**БАКТЕРІЇ РОДУ LACTOBACILLUS
У ХАРЧОВІЙ ПРОМИСЛОВОСТІ (ОГЛЯД)**

О. В. ВОЛОСЯНКО, доктор ветеринарних наук,
старший науковий співробітник

В. О. УШКАЛОВ, доктор ветеринарних наук, професор

С. А. ТЕРЕЩЕНКО, фахівець I категорії

О. В. ЖУКОВА, провідний фахівець

Л. В. МАРУЩАК, кандидат ветеринарних наук, науковий співробітник

Українська лабораторія якості і безпеки продукції АПК

Національний університет біоресурсів і природокористування України

E-mail: lybenko55@gmail.com

<https://doi.org/10.31548/dopovidi2018.06.023>

Анотація. В огляді надані дані щодо поширеного використання бактерій роду *Lactobacillus* у харчовій промисловості за умов

вирощування на спеціальних поживних середовищах.

Ключові слова: *Lactobacillus*, особливості метаболізму, поживні середовища

Продукти харчування, ферментовані лактобацилами – основні джерела цих бактерій для людини. Бактерії роду *Lactobacillus* широко застосовуються в різних галузях харчової промисловості – молоко- та м'ясопереробної, хлібопекарської, виноробної та ін.

До складу заквасок, що використовуються в хлібопекарській промисловості, входять *L. fermentum*, *L. plantarum*, *L. delbrueckii*, *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. farciminis*, *L. homohiochii*, *L. brevis*, *L. buchneri*, *L. hilgardii* і *L. sanfrancisco* [1, 2, 3]. У хлібопекарському виробництві закваски використовують для корекції хлібопекарських властивостей основної і додаткової

сировини, поліпшення якості та запобігання мікробіологічного інфікування готових виробів. Вони являють собою комбінації і асоціації штамів різних видів мікроорганізмів, можуть застосовуватися в рідкому, сухому виді, а також у формі пасти. Додавання лактобацил до традиційних заквасок на основі дріжджів покращує бродіння в тісті та аромат, подовшає термін придатності виробів і надає їм додаткову харчову цінність.

Для переробки рослинної сировини, зокрема, квашення капусти, заготовлення солоних огірків, помідорів і т. п., також використовуються лактобацили [2]. У результаті інтенсивного

молочнокислого бродіння зміст молочної кислоти у продукті підвищується до 1,5-2%. Молочна кислота є найважливішою консервуючою речовиною і обумовлює збереженість готового продукту. Додатки на основі лактобацил використовуються при виробництві широкого асортименту копчених і варено-копчених м'ясних продуктів. Використання цих мікроорганізмів у складі стартових культур дозволяє скоротити виробничий цикл за рахунок скорочення дозрівання м'язової тканини, часу ферментації, підвищує вихід готового продукту [3]. Ефективно застосовуються стартерні культури, що містять *L. plantarum*, *L. cellobiosus*, *L. reuteri* і *L. fermentum* [4, 5]. Розробляються комплексні закваски на основі таких лактобацил, як *L. pentosus* і *L. curvatus* [6].

Інший напрямок у м'ясній промисловості – застосування бактеріоціногенних лактобацил для біоконсервації готових продуктів, що зберігаються в умовах модифікованої атмосфери або під вакуумом. Для цих цілей використовують штами видів *L. plantarum*, *L. sakei* і *L. sakei subsp. carnosus* [7, 8].

Роль молочнокислих бактерій в виноробній промисловості полягає в збудженні яблучно-молочного бродіння – переходу яблучної кислоти в молочну на заключному етапі бродіння вина. Провідна роль в цьому процесі належить *Oenococcus*

oeni, а також гомо- і гетероферментативним лактобацилам: *L. kunkeei*, *L. brevis*, *L. curvatus*, *L. plantarum*, *L. frumenti*, *L. pentosus*. Яблучно-молочне бродіння є необхідним для приготування вин, що мають високу кислотність (рейнські вина, бордоскі червоні, херес та інш.). Розвиток цього виду бродіння в винах з низькою кислотністю, навпаки, призводить до псування вин і обумовлює їх пороки [9].

Найбільш активно бактерії роду *Lactobacillus* використовуються для виробництва кисломолочних продуктів. Всі кисломолочні продукти мають високу поживну цінність і легко засвоюються, в основному за рахунок того, що казеїн і жири молока піддаються дії естераз і протеолітичних ферментів молочнокислої флори і гідролізуються до пептидів, амінокислот і вільних жирних кислот. Розвиток бактерій закваски в молоці призводить до його збагачення цінними метаболітами: лактатом, біотином, ніацином, тіаміном, фолієвою кислотою, бактеріоцинами.

Виражена здатність до кислотоутворення, інтенсивного синтезу екзаполісахаридів молочнокислими кокками і деякими термофільними лактобациллами (*Lactococcus lactis*, *Lactococcus cremoris*, Str. *Thermophilus*, *L. delbrueckii subsp. Bulgaricus*)

впливає на швидкість сквашування молока, утворення щільного згустку і обумовлює технологічність цих культур. Тому ці мікроорганізми є основою або важливим компонентом заквасок для отримання різних кисломолочних продуктів [10].

У промисловій мікробіології загальноприйнятим є поділ мікроорганізмів стартерних культур за оптимальної температури зростання і, відповідно, сквашування молока: мезофільні коки (оптимальна $T +30-35^{\circ}\text{C}$), термофільні коки і лактобацили (оптимальна $T +40-45^{\circ}\text{C}$).

Мезофільні лактобацили, такі як *L. casei*, *L. rhamnosus*, найчастіше використовують як додатковий заквасочний компонент для збагачення кисломолочних напоїв і йогуртів. Мезофільні коки (*Lactococcus* spp.) використовують для виробництва сметани, сиру, кислого молока і деяких сирів. На основі термофільних лактобацил готують «Мечніковське» кисле молоко, йогурт, ацидофілін, сири з високою температурою другого нагрівання та інш. [10].

Велику частку серед кисломолочних продуктів складають продукти змішаного бродіння, представлені в основному національними продуктами – кефір, кумис, тан та інш. До складу закваски продуктів змішаного бродіння (кисломолочного і спиртового) наряду з лактобацилами

входять й інші бактерії молочнокислого бродіння (*Str. Thermophilus*, *Lactococcus* sp., *Enterococcus durans*, *Leuconostoc* sp.), дріжджі (*Saccharomyces* sp., *Dekkera* sp.a, *Kluuyveromyces* sp. та інш.) і оцтовокислі бактерії (*Acetobacter* sp.) [11, 12].

Актуальними є харчові продукти, додатково збагачені пробіотичними культурами – «біопродукти».

Першими «біопродуктами» є кисломолочні продукти «Молочний лактобактерин», «Кисломолочний біфідумбактерин» і «Біфілакт». «Молочний лактобактерин» був створений у Нижегородському ННЕМ в 1977 році. Основою препарату було стерилізоване коров'яче молоко, закваска складалася з двох штамів лактобацил – *L. fermentum* 90 ТС-4 і *L. plantarum* 8-РА-3. Була розроблена інструкція з виготовлення і методичні рекомендації щодо застосування продукту в педіатричній практиці. [12]. Продукт з високою ефективністю використовувався на території міста і області в інфекційних та соматичних дитячих стаціонарах в комплексі лікувально-реабілітаційних заходів, в організованих дитячих колективах для профілактики формування хронічної патології у дітей. «Кисломолочний біфідумбактерин» розроблений в МННЕМ ім. Г. Н. Габричевського в 1987 році

готували з стерилізованого коров'ячого молока і бактеріальної закваски, що містила штами *B. longum* 379, *B. bifidum* 1 або *B. bifidum* 791 [13,14].

Була започаткована тенденція споживання традиційних національних біопродуктів. Першим з них був біо-вівсяний продукт «VELLE», виготовлений з використанням вівса, вівсяних висівок і комплексної пробіотичної закваски, що включала штами лакто- і біфідобактерій (*B. longum* 379 і *B. bifidum* 1 або 791, *L. fermentum* 90 TC-4 і *L. plantarum* 8-RA-3).

Іншим джерелом пробіотичних лактобацил є пробіотики – лікарські препарати і БАД до їжі. Розрізняють пробіотики на основі ліофільно-висушених штамів і рідкі форми пробіотиків. За характером використаної основи виділяють рідкі продукти на основі молока («Наріне», «Трілакт») і на основі гідролізатів («Нормофлоріни», «LB-комплекс»). Кожна з форм має свої переваги і недоліки. Перевагою сухих форм є тривалий термін зберігання, що зручно для реалізації пробіотика, в тому числі і через аптечну мережу. Основними перевагами рідких форм є фізіологічна активність бактерій, що не піддавалися стресу (ліофільні висушування), збереження білків-адгезинів, цінних бактеріальних метаболітів та інш.

Методи індикації та ідентифікації бактерій роду *Lactobacillus*.

Серед методів, що застосовуються для індикації та ідентифікації лактобацил виділяють культуральні методи, тобто методи, що вимагають обов'язкового етапу виділення чистої культури мікроорганізму, і культурально незалежні методи, що дозволяють проводити дослідження, минаючи цей етап.

Культуральні методи дослідження. Для культивування бактерій роду *Lactobacillus* за класичним мікробіологічним методом використовують середовища, багаті поживними речовинами (дріжджовий екстракт, гідролізат обрата молока, пептони, Твін-80), різними солями, в тому числі ацетатом натрію та інш. і мають низький рівень рН (4,5-6,2).

Зі спеціальних поживних середовищ найбільш поширено використовують MPC (MRS) – середовище de Man, Rogosa, Sharp. Воно збагачено поживними речовинами і ростовими факторами, містить дріжджовий і м'ясний екстракти, глюкозу, пептони, ацетат натрію, цитрат амонію і Твін-80 – джерело жирних кислот, необхідних для метаболізму лактобактерій. Кислотність середовища – рН 6,2-6,4. Середовище MPC може застосовуватися як для роботи з пробіотичними лактобацилами, так і

для виділення цих мікроорганізмів з продуктів харчування і природних біотопів.

Під час виділення лактобацил із зовнішнього середовища застосовують селективні середовища: Середовище LBS – вміщує ацетат натрію і цитрат амонію, які пригнічують ріст бактерій роду *Streptococcus*, цвілевих грибів і також обмежують зростання рухливих мікроорганізмів. Оцтова кислота знижує значення рН, що перешкоджає зростанню багатьох бактерій, сприяючи зростанню лактобацил. Це середовище використовують для виділення і підрахунку лактобактерій в харчових продуктах [15].

Середовище SL, в якій присутня тріптоза або гідролізат казеїну і дріжджовий екстракт, забезпечують присутність азотистих речовин, вітамінів групи В і мікроелементів, необхідних для росту лактобактерій. Глюкоза, арабіноза і сахароза є ферментуємими вуглеводами. Твін-80 – джерело жирних кислот. За рахунок високої концентрації іонів ацетату пригнічується ріст бактерій роду *Streptococcus* і *Carnobacterium*, але деякі види родів *Leuconostoc*, *Pediococcus* і *Bifidobacterium* здатні рости на цьому середовищі. Агар SL використовують в якості селективного середовища для вирощування лактобактерій орального і фекального походження.

Середовище LS використовують для вирощування та диференціації лактобактерій і стрептококів за культуральними властивостями, відновленню ТТХ (тріфенілтетразолія хлориду) і казеїновій реакції. *Lactobacillus delbrueckii* sp. *bulgaricus* утворює червоні шорсткі (різоїдні) колонії із зоною помутніння, а *Streptococcus thermophilus* - червоні гладкі колонії із зоною просвітління.

Також для диференціації культур лактобацил і стрептококів при контролі виробництва йогурту використовують Агар Лі з бромкрезоловим пурпуровим. Стрептококи ростуть першими, утворюючи характерний вершковий аромат, обумовлений синтезом діацетіла і подібних метаболітів. Крім того, вони знижують окислювально-відновний потенціал середовища, дозволяючи розмножуватися лактобактеріям, які, в свою чергу, продукують речовини, що стимулюють ріст стрептококів. Характерною є поява різкого запаху ацетальдегіду. Карбонат кальцію, що входить до складу, разом з фосфатом калію, надають середовищу буферні властивості, перешкоджаючи різкому зниженню рН у зв'язку з утворенням молочної кислоти. Бромкрезоловий пурпурний є індикатором рН, який жовтіє в кислому середовищі і забарвлює в жовтий колір колонії стрептококів.

Для культивування гетероферментних лактобактерій і молочнокислих стрептококів, що викликають псування (позеленіння) м'яса і м'ясних продуктів, застосовують бульйон і агар АРТ (All Purpose Tween-80) з тіаміном. Це середовище придатне також для санітарно-мікробіологічного дослідження м'ясних консервів, квашеної капусти, фруктових соків і м'ясних виробів [16].

Використовують також диференційно-діагностичні середовища для ідентифікації окремих видів лактобацил, наприклад, середовище для ідентифікації *L. plantarum*. Присутність антибіотика з групи фторхінолонів пригнічує ріст сторонньої мікрофлори і індигенних лактобацил кишкового людини. При

виращуванні на цьому середовищі колонії *L. plantarum* фарбуються в яскраво жовтий колір. Після виділення і підрозування лактобацили ідентифікують до виду. Ідентифікація проводиться з використанням стандартних тест-систем API50-CH виробництва «bioMerieux», набору HiCarbohydrateTMKit «HiMedia Laboratories Pvt. Limited».

Один з варіантів газо-рідинної хроматографії також передбачає виділення чистої культури для визначення виду лактобацил. Метод заснований на вивченні профілю жирних кислот бактерій. Він передбачає використання великих баз даних, що містять відомості про склад жирних кислот декількох тисяч штамів бактерій [17].

References

1. Karapetsas A, Vavoulidis E, Galanis A, Sandaltzopoulos R, Kourkoutas Y. Rapid detection and identification of probiotic *Lactobacillus casei* ATCC 393 by multiplex PCR. *J Mol Microbiol Biotechnol*. 2010. Vol. 18. No 3. P. 156-161.
2. Matveeva, Y. V., Beliavskaia, Y. H. (2001). *Byotekhnologicheskyye osnovy pryhotovleniya khleba*. [Biotechnological basis for making bread]. M. : DeLy prynt., 150.
3. Suiuncheva, B. O., Vavreniuk, P. V., Tkacheva, M. S. (2006). *Yspolzovanye probiotikov y prebyotikov v khlebopekarnoi promyshlennosti* [The use of probiotics

and prebiotics in the baking industry]. *Sbornyk nauchnykh trudov SevKavHTU. Seryia «Prodovolstvye»*. 2, 42-47.

4. Shypulyn, V. Y., Lupandyna, N. D., Dadian, N. K., Zynovchenko, A. A. (2010). *Osnovnye napravleniya yspolzovaniya pyshchevykh preparatov, yntensyfytsyuiushchykh tekhnologicheskyykh protsessy proyzvodstva syropchenykh kolbas*. [The main directions of the use of food preparations, intensifying technological process of production of smoked sausages.] *Vestnyk SevKav HTU*, 3, 20-24.

5. Ratnykova, Y. A. (2010). *Byolohicheskyye osnovy sozdaniya*

probyotykov napravlennoho deistviya dlia medytsyny, selskoho khoziaistva y pererabatyvaiushchei promyshlennosti [Biological basis for the creation of probiotics of directional action for medicine, agriculture and processing industry] avtoref.dyss. dokt. byol. nauk. Respublyka Kazakhstan, Almaty. 43.

6. Ruiz-Moyano S., Martin A., Benito M.J., Casquete R., Serradilla M.J., Cordoba M.D. Safety and functional aspects of pre-selected lactobacilli for probiotic use in Iberian dry-fermented sausages. *Meat Sci.* 2009. No 83. P. 460-467.

7. Liu G., Griffiths M.W., Shang N., Chen S., Li P. (2010) Applicability of bacteriocinogenic *Lactobacillus pentosus* 31-1 as a novel functional starter culture or coculture for fermented sausage manufacture. *J Food Prot.* No 73 (2). P. 292-8.

8. Jones R. J., Wiklund E., Zagorec M., Tagg J. R. (2010) Evaluation of stored lamb bio-preserved using a three-strain cocktail of *Lactobacillus sakei*. *Meat Sci.* No 86 (4). P. 955-9.

9. Vermeiren L., Devlieghere F., Debevere J. (2004) Evaluation of meat born lactic acid bacteria as protective cultures for the biopreservation of cooked meat products. *Int J Food Microbiol.* No 96 (2). P. 149-64.

10. Mesas J. M., Rodriguez M. C., Alegre M. T. (2011) Characterization of lactic acid bacteria from musts and wines of three consecutive vintages of Ribeira Sacra. *Lett Appl Microbiol.* No 52 (3). P. 258-68.

11. Tamym, A.Y., Robynson, R.K. (2003). Yohurty i druhie kyslomolochnye produkty. [Yoghurts and other dairy products]. Spb: Professya. 664.

12. Lopitz-Otsoa F., Rementeria A., Elguezabal N., Garaizar J. (2006) Kefir: a symbiotic yeasts-bacteria community with alleged healthy capabilities. *Rev Iberoam Micol.* No 23 (2). P. 67-74.

13. Morales F., Morales J.I., Hernandez C.H., Hernandez-Sanchez H. (2011) Isolation and Partial Characterization of Halotolerant Lactic Acid Bacteria from Two Mexican Cheeses. *Appl Biochem Biotechnol.* No 164 (6). P. 889-905.

14. Soloveva, Y. V., Tochylina, A. H., Belova, Y. V., Novykova, N. A., Yvanova, T. P. (2014) Byolohycheskiye svoystva laktobatsyll. Perspektivy yspolzovaniya v laboratoriyakh Rospotrebnadzora ekspress-metodov amplyfikatsyy nukleynovykh kyslot (MANK) pry kontrole kachestva pyshchevykh produktov, BAD k pyshche, lekarstvennykh form, soderzhashchykh laktobatsyll [Biological properties of lactobacilli. Prospects for the use in the laboratories of Rospotrebnadzor of express methods of nucleic acid amplification (MANK) in the control of food quality, dietary supplements for food, dosage forms containing lactobacilli]. *Magazine Medial @medial, Analytical Reviews*, 2 (12), 29-44.

15. Van de Castele S., Vanheuverzwijn T., Ruysen T. et al. (2006) Evaluation of culture media for selective enumeration of probiotic strains of lactobacilli and bifidobacteria in combination with yoghurt or cheese starter. *Int Dairy J.* Vol. 16, Is.12. P. 1470-1476.

16. Botyna, S.H., Chervynets, Yu.V., Klymyna, K.M., Koroban, N.V., Chervynets, V.M., Havrylova, O.A., Lebedev, D.V., Myronov, A.Yu (2010).

Волосянко О. В., Ушкалов В. О., Терещенко С. А., Жукова О. В., Марущак Л. В.

Henetycheskaia ydentyfykatsyia antahonystychesky aktivnykh shtammov laktobatsyll, vydelennykh yz polosty rta zdorovykh liudei. [Genetic identification of antagonistically active strains of lactobacilli isolated from the oral cavity

of healthy people.] Klynnycheskaia laboratornaia dyahnostyka. 11. 43-46.

17. Liu C., Zhang Z.Y., Dong K., Yuan J.P., Guo X.K. (2009) Antibiotic resistance of probiotic strains of lactic acid bacteria isolated from marketed foods and drugs. Biomed Environ Sci. Vol. 22. No 5. P. 401-12.

БАКТЕРИИ РОДА ЛАКТОВАЦИЛЛУС В ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ (ОБЗОР)

О. В. Волосянко, В. О. Ушкалов,
С. А. Терещенко, О. В. Жукова,
Л. В. Марущак

Аннотация. В обзоре предоставлены данные по широкому распространению использования бактерий рода *Lactobacillus* в пищевой промышленности и условия выращивания на специальных питательных средах.

Ключевые слова: *Lactobacillus*, особенности метаболизма, питательные среды

BACTERIA OF THE GENUS LACTOBACILLUS IN THE FOOD INDUSTRY (REVIEW)

O. V. Volosyanko, V. O. Ushkalov,
S. A. Tereschenko, O. V. Zhukova,
L. V. Maruschak

Abstract. The review provides data on the widespread use of bacteria of the genus *Lactobacillus* in the food industry and growing conditions on special nutrient media.

Key words: *Lactobacillus*, metabolic features, nutrient media