

С. Ш. ТЕР-КАЗАРЬЯН, П. С. ТЕР-СИМОНЯН

НЕКОТОРЫЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И УДЕЛЬНЫЙ ВЕС *LACTOBACILLUS LACTIS* В МОЛОЧНОКИСЛОЙ МИКРОФЛОРЕ ЗРЕЛОГО ШВЕЙЦАРСКОГО СЫРА

Задача подбора местных штаммов для заквасок, применяемых для производства швейцарского сыра, требует всестороннего изучения микрофлоры по ходу созревания этого сыра. Необходимо выяснить, какие виды микроорганизмов и в каком соотношении действуют на различных этапах созревания сыра, какова роль отдельных видов в процессе созревания.

Относительно молочнокислой микрофлоры местного швейцарского сыра имеются работы М. А. Волковой [2] и Ф. Г. Саруханян [6]. Согласно этим работам, молочнокислые палочки, выделяемые из зрелого сыра, относятся к виду *Bact. casei*. В более поздних сводках [1, 8, 9] указывается, что из сыров, кроме *L. casei*, выделяются следующие виды молочнокислых палочек: *L. helveticus*, *L. lactis*, *L. bulgaricus* и *L. brevis*.

Представляло интерес вновь исследовать, какие из этих видов и в каком соотношении имеются в зрелом сыре, каковы физиологические свойства штаммов этих видов, тем более, что мы располагали образцами высококачественного крупного сыра.

Для исследования были использованы образцы, получившие высокую оценку участников смотра качества молочной продукции Закавказья (Ереван, декабрь 1965 г.). Два образца швейцарского сыра были выработаны в Армении (Калинино и Базарчай), один—в Грузии (Цалка). Образец советского сыра был изготовлен в Армении (Калинино).

Для выделения и подсчета молочнокислых микроорганизмов была применена среда, состоящая из гидролизованного молока, дополненного лактозой, автолизатом дрожжей и 0,5% хлористого натрия. Использовались разведения 4—7. Засеянные чашки Петри инкубировали при 35° и при 45° в течение 3-х дней. При изучении культуральных и физиологических признаков были использованы общепринятые методы. Подвижность определяли уколом в полужидкий агар, аммиак—с помощью реактивных бумажек с фуксином.

При идентификации была использована схема Шарп [11], поскольку схема идентификации лактобацилл в определителе Берджи устарела. Статистическая обработка проведена с использованием обозначений, приведенных у П. Ф. Рокицкого [5]. Кроме средней арифметической M , приведены средняя ошибка m , лимиты, среднее квадратичное отклонение s , критерий значимости t .

Бульон, использованный для изучения способности штаммов сбраживать сахара, состоял из триптического перевара казеина, пептона, печеночного и мясного экстрактов, дрожжевого автолизата (по 0,3% каждого компонента в расчете на сухое вещество), солей (по прописи, приведенной у А. М. Скородумовой [7]) и сахара (1%). Инкубирование при 45° продолжалось в течение 7 дней. Результаты опытов по сбраживанию учитывались титрованием 5 мл культуры 0,1 н. щелочью.

Результаты исследований приведены в табл. 1—4.

Таблица 1

Удельный вес и количество клеток *Lactobacillus lactis* в изученных образцах сыра

Номер образца	Количество мик- роорганизмов, млн/г	Количество выде- ленных штаммов			Удельный вес групп в %			Количество клеток <i>L. lactis</i> млн/г
		кокков и палочек	палочек	<i>L. lactis</i>	палочек	<i>L. lactis</i>		
						от общего числа штам- мов	от числа палочек	
1	311	33	11	10	33	30	91	94
2	693	57	55	42	96	74	76	510
3	835	52	49	36	94	69	73	580
4	457	28	15	12	54	43	80	197
Всего	—	170	130	100	—	—	—	—
В среднем	574	—	—	—	69	54	80	345

В 1 г зрелого сыра (табл. 1) содержится от 311 до 835, в среднем 574 млн. молочнокислых микроорганизмов. Из этого количества только четвертая часть приходится на стрептококки, остальное количество принадлежит палочкам. По отношению к общему количеству выделенных штаммов количество штаммов *L. lactis* составляет в среднем 54%, по отношению к палочкам—80%. В 1 г сыра содержится от 94 до 580, в среднем 345 млн. клеток *L. lactis*.

Остальные 20% палочек мы не смогли отнести ни к одному из видов гомоферментативных молочнокислых палочек, и они составили группу неидентифицируемых штаммов.

Выделенные штаммы *L. lactis* имеют (табл. 2) метакрохроматические гранулы, не образуют углекислого газа из глюкозы и аммиака из пеп-

Таблица 2

Некоторые признаки штаммов *L. lactis*

Гранулы	CO ₂ из глюкозы	NH ₃ из пептона	Рост на агаре	Окраска по Граму	Катализа	Подвижность	Восстановление		
							нитрата	0,1% метиленовой сини	лактусового молока
+	—	—	слабый	+	—	—	—	59%— 41%+	+

тона, на агаре растут слабо, окрашиваются по Граму, не образуют каталазы, не восстанавливают нитраты, неподвижны, восстанавливают лакмус после свертывания молока. По отношению к 0,1% метиленовой сини штаммы ведут себя неодинаково: 5% штаммов восстановили за 48 час. краску почти полностью, 36%—только на донышке пробирки, остальные—не обесцветили молока.

Данные об активности штаммов в различных условиях приведены в табл. 3. Как видно из таблицы, штаммы не растут при 15°, растут при 30°, хотя у всей группы в целом рост незначительный, хорошо растут при

Таблица 3

Активность штаммов *L. lactis* в различных условиях
(прирост кислотности в °Т; данные для 89 штаммов)

Условия	$M \pm m$	lim	s	t
15°C, 7 суток	$5 \pm 0,5$	—7—22	5	0,7
30°C, 24 часа	$28 \pm 1,8$	10—84	17	1,6
45°C, 24 часа	$69 \pm 3,3$	10—120	31	2,2
45°C, 7 суток	$156 \pm 1,6$	82—188	15	9,7
40% желчи, 45° 24 ч.	$13 \pm 1,6$	0—50	85	1,1

45° (кислотность изменяется в среднем на 69°Т). Предельная кислотность штаммов в молоке колеблется от 102 до 208°Т, в среднем 176°Т (кислотность нарастает на значения, которые ниже на 20° этих величин, так как 20°—начальная кислотность молока).

Данные о сбраживании углеводов и близких к ним веществ приведены в табл. 4. Лучше всего штаммы сбраживают дисахариды—трегалозу, сахарозу, лактозу и мальтозу. Хорошо сбраживаются галактоза и арабиноза, остальные изученные вещества не используются в скольконибудь значительной степени.

Таблица 4

Сбраживание углеводов штаммами *L. lactis*
(прирост кислотности в °Т; данные для 89 штаммов)

Вещество	$M \pm m$	lim	s	t
Трегалоза	$87 \pm 0,9$	16—84	8,2	15
dI—сахароза	83 ± 4	12—172	40	2,1
d—лактоза	$78 \pm 2,5$	8—136	24	3,2
d—мальтоза	$78 \pm 3,4$	12—132	31	2,5
I—арабиноза	$21 \pm 0,6$	4—40	5,6	2,8
d—галактоза	$53 \pm 2,2$	12—106	21	2,4
d—сорбит	$9 \pm 0,3$	4—16	2,9	1,7
d—ксилоза	$7 \pm 0,9$	4—24	4,3	1,1
d—маннит	$5 \pm 0,3$	0—24	2,8	0,8
Эскулин	$5 \pm 0,3$	0—16	2,8	0,8

Следует отметить, что обнаружение значительного количества *L. lactis* в зрелом швейцарском сыре не является неожиданным, поскольку известно, что этот вид обнаруживается именно в сырах. Однако указанные выше источники свидетельствуют о том, что в сырах имеются еще и другие палочки, и в свете этих данных обнаружение в местном швейцарском сыре *L. lactis* должно представлять интерес. Несоответствие же полученных нами данных данным М. А. Волковой [2] и Ф. Г. Саруханян [6] следует объяснить различием идентификации в примененных схемах. По схеме, приведенной С. А. Королевым [4], к группе, обозначаемой как *Bact. casei*, отнесена любая гомоферментативная молочнокислая палочка. В схеме же М. Е. Шарп, которая в окончательном виде была опубликована лишь в 1962 г., в группу гомоферментативных палочек входит уже 10 видов. Очевидно то, что раньше обозначали как *Bact. casei*, в настоящее время может оказаться любой из этих 10 палочек.

По данным М. А. Волковой [2] и Ф. Г. Саруханян [6], в зрелом швейцарском сыре палочки составляют 94—100% от объема молочнокислых бактерий. По данным, приводимым у В. М. Богданова [1], к концу созревания палочек примерно в два раза больше, чем стрептококков. Приводимые здесь данные показывают, что в зрелом сыре содержится в среднем одна четвертая часть стрептококков и три четвертых—палочек.

Общее количество молочнокислых микроорганизмов в зрелом сыре, по указанным выше источникам, колеблется от 10 до 55 млн. в 1 г. По данным И. И. Климовского [3], в советском сыре в четырехмесячном возрасте содержится от 71 до 402 млн/г микроорганизмов, причем подавляющая часть падает на палочки. Приводимые в настоящем сообщении данные ближе к данным И. И. Климовского. Следует отметить, что данный признак подвержен значительным колебаниям, связанным с условиями места и времени. Так, в работе Перри и Шарп [10] приводятся данные о том, что в 4-месячном чеддаре содержание микроорганизмов колеблется от 30 клеток до 98 млн. клеток на 1 г (колебания более чем в 3 млн. раз), причем эти данные относятся к сырам, которые изготовляли в течение года в одних и тех же экспериментальных условиях Института молочного дела.

Что касается физиологических признаков местных штаммов, то следует отметить такие их особенности, как способность сбраживать арабинозу, незначительный рост в 4% желчи; предельная кислотность штаммов выходит за пределы, характерные для вида: при «норме» 110—180°Т 1% штаммов выходит за нижнюю границу и 34%—за верхнюю, что свидетельствует о том, что часть местных штаммов имеет несколько более высокую предельную кислотность.

Учитывая широкое распространение *L. lactis* в местном швейцарском сыре, необходимо предпринять изучение возможности применения штаммов этого вида в закваске для швейцарского и советского сыра, вырабатываемого в Закавказье.

В ы в о д ы

1. В зрелом швейцарском сыре среди молочнокислых бактерий в среднем три четвертых части штаммов приходится на молочнокислые палочки, из которых подавляющая часть идентифицирована как *L. lactis*.

2. Местные штаммы *L. lactis* отличаются от описанных в литературе «типовых» штаммов несколько более повышенной предельной кислотностью (176°T в среднем при колебаниях от 102 до 208°T) и способностью сбрасывать арабинозу.

Сектор микробиологии
лаборатории молочного дела

Поступило 15.XII 1966 г.

Ереванского зооветеринарного института

Ս. Շ. ՏԵՐ-ՂԱԶԱՐՅԱՆ, Փ. Ս. ՏԵՐ-ՍԻՄՈՆՅԱՆ

LACTOBACILLUS LACTIS ՄԻ ՔԱՆԻ ՖԻԶԻՈԼՈԳԻԱԿԱՆ ՀԱՏԿՈՒԹՅՈՒՆՆԵՐԸ ԵՎ ՏԵՍԱԿԱՐԱՐ ԿՇԻՌԸ ՀԱՍՈՒՆԱՅԱԾ ՇՎԵՅՑԱՐԱԿԱՆ ՊԱՆԻՐԻ ԿԱԹՆԱԹՓԱՅԻՆ ՄԻԿՐՈՖԼՈՐԱՅՈՒՄ

Ա մ փ ն փ ն ո մ

Հայաստանում արտադրվող շվեյցարական պանրի միկրոֆլորայի կազմը հետազոտվել է 25—30 տարի առաջ:

Այդ ժամանակներից ցուպիկների դասակարգման մի քանի փոփոխված սխեմաներ են առաջարկվել, որոնցից վերջինը հրատարակվել է մի քանի տարի առաջ էլիզաբեթ Շարպի կողմից (Անգլիա): Հայաստանում արտադրվող շվեյցարական պանրի միկրոֆլորայի հետազոտման ընթացքում մենք օգտվել ենք այդ վերջին սխեմայից: Ներկա աշխատությունը նվիրված է շվեյցարական տիպի հասունացած պանիրների կաթնաթթվային ցուպիկների ուսումնասիրմանը:

Հետազոտման համար օգտագործվել են նմուշներ, որոնք բարձր զնահատական են ստացել 1965 թ. դեկտեմբերին Երևանում կայացած՝ Անդրկովկասի պանիրների ցուցահանդեսում, շվեյցարական պանրի երկու նմուշ, որոնք պատրաստվել են Հայաստանի պանրի գործարաններում (Կալինինո, Բազարչայ), մեկը՝ Վրաստանում (Ցալկա) և սովետական պանրի մեկ նմուշ՝ պատրաստված Հայաստանում (Կալինինո):

Նշված նմուշները ցանվել են տրիպսինով քայքայված կաթի, խմորիչների ավտոլիզատի և լակտոզայի միջավայրում: Ընդամենը անջատված է հղել 170 շտամ, որից 130-ը՝ ցուպիկներ, մնացածը՝ կոկեր: 100 շտամ իդենտիֆիկացվել են որպես *Lact. lactis*, ցուպիկների մնացած շտամները մեզ չի հաջողվել վերագրել հոմոֆերմենտատիվ խմբի որևէ որոշակի տեսակի:

Lact. lactis շտամները տարբերվում են տիպայիններից քիչ բարձր սահմանային թթվությունամբ (176°S միջինով և 102°S — 208°S տատանումներով) և արաբինոզայի խմորման ունակությամբ:

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Богданов В. М. Микробиология молока и молочных продуктов. М., 1962.
2. Волкова М. А. Тр. Всесоюзн. вет.-зоотехн. ин-та, т. I, в. 2, стр. 99—136. Ереван, 1935.
3. Климовский И. И. Биохимические и микробиологические основы производства сыра. М., 1966.
4. Королев С. А. Основы технической микробиологии молочного дела. М., 1932 и 1940.
5. Рокицкий П. Ф. Биологическая статистика. Минск, 1964.
6. Саруханян Ф. Г. Микробиологич. сб. Биол. ин-та Арм. филиала АН СССР, в. 1, с. 171—185, Ереван, 1943.
7. Скородумова А. М. Практическое руководство по технической микробиологии молока и молочных продуктов. М., 1963.
8. Bergey's manual of determinative bacteriology. Baltimore, 1957.
9. Davis J. G. Progr. industr. microbiol., v. 4, pp. 95—136, London, 1963.
10. Perry K. D., Sharpe M. E. J. dairy res., v. 27, pp. 267—275, 1960.
11. Sharpe M. E. Dairy sci. abstrs., v. 24, pp. 109—118, 1962.