

УДК 637.146.3

Ю. В. НАЗАРЕНКО, Кандидат технічних наук, завідувач кафедри технології молока і м'яса, Сумський національний аграрний університет, вул. Герасима Кондратьєва, 160, м. Суми, Україна, 40021

БІОТЕХНОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ СПІЛЬНОГО КУЛЬТИВУВАННЯ ТРИШТАМОВОЇ ЗАКВАСНУВАЛЬНОЇ КОМПОЗИЦІЇ БІФІДОБАКТЕРІЙ З МЕЗОФІЛЬНИМИ МОЛОЧНОКИСЛИМИ ЛАКТОКОКАМИ

В роботі наведено результати досліджень особливостей спільного культивування змішаних культур адаптованих до молока біфідобактерій зі змішаними культурами мезофільних молочнокислих лактококів з підвищеними протеолітичними властивостями у стерилізованому молоці, збагаченому фруктозою.

Ключові слова: дитяче харчування, адаптація, біфідобактерії, мезофільні молочнокислі лактококи, біфідогенний фактор, ферментація, пробіотичні властивості.

Вступ

Результати наукових досліджень проведених в останні роки, показують, що харчування дитини впливає не тільки на її ріст, розвиток і стан здоров'я. Стало очевидним, що харчування на першому році життя "програмує" метаболізм таким чином, що ті чи інші порушення харчування можуть збільшити ризик розвитку цілого ряду захворювань: таких як алергічні хвороби, ожиріння, метаболічний синдром, остеопороз та інші.

Дослідження, що з'явилися в останні роки, дозволяють припустити, що в становленні імунітету важливу роль відіграє адекватна кишкова мікрофлора, оскільки саме вона є первинним стимулом для активації вродженого і стимуляції набутого імунітету. Найбільш сприятливими і значущими для мікрофлори кишечника дитини є біфідобактерій, оскільки саме вони з'являються в кишечнику дитини на другий-п'ятий день її життя і є домінуючою мікрофлорою протягом всього життя.

Введення прикорму або переведення дитини після грудного вигодовування на традиційну їжу вимагає розробки продуктів харчування для дітей з підвищеними пробіотичними і антогоністичними властивостями. В даний час в харчуванні дітей широко й успішно використовуються адаптовані кисломолочні продукти. Для їх приготування використовуються спеціальні штами лакто- і біфідобактерій. Закваски можуть бути одно-, багатокомпонентними і комбінованими. У процесі молочнокислого бродіння продукти набувають ряд важливих властивостей: у них знижується рівень лактози, накопичуються бактерицидні речовини, молочна кислота, відбувається часткове розщеплення молочного білка, що полегшує переварювання, а також дещо знижує антигенність білкового компонента.

Для успішної реалізації завдання повноцінного вигодовування дітей біологічно повноцінними і збалансованими продуктами харчування необхідні розроблення і затвердження нормативної документації, а також впровадження нових продуктів дитячого харчування в промислове виробництво.

Мета роботи

Встановлення біотехнологічних особливостей спільного культивування адаптованих до молока змішаних культур *B. bifidum* 1 + *B. longum* ЯЗ + *B. infantis* 512 зі змішаними культурами мезофільних

молочнокислих лактококів з підвищеними протеолітичними властивостями у складі закваски безпосереднього внесення *F DVS C-303* у процесі ферментації стерилізованого молока, збагаченого фруктозою як біфідогенним фактором.

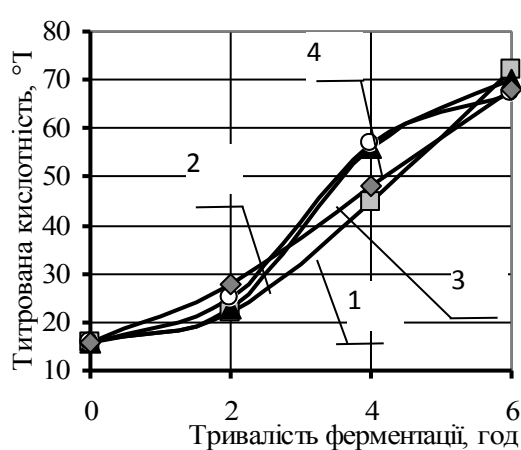
Методика експериментів

Для встановлення біотехнологічних особливостей спільного росту та розвитку змішаних культур *B. bifidum* 1 + *B. longum* ЯЗ + *B. infantis* 512 зі змішаними культурами мезофільних молочнокислих лактококів з підвищеними протеолітичними властивостями у складі закваски *F DVS C-303* здійснювали їх культивування у стерилізованому молоці з додаванням фруктози як біфідогенного фактора при температурі 37...38 °С. При спільному культивуванні змішаних культур біфідобактерій зі змішаними культурами мезофільних молочнокислих лактококів контролювали активність кислотоутворення за змінами титрованої й активної кислотності, зміну умовної в'язкості, кількості життєздатних клітин змішаних культур біфідобактерій і змішаних культур мезофільних молочнокислих лактококів у 1 см³, розраховували питому швидкість росту змішаних культур біфідобактерій і змішаних культур мезофільних молочнокислих лактококів у складі композиції в порівнянні з ростом кожної окремо взятої культури.

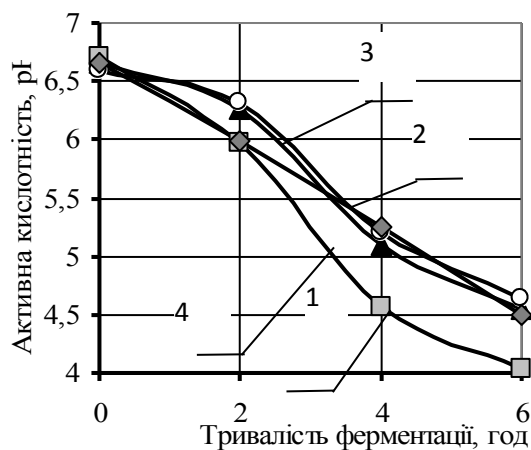
Дослідження зразків в процесі ферментації

Заквашувальну композицію вносили у кількості, яка забезпечувала вихідну концентрацію змішаних культур мезофільних молочнокислих лактококів $1 \cdot 10^6$ КУО/см³, змішаних культур біфідобактерій – $1,2 \cdot 10^6$ КУО/см³; в т.ч. *B. bifidum* 1 – $1 \cdot 10^5$ КУО/см³, *B. longum* ЯЗ – $1 \cdot 10^5$ КУО/см³, *B. infantis* 512 – $1 \cdot 10^6$ КУО/см³. В процесі ферментації досліджуваних

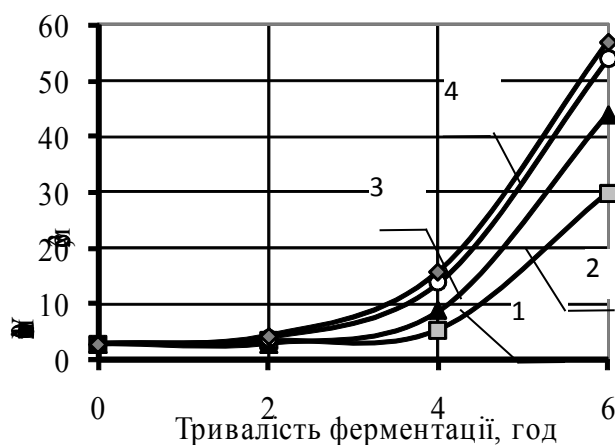
зразків в них контролювали активність кислотоутворення за зміною титрованої і активної кислотності, в'язкість (рис. 1), кількість життєздатних клітин *Bifidobacterium* та змішаних культур мезофільних молочнокислих лактококів у 1 см³ і розраховували питому швидкість росту клітин змішаних культур *Bifidobacterium* та змішаних культур мезофільних молочнокислих лактококів (рис. 2); відповідні показники якості визначали в процесі ферментації молока, збагаченого фруктозою, заквашувальними композиціями з монокультур біфідобактерій зі змішаними культурами мезофільних молочнокислих лактококів, внесеними у молоко в аналогічних вказаних концентраціях [3].



а



б



в

Рис. 1 Зміна фізико-хімічних показників:

зміна титрованої (а), активної (б) кислотності, в'язкості (в) стерилізованого молока, збагаченого фруктозою, при ферментації: 1 – монокультурою *B. infantis* 512 зі змішаними культурами мезофільних молочнокислих лактококів; 2 – монокультурою *B. bifidum* 1 зі змішаними культурами мезофільних молочнокислих лактококів; 3 – монокультурою *B. longum* ЯЗ зі змішаними культурами мезофільних молочнокислих лактококів; 4 – змішаними культурами *B. bifidum* 1 + *B. longum* ЯЗ + *B. infantis* 512 зі змішаними культурами мезофільних молочнокислих лактококів

Ізоелектричний стан білків у стерилізованому молоці, ферментованому складеною заквашувальною композицією зі змішаних культур біфідобактерій і змішаними культурами мезофільних молочнокислих лактококів, досягався через 5,50...5,75 год., що свідчить про інтенсифікацію процесу сквашування у порівнянні зі сквашуванням його композиціями із монокультурою *B. bifidum* 1 зі змішаними культурами мезофільних молочнокислих лактококів та із монокультурою *B. longum* ЯЗ зі змішаними культурами мезофільних молочнокислих лактококів у співвідношенні 1:10 та про гальмування у порівнянні зі сквашуванням композицією із монокультурою *B. infantis* 512 зі змішаними культурами мезофільних молочнокислих лактококів у співвідношенні 1:1 (рис. 1, б). Це пояснюється тим, що протягом перших двох годин ферментації питома швидкість росту клітин змішаних культур біфідобактерій була нижчою, ніж клітин змішаними культурами мезофільних молочнокислих лактококів (1,26...1,27 та 1,42...1,44 год⁻¹, відповідно – рис. 2, в, г), що обумовлено вищою β-галактозидазною активністю мезофільних молочнокислих лактококів у порівнянні з біфідобактеріями. Питома швидкість росту (μ) змішаних культур

біфідобактерій до 2-ої години ферментації була нижча, ніж у монокультури *B. bifidum* 1 та у монокультури *B. longum* ЯЗ на 35,2 та 35,5 %, відповідно, і на 10,4 % вища, від у монокультури *B. infantis* 512 (рис. 2, в). Це свідчить про незначне гальмування росту монокультури *B. bifidum* 1 і *B. longum* ЯЗ та інтенсифікацію росту монокультури *B. infantis* 512 при спільному культивуванні зі змішаними культурами мезофільних молочнокислих лактококів протягом перших двох годин.

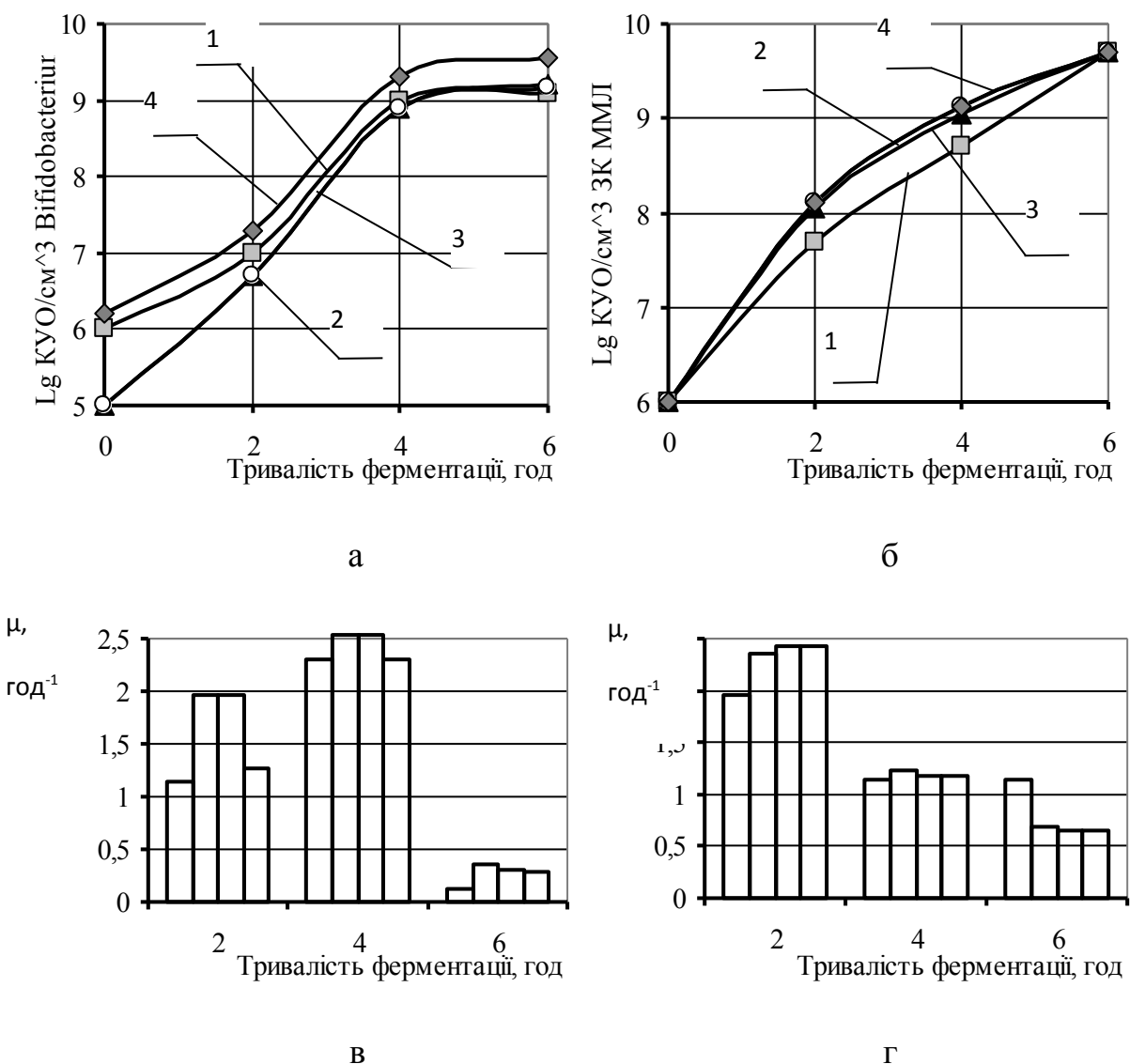


Рис. 2. Зміна мікробіологічних показників: зміна кількості життєздатних клітин монокультур *Bifidobacterium* (а) та змішаних культур мезофільних

молочнокислих лактококів (б) у 1 см³, питома швидкість росту клітин *Bifidobacterium* (в) та змішаних культур мезофільних молочнокислих лактококів (б) у стерилізованому молоці, збагаченому фруктозою, при ферментації:

- 1, [а] – монокультурою *B. infantis* 512 зі змішаними культурами мезофільних молочнокислих лактококів; 2, [б] – монокультурами *B. bifidum* 1 зі змішаними культурами мезофільних молочнокислих лактококів;
- 3, [в] – монокультурами *B. longum* ЯЗ зі змішаними культурами мезофільних молочнокислих лактококів; 4, [г] – змішаними культурами *B. bifidum* 1 + *B. longum* ЯЗ + *B. infantis* 512 зі змішаними культурами мезофільних молочнокислих лактококів

Після 2-ої годин сквашування ріст клітин змішаних культур біфідобактерій інтенсифікувався (з 2-ої по 4-ту години ферментації μ складала 2,29...2,32 год⁻¹, що відповідає μ монокультури *B. infantis* 512 і на 9,1 % нижче, ніж μ монокультури *B. bifidum* 1 і *B. longum* ЯЗ), а ріст клітин змішаних культур мезофільних молочнокислих лактококів гальмувався (з 2-ої по 4-ту години ферментації μ складала 1,15...1,17 год⁻¹ – рис. 2, г).

Це, напевне, пояснюється достатньою кількістю моноцукрів у молоці, накопичених при розщепленні лактози змішаними культурами мезофільних молочнокислих лактококів, які використовуються клітинами біфідобактерій як джерело енергії, а також використанням адаптованих до молока монокультур біфідобактерій у складі заквашувальної композиції, здатних активно зброджувати лактозу молока.

З 4-ої по 6-ту години ферментації питома швидкість росту клітин змішаних культур біфідобактерій складала 0,29...0,31 год⁻¹. Вона практично відповідала μ монокультури *B. bifidum* 1 та μ монокультури *B. longum* ЯЗ і у 2,4 рази перевищувала таку для монокультур *B. infantis* 512 у складі відповідних композицій зі змішаних культур мезофільних

молочнокислих лактококів. Питома швидкість росту клітин змішаних культур мезофільних молочнокислих лактококів протягом зазначеного періоду відповідала такій для змішаних культур мезофільних молочнокислих лактококів при спільному культивуванні їх з монокультурою *B. bifidum* 1 та з монокультурою *B. longum* ЯЗ і майже у 2,0 рази була нижча, ніж у змішаними культурами мезофільних молочнокислих лактококів у складі композиції з монокультурою *B. infantis* 512 (рис. 2, г). Згусток, отриманий ферментацією стерилізованого молока, збагаченого фруктозою, розробленою заквашувальною композицією, містить таку ж кількість життєздатних клітин мезофільних молочнокислих лактококів ($(7,0 \dots 0,1) \cdot 10^9$ КУО/см³), як згустки, ферментовані відповідними заквашувальними композиціями з монокультурами біфідобактерій зі змішаними культурами мезофільних молочнокислих лактококів (рис. 2, б).

Не дивлячись на незначне гальмування росту монокультури *B. bifidum* 1 і монокультури *B. longum* ЯЗ протягом перших 4-ох годин сквашування, кількість життєздатних клітин змішані культури біфідобактерій через 2, 4 та 6 годин ферментації була дуже високою ($(2,8 \dots 3,2) \cdot 10^7$, $(3,0 \dots 3,2) \cdot 10^9$ та $(5,5 \dots 5,7) \cdot 10^9$ КУО/см³, відповідно) і перевищувала сумарну кількість використаних у складі композиції монокультур біфідобактерій протягом всього процесу спільного їх культивування зі змішаними культурами мезофільних молочнокислих лактококів (рис. 2, а). Це свідчить про синергізм використаних у складі заквашувальної композиції змішаних культур біфідобактерій зі змішаними культурами мезофільних молочнокислих лактококів протягом всього процесу ферментації. Висока концентрація життєздатних клітин біфідо- та лактобактерій у згустку, отриманому ферментацією змішаних культур біфідобактерій зі змішаними культурами мезофільних молочнокислих лактококів, забезпечить подовження терміну зберігання кисломолочних продуктів дитячого

харчування, вироблених з нього, в тому числі сиру кисломолочного дитячого харчування, а також високі пробіотичні та антагоністичні властивості цих продуктів.

Титрована кислотність згустку, отриманого з використанням заквашувальної композиції зі змішаних культур біфідобактерій зі змішаними культурами мезофільних молочнокислих лактококів 67...68 °Т (рис. 1, а), що забезпечить невисокий рівень кислотності та високі органолептичні показники, зокрема смак та запах, у кисломолочних продуктах дитячого харчування, в т.ч., у сиру кисломолочного дитячого харчування, отриманому з нього. В'язкість досліджуваного згустку перевищує таку для кожної окремо взятої монокультури біфідобактерій і знаходиться на рівні, який забезпечує сметаноподібну в'язку однорідну консистенцію згустку.

Висновки

Проведені дослідження свідчать про виникнення синергізму між монокультурами *B. bifidum* 1, *B. longum* ЯЗ, *B. infantis* 512, включеними до складу триштамової заквашувальної композиції, та змішаними культурами мезофільних молочнокислих лактококів, і перспективність використання розробленої заквашувальної композиції зі змішаних культур біфідобактерій зі змішаними культурами мезофільних молочнокислих лактококів у технологіях біфідовмісних ферментованих молочних продуктів дитячого харчування четвертої групи (за класифікацією Н.А. Дідух [2]), оскільки вона має високі біологічні властивості та необхідний технологічний потенціал.

Список літератури:

1. Закон України «Про дитяче харчування» [Текст] / Відомості Верховної Ради України. – № 44. – 2006. – С. 1469-1476.

2. Дідух, Н. А. Заквашувальні композиції для виробництва молочних продуктів функціонального призначення [Текст] / Н. А. Дідух, О. П. Чагаровський, Т. А. Лисогор. – Одеса: Видавництво «Поліграф», 2008. – 236 с.

3. Дідух, Н. А. Дослідження процесу спільного культивування змішаних культур *B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis* зі змішаними культурами *L. lactis ssp.* [Текст] / Н. А. Дідух, Ю. В. Назаренко, С. В. Романченко // Наук. праці молодих учених, аспірантів та студентів [Текст]. – Одеса, ОНАХТ. – 2010. – С. 214–216.

4. Кузнецов, В. В. Справочник технолога молочного производства. Технология детских молочных продуктов [Текст] / В. В. Кузнецов, Н. Н. Липатов. – Санкт – Петербург: ГИОРД, 2005 г. – 176 с.

5. Пирог, Т. П. Загальна мікробіологія [Текст]. – К.: НУХТ, 2004. – 471 с. 6. Максимов, В. И. Углеводные стимуляторы бифидобактерий [Текст] / В. И. Максимов // Биотехнология. – 1991. – № 6. – С. 3–7.

7. Крашенинин, П. Ф. Новые виды кисломолочных продуктов детского и диетического питания [Текст] / П. Ф. Крашенинин, Г. П. Шаманова // Вопросы питания. – 1994. – № 5. – С. 12–15.

8. Кігель Н. Ф. Технології бактеріальних препаратів для функціональних молочних продуктів і біологічно активних добавок: Дисс. докт. техн. наук: 03.00.20. – К., 2003. – 425 с.

9. Пробиотические микроорганизмы – современное состояние вопроса и перспективы использования [Текст] / В. А. Алешкин, А. М. Амерханова, В. В. Поспелова и др. // Молочная пром-сть. – 2003. – № 1. – С. 59–61.

10. Кігель Н. Ф. Дослідження *in vitro* холестеразної активності лакто- і біфідобактерій як критерій відбору пробіотичних штамів [Текст] / Н. Ф. Кігель, О. М. Рожанська, О. В. Науменко // Вісник аграрної науки. – 2002. – № 8. – С. 59–62.

11. Гончарова Г. И. Бифидофлора человека и необходимость ее оптимизации [Текст] / Г. И. Гончарова // Сб. науч. тр.:Московский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Г. Н. Габричевского. – М., 1986.-С.1

12. Біфідобактерії – як біологічні компоненти еубіотиків [Текст] / О. В. Душкантук, Л. В. Капрельяни, С. М. Савченко, Я. Б. Пауліна // Наук. праці ОНАХТ. – Вип. 27. – Одеса: ОНАХТ, 2004. – С. 154–157.

Bibliography:

1. Закон Ukrainy` "Pro dy`tyache xarchuvannya" 2006. [Tekst] Vidomosti Verxovnoyi Rady Ukrainy. 44.

2. Didux, N. A. 2008. Zakvashuval`ni kompozyciyi dlya vyrobnyctva molochnyx produktiv funkcional`nogo pryznachennya [Tekst] N. A. Didux, O. P. Chagarovs`kyj, T. A. Lysogor. Odessa: Vydavnyctvo "Poligraf" 236 s

3. Didux, N. A. 2010. Doslidzhennya procesu spilnogo kul`tyvuvannya zmishanyx kultur B. bifidum, B. longum, B. infantis zi zmishany`my` kul`turamy` L. lactis ssp. [Tekst] N. A. Didux, Y. V. Nazarenko, S. V. Romanchenko Nauk. praci molody`x ucheny`x, aspirantiv ta studentiv [Tekst]. Odessa, ONAHT.

4. Kuznecov, V. V. 2005. Spravochnik tehnologa molochnogo proizvodstva. Tehnolo-gija detskih molochnyh produktov [Tekst] V. V. Kuznecov, N. N. Lipatov. St. Petersburg: GIOR, 176 s.

5. Pirog, T. P. 2004. Zagal'na mikrobiologija [Tekst]. K.: NUHT, 471 s.

6. Maksimov, V. I. 1991. Uglevodnye stimulyatory bifidobakterij [Tekst] V. I. Maksimov Biotehnologija.. № 6. S. 3–7.

7. Krashenin, P. F. 1994. Novye vidy kislomolochnyh produktov detskogo i dieticheskogo pitaniya [Tekst] P. F. Krashenin, G. P. Shamanova Voprosy pitaniya. № 5. S. 12–15.

8. Kigel` N. F. 2003. Teknologiyi bakterial`ny`x preparativ dlya funktsional`ny`x molochny`x produktiv i biologichno akty`vny`x dobavok: Dy`ss. dokt. texn. nauk: 03.00.20. K., 425 s.

9. V. A. Aleshkin 2003. Probioticheskie mikroorganizmy sovremennoe sostojanie voprosa i perspektivy ispol'zovanija [Tekst] V. A. Aleshkin, A. M. Amerhanova, V. V. Pospelova i dr. Molochnaja prom-st'. № 1. S. 59–61.

10. Kigel` N. F. 2002. Doslidzhennya in vitro xolesteraznoyi akty`vnosti lakto- i bifidobakterij yak kry`terij vidboru probioty`chny`x shtamiv [Tekst] N. F. Kigel`, O. M. Rozhans`ka, O. V. Naumenko Visnyk agrarnoyi nauky`. 8. S. 59–62.

11. Goncharova, G. I. 1986. Bifidoflora cheloveka i neobhodimost' ee optimizacii [Tekst] G. I. Goncharova Sb. nauch. tr.: Moskovskij NII jepidemiologii i mikrobiologii im. G. N. Gabrichevskogo. M., S. 10.

12. O. V. Dy`shkantyuk 2004. Bifidobakteriyi yak biologichni komponenty` eubioty`kiv [Tekst] O. V. Dy`shkantyuk, L. V. Kaprel`yancz, S. M. Savchenko, Y. B. Paulina Nauk. pracj ONAHT. Vy`p. 27. Odessa: ONAHT, S. 154–157.

УДК 637.146.3

БИОТЕХНОЛОГИЧНІ ОСОБЛИВОСТІ СПІЛЬНОГО КУЛЬТИВУВАННЯ ТРИШТАМОВОЇ ЗАКВАШУВАЛЬНОЇ КОМПОЗИЦІЇ БІФІДОБАКТЕРІЙ З МЕЗОФІЛЬНИМИ МОЛОЧНОКИСЛИМИ ЛАКТОКОКАМИ

Ю. В. Назаренко

В работе приведены результаты исследований особенностей общего культивирования смешанных культур адаптированных к молоку бифидобактерий со смешанными культурами мезофильных

МОЛОЧНОКИСЛЫХ ЛАКТОКОККОВ С ПОВЫШЕННЫМИ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИМИ СВОЙСТВАМИ В СТЕРИЛИЗОВАННОМ МОЛОКЕ, ОБОГАЩЕННОМ ФРУКТОЗОЙ.

Ключевые слова: детское питание, адаптация, бифидобактерии, мезофильные молочнокислые лактококки, бифидогенный фактор, ферментация, пробиотические свойства.

UDC 637.146.3

BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF JOINT CULTIVATION OF THREE STRAIN COMPOSITION OF SOURDOUGH BIFIDOBACTERIUM LACTIS WITH MESOPHILIC LACTOCOCCUS LACTIS

J. Nazarenko

The article presents the results of studies of the general cultivation of mixed cultures adapted to milk bifidobacterium lactis with mixed cultures of mesophilic lactococcus lactis with increased proteolytic properties in sterilized milk, enriched with fructose.

Keywords: baby food, adaptation, bifidobacterium lactis, mesophilic lactococcus lactis, bifidogenic factor, fermentation, probiotic properties.

Контактна інформація

Назаренко Юлія Валентинівна

Назаренко Юлия Валентиновна

Julia Nazarenko

Тел. 050-767-79-19

E-mail:nazarenko.sumy@gmail.com

Поштова адреса для відправки збірника:

Назаренко Ю. В.

ул. Г.Кондратьєва,160, корпус 4, к.317а

Суми

40021