

М.Г.Саубенова, Т.В.Кузнецова, А.А.Айтжанова,
А.Е.Халымбетова, М.М.Шорманова

РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, Алматы
(E-mail: raduga.30@mail.ru)

Влияние жирности молока на противогрибковую активность молочнокислых микроорганизмов

В статье рассмотрена разработка рецептуры новых кисломолочных напитков на основе ассоциаций молочнокислых бактерий и дрожжей. Изучено влияние коровьего молока с разной степенью жирности на антагонистическую активность кисломолочных напитков.

Ключевые слова: молочнокислые бактерии, дрожжи, ассоциация, плесневые грибы, антагонистическая активность, органолептические свойства, молочный напиток.

Исследования в области биотехнологии получения новых лечебно-профилактических продуктов направленного действия в настоящее время являются одним из приоритетных направлений. Особое внимание при этом уделяется продуктам, приготовленным с использованием молочнокислых микроорганизмов, оздоравливающее влияние которых на организм человека общеизвестно. В связи с тем, что проблема необходимости противостоять постоянно растущему агрессивному воздействию микробной инфекции стоит перед подавляющим большинством населения, а также из-за недостаточной эффективности и нежелательных побочных эффектов медикаментозной терапии представляются актуальными разработка и внедрение новых продуктов питания, содержащих живые культуры молочнокислых бактерий, являющихся антагонистами различных представителей условно-патогенной и патогенной микрофлоры желудочно-кишечного тракта человека.

Известно, что в последние годы в силу нарушения экологического равновесия в составе внутренней и внешней среды человека резко возросла угроза микозов, которые, как ожидается, будут основными болезнями недалекого будущего. Однако, несмотря на достаточно полную изученность молочнокислых бактерий, выявлению среди них антагонистов условно-патогенных и патогенных грибов до последнего времени уделялось очень мало внимания. Имеющиеся сведения касаются в основном противогрибковых антагонистов из гетероферментативных молочнокислых бактерий, которые в приготовлении кисломолочных продуктов практически не используются [1–3]. В качестве исключения можно привести обнаружение молочнокислых бактерий *Lactobacillus casei ssp. paracasei* — как антагониста плесневого аскомицета рода *Penicillium*, придающего противогрибковые свойства ферментированному молочнокислому продукту, однако задачей в данном случае является предотвращение его порчи [4]. В последние годы появились работы по исследованию потенциала лактобацилл и пропионовокислых бактерий, используемых в молочной промышленности в процессах биоконсервации продуктов питания против их контаминации микромицетов [5]. Подробно изучается противогрибковая активность выделенных из окружающей среды молочнокислых бактерий, а также химическая природа продуцируемых ими антибиотических веществ [6–10]. Тем не менее оздоровительных молочнокислых продуктов, оказывающих противогрибковое воздействие на микрофлору кишечника человека, практически нет.

Ранее нами было показано, что для проявления противогрибковой активности молочнокислых микроорганизмов необходимо, чтобы в состав ассоциации входили лактозосбраживающие дрожжи [11]. Были составлены ассоциации, проявляющие высокую антагонистическую активность по отношению к плесневым грибам и дрожжам рода *Candida* [12]. Для разработки рецептур новых кисломолочных напитков, способствующих элиминированию из ЖКТ человека условно-патогенных и патогенных грибов, представляется необходимым исследование влияния условий их приготовления для сохранения искомых показателей в полученном продукте. Настоящая работа посвящена изучению влияния на лечебно-профилактические показатели кисломолочного продукта жирности используемого для его приготовления молока. Поскольку на потребительские свойства кисломолочных напитков большое влияние оказывают их органолептические показатели, они также были изучены.

Материал и методы

Для разработки рецептуры кисломолочных напитков использовали ранее составленные ассоциации молочнокислых бактерий и дрожжей, проявляющие наиболее высокую противогрибковую активность: № 10 (*Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Kluyveromyces marxianus*), 53 (*Lactobacillus delbrueckii sub sp. bulgaricus*, *Lactococcus lactis subsp. lactis*), 58 (*Lactobacillus delbrueckii sub sp. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactococcus lactis sub sp. lactis*), 60 (*Lactococcus lactis sub sp. lactis*, *Streptococcus lactis*, *Saccharomyces sp.*), КГ (*Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacterium bulgaricus*, *Saccharomyces lactis*). Для их выращивания применяли коровье молоко с жирностью 1,5 %; 2,5; 3,2; 6,0; 10,0 %, вырабатываемой по ГОСТу, с добавлением сахарного сиропа. Концентрация сахарного сиропа составила 2,5 %. Сироп добавляли в молоко перед стерилизацией, ассоциации микроорганизмов вносили в количестве 6 % от общего объема, затем выдерживали при 28–30 °С до достижения кислотности 80–90 °Т.

В работе были использованы тест-культуры мицелиальных грибов, выделенные при дисбиозах кишечника и полученные из ТОО «Нутритест»: *Penicillium lanoso-viride*, *Penicillium notatum*, *Penicillium sp. 3*, а также изолят *Penicillium sp. 1* — засоритель кисломолочных продуктов.

Антагонистическую активность ассоциаций определяли методом диффузии в агар из лунок. На питательную среду Чапека для мицелиальных грибов рассеивали тест-культуры, затем делали лунки с помощью блокореза диаметром 8 мм. В лунки вносили по 0,3 мл кисломолочных напитков и культивировали при 30 °С. Оценку антагонистической активности ассоциаций в отношении мицелиальных грибов осуществляли на 7-е сутки инкубации по диаметру стерильных зон, образующихся вокруг лунок.

Анализ органолептических показателей проведен путем дегустации.

Статистическую обработку результатов исследований проводили по стандартной методике, с использованием критерия Стьюдента для уровня значимости $p < 0,05$.

Результаты и их обсуждение

Органолептический профиль полученных кисломолочных напитков составлен из характеристик тех свойств, которые формируют его вкус и аромат, а также консистенцию. При изучении органолептических показателей кисломолочных напитков, полученных с использованием различных по составу ассоциаций молочнокислых микроорганизмов, было установлено, что они значительно различаются по структуре сгустка и вязкости, а также по вкусовым характеристикам. Оптимальная концентрация сахарного сиропа, способствующая формированию хороших органолептических показателей, составила 2,5 %. Кисломолочные напитки, приготовленные при использовании молока как 1,5 %-ной, так и 2,5 %-ной жирности, обладают высокими органолептическими показателями и отличаются приятным кисломолочным вкусом (рис. 1, 2).

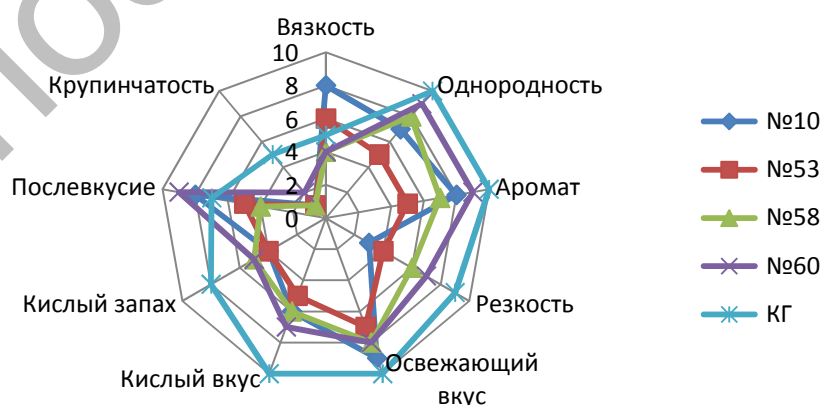


Рисунок 1. Органолептический профиль кисломолочных напитков, полученных с использованием разных ассоциаций на основе молока с 1,5 %-ной жирностью

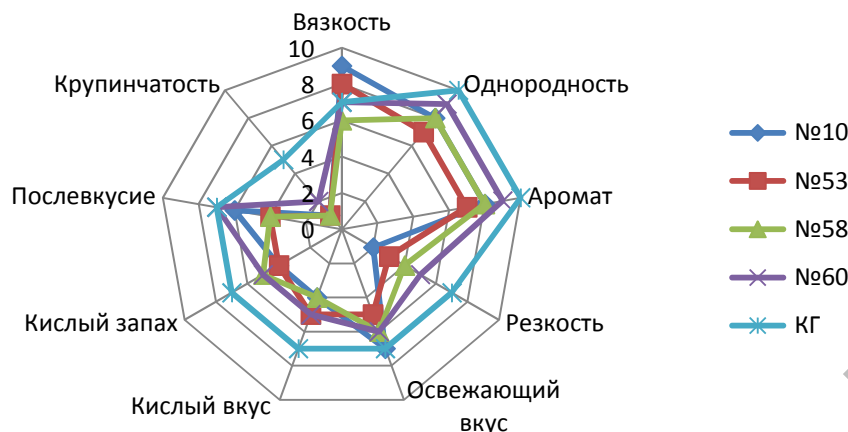


Рисунок 2. Органолептический профиль кисломолочных напитков, полученных с использованием разных ассоциаций на основе молока с 2,5 %-ной жирностью

Таким образом, органолептические свойства кисломолочных продуктов, полученных с использованием всех исследуемых ассоциаций молочнокислых микроорганизмов на молоке с жирностью 2,5 %, обладают ярко выраженными показателями, формирующими приятный вкус и аромат, а также консистенцию продукта. Напитки, приготовленные на основе молока с 3,2 %, 6,0 и 10,0 %-ной жирностью, значительно уступают им по своим органолептическим показателям, характеризуются вязкостью, приторным вкусом.

Полученные данные показали, что наиболее высокие показатели по однородности продукта, его аромату и освежающему вкусу проявляют ассоциации молочнокислых микроорганизмов КГ и № 60.

Кисломолочные напитки, приготовленные на основе молока с жирностью от 1,5 до 10 %, были протестированы далее на противогрибковую активность. Контролем служило молоко с теми же показателями жирности. Показано, что характер воздействия на условно-патогенные грибы молочнокислых микроорганизмов зависит не только от их используемой ассоциации и от тест-культуры микроорганизмов, но также и от показателя жирности молока (см. табл.).

Т а б л и ц а

Противогрибковая активность различных кисломолочных продуктов, приготовленных с использованием молока с жирностью от 1,5 % до 10,0 %

Тест-культура	Зона подавления роста, мм					
	Контроль	№ 10	№ 53	№ 58	№ 60	КГ
<i>1</i>	<i>2</i>	<i>3</i>	<i>4</i>	<i>5</i>	<i>6</i>	<i>7</i>
Жирность молока 1,5 %						
<i>C.albicans</i>	0	0	0	0	14±0,2	16±0,3
<i>C. guilliermondii</i>	0	0	0	0	13±0,1	14±0,1
<i>Penicillium sp 1.</i>	0	12±0,1	12±0,2	19±0,1	14±0,3	15±0,2
<i>Penicillium sp 3.</i>	0	14±0,2	14±0,3	12±0,2	21±0,2	16±0,1
<i>Penicillium notatum</i>	0	0	15±0,2	15±0,1	14±0,1	14±0,3
<i>Penicillium lanoso-viride</i>	0	0	0	0	16±0,4	15±0,2
Жирность молока 2,5 %						
<i>C.albicans</i>	0	0	0	0	13±0,1	15±0,2
<i>C. guilliermondii</i>	0	0	0	0	12±0,2	13±0,1
<i>Penicillium sp 1.</i>	0	11±0,2	11±0,1	17±0,1	13±0,1	14±0,2
<i>Penicillium sp 3.</i>	0	13±0,4	12±0,4	11±0,2	19±0,2	14±0,3
<i>Penicillium notatum</i>	0	0	14±0,3	14±0,1	13±0,3	12±0,1
<i>Penicillium lanoso-viride</i>	0	0	0	0	14±0,1	13±0,3

Продолжение таблицы

1	2	3	4	5	6	7
Жирность молока 3,2 %						
<i>C.albicans</i>	0	0	0	0	12±0,3	14±0,2
<i>C. guilliermondii</i>	0	0	0	0	12±0,1	12±0,3
<i>Penicillium sp 1.</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium sp 3.</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium notatum</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium lanoso-viride</i>	0	0	0	0	0	0
Жирность молока 6,0 %						
<i>C.albicans</i>	0	0	0	0	12±0,3	13±0,2
<i>C. guilliermondii</i>	0	0	0	0	11±0,2	12±0,1
<i>Penicillium sp 1.</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium sp 3.</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium notatum</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium lanoso-viride</i>	0	0	0	0	0	0
Жирность молока 10,0 %						
<i>C.albicans</i>	0	0	0	0	11±0,1	12±0,3
<i>C. guilliermondii</i>	0	0	0	0	11±0,2	12±0,1
<i>Penicillium sp 1.</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium sp 3.</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium notatum</i>	0	0	0	0	0	0
<i>Penicillium lanoso-viride</i>	0	0	0	0	0	0

Из данных таблицы видно, что у всех исследуемых ассоциаций микроорганизмов противогрибковый потенциал оказывается тем ниже, чем выше жирность молока, используемого для их выращивания. Наиболее устойчивы антагонистические свойства по отношению к дрожжам рода *Candida* у ассоциаций № 60 и КГ, причем они проявляются в достаточно высокой степени даже при 10 %-ной жирности молока, когда диаметр зоны подавления роста составляет 11–12 мм. Что касается грибов рода *Penicillium*, то антагонизм по отношению к ним наблюдается лишь при низких показателях жирности молока (1,5 и 2,5 %), а уже при 3,2 % жирности он отсутствовал вообще. При возрастании жирности молока от 1,5 до 2,5 % противогрибковый потенциал по отношению к мицелиальным грибам уменьшается. У ассоциации № 10 диаметр зон подавления роста плесневого гриба *Penicillium sp 3* при этом снижается от 12–14 мм до 11–12 мм, у ассоциации № 53 — с 15–12 мм до 14–11 мм, у ассоциации № 58 — с 12–19 мм до 11–17 мм, у ассоциации № 60 — с 21–13 мм до 19–12 мм, у ассоциации КГ — с 16–14 мм до 15–12 мм, т.е. в пределах от 8,0 до 14 %. При использовании *Penicillium sp.3* в качестве тест-культуры лучший результат, так же, как и в случае дрожжей рода *Candida*, отмечен у ассоциации № 60, когда диаметр зоны подавления его роста на молоке с 1,5 %-ной жирностью достигает 21 мм, достаточно высок он и у ассоциации КГ — 16 мм.

Антагонистический эффект по отношению к *Candida albicans* и *C. guilliermondii* проявляют только ассоциации № 60 и КГ в пределах диаметра зон подавления роста от 13 до 16 мм, с увеличением процента жирности молока противогрибковый потенциал у них уменьшается до 11–12 мм (16–25 %).

Заключение

Таким образом, на основании полученных результатов можно сделать вывод о том, что наиболее высокий эффект подавления роста как дрожжей рода *Candida*, так и плесневых грибов рода *Penicillium*, проявляется при использовании для их выращивания молока со сравнительно низкими показателями жирности (1,5 и 2,5 %). Это необходимо учитывать при производстве напитков лечебно-профилактического назначения, призванных способствовать элиминированию из кишечного тракта человека условно-патогенных и патогенных грибов. Однако в случае необходимости использования молока с более высокой жирностью применение заквасок № 60 и КГ также позволяет получить напиток с достаточно высокими показателями противогрибковой активности.

Список литературы

- 1 Патент РФ № 2412239. 20.02.2011. Ермоленко Е.И., Суворов А.Н. Штамм *Lactobacillus fermentum* Z, используемый для производства пробиотических молочнокислых продуктов.
- 2 Патент РФ № 2413761. 10.03.2011. Хусмарк У., Форсен Бруск У., Грахн Хоканссон Е., Реннквист Д. *Lactobacillus fermentum* Ess-1, DSM 17851 и его применение для лечения и/или профилактики кандидоза и инфекций мочевых путей.
- 3 Тихомирова О.М., Иванова Е.А. Противогрибковая активность микроорганизмов природной ассоциации «Тибетский рис» // Проблемы медицинской микологии. — 2011. — № 4. — С. 39–42.
- 4 Заявка РФ 2010127276/10 03.12.2008. Перрье Л., Лузинс-Пару К., Тирий И., Фюрманн Б. Применение *L.casei* ssp. *paracasei* в качестве противогрибкового средства.
- 5 Ho P.-H., Luo J.B., Adams M.C. Lactobacilli and dairy propionibacterium with potential as biopreservatives against food fungi and yeast contamination // Прикладная биохимия и микробиология. — 2009. — Т. 45, № 4. — С. 460–464.
- 6 Magnusson J., Schnürer J. Lactobacillus coryniformis subsp. coriniformis strain Si3 produces a broad-spectrum proteinaceous antifungal compound // Appl. Environ. Microbiol. — 2001. — Vol. 67. — P. 1–5.
- 7 Magnusson J., Ström K., Roos St., Sjögren J., Schnürer J. Broad and complex antifungal activity among environmental isolates of lactic acid bacteria // FEMS Microbiology Letters. — 2003. — Vol. 219, Iss. 1. — P. 129–135.
- 8 Ström K., Schnürer J., Petter M. Co-cultivation of antifungal *Lactobacillus plantarum* MiLAB 393 and *Aspergillus nidulans*, evaluation of effects on fungal growth and protein expression // FEMS Microbiology Letters. — 2005. — Vol. 246, Iss. 1. — P. 119–124.
- 9 Lavermicocca P., Valerio F., Evidente A., Lazzaroni S., Corsetti A., Gobetti M. Purification and characterization of novel antifungal compounds from the sourdough *Lactobacillus plantarum* strain 21B // Appl. Environ. Microbiol. — 2000. — Vol. 66. — P. 4084–4090.
- 10 Ström K., Sjögren J., Broberg A., Schnürer J. Lactobacillus plantarum MiLAB 393 produces the antifungal cyclic dipeptides cyclo and phenyllacid // Appl. Environ. Microbiol. — 2002. — Vol. 68. — P. 4322–4327.
- 11 Саубенова М.Г., Пузыревская О.М. Молочнокислые бактерии — антагонисты дрожжей рода *Candida* // Биологически активные добавки к пище и функциональные продукты питания — искоренение микронутриентной недостаточности: Междунар. науч.-практ. конф. — Алматы, 2005. — С. 212–215.
- 12 Саубенова М.Г., Олейникова Е.А., Саданов А.К. Противогрибковый потенциал молочнокислых микроорганизмов. Lambert academic publishing. г. Саарбрюккен, Германия, 2014. — 103 с.

М.Г.Саубенова, Т.В.Кузнецова, А.А.Айтжанова,
А.Е.Халымбетова, М.М.Шорманова

Сүтқышқылды микроорганизмдерінің саңырауқұлаққа қарсы белсенділігіне сүт майлылығының әсері

Мақалада сүтқышқылды бактериялары мен ашытқылардың ассоциациясының негізінде жана сүтқышқылды сусын дайындаудың рецептурасы қарастырылған. Жасау барысында сүтқышқылды сусындардың антагонистік белсенділігіне майлылығы түрлі дәрежедегі сиыр сүтінің әсері зерттелді.

M.G.Saubenova, T.V.Kuznetsova, A.A.Aitzhanova,
A.E.Khalymbetova, M.M.Shormanova

Influence milk fat on the antifungal activity of lactic acid microorganisms

The article deals with the development of new formulations fermented drinks based on the association of lactic acid bacteria and yeast. In developing the study the effect of cow's milk, with varying degrees of fat content on the antagonistic activity of fermented drinks.

References

- 1 RF Patent № 2412239. 20.02.2011. Ermolenko E.I., Suvorov A.N. *The strain Lactobacillus fermentum Z, used for the production of probiotic fermented milk products.*
- 2 RF Patent № 2413761. 10.03.2011. Husmark W., Forsgen Brusco Y., Grahn Håkansson E., Rennkvist D. *Lactobacillus fermentum* Ess-1, DSM 17851, and its use for the treatment and/or prevention of candidiasis and urinary tract infections.
- 3 Tikhomirov O.M., Ivanova E.A. *Problems of Medical Mycology*, 2011, 4, p. 39–42.
- 4 Application of RF 2010127276/10 03.12.2008. Perrier L., Luzins-Pary K. Tiriyi I., Fyurmann B. *Application L. casei* ssp. *paracasei* as an antifungal agent.

- 5 Ho P.-H., Luo J.B., Adams M.C. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2009, 45, 4, p. 460–464.
- 6 Magnusson J., Schnürer J. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2001, 67, p. 1–5.
- 7 Magnusson J., Ström K., Roos St., Sjögren J., Schnürer J. *FEMS Microbiology Letters*, 2003, 219, 1, p. 129–135.
- 8 Ström K., Schnürer J., Petter M. *FEMS Microbiology Letters*, 2005, 246, 1, p. 119–124.
- 9 Lavermicocca P., Valerio F., Evidente A., Lazzaroni S., Corsetti A., Gobetti M. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2000, 66, p. 4084–4090.
- 10 Ström K., Sjögren J., Broberg A., Schnürer J. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2002, 68, p. 4322–4327.
- 11 Saubenova M.G., Puzyrevskaya O.M. *Biologically active food supplements and functional foods — the eradication of micro-nutrient nedostatochnosti*, Int. Sci. and Pract. Conf., Almaty, 2005, — p. 212–215.
- 12 Saubenova M.G., Oleinikova E.A., Sadanov A.K. *Antifungal potential of lactic acid microorganisms*. Lambert academic publishing. Germany: Saarbrücken, 2014, 103 p.

Репозиторий КАРГУ