

## ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ШТАММОВ ПРОБИОТИЧЕСКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ

*Т.Л. Шуляк, Н.Ф. Коротченко, О.И. Скокова, И.Б. Гирилович, Н.А. Головнева*

Исследованы технологические свойства штаммов пробиотических молочнокислых и бифидобактерий при культивировании на молоке: кислотообразующая активность, предельная кислотность, реологические свойства, скорость образования сгустка, органолептические показатели. Изучена стабильность технологических свойств штаммов пробиотических микроорганизмов при перевивках. Выявлены наиболее перспективные штаммы лактобактерий и бифидобактерий, которые по совокупности исследованных технологических свойств могут быть использованы при производстве ферментированных молочных продуктов с пробиотическими свойствами.

### Введение

Ухудшение экологической обстановки, возрастание стрессовых воздействий, нарушение структуры питания людей и ряд других факторов отрицательно влияют на здоровье населения. В связи с этим одним из приоритетных направлений развития молочной промышленности является создание продуктов функционального назначения, оказывающих позитивное регулирующее действие на организм человека.

При этом большое значение в производстве ферментированных молочных продуктов функционального назначения имеет использование пробиотических культур – естественных обитателей желудочно-кишечного тракта. Жизнедеятельность пробиотиков (бифидо-, лактобактерий и других) тормозит рост раковых клеток кишечника, подавляет активность гнилостных и патогенных бактерий, стимулирует продуцирование витаминов, активизирует иммунные процессы и кишечные функции [1].

В связи с этим актуальным является селекция новых высокоактивных пробиотических микроорганизмов, продуцирующих биологически активные вещества, обладающих ценными производственными и биологическими свойствами и создание на их основе ферментированных молочных продуктов функционального назначения для нормализации микрофлоры желудочно-кишечного тракта человека, повышения иммунитета и укрепления организма в целом.

Цель работы – исследовать технологические свойства штаммов бифидо- и молочнокислых бактерий с пробиотическими свойствами.

Объектами исследования являлись 11 штаммов мезофильных молочнокислых бактерий (лактобацилл) и 3 штамма бифидобактерий, полученных из лаборатории молочнокислых и бифидобактерий ГНУ «Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси».

### Результаты исследований и их обсуждение

Гликолиз, или расщепление глюкозы до молочной кислоты, является основной функцией микроорганизмов заквасок и бакпрепаратов, используемых для изготовления ферментированных молочных продуктов.

Для характеристики кислотообразующих свойств исследуемых штаммов молочнокислых и бифидобактерий определяли титруемую кислотность через 6, 24, 48 ч и 7 сут (предельная кислотность) их культивирования в стерилизованном восстановленном обезжиренном молоке с массовой долей сухих веществ 10 % при температуре  $(28\pm 1)^\circ\text{C}$ , бифидобактерий – при  $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ .

На первом этапе исследований использовали посевной материал, полученный при культивировании отдельных штаммов на питательной среде MRS. Посевной материал вносили в количестве 5 %. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Кислотообразующая активность штаммов пробиотических микроорганизмов (в градусах Тернера)

№ штамма	Посев из питательной среды MRS				Посев из культуральной молочной среды			
	Продолжительность культивирования							
	6 ч	24ч	48ч	7 сут	6 ч	24ч	48ч	7 сут
Молочнокислые бактерии								
1	21,5	23,5	32,0	73,0	22,5	24,0	35,0	67,0
2	19,0	31,5	33,5	44,0	21,0	31,0	34,5	47,5
3	25,5	45,0	108,5	155,0	27,0	55,0	112,0	173,0
4	18,0	24,0	37,0	51,0	20,0	35,0	42,0	158,5
5	18,5	28,0	49,0	122,0	19,0	30,0	44,5	104,0
6	19,5	33,0	104,0	198,0	19,5	39,0	81,5	194,5
7	17,0	19,0	23,5	54,0	19,0	18,0	25,5	181,5
8	20,0	26,0	35,0	40,0	19,0	31,0	36,0	62,0
9	18,5	44,0	117,0	183,0	22,0	59,0	110,0	205,0
10	18,0	21,0	31,0	47,0	21,5	26,0	30,5	55,0
11	22,5	44,5	132,0	167,0	17,5	73,0	126,0	187,0
Бифидобактерии								
12	22,0	45,0	153,0	172,0	19,5	80,0	180,5	178,9
13	22,0	38,0	135,0	163,0	20,0	47,0	110,5	155,0
14	20,0	36,0	72,5	99,0	20,5	41,0	63,5	116,0

Как видно из таблицы 1, все исследованные штаммы развиваются в молоке, но в разной степени. Так, наибольшую кислотообразующую активность на протяжении всего периода культивирования проявили штаммы молочнокислых бактерий № 3, 6, 9 11, а из бифидобактерий – № 12, 13. Для молочнокислых бактерий, являющихся активными кислотообразователями, предельная кислотность составила 155–198 °Т, а для бифидобактерий – 163–172 °Т. Для остальных молочнокислых бактерий предельная кислотность находилась на уровне 40–73 °Т. Штамм бифидобактерий № 14 также показал достаточно высокую для бифидобактерий кислотообразующую активность и его предельная кислотность составила 99 °Т.

Штаммы № 1, 5 можно отнести к средним кислотообразователям, а штаммы № 2, 4, 7, 8, 10 – к слабым кислотообразователям.

Так как для производства ферментированных молочных продуктов используют закваски на молочной основе, то нами на следующем этапе работы при исследовании кислотообразующей активности штаммов использовался посевной материал, полученный при культивировании штаммов на молоке. Титруемую кислотность исследуемых штаммов молочнокислых и бифидобактерий также определяли через 6, 24, 48 ч и 7 сут их культивирования. Результаты представлены в таблице 1.

Как видно из таблицы 1, штаммы № 3, 6, 9, 11, 12, 13 и при внесении посевного материала из культуральной молочной среды также показали высокую кислотообразующую активность, как и при посеве штаммов из питательной среды MRS. Кроме того, через 7 сут культивирования штаммы № 4 и 7 имели высокие значения предельной кислотности (158,5 и 181,5 °Т соответственно), характерные для активных кислотообразователей. Хотя при культивировании в течение первых 2-х суток показали низкую кислотообразующую активность, что возможно связано с их медленной адаптацией к молочной среде.

Штаммы № 2, 8, 10 и при посеве из культуральной молочной среды проявили слабую кислотообразующую активность, а штаммы № 1, 5 – среднюю.

В таблице 2 представлены данные по продолжительности образования сгустков в молоке исследуемыми штаммами и по органолептической характеристике полученных сгустков.

Как показали результаты исследований, представленные в таблице 2, при культивировании в молоке штаммы молочнокислых и бифидобактерий проявляют свою активность сквашивания по-разному. Так, штамм молочнокислых бактерий № 11 и бифидобактерий № 12 отличаются наибольшей скоростью образования сгустка с хорошими органолептическими свойствами. Хорошую активность сквашивания проявили штаммы молочнокислых бактерий

№ 3, 6, 9 и бифидобактерий № 13, 14, они образовывали сгусток с чистыми кисломолочными вкусом и запахом, однородной консистенцией через 24 ч. Остальные исследованные штаммы молочнокислых бактерий обладали низкой скоростью образования сгустка (более 36 ч), а штаммы № 1, 2, 10 сквашивали молоко очень медленно – в течение более 50 ч. При этом сгустки имели невыраженные кисломолочные вкусы и запахи.

Таблица 2 – Органолептические показатели и продолжительность образования сгустков, полученных при культивировании штаммов молочнокислых и бифидобактерий

№ штамма	Продолжительность образования сгустка, ч	Органолептические показатели сгустка	
		Вкус и запах	Консистенция
<i>Молочнокислые бактерии</i>			
1	58	чистые, невыраженные кисломолочные, со сладким привкусом	невязкая, однородная
2	50	чистые, кисломолочные	невязкая, однородная
3	24	чистые, кисломолочные	невязкая, однородная
4	36	чистые, невыраженные кисломолочные	дряблая
5	48	чистые, невыраженные кисломолочные, с кислым привкусом	невязкая, однородная
6	24	чистые, кисломолочные	вязкая, однородная
7	40	чистые, невыраженные кисломолочные	невязкая, однородная
8	48	чистые, невыраженные кисломолочные	дряблая
9	24	чистые, кисломолочные, со сладким привкусом	невязкая, однородная
10	50	чистые, невыраженные кисломолочные	невязкая, однородная
11	17	чистые, кисломолочные	невязкая, однородная
<i>Бифидобактерии</i>			
12	17	чистые, кисломолочные, с выраженным специфическим привкусом	вязкая, однородная
13	24	чистые, кисломолочные, с выраженным специфическим привкусом	невязкая, однородная
14	24	чистые, кисломолочные, с выраженным специфическим привкусом	вязкая, однородная

Как известно, одним из важных свойств любого кисломолочного продукта является консистенция, характеризующаяся как совокупность его реологических свойств, воспринимаемых с помощью механических, зрительных и осязательных ощущений.

Количественной характеристикой консистенции кисломолочных продуктов является вязкость и влагоудерживающая способность сгустка.

Кисломолочные продукты являются структурированными системами, в которых протекают два противоположных процесса – разрушение и восстановление. Равновесное состояние между этими процессами характеризуется эффективной вязкостью и описывается зависимостью (по Ребиндеру) [2] по формуле (1):

$$\frac{F}{S} = \eta \frac{dv}{dx}, \quad (1)$$

где  $\frac{F}{S}$  – напряжение сдвига, Па;

$\frac{dv}{dx}$  – градиент скорости, характеризующий изменение скорости слоев в нормальном к ним направлении ( $v$  – скорость,  $x$  – расстояние между слоями),  $c^{-1}$ ;  
 $\eta$  – вязкость продукта, Па·с.

В работе были получены образцы путем сквашивания обезжиренного молока отдельными штаммами молочнокислых и бифидобактерий, моделируя, таким образом, процесс производства кисломолочных продуктов. После образования сгустков определяли их эффективную вязкость и влагоудерживающую способность при температуре  $(4 \pm 2)^\circ C$ . Результаты исследований представлены на рисунках 1,2.

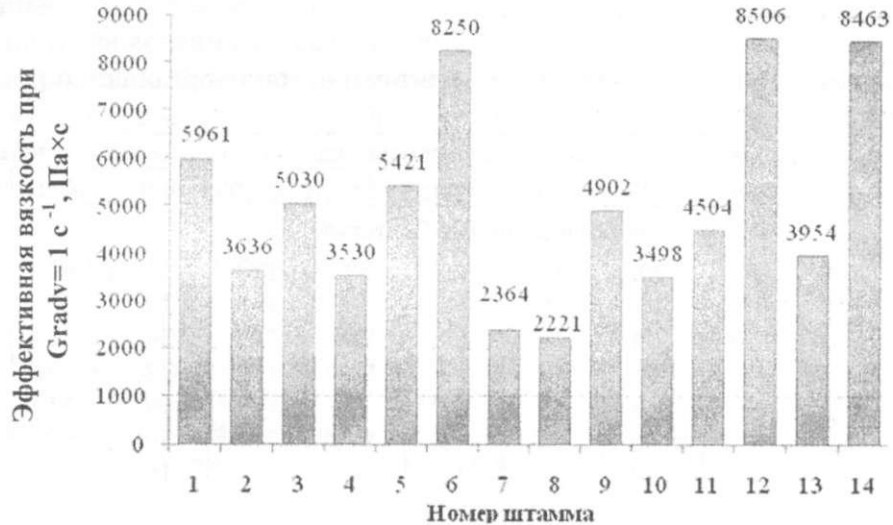


Рисунок 1 – Эффективная вязкость сгустков, полученных при культивировании штаммов молочнокислых и бифидобактерий

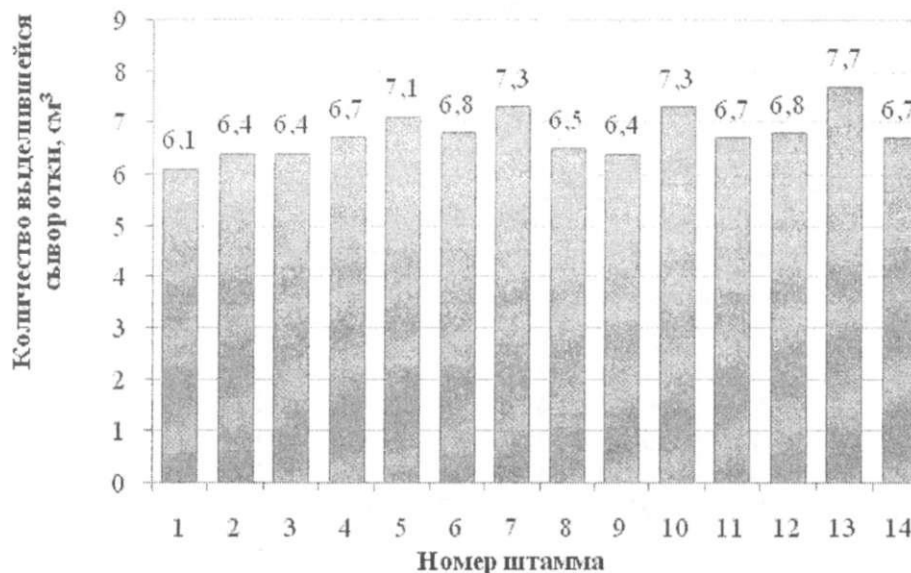


Рисунок 2 – Влагоудерживающая способность сгустков, полученных при культивировании штаммов молочнокислых и бифидобактерий

Наиболее высокую эффективную вязкость имели образцы, полученные при культивировании штамма лактобактерий № 6 и штаммов бифидобактерий № 12, 14. Наименьшее значение эффективной вязкости имели сгустки, образованные штаммами № 2, 4, 7, 8, 10, 13. Эффективная вязкость сгустков, полученных под действием остальных штаммов (№ 1, 3, 5, 9, 11), находилась на среднем уровне. При этом наибольшую влагоудерживающую способность имели сгустки при культивировании в молоке штаммов № 1, 2, 3, 8, 9.

Известно, что некоторые культуры молочнокислых и бифидобактерий, обладающие, на первый взгляд, хорошими свойствами для производства ферментированных молочных продуктов, в дальнейшем, в результате длительного культивирования, теряют эти свойства, и их приходится выбраковывать. С целью изучения сохранения жизнеспособности и активности штаммов при культивировании в лабораторных условиях исследовались кислотообразующая активность и скорость образования сгустков в течение 5 перевивок. Перевивки делали каждые 15 дней.

Кислотообразующую активность контролировали через 6, 24, 48 ч и 7 суток культивирования. Посевной материал вносили в количестве 5 %. Результаты исследований представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Кислотообразующая способность штаммов микроорганизмов при перевивках (в градусах Тернера)

№ штамма	1-я перевивка				2-я перевивка				3-я перевивка			
	6 ч	24ч	48ч	7 сут	6 ч	24ч	48ч	7 сут	6 ч	24ч	48ч	7 сут
Молочнокислые бактерии												
1	21	23	34	70	27	46	58	123	21	43	126	130
2	20	31	34	46	25	40	77	147	23	32	66	137
3	26	50	110	164	29	50	138	169	24	52	155	180
4	19	29	39	105	39	57	110	173	22	49	152	144
5	19	29	47	113	28	61	85	123	19	35	127	160
6	19	36	93	196	25	43	114	223	20	35	197	237
7	18	19	25	117	23	48	94	185	16	19	54	156
8	19	28	35	51	28	56	53	170	19	37	100	159
9	20	51	113	194	30	42	75	200	21	40	210	153
10	19	23	31	51	31	55	45	179	22	37	90	121
11	20	58	129	177	25	51	95	161	19	44	167	172
Бифидобактерии												
12	21	67	166	175	46	53	95	202	20	44	150	137
13	21	43	123	159	33	49	66	98	21	39	115	138
14	20	38	68	147	44	50	89	172	20	47	118	132

Продолжение таблицы 3

№ штамма	4-я перевивка				5-я перевивка			
	6 ч	24ч	48ч	7 сут	6 ч	24ч	48ч	7 сут
Молочнокислые бактерии								
1	20	26	36	63	19	24	31	130
2	21	33	63	141	27	31	56	155
3	25	61	134	190	24	44	95	180
4	26	37	73	208	22	27	46	189
5	26	30	48	165	24	32	46	120
6	21	57	147	297	24	37	131	245
7	27	38	83	235	21	33	85	224
8	20	25	36	185	19	25	38	197
9	17	33	97	237	21	33	66	207
10	22	26	42	191	21	25	38	181
11	24	55	68	185	27	60	90	157
Бифидобактерии								
12	21	35	109	231	22	32	81	243
13	24	43	82	225	21	36	58	152
14	20	43	74	255	25	29	60	133

Культивирование штаммов в лабораторных условиях показало, что их кислотообразующая активность не всегда остается постоянной. Так, значения кислотообразующей активности штаммов

№ 4, 7, 8, 10 в течение 5 перевивок изменялись в широких пределах. Все указанные штаммы относятся к слабым кислотообразователям. Напротив, кислотообразующая активность сильных кислотообразователей практически оставалась на исходном уровне, за исключением штамма № 1. Стабильной кислотообразующей активностью в процессе культивирования в течение 5 перевивок обладали штаммы № 3, 6, 9, 11, 12.

Скорость образования сгустков для изучаемых штаммов в процессе культивирования при перевивках практически не изменялась и оставалась на первоначальном уровне.

### **Заключение**

На основании проведенных исследований установлено, что по технологическим свойствам все исследованные штаммы пробиотических микроорганизмов, кроме штаммов молочнокислых бактерий № 4, 5, 8, могут быть рекомендованы для включения в состав бактериального пробиотического препарата для производства молочных продуктов. Показано, что наиболее целесообразно по изученным технологическим свойствам для создания бактериального пробиотического препарата использовать штаммы молочнокислых бактерий № 3, 6, 9, 11, а также штаммы бифидобактерий № 12, 13, 14.

### **Литература**

- 1 Харитонов, В.Д. Продукты лечебного и профилактического назначения: основные направления научного обеспечения / В.Д. Харитонов, О.Б. Федотова // Молочная промышленность. – 2003. – №12. – С. 71–72.
- 2 Урьев, Н.Б. Физико-химическая механика и интенсификация образования пищевых масс / Н.Б. Урьев, М.А. Талейсник. – М: Пищевая промышленность, 1976. – 240 с.

*Поступила в редакцию 04.06.2012*