

АНТАГОНИСТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ ГЕТЕРОФЕРМЕНТАТИВНЫХ ЛАКТОБАЦИЛЛ, ПЕРСПЕКТИВНЫХ ДЛЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ В СОСТАВЕ ЗАКВАСОК ДЛЯ ХЛЕБОПЕЧЕНИЯ

И.А. Найденко, В.В. Денисенко, М.Е. Сафонова

Институт микробиологии НАН Беларуси, Минск, naidenko@mbio.bas-net.by

Лактобациллы – представители одной из наиболее значимых по численности видов, широте распространения в природе и возможности практического применения группы молочнокислых бактерий.

Способность накапливать большое количество органических кислот, преимущественно молочной, быстро снижать рН и подавлять развитие нежелательной микрофлоры является основой широкого практического использования молочнокислых бактерий в разных отраслях: в молочной, рыбной, мясной промышленности, хлебопечении, для биологического консервирования овощей и фруктов, силосования растительного сырья, как основа препаратов про- и пребиотического действия, для медицины и ветеринарии и др.

Использование в составе заквасок для хлебопечения является одним из направлений традиционного применения молочнокислых бактерий. На протяжении многих веков для разрыхления хлебного теста применялись порции теста предыдущего замеса, а также осадки, образуемые при приготовлении вина, пива, кваса [1, 2]. Начатые во второй половине XIX в. исследования микробиологических процессов брожения хлебного теста позволили установить ведущую роль молочнокислых бактерий и дрожжей в этом процессе, наладить промышленный выпуск и использование пекарских дрожжей, послужили основой для совершенствования промышленных технологий.

В последнее время, несмотря на развитие ускоренных технологий хлебопечения, технологических усовершенствований, которые в некоторых случаях устраняют необходимость в закваске, интерес к традиции приготовления хлеба с использованием заквасочной микрофлоры в качестве источника вкусовых, питательных и укрепляющих здоровье компонентов во всем мире возрастает [3–5].

Численность молочнокислых бактерий в хлебных заквасках (обычно 10^8 КОЕ/г или выше) по меньшей мере в десять раз превышает количество дрожжей (обычно 10^7 КОЕ/г или ниже). Считается, что в первую очередь присутствие молочнокислых бактерий определяет многочисленные функциональные преимущества закваски, в том числе повышение биодоступности минералов, обогащение пищевыми волокнами, снижение гликемического индекса и содержания антипитательных факторов, улучшение усвояемости белка и др. [4–6].

Многочисленные сведения о видовом составе микробиоты разных хлебных заквасок обобщены в ряде обзорных статей и свидетельствуют о том, что доминирующими организмами в сложной заквасочной экосистеме являются гетероферментативные молочнокислые бактерии, которые синергически сосуществуют с дрожжами. К настоящему времени из разных микробиоценозов хлебных заквасок выделено более 90 видов гетеро- (преимущественно) и гомоферментативных лактобацилл, относящихся к представителям родов *Levilactobacillus*, *Limosilactobacillus*, *Lentilactobacillus*, *Furfurilactobacillus*, *Fructilactobacillus*, *Apilactobacillus*, *Secundilactobacillus*, *Lactiplantibacillus*, *Lacticaseibacillus*, *Latilactobacillus*, *Lactobacillus*, *Companilactobacillus*, *Liquorilactobacillus*, *Ligilactobacillus* и др. [4, 7, 8].

В Беларуси традиционно для выпечки хлеба используется в основном ржаная, смесь ржаной и пшеничной муки. Получение стабильного и хорошо разрыхленного ржаного теста возможно только в кислой среде, что обуславливает ведущую роль лактобактерий в процессах брожения теста из ржаной муки и смеси ее с пшеничной. Гетероферментативные молочнокислые бактерии, наряду с дрожжами, принимают непосредственное участие в разрыхлении теста за счет выделяемого ими углекислого газа, а также в формировании вкуса и аромата хлеба [1, 9].

Несмотря на развитие ускоренных технологий хлебопечения и насыщение рынка многочисленными добавками, на государственных предприятиях Республики Беларусь используют классические технологические схемы и натуральный процесс брожения. Государственное предприятие «Белтехнохлеб» занимается поддержанием закупаемых в РФ штаммов молочнокислых бактерий и дрожжей, проведением их лабораторного разводочного цикла и реализацией хлебопекарным предприятиям республики.

Основой совершенствования процесса хлебопечения является разработка технологий получения активных хлебных заквасок с улучшенными биотехнологическими свойствами, повышенной пищевой и биологической ценностью на основе специально отобранных штаммов микроорганизмов, оптимизации состава заквасочных консорциумов. В связи с этим актуальны исследования, направленные на поиск новых штаммов молочнокислых бактерий, перспективных для включения в состав заквасок для хлебопечения. Важным критерием отбора лактобактерий является их способность подавлять рост и развитие нежелательных микроорганизмов, что обусловлено не только продукцией органических кислот, перекиси водорода, этанола, но и бактериоцинов, жирных кислот, пептидов с антифунгальной активностью и др.

Антагонистическая активность по отношению к плесневым грибам – важнейшая характеристика заквасочных культур. Помимо воды, воздуха, технологического оборудования, тары и др., источником посторонней микрофлоры в хлебопекарной промышленности является сырье. Обсемененность зернопродуктов варьирует от нескольких тысяч до миллионов микроорганизмов в 1 г. В процессе выпечки хлеба большинство микроорганизмов погибает, но споры остаются жизнеспособными. Эпидемиологически значимым является поражение зерна грибами родов *Fusarium*, *Aspergillus*, *Penicillium* и др. Плесневение хлеба может также вызываться спорами грибов, попадающими на хлеб после его выпечки из воздуха. Для предупреждения порчи хлеба используют, наряду с химическими и физическими, биологические методы подавления посторонних микроорганизмов. Применение заквасок с антимикробными свойствами является наиболее целесообразным и безопасным способом снижения риска инфицирования хлебных изделий патогенной и условно-патогенной микрофлорой [1, 10, 11].

Цель исследования – характеристика антагонистической активности выделенных из природных источников гетероферментативных лактобацилл по отношению к плесневым грибам; оценка перспективности использования изучаемых бактерий в составе заквасок для хлебопечения.

Исследования проводили с пятью штаммами лактобацилл вида *Levilactobacillus brevis*, выделенными нами ранее из разных ферментированных растительных источников Беларуси, и отобранными по признакам высокой энергии роста и оптимальному уровню кислотообразования на средах, содержащих ржаную муку.

Молочнокислые бактерии поддерживали на среде MRS, мицелиальные грибы – на сусло-агаре [12, 13]. Морфолого-культуральные и основные физиолого-биохимические свойства выделенных лактобацилл исследовали с использованием общепринятых методов [1, 13]. Антагонистическую активность по отношению к плесневым грибам определяли методом диффузии в агар на агаризованных питательных средах и методом совместного культивирования в жидких питательных средах; степень подавления роста грибного мицелия и ингибирования спорообразования учитывали на 7, 14 и 21 сутки [14].

В качестве тест-штаммов были отобраны мицелиальные грибы – основные представители возбудителей порчи хлебобулочных изделий: плесневые грибы видов *Aspergillus awamori*, *Aspergillus clavatus*, *Aspergillus niger*, *Penicillium chrysogenum*, *Penicillium crustosum*, *Penicillium solitum*, *Fusarium oxysporum*, *Mucor zonatus*.

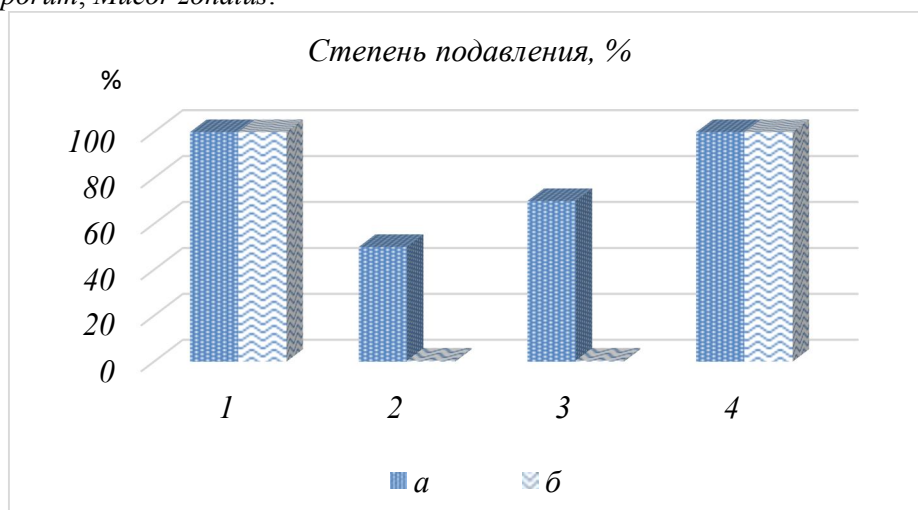


Рисунок. – Подавление лактобациллами *L. brevis* 2 роста (а) и спорообразования (б) плесневых грибов *A. clavatus* (1), *P. chrysogenum* (2), *P. solitum* (3), *F. oxysporum* (4)

Установлено, что среди использованных тест-микроорганизмов наиболее чувствительными к метаболитам молочнокислых бактерий были грибы рода *Fusarium*, наименее чувствительными – мицелиальные грибы р. *Aspergillus*. Все исследуемые лактобациллы подавляли рост и спорообразование *F. oxysporum* и в разной степени – *M. zonatus*.

Штаммы *L. brevis* 3, *L. brevis* 4, *L. brevis* 5 не оказывали антагонистического воздействия на плесневые грибы р. *Aspergillus*. Молочнокислые бактерии *L. brevis* 1 частично (на 50%) подавляли рост мицелия и спорообразование *A. clavatus*.

Установлено, что лактобациллы *L. brevis* 2 полностью подавляли рост и спорообразование *A. clavatus* и *F. oxysporum*, частично (на 50–70%) – рост *P. chrysogenum* и *P. solitum* (рисунок).

Полученные данные позволяют заключить, что среди исследуемых гетероферментативных лактобацилл штамм *L. brevis* 2 проявлял большую антагонистическую активность по отношению к плесневым грибам и по этому признаку является наиболее перспективным для включения в состав заквасок для хлебопечения.

Список использованных источников

1. Квасников, Е. И. Молочнокислые бактерии и пути их использования / Е. И. Квасников, О. А. Нестеренко. – М.: Наука, 1975. – 389 с.
2. Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects / S. Lahtinen [et al.] – 4th ed. – CRC Press, 2011. – 798 p.
3. Novel insights on the functional/nutritional features of the sourdough fermentation / M. Gobbetti [et al.] // Int. J. Food Microbiol. – 2019. – Vol. 302. – P. 103–113.
4. De Vuyst, L. Microbial ecology and process technology of sourdough fermentation / L. De Vuyst, S. Van Kerrebroeck, F. Leroy // Advances in Applied Microbiology. – Elsevier Inc., 2017. – Vol. 100. – Chap. 2. – P. 49–160.
5. De Vuyst, L. Sourdough production: fermentation strategies, microbial ecology, and use of non-flour ingredients / L. De Vuyst, A. Comasio, S. Van Kerrebroeck // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. – 2023. – Vol. 63, № 15. – P. 2447–2479.
6. Corsetti, A. Lactobacilli in sourdough fermentation / A. Corsetti, L. Settanni // Food Res. Intern. – 2007. – Vol. 40, № 5. – P. 539–558.
7. Thirty years of knowledge on sourdough fermentation: a systematic review / K. Arora [et al.] // Trends Food Sci. Technol. – 2021. – Vol. 108. – P. 71–83.
8. Chavan, R. S. Sourdough technology – a traditional way for wholesome foods: a review / R. S. Chavan, S. R. Chavan // Compr. Rev. Food Sci. Food Saf. – 2011. – Vol. 10. – P. 169–182.
9. Ауэрман, Л. Я. Технология хлебопекарного производства / Л. Я. Ауэрман. – СПб.: Профессия, 2005. – 416 с.
10. Prevention of bread spoilage and to enhance the quality of bread by using lactic acid bacteria / C. Sivasankaran [et al.] // Int. J. Chem. Tech. Res. – 2014. – Vol. 6, № 9. – P. 4161–4165.
11. Antifungal preservation of food by lactic acid bacteria / A. Nasrollahzadeh [et al.] // Foods. – 2022. – Vol. 11. – Art. 395. DOI:10.3390/foods11030395
12. Man, J.C. A medium for the cultivation of Lactobacilli / J.C. Man, M. Rogosa, M.E. Sharpe // J. Appl. Bacteriol. – 1960. – Vol. 23, № 1. – P. 130–135.
13. Методы общей бактериологии / Под ред. Ф. Герхардта и др. – Москва: Мир, 1983. – Т. 1. – 536 с.
14. Егоров, Н.С. Микробы-антагонисты и биологические методы определения антибиотической активности / Н.С. Егоров. – М.: Высшая школа, 1965. – 211 с.