УДК 637.146.21:579.872.07

И.В. Бояринева, И.С. Хамагаева

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОХИМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ПРОПИОНОВОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ И КОМБИНИРОВАННОЙ ЗАКВАСКИ НА ОСНОВЕ АДАПТИРОВАННОЙ СМЕСИ

Представлены результаты исследований культивирования пропионовокислых бактерий и микроорганизмов симбиотической закваски на основе кефирной грибковой закваски и пропионовокислых бактерий в адаптированной смеси.

Исследована биохимическая активность заквасок на адаптированной смеси. Выявлено, что при культивировании заквасок на адаптированной смеси увеличивается продолжительность ферментации. При этом количество жизнеспособных клеток пропионовокислых бактерий остается на достаточно высоком уровне. Результаты проведенных исследований показали возможность использования чистых культур пропионовокислых бактерий и комбинированной закваски, состоящей из кефирной грибковой закваски и пропионовокислых бактерий в соотношении 1:1 для производства кисломолочных адаптированных продуктов.

Адаптированная смесь, пропионовокислые бактерии, симбиотическая закваска.

Введение

Рациональное питание – один из наиболее важных и эффективных факторов, способствующих сохранению жизни и здоровья детей [1]. Наблюдения ряда авторов [2, 3] свидетельствуют о том, что не только заболевания ребенка, но и нарушения в питании периода новорожденности оказывают большое влияние на последующее развитие и состояние здоровья человека. В этой связи большое внимание уделяется правильной организации питания детей первого года жизни, число которых в нашей стране составляет около 5 млн [4].

Материнское молоко является единственной пищей, с которой ребенок получает все необходимые для нормального роста и развития нутриенты. Оно удивительным образом приспособлено к особенностям их пищеварения, обмена веществ и содержит сбалансированные по составу белки, жиры, углеводы, витамины, минеральные вещества, биологически активные ферменты, гормоны, а также защитные компоненты: лизоцим, лактоферин [5].

Однако несмотря на преимущества грудного вскармливания, часть детей приходится переводить на смешанное и искусственное вскармливание, в связи с недостатком или отсутствием молока у матери [6, 7].

Важным направлением в создании специализированных продуктов является разработка высококачественных кисломолочных продуктов, традиционно используемых в нашей стране в рационе питания детей раннего возраста. Хорошо известно, что в результате сквашивания молока снижается содержание лактозы, повышается количество целого ряда биологически ценных веществ: свободных аминокислот, ароматических соединений, летучих кислот, антибиотических веществ, витаминов и различных метаболитов, значительно изменяющих структуру мицелл казеина и биоактивность минеральных солей [8, 9]. При этом снижается аллергизирующее действие белков молока на организм ребенка [10].

Кисломолочные продукты обогащаются большим количеством микроорганизмов с иммунологическими свойствами, различными биологически активными веществами и ферментами [4, 11, 12].

Результаты исследований ряда авторов [13, 14] свидетельствуют о целесообразности применения кисломолочных продуктов в питании детей различных возрастных групп. В соответствии с нормами, рекомендованными Институтом питания РАМН РФ, в рационе питания детей до 1 года кисломолочные продукты должны составлять не менее 70 %.

Ценность кисломолочных продуктов определяется тем, что в результате жизнедеятельности микрофлоры закваски протекают сложные процессы гидролиза белков, углеводов, жиров и синтеза ряда соединений, которые могут оказывать определенное влияние на организм ребенка. Так, продукты распада белков регулируют секреторную функцию желудочно-кишечного тракта [15, 16]. Это обстоятельство имеет большое значение, если учесть малые функциональные возможности органов пищеварения детей раннего возраста.

Целью данной работы являлось изучение биохимической активности пропионовокислых бактерий и микрофлоры комбинированной закваски, состоящей из кефирной грибковой закваски и пропионовокислых бактерий, при культивировании на адаптированной смеси.

Адаптированная смесь является благоприятной средой для роста пропионовокислых бактерий и микроорганизмов комбинированной закваски на основе пропионовокислых бактерий и кефирной грибковой закваской, что позволяет получить кисломолочные адаптированные продукты с высоким титром жизнеспособных клеток.

Объект и методы исследования

Экспериментальные исследования проводились на кафедре технологии молочных продуктов, товароведения и экспертизы товаров, проблемной научно-исследовательской лаборатории Восточно-Сибирского государственного университета технологий и управления.

Объектом исследования служили штаммы пропионовокислых бактерий *Propionibacterium freudenreichii subsp. Shermanii КМ 186, Propionibacterium freudenreichii subsp. Freudenreichii AC-2500, Propionibacterium freudenreichii subsp. Shermanii AC-2503* и кефирная грибковая закваска. Штаммы пропионовокислых бактерий получены из фонда Всероссийской коллекции микроорганизмов Института биохимии и физиологии микроорганизмов (Москва), активизированы биотехнологическим способом, разработанным в Восточно-Сибирском государственном технологическом университете. При проведении эксперимента в качестве сырья для производства пробиотических кисломолочных продуктов были использованы детская молочная смесь «Молочко», отвечающая требованиям ТУ 9222-037-00419006-98 (далее по тексту – адаптированная смесь) и цельное молоко.

Основные физико-химические и микробиологические показатели сырья, заквасок и кисломолочных продуктов определяли стандартными и общепринятыми в исследовательской практике методами.

Результаты и их обсуждение

При изучении роста пропионовокислых бактерий в процессе сквашивания молока комбинированной закваской, состоящей из культур кефирной грибковой закваски и пропионовокислых бактерий в соотношении 1:1, обнаружено интенсивное их развитие, что свидетельствует о хорошей сочетаемости пропионовокислых бактерий с микрофлорой кефирной грибковой закваски. Количественный учет пропионовокислых бактерий показал, что при всех дозах закваски в конце ферментации количество жизнеспособных клеток составляет 10^9 КОЕ в $см^3$. Необходимо отметить, что разработанная ассоциация микроорганизмов отличается высокой антимутагенной, антибиотической и витаминобразующей активностью [17].

Наши дальнейшие исследования были посвящены изучению процесса культивирования микроорганизмов закваски на основе пропионовокислых бактерий и симбиотической закваски, состоящей из культур кефирной грибковой закваски и пропионовокислых бактерий в соотношении 1:1, в адаптированной смеси «Молочко».

Необходимо отметить, что адаптированная смесь по составу значительно отличается от коровьего молока. По содержанию различных компонентов она приближена к составу женского молока. В ней снижено содержание белка, проведена коррекция жирнокислотного состава путем добавления жиров растительного происхождения, изменен витаминный и минеральный состав [18].

Указанные факторы вызвали необходимость изучения влияния состава вносимой закваски на рост пропионовокислых бактерий при производстве адаптированных кисломолочных смесей.

Часть образцов заквашивали путем внесения закваски, приготовленной с использованием чистых культур *Pr. shermanii*, а другую – комбинированной закваской, состоящей из культур кефирной грибковой закваски и пропионовокислых бактерий в соотношении 1:1. Ферментацию проводили при температуре 30 ºС. О характере сквашивания судили по изменению титруемой и активной кислотности. Результаты исследований представлены в табл. 1.

Анализ данных, представленных в табл. 1, показывал, что при культивировании закваски на основе культур *Pr. shermanii* продолжительность сквашивания сокращается всего лишь на 2 часа. Результаты исследований, представленных в табл. 1, свидетельствуют о том, что применение комбинированной закваски с использованием кефирных грибков и пропионовокислых бактерий интенсифицирует процесс сквашивания и сгусток образуется через 8,5 часа.

Таблица 1

Влияние состава закваски на продолжительность сквашивания адаптированной смеси

Закваска	Время, часов						Момент образования сгустка		
	3 часа		6 часов		8 часов				
	Кислотность, ºТ	pH	Кислотность, ºТ	pH	Кислотность, ºТ	pH	Кислотность, ºТ	pH	Продолжительность сквашивания, часов
Pr. shermanii	21	6,35	30	5,80	39	5,49	41	5,38	10
Комбинированная закваска, состоящая из пропионовокислых бактерий *Pr. shermanii* и кефирных грибков	23	6,15	34	5,57	38	5,55	42	5,32	8,5

Обобщая представленные выше данные, можно сделать вывод, что продолжительность сквашивания адаптированной смеси для приготовления кисломолочных продуктов вполне приемлема для их получения в условиях промышленного производства.

Наши дальнейшие исследования были посвящены изучению размножения пропионовокислых бактерий в процессе сквашивания адаптированной смеси.

Результаты исследований роста пропионовокислых бактерий в процессе сквашивания адаптированной смеси закваской, состоящей из чистых культур

Pr. shermanii и симбиотической закваской кефирных грибков и пропионовокислых бактерий, представлены на рис. 1.

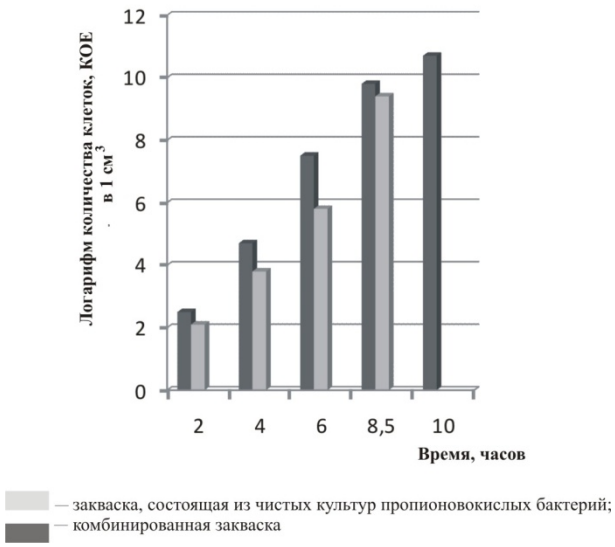

Рис. 1. Влияние состава закваски на рост клеток пропионовокислых бактерий

Анализируя данные рис. 1, необходимо отметить, что лаг-фаза роста пропионовокислых бактерий длится около 5 часов. В этот период клетки пропионовокислых бактерий приспосабливаются к условиям среды. Чтобы расти, пропионовокислые бактерии должны получить из окружающей среды все вещества, необходимые для синтеза структурных компонентов клетки и для получения энергии. Поэтому в культуральной среде должны содержаться все питательные вещества в количествах, соответствующих их специфическим потребностям. Рост микробной клетки всецело связан с синтезом ферментов. Если в клетке имеются все необходимые ферменты, то она может синтезировать из ингредиентов все нужные ей вещества, все органоиды и расти, развиваться и размножаться [19].

В фазе экспоненциального роста отмечено интенсивное развитие пропионовокислых бактерий, и в момент образования сгустка через 10 часов культивирования количество клеток составляет $7 \cdot 10^{10}$ в 1 см^3.

При изучении роста пропионовокислых бактерий в процессе сквашивания адаптированной смеси комбинированной закваской обнаружено интенсивное их размножение, что свидетельствует о хорошей сочетаемости пропионовокислых бактерий с молочнокислой микрофлорой. Содержание активных клеток пропионовокислых бактерий в готовой кисломолочной смеси составило $4 \cdot 10^9$ в 1 см^3.

Обобщая полученные результаты, можно сделать вывод, что активизированные культуры пропионовокислых бактерий хорошо растут в адаптированной смеси, что позволяет получить в кисломолочном адаптированном продукте высокое содержание клеток пропионовокислых бактерий.

Выводы

1. Исследована биохимическая активность закваски, состоящей из чистых культур *Pr. Shermanii* и симбиотической закваски кефирных грибков и пропионовокислых бактерий на адаптированной смеси. Доказано, что пропионовокислые бактерии, а также ассоциация микроорганизмов пропионовокислых бактерий и кефирной грибковой закваски отличаются высокой биохимической активностью при культивировании на адаптированной смеси.

2. Выявлено, что при культивировании заквасок на адаптированной смеси увеличивается продолжительность ферментации. При этом количество жизнеспособных клеток пропионовокислых бактерий остается на достаточно высоком уровне.

Список литературы

1. А. с. 1495132 СССР, МКИ А23С9/12. Консорциум бактерий *P. shermanii, Str. lactis. subsp., Diacetilactis, Acetobacter aceti,* используемый для приготовления кисломолочных продуктов / Э.Е. Грудзинская, В.Ф. Семенихина, Н.В. Скобелева, М.Н. Устинов. – № 4440565/13; заявл. 30.06.88.

2. А. с. 1555341 (СССР). Способ производства кумыса / Б.Д. Мамабеталиев. – Опубл. 23.03.90, Бюл. № 7.

3. А. с. 2035155 Российская Федерация, МКИ А23С9/12. Способ получения кисломолочного продукта «Эвита» / Э.Е. Грудзинская, А.К. Максимова, А.В. Рожков. – № 5063111/13; заявл. 25.09.92; опубл. 20.05.95, Бюл. № 14.

4. А. с. 2077215 Российская Федерация, МКИ А23С9/12. Способ производства сметаны / Э.Е. Грудзинская, А.К. Максимова, Г.Г. Ованова, А.В. Рожков.– Заявл. 28.06.94. опубл. 20.04.97, Бюл. № 11.

5. Баснокян, И.А. Культивирование микроорганизмов с заданными свойствами / И.А. Баснокян. – М.: Медицина, 1992. – 188 с.

6. А. с. 2035155 Российская Федерация, МКИ А23С9/12. Способ получения кисломолочного продукта «Эвита» / Э.Е. Грудзинская, А.К. Максимова, А.В. Рожков. – № 5063111/13; заяв. 25.09.92; опубл. 20.05.95, Бюл. № 14.

7. Белозерова, Л.М. Разработка технологии кисломолочного продукта с использованием пропионовокислых бактерий: дис… канд.техн. наук / Белозерова Л.М. – Улан-Удэ, 2001.

8. Быховский, В.Я. Микробиологический синтез тетрапирольных соединений / В.Я. Быховский, Н.И. Зайцева // Прикл. биохим. микр. – 1983. – Т. 19, № 2. – С. 163–175.

9. Дисбактериозы – актуальная проблема медицины / А.А. Воробьев, Н.А. Абрамов, В.М. Бондаренко, Б.А. Шендеров. – Вестн. рос.– АМН. – 1997. – № 3. – С. 4–7.

10. Антимутагенность пропионовокислых бактерий / Л.И. Воробьева и др. // Микробиология. – 1991. – Т. 60. – № 6. – С. 83–89.

11. Антимутагенность пропионовокислых бактерий / Л.И Воробьева и др // Тез. докл. Всесоюз. коорд. совещания «Гигиенические последствия загрязнения окружающей среды мутагенными факторами». – Самарканд, 1990.

12. Воробьева, Л.И. Пропионовокислые бактерии / Л.И. Воробьева. – М.: Изд-во МГУ, 1995. – 288 с.

13. Гончиков, Г.Г. Кометаболизм дисахаридов и микробные консорциумы: биоэкологические и биотехнологические перспективы / Г.Г. Гончиков. – М.: Инженерная экология. – 2002. – № 3. – 18 с.

14. Горбатов, К.К. Биохимия молока и молочных продуктов / К.К. Горбатов. – 3-е изд., перераб. и доп. – СПб.: ГИОРД, 2001. – 320 с.: ил.

15. Кисломолочный продукт «Тонус» для диетотерапии / Э.Е. Грудзинская, В.Ф Семенихина, Н.В. Седунова и др. // Молочная и мясная пром-сть. – 1988. – № 4. – С. 43–47.

16. Драчева, Л.В. Правильное питание и пищевые биологически активные добавки / Л.В. Драчёва // Пищевая промышленность. – 2000. – № 6. – С. 84–85.

17. Хамагаева, И. С. Исследование пробиотических свойств комбинированной закваски / И.С. Хамагаева, И.В. Бояринева, Н. Ю. Потапчук // Техника и технология пищевых производств. – 2013. – № 1. – С. 54–58.

18. Scientific Aspects of making new adapted cultured milk products (Научные аспекты создания новых адаптированных кисломолочных продуктов) // Северо-Восточный азиатский академический форум (North-East Asia academic forum). – Хабаровск: РИЦ ХГАЭП, 2011. – 276 с.

19. Бояринева, И. В. Применение пробиотических культур при производстве кисломолочных продуктов / И.В. Бояринева, Н.Ю. Потапчук // Актуальные проблемы потребительского рынка товаров и услуг: материалы Всероссийской научно-практической конференции с международным участием, посвященной 10-летию факультета экспертизы и товароведения / «Кировская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития России. – Киров, 2011. – С. 18.

ФГБОУ ВПО «Восточно-Сибирский государственный
университет технологий и управления»,
670013, Россия, г. Улан-Удэ, ул. Ключевская, 40в.
Тел.: (3012) 43-14-15;
e-mail: office@esstu.ru

SUMMARY

I.V. Boyarineva, I.S. Khamagaeva

BIOCHEMICAL ACTIVITY OF PROPIONIC ACID BACTERIA AND COMBINED SOURDOUGH BASED ON ADAPTED FORMULA

The article presents the results of research of propionic acid bacteria culture and that of symbiotic starter microorganisms based on adapted mixture of kefir fungal yeast and propionic acid bacteria.

The biochemical activity of starter cultures in the adapted mixture is investigated. It was revealed that when starters are cultured on the adapted mixture the time of fermentation increases. At the same time, the number of viable cells of propionic acid bacteria remains at a high level. The results of these studies have shown the possibility of using pure propionic acid bacteria cultures and yeast combination consisting of fungal kefir starter and propionic acid bacteria at a ratio of 1:1 for the production of adapted fermented milk products.

Adapted mixture, propionic acid bacteria, symbiotic starter.

The East-Siberian State
University of technology and management
40v, Klyuchevskaya street, Ulan-Ude, 670013, Russia.
Phone/Fax: (3012) 43-14-15,
e-mail: office@esstu.ru

Дата поступления: 01.10.2013