

ПОДБОР ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНОГО КОНЦЕНТРАТА
МИКРОБНОГО КОНСОРЦИУМА

T.N. Zandanova, P.A. Gogoleva

SELECTION OF MEDIUM FOR OBTAINING BACTERIAL CONCENTRATE OF MICROBIAL CONSORTIUM

Занданова Т.Н. – канд. техн. наук, доц. каф. технологии переработки продуктов животноводства и общественного питания Якутской государственной сельскохозяйственной академии, г. Якутск. E-mail: tuyana35@mail.ru.

Гоголева П.А. – канд. с-х. наук, доц. каф. технологии переработки продуктов животноводства и общественного питания Якутской государственной сельскохозяйственной академии, г. Якутск. E-mail: imka-go@mail.ru

Zandanova T.N. – Cand. Techn. Sci., Assoc. Prof., Chair of Technology of Livestock Production Processing and Public Catering, Yakut State Agricultural Academy, Yakutsk. E-mail: tuyana35@mail.ru

Gogoleva P.A. – Cand. Agr. Sci., Assoc. Prof., Chair of Technology of Livestock Production Processing and Public Catering, Yakut State Agricultural Academy, Yakutsk. E-mail: imka-go@mail.ru

Цель исследования – изучение возможности применения ржаной муки в питательной среде для получения бактериального концентрата микробного консорциума. Задачи исследования: 1) изучить влияние дозы (1, 2, 3 %) ржаной муки на рост биомассы и сохранения в ней сбалансированного соотношения основных групп микроорганизмов микробного консорциума; 2) установить влияние ржаной муки в питательной среде на агрегацию и адгезию микроорганизмов микробного консорциума; 3) исследовать качественные характеристики бактериального концентрата микробного консорциума. В качестве объекта исследований использовали инокулированные питательные среды на творожной сыворотке с разными дозами (1, 2, 3 %) ржаной муки. В качестве контроля – питательную среду без добавления ржаной муки. Динамику роста биомассы микробного консорциума определяли по оптической плотности фотоколометрическим методом на KF-77 $\lambda=550$ н. Количественный учет лактозных и неусваивающих лактозу дрожжей проводили методом предельных разведений по числу колониеобразующих единиц при высевах на плотные селективные питательные среды. Адгезивные свойства микроорганизмов изучали по методу В.И. Брилис. В результате исследований установлено, что внесение 2 % ржаной муки обеспечивает наибольшее увеличение оптической плотности среды. Количественный учет микроорганизмов показал, что в питательной среде с 2 % ржаной муки наблюдается наибольшая концентрация мезофильных лактобактерий до $5 \cdot 10^{11}$ КОЕ/см³ и дрожжей, несбраживающих лактозу, $3 \cdot 10^8$ КОЕ/см³. Условия получения бактериального концентрата обеспечивают агрегацию клеток и повышение ад-

гезивных свойств микробного консорциума (индекс адгезивности $5,4 \pm 1$). Изучение качественной характеристики бактериального концентрата свидетельствует о его высокой биохимической активности.

Ключевые слова: лактобактерии, дрожжи, адгезия, бакконцентрат, ржаная мука.

The research objective was studying of the possibility of using rye flour in nutrient medium for receiving bacterial concentrate of microbic consortium. The research problems were 1) to study the influence of a dose (1, 2, 3 %) of rye flour on the growth of biomass and preservation in it balanced ratio of the main groups of microorganisms of microbic consortium; 2) to establish influence of rye flour in a nutrient medium on aggregation and adhesion of microorganisms of microbic consortium; 3) to investigate qualitative characteristics of a bacterial concentrate of microbic consortium. As object of researches inoculated nutrient mediums on cottage cheese serum with different doses (1, 2, 3 %) of rye flour were used. As control nutrient medium without addition of rye flour served. The dynamics of growth of biomass of microbic consortium determined by optical density by photocolourmetric method on KF-77 $\lambda = 550$ n. Quantitative accounting of yeast and lactobacilli was carried out by the method of limiting dilution culture of the number of colony forming units (CFU/cm³) under on selective media by the method V.I. Brilis. As a result of researches it was established that introduction of 2 % of rye flour provided the greatest increase in optical density of the environment. Quantitative accounting of microorganisms showed that in nutrient medium from 2 % of rye flour the greatest concentration of mesophilic lactobacilli to $5 \cdot 10^{11}$, CFU/cm³ and yeast, non-fermenting

lactose, 3·10⁸, CFU /cm³ was observed. The conditions of receiving bacterial concentrate provide the aggregation of cells and increase of adhesive properties of microbic consortium (adhesiveness index 5.4+1). Studying of qualitative characteristic of bacterial concentrate testifies to its high biochemical activity.

Keywords: *lactobacilli, yeast, adhesion, bacterial concentrate, rye flour.*

Введение. В современных условиях возросла доля заквасочных культур, полученных путем генной трансформации. С одной стороны, применение микроорганизмов с трансгенными свойствами ускоряет формирование функциональных свойств микроорганизмов, но, с другой стороны, такие микроорганизмы могут оказывать нежелательные воздействия на организм человека: аллергические реакции, подавление роста естественной микрофлоры организма. На этом фоне естественные популяции микроорганизмов остаются актуальными источниками производственно-ценных штаммов. Ранее был разработан способ получения микробного консорциума для производства кумыса и курунги, основанный на автоселекции микрофлоры кефирной грибковой закваски [2, 3]. Идентификация состава лактобактерий микробного консорциума показала ее соответствие естественно сложившейся популяции микроорганизмов курунги и кумыса. Установлена ее высокая антибиотическая активность по отношению к патогенной и гнилостной микрофлоре [3].

Следующим этапом исследований является создание бактериального концентрата микробного консорциума. Одним из ключевых моментов в разработке технологии многокомпонентного по составу бактериального концентрата является подбор питательной среды, обеспечивающий сбалансированный рост микрофлоры. В полученной микробной популяции устойчиво доминирующими являются клетки мезофильных лактобактерий и лактозу неусваивающих дрожжей при наличии неустойчивого количества термофильных лактобактерий и лактозных дрожжей [2, 3]. Следовательно, при подборе питательной среды для микробного консорциума первоочередной задачей является обеспечение роста лактозу неусваивающих дрожжей и мезофильных лактобактерий.

Дрожжи и некоторые представители лактобактерий могут проявлять активность по отношению к другим углеводам помимо лактозы. Известно, что технологии приготовления хлеба из ржаной муки основаны на применении заквасок с использованием чистых культур лактобактерий и дрожжей. В состав

заварок ржаной муки входят такие лактобактерии и дрожжи, как *Lactobacillus plantarum*, *L. brevis*, *L. delbrueckii*, *L. fermentum*, *Saccharomyces cerevisiae*. Известно, что ржаная мука обладает высокой биологической ценностью и характеризуется большим удельным весом в составе водорастворимого белково-углеводного комплекса [6].

Цель исследования: изучение возможности применения ржаной муки в питательной среде для получения бактериального концентрата микробного консорциума.

Задачи исследования:

1. Изучить влияние дозы (1, 2, 3%) ржаной муки на рост биомассы и сохранения в ней сбалансированного соотношения основных групп микроорганизмов микробного консорциума.

2. Установить влияние ржаной муки в питательной среде на агрегацию и адгезию микроорганизмов микробного консорциума.

3. Исследовать качественные характеристики бактериального концентрата микробного консорциума.

Объекты и методы исследования. Объект исследования – инокулированные питательные среды на творожной сыворотке с разными дозами ржаной муки. В качестве инокулята использовали микробный консорциум, полученный автоселекцией комбинированной закваски, состоящей из кефирной грибковой закваски и *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. helveticus* в соотношении 1 : 0,5 : 0,5 : 1 соответственно [3]. Для исследования применяли обойную муку по ГОСТ Р52809.

Рост биомассы измеряли по оптической плотности на фотометре KF-77 $\lambda=550\text{нм}$; количественный учет дрожжей проводили методом предельных разведений по числу колониеобразующих единиц при высевах на плотные лактозно- и глюкозно-картофельные среды, лактобактерий на среде ГМК; адгезивные свойства изучали по развернутому методу В.И. Брилис [1].

Результаты исследования и их обсуждение.

Питательную среду готовили на осветленной творожной сыворотке с добавлением буферных солей и питательных компонентов. В подготовленную среду вводили разные дозы ржаной муки: 1 % – образец 1; 2 % – образец 2; 3 % – образец 3; без добавления ржаной муки – контрольный образец.

Исследуемые образцы стерилизовали при 120 °С в течение 30 мин, охлаждали до 30 °С, вносили 5 % инокулята микробного консорциума. Культивирование образцов проводили при 30 °С. Результаты исследований представлены на рисунках 1, 2.

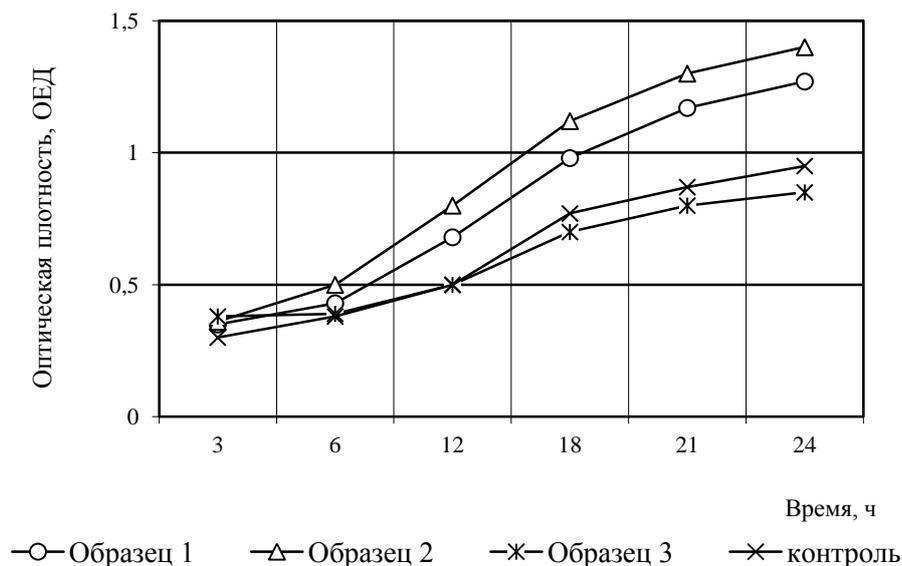


Рис. 1. Динамика оптической плотности инокулированных питательных сред

Из рисунка 1 видно, что в образце 1 и 2 через 24 ч культивирования наблюдается максимальное увеличение значения оптической плотности среды до 1,17 и 1,3 ед. соответственно. В образце 3 через

24 ч культивирования значение оптической плотности питательной среды составило 0,8 ед., что на 0,07 ед. меньше, чем в контрольном образце.

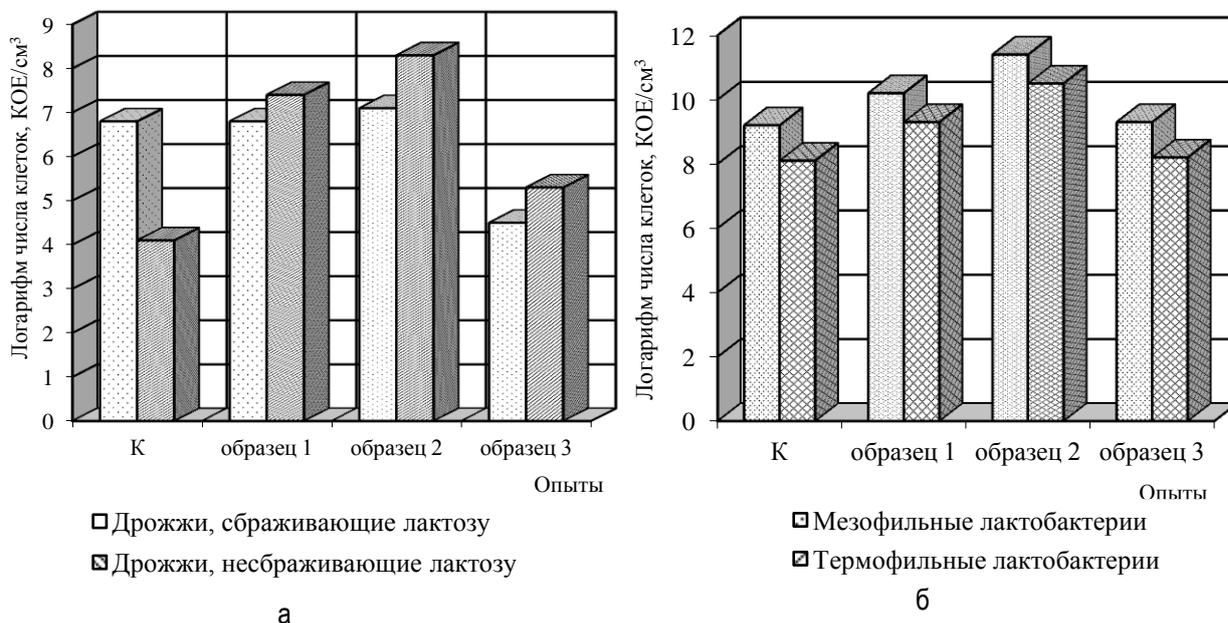


Рис. 2. Динамика микробиологических показателей инокулированных питательных сред: а – дрожжей; б – лактобактерий

Из данных рисунка 2 следует, что наибольшее увеличение количества бактерий наблюдалось в образце 2: количество дрожжей, несбраживающих лактозу, составило $5 \cdot 10^8$ КОЕ/см³, термофильных и мезофильных лактобактерий – $5 \cdot 10^{10}$ и $4 \cdot 10^{11}$ КОЕ/см³

соответственно. Дальнейшее увеличение дозы ржаной муки до 3 % в питательной среде приводило к угнетению роста микроорганизмов. Вероятно, это связано с гидрофильными свойствами углеводно-

белкового комплекса ржаной муки, приводящей к снижению активности воды питательной среды.

Коллоидные свойства белков и полисахаридов ржаной муки влияют на пространственное распо-

ложение клеток. Результаты исследования влияния состава питательной среды на морфологические особенности колоний микроорганизмов представлены на рисунке 3.

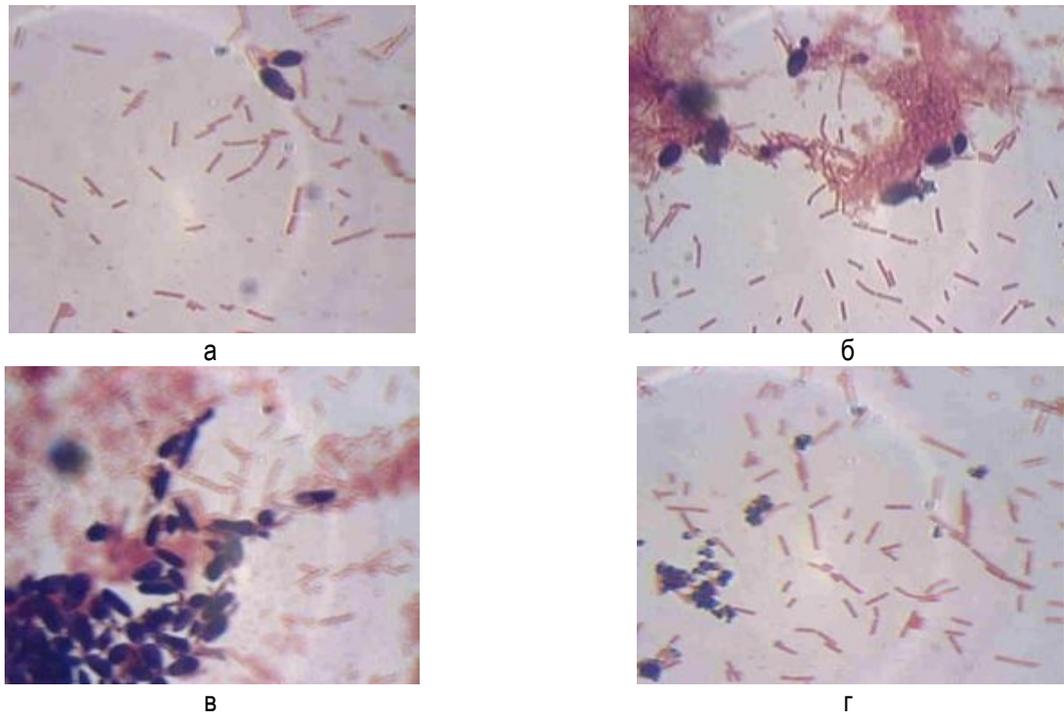


Рис. 3. Влияние дозы ржаной муки на когезию микробного консорциума: а – контроль; б – образец 1; в – образец 2; г – образец 3

Данные рисунков 3 (б–г) показывают, что внесение ржаной муки в питательную среду приводит к агрегации клеток дрожжей и лактобацилл, формированию микроколоний. Наибольшая агрегация клеток микроорганизмов наблюдается в образце 2 (рис. 3, в). Согласно современным данным, наличие пищевых волокон в питательной среде способствует фиксации клеток на их поверхности. Из литературных данных известно, что твердая поверхность положительно воздействует на клетки микроорганизмов, так как концентрирует экзоферменты и питательные вещества на поверхности вблизи адсорбированных клеток, обеспечивая большую доступность для них, чем для обособленных клеток [4, 5].

Прикрепление микроорганизмов к поверхности осуществляется в результате адгезивных процессов. Адгезия – это способность микроорганизмов адсорбироваться на твердой поверхности. Адгезивная активность позволяет клетке адаптироваться к неблагоприятным воздействиям внешней среды и увеличить свою популяцию. В связи с этим дальнейшие исследования были направлены на изучение адгезивных свойств биомассы, полученной культивированием на питательных средах с добавлением 2 % ржаной муки (образец 2). В качестве контроля использовали образец, полученный на питательной среде без добавления ржаной муки (табл. 1).

Таблица 1

Адгезивные свойства микробного консорциума

Показатель	Опыт	
	Образец 2	Контроль
Средний показатель адгезии (СПА)	4,6	3,2
Коэффициент участия эритроцитов в адгезивном процессе (КУЭ), %	85	79
Индекс адгезивности (ИАМ)	5,4 \pm 1,1	4,0 \pm 1,5
Адгезивные свойства	Высокоадгезивные	Среднеадгезивные

Из данных таблицы 1 видно, что индекс адгезивности микробного консорциума в исследуемом образце выше контрольного на 0,6. Результаты исследования свидетельствуют, что присутствие ржаной муки в питательной среде стимулирует адгезивные процессы в микробном консорциуме.

Адгезия микроорганизмов на твердых поверхностях является жизненно важным приспособлением адаптации к различным средам обитания, обуславливает их стабильность и защитные свойства. Известно, что способность микроорганизмов прижиться в условиях желудочно-кишечного тракта обу-

словлено их адгезивными свойствами. Адгезия микроорганизмов к эпителиальным поверхностям с последующей колонизацией в ЖКТ характеризует эффективность пробиотических микроорганизмов. Полученные данные показывают целесообразность добавления в питательную среду 2 % ржаной муки при создании бактериального концентрата микробного консорциума.

На основании проведенных исследований нами разработан бактериальный концентрат. Качественная характеристика полученного бактериального концентрата представлена в таблице 2.

Таблица 2

Качественная характеристика бактериального концентрата

Показатель	Значение
Консистенция и внешний вид	Однородная жидкость. Допускается отделение сыворотки
Цвет	От кремового до светло-коричневого по всему объему, с темными включениями
Вкус и запах	Кисломолочный с привкусом ржаной муки
Массовая доля сухих веществ, %	7,2±0,5
Активная кислотность (рН)	5–7
Температура сквашивания, °С	28±2
Активность (продолжительность сквашивания 10 л при внесении концентрата с 1 ед активности), ч	10–12
Титруемая кислотность, °Т	120
Температура при выпуске с предприятия, °С	плюс 6±2
Продолжительность хранения, мес.	3
Количество микроорганизмов, КОЕ/см ³ , не менее:	
<i>лактобактерии</i>	
термофильные	5·10 ¹⁰
мезофильные	4·10 ¹¹
дрожжи	
несбраживающие лактозу	5·10 ⁸
сбраживающие лактозу	2·10 ⁷

Из данных таблицы 2 можно сделать вывод, что полученный жидкий бактериальный концентрат обладает высокой биохимической активностью, это делает возможным его применение как для производства кумыса и курунги, так и в качестве биологически активной добавки к пище.

Выводы

1. Доказана возможность применения ржаной муки в питательной среде для наращивания биомассы микробного консорциума. Установлено, что внесение 2 % ржаной муки в питательную среду способст-

вует увеличению прироста биомассы микробного консорциума, активному росту мезофильных лактобактерий до 4·10¹¹ КОЕ/см³ и дрожжей, несбраживающих лактозу, – до 5·10⁸ КОЕ/см³.

2. Присутствие 2 % ржаной муки в питательной среде приводит к агрегации микробного сообщества и повышению его адгезивных свойств.

3. Подобранные условия культивирования микробного консорциума позволяют получить бактериальный концентрат с высокой концентрацией жизнеспособных клеток и биохимической активностью.

Литература

1. *Брилис В.И.* Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов // Лабораторное дело. – 1986. – № 4. – С. 210–214.
2. *Занданова Т. Н., Хамагаева И.С., Хурхесова Т.Е.* Симбиотическая закваска для производства курунги // Пищевая промышленность. – 2009. – № 7. – С. 48–49.
3. *Занданова Т.Н., Гоголева П.А.* Исследование биотехнологического потенциала микробного консорциума // Вестн. ВСГУТУ. – 2017. – № 3. – С. 71–76.
4. *Николаев Ю.А., Плакунов В.К.* Биопленка – город микробов или аналог многоклеточного организма? // Микробиология. – 2007. – Т. 76, № 2. – С. 149–163.
5. *Олескин А.В., Ботвиненко И.В., Цавкелова Е.А.* Колониальная организация и межклеточная коммуникация у микроорганизмов // Микробиология. – 2000. – Т. 69, № 3. – С. 309–327.
6. *Пашук З.Н., Апект Т.К., Апект И.И.* Технология производства хлебобулочных изделий. – СПб.: ГИОРД, 2011. – 400 с.

Literatura

1. *Brilis V.I.* Metodika izuchenija adgezivnogo processa mikroorganizmov // Laboratornoe delo. – 1986. – № 4. – S. 210–214.
2. *Zandanova T. N., Hamagaeva I.S., Hurhesova T.E.* Simbioticheskaja zakvaska dlja proizvodstva kurungi // Pishhevaja promyshlennost'. – 2009. – № 7. – S. 48–49.
3. *Zandanova T.N., Gogoleva P.A.* Issledovanie biotehnologicheskogo poten-ciala mikrobnogo konsorciuma // Vestn. VSGUTU. – 2017. – № 3. – S. 71–76.
4. *Nikolaev Ju.A., Plakunov V.K.* Bioplenka – gorod mikrobov ili analog mnogokletochnogo organizma? // Mikrobiologija. – 2007. – T. 76, № 2. – S. 149–163.
5. *Oleskin A.V., Botvinenko I.V., Cavkelova E.A.* Kolonial'naja organizacija i mezhkletohnaja kommunikacija u mikroorganizmov // Mikrobiologija. – 2000. – T. 69, № 3. – S. 309–327.
6. *Pashuk Z.N., Apekt T.K., Apekt I.I.* Tehnologija proizvodstva hlebobulochnyh izdelij. – SPb.: GIORД, 2011. – 400 s.



УДК 519.237.5: 664.691/694

*Н.С. Шелубкова, М.К. Садыгова, Т.В. Кириллова,
И.В. Буянова, Е.Я. Мучкина*

ОПТИМИЗАЦИЯ ПАРАМЕТРОВ ЗАМЕСА МАКАРОННОГО ТЕСТА ИЗ КОМПОЗИТНОЙ МУКИ

*N. S. Shelubkova, M.K. Sadygova, T.V. Kirillova,
I.V. Buyanova, E.Ya. Muchkina*

THE OPTIMIZATION OF PARAMETERS OF THE BATCH OF MACARONI DOUGH FROM COMPOSITE FLOUR

Шелубкова Н.С. – асп. каф. технологий продуктов питания Саратовского государственного аграрного университета им. Н.И. Вавилова, г. Саратов. E-mail: sadigova.madina@yandex.ru

Садыгова М.К. – д-р техн. наук, проф. каф. технологий продуктов питания Саратовского государственного аграрного университета им. Н.И. Вавилова, г. Саратов. E-mail: sadigova.madina@yandex.ru

Кириллова Т.В. – канд. техн. наук, доц. каф. математики и математического моделирования Саратовского государственного аграрного университета им. Н.И. Вавилова, г. Саратов. E-mail: sadigova.madina@yandex.ru

Shelubkova N.S. – Post-Graduate Student, Chair of Technologies of Food, Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov, Saratov. E-mail: sadigova.madina@yandex.ru

Sadygova M. K. – Dr. Techn. Sci., Prof., Chair of Technologies of Food, Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov, Saratov. E-mail: sadigova.madina@yandex.ru

Kirillova T.V. – Cand. Techn. Sci., Assoc. Prof., Chair of Mathematics and Mathematical Modeling, Saratov State Agrarian University named after N.I. Vavilov, Saratov. E-mail: sadigova.madina@yandex.ru