

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ РІЗНИХ ФАКТОРІВ НА ЖИТТЄЗДАТНІСТЬ МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ

Досліджено вплив різних хімічних та біологічних факторів (температура, рН середовища, масова частка хлориду натрію, спільне культивування) на життєдіяльність молочнокислих бактерій видів: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*, *Lactobacillus casei*, *L. delbrueckii* subsp. *lactis*, *L. brevis*, які найчастіше використовують у виробництві ферментованих м'ясних продуктів.

Ключові слова: молочнокислі бактерії, бактеріальна композиція, молокозсідальна активність, технологічні режими.

Исследовано влияние различных химических и биологических факторов (температура, рН среды, массовая доля хлорида натрия, совместное культивирование) на жизнедеятельность молочнокислых бактерий видов: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*, *Lactobacillus casei*, *L. delbrueckii* subsp. *lactis*, *L. brevis*, которые чаще всего используют в производстве ферментированных мясных продуктов.

Ключевые слова: молочнокислые бактерии, бактериальная композиция, молокозвертывающего активность, технологические режимы.

The effect of various chemical and biological factors (temperature, pH, mass fraction of sodium chloride, common cultivation) on vital activity of lactic acid bacteria: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*, *Lactobacillus casei*, *L. delbrueckii* subsp. *lactis*, *L. brevis*, which are often used in fermented meat products manufacturing, was investigated. It was grounded a creation of an effective lactic acid bacteria composition considering a specific production of smoked pork, consisting of *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*, *Lactobacillus casei*. To create multi-strain bacterial preparations it was determined relations type between lactobacteria strains. The high degree of investigated strains biocompatibility confirmed practicability of their combining into one composition. According the study results 7 two-component combinations of lactic acid bacteria cultures were selected, which at common cultivation are not only compatible, but also stimulate one another. On the basis of the research a lactic acid bacteria composition was created, consisting of *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei* ssp. *paracasei*, *Lactobacillus casei*. It was determined that the optimal conditions for achieving the highest biological activity of lactic acid bacteria in nutrient medium is temperature $(34 \pm 2) ^\circ \text{C}$, pH $(6,5 \pm 0,2)$, the concentration of NaCl 1,5%.

Keywords: lactic acid bacteria, bacterial composition, milk coagulation activity, technological regimes.

Вступ. Технологічно перспективні штами складають основу бактеріальних препаратів для сухого або мокрого посолу м'яса, для безпосереднього ферментування м'ясної сировини, а також для збагачення у складі біологічно активних добавок [1–3]. Заквашувальні композиції можуть бути різними за складом: одно- і багатокomпонентними. Останні можуть містити кілька штамів одного або багатьох родів і видів, зокрема, *Pediococcus*, *Micrococcus*, *Staphylococcus*, а також родини *Lactobacillaceae*, *Streptococcaceae*.

Відомо, що для підвищення технологічної ефективності та розширення спектру бажаних властивостей бактеріальних препаратів, їх створюють з використанням симбіотичних асоціацій штамів, що доповнюють ферментативний потенціал один одного [4].

Молочнокислі бактерії відповідають за гігієнічну безпечність готових виробів, забезпечують формування приємного смаку та аромату ковбас, завдяки їх кислото- та

ароматоутворювальної, а також протеолітичної активностей. Крім того, молочнокислі бактерії підсилюють дію нітритредукувальних мікроорганізмів, що вказує на доцільність їх спільного використання для утворення кольору [5].

У зв'язку з цією актуальною проблемою було проведено дослідження з метою розробки принципів регулювання та контролю процесів біосинтезу молочнокислих бактерій (МКБ) – основних пробіотичних культур, використовуваних для переробки тваринної сировини.

Важливим показником молочнокислих бактерій, що входять до складу бактеріальних препаратів, є придатність їх для виробництва того чи іншого продукту, що має бути перевірено дослідженнями.

При складанні композиції необхідно враховувати специфічні властивості кінцевого продукту, температурні режими виробництва, взаємини між мікроорганізмами. Виходячи з цього, для забезпечення гарантованої спрямованості мікробіологічних процесів, було поставлено завдання обґрунтування вибору найбільш ефективної композиції стартових культур.

Матеріали і методи досліджень. Об'єктами дослідження були штами лактобактерій з колекції промислових штамів відділу біотехнології Інституту продовольчих ресурсів НААН (*Lactobacillus plantarum*, *L. paracasei ssp. paracasei*, *L. casei*, *L. delbrueckii subsp. lactis*, *L. brevis*).

Мікроорганізми культивували у відновленому знежиреному молоці за температури (35±2) °С упродовж 12 годин. Для експерименту використовувалися сублімовані препарати молочнокислих бактерій з кількістю клітин 1·10⁹ КУО/г. Активування МКБ проводили за температури (16–42) °С та рН (1–9).

Результати досліджень. Основні характеристики досліджуваних штамів наведені в табл. 1.

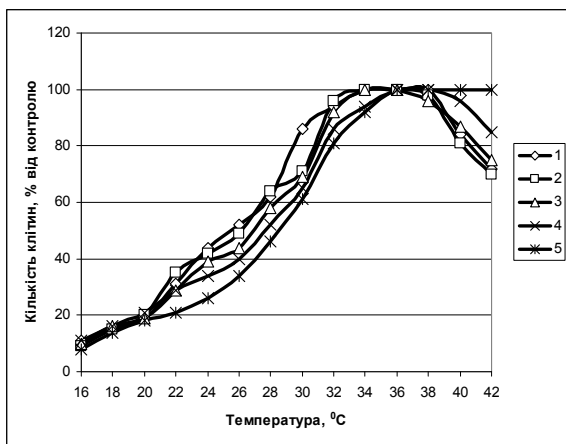
Таблиця 1

Характеристика штамів

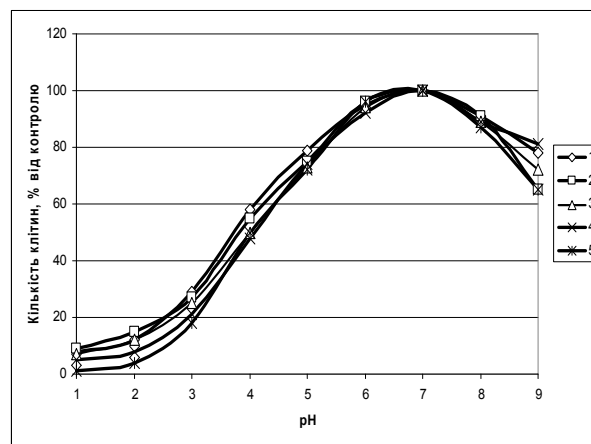
Культура	Температура росту, °С	Час сквашування молока, год	Кислотність через 14 год, °Т	Кількість клітин в молоці через 14 год росту, КУО/см ³
<i>L. plantarum</i>	30–32	12±2	120	6,4·10 ⁷
<i>L. paracasei ssp. paracasei</i>	34–37	10±2	110	7,2·10 ⁷
<i>L. casei</i>	30–32	12±2	105	5,6·10 ⁶
<i>L. brevis</i>	30–32	14±2	96	3,4·10 ⁶
<i>L. delbrueckii subsp. lactis</i>	40–42	7±2	174	1,2·10 ⁸

Найбільшою кислотоутворювальною активністю характеризувався штам для *L. delbrueckii subsp. lactis*, у решти культур цей показник був нижчим. Тривалість сквашування молока коливалась від 7 до 14 годин. Найактивнішим виявився штам *L. delbrueckii subsp. lactis*, через 9 год чисельність була на рівні 1,2·10⁸ КУО/см³, молокозсідальна активність становила 7 год.

Експериментально визначено оптимальні параметри активування культур у поживному середовищі: температура 34–37 °С за оптимуму (34±2) °С (рис. 1 а) і за величини рН 6,0–8,0 за оптимуму(6,5±0,2) (рис. 1 б).



а)



б)

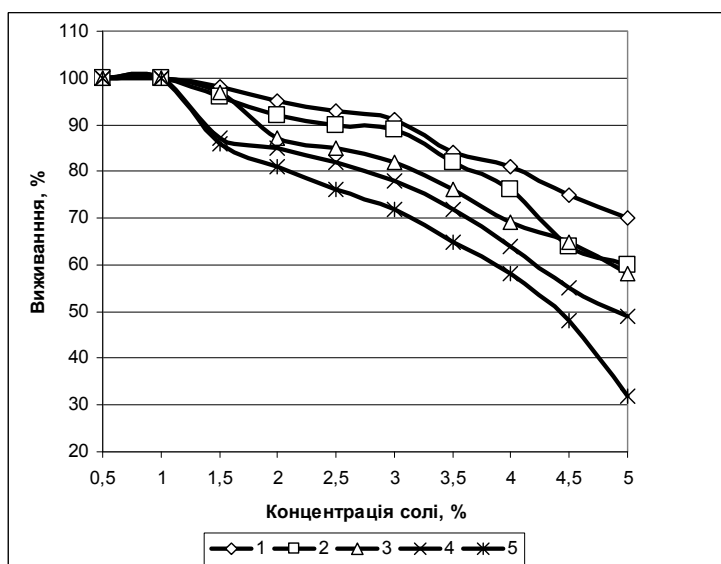
1. – *L. plantarum*, 2. – *L. paracasei ssp. paracasei*, 3. – *L. casei*, 4. – *L. brevis*,
5. – *L. delbrueckii subsp. lactis*.

Рис. 1. Вплив температури (а) та рН середовища (б) на збільшення біомаси МКБ за активації в поживному середовищі.

Зміна параметрів активізації культур в більшу або меншу сторону призводила до зменшення кількості активних клітин мікроорганізмів.

При складанні композиції молочнокислих бактерій враховується ряд певних властивостей молочнокислих бактерій, що характеризують їх виробничу цінність. При підборі культур молочнокислих бактерій необхідно також враховувати їх енергію кислотоутворення, тому що кисле середовище (рН 5,0–5,1) сприяє зниженню активності патогенної мікрофлори, активації м'язових ферментів, гідролізу білків, формуванню характерного смаку і аромату ферментованого м'ясного продукту. При використанні у виробництві суцільном'язових продуктів молочнокислих мікроорганізмів рівень рН знижується за рахунок синтезу ними молочної кислоти з вуглеводних субстратів.

Важливою технологічною характеристикою штамів є стійкість МКБ до солі. Стійкість МКБ до солі показана на рис. 2.

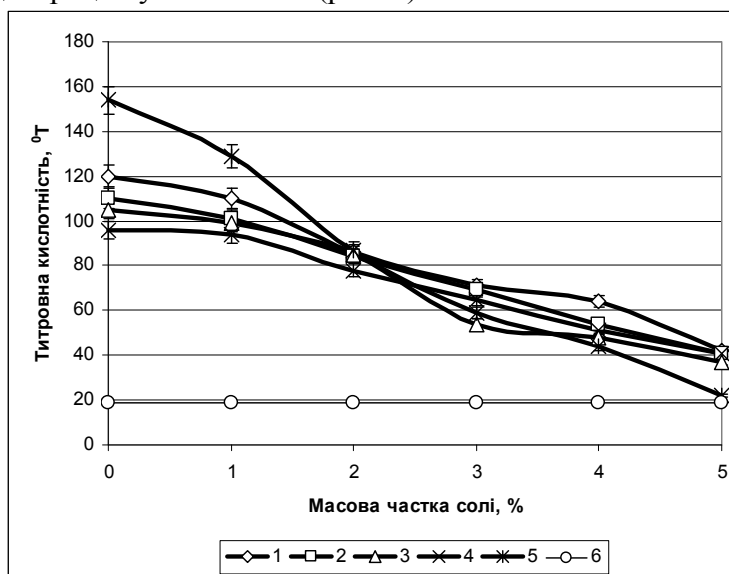


1. – *L. plantarum*, 2. – *L. paracasei ssp. paracasei*, 3. – *L. casei*, 4. – *L. brevis*, 5. – *L. delbrueckii subsp. lactis*.

Рис. 2. Стійкість МКБ до різної концентрації солі

Аналіз отриманих результатів дозволяє зробити висновок про те, що *L. delbrueckii subsp. lactis* має високу кислотоутворювальну активність, яка значно знижується зі збільшенням вмісту кухонної солі в середовищі. До 20 % втрат життєздатних клітин призводить збільшення концентрації солі для культур *L. plantarum*, *L. paracasei*, *L. casei*, *L. brevis*, та *L. delbrueckii subsp. lactis* від 4,5 % до 3,0 % відповідно.

Для перевірки активності МКБ підбирали оптимальну температуру культивування з урахуванням впливу різної концентрації солі на активність кислотоутворення. Температуру культивування варіювали від 16 до 42 °С та масову частку кухонної солі від 0% до 5 %. За результатами експерименту встановлено оптимальну температуру для всіх культур МКБ 32 °С. За цієї температури визначено ступінь зниження активності кислотоутворення в залежності від концентрації кухонної солі (рис. 3).



1. – *L. plantarum*, 2. – *L. paracasei ssp. paracasei*, 3. – *L. casei*, 4 – *L. brevis* 5. – *L. delbrueckii subsp. lactis*, 6. – Контроль.

Рис. 3. Вплив різної концентрації солі в знежиреному молоці на активність МКБ

З рис. 3 видно, що при внесенні до складу середовища кухонної солі в кількості 1–5 % маси активність втрачалася від 85,7 % до 52,8 %. Кислотоутворювальна активність *L. delbrueckii subsp. lactis* зменшилась найбільше до 85,7%. Зі збільшенням концентрації солі штам *L. brevis* найменше втратив кислотоутворювальну активність. Решта штамів *L. paracasei ssp. paracasei*, *L. casei*, та *L. plantarum* втратили кислотоутворювальну активність до 65–62 %. Збільшення масової частки кухонної солі від 3 до 5% мас, призводить до консервації середовища та незначного подальшого зниження рівня кислотності, що вказує на слабкий розвиток МКБ.

У промисловості застосовують багатоштамові бактеріальні препарати, тому подальшим етапом наших досліджень було визначення типу взаємовідносини між штамми лактобактерій.

Здатність до спільного росту відібраних штамів визначали методом перпендикулярних штрихів.

Із вказаних штамів було створено 10 двокомпонентних комбінацій. За умов спільного культивування лактобактерій спостерігали такі взаємовідносини: I – синергізм, II – коменсалізм.

Взаємне стимулювання росту (синергізм) було зафіксовано у 80 % комбінацій. Інша форма симбіотичних взаємовідносин – коменсалізм – була виявлена у 20 % комбінацій. Отримані дані дозволяють зробити висновок, що взаємини між досліджуваними штамми не є антагоністичними.

Високий ступінь біосумісності цих штамів підтверджує доцільність їх поєднання в одну композицію. Ці штами мають подібний оптимум рН і температуру культивування. За результатами проведених досліджень було відібрано 7 двокомпонентних комбінацій культур лактобактерій, які за спільного культивування є не тільки сумісними, а й стимулюють одна одну. На основі проведених досліджень було створено композицію молочнокислих бактерій, яка складається з *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei*, *Lactobacillus casei*.

Висновки. Експериментально встановлено, що існує можливість регулювання процесів росту, розвитку та метаболічної активності молочнокислих бактерій у складі багатощтамових бактеріальних препаратів, що застосовуються при виробництві суцільном'язових продуктів, та дозволить інтенсифікувати технологічний процес і підвищити якість готової продукції.

Встановлено, що внесенні до складу поживного середовища кухонної солі в кількості 1–5 % знижує кислотоутворювальну активність МКБ від 85,7 % до 52,8 %.

Література

1. Caplice E., Fitzgerald G. F. Food fermentation: role of microorganisms in food production and preservation // Int. J. Food Microbiol. – 1999. – Vol. 50, № 1–2. – P. 131–149.
2. Титов Е. В., Митасева Л. Ф., Черкасова Л. Г., Маслюк С. А., Рыжов С. А. Биоактивные добавки пробиотического действия для мясных продуктов // Мясная индустрия. – 2000. – № 5 – С. 35–36.
3. Андреенков В. А., Алехина Л. В., Митасева Л. Ф., Пыльцова Л. А., Сергиенко О. И., Мухина С. М. Особенности производства сырокопченых колбас с многофункциональными добавками // Мясная индустрия. – 1999. – № 3. – С. 25–27.
4. Aymerich T., Martín B., Garriga M., Hugas M. Microbial quality and direct PCR identification of lactic acid bacteria and nonpathogenic staphylococci from artisanal low-acid sausages // Appl. Environ. Microbiol. – 2003. – Vol. 69, № 8. – P. 4583–4594.
5. Hammes W. P., Bantleon A., Seunghwa Min. Lactic acid bacteria in meat fermentation // FEMS Microbiology Reviews. – 1990. – Vol. 87. № 1–2. – P. 165–174.