

ПОДБОР ПРОБИОТИЧЕСКИХ МИКРООРГАНИЗМОВ ПО ОСНОВНЫМ ПРОИЗВОДСТВЕННО-ЦЕННЫМ СВОЙСТВАМ, ПРЕДНАЗНАЧЕННЫХ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ПРОДУКТОВ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ

Л.В. Сафроненко, канд. техн. наук (БГАТУ); Н.К. Жабанос, канд. техн. наук, Н.Н. Фурик, канд. техн. наук (РУП «Институт мясо-молочной промышленности»); Е.В. Сафроненко (ОДО «ВАН-97»)

Аннотация

*Изложены результаты исследований по изучению производственно-ценных свойств бифидобактерий – *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus salivarius subsp. thermophiles* из коллекционного фонда культур РУП «Институт мясо-молочной промышленности», предназначенных для производства новых кисломолочных продуктов для детского питания.*

*The results of studies on the industrial valuable, of *Bifidobacterium*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus plantarum*, *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* from Cultural Collection of "Institute of Meat and Dairy Industry," intended for the production of new dairy products for baby food are given in the article.*

Введение

Питание детей представляет собой один из ключевых факторов, определяющих не только качество жизни, но также условия роста и развития ребенка. В Республике Беларусь на 1 января 2012 года насчитывалось около двух миллионов детей раннего, дошкольного и школьного возраста. Качественное питание именно этой категории населения является одной из приоритетных задач нашего государства в обеспечении здоровья нации. Полноценное питание укрепляет способность к обучению и здоровье детей. Такое питание влияет на интеллектуальное развитие ребенка и является необходимым условием хорошей успеваемости в школе. Дети, имевшие серьезную недостаточность основных нутриентов, минеральных и витаминных веществ, получают при тестировании на IQ и знание фактической информации более низкие оценки, чем дети в специально выбранных группах сравнения. И одно из первостепенных мест в обеспечении сбалансированного питания для детей занимают молоко и молочные продукты.

В кисломолочных продуктах (по сравнению с цельным молоком) содержатся молочнокислые и пробиотические микроорганизмы, которые подавляют развитие болезнетворных организмов в кишечнике, разрушают токсичные продукты обмена веществ, синтезируют витамины, повышают усвоение белков пищи, укрепляют иммунную систему. Учитывая незначительный ассортимент кисломолочных продуктов для питания детей раннего возраста и их высокую биологическую ценность, особую актуальность приобретает разработка новых технологий кисломолочных продуктов, обогащенных пробиотической микрофлорой.

Основная часть

Производство кисломолочных продуктов основано на использовании заквасок (традиционных и прямого внесения), бактериальных концентратов и монокультур, содержащих в своем составе микроорганизмы разных таксономических групп. Превращение исходного сырья в конечный продукт в биотехнологическом производстве не является результатом действия какого-либо одного штамма бактерий, а есть результат последовательного действия микробиологических популяций, которые за определенный период времени изменяют исходное сырье.

От видового и штаммового состава используемой микрофлоры (мезофильные лактококки, термофильные стрептококки, лактобациллы, бифидобактерии) зависят пробиотические свойства конечного продукта, стабильность протекания технологического процесса получения продуктов с заданными показателями качества и безопасности за счет биологически активных веществ, синтезируемых специально подобранными штаммами бактерий. Правильно подобранная микрофлора способна улучшить органолептические показатели продуктов, ускорить технологический процесс, повысить биологическую ценность продуктов, расширить ассортимент.

В этой связи определяющим этапом в технологии являются принципы подбора штаммов микроорганизмов для получения бактериальных концентратов и кисломолочных продуктов с пробиотическими свойствами. Было исследовано 22 штамма ацидофильной палочки, 17 штаммов бифидобактерий, 14 штаммов *Lactobacterium delbrueckii subsp. bulgaricus*, 10 штаммов *Streptococcus salivarius subsp. thermophiles*, 8 штаммов *Lactobacillus plantarum*, 4

штамма *Lactobacillus casei* и 8 штаммов рода *Bifidobacterium* из коллекции производственно-ценных штаммов РУП «Институт мясо-молочной промышленности». Штаммы отбирались по основным производственно-ценным свойствам:

- активность кислотообразования;
- активность роста в молоке и питательной среде;
- предельная кислотность;
- предельное значение активной кислотности;
- урожайность (количество жизнеспособных клеток в единице объема питательной среды);
- микроскопическая картина;
- органолептические свойства.

Активную кислотность (рН) регистрировали потенциометрически в ед. рН.

Определение активности роста в молоке, органолептических показателей молочнокислых микроорганизмов проводили следующим образом: в стерильное восстановленное молоко (100 мл) вносили 3 % культуры лактобацилл и термостатировали при температуре 40-42 °С – для болгарской палочки и термофильного стрептококка, 37-38 °С – для ацидофильной палочки и 32-35 °С – для *Lactobacillus plantarum*, *L. casei*. Отмечали продолжительность образования сгустка, по которому судили об активности свертывания молока.

Титруемую кислотность определяли титриметрическим методом, выражая в градусах Тернера (°Т), по ГОСТ 3624-92. После этого пробы помещали в холодильник и выдерживали при температуре 3-5 °С в течение 16-18 часов. Затем отмечали характер сгустка, вкус, аромат и консистенцию.

Предельную кислотность микроорганизмов определяли после внесения 3 % культуры в 100 мл стерильного обезжиренного молока и выдержки при оптимальной температуре – 37-38 °С для ацидофильной палочки или 32-35 °С – для *Lactobacillus plantarum*, *L. casei*. в течение 7 суток.

Препараты для световой микроскопии готовили по стандартным методикам и окрашивали по Граму в модификации Хукера или метиленовой синью по Леффлеру.

Число колониеобразующих единиц (КОЕ/см³) (количество клеток) рассчитывали методом предельных разведений в полужидких средах.

Для определения активности роста в питательной среде бифидобактерий в питательную (гидролизатно-молочную, гидролизатно-казеиновую, тиогликолевую или др.) среду инокулировали 10 % культуры бифидобактерий и термостатировали при температуре 37 °С в течение 18-20 часов. Учитывали количество жизнеспособных клеток и активную кислотность. Активность роста и жизнеспособность выражали в единицах КОЕ/см³ или lg КОЕ/см³.

При изучении видового пейзажа лактобацилл микрофлоры человека было установлено, что наиболее часто встречаются: *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*, *Lactobacillus brevis* [1].

Ацидофильная палочка *Lactobacillus acidophilus* и болгарская палочка *Lactobacterium delbrueckii* subsp.

Bulgaricus характеризуются высокой антибиотической активностью по отношению к возбудителям кишечных заболеваний, поэтому ее вводят в кисломолочные продукты для придания им лечебных свойств. Авторами публикации были изучены основные физиолого-биохимические признаки, характеризующие возможность применения этих микроорганизмов для производства лечебно-профилактических кисломолочных продуктов. У 22 культур ацидофильной палочки и 10 культур болгарской палочки определены скорость свертывания молока, активность кислотообразования, предельная кислотность, органолептические показатели. Результаты исследований представлены в табл. 1 – 2.

Все культуры ацидофильной палочки образовывали сгусток в пределах 4,4-5,5 часов. Титруемая кислотность при этом составляла 60-70 °Т, предельная кислотность – 240-440 °Т. На основании данных, приведенных в табл. 1, были отобраны 4 штамма (А23, А27/2, А30/4, А38/4) ацидофильной палочки по признакам высокой активности роста, относительно низкой энергии кислотообразования, что является важным свойством при хранении готового продукта. Кроме того, важное значение имели органолептические показатели: консистенция и характер сгустка, вкус и запах.

Болгарская палочка обладает большей энергией кислотообразования, чем ацидофильная и образует сгусток в молоке за 2,5-4 часа. Сгусток имеет кислотность 47-95 °Т, а предельная кислотность составляет 204-384 °Т. Исходя из анализа изученных свойств отобрано 4 штамма болгарской палочки – В4, В6, В7, В14/1.

В табл. 3 представлены результаты исследований коллекционных культур термофильного стрептококка. Поскольку при производстве детских молочных продуктов используется широкий температурный диапазон, то учитывалась активность образования сгустка при разных температурах. Также учитывали структурные и органолептические особенности образующего сгустка.

Коллекционные штаммы термофильного стрептококка в зависимости от температуры культивирования образовывали сгусток в молоке в течение 2,5-4 часов (43 °С) и 5-6 часов (30 °С). Титруемая кислотность сгустка составляла – 60-63 °Т, предельная кислотность – 105-119 °Т. Для работы отобрано 5 штаммов (St 36/1, St 44/2, St 55/1, St 72/2, St 78), имеющих слабовязкую и вязкую консистенцию.

Лактобациллы колонизируют второй слой приэпителиальной зоны кишечника здорового человека. Иммуностимулирующее действие лактобацилл в первую очередь связывают с присутствием в их клеточной стенке пептидогликанов и тейхоевых кислот, известных поликлональных индукторов и иммуномодуляторов. Способность *Lb. plantarum* предотвращать развитие кишечных инфекций, вызванных традиционными патогенами, осуществляется преимущественно через механизм образования аргинина и окиси азота, а также предотвращения адгезии посторонних микроорганизмов и образования ими эндотоксинов [2].

Технологические свойства *Lactobacillus plantarum* и *Lactobacillus casei* изучались при развитии

Таблица 1. Производственно-ценные свойства культур *Lactobacillus acidophilus*

Номер штамма	Время образования сгустка, час	Титруемая кислотность, °Т	Предельная кислотность, °Т	Органолептические показатели: консистенция, запах, вкус
A 1	5,0	71	290	вязкая, чистый кисломолочный
A 2	5,0	61	440	невязкая, чистый кисломолочный
A 6	5,0	65	390	невязкая, чистый кисломолочный
A 7	5,5	71	500	невязкая, чистый кисломолочный
A 8	5,5	71	386	вязкая, чистый кисломолочный
A 10	5,0	57	370	вязкая, чистый кисломолочный
A 11	5,2	65	385	вязкая, чистый кисломолочный
A 13	5,0	68	497	вязкая, чистый кисломолочный
A 16	5,0	61	270	вязкая, чистый кисломолочный
A 17	5,0	66	425	вязкая, чистый кисломолочный
A 18	5,5	69	400	вязкая, чистый кисломолочный
A 19	5,0	65	350	невязкая, чистый кисломолочный
A 21	5,5	68	350	невязкая, чистый кисломолочный
A 23	5,0	65	328	вязкая, чистый кисломолочный
A 24	5,0	70	346	вязкая, чистый кисломолочный
A 25	5,5	67	352	вязкая, чистый кисломолочный
A 15	5,0	64	440	вязкая, чистый кисломолочный
A 27/1	5,5	67	375	вязкая, чистый кисломолочный
A 27/2	5,0	70	270	вязкая, чистый кисломолочный
A 27/3	5,5	60	240	вязкая, чистый кисломолочный
A 30/4	4,5	64	370	вязкая, чистый кисломолочный
A 38/4	4,45	61	335	вязкая, чистый кисломолочный

Таблица 2. Производственно-ценные свойства культур *Lactobacterium delbrueckii subsp. bulgaricus*

Номер штамма	Время образования сгустка, час.	Титруемая кислотность, °Т	Предельная кислотность, °Т	Органолептические показатели: консистенция, запах, вкус
B 3	2,5	57	381	чистый кисломолочный
B 4	2,5	50	380	чистый кисломолочный
B 6	4,0	64	255	вязкая, чистый кисломолочный
B 7	2,5	56	384	чистый кисломолочный
B 9	3,5	52	361	чистый кисломолочный
B 12/1	3	60	305	чистый кисломолочный
B 12/2	2,5	95	342	чистый кисломолочный
B 13/1	2,5	71	354	чистый кисломолочный
B 13/2	3,0	82	350	чистый кисломолочный
B 14/1	2,5	47	298	чистый кисломолочный
B 14/2	3,0	65	288	чистый кисломолочный
B 15/2	3,0	67	292	чистый кисломолочный
B 17	3,0	51	204	чистый кисломолочный
B 18/2	3,0	54	212	чистый кисломолочный

Таблица 3. Производственно-ценные свойства культур *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*

Коллекционный номер штамма	Активность, час.		Титруемая кислотность, °Т	Титр клеток, КОЕ/мл	Предельная кислотность, °Т	Органолептические показатели: консистенция, запах, вкус
	При 43 °С	При 30 °С				
St 18	2,5	5,5	63,0	2,0 10 ⁸	110	Не вязкая, чистый кисломолочный
St 21/3	2,5	5,5	62,4	2,5 10 ⁸	117	Не вязкая, чистый кисломолочный
St 36/1	3,5	6,0	60,0	7,5 10 ⁸	105	Слабовязкая, чистый кисломолочный
St 42	4,0	6,0	62,0	2,0 10 ⁸	125	не вязкая, чистый кисломолочный
St 44/2	3,5	5,5	61,0	2,5 10 ⁸	108	слабовязкая, чистый кисломолочный
St 48/2	3,5	6,0	62,0	2,0 10 ⁸	123	чистый кисломолочный
St 55/1	2,5	5,0	62,3	2,5 10 ⁸	112	вязкая, чистый кисломолочный
St 72/2	2,5	5,0	62,0	2,5 10 ⁸	110	вязкая, чистый кисломолочный
St 77/1	3,0	5,0	61,0	2,0 10 ⁸	124	чистый кисломолочный
St 78	2,5	5,5	63,0	3,0 10 ⁸	119	слабовязкая, чистый кисломолочный

культур в питательных средах, поскольку активность кислотообразования в молоке у них по сравнению с другими молочнокислыми культурами низкая. Для этих культур более важными показателями являются

изменение активной кислотности и скорость накопления биомассы в питательной среде. Результаты исследований представлены в табл. 4 – 5.

Таблица 4. Технологические характеристики культур *Lactobacillus plantarum*

№ штамма	Титр клеток в пит. среде, КОЕ/см ³	Активн. кислотность, pH	Титруемая кислотность, Т*	Предельная кислотность, Т*	Микроскопический препарат
PI 28/2	8,0 · 10 ⁸	4,9	68,0	103	короткие толстые палочки, одиночные и в ветвистые цепочки
PI 30/1	4,5 · 10 ⁹	4,4	70,0	110	короткие, средней толщины палочки, сгруппированные по 3-4 вместе
PI 30/2	3,5 · 10 ⁹	4,3	69,0	108	короткие, средней толщины палочки, сгруппированные по 3-4 вместе
PI 30/3	6,0 · 10 ⁸	4,6	67,8	111	короткие, средней толщины палочки, сгруппированные по 3-4 вместе
PI 30/4	5,0 · 10 ⁹	4,7	71,0	115	тонкие палочки, сгруппированные в ветв. цепочки
PI 30/5	4,0 · 10 ⁹	4,8	68,0	110	тонкие палочки, сгруппированные в ветв. цепочки
PI 30/6	2,0 · 10 ⁹	4,7	69,0	105	тонкие палочки, сгруппированные в ветв. цепочки
PI 30/7	3,0 · 10 ⁹	4,8	70,0	112	тонкие палочки, сгруппированные в ветв. цепочки

* Примечание: Титруемую и предельную кислотности определяли при культивировании в стерильной творожной сыворотке.

Таблица 5. Основные показатели развития культуры *Lactobacillus casei* в питательной среде

№ штамма	Титр клеток, КОЕ/см	Активная кислотность, ед. pH	Микроскопический препарат
L. cas 1	3,5 · 10 ⁹	4,52	Гр+ тонкие палочки, сгруппированные в ветвистые цепочки
L. cas 2	4,0 · 10 ⁹	4,35	Гр+ тонкие палочки, сгруппированные в ветвистые цепочки
L. cas 3	2,5 · 10 ⁹	4,61	Гр+ тонкие палочки, сгруппированные в ветвистые цепочки
L. cas 5/1	4,5 · 10 ⁹	4,41	Гр+ тонкие палочки, сгруппированные в ветвистые цепочки

Титр клеток на питательной среде у исследуемых штаммов составлял от 2,0 · 10⁸ до 4,5 · 10⁹ КОЕ/ см³. Активная и титруемая кислотности колебались незначительно и составляли соответственно 4,3 – 4,8 ед. pH и 68-70 °Т.

На основании проведенных исследований было отобрано два штамма *Lactobacillus plantarum* PI 28/2, PI 30/1, которые характеризовались наиболее высокой энергией роста и относительно низкой предельной кислотностью.

При изучении воздействия бактерий *Laetobacillus casei* на организм человека рядом исследователей [3] установлено, что применение готовых продуктов, фер-

ментированных бифидобактериями в сочетании с *Lb. casei*, способствует увеличению приживаемости бифидобактерий в кишечнике человека. Поэтому в последние годы для производства пробиотических продуктов наряду с бифидобактериями, ацидофильной и болгарской палочками, используются и бактерии *Lb. casei*.

При культивировании культур *Lactobacillus casei* в питательных средах при интенсивном снижении значений активной кислотности до 4,35-4,61 ед. pH достигается достаточно высокий титр жизнеспособных клеток 4,0 · 10⁹-4,5 · 10⁹, что позволило отобрать два наиболее продуктивных штамма (*L. cas 2* и *L. cas 5/1*).

Известно, что бифидобактерии на 99 % состав-

Таблица 6. Основные показатели развития культур рода *Bifidobacterium* в питательной среде

№ штамма	Титр клеток, КОЕ/мл	Активная кислотность, ед. pH	Микроскопический препарат
B bifidum Б 2/3	5,0 · 10 ⁹	4,68	Гр+, тонкие прямые и изогнутые палочки в скоплениях и одиночные, с бифуркациями на концах
B longum Б 1/2	3,5 · 10 ⁹	4,56	Гр+, тонкие изогнутые палочки, ветвящиеся и с бифуркациями на концах
B. adolescentis Б 43	3,0 · 10 ⁹	4,61	Гр+, тонкие изогнутые палочки, с ветвлением, встречаются в виде римских пятерок.
B. adolescentis Б 47	5,5 · 10 ⁹	4,58	Гр+, тонкие изогнутые палочки, с ветвлением, встречаются в виде римских пятерок.
B. breve Б 39	4,0 · 10 ⁹	4,54	Гр+, тонкие изогнутые палочки, с ветвлением, встречаются в виде римских пятерок и булавовидные формы
B longum Б 44	3,5 · 10 ⁹	4,56	Гр+, тонкие изогнутые палочки, ветвящиеся и с бифуркациями на концах
B bifidum Бф 2	1,5 · 10 ⁹	4,62	Гр+, тонкие прямые и изогнутые палочки в скоплениях и одиночные, с бифуркациями на концах
B. infantis Бф 11	2,0 · 10 ⁹	4,63	Гр+, тонкие прямые и изогнутые палочки в скоплениях и одиночные, с бифуркациями на концах

ляют флору кишечника здорового грудного ребенка и в больших количествах присутствуют в микробиоценозе толстого кишечника детей и взрослых людей [4]. Наиболее изученные виды *B.bifidum* (типовой), *B.adolescentis*, *B.longum*, *B.breve*, *B.infantis* используются при производстве пробиотических продуктов.

Отбор штаммов бифидобактерий проводили по основным технологическим характеристикам. Исследовали интенсивность накопления биомассы в питательной среде, способность культур развиваться в молоке, активность кислотообразования. Изученные свойства представлены в табл. 6.

Все исследуемые коллекционные штаммы бифидобактерий накапливали в питательной среде $1,5 - 5,0 \cdot 10^9$ КОЕ/мл. и интенсивно снижали активную кислотность среды до 4,54-5,5 ед. рН. На основании анализа полученных результатов с учетом видовой принадлежности культур отобрано 7 штаммов бифидобактерий, обладающих удовлетворительными показателями развития на питательных средах.

Заключение

Для создания технологии детских пробиотических кисломолочных продуктов произведен отбор штаммов-продуцентов по необходимым производственно-ценным свойствам из коллекции РУП «Ин-

ститут мясомолочной промышленности», что позволит после изучения их медико-биологических свойств приступить к созданию технологии бактериальных препаратов и самих продуктов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лактофлора и колонизационная резистентность / А.А. Ленцнер [и др.] // Антибиотики и медицинская биотехнология, 1987. – Т. 32. – № 3. – С. 173-179.
2. Elango, V. Oral Biotherapeutic agents for gastroenteritis / V. Elango, S. Dhanapal, S. Devi // Ecoimmunonutrition / eds. R. Deolankar [et al.] ; Ind. Dietetic Assoc. Pune, 1997. – P. 39-46.
3. Тамим, А.Й. Йогурт и аналогичные кисломолочные продукты: научные основы и технологии / А.Й. Тамим, Р.К. Робинсон; под науч. ред. Л.А. Забдаловой; пер. с англ. – СПб: Профессия, 2003. – 664 с.
4. Молокеев, А.В. Рецептуростроение комплексных эубиотиков, адекватных возрастному микробиоценозу человека / А.В. Молокеев, Э.В. Криницина, Р.М. Ильина // Тез. науч. техн. конф. Пробиотики и пробиотические продукты в профилактике и лечении наиболее распространенных заболеваний человека, Москва, 21-23 апреля 1999. – М., 1999. – С. 34-37.

Измерители-регуляторы МТ2

Предназначены для измерения и регулирования температуры (в комплекте с датчиками температуры), а также других неэлектрических величин (давление, уровень, влажность и т.д.)



Измерители-регуляторы МТ2 являются универсальными цифровыми программируемыми микропроцессорными устройствами. Они могут быть использованы при создании систем автоматического контроля и регулирования различных параметров технологических процессов в промышленности и сельском хозяйстве.

Основные технические данные

Напряжение питания	230 В ± 10%, 50 Гц
Потребляемая мощность, не более	4 ВА
Масса, не более	0,4 кг
Габаритные размеры	120x96x48 мм
Входной сигнал (измерительный преобразователь)	Термопреобразователь сопротивления: ТСП50П, ТСП100П, ТСМ50М, ТСМ 100М; Термопара типа: «L», «J», «K»;
Предел основной приведенной погрешности измерения	Унифицированный токовый сигнал: 0...5мА, 0...20мА, 4...20мА ±0 5 %
Закон регулирования	позиционный, ПИД