

УДК 579.864.1:637.136.3/5

І.В. Страшнова, А.І. Матковська, О.В. Басюл

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна, тел.: +38 (0482) 68 79 64,
e-mail: fabiyanska@ukr.net

СТВОРЕННЯ І ОЦІНКА БІОТЕХНОЛОГІЧНОЇ ЦІННОСТІ КОМПОЗИЦІЙ ЛАКТОБАКТЕРІЙ

Мета. З'ясувати біотехнологічний потенціал виділених із м'ясної сировини і колекційних штамів лактобактерій та створених за їх участі композицій. **Методи.** Лактобактерії із зразків м'яса виділяли шляхом пересівів проб у знежирене молоко із наступним пересівом на MRS-агар і бульйон. Колекційні штами попередньо культивували у MRS-бульйоні з 5% вмістом глюкози. Кислотоутворення визначали за активною і титрованою кислотністю; активність зсідання молока – за тривалістю утворення згустку; антагоністичну активність до колекційних умовно-патогенних і патогенних бактерій – лунково-дифузійним методом; внутрішньородовий антагонізм – методом перпендикулярних штрихів; стійкість до NaCl і фенолу при низьких плюсових температурах – за інтенсивністю росту у MRS-бульйоні; стійкість до антибіотиків – диско-дифузійним методом. **Результати.** Із зразків м'ясної сировини виділено штами лактобактерій, котрі характеризувалися диференційними показниками активної і титрованої кислотності, швидкості зсідання молока і своєрідністю утворюваного згустку. Виділені із проб м'яса і колекційні штами лактобактерій мають варіабельну антагоністичну активність щодо тест-штамів *S. aureus*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *B. cereus*, *S. enteritidis*. Визначено стійкість штамів, лактобактерій до 5,0% і 7,0% NaCl; 0,2% і 0,4% фенолу при культивуванні та антибіотиків. На основі штамів *Lactobacillus sp. M6*, *L. delbrueckii ssp. bulgaricus 444* і *L. plantarum 991* було створено 6 варіантів композицій. Найкрайню антагоністичну активність, інтенсивність росту при 7,0% NaCl і 0,4% фенолу при 5 °C, стійкість до антибіотиків проявили композиції *Lactobacillus sp. M6*+ *L. delbrueckii ssp. bulgaricus 444* у співвідношенні 2:1 і *Lactobacillus sp. M6*+*L. plantarum 991* у такому ж співвідношенні. **Висновки.** Отримані результати свідчать про наявність у досліджених штамів лактобактерій біотехнологічних властивостей, вираженість і стабільність яких у композиціях збільшується. Найперспективнішими для промислової апробації є композиції *Lactobacillus sp. M6*+*L. delbrueckii ssp. bulgaricus 444* і *Lactobacillus sp. M6*+*L. plantarum 991* у однакових співвідношеннях 2:1.

Ключові слова: лактобактерії, біотехнологічні властивості.

Молочнокислі бактерії все частіше цілеспрямовано використовують у різних галузях харчової промисловості. З одного боку, їх можна використовувати



вати як стартові культури у технологічних процесах (формування структурно-органолептичних характеристик продуктів), з іншого – як природні консерванти вихідної сировини і готових виробів [1, 2, 11].

Незважаючи на велику кількість бактеріальних препаратів, що успішно використовуються у харчовій промисловості, триває пошук конкурентоздатних культур, на основі котрих, за умов їх детального вивчення, можуть бути створені нові закваски [9]. Добір культур здійснюють декількома шляхами, зокрема виділяють із м'ясної сировини індигенні корисні мікроорганізми, їх ідентифікують і селекціонують з метою використання як стартових культур; використовують колекційні культури тощо [8].

Метою даної роботи було дослідити біотехнологічні властивості виділених із м'ясної сировини і колекційних штамів лактобактерій та розроблених на їх основі композицій.

Матеріали і методи

Виділення лактобактерій із м'ясної сировини здійснювали шляхом 5-ти кратних пересівів проб у стерильне знежирене молоко із наступним пересівом у рідке і на щільне середовища MRS. Біологічні властивості досліджували за стандартними методиками [6]. Для активізації колекційних штамів лактобактерій попередньо проводили посіви у середовище MRS-бульйон, збагачене 5% глюкози.

Кислотоутворення штамів оцінювали за активною і титрованою кислотністю при культивуванні в стерильному знежиреному молоці. Активність зсідання молока визначали за тривалістю утворення згустку [5].

Антагоністичну активність штамів лактобактерій і їх композицій до колекційних умовно-патогенних (*Escherichia coli* УКМ В-906, *Proteus vulgaris* УКМ В-905, *Staphylococcus aureus* ОНУ-223, *Bacillus cereus* ОНУ-67) і патогенних (*Salmonella enteritidis* ОНУ-262) бактерій визначали лунково-дифузійним методом [6].

Внутрішньородовий антагонізм лактобактерій визначали методом перпендикулярних штрихів [6].

Стійкість до 5,0% і 7,0% NaCl; 0,2% і 0,4% фенолу визначали за інтенсивністю росту у MRS-бульйоні, що містив відповідний хімічний агент у зазначених концентраціях, при 5 °С і 10 °С протягом 72 год.

Стійкість до антибіотиків у терапевтичних концентраціях (бензилпеніциліну, цефаклору, тетрацикліну, стрептоміцину і левоміцетину) визначали диско-дифузійним методом [10].

Експерименти здійснювали в трьох повторах. Результати дослідження опрацьовували статистично з використанням програми "Microsoft Office Excel 2003".

Результати та їх обговорення

Оскільки м'ясо і м'ясні вироби є досить сприятливим середовищем для розвитку багатьох груп мікроорганізмів, у тому числі молочнокислих, воно може розглядатися як одне із потенційних джерел виділення лактобактерій [13].



Із 15 зразків м'ясної сировини було ізольовано 6 штамів бактерій, котрі на основі вивчення морфологічних, культуральних, тінкторіальних, фізіолого-біохімічних властивостей ідентифіковано як представники роду *Lactobacillus*. Виділеним штамам присвоєно робочі назви *Lactobacillus sp.* M1, *Lactobacillus sp.* M2, *Lactobacillus sp.* M3, *Lactobacillus sp.* M4, *Lactobacillus sp.* M5, *Lactobacillus sp.* M6.

Ізольовані штами характеризувалися різними показниками кислотоутворення, швидкістю зсідання молока і характером згустку, що утворювався (табл. 1). Отримані дані свідчать, що в залежності від штаму, тривалість зсідання молока варіювала від 4,5 до 7 годин, при цьому згустки, що утворювали 5 штамів (*Lactobacillus sp.* M1, M2, M3, M5 і M6) були щільними і однорідними, штам *Lactobacillus sp.* M4 утворював рихлий згусток з виділення сироватки. Показники титрованої кислотності варіювали від $132,5 \pm 1,6$ °Т до $145,3 \pm 1,4$ °Т, активної – від 4,68 до 4,74.

Для подальших досліджень використано свіжо ізольовані із м'яса і колекційні штами бактерій роду *Lactobacillus*.

Таблиця 1

Деякі характеристики виділених із м'ясної сировини штамів лактобактерій

Table 1

Some characteristics of lactobacilli strains isolated from raw meat

Штам	Кислотність		Тривалість зсідання молока, год	Характер згустку, що утворився
	активна, рН	титрована, °Т		
<i>Lactobacillus sp.</i> M1	4,72	$132,5 \pm 1,6$	6	щільний, однорідний
<i>Lactobacillus sp.</i> M2	4,70	$138,7 \pm 1,4$	6	щільний, однорідний
<i>Lactobacillus sp.</i> M3	4,68	$143,2 \pm 1,3$	4,5	щільний, однорідний
<i>Lactobacillus sp.</i> M4	4,74	$145,3 \pm 1,4$	7	рихлий, неоднорідний
<i>Lactobacillus sp.</i> M5	4,70	$140,4 \pm 1,7$	7	щільний, однорідний
<i>Lactobacillus sp.</i> M6	4,71	$144,1 \pm 1,1$	6	щільний, однорідний

Дослідження антагоністичних властивостей штамів лактобактерій здійснювали щодо індикаторних умовно-патогенних (*S. aureus*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *B. cereus*) і патогенних (*S. enteritidis*) бактерій, вибір яких зумовлений гігієнічними нормативами, зазначеними у державних санітарних нормах та правилах [4].



Отримані результати, наведені у табл. 2, свідчать, що виділеним із м'ясної сировини, і колекційним штамам лактобактерій притаманна антагоністична активність, що проявилось у зонах відсутності росту індикаторних бактерій.

Таблиця 2

Антагоністичні властивості штамів лактобактерій

Table 2

Antagonistic properties of lactobacilli strains

Походження штамів	Штам	Розміри зон відсутності росту індикаторного мікроорганізму, мм				
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>B. cereus</i>
Виділені із м'ясної сировини	<i>Lactobacillus sp.</i> M1	16,3±1,1	23,4±1,3	18,3±1,0	27,6±1,1	10,2±0,5
	<i>Lactobacillus sp.</i> M2	15,1±1,1	23,9±1,5	20,2±1,2	24,4±1,2	5,1±0,1
	<i>Lactobacillus sp.</i> M3	20,7±1,3	20,7±1,4	15,4±1,2	16,5±1,1	0
	<i>Lactobacillus sp.</i> M4	17,5±1,1	21,4±0,8	11,3±0,5	22,7±1,4	7,6±0,2
	<i>Lactobacillus sp.</i> M5	14,1±1,0	18,5±0,3	14,7±0,8	15,1±0,7	3,1±0,2
	<i>Lactobacillus sp.</i> M6	22,2±1,2	23,2±1,1	21,4±0,6	27,4±1,1	12,6±0,4
Колекційні	<i>L. acidophilus</i> 900	14,4±1,3	22,6±1,2	18,4±1,1	24,9±1,3	2,3±0,1
	<i>L. casei ssp. tolerans</i> 189	17,5±1,1	20,4±1,4	18,6±0,9	18,5±0,9	0
	<i>L. curvatus</i> 215	17,3±1,2	18,6±0,8	15,2±0,7	22,6±1,1	0
	<i>L. delbrueckii ssp. bulgaricus</i> 444	20,8±1,3	22,3±1,1	22,4±1,2	25,1±1,2	10,7±0,7
	<i>L. plantarum</i> 263	19,5±1,0	21,7±1,2	16,6±0,7	27,4±1,4	6,1±0,2
	<i>L. plantarum</i> 991	23,5±1,1	25,6±1,4	22,3±1,2	24,4±1,0	9,4±0,2



Суттєвих відмінностей у активності свіжевиділених і колекційних штамів молочнокислих бактерій виявлено не було. Найбільш чутливим до метаболітів досліджених лактобактерій виявився штам *S. enteritidis* (зони відсутності росту коливалися від 15,1±0,7 мм до 27,4±1,4 мм). Найстійкішим був штам *B. cereus* (штами *Lactobacillus sp.* М3, *L. casei ssp. tolerans* 189 і *L. curvatus* 215 його ріст взагалі не пригнічували, активність інших штамів була незначною), що пов'язано із природною стійкістю цієї бактерії до несприятливих факторів.

Найбільшими антагоністами до усіх індикаторних умовно-патогенних і патогенних бактерій були штами *Lactobacillus sp.* М6, *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* 444 і *L. plantarum* 991. Розміри зон затримки росту *S. aureus*, *E. coli*, *P. vulgaris* і *S. enteritidis* у присутності цих штамів молочнокислих бактерій перевищували 20 мм (рис.).

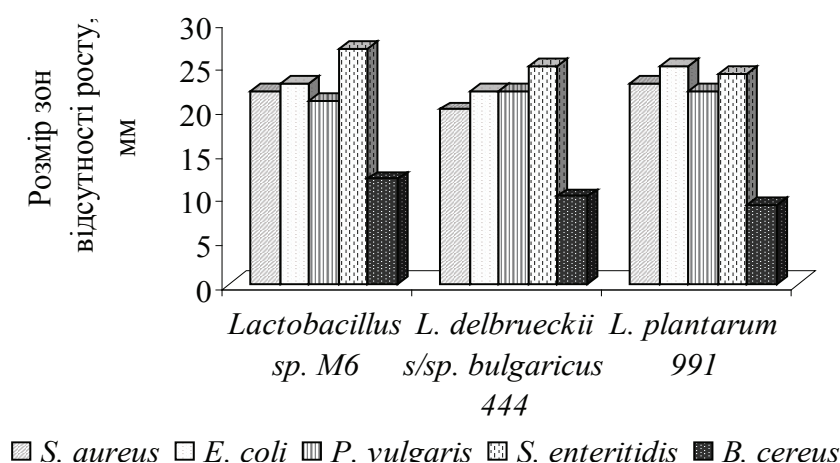


Рис. Антагоністична активність лактобактерій

Fig. Antagonistic activity of lactobacilli

Окрім антагоністичної активності при розробці препаратів для м'ясопереробної промисловості враховуються й інші ознаки молочнокислих бактерій, що характеризують їх виробничу цінність. Це стійкість до низьких плюсових температур, кухонної солі, фенолу і т.п. Відомо, що певні етапи технологічних циклів виготовлення м'ясних виробів відбуваються при низьких температурах у присутності інших чинників.

Результати експериментальних досліджень щодо спроможності лактобактерій до росту при низьких плюсових температурах у присутності NaCl і фенолу наведено у табл. 3.

Отримані дані дають підставу стверджувати, що на виживання і ріст як виділених із м'ясної сировини, так і колекційних штамів лактобактерій суттєво впливає температурний режим інкубації.

Таблиця 3

Стойкість лактобактерій до хімічних чинників при низьких плюсових температурах

Table 3

Lactobacillus resistance to chemical factors at low positive temperatures

Штам	5 °C				10 °C			
	5,0% NaCl	7,0% NaCl	0,2% фенолу	0,4% фенолу	5,0% NaCl	7,0% NaCl	0,2% фенолу	0,4% фенолу
<i>Lactobacillus sp.</i> M1	++	+	+	+	+++	+++	++	+
<i>Lactobacillus sp.</i> M2	++	-	-	-	+++	++	+	-
<i>Lactobacillus sp.</i> M3	+	+	+	-	+++	++	+	+
<i>Lactobacillus sp.</i> M4	+	-	-	-	++	++	-	-
<i>Lactobacillus sp.</i> M5	+	+	+	-	++	++	++	-
<i>Lactobacillus sp.</i> M6	+++	++	++	+	+++	+++	++	++
<i>L. acidophilus</i> 900	++	+	+	+	+++	++	+	+
<i>L. casei ssp. tolerans</i> 189	+	-	-	-	+++	+	+	-
<i>L. curvatus</i> 215	++	+	-	-	+++	++	-	-
<i>L. delbrueckii ssp. bulgaricus</i> 444	+++	++	+	+	+++	+++	++	+
<i>L. plantarum</i> 263	+++	+	+	-	+++	+++	+	+
<i>L. plantarum</i> 991	+++	++	++	+	+++	+++	++	++

Примітка: «+++» – інтенсивність росту висока, «++» – середня, «+» – низька, «-» – відсутність росту.

Note: «+++» – high growth rate, «++» – average growth rate, «+» – low growth rate, «-» – no growth.

Так, за 5 °C у MRS-бульйоні з 7,0% солі лише 3 штами (*Lactobacillus sp.* M6, *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* 444 і *L. plantarum* 991) росли з середньою інтенсивністю, ріст інших штамів або не спостерігався (як то *Lactobacillus sp.* M2, M4, *L. casei ssp. tolerans* 189), або був незначним (виявлено для *Lactobacillus sp.* M1, M3, M5, *L. acidophilus* 900, *L. curvatus* 215 і *L. plantarum* 263). У цей же час за 10 °C за такого самого вмісту солі у середовищі росли усі штами, до того ж *Lactobacillus sp.* M1, M6, *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* 444, *L. plantarum* 263 і 991 – з високою інтенсивністю.



Таблиця 4

Антибіотикорезистентність штамів лактобактерій

Table 4

Antibiotic resistance of lactobacilli strains

Антибіотик	Розмір зон затримки росту, мм											
	<i>Lactobacillus</i> sp. M1	<i>Lactobacillus</i> sp. M2	<i>Lactobacillus</i> sp. M3	<i>Lactobacillus</i> sp. M4	<i>Lactobacillus</i> sp. M5	<i>Lactobacillus</i> sp. M6	<i>L. acidophilus</i> 900	<i>L. casei</i> ssp. <i>tolerans</i> 189	<i>L. curvatus</i> 215	<i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> 444	<i>L. plantarum</i> 263	<i>L. plantarum</i> 991
Бензилпеніцилін	19,2±0,3	21,8±1,0	20,4±0,6	26,6±0,6	17,4±0,8	14,5±0,5	20,6±1,1	16,8±0,4	13,8±0,4	14,6±0,2	18,7±0,6	12,7±0,3
Цефаклор	14,8±0,7	22,5±1,1	16,9±0,5	24,7±0,9	14,6±0,6	12,3±0,4	14,7±0,8	14,2±0,5	13,8±0,4	14,5±0,4	12,1±0,3	12,4±0,2
Тетрациклін	12,6±0,5	12,5±0,5	9,5±0,3	15,7±0,4	14,7±0,5	9,1±0,1	14,4±0,4	12,5±0,3	12,1±0,2	10,8±0,2	8,7±0,3	10,3±0,3
Стрептоміцин	8,5±0,1	10,2±0,1	11,7±0,4	16,6±0,6	14,7±0,3	0	8,7±0,4	8,2±0,4	12,6±0,5	0	8,2±0,5	0
Левоміцетин	6,5±0,2	0	6,8±0,3	10,2±0,2	12,7±0,5	0	10,7±0,3	8,5±0,3	0	0	6,8±0,4	0



Досить негативно на досліджених штаммах позначилося внесення у середовище фенолу. Навіть у присутності 0,2% цього хімічного агенту ні за 5 °С, ні за 10 °С не росли штами *Lactobacillus sp.* М4 і *L. curvatus* 215. Слід зазначити, що температурний фактор посилював негативний вплив фенолу. За 5 °С виживання і ріст лактобактерій у присутності фенолу були нижчими, ніж за 10 °С. Тим не менш, виявлено штами, які росли у присутності 0,4% фенолу, що за даними науково-технічної літератури характеризує їх як високотолерантні до фенолу [12]. До того ж штами *Lactobacillus sp.* М1, М6, *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* 444 і *L. plantarum* 991 росли при зазначеній концентрації фенолу навіть за 5 °С.

За отриманими даними відзначено, що більш стійкими до фізико-хімічних факторів виявилися штами *Lactobacillus sp.* М6, *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* 444 і *L. plantarum* 991.

Враховуючи, що антибіотики, які використовують для відгодівлі, лікування і профілактики захворювань тварин, можуть накопичуватися у м'ясній сировині [4] і згодом негативно позначитися на мікробіоті заквасок, нами досліджувалася стійкість штамів лактобактерій до найбільш часто використовуваних у тваринництві антибіотиків.

Отримані результати (табл. 4) показують, що усі штами молочнокислих бактерій найбільш чутливими виявилися до бензілпеніциліну, дещо менша чутливість відзначена до цефаклору, що пояснюється природною чутливістю цих бактерій до β-лактамних антибіотиків.

Більшу стійкість лактобактерії проявили до стрептоміцину і левоміцетину. Загалом, усі досліджені штами були або резистентними, або малочутливими до використаних антибіотиків. Найбільшою стійкістю до усіх антибактеріальних препаратів характеризувалися штами *Lactobacillus sp.* М6, *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* 444 і *L. plantarum* 991, зони затримки росту яких не перевищували 14 мм.

В основному у промисловості застосовують препарати, що складаються із 2-х або більше штамів бактерій, оскільки в умовах виробництва такі препарати стабільніші, а бактерії у їх складі доповнюють або підсилюють дію один одного [1].

За результатами проведених досліджень для створення композицій відібрано штами: *Lactobacillus sp.* М6, *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* 444 і *L. plantarum* 991.

При сумісному культивуванні відібраних штамів не спостерігали взаємного пригнічення росту.

З урахуванням отриманих результатів і аналізу відповідних публікацій [1, 9, 11] відібрані бактерії поєднували в таких комбінаціях: 1 – *Lactobacillus sp.* М6+*L. delbrueckii ssp. bulgaricus* 444 у співвідношенні 1:2; 2 – *Lactobacillus sp.* М6+*L. plantarum* 991 – 1:2; 3 – *Lactobacillus sp.* М6+ *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* 444 – 2:1; 4 – *Lactobacillus sp.* М6+*L. plantarum* 991 – 2:1; 5 – *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* 444+*L. plantarum* 991 – 1:2; 6 – *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* 444+*L. plantarum* 991 – 2:1. Усього було досліджено 6 варіантів комбінацій. Визначали ті ж показники, що й при дослідженні кожного штаму окремо.



З'ясовуючи антагоністичний потенціал лактобактерій складених композицій, виявлено, що активність культур лактобактерій зросла (табл. 5).

Таблиця 5

Антагоністична активність лактобактеріальних композицій

Table 5

Antagonistic activity of lactobacilli compositions

Номер композиції	Розмір зони пригнічення росту індикаторного мікроорганізму, мм				
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. vulgaris</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>B. cereus</i>
1	25,8±1,4	25,3±1,4	24,6±1,1	30,7±1,5	15,5±1,2
2	25,6±0,9	27,4±1,4	25,2±1,2	30,3±1,2	15,7±1,4
3	27,4±1,2	32,5±1,5	24,4±1,2	31,7±1,3	15,8±1,4
4	29,1±1,1	32,6±1,3	27,3±1,3	35,4±1,2	18,2±1,1
5	26,4±1,2	27,4±1,1	27,7±1,5	29,1±1,0	13,4±1,1
6	24,7±1,3	26,3±1,0	25,3±1,4	28,2±1,2	14,4±1,2

За даними літературних джерел, до посилення антагоністичних властивостей бактерій може призводити як зростання її метаболічних (у тому числі, антимікробних субстанцій) і ростових характеристик, так і дія специфічних індукторів [3].

Найчутливішим до дії метаболітів лактобактерій в композиціях, як і у випадку окремих культур, був штам *S. enteritidis*, найстійкішим – штам *B. cereus*, однак зони відсутності росту індикаторних бактерій були більшими (табл. 2, 5). Найвищу активність до усіх індикаторних бактерій виявили композиції №3 (*Lactobacillus sp.* M6+*L. delbrueckii ssp. bulgaricus* 444 у співвідношенні 2:1) і №4 (*Lactobacillus sp.* M6+*L. plantarum* 991 також у співвідношенні 2:1).

Дослідження росту у консорціумах лактобактерій до NaCl і фенолу при 5 °C показало, що стійкість їх зросла у порівнянні з окремими штамми (табл. 6).

Усі лактобактеріальні композиції росли при максимальних значеннях NaCl (7,0%) і фенолу (0,4%) у середовищі культивування, до того ж ріст більшості з них був не меншим ніж «середньої інтенсивності», що характеризує дані композиції як гало- і фенолотолерантні і вказує на стабільність їхніх ознак



при стресових чинників [1, 12, 14]. Найстійкішими до зазначених хімічних чинників були композиції № 3 і № 4.

Таблиця 6

Стойкість композицій лактобактерій до хімічних чинників при 5 °С

Номер композиції	NaCl		фенол	
	5,0%	7,0%	0,2%	0,4%;
1	+++	++	++	++
2	+++	++	++	++
3	+++	+++	++	++
4	+++	+++	++	++
5	+++	++	++	+
6	+++	++	++	+

Примітка: «+++» – інтенсивність росту висока, «++» – середня, «+» – низька.

Note: «+++» – high growth rate, «++» – average growth rate, «+» – low growth rate.

При дослідженні антибіотикорезистентності (табл. 7), як і при дослідженні інших біотехнологічних властивостей, виявлено посилення цієї ознаки молочнокислих бактерій у композиціях. Незважаючи на те, що лактобактерії залишилися дещо чутливими до β-лактамів і тетрацикліну, однак розміри зон відсутності росту зменшилися (табл. 4, 7).

Таблиця 7

Антибіотикорезистентність лактобактеріальних композицій

Table 7

Antibiotic resistance of lactobacilli compositions

Антибіотик	Розмір зон затримки росту лактобактерій в композиціях, мм					
	1	2	3	4	5	6
Бензилпеніцилін	12,4±0,4	8,5±0,3	8,2±0,3	10,6±0,5	8,4±0,3	12,2±0,2
Цефаклор	12,5±0,5	10,8±0,4	8,2±0,4	8,6±0,7	12,1±0,2	10,7±0,5
Тетрациклін	8,2±0,1	6,4±0,4	8,7±0,3	6,6±0,4	9,2±0,2	8,3±0,3
Стрептоміцин	0	0	0	0	0	0
Левоміцетин	0	0	0	0	0	0



Виявлений факт збільшення антибіотикорезистентності у консорціумах лактобактерій в композиціях молочнокислих бактерій до низки антибіотиків є досить важливою характеристикою їх біотехнологічного потенціалу [10].

Отже, в результаті проведеними дослідженнями виявлено збільшення біотехнологічної активності лактобактерій у складі композицій. Найперспективнішими для подальшого вивчення, у тому числі у промислових умовах, є композиції *Lactobacillus sp. M6+L. delbrueckii ssp. bulgaricus 444* у співвідношенні 2:1 і *Lactobacillus sp. M6+L. plantarum 991* у такому ж співвідношенні.

I.V. Strashnova, A.I. Matkovska, O.V. Basiul

Odesa National Mechnykov University,
2, Dvoryanska str., Odesa, 65082, Ukraine, tel.:+38 (0482) 68 79 64,
e-mail: fabiyanska@ukr.net

THE CREATION AND THE ASSESSMENT OF THE BIOTECHNOLOGICAL VALUE OF THE LACTOBACILLI COMPOSITION

Summary

Aim. To determine the biotechnological potential of lactobacilli isolated from raw meat and collection strains and the compositions which were created on their bases. **Methods.** Lactobacilli isolated from the meat samples through passages in the skim milk sample, followed by passages on MRS-agar and broth. The collection strains were previously precultured in MRS-broth with 5% glucose. The acid production was determined from the active and titratable acidity, the activity of the coagulation of milk – on the duration of clot formation, the antagonistic activity to the collection opportunistic and pathogenic bacteria – the well-diffusion method, withingenus antagonism – the method of perpendicular grooves, the resistance to NaCl and phenol at low positive temperatures – on the growing rate in MRS-broth, the antibiotic resistance – the disk diffusion method. **Results.** The strains of lactic acid bacteria were isolated from the raw meat. The isolated strains are characterized by different indicators of active and titratable acidity, the coagulation rate of milk and the originality formed clot. Both isolated from meat samples, and collection strains of lactobacilli showed a variable antagonistic activity to test-strains of *S. aureus*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *B. cereus*, *S. enteritidis*. Depending on the strain lactobacilli showed the resistance (it was shown in the different growth rate), or sensitivity to 5.0% and 7.0% NaCl; 0.2% and 0.4% phenol by culturing at 5 °C and 10 °C. The investigated lactobacilli were either resistant or weakly sensitive to the antibiotics which were used. Based on strains of *Lactobacillus sp. M6*, *L. delbrueckii ssp. bulgaricus 444* and *L. plantarum 991* with more pronounced properties were created 6 variants of compositions which were determined for the same properties as the individual strains. The highest antagonistic activity, the growth rate in 7.0% NaCl and 0.4% phenol at 5 °C, the antibiotic resistance were showed by the compositions of *Lactobacillus sp. M6+L. delbrueckii ssp. bulgaricus 444* in the ratio 2:1 and *Lactobacillus sp. M6+L. plantarum 991* in the same ratio. **Conclusions.** The obtained results of the tested strains indicate the presence of lactic acid bacteria needed for the meat industry biotechnological properties, the extent and stability of which is increased in the compositions. The most promising for the industrial testing



are compositions of *Lactobacillus* sp. M6+*L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* 444 and *Lactobacillus* sp. M6+*L. plantarum* 991 in the same ratio of 2:1.

Key words: *Lactobacillus* strains and compositions, biotechnological properties, meat processing industry.

І.В. Страшнова, А.І. Матковская, Е.В. Басюл

Одесский национальный университет имени И.И. Мечникова,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина, тел.: +38 (0482) 68 79 64,
e-mail: fabiyanska@ukr.net

СОЗДАНИЕ И ОЦЕНКА БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ ЦЕННОСТИ КОМПОЗИЦИЙ ЛАКТОБАКТЕРИЙ

Реферат

Цель. Определить биотехнологический потенциал выделенных из мясного сырья и коллекционных штаммов лактобактерий и созданных на их основе композиций. **Методы.** Лактобактерии из образцов мяса выделяли путем пересевов проб в обезжиренное молоко с последующим пересевом на MRS-агар и бульон. Коллекционные штаммы предварительно культивировали в MRS-бульоне с 5% содержанием глюкозы. Кислотообразование определяли по активной и титруемой кислотности; активность свертывания молока – по продолжительности образования сгустка; антагонистическую активность к коллекционным условно-патогенным и патогенным бактериям – луночно-диффузионным методом; внутриродовой антагонизм – методом перпендикулярных штрихов; устойчивость к NaCl и фенолу при низких плюсовых температурах – по интенсивности роста в MRS-бульоне; устойчивость к антибиотикам – диско-диффузионным методом. **Результаты.** Из образцов мясного сырья выделены штаммы лактобактерий, характеризовавшиеся дифференциальными показателями активной и титруемой кислотности, скорости свертывания молока и своеобразием образуемого сгустка. Выделенные из проб мяса и коллекционные штаммы лактобактерий проявили переменную антагонистическую активность в отношении тест-штаммов *S. aureus*, *E. coli*, *P. vulgaris*, *B. cereus*, *S. enteritidis*. Определена устойчивость штаммов, лактобактерии к 5,0% и 7,0% NaCl; 0,2% и 0,4% фенола к антибиотикам. На основе штаммов *Lactobacillus* sp. M6, *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* 444 и *L. plantarum* 991 создано 6 вариантов композиций. Наибольшую антагонистическую активность, интенсивность роста при 7,0% NaCl и 0,4% фенола при 5 °C, устойчивость к антибиотикам проявили композиции *Lactobacillus* sp. M6+*L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* 444 в соотношении 2:1 и *Lactobacillus* sp. M6+*L. plantarum* 991 в таком же соотношении. **Выводы.** Полученные результаты свидетельствуют о наличии в исследуемых штаммах лактобактерий биотехнологических свойств, необходимых для пищевой отрасли, выраженность и стабильность которых в композициях увеличивается. Наиболее перспективными для промышленной апробации являются композиции *Lactobacillus* sp. M6+*L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* 444 и *Lactobacillus* sp. M6+*L. plantarum* 991 в одинаковых соотношениях 2:1.

Ключевые слова: лактобактерии, биотехнологические свойства.



СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Баль-Прилипко Л.В., Леонова Б.И. Аналитический скрининг путей применения бактериальных препаратов в производстве мясных изделий // Научный результат. – 2015. – № 3. – С. 37–44.
2. Басюл О.В., Ямборко Г.В., Іваниця В.О. Вплив складу захисних середовищ на збереження життєздатності та біотехнологічні властивості ліофілізованих бактерій *Lactobacillus plantarum* ONU 315 // Вісник ОНУ. – 2014. – Т. 19. – Вип. 1 (34). – С. 7–13.
3. Бухарин О.В., Семенов А.В., Черкасов С.В. Характеристика антагонистической активности пробиотических бактерий при их взаимодействии // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. – 2010. – 12, № 4. – С. 347–352.
4. Державні санітарні норми та правила «Медичні вимоги до якості та безпечності харчових продуктів та продовольчої сировини». – К., 2014. – 11 с.
5. Крусъ Г.Н., Шалыгина А.М., Волокитина З.В. Методы исследования молока и молочных продуктов. – М.: Колос, 2000. – 386 с.
6. Нетрусов А.И., Егорова М.А., Захарчук Л.М., Колотилова Н.Н. и др. Практикум по микробиологии: учебное пособие для студентов высших учебных заведений. – М.: Академия, 2005. – 608 с.
7. Соловьева А.А., Зинина О.В., Ребезов М.Б. и др. Актуальные биотехнологические решения в мясной промышленности // Молодой ученый. – 2013. – № 5. – С. 105–107.
8. Страшнова І.В. Пробиотичні властивості штамів лактобактерій після тривалого зберігання у ліофілізованому стані // Наукові праці ОНАХТ. – 2011. – Т. 2. – Вип. 40. – С. 180–185.
9. Ammor M.S., Mayo B. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update // Meat science – 2007. – 76 (1). – P. 138–46.
10. Charteris W.P., Kelly P.M., Morelli L., Collins J.K. Gradient diffusion antibiotic susceptibility testing of potentially probiotic lactobacilli // J. Food Prot. – 2001. – V. 64 (12). – P. 2007–14.
11. Kröckel L., Dederer I., Troeger K. Starter and Protective Cultures for Meat Products // Fleischwirtschaft. – 2011. – 91 (3). – P. 93–98.
12. Park H.S., Lee S.H., Uhm T.B. Selection of microorganisms for probiotic and their characterization // Kor. J. Food Nutr. – 1998. – V. 27. – P. 433–440.
13. Sanders M.E. Probiotics: definition, sources, selection and uses // Clin. Infect. Dis. – 2008. – 46. – P. 58–61.
14. Wedajo B. Lactic Acid Bacteria: Benefits, Selection Criteria and Probiotic Potential in Fermented Food // J. Prob. Health. – 2015. – P. 3–129.

REFERENCES

1. Bal'-Prilipko LV, Leonova BI. Analiticheskii skrinig putey primineneniya bacterialnih preparatov v proizvodstve myasnih izdeliy. Nauhniy rezultat. 2015; (3): 37–44.



2. Basiul OV, Yamborko GV, Ivanytsia VO. Vpliv skladu zahisnih seredovisch na zberezheniya zhittezdatsnosti ta biotehnologichni vlastivosti liofilizovanix bakteriy *Lactobacillus plantarum* ONU 315. Visnik ONU. 2014; 19, 1(34): 7—13.
3. Bucharin OV, Semenov AV, Cherkasov SV. Harakteristika antagonisticheskoy aktivnosti probioticheskix bakteriy pri ih vzaimodeystvii. Klin. mikrobiol. antimikrob. himioter. 2010; 12(4): 347—352.
4. Derzhavni sanitarni normi ta pravila “Medichni vimogi do yakosti ta bezpechnosti harchovih produktiv ta prodovolchoyi sirovini”. Kiyiv, 2014. 11.
5. Krus’ GN, Shaligina AM, Volokitina ZV. Metodi issledovaniya moloka i molochnih productov. Moskva: Kolos, 2000. 386.
6. Netrusov AI, Egorova MA, Zaharchuk LM, Kolotilova NN i dr. Praktikum po mikrobiologii: uchebnoe posobie dlya studentov visshich uchebniх zavedeniy. Moskva: Akademiya, 2005. 608.
7. Solov’eva AA, Zinina OV, Rebezov MB i dr. Aktualnie biotehnologicheskie resheniya v myasnoi promishlennosti. Molodoi ucheniy. 2013; 5: 105—107.
8. Strashnova IV. Probiotichni vlastivosti shtamiv laktobakteriy pislya trivalogo zberigannya u liofilizovanomu stani. Zbirnik Naukovih prats’ ONAHT. 2011; 2(40): 180—185.
9. Ammor MS, Mayo B. Selection criteria for lactic acid bacteria to be used as functional starter cultures in dry sausage production: An update. Meat science. 2007; 76(1): 138—46.
10. Charteris WP, Kelly PM, Morelli L, Collins JK. Gradient diffusion antibiotic susceptibility testing of potentially probiotic lactobacilli. J. Food Prot. 2001; 64(12): 2007—14.
11. Kröckel L, Dederer I, Troeger K. Starter and Protective Cultures for Meat Products. Fleischwirtschaft. 2011; 91(3): 93—98.
12. Park HS, Lee SH, Uhm TB. Selection of microorganisms for probiotic and their characterization. Kor. J. Food Nutr. 1998; 27: 433—440.
13. Sanders ME. Probiotics: definition, sources, selection and uses. Clin. Infect. Dis. 2008; 46: 58—61.
14. Wedajo B. Lactic Acid Bacteria: Benefits, Selection Criteria and Probiotic Potential in Fermented Food. J. Prob. Health. 2015: 3—129.

Стаття надійшла до редакції 30.05.2016 р.

