ТЕХНОЛОГИЯ ПРОДОВОЛЬСТВЕННЫХ ПРОДУКТОВ

Научная статья/Research Article
УДК 663:579.864.1
DOI: 10.36718/1819-4036-2023-2-180-185

Надежда Петровна Тарабукина[1], **Михаил Петрович Неустроев**[2], **Ольга Геннадьевна Жиленкова**[3], **Наталья Александровна Обоева**[4]✉, **Светлана Ивановна Парникова**[5]
[1,2,4,5]Якутский научно-исследовательский институт сельского хозяйства им. М.Г. Сафронова – обособленное подразделение Федерального исследовательского центра «Якутский научный центр СО РАН», Якутск, Республика Саха (Якутия), Россия
[3]Московский научно-исследовательский институт эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Москва, Россия
[1]hotubact@mail.ru
[2]mneyc@mail.ru
[3]o.g.zhilenkova@yandex.ru
[4,5]natalyaoboeva@mail.ru

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА НОВОГО ШТАММА БАКТЕРИЙ *LACTOBACILLUS DELBRUECKII* SUBSP. BULGARICUS К 1903, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ЯКУТСКОГО КУМЫСА

Цель исследований – изучение технологических свойств выделенного штамма молочнокислых микроорганизмов Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus К 1903 и его практического применения. Задачи: изучить технологические свойства L. delbrueckii subsp. bulgaricus К 1903; провести опытную выработку кисломолочного продукта с использованием L. delbrueckii subsp. bulgaricus К 1903. Объектом исследований явился штамм L. delbrueckii subsp. bulgaricus К 1903, выделенный из якутского кумыса. Изучение технологических свойств штамма проводили при максимальной температуре – 50 °С. Оптимальной температурой развития для штамма отмечена 37–40 °С, минимальная – 25 °С, максимальная – 45–50 °С. Штамм к 16 часам сквашивает молоко с образованием сметаноподобного сгустка, имеющего приятный вкус. Активность сквашивания нового штамма сравнивали со штаммом-прототипом L. delbrueckii subsp. bulgaricus ВКПМ В 3141. По результатам исследований отмечено, что период лаг-фазы у нового штамма был короче (2,5 часа), чем у тест-культуры (4,5–5 часов), это свойство является важным условием для промышленного производства кисломолочной продукции. Скорость накопления биомассы у нового штамма была выше в два раза, чем у тест-культуры, т. е. оптическая плотность роста культуры нового штамма через 12 часов инкубирования в питательной среде на основе гидролизата сухого обезжиренного молока (СОМ) достигала 18 ОД, тогда как у тест-культуры она составляла 9 ОД. Таким образом, свойства нового штамма L. delbrueckii subsp. bulgaricus К 1903 доказывают целесообразность его использования в составе заквасок прямого внесения.

***Ключевые слова**: лактобактерии, штамм-прототип, кисломолочный продукт, лаг-фаза*

© Тарабукина Н.П., Неустроев М.П., Жиленкова О.Г., Обоева Н.А., Парникова С.И., 2023
Вестник КрасГАУ. 2023. № 2. С. 180–185.
Bulliten KrasSAU. 2023;(2):180–185.

***Для цитирования**:* Технологические свойства нового штамма бактерий *Lactobacillus delbrueckii* subsp. Bulgaricus к 1903, выделенных из якутского кумыса / *Н.П. Тарабукина* [и др.] // Вестник КрасГАУ. 2023. № 2. С. 180–185. DOI: 10.36718/1819-4036-2023-2-180-185.

Nadezhda Petrovna Tarabukina[1], Mikhail Petrovich Neustroev[2], Olga Gennadievna Zhilenkova[3], Natalia Alexandrovna Oboeva[4]✉, Svetlana Ivanovna Parnikova[5]

[1,2,4,5]Yakutsk Research Institute of Agriculture named after M.G. Safronov – a separate division of the Federal Research Center "Yakutsk Scientific Center of the Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences", Yakutsk, Republic of Sakha (Yakutia), Russia

[3]Moscow Research Institute of Epidemiology and Microbiology named after G.N. Gabrichevsky Federal Service for Supervision of Consumer Rights Protection and Human Welfare, Moscow, Russia

[1]hotubact@mail.ru

[2]mneyc@mail.ru

[3]o.g.zhilenkova@yandex.ru

[4,5]natalyaoboeva@mail.ru

TECHNOLOGICAL PROPERTIES OF A NEW STRAIN OF BACTERIA *LACTOBACILLUS DELBRUECKII* SUBSP. BULGARICUS K 1903, ISOLATED FROM YAKUT KUMISS

The aim of research is to study the technological properties of the isolated strain of lactic acid microorganisms Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus K 1903 and its practical application. Objectives: to study the technological properties of L. delbrueckii subsp. bulgaricus K 1903; to conduct an experimental production of a fermented milk product using L. delbrueckii subsp. bulgaricus K 1903. The object of research was the strain L. delbrueckii subsp. bulgaricus K 1903, isolated from Yakut kumiss. The study of the technological properties of the strain was carried out at a maximum temperature of 50 °C. The optimum development temperature for the strain was 37–40 °C, the minimum temperature was 25 °C, and the maximum temperature was 45–50 °C. By 16 hours, the strain ferments milk with the formation of a creamy clot that has a pleasant taste without. The fermentation activity of the new strain was compared with the prototype strain L. delbrueckii subsp. bulgaricus VKPM V 3141. According to the research results, it was noted that the lag-phase period of the new strain was shorter (2.5 hours) than that of the test culture (4.5–5 hours), this property is an important condition for the industrial production of fermented milk products. The rate of biomass accumulation in the new strain was twice as high as in the test culture, i.e., the optical growth density of the culture of the new strain after 12 hours of incubation in a nutrient medium based on skimmed milk hydrolyzate (SOM) reached 18 OD, while in the test culture, it was 9 OD. Thus, the properties of the new L. delbrueckii subsp. bulgaricus K 1903 prove the expediency of its use in the composition of direct ferments.

***Keywords**: lactobacilli, prototype strain, fermented milk product, lag phase*

For citation: Technological properties of a new strain of bacteria *Lactobacillus delbrueckii* subsp. bulgaricus K 1903, isolated from Yakut kumiss / *N.P. Tarabukina* [et al.] // Bulliten KrasSAU. 2023;(2): 180–185. (In Russ.). DOI: 10.36718/1819-4036-2023-2-180-185.

Введение. Увеличение числа заболеваний населения, вызванных нарушением в питании, задает импульс развитию научных подходов пищевой биотехнологии к созданию продуктов функциональной направленности [1]. В этом направлении выделение чистых культур лактобактерий, перспективных в качестве заквасок и пробиотиков, а также исследование их свойств является приоритетным, что отражается в работах многих исследователей [2–4]. Вместе с тем используемые в молочной промышленности природные микроорганизмы из растительного и животного сырья во многих случаях не соответствуют требованиям и санитарным нормам качества. Так, при использовании природных штаммов возникают проблемы утраты первоначальных качеств микроорганизмов, поэтому такие штаммы приходится постоянно заменять другими штаммами [5]. В этой связи во всем мире идет наплыв разработок, получаемых при помощи

методов генной инженерии [6], что потихоньку вытесняет традиционные методы поиска и выделения новых наиболее активных штаммов природного происхождения. Практическая значимость результатов научных работ выражается в селекции биологически и технологически активных штаммов промышленных микроорганизмов.

При производстве молочных продуктов важное значение имеет использование заквасочных культур. Так, именно состав и свойства этих культур играют решающую роль в получении расширенного ассортимента продуктов с заданными биологическими и технологическими показателями [7–9]. При производстве кисломолочных продуктов одним из самых главных критериев при выборе закваски является активность свертывания молока. Чем выше активность закваски и энергия кислотообразования, тем короче длится процесс сквашивания, сгусток получается плотнее, и как следствие, выше его вкусовые качества и стойкость при хранении.

Цель исследований – изучение технологических свойств выделенного из якутского кумыса штамма молочнокислых микроорганизмов *Lactobacillus delbrueckii* subsp. bulgaricus К 1903 и его практическое применение.

Задачи: изучить технологические свойства *L. delbrueckii* subsp. bulgaricus К 1903; провести опытную выработку кисломолочного продукта с использованием *L. delbrueckii* subsp. bulgaricus К 1903.

Объекты и методы. Работа выполнена на базе лаборатории по разработке микробных препаратов ЯНИИСХ и лаборатории биологии бифидобактерий МНИИЭМ им. Г.Н. Габричевского. При получении чистых культур молочнокислых микроорганизмов из различных национальных кисломолочных продуктов руководствовались методиками Л.А. Банниковой (1975). Объектом исследований явился штамм бактерий *L. delbrueckii* subsp. bulgaricus К 1903, выделенный из якутского кумыса, депонированный в Государственной коллекции микроорганизмов нормальной микрофлоры Московского научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии им. Г.Н. Габричевского Роспотребнадзора под коллекционным номером № 1277.

Скорость роста культур определяли через 4–8–12–16 часов по ГОСТ Р 56139-2014 и при выращивании штамма на восстановленном стерильном 12 % обезжиренном молоке (СОМ) при температуре (37±1) °С. Число жизнеспособных бактерий выражали в КОЕ/мл исследуемого материала. Скорость роста и накопление биомассы определяли по увеличению оптической плотности при выращивании штамма в гидролизатно-молочной среде на спектрофотометре ЮНИКО 1201. Изучение технологических свойств штамма проводили при максимальной температуре 50 °С. Изучение протеолитических свойств, накопление титруемой кислотности в молоке проводили на стерильном 12 % сухом обезжиренном молоке (СОМ) по ГОСТ 33629-2015. Титруемую кислотность кисломолочных продуктов определяли по ГОСТ Р 54669-2011, активную кислотность (pH) по ГОСТ Р 53359-2009. С целью сравнения в качестве тест-культуры использовался штамм *L. delbrueckii* subsp. bulgaricus ВКПМ В 3141, депонированный во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов.

Обработку полученных данных осуществляли на основе общепринятых методов вариационной статистики с помощью программы MS Excel. Определение статистической значимости различий между сопоставляемыми величинами определяли с помощью критерия достоверности по таблице Стъюдента.

Результаты и их обсуждение. Новый штамм *L. delbrueckii* subsp. bulgaricus К 1903 растет в полужидкой среде для культивирования и выделения бифидобактерий (БС) в форме единичных колоний как рыхлая комета-елочка длиной 3–5 мм, растет по всему объему среды без зоны аэробиоза, на поверхности плотной питательной среды вырастают прозрачные непигментированные круглые колонии (S-форма) «сметанообразной» консистенции. В микропрепарате – грамположительные, неподвижные, неспорообразующие, прямые длинные тонкие палочки с закругленными концами, образующие цепочки из 4–8 клеток.

При определении особенностей штамма оптимальной температурой роста для нового штамма отмечена 37–40 °С, минимальной – 25 °С, максимальной – 45–50 °С. Наблюдался выраженный рост по всей толще среды без зоны аэробиоза – в полужидкой БС среде при высоких температурах. Данная культура растет в толще полужидких питательных сред и на поверхности

плотных сред в присутствии кислорода, т. е. штамм относится к аэротолерантным микроорганизмам (микроаэрофилам). Для эффективного получения биомассы нового штамма используют обезжиренное молоко; среды: Бифидум, Блаурокка, гидролизатно-молочная, MRS, MRS-2, MRS-4, MRS broth, желточно-солевой агар.

Изучение протеолитических свойств культуры показало, что штамм к 16 часам сквашивает стерильное обезжиренное молоко при внесении 1–3 % закваски с образованием сметаноподобного сгустка с приятным вкусом без образования сыворотки. В 1 мл ферментированного стерильного молока к 12 часам инкубирования накапливается 10^8 КОЕ. Каталазу не образует, желатину не разжижает. Показатели накопления титруемой кислотности представлены в таблице.

Значение титруемой кислотности штамма *L. delbrueckii* subsp. bulgaricus К 1903 (выращивание в термостате при 37,5±1 °С в течение 24 ч)

Титруемая кислотность	Значение	Характер сгустка, органолептика
°Т на БС, 3-я генерация	100	Цвет белый, консистенция однородная, в меру густая, устойчивая, без нарушения поверхности, без пор газообразования, сгусток вязкий, равномерный сметанообразный без синерезиса, запах ряженки
°Т на БС, 5-я генерация	110	
°Т на СОМ, 3-я генерация	100	
°Т на СОМ, 5-я генерация	104	

Как видно из данных, представленных в таблице, новый штамм лактобактерий проявляет стабильные протеолитические свойства.

Для подтверждения высокой активности ферментации нового штамма по сравнению с тест-культурой каждый высушенный штамм в объеме 0,1 % вносили в восстановленное сухое молоко. В результате отмечено, что период лаг-фазы у нового штамма был короче (2,5 часа), чем у тест-культуры (4,5–5 часов), это свойство является важным условием для промышленного производства кисломолочной продукции.

Изучение скорости накопления биомассы у нового штамма и тест-культуры также показало, что оптическая плотность роста культуры нового штамма через 12 ч инкубирования в питательной среде на основе гидролизата СОМ достигала 18 ОД (ОД – единица обозначения оптической плотности на спектрофотометре), тогда как у тест-культуры она составляла 9 ОД, т. е. была выше в два раза.

Новый штамм используется для приготовления производственной закваски прямого внесения, в качестве компонентов сухой комплексной закваски прямого внесения для приготовления йогурта, сухой комплексной закваски прямого внесения для приготовления сметаны, а также для получения сухой лиофилизированной микробной массы.

Для приготовления кисломолочного продукта использовали подогретое до 37–40 °С ультрапастеризованное молоко с массовой долей 1,5 %. Чистую культуру нового штамма в двух вариантах (1 – культура с БС; 2 – культура с защитной сахарозо-желатиновой средой) с содержанием $1 \cdot 10^5$ КОЕ вносили в количестве 1 % от объема заквашиваемого молока. Заквашиваемое молоко инкубировали 6–12 ч до образования сгустка. В обоих вариантах молока уже через 6 часов выдержки наблюдаются процессы сквашивания. Завершение сквашивания отмечали через 12 часов. Полученный кисломолочный продукт обладал следующими органолептическими показателями: жидковатый, рыхлый сгусток молочно-белого цвета, с характерным кисломолочным запахом, чистый, приятный вкус ряженки.

Таким образом, свойства нового штамма *L. delbrueckii* subsp.bulgaricus К 1903 доказывают целесообразность его использования в составе заквасок прямого внесения. Предлагаемый к использованию новый штамм обладает быстрым набором биомассы при инкубировании и укороченной лаг-фазой при ферментации молока по сравнению с аналогичными штаммами данного вида, а кисломолочные продукты на его основе образуют плотный сгусток и обладают кислотностью (100–104 °Т), которая сохраняется на протяжении 3 суток хранения. Свойства нового штамма показывают перспективность его использования в составе многокомпонентной закваски прямого внесения.

Заключение. Выделенный активный штамм, т. е. обладающий стабильной протеолитической активностью, можно рекомендовать в качестве

закваски прямого внесения для приготовления кисломолочных продуктов. Штамм хранится в лиофильно высушенном виде в защитной сахарозо-желатиновой среде при температуре 4±2 °С не менее 12 месяцев.

Несмотря на то что болгарская палочка по своим некоторым показателям уступает ацидофильной палочке, она открыта ранее ацидофильной палочки [10] и до сей поры сохраняется в российских коллекциях в числе микроорганизмов с доказанной эффективностью по улучшению состояния здоровья человека.

В результате проведенных исследований получен патент РФ на изобретение от 08.09.2020 г. RU 2731738 «Штамм бактерий *Lactobacillus delbrueckii* subsp. bulgaricus К 1903, используемый в качестве закваски прямого внесения для приготовления кисломолочных продуктов».

Список источников

1. *Буянова И.В., Матюшев В.В., Куулар Ч.Г.* Технологические особенности биокефира с пребиотическими веществами // Вестник КрасГАУ. 2022. № 3. С. 148–153. DOI: 10.36718/1819-4036-2022-3-148-153.
2. *Степанова А.П., Ловцова Л.Б., Проккоева Ж.А.* Селекция и отбор штаммов болгарской палочки, перспективных для создания заквасок, используемых в эмульсионных продуктах // Вестник Всероссийского научно-исследовательского института жиров. 2018. № 2. С. 67–69. DOI: 10.25812/VNIIG.2018. 2018.24029.
3. *Кабисов Р.Г., Козонова С.Т., Гревцова С.А.* Штамм enterococcus durans ВКПМ В-8731 селекции Горского ГАУ // Известия Горского государственного аграрного университета. 2020. Т. 57, № 3. С. 119–125.
4. Лактобациллы и их применение в биотехнологии / *И.А. Функ* [и др.] // Молочная промышленность. 2020. № 6. С. 19–21. DOI: 10.31515/1019-8946-2020-06-19-20.
5. Выделение и идентификация молочнокислых бактерий для ферментированных молочных продуктов / *Т.Н. Орлова* [и др.] // Ползуновский вестник. 2019. № 2. С. 47–50.
6. *Жельдыбаева А.Х.* Влияние биотехнологии на пищевую промышленность // Интеллектуальный капитал XXI века: сб. ст. Междунар. научно-исследовательского конкурса. Пенза, 2020. С. 10–14.
7. Растительные добавки как компонент кисломолочного продукта функционального назначения / *Н.В. Кияшко* [и др.] // Вестник КрасГАУ. 2021. № 4. С. 140–147. DOI: 10.36718/1819-4036-2021-4-140-147.
8. *Антипова Т.А., Хохлова И.Ю*. Новые продукты для питания лактирующих женщин, предупреждающие пищевую аллергию у грудных детей // Федеральный и региональный аспекты политики здорового питания: мат-лы междунар. симпозиума. Кемерово, 2002. С. 228–233.
9. Получение низколактозных кисломолочных продуктов для детского питания / *Т.А. Антипова* [и др.] // Пищевая промышленность. 2021. № 6. С. 23–26. DOI: 10.52653/ PPI.2021.6.6.001.
10. *Гладкова Е.Е.* Характеристика культур, входящих в состав кумысной закваски, молочнокислые бактерии // III Междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 70-летию ГНУ ИЭВСиДВ (6–7 октября, Новосибирск). Новосибирск, 2010. С. 125–132.

References

1. *Buyanova I.V., Matyushev V.V., Kuular Ch.G.* Tehnologicheskie osobennosti biokefira s prebioticheskimi veschestvami // Vestnik KrasGAU. 2022. № 3. S. 148–153. DOI: 10.36718/1819-4036-2022-3-148-153.
2. *Stepanova A.P., Lovcova L.B., Prokkoeva Zh.A.* Selekciya i otbor shtammov bolgarskoj palochki, perspektivnyh dlya sozdaniya zakvasok, ispol'zuemyh v `emul'sionnyh produktah // Vestnik Vserossijskogo nauchno-issledovatel'skogo instituta zhirov. 2018. № 2. S. 67–69. DOI: 10.25812/VNIIG.2018. 2018.24029.
3. *Kabisov R.G., Kozonova S.T., Grevcova S.A.* Shtamm enterococcus durans VKPM V-8731 selekcii Gorskogo GAU // Izvestiya Gorskogo gosudarstvennogo agrarnogo universiteta. 2020. T. 57, № 3. S. 119–125.
4. Laktobacilly i ih primenenie v biotehnologii / *I.A. Funk* [i dr.] // Molochnaya promyshlennost'. 2020. № 6. S. 19–21. DOI: 10.31515/ 1019-8946-2020-06-19-20.

5. Vydelenie i identifikaciya molochnokislyh bakterij dlya fermentirovannyh molochnyh produktov / *T.N. Orlova* [i dr.] // Polzunovskij vestnik. 2019. № 2. S. 47–50.
6. *Zhel'dybaeva A.H.* Vliyanie biotehnologii na pischevuyu promyshlennost' // Intellektual'nyj kapital XXI veka: sb. st. Mezhdunar. nauchno-issledovatel'skogo konkursa. Penza, 2020. S. 10–14.
7. Rastitel'nye dobavki kak komponent kislomolochnogo produkta funkcional'nogo naznacheniya / *N.V. Kiyashko* [i dr.] // Vestnik KrasGAU. 2021. № 4. S. 140–147. DOI: 10.36718/1819-4036-2021-4-140-147.
8. *Antipova T.A., Hohlova I.Yu*. Novye produkty dlya pitaniya laktiruyuschih zhenschin, preduprezhdayuschie pischevuyu allergiyu u grudnyh detej // Federal'nyj i regional'nyj aspekty politiki zdorovogo pitaniya: mat-ly mezhdunar. simpoziuma. Kemerovo, 2002. S. 228–233.
9. Poluchenie nizkolaktoznyh kislomolochnyh produktov dlya detskogo pitaniya / *T.A. Antipova* [i dr.] // Pischevaya promyshlennost'. 2021. № 6. S. 23-26. DOI: 10.52653/PPI.2021.6.6.001.
10. *Gladkova E.E.* Harakteristika kul'tur, vhodyaschih v sostav kumysnoj zakvaski, molochnokislye bakterii // III Mezhdunar. nauch.-prakt. konf., posvyasch. 70-letiyu GNU I`EVSiDV (6–7 oktyabrya, Novosibirsk). Novosibirsk, 2010. S. 125–132.

Статья принята к публикации 30.12.2022 / The article accepted for publication 30.12.2022.

Информация об авторах:

Надежда Петровна Тарабукина[1], главный научный сотрудник лаборатории по разработке микробных препаратов, доктор ветеринарных наук, профессор
Михаил Петрович Неустроев[2], главный научный сотрудник лаборатории ветеринарной биотехнологии, доктор ветеринарных наук, профессор
Ольга Геннадьевна Жиленкова[3], ведущий научный сотрудник лаборатории биологии бифидобактерий, кандидат биологических наук
Наталья Александровна Обоева[4], старший научный сотрудник лаборатории по разработке микробных препаратов, кандидат ветеринарных наук
Светлана Ивановна Парникова[5], старший научный сотрудник лаборатории по разработке микробных препаратов, кандидат ветеринарных наук

Information about the authors:

Nadezhda Petrovna Tarabukina[1], Chief Researcher at the Laboratory for the Development of Microbial Preparations, Doctor of Veterinary Sciences, Professor
Mikhail Petrovich Neustroev[2], Chief Researcher at the Laboratory of Veterinary Biotechnology, Doctor of Veterinary Sciences, Professor
Olga Gennadievna Zhilenkova[3], Leading Researcher, Laboratory of Bifidobacteria Biology, Candidate of Biological Sciences
Natalia Alexandrovna Oboeva[4], Senior Researcher, Laboratory for the Development of Microbial Preparations, Candidate of Veterinary Sciences
Svetlana Ivanovna Parnikova[5], Senior Researcher, Laboratory for the Development of Microbial Preparations, Candidate of Veterinary Sciences