

Ассистент Д.А. Киселев, аспирант П.В. Шуваев,
доцент Е.А. Мотина, профессор О.С. Корнеева
(Воронеж. гос. ун-т инж. технол.) кафедра микробиологии и биохимии,
тел. (473) 255-55-57

Получение биомассы стартовых культур для биотехнологического производства

Исследовано влияние различных факторов (температуры, pH среды, массовой доли хлорида натрия, биологической совместимости) на жизнедеятельность молочнокислых бактерий. Экспериментально обоснована наиболее эффективная композиция стартовых культур с учётом специфики вырабатываемого цельномышечного мясного продукта.

The effect of various factors (pH temperature, the mass fraction of sodium chloride, biocompatibility) on the life of lactic bacteria: Experiments proved the most effective composition of starter cultures with specific whole-muscle meat product produced.

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

В связи с широким использованием микробных культур как продуцентов различных продуктов возникает настоятельная потребность в получении биомассы микроорганизмов, обладающих ценными биосинтетическими свойствами. Общая схема биотехнологического процесса включает ряд основных этапов: скрининг, то есть поиск лучших для данной цели микроорганизмов; получение посевного материала (инокулята); подготовка питательной среды; выращивание производственной культуры (производственное выращивание – ферментация); контроль за производством; выделение конечного продукта. Культивировать микроорганизмы можно поверхностным или глубинным, периодическим или непрерывным методами, в аэробных и анаэробных условиях. В настоящей работе рассматривается метод, применяемый при производстве мясных продуктов.

Мясо является благоприятной средой для развития молочнокислых бактерий, которые находят в нём все необходимые для себя питательные вещества: источники углерода, азота, витамины, минеральные соли. В процессе развития МКБ в мясной среде происходит его модификация и увеличение популяции бактерий. В этом аспекте следует признать как общебиологическую целесообразность, так и клиническую значимость потребления человеком пищевых продуктов, являющихся

основным источником пробиотических субстанций, а именно МКБ.

Наиболее целесообразным путём решения такой задачи является модификация животного сырья, в результате выращивания на нём МКБ заданной направленности и регулирование хода биохимических, физико-химических и микробиологических процессов (ферментации) в результате которых увеличивается биомасса МКБ и формируются органолептические показатели готового продукта, содержащего полезную микрофлору, за максимально короткий срок [1].

В связи с этой актуальной проблемой был проведен ряд исследований с целью разработки принципов регулирования и контроля процессов роста молочнокислых бактерий. Важным показателем качества молочнокислых бактерий, входящих в состав закваски (инокулята), является пригодность их для производства заданного продукта, что должно быть проверено исследованиями.

При составлении композиции необходимо, прежде всего, учитывать 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 (скрининг).

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*).

Для получения инокулята 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 ч. При подборе углеводного субстрата учитывали данные, полученные исследователями [2, 5, 6] 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 молочнокислых бактерий с нормализацией $1 \cdot 10^{10}$ КОЕ/г.

Производственное выращивание вели на мясном сырье - целномышечные продукты (длиннейшая мышца спины от охлажденных свинных полутуш), предварительно активируя молочнокислые бактерии в теплом обезжиренном молоке. Активирование культур проводили как по отдельности, так и совместно.

С целью активации культур определены оптимальные параметры: температура – 36 °С; источники углерода (глюкоза + лактоза в соотношении 1 : 1); pH 6,0 – 7,0. Изменение условий активизации культур в ту или иную сторону снижает биомассу, то есть количество активных клеток микроорганизмов.

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

При подборе культур молочнокислых бактерий учитывалась их кислотообразующая активность, так как кислая среда (pH 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 целномышечных сырокопченых продуктов молочнокислых микроорганизмов уровень pH 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 pH для всех культур незначителен. При переходе в фазу экспоненциального роста биосинтетическая активность клеток в культурах увеличивается и скорость снижения величины pH резко возрастает, причём в большей степени при развитии *L. acidophilus* и *L. bulgaricus*, достигая к 12 ч уровня pH 4,2 и 4,6, а к 24 ч - 3,6 и 3,9.

Важной с этой точки зрения является устойчивость молочнокислых бактерий к поваренной соли, применяемой, как правило, при производстве продуктов из животного сырья. Анализируя полученные данные, можно сделать вывод о том, что *Lactobacillus bulgaricus* и *Lactobacillus acidophilus* обладают высокой кислотообразующей активностью, которая значительно снижается при увеличении содержания поваренной соли в среде.

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 варьировали 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.

Установлено, что при внесении в состав среды поваренной соли в количестве 1 - 3 % масс. 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.

Для достижения необходимого технологического эффекта снижения уровня pH мясного сырья проводили ферментацию мясного сырья следующим образом. Мясное сырьё инъецировали в количестве 7-10 % водным раствором, (глюкоза 2 % + лактоза 8 % + активированная стартовая культура

L. bulgaricus и/или *L. acidophilus* (около $1 \cdot 10^{10}$ КОЕ/г) 0,1 %) и подвергали его ферментации при температуре 30-35 °С в течение 10-12 ч до достижения уровня pH мясного сырья 5,1-5,2. Далее производили посол мясного сырья методом нанесения нитритно-посолочной смеси в количестве 3 % к массе сырья. Активность молочнокислых бактерий *L. bulgaricus* и *L. acidophilus* под действием поваренной соли снижалась и уровень pH стабилизируется.

При создании микробных ассоциаций и регулировании метаболической активности входящих в них стартовых культур необходимо учитывать различные типы взаимоотношений, возникающих в процессе их жизнедеятельности [7].

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 [3]. Нами изучалась способность к совместному росту и размножению отобранных штаммов: *Lactobacillus bulgaricus* и *Lactobacillus acidophilus* методом перпендикулярных штрихов.

При одновременном выращивании культур молочнокислых бактерий 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.

Результаты комплексных исследований свидетельствуют о росте, развитии и

повышении метаболической активности молочнокислых бактерий в составе многоштаммовых бактериальных препаратов, применяемых в производстве мясных продуктов.

ЛИТЕРАТУРА

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