



Актуальность

Мезофильные лактобациллы входят в состав микрофлоры заквасок для различных видов сыров. Они обладают более высокой протеолитической активностью по сравнению с лактококками, благодаря чему всё более широко используются в сыроделии для интенсификации и ускорения их созревания [1-3]. Характерное свойство лактобацилл – способность продуцировать антибиотические вещества [4], что позволяет им проявлять выраженный антагонизм в отношении различных микроорганизмов, в том числе технически-вредных и патогенных.

Перспективным направлением в пищевой микробиологии является скрининг штаммов молочнокислых бактерий, обладающих комплексом технологически значимых свойств. Такие штаммы – основа эффективных бактериальных заквасок, способствующих повышению качества и безопасности сыров. Источниками для выделения лактобацилл являются сырое молоко, растения, кисломолочные продукты самопроизвольного брожения и особенно сыры высокого качества, выработанные из сырого молока или из пастеризованного молока, при изготовлении которых не использовались закваски с лактобациллами [1,2,5].

Цель работы

Выделение новых лактобацилл, перспективных для использования при производстве заквасок для сыров.

Методология работы

Выделение лактобацилл осуществляли из сырого коровьего (7 образцов) и козьего (10 образцов) молока, сыров (6 образцов), хвойных растений (3 образца) и яблок (2 образца). Обогащение культур проводилось в жидкой среде MRS при температуре 30, 37, 40, 45 оС. Обогащённые образцы высевали на плотную питательную среду MRS-агар. Выделяли изолированные колонии, имеющие характерную форму. В дальнейшей работе исследовали изоляты, которые окрашиваются по Граму положительно, имеют характерную морфологию палочек различной длины с закруглёнными краями, спор и каталазы не образуют, характеризующиеся чистым, кисломолочным вкусом без посторонних привкусов. Идентификацию осуществляли культуральными и физиолого-биохимическими методами: рост при температуре 10, 15, 20, 30, 37 и 45 оС, активной кислотности 8,3 ед. рН, концентрации хлорида натрия 2,0 и 4,0 %, при концентрации желчи 20 и 40 %; образование углекислого газа из глюкозы; образование аммиака из аргинина; ферментация глюкозы, лактозы, мальтозы, маннита, маннозы, раффинозы и сахарозы. У отобранных этими методами 8 культур проведена биохимическая идентификация с использованием тест-системы API-50CHL («BioMerieux», Франция).

Результаты

Выделено 126 изолятов, в том числе 56 – из молока, 30 – из сыров и 40 – с растений. Установлено, что 37,5 % культур, выделенных из молока, являются мезофильными молочнокислыми палочками, 64,3 % - термофильными. Только 10 % выделенных из сыров культур относятся к мезофильным. Это обусловлено тем, что культуры выделялись из сыров с высокой температурой второго нагревания, которая явилась селективным фактором.

Способность метаболизировать глюкозу гетероферментативно с образованием углекислого газа выявлена у 30,4 % молочных культур, в сырах гетероферментативные лактобациллы не обнаружены. Рост при активной кислотности питательной среды 8,3 ед. рН отмечен у 48,2 % молочных культур и у 33,3 % сырных штаммов.

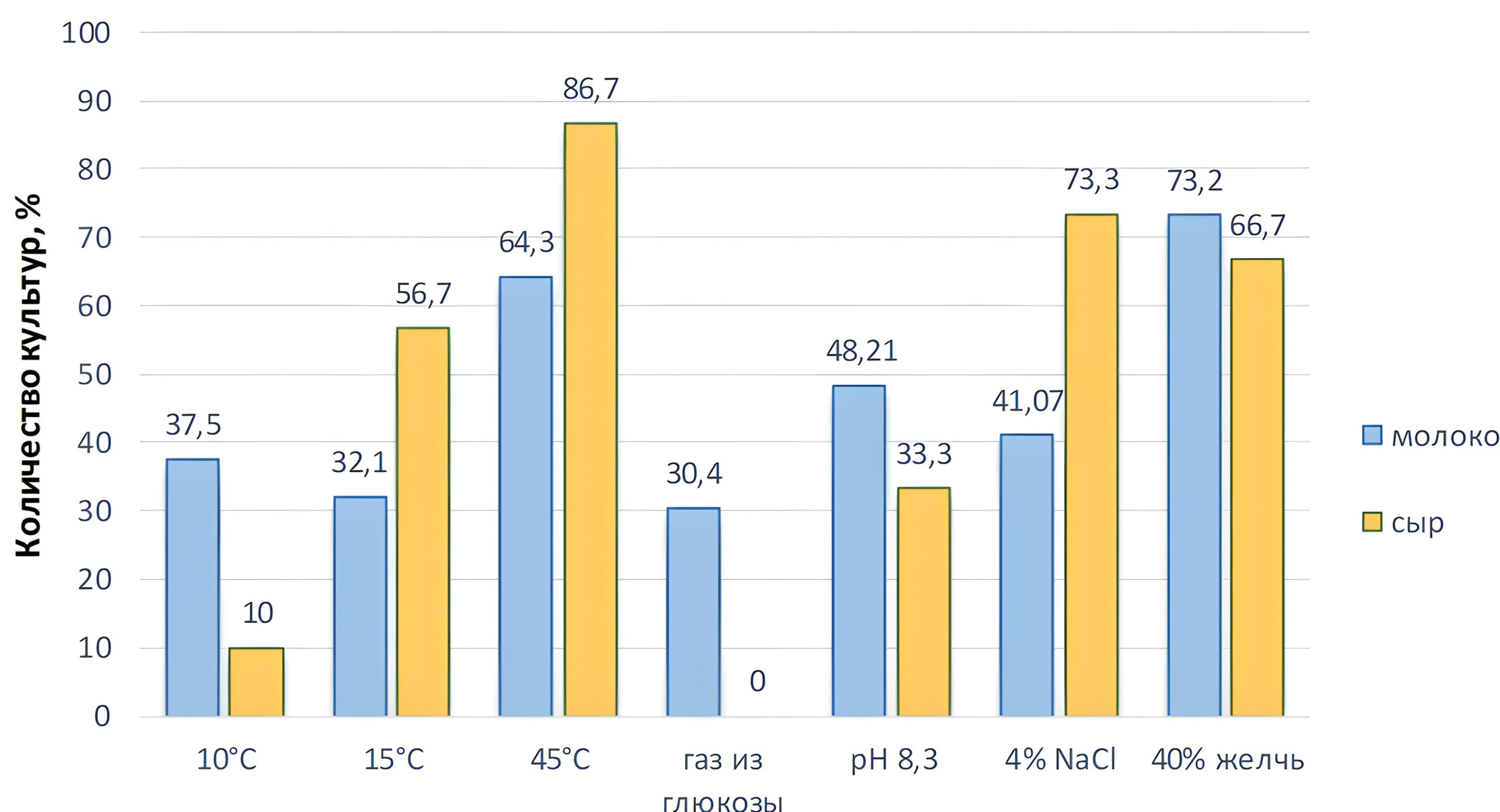


Рис. 1 - Физиологические свойства выделенных из молока и сыров лактобацилл

Список литературы

1. Гудков, А.В. Сыроделие: технологические, биологические и физико-химические аспекты / А.В. Гудков. – М.: ДеЛи принт, 2003. – 800 с.
2. Сыр. Научные основы и технологии / под ред. П.Л. МакСуини, П.Ф. Фокса, П.Д. Коттера, Д.У. Эвертта. – СПб.: Профессия, 2019. - Т. 1. – 554 с.
3. Zheng J. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae* / J. Zheng [et al.] // Int. J. Syst. Evol. Microbiol. - 2020. - Vol. 70. - P. 2782–2858.
4. Ботина С.Г. Молекулярно-биологические подходы к отбору бактериальных культур при создании заквасок для биотехнологии / Автореф. дисс. на соискание учен. степени доктора биол. наук. – Москва, 2011. – 48 с.

Выявлены различия у молочных и сырных штаммов в способности к росту в среде с содержанием 2,0 и 4,0 % NaCl. Все выделенные из сыров культуры росли в присутствии 2,0 % соли и большая доля (73,3 %) культур - при 4 %-ной концентрации. Доля молочных культур, способных расти в присутствии 2,0 % и 4,0 % хлорида натрия составила 69,9 % и 41,1 % соответственно. Можно предположить, что складывающиеся при изготовлении сыров условия оказывают существенное влияние на развитие микроорганизмов, что приводит к сохранению в зрелых сырах только выдерживающих эти условия культур. Устойчивость к содержанию в среде культивирования 40 % желчи у молочных и сырных культур была примерно одинаковой и характерна для 73,2 % штаммов из молока и для 66,7 % штаммов из сыров.

Из образцов растений выделено 40 изолятов.

Органолептические пороки выявлены у 14 изолятов, 22 культуры не образовывали сгусток в молоке. Прошедшие отбор 4 культуры являются гомоферментативными термофильными лактобациллами.

Выделенные культуры предположительно отнесли к восьми видам: *Lactocaseibacillus casei*, *Lactiplantibacillus plantarum*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus cellobiosus*, *Lactobacillus fructivorans*, *Lactobacillus viridescens*. Бактерии видов *L. cellobiosus*, *L. fructivorans* и *L. viridescens* не используются при изготовлении молочных продуктов. Из характерных для молочной промышленности видов лактобактерий из сыров выделены преимущественно культуры *Lactocaseibacillus casei*, из молока – *Lactiplantibacillus plantarum*.

В результате биохимической идентификации лактобацилл с использованием тест-системы API-50CHL с высокой надёжностью определено таксономическое положение 6 культур (ИД - 99,0-99,9 %). Для двух штаммов результаты двух способов идентификации различались:

предварительно отнесённый к виду *L. acidophilus* штамм 820 по интерпретации тест-системы API-50CHL является *L. delbrueckii subsp. lactis* с приемлемой оценкой идентификации 88,7 %, а штамм 783 вида *L. plantarum* следует отнести к виду *L. paracasei subsp. paracasei* (ИД – 99,0 %). Культуры *L. paracasei subsp. paracasei* являются ценными для сыроделия, особенно для рассольных сыров, так как они способны расти при высоком содержании в среде хлорида натрия до 8 %.

По биохимическим тестам культура *Lactobacillus helveticus* 158 относится к виду *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* с очень хорошей оценкой идентификации до рода (88,8 % ИД), но не до вида.

Установленный для культур гомоферментативный характер сбраживания сахаров по продуцированию углекислого газа из глюкозы подтверждается результатами определения биохимических свойств, которые показали отсутствие у них способности ферментировать пентозы, характерной только для гетероферментативных молочнокислых палочек.

Выводы

В результате работы выделено и идентифицировано 8 культур мезофильных и термофильных лактобацилл, перспективных для использования при изготовлении ферментированных молочных продуктов и сыров. Использование диагностической тест-системы API-50CHL увеличивает надёжность идентификации, но не во всех случаях. Идентификация видовой принадлежности молочнокислых палочек на основании морфологических, культуральных и физиолого-биохимических свойств затруднительна вследствие сходства их свойств, и для более точного определения их видовой принадлежности требуется использование современных молекулярно-генетических методов.