



Научная статья
4.3.3 – Пищевые системы (технические науки)
УДК 637.1

doi: 10.25712/ASTU.2072-8921.2023.04.003



ВЫДЕЛЕНИЕ ЛАКТОКОККОВ, ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ МОЛОЧНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

Роман Викторович Дорофеев ¹, Татьяна Николаевна Кузнецова ²,
Екатерина Федоровна Отт ³, Ирина Андреевна Функ ⁴

^{1, 2, 3, 4} ФГБНУ «Федеральный Алтайский научный центр агробиотехнологий», Барнаул, Россия

¹ romandorof@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1627-0454>

² orlova_tn_92@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9120-4652>

³ sibniis.microlab22@mail.ru, [https:// https://orcid.org/0009-0001-6146-164X](https://orcid.org/0009-0001-6146-164X)

⁴ funk.irishka@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0005-3540-3840>

Аннотация. Объектом исследования являются вновь выделенные штаммы лактококков. Цель работы – пополнение коллекционного фонда «Сибирской коллекции микроорганизмов» (СКМ) лактококками с технологически ценными свойствами.

В работе применяли общепринятые методы микробиологического и биохимического анализа. Изучены основные морфолого-культуральные, физиолого-биохимические и технологически ценные свойства лактобактерий, выделенных в 2016–2022 гг. из естественных источников (молоко-сырьё коровье, козье), на 166 штаммов лактококков составлены паспорта. В паспорт штамма включены наименование, номер, способ получения, метод идентификации штамма, морфолого-культуральные, физиолого-биохимические и технологические свойства, область применения и депозитор. В 2022 г. была разработана бактериальная закваска для производства ферментированных молочных продуктов (ТУ 10.89.19-099-71220805-2022), включающая штаммы мезофильных лактококков, выделенных в течение 2019 г., и пробиотические микроорганизмы из коллекции СКМ – *Lb. acidophilus*, *Lb. plantarum*, *B. adolescentis*. Новая бактериальная закваска включает в себя 6 заквасочных вариантов для производства различных ферментированных молочных продуктов: сыра, творога, сметаны, кисломолочных напитков и пробиотических продуктов. Вариант закваски БЗ-Lactis PI был апробирован при выработке сыра. Готовый сыр «Пладоленс» по органолептическим показателям был оценен на 97 баллов, вкус и запах полутвердого сыра – выраженный сырный, слегка кисловатый, консистенция теста эластичная слегка плотная, рисунок на разрезе сыра по всей массе неравномерный, неправильной щелевидной формы, цвет теста желтый. Таким образом, выделение перспективных штаммов лактобактерий с технологически ценными свойствами и создание новых бактериальных препаратов для молочной промышленности будет способствовать решению проблемы заквасочного дела, сложившейся в России.

Ключевые слова: молочнокислые бактерии, лактококки, *Lactococcus* spp., коллекция микроорганизмов, паспорта штаммов, бактериальные закваски, вариант бактериальной закваски, ферментированные молочные продукты, молочнокислое брожение, сыр.

Для цитирования: Выделение лактококков, перспективных для молочной промышленности / Р. В. Дорофеев [и др.] // Ползуновский вестник. 2023. № 4, С. 24–28. doi: 10.25712/ASTU.2072-8921.2023.04.003. EDN: <https://elibrary.ru/BSYIGI>.

Original article

ISOLATION OF LACTOCOCCI PROMISING FOR DAIRY INDUSTRY

Roman V. Dorofeev¹, Tatiana N. Kuznetsova², Ekaterina F. Ott³, Irina A. Funk⁴

^{1, 2, 3, 4} Federal State Budgetary National Scientific Institution "Federal Altai Scientific Center of Agrobiotechnologies", Barnaul, Russia

¹ romandorof@yandex.ru, <https://orcid.org/0000-0003-1627-0454>

² orlova_tn_92@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0002-9120-4652>

³ sibniis.nicolab22@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0001-6146-164X>

⁴ funk.irishka@mail.ru, <https://orcid.org/0009-0005-3540-3840>

Abstract. *The object of the study is newly isolated strains of lactococci. The purpose of the work is to replenish the collection fund of the "Siberian Collection of Microorganisms" (SCM) with lactococci with technologically valuable properties. Generally accepted methods of microbiological and biochemical analysis were used in the work. The main morphological-cultural, physiological-biochemical and technologically valuable properties of lactobacilli isolated in 2016-2022 from natural sources (raw cow's milk, goat's milk) have been studied, passports have been compiled for 166 strains of lactococci. The strain passport includes the name, number, method of preparation, method of strain identification, morphological-cultural, physiological-biochemical and technological properties, scope of application and depositor. In 2022 a bacterial starter culture has been developed for the production of fermented dairy products (TU 10.89.19-099-71220805-2022), including strains of mesophilic lactococci isolated during 2019, and probiotic microorganisms from the collection of SCM - *Lb. acidophilus*, *Lb. plantarum*, *B. adolescentis*. The new bacterial starter culture includes 6 variant for the production of various fermented dairy products: cheese, curd, sour cream, fermented milk drinks and probiotic products. A variant of the starter culture BZ-Lactis PI was tested in the production of cheese. The finished cheese "Pladolens" according to organoleptic indicators was rated at 97 points, the taste and smell of semi-hard cheese is pronounced cheesy, slightly sour, the consistency of the dough is elastic slightly dense, the pattern on the cheese section throughout the mass is uneven, irregular slit-shaped, the color of the dough is yellow. Thus, the isolation of promising strains of lactococci with technologically valuable properties and the creation of new bacterial preparations for the dairy industry will contribute to solving the problem of starter culture that has developed in Russia.*

Keywords: *lactic acid bacteria, lactococci, lactococcus spp., collection of microorganisms, strain passports, bacterial starter cultures, variant of bacterial starter culture, fermented dairy products, lactic acid fermentation, cheese.*

For citation: Dorofeev, R. V., Kuznetsova, T. N., Ott, E. F. & Funk, I. A. (2023). Isolation of lactococci promising for dairy industry. *Polzunovskiy vestnik*, (4), 24-28. (In Russ.). doi: 10.25712/ASTU.2072-8921.2023.04.003. EDN: <https://elibrary.ru/BSYIGI>.

Указом Президента Российской Федерации № 20 от 21 января 2020 г. утверждена «Доктрина продовольственной безопасности Российской Федерации» на период 2020–2030 гг. В соответствии с доктриной одним из основных положений стратегии является обеспечение населения страны качественными и безопасными продуктами питания [1].

Среди большого разнообразия продуктов питания растительного и животного происхождения одно из главных мест занимает молоко и молочная продукция.

В настоящее время в России выпускается большой ассортимент ферментированных молочных продуктов, таких как кисломолочные напитки, творог, масло, сыр, а также

продукты, содержащие пробиотические микроорганизмы.

Необходимым элементом при производстве ферментированных молочных продуктов являются бактериальные закваски, включающие полезную микрофлору *Lactococcus spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Propionibacterium spp.* Заквасочные микроорганизмы принимают участие в микробиологических, физико-химических процессах и оказывают влияние на органолептические показатели и безопасность молочных продуктов. Поступая в организм человека, ферментированные молочные продукты способствуют регуляции обменных процессов, нормализации и улучшению функций организма.

Штаммы микроорганизмов, входящие в состав бактериальных заквасок, должны активно сбраживать углеводы, обладать протеолитической и липолитической активностью, не вызывать пороков ферментированных молочных продуктов, кроме того, создавать условия для сдерживания и подавления развития технически вредных микроорганизмов. Активность бактериальной закваски – залог получения качественного молочного продукта.

Значительный объем (более 90 %) бактериальных заквасок, используемых в молочной промышленности, поступал в Россию от зарубежных производителей, таких как Chr. Hansen (Дания), Danisco (Дания), SACCО (Италия), CSK food enrichment (Нидерланды), «Лактина» (Болгария) и др., однако в настоящее время их систематическая поставка нарушилась из-за санкционного давления США и Европейского союза [2, 3].

Ученые-микробиологи вместе со специалистами биофабрик обеспокоены проблемой, связанной с производством бактериальных заквасок в России, и поднимают вопросы, связанные с их импортозамещением. В первую очередь, необходимо строительство новых биофабрик, отвечающих современным требованиям, и проведение реконструкции действующих предприятий. Это даст возможность насытить рынок России и обеспечить предприятия молочной промышленности отечественными бактериальными заквасками [4].

Современные биофабрики, производящие бактериальные закваски и препараты для молочной промышленности, должны иметь коллекцию микроорганизмов, включающую банк штаммов полезной микрофлоры. Коллекционный фонд полезных микроорганизмов должен постоянно пополняться новыми производственно ценными штаммами, для этого необходимо постоянно проводить исследовательскую работу по выделению, идентификации молочнокислых бактерий, изучению их основных технологически ценных свойств, а также подбору бактериальных композиций для включения в состав бактериальной закваски.

Лаборатория микробиологии молока и молочных продуктов (отдел «Сибирский НИИ сыроделия» ФГБНУ ФАНЦА) является депозитором «Сибирской коллекция микроорганизмов» (СКМ). «Сибирская коллекция микроорганизмов» (СКМ) была создана несколькими поколениями ученых-микробиологов нашего института. Коллекция СКМ содержит штаммы полезных микроорганизмов: *Lactococcus spp.*, *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.*, *Propionibacterium spp.* Большинство

штаммов СКМ получены путем естественной селекции из природных источников Алтайского края. Эта коллекция является крупным отраслевым фондом полезной микрофлоры и селекционным материалом для разработки новых бактериальных препаратов.

При производстве ферментированных молочных продуктов лактококки составляют основу большинства бактериальных заквасок, принимающих участие в микробиологических процессах.

Начиная с 2016 и по 2022 гг. лаборатория микробиологии занималась селекцией мезофильных лактококков *Lactococcus spp.* Источником выделения лактококков служило молоко натуральное коровье сырое и молоко козье сырое, а также самоквасные продукты (Алтайский край, Республика Алтай, РФ). По результатам исследований отобрано 166 перспективных штаммов лактококков, которые были протестированы по морфолого-культуральным, физиолого-биохимическим и технологически ценным свойствам. Тест-свойства 166 штаммов позволили констатировать, что выделенные лактококки можно предварительно отнести к роду *Lactococcus spp.* [5, 6, 7, 8].

На 166 выделенных лактококков оформлены паспорта. В паспорт штамма включены наименование, номер штамма, способ получения, метод идентификации штамма, морфолого-культуральные, физиолого-биохимические и технологические свойства, область применения штамма и депозитор. Вновь выделенные 166 штаммов мезофильных лактококков были включены в коллекцию СКМ, которые поддерживаются перевивками на стерильном обезжиренном молоке один раз в 20–25 дней.

В соответствии с современными научными представлениями, для уточнения систематического положения, выделенные молочнокислые бактерии должны пройти генетический анализ, чтобы получить их видовую и, тем более, штаммовую таксономическую принадлежность [9, 10].

В Национальном Биоресурсном Центре Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (БРЦ ВКПМ) НИЦ Курчатовский институт – ГосНИИГенетика (г. Москва) в 2021–2022 гг. на ряд штаммов из коллекции СКМ лаборатории микробиологии отдела СибНИИС ФГБНУ ФАНЦА были получены результаты генетической идентификации.

Проведение селекции молочнокислых микроорганизмов и пополнение коллекции СКМ региональными производственно ценными штаммами является стратегической линией в работе лаборатории микробиологии

ВЫДЕЛЕНИЕ ЛАКТОКОККОВ, ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ МОЛОЧНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

при разработке новых бактериальных заквасок для молочной промышленности.

В 2022 г. разработана бактериальная закваска для производства ферментированных молочных продуктов (ТУ 10.89.19-099-71220805-2022), включающая штаммы мезофильных лактококков, выделенных в течение 2019–2021 гг., и пробиотические микроорганизмы из коллекции СКМ – *Lb. acidophilus*, *Lb. plantarum*, *B. adolescentis*.

Штаммовый состав композиций бактериальной закваски был составлен по результатам исследований на биосовместимость штаммов, по образованию молочной кислоты, углекислоты, ароматических веществ (диацетил, ацетоин), консистенции сгустка, вкуса, аромата и антагонистической активности по отношению к технически вредной и патогенной микрофлоре. Новая бактериальная за-

кваска включает в себя 6 заквасочных вариантов для производства различных ферментированных молочных продуктов: сыра, творога, сметаны, кисломолочных напитков и пробиотических продуктов.

Выделенные лактококки *Lac. lactis*: штаммы 14¹⁹, 20¹⁹, 21¹⁹; *Lac diacetylactis* штаммы 1¹⁹, 4¹⁹, 11¹⁹ и *Lac. cremoris*, *Lb. plantarum* из коллекции СКМ, вошли в состав новой бактериальной закваски вариант БЗ-Lactis PI.

Бактериальная закваска вариант БЗ-Lactis PI была апробирована в производственных условиях при выработке полутвердого сыра «Пладоленс». Выработка сыра проводилась согласно технологической инструкции, прописанной в ТУ 10.51.40-084-00419710-2017.

Показатели готовой закваски БЗ-Lactis PI представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Показатели бактериальной закваски БЗ-Lactis PI

Table 1 – Indicators of bacterial starter culture BZ-Lactis PI

Закваска	Показатель					
	<i>Lactococcus</i> spp, КОЕ/см ³	<i>Lactobacillus plantarum</i> , КОЕ/см ³	Органолептика	Титруемая кислотность, °Т	Газообразующая активность, см	Ароматобразующая активность, балл
БЗ-Lactis	1,0x10 ⁹	1,0x10 ⁸	Сгусток ровный, плотный, вкус чистый кисломолочный	102	2,8	4

Выделенные лактококки, входящие в состав бактериальной закваски БЗ-Lactis PI, активно принимали участие в процессе созревания сыра. Количество лактококков после 20 суток созревания находилось на уровне 1,0x10⁹ КОЕ/г, и за счет активного молочнокислого брожения содержание лактозы уменьшилось до 0,27 %. После 30 суток созревания количество лактококков в сыре снизилось до уровня 1,0x10⁸ КОЕ/г, *Lb. plantarum* – 1,0x10⁶ КОЕ/г. *Lb. plantarum*, входящая в состав данного варианта закваски, выполняла защитную функцию и подавляла рост технически вредной микрофлоры. После 20 суток количество БГКП стало уменьшаться за счет активного развития лактококков, к концу срока созревания сыра кишечная палочка отсутствовала.

Готовый сыр «Пладоленс» по органолептическим показателям был оценен на 97 баллов, вкус и запах полутвердого сыра – выраженный сырный, слегка кисловатый, консистенция теста эластичная, слегка плотная, рисунок на разрезе сыра по всей массе неравномерный, неправильной щелевидной формы, цвет теста желтый (согласно ТУ 10.51.40-084-00419710-2017).

Вариант бактериальной закваски БЗ-Lactis PI соответствовал требованиям ГОСТ 34372-2017 «Закваски бактериальные для производства молочной продукции».

Таким образом, выделение перспективных штаммов лактобактерий с технологически ценными свойствами и создание новых бактериальных препаратов для молочной промышленности будет способствовать решению проблемы заквасочного дела, сложившейся в РФ. Использование новых региональных штаммов молочнокислых бактерий при производстве ферментированных молочных продуктов с включением пробиотических культур (бифидобактерии, пропионовокислые бактерии) позволит расширить ассортимент и получить качественные ферментированные молочные продукты.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Указ президента РФ «Об утверждении доктрины продовольственной безопасности Российской Федерации от 21.01.2020 № 20. Режим доступа : <http://www.kremlin.ru/acts/bank/45106>.

2. Сорокина Н.П. О проблемах в заквасочном деле // Молочная промышленность. 2022. № 4. С 7–10.

3. Мусина О.Н., Орлова Т.Н., Отт Е.Ф. Возможна ли продовольственная независимость в молочной отрасли при использовании заквасок прямого внесения? // Переработка молока. 2022. № 4. С. 12–15.

4. Сорокина Н.П. К вопросу о сложной ситуации в отечественном заквасочном деле / Н.П. Сорокина // Переработка молока. № 4 (270). 2022. С. 6–7.

5. Банникова Л.А. Селекция молочнокислых бактерий и их применение в молочной промышленности. Москва : Пищевая промышленность, 1975. 255 с.

6. Bergey's manual of systematic bacteriology. The Firmicutes. Second edition. Volume 3. Springer Science+Business Media, LLC, 233 Spring Street, New York, NY 10013, USA, 2009. 1422 p. ISBN: 978-0-387-95041-9.

7. МР 2.3.2.2327-08. Методические рекомендации по организации производственного микробиологического контроля на предприятиях молочной промышленности (с атласом значимых микроорганизмов). Углич : ГНУ ВНИИМС, 2008. 243 с.

8. Гудков А.В. Сыроделие: технологические, биологические и физико-химические аспекты. 2-е изд., испр. и доп. Москва : ДеЛи принт, 2003. 800 с.

9. Разработка заквасок для кисломолочных продуктов / Семенихина В.Ф. [и др.] // Молочная промышленность. № 11. 2013. С. 30–31.

10. Шевелева С.А., Быкова И.Б., Черкашин А.В. Усовершенствование лабораторного контроля технологических микроорганизмов // Переработка молока. № 3 (161). 2013. С. 12–16.

3. Musina, O.N., Orlova, T.N., Ott, E.F. (2022). Is food independence possible in the dairy industry when using direct application starter cultures? Milk processing. (4). 12-15. (In Russ.).

4. Sorokina, N.P. (2022). On the issue of the difficult situation in the domestic starter business / N.P. Sorokina. Milk processing. (4). 6-7. (In Russ.).

5. Bannikova, L.A. (1975). Selection of lactic acid bacteria and their application in the dairy industry. Moscow : Food industry. (In Russ.).

6. Bergey's manual of systematic bacteriology. The Firmicutes. Second edition. Volume 3. Springer Science+Business Media, LLC, 233 Spring Street, New York, NY 10013, USA. ISBN: 978-0-387-95041-9.

7. МР 2.3.2.2327-08. Methodological recommendations on the organization of industrial microbiological control at dairy enterprises (with an atlas of significant microorganisms). Uglich : SSI ARRIMC, 2008. 243 p. (In Russ.).

8. Gudkov, A.V. (2003). Cheese-making: technological, biological and physico-chemical aspects 2nd ed., corr. and suppl. Moscow : DeLi Print. (In Russ.).

9. Semenikhina, V.F., Rozhkova I.V., Sumptuous, T.A., Abramova, A.A. (2013). Development of starter cultures for fermented milk products. Dairy industry. (11). 30-31. (In Russ.).

10. Sheveleva, S.A., Bykova, I.B., Cherkashin, A.V. (2013). Improvement of laboratory control of technological microorganisms. Milk processing. (3). 12-16. (In Russ.).

Информация об авторах

Р. В. Дорофеев – кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник лаборатории микробиологии молока и молочных продуктов отдела СибНИИС ФГБНУ ФАНЦА.

Т. Н. Кузнецова – кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник лаборатории микробиологии молока и молочных продуктов отдела СибНИИС ФГБНУ ФАНЦА.

Е. Ф. Отт – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологии молока и молочных продуктов отдела СибНИИС ФГБНУ ФАНЦА.

И. А. Функ – кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник лаборатории прикладной биотехнологии отдела СибНИИС ФГБНУ ФАНЦА.

Information about the authors

R. V. Dorofeev - Candidate of Agricultural Sciences, Senior researcher at the Laboratory of Microbiology of Milk and Dairy Products of the Siberian Scientific Research Institute of Cheese-Making of the Federal State Budgetary Scientific Institution Federal Altai Scientific Center of Agrobiotechnologies.

T. N. Kuznetsova - Candidate of Agricultural Sciences, Senior researcher at the Laboratory of Microbiology of Milk and Dairy Products of the Siberian Scientific Research Institute of Cheese-Making of the Federal State Budgetary Scientific Institution Federal Altai Scientific Center of Agrobiotechnologies.

E. F. Ott - Candidate of Biological Sciences, a leading researcher at the Laboratory of Microbiology of Milk and Dairy Products of the Siberian Scientific Research Institute of Cheese-Making of the Federal State Budgetary Scientific Institution Federal Altai Scientific Center of Agrobiotechnologies.

I. A. Funk - Candidate of Agricultural Sciences, Senior researcher at the Laboratory of Microbiology of Milk and Dairy Products of the Siberian Scientific Research Institute of Cheese-Making of the Federal State Budgetary Scientific Institution Federal Altai Scientific Center of Agrobiotechnologies.

REFERENCES

1. Decree of the President of the Russian Federation "On the approval of the Food Security Doctrine of the Russian Federation dated 21.01.2020 No. 20. Access mode: <http://www.kremlin.ru/acts/bank/45106> (In Russ.).

2. Sorokina, N.P. (2022). About problems in the starter business. Dairy industry. (4). 7-10. (In Russ.).

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

The authors declare that there is no conflict of interest.

Статья поступила в редакцию 19 мая 2023; одобрена после рецензирования 18 сентября 2023; принята к публикации 20 ноября 2023.

The article was received by the editorial board on 19 May 2023; approved after editing on 18 Sep 2023; accepted for publication on 20 Nov 2023.