором, який обмежував ріст МКБ, було рН середовища 3,0 од. та 8,6 од. Досліджені МКБ характеризувались широким діапазоном молокозсідальної активності від 12 год до 21 год. Всі штами володіли аптоутворювальною активністю та не утворювали аміак з аргініну.*

Ключові слова: бастурма, бактеріальний препарат, молочнокислі мікроорганізми, м'ясні продукти, ферментація, штами

УДК 579.672

Даниленко С.Г., к.т.н.*Інститут продовольствених ресурсів НААН, г. Київ, Україна***СЕЛЕКЦИЯ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ С
НЕПРОМЫШЛЕННЫХ МЯСНЫХ ПРОДУКТОВ**

*С сыровяленой бастурмы непромышленного производства было выделено 7 биологически активных штаммов молочнокислых бактерий, которые относятся к виду *L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. plantarum* и *L. brevis*. Исследовано их способность к росту в диапазоне температуры, содержания NaCl и кислотности среды характерной для мясного сырья и готовых ферментированных мясных продуктов.*

Ключевые слова: бастурма, бактеріальний препарат, молочнокислі мікроорганізми, м'ясні продукти, ферментація, штами

UDC 579.672

Danylenko S.*Institute of Food Resources of NAAS, Kyiv, Ukraine***SELECTION OF LACTIC ACID BACTERIA OF NON-COMMERCIAL MEAT PRODUCTS**

*Isolated 7 biologically active strains of lactic acid bacteria that belong to the species of *L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. plantarum* and *L. brevis* of jerked basturma non-industrial production. Investigated their ability to grow in the range of temperatures, NaCl content and the level of acidity of the medium, which is characteristic for the meat raw materials and ready fermented meat products.*

Key words: *basturma starter culture, lactic acid bacteria, meat products, fermentation, strain*

Вступ. Виробництво м'ясних продуктів із застосуванням бактеріальних препаратів дозволяє скоротити тривалість засолу, збільшити обсяги використання сировини нижчого гатунку, інтенсифікувати технологічний процес, скоротити часові та енергетичні витрати, та покращити якість та безпечність готового продукту [1]

На сьогодні в багатьох країнах світу (США, Канада, Фінляндія, Франція, Німеччина та ін.) при виготовленні ферментованих м'ясних виробів застосовують бактеріальні культури - життєздатні корисні мікроорганізми у вигляді окремих або змішаних культур, які забезпечують контрольований процес ферментації.

Для створення бактеріальних препаратів використовують нітратвідновлювальні мікрококи, гомоферментативні молочнокислі бактерії і педіококки, дріжджі і нетипові молочнокислі бактерії у вигляді чистих або змішаних культур [2].

Наявність у ферментованих м'ясопродуктах (ФМП) молочнокислих бактерій, здатних швидко розвиватися за умов посолу, сприяє активному зниженню величини рН, в результаті нагромадження великої кількості кислот і гальмуванню розвитку небажаної мікрофлори. Мікрококи, стрептококи, педіококки і диплококи виконують денітрифікуючу і ароматоутворювальну (АУ) функцію, та незначно впливають на величину рН, їх доцільно застосовувати в поєднанні з кислотоутворюючими мікроорганізмами [3].

Правильно підібрані культури, до бактеріального препарату, сприяють не лише формуванню приємного смаку і аромату продукту, стабілізації забарвлення, але і санітарно-епідеміологічній безпеці готової продукції.

Тому метою даної роботи було пошук біологічно активних штамів молочнокислих бактерій (МКБ) для створення на їхній основі бактеріальних препаратів для ферментування м'ясної сировини.

Матеріали та методи. Джерелом вилучення молочнокислих бактерій були ферментовані м'ясні продукти непромислового виробництва - сиров'ялена бастурма з яловичини.

Морфологію клітин вивчали мікроскопією препаратів, забарвлених за Грамом. Перевірку чистоти виділених культур, за наявності в мікропрепаратах значної морфологічної гетерогенності, проводили очищення культури шляхом послідовних пересівів на відповідні селективні середовища.

Фізіолого-біохімічні властивості, а саме утворення газу з глюкози, ріст за різних температурних режимів (15-50) °С, у межах (3,0-8,6) од. рН; ріст у МРС з вмістом хлориду натрію (1,5-10) %, наявність каталази, тощо, вивчали за методами, описаними Ф. Герхардом [4]. Наявність чи відсутність росту перевіряли на середовищі МРС з додаванням 0,17 г/дм³ бромкрезолового фіолетового, індикатор рН (рН 7). У середовище вносили 5 % інокуляту мікроорганізмів і культивували впродовж 48 год. Зниження рівня рН змінює кольори середовища від фіолетового до жовтого. За відсутності зміни кольору середовища фіксували відсутність росту.

Результати досліджень. Вилучення мікроорганізмів з некомерційних м'ясних виробів здійснювали у кілька послідовних етапів 3 кожного зразка (10 г) змішували з 100 см³ фізіологічного розчину. Отриману суспензію залишали за кімнатної температури на 15-20 хв, Спочатку одержували накопичувальні культури, висіваючи 10 см³ цієї суспензії до 100 см³ МРС бульйону.

Бульйон МРС збагачували манітом, лактозою, глюкозою або фруктозою (2 %). Посів інкубували впродовж 48 год за температури 37 °С. Потім готували ряд десятикратних розведень у стерильному фізіологічному розчині до 10⁸. Висівали пробу об'ємом 1,0 см³ на чашки Петрі з агаром MRS. Чашки інкубували протягом 72 годин за 37 °С. Цю процедуру повторювали 2-3 рази, до отримання чистих культур. Ступінь чистоти культур оцінювали мікроскопією за морфологічною однорідністю.

Колонії мікроорганізмів, виділені із досліджених продуктів, були подібними за морфологією. У товщі агаризованого середовища колонії мали форму "човників" довжиною 1 мм, "тречаного зерна" або дисків діаметром 1-2 мм. За поверхневого росту спостерігали різні розміром колонії, здебільшого дрібні (до 1 мм у діаметрі), білуваті, круглі, опуклі, гладкі, блискучі найчастіше з рівним краєм колонії діаметром 1-2 мм та до 5 мм.

Під час розвитку у рідкому середовищі MRS паличкоподібні ізоляти мали форму окремих ниткоподібних, тоненьких, вигнутих паличок різної довжини (0,7-1,1 мкм) та товщини (0,1-0,6 мкм), які інколи утворювали ланцюжки.

Із досліджених продуктів було отримано 23 ізолятів мікроорганізмів. Кожен ізолят було перевірено на наявність каталази шляхом нанесення краплі 3 % розчину перекису водню на клітину. Швидке утворення бульбашок вказувало на наявність каталази в клітинах. Відбирали лише ізоляти, які були каталазонегативними, а також гомоферментативні, за відсутністю утворення газу з глюкози.

У результаті проведених досліджень було відібрано 7 активних штамів. Які були мікроаерофільними, грампозитивними, каталазонегативними, нерухливими паличками, не здатними до утворення спор. Ці штами зброджували вуглеводи без утворення вуглекислого газу, але розрізнялись за спектром ферментованих вуглеводів. Решту культур було виключено нами з подальших досліджень як неперспективні для створення бактеріальних препаратів.

Було встановлено, що відібрані палички належали до роду *Lactobacillus*, зокрема штами 3322, 3323 до *L. casei*; 3304, 3305 – *L. rhamnosus*; 3203, 3304 – *L. plantarum* та 3900 – *L. brevis*.

Досліджено здатність до росту в діапазоні температур, вмісту NaCl та рівня кислотності середовища, що є характерним для м'ясної сировини та готових ФМП (табл.).

Таблиця

Здатність до росту штамів МКБ в умовах, характерних технологіям ФМП.

Показники	Назва культури						
	<i>L. casei</i> 3322	<i>L. casei</i> 3323	<i>L. rhamnosus</i> 3304	<i>L. rhamnosus</i> 3305	<i>L. plantarum</i> 3203	<i>L. plantarum</i> 3204	<i>L. brevis</i> 3900
Фарбування за Грамом	+	+	+	+	+	+	+
Температура, °С							
15	+	+	-	+	-	+	+
30	+	+	+	+	+	+	+
37	+	+	+	+	+	+	+
45	+	-	+	+	+	+	+
50	-	-	±	-	-	+	-
Концентрація молочної кислоти, %							
2,5	+	+	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+	+	+
7,5	±	+	±	+	-	±	-
10	-	-	-	-	-	-	-
15	-	-	-	-	-	-	-
Концентрація NaCl, %							
1,5	+	+	+	+	+	+	+
2,5	+	+	+	+	+	+	+
5	+	+	+	+	+	+	±
7,5	-	±	-	-	+	±	-
10	-	-	-	-	±	-	-
pH							
3,0	-	+	-	-	+	+	+
4,5	-	+	+	+	+	+	+
5,5	+	+	+	+	+	+	+
7	+	+	+	+	+	+	-
8,6	+	+	-	+	+	+	-
Концентрація жовчі, %							
20	+	+	+	+	+	+	+
40	+	+	+	+	+	+	-
МЗА, год	12±2	14±2	14±2	10±2	16±2	14±2	21±2
АУ	+	+	±	+	±	+	+
Утворення CO ₂ із глюкози	-	-	-	-	-	-	-
Утворення аміаку з аргініну	-	-	-	-	-	-	-

Майже всі досліджені культури росли у межах температур (10-45) °С; тоді як серед штамів, були такі, що не росли за температури 15 °С та 50°С. Зі зростанням гідрофільності середовища зменшувалась кількість штамів, здатних до росту. Так, якщо за концентрації хлориду натрію від 1,5 % та 5 %

зафіксовано ріст для 100 %; 7,5 % - для 57 % штамів, то вже за 10 % вмісту NaCl – лише для 15 %.

Суттєвим фактором, який обмежував ріст МКБ, було рН середовища 3,0 од. та 8,6 од. За такої кислотності були здатні рости лише відповідно 42 % та 71 % досліджених штамів.

Із всіх дослідних молочнокислих бактерій у присутності 40 % жовчі не спостерігали для культури *L. brevis*.

Досліджені МКБ характеризувались широким діапазоном молокозсідальної активності (МЗА) від 12 год до 21 год. Всі штами володіли ароутворювальною активністю та не утворювали аміак з аргініну.

Висновки.

1. Описано послідовні етапи вилучення мікроорганізмів з некомерційних м'ясних продуктів.

2. У результаті цілеспрямованої селекції за такими показниками, як солестійкість, здатність до газо- та кислотоутворення, цукролітична, каталазна, ароутворююча активності було відібрано 7 штамів молочнокислих бактерій – *L. casei* 3322, 3323; *L. rhamnosus* 3304, 3305; *L. plantarum* 3203, 3304 та *L. brevis* 3900.

Перспективи подальших досліджень. На основі перспективних штамів буде створено технологію з виробництва бактеріального препарату для посолу м'ясних продуктів.

Література

1. Рогов И.А., Титов Е.И., Нефедова Н.В, Семенов Г.В., Рогов С.И. Синбиотики в технологи продуктов питания: Монография – М.: МГУПБ, 2006. – 218 с.

2. Хорольский В.В., Митасева Л.Ф., Машенцева Н.Г., Бучинская А.Г. Биотехнологические аспекты повышения безопасности мясных продуктов // Все о мясе. – 2004. – № 3. – С. 23–24.

3. Buego D. Fermenting. These crets behind grefit dry and semidry sausage // Meat industry. – 1984. – Vol. 30, № 6. – P. 19–23.

4. Герхард Ф. Методы общей бактериологии. В 3 томах / Под. ред Ф. Герхард и др.; пер. с англ. – М.: Мир, 1984. – 1270 с.

Рецензент - к.вет.н., доцент Паска М.З.