Развитие пробиотической микрофлоры в продукте с лактулозой

Влияние лактулозы на рост бифидобактерий и лактобацилл обусловлено в первую очередь способностью этих микроорганизмов расщеплять и усваивать лактулозу, что является штаммовым признаком [1, 2]. В большинстве исследований рассматривалось влияние лактулозы на бифидобактерии и лактобациллы интестинального происхождения, реже – на заквасочную микрофлору, где преимущественно изучалась роль лактулозы в процессе сквашивания.

В то же время готовый термически необработанный кисломолочный продукт является живой изменяющейся системой, состояние которой определяет многие функциональные свойства и сроки годности продукта. Нами изучено влияние концентраций и способа внесения пребиотика лактулозы на содержание молочнокислых и бифидобактерий в кисломолочном напитке.

Канд. техн. наук
Г.Б.ГАВРИЛОВ,
канд. мед. наук
А.А.МАКАРУШИН,
канд. биол. наук
Б.Г.ГАВРИЛОВ,
З.И.САМСОНКИНА,
О.М.ГРУЗДЕВА
ГУ ЯГИЛМСП

Для получения закваски в 1 л стерилизованного молока вносили 0,002 ЕА лиофилизированного концентрата «Бифилакт–ПЛЮС» (производства ОНО «Экспериментальная биофабрика», Углич). В состав концентрата входят *Lactococcus lactis ssp. diacetilactis, Streptococcus thermophilus, Lactobacterium plantarum, B. bifidum* (ДТсПпБФ). После сквашивания при 37 °С в течение 14 ч закваску охлаждали.

При получении первого типа обогащенного лактулозой продукта в стерилизованное молоко вносили концентрат лактулозы «Лазет» (ООО «Шехонь–Л», г. Пошехонье) до конечной концентрации 0,1, 0,5, 1 и 2 % и добавляли полученную закваску 1:100. Продукт второго типа готовили также из стерилизованного молока, в которое вначале вносили закваску 1:100 и оставляли при 37 °С до образования ровного, плотного сгустка (около 8 ч). Затем добавляли концентрат лактулозы до конечной концентрации 0,1, 0,5, 1 и 2 % по объему. Контрольный образец получали внесением в стерилизованное молоко закваски, но без дальнейшего добавления каких–либо субстанций. Продукты выдерживали в течение 10 сут при 8 °С.

На 1, 3, 5, 7 и 10–е сутки из каждого образца продукта отбирали по четыре пробы для определения количества молочнокислых (МКБ) и бифидобактерий. Сразу после сквашивания и на 10–е сутки определяли pH продуктов.

Содержание этих микроорганизмов в ходе хранения продукта зависит как от концентрации лактулозы, так и от способа ее внесения (до или после сквашивания). В большей степени такая чувствительность отмечена у бифидобактерий (рис. 1, *а*). При внесении лактулозы перед сквашиванием с первых суток содержание бифидобактерий в продукте больше по сравнению с контролем, причем увеличение пропорционально количеству внесенной лактулозы. В последующие дни в контроле и при всех концентрациях лактулозы постепенно содержание бифидобактерий снижалось. Наиболее значительным снижение было в продуктах с начальной концентрацией лактулозы 2 %, практически до уровня контрольного образца. При начальных концентрациях 0,5 и 1 % снижение было менее резким, и даже на 10–е сутки содержание бифидобактерий в обоих продуктах достоверно превышало уровень контроля. Динамика числа бифидобактерий при внесении 0,1 % лактулозы практически совпадала с контрольной.

При внесении лактулозы в продукт после образования сгустка характер изменения числа бифидобактерий качественно иной (рис. 1, *б*). Содержание бифидобактерий первые 5–7 суток нарастало соответственно количеству лактулозы: при внесении 0,1 % в меньшей степени по сравнению с контролем, с 2 % лактулозы – максимально на 0,7 lg КОЕ/см^3. Но в последующие дни во всех пробах (кроме пробы с 0,5 % лактулозы) содержание бифидобактерий ос–

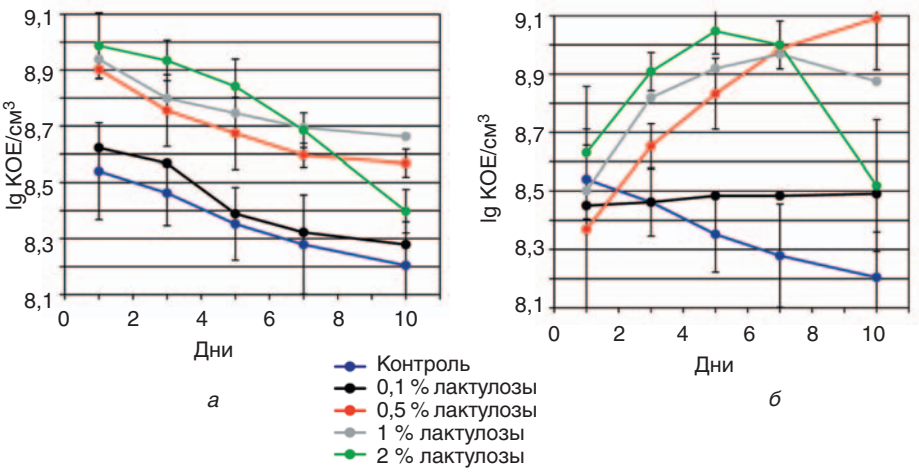

Рис 1. Динамика количества бифидобактерий при внесении лактулозы: *а* – до сквашивания; *б* – после образования сгустка. Для продуктов с добавлением 2 и 0,5 % лактулозы и контроля вертикальными линиями обозначены доверительные интервалы ±2 среднеквадратичного отклонения

тавалось на прежнем уровне или падало. Наиболее значительно, так же как и в первой группе продуктов, количество бифидобактерий снизилось в пробе с 2 % лактулозы – практически до контрольного уровня.

Изменения динамики МКБ носили несколько иной характер. При внесении лактулозы до сквашивания содержание МКБ оставалось практически неизменным на протяжении всего эксперимента. Оно приблизительно было на одном уровне (8–8,2 lg КОЕ/см^3) с контролем в продукте с внесением 0,1 % лактулозы (с умеренным повышением к 7–10–м суткам) и на уровне 8,6–8,8 lg КОЕ/см^3 в продуктах с 0,5, 1 и 2 % лактулозы (рис. 2, *а*).

При внесении лактулозы после начала сквашивания через сутки содержание МКБ в продуктах с 0,1 и 0,5 % лактулозы находилось на уровне контроля (8 lg КОЕ/см^3), а с 1 и 2 % лактулозы – на 0,4 и 0,7 lg КОЕ/см^3 соответственно превышало контроль. Но в последующие сутки содержание МКБ в продуктах с начальным содержанием лактулозы 0,1 и 0,5 % стабильно повышалось: при 0,1 % – умеренно, а при 0,5 % – весьма значительно, достигая к 10–м суткам 8,8 lg КОЕ/см^3. В продуктах с начальным уровнем лактулозы 1 и 2 % количество МКБ оставалось на прежнем уровне, а к 10–м суткам снижалось до 8,1 и 8,3 lg КОЕ/см^3 соответственно.

Изменение pH также связано со способом внесения и количеством лактулозы. При ее внесении до сквашивания значение pH продукта с 0,1 % лактулозы изменялось от 5,5 на 1–е сутки до 5,3 на 10–е (как и в контроле), с 0,5 % – от 5,2 до 5, с 1 % – от 5,2 до 4,9, с 2 % лактулозы – от 5,1 до 4,7. При внесении 0,1 % лактулозы после образования сгустка pH снижалось с 5,5 до 5,4; 0,5 % лактулозы – с 5,5 до 5,2; 1 % – с 5,1 до 4,8; 2 % – с 5 до 4,6.

Результаты исследований свидетельствуют о значительных различиях в ферментации МКБ и бифидобактериями лактулозы при ее внесении до или после начала ферментации молока. Низкая температура, использованная в исследовании, служит пусковым механизмом специфической перестройки метаболизма бактерий, определяющего температурную адаптацию, пути утилизации углеводов и конечные продукты их метаболизма. Такие температурно–зависимые механизмы продемонстрированы для *L. lactis* и

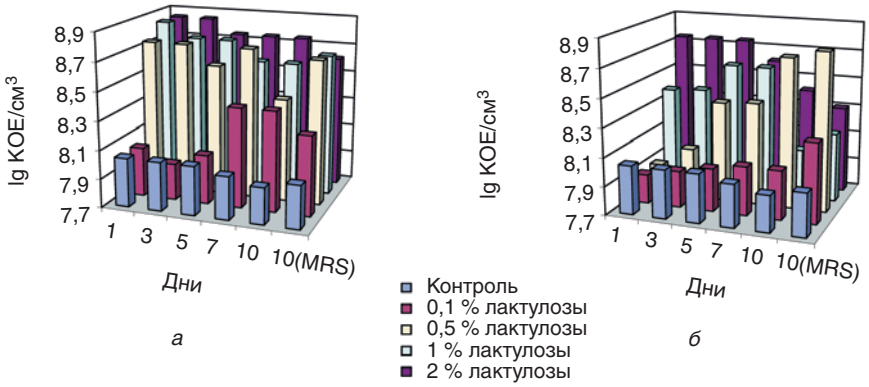

Рис. 2. Динамика количества МКБ при внесении лактулозы: *а* – до сквашивания; *б* –после образования сгустка

L. plantarum [3, 4]. Перестройка ферментативного профиля определяет в итоге способность бактерий размножаться при данной температуре, определенных концентрациях углеводов и pH среды, снижающихся при размножении бактерий. Возможно, что при низких температурах также изменяется чувствительность рассматриваемых бактерий к pH [5] и накоплению продуктов метаболизма.

Тормозящее влияние на пробиотические МКБ и бифидобактерии продуктов метаболизма и закисления среды в результате сквашивания молока йогуртной закваской можно преодолеть двухэтапным сквашиванием: вначале пробиотической слабосквашивающей микрофлорой, а через 2–4 ч – специфической заквасочной микрофлорой [6]. В результате выживаемость бифидобактерий увеличивается в 4–5 раз, и их численность даже через 6 нед холодного хранения составляет более 7 lg КОЕ/см^3.

Можно сказать, что в нашем эксперименте при внесении лактулозы после образования сгустка также проведено двухэтапное сквашивание. На первом этапе нативные углеводы молока ферментируют активные сквашиватели (стрепто– и лактококки, *L. plantarum*), на втором при низкой температуре лактулозу метаболизировали потенциальные пробиотики – бифидобактерии и, возможно, *L. plantarum*.

Наибольшая концентрация углевода (лактулозы) не является залогом наибольшего накопления или лучшего выживания бифидобактерий и МКБ при хранении кисломолочного продукта. Напротив, концентрация лактулозы 0,5 %, при которой наблюдалась наибольшая численность бифидобактерий и МКБ, к концу приемлемого срока хранения (10 сут) может считаться минимально возможной для обеспечения сколь–либо значительного размножения бактерий. Таким образом, оптимальным является добавление концентрата лактулозы «Лазет» в кисломолочные продукты после начала сквашивания в дозировке приблизительно до 0,5 % по объему.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. **Sghir A., Chow J. M., Mackie R. I.,** *1998. Continuous culture selection of bifidobacteria and lactobacilli from human faecal samples using fructooligosaccharide as selective substrate. J. Appl. Microbiol. 85:769–777.*

2. **Kaplan H., Hutkins R. W.,** *2000 Fermentation of Fructooligosaccharides by Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria. J. Appl. Microbiol. 66:2682–2684.*

3. **Panoff, J. M., Legrand S., Thammavongs B., Boutibonnes P.,** *1994. The cold shock response in Lactococcus lactis subsp. lactis. Curr. Microbiol. 29:213–216.*

4. **Panoff J. M., Thammavongs B., Laplace J. M, Hartke A., Boutibonnes P., Auffray Y.,** *1995. Cryotolerance and cold adaptation in Lactococcus lactis subsp. lactis IL1403. Cryobiol. 32:516–520.*

5. **Hartke A., Bouche S., Giard J. C., Benachour A., Boutibonnes P., Auffray Y.,** *1996. The lactic acid stress response of Lactococcus lactis subsp. lactis. Curr. Microbiol. 33:194–199.*

6. **Lankaputhra W.E.V., and N. P. Shah.,** *1997. Improving viability of Lactobacillus acidophilus and bifidobacteria in yogurt using two step fermentation and neutralised mix. Food Australia. 49:363–366.*