

УДК 637.52:576.852.24

РЕГУЛИРОВАНИЕ И КОНТРОЛЬ ПРОЦЕССОВ БИОСИНТЕЗА МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

Киселев Д.А., Корнеева О.С., Мотина Е.А., Шуваев П.В.

*ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет инженерных технологий», Воронеж,
e-mail: korneeva-olga@yml.ru, emotina18@mail.ru.*

Исследовано влияние различных физико-химических факторов (температура, pH среды, массовая доля хлорида натрия, биологическая совместимость) на жизнедеятельность молочнокислых бактерий видов: *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus curvatus*, *Pediococcus pentosaceus*, значимых при производстве мясных изделий. Экспериментально обоснована наиболее эффективная композиция стартовых культур с учётом специфики вырабатываемого цельномышечного мясного продукта, состоящая из *Lactobacillus bulgaricus* и *Lactobacillus acidophilus*. Установлено, что оптимальными условиями, позволяющими достичь наивысшей метаболической активности молочнокислыми бактериями в среде с добавлением глюкозы и лактозы, в качестве источников углерода, является температура 36°C и величина pH 7,0.

Ключевые слова: молочнокислые бактерии, композиция стартовых культур, кислотообразующая активность, регулирование метаболических процессов, технологические режимы

LACTIC ACID BACTERIA BIOSYNTHESIS REGULATION AND CONTROL

Kiselev D.A., Korneeva O.S., Motina E.A., Shuvaev P.V.

*SEAHPE «Voronezh State University of Engineering Technologies»,
Voronezh, e-mail: korneeva-olga@yml.ru, emotina18@mail.ru.*

Influence of various physical and chemical factors (temperature, pH environments, mass fraction of chloride of sodium, biological compatibility) on existence of lactic bacteria of kinds: *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus curvatus*, *Pediococcus pentosaceus*, significant for manufacture of meat products is investigated. The most effective composition of starting cultures taking into account specificity of a developed whole muscle meat product, consisting of *Lactobacillus bulgaricus* and *Lactobacillus acidophilus* is experimentally proved. The optimal conditions allowing to reach the highest lactic bacteria metabolic activity in presence of glucose and lactic as carbon sources are the temperature of 36°C and pH 7.0.

Keywords: lactic bacteria, composition of starting cultures, acid activity, regulation of metabolic processes, technological modes

В настоящее время не вызывает сомнений тот факт, что коррекция комплекса стартовых культур, применяемых в различных отраслях пищевой промышленности, должна являться базисной составляющей при производстве абсолютного большинства продуктов питания человека. Микрофлора организма человека способна нивелировать в широких пределах любые внешние воздействия, в том числе связанные с поступлением чужеродных микроорганизмов, и обладает максимальным влиянием, реализуемым на уровне микробно-тканевого комплекса кишечника, на формирование и поддержание гомеостаза организма в целом. Очевидно, что основными факторами влияния на микробиоценозы человека были и остаются алиментарный и физиологический (в т.ч. неспецифические и специфические механизмы резистентности). Следует признать как общебиологическую целесообразность, так и клиническую значимость потребления человеком адекватного количества и состава пищевых компонентов, являющихся основным источником пробиотических субстанций.

Одним из путей решения такой проблемы является биотехнологический принцип

модификации животного сырья, заключающийся в направленном регулировании хода биохимических, физико-химических и микробиологических процессов, в результате которых формируются органолептические показатели готового продукта, содержащего полезную микрофлору, за максимально короткий срок [6].

Цель исследований. В связи с этой актуальной проблемой был проведен ряд исследований с целью разработки принципов регулирования и контроля процессов биосинтеза молочнокислых бактерий (МКБ) – основных пробиотических культур, используемых при переработке животного сырья.

Важным показателем качества молочнокислых бактерий, входящих в состав закваски, является пригодность их для производства заданного продукта, что должно быть проверено исследованиями.

При составлении композиции необходимо учитывать специфические свойства вырабатываемого продукта, температурные режимы производства, взаимоотношения между микроорганизмами. Важнейшим критерием пригодности для объединения отдельных культур в микробиоценозы закваски является сочетаемость видов

и штаммов. Исходя из этого, для обеспечения гарантированной направленности микробиологических процессов, была поставлена задача обоснования выбора наиболее эффективной композиции стартовых культур.

Материалы и методы исследований

В качестве объектов исследования были выбраны распространенные в продаже и используемые для лечения и профилактики микрофлоры желудочно-кишечного тракта культуры микроорганизмов (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus curvatus*, *Pediococcus pentosaceus*).

Микроорганизмы культивировали на модельной среде, состоящей из восстановленного обезжиренного молока. Культивировали микроорганизмы в условиях ферментации 35 °С и содержания лактозы в среде 4% в течение 12 часов. При подборе углеводного субстрата учитывали данные, полученные исследователями [1, 5, 7] по подбору соотношения моно- и дисахаров. Наиболее целесообразным представляется использование лактозы и глюкозы в соотношении 4:1 в количестве 3,0–5,0% к массе сырья или лактозы в том же количестве.

Для эксперимента использовались стандартные промышленные сублимированные препараты молоч-

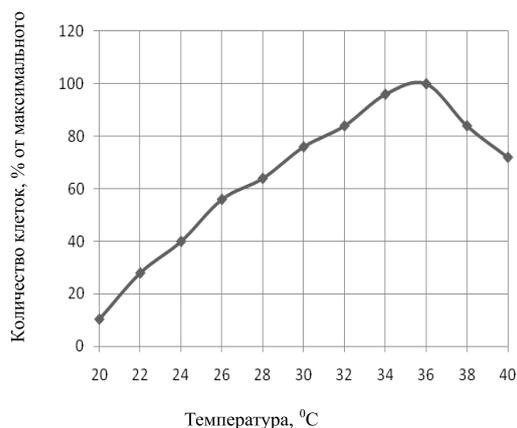
нокислых бактерий с нормализацией $1 \cdot 10^{10}$ КОЕ/г. Исследования вели на мясном сырье для производства цельномышечных продуктов (длиннейшая мышца спины от охлажденных свиных полутуш), предварительно активируя молочнокислые бактерии в теплом обезжиренном молоке. Активирование культур проводили как по отдельности, так и совместно.

Результаты исследований и их обсуждение

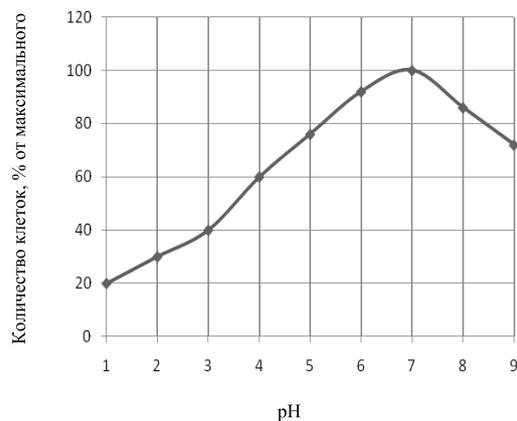
С целью активации культур экспериментально определены оптимальные параметры активирования: температура 35–37 °С при оптимуме 36 °С (рис. 1 а) с добавлением источников углерода (глюкоза + лактоза в соотношении 1:1) и при величине рН 6,0–8,0 при оптимуме 7,0 (рис. 1 б).

Изменение параметров активизации культур в большую или меньшую сторону приводило к уменьшению количества активных клеток микроорганизмов.

При составлении композиции молочнокислых бактерий учитывается ряд определенных свойств молочнокислых бактерий, характеризующих их производственную ценность в соответствии с производимым продуктом.



а



б

Рис. 1. Влияние температуры (а) и рН (б) на увеличение биомассы молочнокислых бактерий

При подборе культур молочнокислых бактерий необходимо также учитывать их кислотообразующую активность, так как кислая среда (рН 5,0–5,1) способствует снижению активности патогенной микрофлоры, активации мышечных ферментов, гидролизу белков, формированию характерного вкуса и аромата ферментированного мясного продукта. При использовании в производстве цельномышечных продуктов молочнокислых микроорганизмов уровень рН снижается за счет синтеза ими молочной кислоты из углеводов субстрата. Наибольшая кислотообразующая активность характерна

для *Lactobacillus bulgaricus* и *Lactobacillus acidophilus*. В фазе адаптации (первые 4 ч) уровень снижения рН для всех культур незначителен. При переходе в фазу экспоненциального роста биосинтетическая активность клеток в культурах увеличивается, и скорость снижения величины рН резко возрастает, причём в большей степени при развитии *L. acidophilus* и *L. bulgaricus*, достигая к 12 ч уровня рН 4,2 и 4,6, а к 24 часам – 3,6 и 3,9 соответственно.

Важной с этой точки зрения является устойчивость молочнокислых бактерий к поваренной соли, применяемой, как правило, при производстве продуктов из жи-

вотного сырья. Устойчивость МКБ к поваренной соли показана на рис. 2.

Анализ полученных результатов позволяет сделать вывод о том, что *Lactobacillus*

bulgaricus и *Lactobacillus acidophilus* обладают высокой кислотообразующей активностью, которая значительно снижается при увеличении содержания поваренной соли в среде.

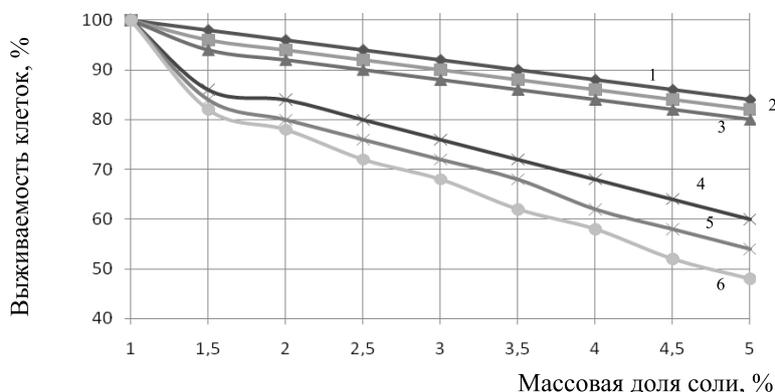


Рис. 2. Резистентность молочнокислых бактерий к содержанию соли в среде культивирования: 1 – *Lactobacillus casei*; 2 – *Pediococcus pentosaceus*; 3 – *Lactobacillus plantarum*; 4 – *Lactobacillus curvatus*; 5 – *Lactobacillus acidophilus*; 6 – *Lactobacillus bulgaricus*

Для регулирования и контроля процессов биосинтеза МКБ подбирали оптимальную температуру ферментации с учётом влияния поваренной соли на активность кислотообразования. В ряде модельных экспериментов с наиболее активными культурами варьировались значения температуры ферментации

(от 15 до 40 °С) и массовую долю поваренной соли (от 0 до 5%). По результатам эксперимента установлен оптимум температуры для культур *L. bulgaricus* и *L. acidophilus* (35 °С) и определена степень угнетения кислотообразующей активности в зависимости от концентрации поваренной соли (рис. 3).

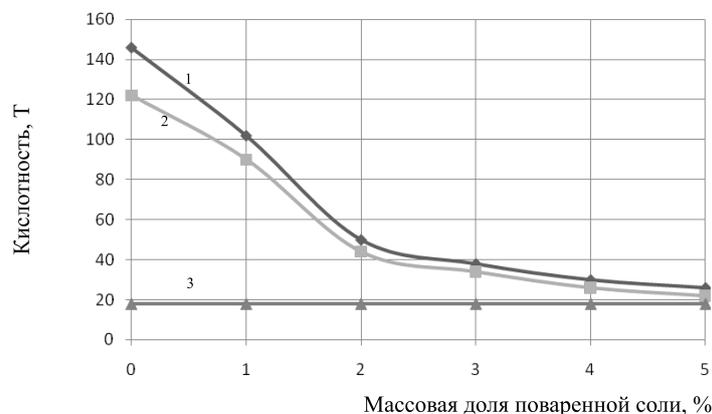


Рис. 3. Влияние массовой доли поваренной соли в среде из восстановленного обезжиренного молока на активность *L. bulgaricus* и *L. acidophilus*: 1 – *Lactobacillus bulgaricus*, 2 – *Lactobacillus acidophilus*, 3 – контроль

Из рис. 3 видно, что при внесении в состав среды поваренной соли в количестве 1–3% массы, кислотообразующая активность *Lactobacillus bulgaricus* и *Lactobacillus acidophilus* резко снижается (в 5–6 раз). Увеличение массовой доли поваренной соли от 3 до 5% масс, приводит к консервации среды и незначительному дальнейшему снижению уровня кислотности, что указывает на слабое развитие МКБ.

В процессе приготовления сырокопченых продуктов мясное сырьё подвергается ферментации как под действием мышечных

ферментов – катепсинов, так и под действием энзимных комплексов молочнокислых бактерий, активно развивающихся в процессе ферментации. Для определения степени развития ферментативного процесса и роли в протеолизе ферментных комплексов молочнокислых бактерий проводили следующий эксперимент.

О развитии протеолитической активности ферментных комплексов можно судить по нарастанию низкомолекулярных азотистых соединений – ди- и трипептидов, а также отдельных аминокислот. Для опре-

деления нарастания аминного азота проводили анализ образцов экспериментального продукта на разных стадиях технологического процесса. Количество соединений содержащих аминогруппы определяли фотокалориметрически. Цветную реакцию

проводили с использованием реактива Фолина. В качестве контрольного использовали образец мясного сырья, изготовленный без использования культур молочнокислых микроорганизмов. Результаты определения представлены на рис. 4.

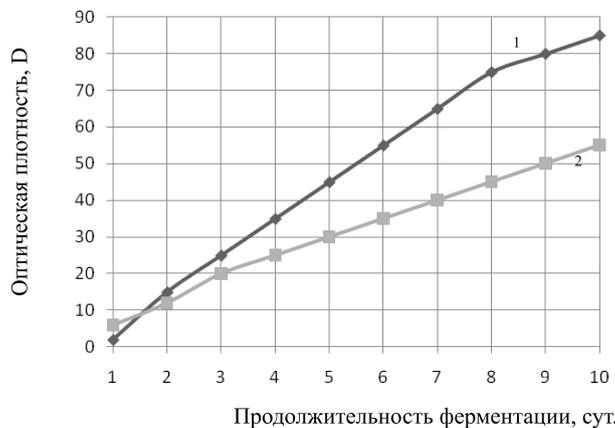


Рис. 4. Нарастание аминного азота в продукте (1 – опыт, 2 – контроль)

Из рис. 4 видно, что нарастание аминного азота в экспериментальном образце происходит с большей скоростью, чем в контрольном, это связано с ускорением активации мышечных катепсинов под действием низкого уровня pH и проявлением протеолитической активности ферментных комплексов лактококков и лактобактерий.

При создании микробных ассоциаций и регулировании метаболической активности входящих в них стартовых культур необходимо учитывать различные типы

взаимоотношений, возникающих в процессе их жизнедеятельности [3].

В основном в промышленности применяют многоштаммовые бактериальные препараты, поэтому задача отбора микроорганизмов состоит в выборе оптимальных по функциональным свойствам для конкретного продукта штаммов, обладающих взаимной совместимостью [2]. Нами изучалась способность к совместному росту и размножению отобранных штаммов: *Lactobacillus bulgaricus* и *Lactobacillus acidophilus* методом перпендикулярных штрихов (рис. 5).

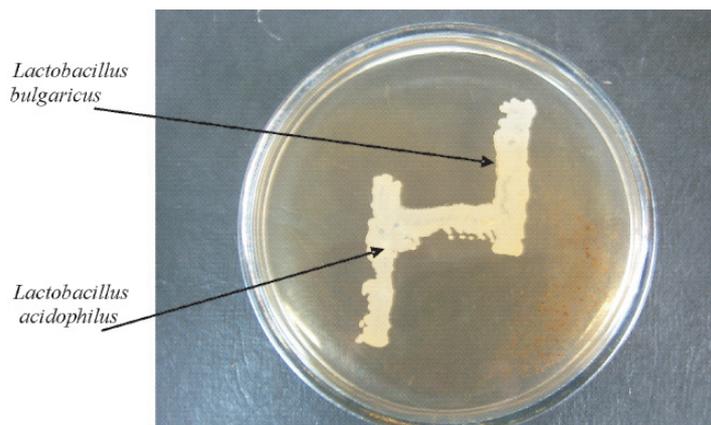


Рис. 5. Совместный рост штаммов *L. bulgaricus* и *L. acidophilus*

На рис. 5 видно, что при одновременном выращивании культуры молочнокислых бактерий не видоизменены, морфология колоний соответствует морфологии при их индивидуальном посеве на отдельные среды. В области соприкосновения

штаммов молочнокислых бактерий наблюдается однородный и равномерный рост. Полученные данные позволяют сделать вывод, что взаимоотношения между исследуемыми штаммами не являются антагонистическими.

Выводы

Результаты комплексных исследований свидетельствуют о возможности регулирования процессов роста, развития и метаболической активности молочнокислых бактерий в составе многоштаммовых бактериальных препаратов, применяемых при производстве цельномышечных продуктов, что позволит интенсифицировать технологический процесс и повысить качество готовой продукции.

Список литературы

1. Антипова Л. В. Прикладная биотехнология: учеб. пособие / Л.В. Антипова, И.А. Глотова, А.И. Жаринов. – Воронеж: Изд-во Воронеж, гос. технол. акад., 2000. – 332 с.
2. Бабьева И.П. Биология дрожжей / И.П. Бабьева, И.Ю. Чернов. – М.: Товарищество науч. изд. КМК, 2004. – 221 с.
3. Ганина В.И. Пробиотики. Назначение, свойства и основы биотехнологии. – М.: МГУПБ, 2001. – 169 с.
4. Жаринов А.И. Пищевая биотехнология. – М.: Вестник РАСХН, 2007 – 476 с.
5. Новый бактериальный препарат – основа ускоренной технологии производства сырокопченых колбас / Ю.Г. Костенко, Г.И. Солодовникова, Г.А. Кузнецова, В.А. Самойленко // Мясная индустрия. – 1997. – №1. – С. 9–10.
6. Машенцева Н.Г. Функциональные стартовые культуры в мясной промышленности / Н.Г. Машенцева, В.В. Хорольский. – М.: ДеЛи принт, 2008. – 336 с.
7. Рогов И.А. Химия пищи. Принципы формирования качества мясopодуKтов / И.А. Рогов, А.И. Жаринов, М.П. Воякин. – СПб.: Изд-во РАПП, 2008. – 338 с.

References

1. Antipova L.V., Glotova I.A., Zharinov A.I. *Applied biotechnology*. Voronesh, VGTA Publ., 2000. 332 p.
2. Babeva I.P., Chernov I.Y. *Biology of yeast*. Moscow, KMK Publ., 2004. 221 p.
3. Ganina V.I. *Appointment, properties and biotechnology bases*. Moscow, MSUFB, 2001. 169 p.
4. Zharinov A.I. *Food biotechnology*. Moscow. Bulletin RASES, 2007. 476 p.
5. Costenco Y.G., Solodovnikova G.I., Cuznechova G.A., Savoilenko V.A. *The meat industry*, 1997. no. 1, pp. 9-10.
6. Mashentseva N.G. Khorokholsci V.V. *Functional starting cultures in the meat industry*. Moscow, DeLi Publ., 2008, p. 336.
7. Rogov I.A., Zharinov A.I., Voyacin M.P. *Food chemistry. Principles of formation of quality of meat products*, Moscow, Rapp Publ., 2008, p.338.

Рецензенты:

Глотова И.А., д.т.н., профессор, заведующая кафедрой технологии переработки животноводческой продукции ФГОУ ВПО «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I» Министерства образования и науки Российской Федерации, г. Воронеж;

Грабович М.Ю., д.б.н., доцент кафедры биохимии и физиологии клетки ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет», г. Воронеж.

Работа поступила в редакцию 09.03.2012.