

ДОСЛІДЖЕННЯ РОЗПОВСЮДЖЕННЯ БАКТЕРІОФАГІВ НА ПІДПРИЄМСТВАХ МОЛОЧНОГО ПРОФІЛЮ УКРАЇНИ

Науменко О.В., к.т.н., Н.Ф.Кігель, д.т.н.
(Технологічний інститут молока та м'яса)

Визначено рівні фагового забруднення продукції молокопереробних підприємств України. Встановлено основні джерела контамінації фагами, які можуть бути визначені як контрольні точки для аналізу фагового стану на виробництві. Виділено вірулентні фагові ізоляти, що циркулюють на виробництві.

Насьогодні в Україні кисломолочні продукти не регламентують за вмістом фагів. Однак присутність цих мікроорганізмів не тільки є причиною серйозних порушень ферментаційного процесу під час виробництва кисломолочної продукції, а й опосередковано впливає на її якість. У результаті фагової інфекції можливі втрати окремих складників або заквашувальних композицій повністю, що призводить до зміни фізико-хімічних та біологічних властивостей ферментованих продуктів і, як наслідок, істотних економічних збитків [1-3].

Одним із важливих засобів контролю фагового стану на підприємствах є проведення фагового моніторингу, оскільки він дозволяє встановити рівень акумуляції фагів на виробництві [4].

Цілеспрямовані роботи з визначання бактеріофагів, що циркулюють на підприємствах молочної галузі України, їхнього виділення, вивчення та створення колекції фагів, не проводились і є вкрай необхідними і нагальними.

Мета роботи - проведення системного моніторингу продукції молочних та сироробних заводів України для оцінювання фагового стану вітчизняних підприємств.

Матеріали та методи. Об'єктами досліджень були зразки кисломолочної продукції, виробничі закваски, змиви з обладнання, сироватка, ізоляти фагів молочнокислих бактерій, виділені за умов виробництва, штами молочнокислих бактерій із колекції ТІММ.

Вихідні зразки фільтрували, обробляли хлороформом та центрифугували за 3000 об./хв. упродовж 20 хв., для вилучення білка та присутньої мікрофлори. Для визначення титру фагів готували десятикратні розведення підготованих проб зразків. Вилучення фагів проводили у агаризованому поживному середовищі на основі гідролізованого молока, використовуючи метод подвійного агару із 10 мМ CaCl_2 [5]. Як тест-культури для визначання бактеріофагів молочнокислих бактерій використовували спеціально підібрані штами *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris*, *Streptococcus thermophilus*, нелізогенні та чутливі до широкого кола фагів.

Реєстрували кількість зон лізису тест-культури, титр фагів виражали у бляшкоутворюючих одиницях у см^3 (БУО/ см^3).

Результати досліджень та їх обговорення.

Було досліджено продукцію 14 молокопереробних підприємств України, придбану у торговельній мережі. Основними об'єктами фагового моніторингу були традиційні для вітчизняного споживача продукти: молоко пастеризоване, сметана, кефір, біопродукти, сири кисломолочні, в тому числі сирки для дитячого харчування.

Встановлено, що біля 67% продуктів містили фаги різного титру. Нами було визначено три рівні фагового забруднення на виробництві: низький – від 1 до 10^1 БУО/ см^3 ; середній – від 10^2 до 10^4 БУО/ см^3 та високий – від 10^5 і більше БУО/ см^3 .

У таблиці 1 подано розподіл підприємств-виробників залежно від рівня фагового забруднення їхньої продукції.

Таблиця 1. Фаговий стан молокопереробних підприємств

Тип продукту	Рівні фагового забруднення		
	I низький	II середній	III високий
Молоко пастериз.	Б, Д, Е*	Г	А
Сметана	Г, І	А, В, Д, Е, Ж, З	К, Л
Кефір	А, Г, Д	А, В, К, М	-
Біопродукти	Г, Д, І, О	В, Г, І, Н	-
Сир кисломолочний	-	Д, І	Б, Д, З
Сирок	В	Б	Г
Сирок з начинкою	-	-	Д, Е

Примітка. * - умовні позначки досліджених підприємств

З таблиці 1 видно, що на всіх підприємствах (від А до І,) циркулюють фаги в тому чи іншому ступені. Більшість обстежених підприємств (86% від загальної кількості) виробляють продукцію з середнім фаговим титром - від 10^2 до 10^4 БУО/ см^3 .

На рис. 1 показано результати фагового моніторингу продуктів.

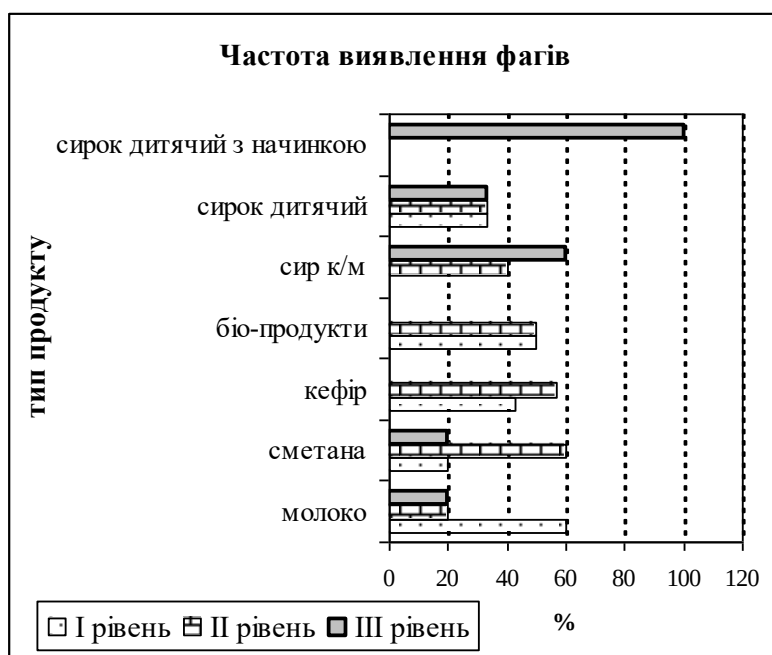


Рис.1. Розподіл продуктів за ступенем інфікування фагами молочнокислих бактерій

У результаті аналізування рівня фагової контамінації кисломолочної продукції було встановлено:

- молоко пастеризоване, яке ми споживаємо, переважно належить до I рівня фагового забруднення – титр фагів від 1 до 10^1 БУО/см³;
- сметана - до II рівня фагового забруднення, титр фагів від 10^2 до 10^4 БУО/см³;
- кефір - до II рівня фагового забруднення титр, фагів від 10^2 до 10^4 БУО/см³;
- біопродукти - до I і II рівня фагового забруднення; титр фагів, відповідно, від 1 до 10^1 НК/см³ та від 10^2 до 10^4 БУО/см³;
- сир кисломолочний - до III рівня фагового забруднення; титр фагів від 10^5 і більше БУО/см³;
- сирок дитячий - виробляють з фаговим титром від I до III рівня фагового забруднення; титр фагів, відповідно, від 1 до 10^1 НК/см³ та від 10^5 і більше БУО/см³;
- сирок дитячий з начинкою (курага, ваніль, родзинки і т.д.) - зафіксована найбільша фагова контамінація – 100% з III рівнем фагового забруднення, титр фагів від 10^5 і більше БУО/см³.

Отже, встановлено значну фагову контамінацію продуктів молокопереробних заводів України. Як правило, фагове забруднення супроводжувалось погіршенням мікробної чистоти обстежених продуктів (зростанням вмісту БГКП, дріжджів, плісені).

Для проведення цілеспрямованої боротьби з фаголізисом необхідно мати відомості про розповсюдження бактеріофагів на підприємствах, дослідити біологічні джерела для розмноження фагів [6]. У зв'язку з цим було

проведено аналіз зразків 7 сироробних підприємств на присутність фагів молочнокислих бактерій. Бактеріофаги визначали у сирому і пастеризованому молоці, виробничих заквасках, змивах з обладнання, сироватці. Результати досліджень представлено на рис. 2.

Встановлено, що найбільшу кількість фагів містила підсирна сироватка. Титр фагів лактобактерій у досліджуваних зразках становив від 10 до 10^5 БУО/см³.

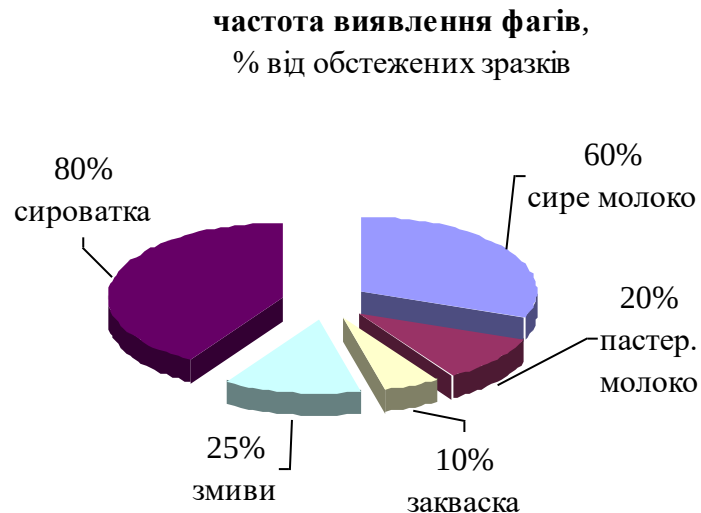


Рис. 2. Джерела виявлення фагів молочнокислих бактерій на сироробних заводах

Досліджували ступінь контамінації фагами сироватки упродовж декількох виробок. На рис. 3 показано динаміку вмісту фагів у сироватці за промислового виробництва сиру „Російського” упродовж одного робочого дня.

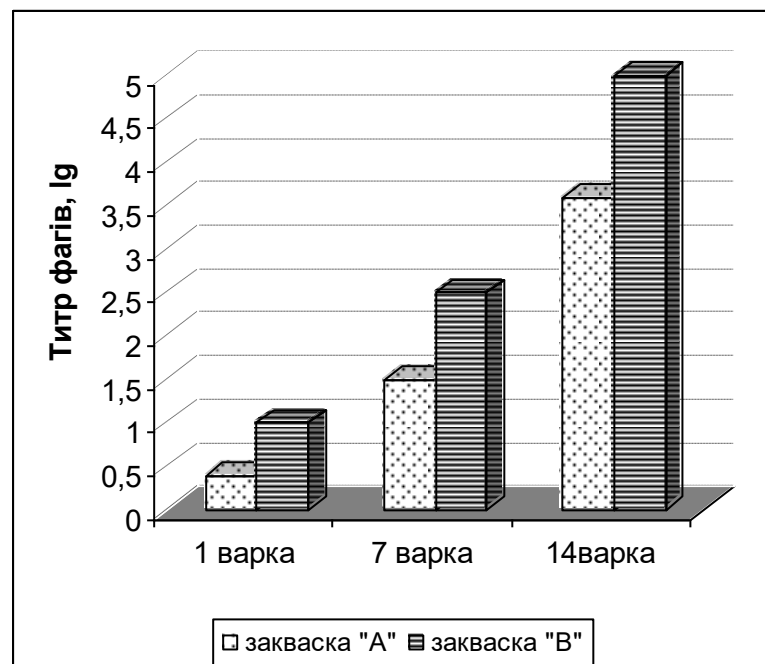


Рис.3. Динаміка вмісту фагів у сироватці під час виробництва сиру

Максимальну концентрацію фагів визначено у зразках сироватки останніх виробок, що свідчить про розмноження фагів упродовж технологічного циклу.

Аналіз отриманих результатів показав, що зразки сироватки останніх виробок містили не тільки високу концентрацію фагів, а й більшу кількість різноманітних за спектром літичної дії вірусів. Виділені бактеріофаги лізували від 20 до 80% індикаторних культур.

Під час виробництва сирів типу “Едам”, “Російський”, „Голландський” на вітчизняних підприємствах використовують декілька варіантів заквашувальних культур. Фаговий моніторинг показав, що від виду закваски залежить ступінь розмноження фагів на виробництві (рис. 4).

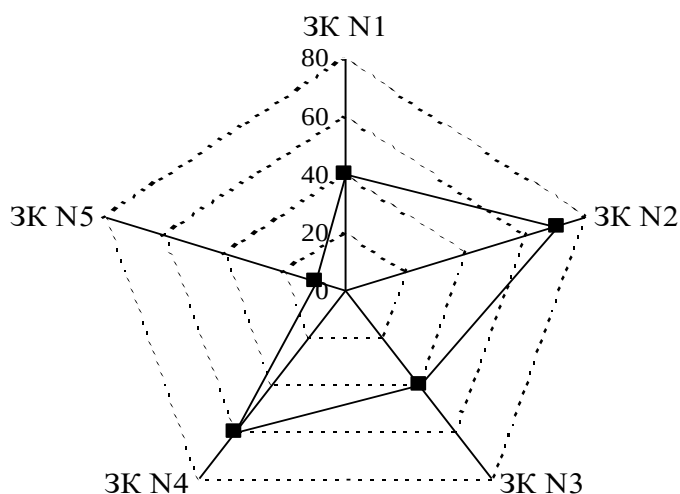


Рис. 4- Кількість випадків фаголізу, %
залежно від виду використаної заквашувальної культури (ЗК)

З рисунку 4 видно, що заквашувальні культури №2 та №4 найчастіше страждали від фагових атак, можливо, на виробництві виникли нові вірулентніші фаги. Отже, проводячи постійний моніторинг фагів на виробництві можна встановити, яка заквашувальна культура є найбільш фагочутливою і потребує застосування ротаційних або інших профілактичних заходів.

Таким чином, отримані результати підтверджують достатньо складну фагову ситуацію, яка склалась на даний час на вітчизняних підприємствах молокопереробної галузі. Для забезпечення гарантованої якості та безпеки кисломолочних продуктів для споживачів необхідно проводити постійний моніторинг бактеріофагів у системі загального мікробіологічного контролю з метою попередження фагових інфекцій на молокопереробних і сироробних підприємствах.

Висновки.

1. Досліджено фаговий стан 21 молокопереробного підприємства України. Встановлено три рівні фагового забруднення на виробництві: низький – від 1 до 10^1 БУО/см³; середній – від 10^2 до 10^4 БУО/см³ та високий – від 10^5 і більше БУО/см³.

2. Встановлено основні біологічні джерела фагів на виробництві: сире та пастеризоване молоко, виробничі закваски, змиви з обладнання, підсирна сироватка. Вони визначені як критичні точки для контролювання фагового стану на виробництві.

3. Виділено вірулентні фагові ізоляти, що циркулюють на виробництві. Сформовано колекцію промислових фагів молочнокислих бактерій.

Список літератури

1. Lodics T.A., Steenson L.R. Phage-host interactions in commercial mixed strain dairy starter cultures: practical significance – a review// J. Dairy Sci. - 1993. - 76, № 8. - P. 2380-2391.
2. Brussow H. Phages of dairy bacteria //Annu Rev Microbiol. - 2001.- 55. - P. 283-303.
3. Moineau S., Tremblay D., Labrie S. Phages of lactic acid bacteria: from genomics to industrial applications// ASM News. - 2002. - 68, №8. – P. 388-393.
4. Everson T.C. Control of phage in dairy plant// Bull. IDF.-1991. – 263. - P.24-28.
5. Адамс М. Бактериофаги. – М.: Мир. - 1961. – 527 с.
6. В.И.Ганина, И.Р.Волкова, Л.В.Калинина, Л.А.Борисова Состояние фагового фона на отечественных молочных предприятиях// Молочная промышленность. – 2005. - №10. – С.20-21.

Науменко О.В., к.т.н., Кигель Н.Ф., д.т.н

***Исследование распространения бактериофагов на предприятиях
молочного профиля Украины.***

Аннотация

Определены уровни фагового загрязнения продукции молокоперерабатывающих предприятий Украины. Установлены основные источники контаминации фагами, которые могут служить контрольными точками для анализа фагового состояния на производстве. Выделены вирулентные изоляты фагов, которые распространены на производстве.

Naumenko O.V., candidate of science; Kigel N.F., doctor of science

The research of bacteria phages propagation at the dairy plants of Ukraine.

Abstract

The levels of phages contamination in dairy products were determinated. The sources of phages contamination were identified as control points for phages state at the dairy plants. The virulent phages of dairy plants of were isolated.