

# ИЗУЧЕНИЕ АНТАГОНИСТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ЗАКВАСОК К ТЕХНИЧЕСКИ-ВРЕДНЫМ МИКРООРГАНИЗМАМ

ИНФОРМАЦИОННАЯ СТАТЬЯ

**Екатерина Марьяновна Коровацкая**, инженер лаборатории прикладных биотехнологий и детского питания отдела биотехнологий  
**Наталья Николаевна Фурик**, канд. техн. наук, первый заместитель директора  
**Наталья Константиновна Жабанос**, канд. техн. наук, заведующий отделом биотехнологий  
**Екатерина Дмитриевна Шегидевич**, заместитель директора по качеству и инновационной работе  
**Гордей Владимирович Гусаков**, канд. экон. наук, директор  
Институт мясо-молочной промышленности, г. Минск, Республика Беларусь

Приведены результаты исследований антагонистической активности сухих концентрированных заквасок лактобацилл, изготавливаемых РУП «Институт мясо-молочной промышленности», к технически-вредным микроорганизмам методом отсроченного антагонизма. Установлено, что исследованные закваски обладают антагонистической активностью по отношению к технически-вредным микроорганизмам: бактериям группы кишечной палочки, плесеням, маслянокислым бактериям, дрожжам. Закваска сухая концентрированная поливидовая «Оптим протект-5», содержащая широкий спектр лактобацилл (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*) и пропионовокислые бактерии, обладает высоким уровнем антагонистической активности с широким спектром действия. Также проведены дополнительные исследования по изучению антагонистической активности этой закваски в процессе изготовления и хранения ферментированных молочных продуктов.

**Ключевые слова:** закваска сухая концентрированная, антагонизм, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, защитные культуры, технически-вредные микроорганизмы, «Оптим протект-5»

## ВВЕДЕНИЕ

Для контроля потенциальной порчи продуктов в пищевой промышленности используется барьерная технология, которая включает термическую обработку, модифицированную атмосферную упаковку, пищевые консерванты и биоконсервацию [1]. Однако даже при использовании барьерной технологии могут возникнуть дополнительные проблемы. Например, показано, что способность диоксида углерода растворяться в воде и жире приводит к разрушению упаковки [2]. Некоторые штаммы плесневых грибов способны разлагать сорбат, создавая «керосиноподобный» привкус и снижая эффективность сорбата как консерванта [1].

Биоконсервация вызывает все больший интерес как способ естественного сохранения пищевых продуктов, повышения их безопасности и продления срока годности. Молочнокислые бактерии, в частности лактобациллы, являются перспективными биоконсервантами бактериального происхождения [3]. Противомикробная активность лактобактерий может быть связана с рядом механизмов. Во-первых, производство широкого спектра кислот, таких как молочная кислота, фенилмолочная кислота и 4-гидроксифенилмолочная кислота, что снижает pH среды [4, 5]. Другим предполагаемым механизмом действия является секреция метаболитов, таких как реутерин из *Lactobacillus spp.*, который может нарушать синтез ДНК [5]. Дипептиды, диацетил, бактериоцины и жирные кислоты, обладающие противомикробной активностью, также могут являться причиной антагонистической активности молочнокислых бак-

терий [6, 7], также было продемонстрировано эффективное ингибирование дрожжей и плесени лактобактериями [8]. В молочной промышленности штаммы культур, обладающих антагонистической активностью к технически-вредным микроорганизмам, используются как защитные культуры и вносятся в молочное сырье совместно с основной заквасочной микрофлорой.

В настоящее время защитные заквасочные культуры производятся ведущими мировыми производителями заквасок для широкого использования при переработке молока [9, 10, 11, 12]. Изучение возможности использования различных видов лактобацилл и их комбинаций в качестве защитных культур при производстве молочной продукции является актуальной задачей. Поэтому цель исследования – изучить антагонистическую активность сухих заквасок на основе культур рода *Lactobacillus* к технически-вредным микроорганизмам.

## ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследований являлись:

– закваски на основе культур рода *Lactobacillus* из Республиканской коллекции промышленных штаммов заквасочных культур и их бактериофагов РУП «Институт мясо-молочной промышленности» Республики Беларусь: закваски сухие концентрированные моновидовые *Lactobacillus plantarum* ЛБП (далее – закваска *Lactobacillus plantarum* ЛБПс), закваски сухие концентрированные моновидовые *Lactobacillus casei* ЛБК

(далее – закваска *Lactobacillus casei* ЛбКс), закваски сухие концентрированные моновидовые *Lactobacillus rhamnosus* ЛбР (далее – закваска *Lactobacillus rhamnosus* ЛбРс), закваска сухая концентрированная поливидовая «Оптима протект-5» на основе консорциума микроорганизмов *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, *Propionibacterium freudenreichii* (далее – закваска «Оптима протект-5» или ОП-5с) – тест-культуры технически-вредных микроорганизмов, поддерживаемые в РУП «Институт мясо-молочной промышленности»: 5 штаммов кишечной палочки (*E. coli* 1019 (Углич), *E. coli* Y5-3 R16, *E. coli* Y5-3 R1, *E. coli* W1485 Rm3nTn9Tn5, *E. coli* W1655 F<sup>lac</sup>); 3 культуры дрожжей (*Candida mesenterica*, *Candida utilis*, *Candida albicans*); 3 культуры плесневых грибов (*Aspergillus niger*, *Alternaria alternate*, *Fusarium oxysporum*) и 6 штаммов маслянокислых бактерий вида *Clostridium tyrobutyricum* (ПР P 1895/5-1-1, ПР 1-2, МК, МК Богд-2, МК 2cn1n, МК Богд-0); – закваски сухие концентрированные для сметаны СМ-Мв и творога ТВ-М.

Антагонистическую активность заквасок к технически-вредной микрофлоре определяли методом отсроченного антагонизма с использованием перпендикулярного штриха на плотной питательной среде MRS. Оценку влияния закваски сухой концентрированной поливидовой «Оптима протект-5» на технически вредные микроорганизмы в процессе изготовления и хранения ферментированных молочных продуктов проводили с помощью высева образцов на индикаторные среды и подсчета количества тест-культур методом Коха. Микробиологический контроль образцов осуществляли на трех стадиях: – для сметаны: 1 – после образования сгустка (30 °С, 10 ч), 2 – после охлаждения (4 ± 2 °С, 20 ч), 3 – через 7 суток хранения при 4 ± 2 °С; – для творога: 1 – после образования сгустка (28 °С, 12 ч), 2 – после обработки сгустка и отделения сыворотки (готовый творог), 3 – через 7 суток хранения при 4 ± 2 °С.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Проведена оценка антагонистической активности исследуемых заквасок к 5 тест-штаммам кишечной палочки, 6 тест-штаммам маслянокислых бактерий вида *Clostridium tyrobutyricum*, 3 тест-культурам дрожжей, 3 тест-культурам плесневых грибов. Для сравнительной оценки антагонистической активности заквасок величина зоны задержки роста каждой тест-культуры приведена к среднему значению для каждого вида технически-вредных микроорганизмов.

Сравнительная характеристика антагонистической активности заквасок к тест-культурам представлена на рисунках 1, 2, 3, 4.

Исходя из данных, представленных на рисунке 1, установлено, что высокую антагонистическую активность к тест-культурам кишечной палочки проявили все исследованные закваски на основе лактобацилл. Среднее значение зоны задержки роста тест-культур кишечной палочки в порядке убывания составило: для закваски «Оптима протект-5» ОП-5с – 29,0 мм, для закваски *Lactobacillus casei* ЛбКс – 26,3 мм, для закваски *Lactobacillus plantarum* ЛбПс – 24,1 мм, для закваски *Lactobacillus rhamnosus* ЛбРс – 21,5 мм.

Из рисунка 2 следует, что исследованные закваски обладали средней антагонистической активностью к тест-культурам маслянокислых бактерий. Для закваски «Оптима протект-5 ОП-5с» среднее значение зоны задержки роста тест-культур маслянокислых бактерий составило 13,4 мм, для закваски *Lactobacillus casei* ЛбКс – 12,1 мм, для закваски *Lactobacillus rhamnosus* ЛбРс – 11,2 мм, для закваски ЛбПс *Lactobacillus plantarum* – 10,9 мм.

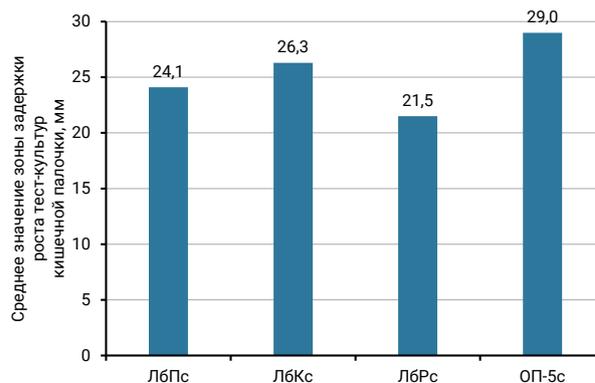


Рисунок 1. Антагонистическая активность к тест-культурам кишечной палочки

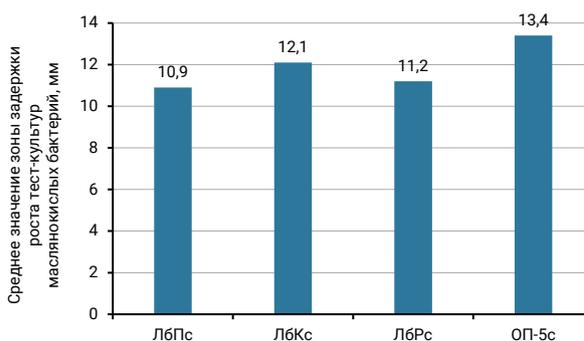


Рисунок 2. Антагонистическая активность к тест-культурам маслянокислых бактерий

Определена антагонистическая активность к тест-культурам дрожжей у закваски *Lactobacillus plantarum*, закваски «Оптима протект-5», закваски *Lactobacillus casei*, закваски *Lactobacillus rhamnosus*. Средние значения зоны задержки роста тест-культур дрожжей составили 10,9 мм (ЛБПс), 7,9 мм (ОП-5с), 4,5 мм (ЛБКс), 3,2 мм (ЛБРс) (рис. 3). По отношению к тест-культурам плесневых грибов установлено наличие антагонистической активности только для трех заквасок: закваска «Оптима протект-5» ОП-5с, закваска *Lactobacillus plantarum* ЛБПс, закваска *Lactobacillus casei* ЛБКс в практически равных значениях (20 мм). Для закваски *Lactobacillus rhamnosus* ЛБРс антагонистическая активность к исследуемым тест-культурам плесневых грибов не обнаружена (рис 4).

Исследование показало, что антагонистической активностью к тест-культурам технически-вредных микроорганизмов обладали:

- к кишечной палочке – закваска сухая концентрированная поливидовая «Оптима протект-5», закваска сухая концентрированная моновидовая *Lactobacillus casei*, закваска сухая концентрированная моновидовая *Lactobacillus plantarum*, закваска сухая концентрированная *Lactobacillus rhamnosus*;
- к маслянокислым бактериям – закваска сухая концентрированная поливидовая «Оптима протект-5»,

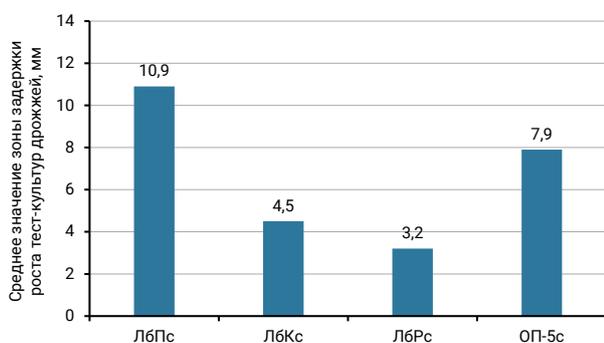


Рисунок 3. Антагонистическая активность к тест-культурам дрожжей

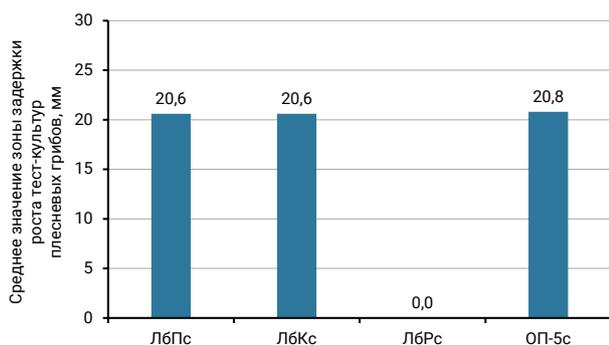


Рисунок 4. Антагонистическая активность к тест-культурам плесневых грибов

закваска сухая концентрированная моновидовая *Lactobacillus casei*, закваска сухая концентрированная *Lactobacillus rhamnosus*, закваска сухая концентрированная моновидовая *Lactobacillus plantarum*; – к дрожжам – закваска сухая концентрированная моновидовая *Lactobacillus plantarum*, закваска сухая концентрированная поливидовая «Оптима протект-5», закваска сухая концентрированная моновидовая *Lactobacillus casei*, закваска сухая концентрированная моновидовая *Lactobacillus rhamnosus*; – к плесневым грибам – закваска сухая концентрированная поливидовая «Оптима протект-5», закваска сухая концентрированная моновидовая *Lactobacillus plantarum*, закваска сухая концентрированная моновидовая *Lactobacillus casei*.

Установлено, что закваска «Оптима протект-5», содержащая широкий спектр специально подобранных штаммов лактобацилл (*Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*) и пропионовокислых бактерий, обладает высоким уровнем антагонистической активности с широким спектром действия. Для закваски этого вида проведены дополнительные исследования по изучению влияния культур закваски на развитие технически-вредных микроорганизмов в молочном сырье при изготовлении и последующем хранении ферментированных молочных продуктов (сметаны и творога) и выявлению антагонистической активности. Для этого осуществлялась контаминация сырья (в количестве  $1 \times 10^2$  КОЕ/см<sup>3</sup>) культурами кишечной палочки (*E. coli* Y5-3R16), дрожжей (*Candida albicans*) и плесневых грибов (*Aspergillus niger* или *Fusarium oxysporum*).

Внесение в молочное сырье вместе с основной закваской СМ-Мв закваски «Оптима протект-5» позволило снизить количество кишечной палочки *E. coli* Y5-3R16 в 1,6 раз по сравнению с контрольным образцом на стадии образования сгустка, а после хранения в течение 7 суток содержание кишечной палочки составило < 10 КОЕ/г (в соответствии с пороговой чувствительностью метода определения *E. coli*). Микробиологический контроль образцов сметаны на содержание дрожжей показал, что в образце, изготовленном с использованием закваски «Оптима протект-5», содержание дрожжей *Candida albicans* снизилось на стадии образования сгустка, в готовом продукте и через 7 суток хранения соответственно в 2,3, 1,3 и 11,5 раз по сравнению с контрольным образцом. В образце сметаны с добавлением закваски «Оптима протект-5» количество плесневого гриба *Fusarium oxysporum* снизилось на стадии образования сгустка, в готовом продукте и через 7 суток хранения по сравнению с контрольным образцом в 2,2, 6,0 и 12,5 раз соответственно.

Таким образом, микробиологические исследования образцов сметаны показали, что закваска сухая концентрированная поливидовая «Оптима протект-5» проявляет антагонистические свойства в отношении кишечной палочки, дрожжей и плесневых грибов при внесении в молочное сырье с основной закваской ТВ-М или См-Мв в процессе изготовления и последующего хранения сметаны. При изготовлении творога определено, что добавление закваски «Оптима протект-5» позволило снизить содержание кишечной палочки *E. coli* Y5-3R16 до < 10 КОЕ/г (в соответствии с пороговой чувствительностью метода определения *E. coli*) через 7 суток хранения, количество плесневого гриба *Aspergillus niger* снизилось до < 10 КОЕ/г еще на стадии получения готового продукта. Таким образом, на основании результатов микробиологических исследований образцов творога установлено наличие антагонистической активности

закваски «Оптима протект-5» в отношении кишечной палочки и плесневого гриба *Aspergillus niger*.

## ВЫВОДЫ

При оценке воздействия на технически-вредную микрофлору методом отсроченного антагонизма установлено, что исследованные сухие закваски лактобацилл обладают антагонистической активностью к технически-вредным микроорганизмам: бактериям группы кишечной палочки, плесеням, маслянокислым бактериям, дрожжам. Исследования по изучению влияния на развитие технически-вредных микроорганизмов в молочном сырье при изготовлении и последующем хранении ферментированных молочных продуктов, проведенные на примере закваски сухой концентрированной поливидовой «Оптима протект-5», подтвердили ее антагонистические свойства в отношении технически вредной микрофлоры, установленные на питательных средах. ■

## ANTAGONISTIC ACTIVITY OF DRY STARTERS AGAINST SPOILAGE MICROORGANISMS

**Ekaterina M. Korovatskaya, Natalya N. Furik, Natalya K. Zhabanos, Ekaterina D. Shegidevich, Gordey V. Gusakov**  
The Institute of Meat and Dairy Industry, Minsk, Belarus

### INFORMATIVE ARTICLE

Produces dry concentrates of lactic acid starter cultures that demonstrate delayed antagonism against microorganisms that interfere with dairy processing. The samples under analysis showed antagonistic activity against *E. coli* bacteria, molds, butyric acid bacteria, and yeasts. The sample of Optima Protekt 5 polyspecies starter contained *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, and propionic acid bacteria. It demonstrated a strong antagonistic multipurpose activity. This starter was subjected to some additional tests to study its behavior patterns during production and storage of fermented dairy products.

**Keywords:** dry starter concentrate, antagonistic activity, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, protective cultures, technically harmful microorganisms, Optima Protekt 5

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Fernandez, B.** Antifungal activity of lactic and propionic acid bacteria and their potential as protective culture in cottage cheese / B. Fernandez [et al.] // Food Control. 2017. Vol. 78. P. 350–356. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.03.007>
- Ho, T. M.** Methods to extend the shelf-life of cottage cheese – A review / T. M. Ho, T. Howes, B. R. Bhandari // International Journal of Dairy Technology. 2016. Vol. 69(3). P. 313–327. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12309>
- Garnier, L.** Diversity and control of spoilage fungi in dairy products: An update / L. Garnier, F. Valence, J. Mounier // Microorganisms. 2017. Vol. 5. 42. <http://doi.org/10.3390/microorganisms5030042>
- Cheong, E. Y.** Isolation of lactic acid bacteria with antifungal activity against the common cheese spoilage mould *Penicillium commune* and their potential as biopreservatives in cheese / E. Y. Cheong [et al.] // Food Control. 2014. Vol. 46. P. 91–97. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2014.05.011>
- Galvez, A.** Food Biopreservation. SpringerBriefs in Food, Health, and Nutrition / A. Galvez [et al.]. – Springer, New York, NY, 2014. 124 p.
- Crowley, S.** Current perspectives on antifungal lactic acid bacteria as natural bio-preservatives / S. Crowley [et al.] // Trends in Food Science & Technology. 2013. Vol. 33 (2). P. 93–109. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2013.07.004>
- Aunbjerg, S. D.** Contribution of volatiles to the antifungal effect of *Lactobacillus paracasei* in defined medium and yogurt / S. D. Aunbjerg [et al.] // International journal of food microbiology. 2015. Vol. 194. P. 46–53. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.11.007>
- Siedler, S.** Competitive exclusion is a major bioprotective mechanism of Lactobacilli against fungal spoilage in fermented milk products / Siedler, S [et al.] // Applied and environmental microbiology. 2020. Vol. 86. e02312-19. <https://doi.org/10.1128/AEM.02312-19>
- Белкова, М. Д.** Повелевать временем - принцип, по которому работают защитные культуры AiBi® / М. Д. Белкова // Молочная промышленность. 2015. № 6. С. 34–35. <https://www.elibrary.ru/twbejt>
- Жданеева, Н. П.** Защитные культуры Crealat для сохранения качества молочных продуктов / Н. П. Жданеева, Т. В. Рыбченко // Молочная промышленность. 2019. № 12. С. 44–45. <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2019-12-44-45>; <https://www.elibrary.ru/blrnle>
- Келяшова, Ю.** Опыт применения защитных культур в производстве полутвердых сыров / Ю. Келяшова // Сыроделие и маслоделие. 2017. № 4. С. 38–39. <https://www.elibrary.ru/zpsbvj>
- Беликова, И.** HOLDBAC™ – решение для производства ферментированных продуктов высокого качества / И. Беликова // Молочная промышленность. 2011. № 12. С. 46. <https://www.elibrary.ru/onddyha>