

ТЕМПЕРАТУРНЫЙ ПРОФИЛЬ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ *LACTOBACILLUS ACIDOPHILUS* ПРОДУКТА “НАРИНЭ”

К.В. ЧИТЧЯН, М.О. АДАМЯН, Э.К. АФРИКЯН

Республиканский Центр депонирования микробов НАН и Министерства образования и науки Армении, 378510, г. Абовян

Изучались 4 штамма *L.acidophilus*, используемые для получения лечебно-диетического кисломолочного продукта “Наринэ”. Установлено, что оптимальная температура для роста испытанных штаммов 37°, а предельная - 45°. Среди использованных штаммов 3 культуры повышали кислотность на обезжиренном молоке до 300°Т. Для практического применения выработку продукта “Наринэ” рекомендуется проводить при низких температурах во избежание высокого кислотообразования.

Անվամաիրվել են *L.acidophilus* կուլտուրայի 4 շտամները, որոնք օգտագործվում են «Նարինե» բուժիչ սննդարար կաթնաթթվային մթերքի ստացման համար: Փորձարկված շտամների աճի համար օպտիմալ ջերմաստիճան է հանդիսացել 37°-ը, իսկ կրիտիկական ջերմաստիճանը՝ - 45°-ը: Յուրազերծված կաթի վրա աճեցնելիս օգտագործված շտամներից 3-ը թթվայնությունը բարձրացրել են մինչև 300°Т: Բարձր թթվայնությունից խուսափելու նպատակով գործնական կիրառման համար «Նարինե» մթերքի ստացումն առաջարկվում է իրագործել ցածր ջերմաստիճանների պայմաններում:

Four strains of *L.acidophilus* used for production of treatment and dietetic preparation “Narine” have been studied. The optimum temperature for the growth of the strains tested has been defined as 37°, the critical temperature of the growth is 45°. Among the strains tested 3 cultures produced the acidity in skimmed milk up to 300°Т. For practical application production of “Narine” is recommended to realize under moderate temperatures to avoid high acidity.

Молочнокислые бактерии - Lactobacillus acidophilus - кислотность - температура роста

Установление предельных температур развития молочнокислых бактерий, в частности ацидофильных форм, представляет существенный практический интерес. Имеющиеся по этому вопросу данные недостаточны и часто противоречивы [2-5]. В этом отношении особый интерес представляет культура *Lactobacillus acidophilus* ИНМИА-9602, выделенная Л.А. Ерзинкяном в Институте микробиологии НАН Армении и описанная им как штамм 317/402, широко используемая в производстве кисломолочного лечебно-диетического продукта “Наринэ” [1].

Продукт “Наринэ” в течение многих лет вырабатывается многими коммерческими организациями в Армении и других странах, причем имеются определенные основания говорить о биологическом разнообразии используемых штаммов, вызванном их изменчивостью и нарушениями микробиологических требований к применению культур бактерий на производстве.

В данной работе нами изучались культуры молочнокислых бактерий, используемые для выработки продукта “Наринэ” на разных предприятиях

России и Армении.

Материал и методика. Объектом наших исследований служили 4 штамма *L.acidophilus* ИИМИА 9602, депонированных в Республиканском Центре депонирования микробов НАН и Министерства образования и науки РА (РЦДМ).

Выбор штаммов сделан с учетом использования аутентичной культуры и штаммов, применяемых в выработке продукта "Наринэ" в различных организациях. При этом большое внимание обращалось на изучение штаммов, хранимых в течение долгого времени разными методами: систематическими пересевами на питательных средах, лиофилизированными препаратами и т.п. (табл.1). Репродукция культур осуществлялась в РЦДМ на среде MRS [4] и гидролизате молока. После инкубации штаммов при 37° в течение суток они хранились в холодильнике при +6+8°. Частота пересевов - один месяц.

Таблица 1. Происхождение и условия хранения использованных штаммов *L.acidophilus* ИИМИА-9602.

Штаммы бактерий	Источник, год выделения	Условия и продолжительность хранения
Н-6	Продукт "Наринэ", г.Новосибирск, 1997г.	Репродукция из лиофилизированной культуры в 1996г.
Н-10	Продукт "Нарине", г.Ереван, больница, 1997г.	Инкубация в обезжиренном молоке периодическими пересевами ежемесячно.
Н-11	Фекалии новорожденных детей, штамм Ер. 317/402, 1953г.	Систематические пересевы на обрат.
Н-15	Ллиофилизированная в 1986г. культура, репродуцирована в 1997г.	Хранение лиофилизированной ампулы при комнатной температуре в 1986-1997, пересевы на обрат с 1997г.

Ллиофилизацию культур проводили с предварительным замораживанием при -40°, заквашиванием в течение 4-х часов и вакуумной сушкой с конечной температурой 28°.

Культуры выращивали на среде MRS после двухкратного пересева с обрат. Инкубирование вели в глубинных условиях при 37° в течение 10 дней. Состав среды MRS (г/л): пептон - 10,0; мясной экстракт - 10,0; дрожжевой экстракт - 5,0; глюкоза - 20,0; твин-80 - 1,0; K_2HPO_4 - 2,0; ацетат Na - 5,0; диаммоний цитрат - 2,0; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ - 0,2; $MnSO_4 \cdot 4H_2O$ - 0,05; pH 6,2-6,5. Использовали также обезжиренное молоко, с применением которого рост молочнокислых бактерий учитывали по сквашиванию молока. Рост и кислотообразование изучали при выращивании культур в колленчатых пробирках с использованием температурного градиентного инкубатора (Toyo Kagaku Sangyo, Япония) в интервалах 26-45° без перемешивания. Посев штаммов производили из 2-суточной культуры на среде MRS в количестве 5% по конечному объему к питательной среде. Общее количество среды в этих пробирках составляло 30 мл, что обеспечивало рост испытанных штаммов в микроаэрофильных условиях. Титр клеток бактерий определяли в камере Горяева и нефелометрически в кюветах 1,035 при фиолетовом фильтре. Определение титруемой кислотности в градусах Тернера проводили по ГОСТ 3624-67.

Результаты и обсуждение. Сравнительный анализ температурного профиля роста непитанных штаммов выявляет их некоторые общие характеристики.

Использование молока позволило установить критические температуры, могущие быть применимы для изготовления продукта "Наринэ". Как правило, в пределах 11-17° испытанные штаммы не сквашивали молоко на третьи сутки. Предельной температурой роста и сквашивания молока при

использовании испытанных штаммов следует считать 50°. При 49° отмечается образование сгустка с отделением сыворотки. По этому показателю заметных различий среди использованных штаммов не выявлено. Рост испытанных штаммов в пределах 40-45° может служить основанием характеризовать культуру *L.acidophilus* ИНМИА-9602 как термофильные молочнокислые бактерии.

Температурными пределами роста этих культур следует считать 28-40°, критическими температурами - 26° и 43°, оптимум - 37°. Оптимальная температура роста культур продукта "Наринэ", по-видимому, отражает его происхождение (фекалии новорожденного ребенка) и адаптацию к условиям роста и развития в организме человека. С другой стороны, эта особенность бактерий является полезным свойством, определяющим возможность их приживаемости и размножения в кишечнике при использовании продукта "Наринэ".

Динамика кислотообразования использованных штаммов представлена на рис. 1. Согласно полученным данным, наиболее выраженное подкисление обнаруживается на 3 сутки инкубации. Среди испытанных культур слабой интенсивностью кислотообразования выделяется штамм Н-10. На десятый день инкубации для штамма Н-10 кислотность среды MRS доходила до 120°Т, тогда как другие изученные штаммы характеризовались значительно высоким кислотообразованием в пределах 260-300°Т.

Кривые интенсивности роста выявляют интересные закономерности (рис.2). Максимальный титр у всех испытанных штаммов, инкубированных в течение 10 суток, наблюдается при 37°. Повышение температуры закономерно отражается на уменьшении титра бактерий, причем у штаммов Н-6, Н-11 и Н-15 выявляется постепенное уменьшение количества бактерий, а у штамма Н-10 на десятые сутки обнаруживается резкое падение титра бактерий уже при 38-39°. Наибольший титр клеток бактерий на 10-й день инкубации при 37° устанавливается при изучении динамики роста штамма Н-10. Это вызвано слабым подкислением среды в процессе роста данного штамма. Другие испытанные культуры, характеризующиеся сравнительно высоким кислотообразованием, на 10-й день инкубации характеризуются сравнительно низким титром клеток.

Полученные данные указывают на принципиальную важность температурного показателя инкубации культур бактерий для выработки продукта "Наринэ", а также срока инкубации. В производственном плане, исходя из представленных данных, при оптимальной температуре 37° срок инкубации необходимо ограничить одной неделей (включая транспортировку и хранение продукта "Наринэ").

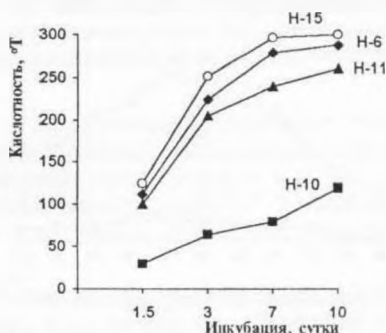


Рис. 1. Динамика кислотообразования штаммов Н-6, Н-10, Н-11 и Н-15 *L.acidophilus* ИНМИА-9602 при температуре 37°.

Инкубация и хранение продукта "Наринэ" в течение 7 дней могут обеспечить удовлетворительный титр бактерий, тогда как на 10-й день сравнительно высокие температуры 35-37° могут привести к резкому снижению числа бактерий в продукте.

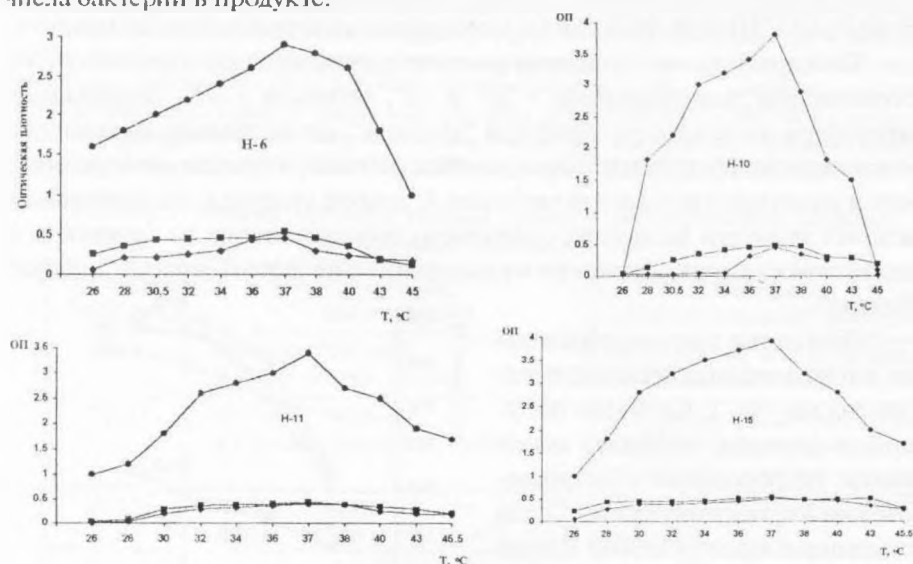


Рис. 2. Температурный профиль роста штаммов *L. acidophilus*: интенсивность роста спустя 3 дня - ◆, 7 дней - ■, 10 дней - ●.

Зависимость титра молочнокислых бактерий от температуры отражает установленные на дрожжах закономерности более высокой резистентности микроорганизмов к органическим кислотам и спиртам [6]. Таким образом, гибель клеток от высокого содержания кислот более выражена при высокой (выше 37°) температуре, чем при низкой.

При выработке продукта "Наринэ" необходимо рекомендовать более низкие температурные режимы инкубации в пределах 32-35°, что позволит обеспечить более высокую жизнеспособность клеток на фоне сравнительно высокой кислотности и одновременно позволит обеспечить более длительный период сохранения продукта с высоким титром бактерий в течение 7-10 дней.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ерзинкян Л.А. Биологические особенности некоторых рас молочнокислых бактерий. 233, Ереван, 1971; АС СССР N163573, 1964.
2. Квасников Е.И., Нестеренко О.А. Молочнокислые бактерии и пути их использования. М., 388, 1975.
3. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, Williams and Wilkins Co, Baltimore, 2, 1208-1234, 1986.
4. De Man J.C., Rogosa M., Sharpe M.E. J. Appl. Bacteriol., 23, 130, 1960.
5. Type strains of *Lactobacillus* species. A report by the taxonomic subcommittee on lactobacilli and closely related organisms. ATCC, Rockville, Maryland, USA, 89, 1968.
6. van Uden N. Adv. Microbiol. Physiol., 25, 195, 1984.

Поступила 20.III.98