

УДК 579.67

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОПИОНОВОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ ДЛЯ ПОВЫШЕНИЯ ПИЩЕВОЙ И БИОЛОГИЧЕСКОЙ ЦЕННОСТИ И СОХРАННОСТИ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Олейникова Е.А., Кузнецова Т.В., Саубенова М.Г., Райымбекова Л.Т.,
Шорманова М.М., Айтжанова А.А.

РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, Алматы, e-mail: raduga.30@mail.ru

Исследовано влияние пропионовокислых бактерий *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* на сохранность, пищевую и биологическую ценность кисломолочных продуктов. Внесение пропионовокислых бактерий одновременно с комплексной кисломолочной закваской с равным соотношении в молочную сыроворотку (с добавлением 20% молока) способствует более раннему образованию сгустка, незначительному снижению кислотности, накоплению 512,4 мкг/мл витамина B₁₂ и пропионовокислых бактерий в количестве 6,9×10⁸ КОЕ/мл. Добавление суспензий пропионовокислых бактерий к кисломолочным продуктам в количестве 0,5–1,0% с одновременным внесением мицелиального гриба предотвращает грибную порчу кисломолочных продуктов в течение 4–6 суток (при порче контрольного продукта через 2–3 суток) при 30–33 °С и продляет срок их годности на 25–105% при температуре хранения 4 °С. Показано что пропионовокислые бактерии способствуют повышению сроков хранения различных кисломолочных продуктов и обогащают их живыми клетками пробиотических микроорганизмов и витамином B₁₂ и обладают высоким потенциалом для использования в биотехнологии и предохранении от порчи продуктов сбраживания молока и сыроворотки.

Ключевые слова: пропионовокислые бактерии, пищевая безопасность, сохранность продуктов, кисломолочные продукты

PROPIONIBACTERIA IN PRESERVATION OF DAIRY PRODUCTS AND INCREASING ITS NUTRITIONAL AND BIOLOGICAL VALUE

Oleynikova E.A., Kuznetsova T.V., Saubanova M.G., Rayymbekova L.T.,
Shormanova M.M., Aytzhanova A.A.

SNE «Institute of Microbiology and Virology» SK MES RK, Almaty, e-mail: raduga.30@mail.ru

The effect of propionic acid bacteria *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* on the safety, nutritional and biological value of fermented milk products was investigated. The introduction of propionic acid bacteria concurrently with the complex dairy starter culture in equal proportions to milk whey (with the addition of 20% milk) promotes an earlier formation of the clot, a slight decrease in acidity, the accumulation of 512,4 µg / ml of vitamin B₁₂ and propionic acid bacteria in amount of 6,9×10⁸ Cfu/ml. The addition of suspensions of propionic acid bacteria to dairy products in amount of 0,5–1,0% with the simultaneous introduction of a filamentous fungus prevents the fungal spoilage of the products for 4–6 days (spoilage of the control products in 2–3 days) at 30–33 °C and extends their shelf life by 25–105% at a storage temperature of 4 °C. It is shown that propionic acid bacteria contribute to the increase in the shelf life of various fermented milk products, enrich them with living cells of probiotic microorganisms and vitamin B₁₂, and have a high potential for use in biotechnology and protection from spoilage of products from fermented milk and whey.

Keywords: propionic acid bacteria, food safety, safety of products, dairy products

В последние годы биотехнология в пищевой промышленности ориентирована на создание функциональных продуктов и пищевых добавок нового поколения, а также на использование биологических способов улучшения показателей сохранности и питательности продуктов питания.

Для снижения риска контаминации и порчи продуктов в настоящее время широко используются различные химические ингредиенты, оказывающие неблагоприятное воздействие на организм человека. Альтернативой химическим веществам в этом плане служат микроорганизмы – продуценты органических кислот, являющиеся представителями нормальной микрофлоры желудочно-кишечного тракта живых организмов. Технологическое действие

микроорганизмов при этом связано с их способностью к синтезу специфических биологически активных компонентов, таких как органические кислоты, бактериоцины, ферменты, витамины и другие, способствующие улучшению санитарно-микробиологических и органолептических показателей готового продукта, а также позволяющие интенсифицировать производственный процесс. В этом плане наряду с молочнокислыми бактериями все большее внимание привлекают менее изученные, но уже нашедшие достойное практическое применение в сыроделии, силосовании растительного сырья, производстве пробиотиков, биопрезервации продуктов питания пропионовокислые бактерии. Их физиолого-биохимические особенности, непривы-

ливость к условиям существования, активность подавления роста плесневых грибов и других контаминирующих микроорганизмов обуславливают высокую пользу при практическом применении и способствуют активизации исследований в этом направлении [1–5]. Пропионовокислые бактерии повышают пищевую ценность продуктов в результате синтеза витаминов группы В, особенно важнейшего для здоровья человека и животных и весьма дефицитного витамина В₁₂ [6, 7]. Пропионовокислые бактерии обладают иммуномодулирующими, противовоспалительными, антистрессовыми и антимуtagenными свойствами, оказывают бифидогенный эффект [7–9].

Известно, что коррекции микрофлоры кишечника и, следовательно, профилактики различных заболеваний, традиционно добиваются использованием молочнокислых продуктов, приготовленных с помощью гомоферментативных молочнокислых бактерий. Использование для этой цели пропионовокислых бактерий до последнего времени не практиковали из-за их неспособности активно ферментировать молоко. Эта проблема была решена исследованиями российских ученых под руководством проф. И.С. Хамагаевой [10] путем разработки эффективного способа активизации пропионовокислых бактерий в молоке, связанном с повышением собственной β-галактозидазной активности, в результате чего они приобретают способность получать из галактозы необходимые для них глюкозу и олигосахариды и расти в молоке без стимуляторов роста. Эти исследования позволили разработать и внедрить технологию производства ряда кисломолочных продуктов нового поколения и биологически активных добавок.

Целью данной работы было исследование возможности использования отобранных ранее антагонистически активных пропионовокислых бактерий для повышения питательной и биологической ценности и сохранности кисломолочных продуктов.

Материалы и методы исследования

Объектами исследования служили культуры пропионовокислых бактерий *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* № 1, 10, 12, 13, 14, выделенные из различных источников, и обладающие повышенной антибактериальной активностью в отношении патогенных микроорганизмов. Для совместного культивирования с пропионовокислыми бактериями взята комплексная закваска на основе молочнокислых бактерий и лактозосбраживающих дрожжей из коллекции лаборатории.

Пропионовокислые бактерии выращивали на молочной сыворотке, предварительно осветленной с последующим фильтрованием и добавлением молока (1,5% жирности) в количестве 20% по объему.

Биологическую совместимость между культурами закваски и культурой пропионовокислых бактерий определяли по методике Романович.

Соотношение культур кисломолочной закваски и пропионовокислых бактерий 1:1; 1:0,5. В качестве контроля была взята кисломолочная закваска. Культивирование проводили в течение 24 ч при 30 °С. Кислообразование штаммов оценивали по активной и титруемой кислотности. Активность свертывания определяли по времени образования сгустка. Учитывали количество жизнеспособных клеток пропионовокислых бактерий. Содержание витамина В₁₂ определяли спектрофотометрическим методом.

Изучение сохранности кисломолочных продуктов проведено путем внесения суспензии пропионовокислых бактерий в готовый кисломолочный продукт, предварительно зараженный мицелиальным грибом *Penicillium sp.*, в количестве 0,5–5,0% ($\times 10^8$ КОЕ/г продукта) с перемешиванием и последующим хранением при 0–4 °С до 50 суток, при 30–33 °С до 6 суток. Количество вносимого мицелиального гриба составляло 10² КОЕ/мл. Сохранность кисломолочных продуктов определяли по отсутствию роста гриба, изменения запаха, выделения диоксида углерода.

Результаты исследования и их обсуждение

В результате проверки биологической совместимости между культурами закваски и культурой пропионовокислых бактерий антагонизма не выявлено.

Для культивирования в составе кисломолочной закваски с культурой кефирного гриба взят вариант пропионовокислых бактерий № 1. Анализ данных представлен в табл. 1.

Результаты исследований показали, что динамика кислотообразования в исследуемых образцах достаточно равномерная. При соотношении культур 1:1 сгусток формировался быстрее. Данное соотношение характеризуется наиболее высоким содержанием жизнеспособных клеток пропионовокислых бактерий – $(6,9 \pm 0,3) \times 10^8$ КОЕ/мл и витамина В₁₂ – 512,4 мкг/мл. Уменьшение дозы пропионовокислых бактерий приводило к снижению содержания витамина В₁₂.

Проведены эксперименты по повышению сохранности кисломолочных продуктов с использованием пропионовокислых бактерий (№ 1, 10, 12, 13, 14). В качестве молочных продуктов были взяты: сметана «Президент» (15% жирности), продукт сметанный термизированный «Деревня Сметаново» с использованием заменителя молочного жира (15% жирности), молочный напиток «Снежок», творожок «АБВГДейка» с ванилью (8% жирности). В качестве агента порчи молочной продукции был взят мицелиальный гриб *Penicillium sp.*, выделенный нами ранее.

Таблица 1

Показатели роста культуры пропионовокислых бактерий № 1
в составе кисломолочной закваски

Показатель	Соотношение культур (кисломолочная закваска : пропионовокислые бактерии)		
	1:1	1:0,5	Контроль
Продолжительность сквашивания, ч	6,3 ± 0,3	7,7 ± 0,3	10,5 ± 0,5
Титруемая кислотность, °Т	71 ± 1	73 ± 1	89 ± 1
pH	4,79 ± 0,31	4,71 ± 0,23	4,55 ± 0,21
Количество витамина В ₁₂ , мкг/мл	512,4 ± 0,2	184,2 ± 0,2	0,81 ± 0,1
Количество жизнеспособных клеток пропионовокислых бактерий, КОЕ/мл	(6,9 ± 0,3) × 10 ⁸	(1,4 ± 0,3) × 10 ⁸	0

Таблица 2

Сроки порчи кисломолочных продуктов, содержащих пропионовокислые бактерии

Кисломолочный продукт	Культуры пропионовокислых бактерий					
	№ 1	№ 10	№ 12	№ 13	№ 14	Контроль
	4 °С					
Сметана «Президент»	45 ± 1	42 ± 1	40 ± 2	41 ± 1	44 ± 2	34 ± 2
Сметана «Деревня Сметаново»	40 ± 2	38 ± 1	39 ± 1	41 ± 2	40 ± 1	20 ± 1
Напиток «Снежок»	17 ± 1	17 ± 1	15 ± 1	16 ± 1	15 ± 1	12 ± 1
Творожок «АБВГДейка»	17 ± 1	17 ± 1	15 ± 1	16 ± 1	15 ± 1	10 ± 1
30–33 °С						
Сметана «Президент»	5 ± 1	5 ± 1	4 ± 1	5 ± 1	4 ± 1	2 ± 1
Сметана «Деревня Сметаново»	5 ± 1	5 ± 1	4 ± 1	4 ± 1	4 ± 1	2 ± 1
Напиток «Снежок»	6 ± 1	5 ± 1	6 ± 1	5 ± 1	5 ± 1	3 ± 1
Творожок «АБВГДейка»	4 ± 1	5 ± 1	4 ± 1	4 ± 1	3 ± 1	2 ± 1

Установлено, что увеличение дозы суспензии до 1,0–1,5 % пропионовокислых бактерий для продуктов сметана «Президент», «Деревня Сметаново» и до 1,5–2,0 % для продуктов «АБВГДейка» и «Снежок» ведет к более позднему появлению колоний грибов на поверхности кисломолочных продуктов, но ускоряет их вспучивание. Поэтому для постановки дальнейших экспериментов были взяты концентрации пропионовокислых бактерий 0,5 % (для сметаны и сметанного продукта) и 1,0 % (для напитка и творожка). Результаты исследований представлены в табл. 2.

Установлено, что внесение жидкой культуры пропионовокислых бактерий (10⁸ КОЕ/мл) в количестве 0,5–1,0 % предотвращает грибную порчу кисломолочных продуктов в течение 4–6 суток при инкубации 30–33 °С. Не отмечается роста грибов, вспенивания и образования пузырьков диоксида углерода, изменений вкуса и запаха продуктов. При этом порча контрольных продуктов выявлена уже через 2–3 суток хранения.

При хранении исследуемых кисломолочных продуктов в температурном режиме 4 °С в течение 38–45 суток не наблюдали признаков порчи в двух образцах сметаны, 21–24 суток – напитка «Снежок», 15–17 суток – творожка «АБВГДейка».

Сроки хранения кисломолочных продуктов при внесении пропионовокислых бактерий при температуре хранения 4 °С увеличивались у продукта «Деревня Сметаново» в среднем на 20 суток (до 105 %), сметаны «Президент» – на 10 суток (на 25 %), творожка «АБВГДейка» – на 5–7 суток (до 70 %), напитка «Снежок» – до 5 суток дополнительно (до 42 %).

Заключение

Таким образом, показано что пропионовокислые бактерии способствуют повышению сроков хранения различных кисломолочных продуктов и обогащают их живыми клетками пробиотических микроорганизмов и витамином В₁₂ и обладают высоким потенциалом для использования в биотехнологии и предохранении от порчи продуктов сбраживания молока и сыворотки.

Список литературы

1. Ho P.H., Luo J.B., Adams M.C. Lactobacilli and Dairy Propionibacterium with Potential as Bioconservatives Against Food Fungi and Yeast Contamination // Прикл. биохим. и микробиол. – 2009. – Т. 45, № 4. – С 460–464.
2. Schwenninger S.M., Meile L., Lacroix C. Antifungal lactic acid bacteria and propionibacteria for food biopreservation // Protective Cultures, Antimicrobial Metabolites and Bacteriophages for Food and Beverage Biopreservation. – Woodhead Publishing, 2011. – P. 27–62.
3. Campaniello D., Bevilacqua A., Sinigaglia M. et. al. Screening of Propionibacterium spp. for potential probiotic properties // Anaerobe. – 2015. – Vol. 34. – P. 169–173.
4. Le Lay C., Coton E., Blay G.L. et. al. Identification and quantification of antifungal compounds produced by lactic acid bacteria and propionibacteria // International Journal of Food Microbiology. – 2016. – Vol. 239. – P. 79–85.
5. Fernandez B., Vimont A., Desfossés-Foucault É. et. al. Antifungal activity of lactic and propionic acid bacteria and their potential as protective culture in cottage cheese // Food Control. – 2017. – Vol. 78. – P. 350–356.
6. Chamlagain B., Edelman M., Kariluoto S. et. al. Ultra-high performance liquid chromatographic and mass spectrometric analysis of active vitamin B12 in cells of Propionibacterium and fermented cereal matrices // Food Chemistry. – 2015. – Vol. 166. – P. 630–638.
7. Рыжкова Е.П., Серебров В.В., Данилова И.В. и др. Предпосылки для испытаний штамма Propionibacterium freudenreichii RVS-4-irf в качестве компонента клинического питания // Биотехнология. – 2015. – № 4. – С. 70–78.
8. Thierry A., Deutsch S.-M., Falentin H. et. al. New insights into physiology and metabolism of Propionibacterium freudenreichii // International Journal of Food Microbiology. – 2011. – Vol. 149. – Iss. 1. – P. 19–27.
9. Maréchal C.L., Peton V., Plé C. et. al. Surface proteins of Propionibacterium freudenreichii are involved in its anti-inflammatory properties // Journal of Proteomics. – 2015. – Vol. 113. – P. 447–461.
10. Хамагаева И.С. Теоретическое обоснование и разработка технологии кисломолочных продуктов на основе использования β-галактозидазы и бифидобактерий: дисс. ... докт. техн. наук. – М., 1989. – 456 с.