

УДК 637.34

О.В. ГУЛАК, асп.
Г.Є. ПОЛІЩУК, канд. техн. наук
М.М. АНТОНЮК, канд. техн. наук
Національний університет харчових технологій

ДОСЛІДЖЕННЯ МІКРОБІОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ РОСЛИННИХ ЕКСТРАКТІВ ЯК РЕЦЕПТУРНИХ ІНГРЕДІЄНТІВ У ВИРОБНИЦТВІ МОРОЗИВА

В статті наведено результати мікробіологічних досліджень водних екстрактів рослин, які містять фенольні сполуки. Виявлено кількісну зміну контамінуючої мікрофлори екстрактів у процесі їх зберігання. Визначено наявність антимікробних властивостей для екстрактів гібіскусу, троянди, котовника та лаванди. Доведено можливість застосування досліджених екстрактів у виробництві морозива.

Ключові слова: рослинні екстракти, мікробіологічні показники, антимікробні властивості, морозиво.

В статье приведены результаты микробиологических исследований водных экстрактов растений, которые содержат фенольные соединения. Установлено количественное изменение контаминирующей микрофлоры экстрактов в процессе их хранения. Определено наличие антимикробных свойств для экстрактов гибискуса, розы, котовника и лаванды. Доказана возможность применения исследованных экстрактов в производстве мороженого.

Ключевые слова: растительные экстракты, микробиологические показатели, антимикробные свойства, мороженое.

The results of microbiological studing of plant aqueous extracts, which contain phenol compounds, are presented in this article. It was determined that the quantity of contaminating microorganisms decrease in plant extracts during their storage. The antimicrobial properties of hibiscus, rose, lavender and catnip aqueous extracts were established. The possibility of application of these extracts in ice cream production was proved.

Keywords: plant aqueous extracts, microbiological characteristics, ice cream.

Аналіз останніх досліджень і публікацій.

Першочерговим завданням для молочної індустрії є виробництво якісних і безпечних для здоров'я людини продуктів підвищеної біологічної цінності. До таких продуктів можна віднести морозиво, яке користується підвищеним попитом у споживачів всіх вікових груп.

Підприємства галузі щороку розширюють асортиментний ряд морозива як за рахунок впровадження принципово нових технічних, так і технологічних рішень, у тому числі шляхом застосування нетрадиційних видів продовольчої сировини. Досить оригінальною за органолептичними властивостями є група морозива із застосуванням рослинних екстрактів: морозиво чайне, цикоріє та кавове. Подібний продукт на сьогодні має досить обмежений асортиментний ряд, оскільки для одержання водних витяжок застосовують лише чай чорний (ГОСТ 1937, ГОСТ 1938), чай зелений (ГОСТ 3716), цикорій (ТУ У 22331884/006-2000) та каву натуральну (ГОСТ 6805) відповідно до ТТІ 31748658-1-2007 до ДСТУ 4733:2007, 4734:2007, 4735:2007.

© О.В. Гулак, Г.Є. Поліщук, М.М. Антонюк, 2010

ХАРЧОВА ПРОМИСЛОВІСТЬ № 10, 2011

75

ТЕХНОЛОГІЯ

При розробленні нових видів морозива велика увага приділяється рівню мікробіологічної забрудненості рослинної сировини та дотриманню санітарно-гігієнічних умов виробництва продукту.

До небезпечних для здоров'я людини мікроорганізмів, які можуть потрапити в організм людини разом з забрудненою рослинною сировиною, відносять бактерії роду *Esherichia*, *Salmonella*, *Staphylococcus*, *Listeria monocytogenes*, дріжджі, плісняву та ін. Вказані мікроорганізми не лише викликають псування продукту, а й створюють можливість виникнення інфекційних захворювань і харчових отруєнь у населення [1].

Саме тому, до гігієнічних нормативів за мікробіологічною безпекою морозива включають наступні групи мікроорганізмів: санітарно-показові, до яких відносять мезофільні аероби і факультативно-анаеробні мікроорганізми (МАФАНМ), бактерії групи кишкових паличок — БГКП (колі-форми); умовно-патогенні, до яких належать *S. aureus*; патогенні, у тому числі сальмонели, лістерії; мікроорганізми, що супроводжують псування харчових продуктів — дріжджі і плісняву.

При загартуванні і зберіганні морозива значна кількість мікроорганізмів відмирає або знаходиться в анабіозі, а життєздатною залишається психрофільна мікрофлора: мікрококи, спори бацил і плісняви, псевдомонади, які можуть активно розмножуватися при отепленні морозива. Важливе значення при збереженні якості морозива та запобіганні потрапленню сторонньої мікрофлори в продукт відіграє також герметичність його упаковки і умови транспортування та реалізації [2].

З огляду на вказане вище, авторами зроблено припущення стосовно можливості підвищення мікробіологічної чистоти морозива за рахунок не лише загальноприйнятих технологічних заходів (теплове оброблення, бактофугування, додавання консервантів — сорбінова, бензойна кислота та їх солі та ін.), а й шляхом внесення у харчові системи природних сполук, які виявляють антимікробні властивості. Зокрема, з літературних джерел відомо про застосування в якості консервантів екстрактів деяких рослин, які володіють високою антимікробною активністю: трави звіробою, березового листа, бадьяну товстолістого, солянки, череди, бархату амурського, кори дуба, шоломниці байкальської, бруньок ялівцю, медунки болотної, полину естрагонного, м'яти перцевої, буркуну лікарського, розторопші плямистої. Антимікробні властивості рослинних препаратів обумовлені, насамперед, наявністю у їх складі фенольних сполук. У деяких рослинах речовинами, які сповільнюють розвиток мікроорганізмів, є складові ефірних олій, що являють собою легкі суміші спиртів, альдегідів, кетонів, фенолів і фенольних ефірів, кислот та складних ефірів [3,4].

Застосування у виробництві морозива рослинних екстрактів, що містять антимікробні речовини, дає підставу авторам зробити припущення щодо можливості покращання якості морозива та подовження терміну його зберігання.

Тому дослідження мікробіологічних показників та антибактеріальних властивостей обраних рослинних систем є доцільним і актуальним.

Мета роботи полягає у дослідженні мікробіологічних показників та антимікробної дії рослинних екстрактів, які передбачається використовувати в якості рецептурних інгредієнтів у виробництві морозива.

Завдання досліджень:

- визначити мікробіологічні показники рослинних екстрактів, отриманих за різних температурних режимів;
- визначити антимікробні властивості екстрактів з обраних видів рослин;
- обґрунтувати можливість покращання мікробіологічної чистоти морозива за рахунок додавання рослинних екстрактів.

Матеріали та методи досліджень. Для проведення досліджень було використано рослинну сировину: гібіскус (ТУ У 15.8-30307990-002:2005 «Чай каркаде», «Чай із пелюсток суданської троянди»), троянду (ТУ У 00388079.004-2000 «Пелюстки троянди»), лаванду та мелісу (ТУ У 15.8-30474971.002-2002 «Фіточай Лаванда», «Фіточай Меліса»), котовник (ГСТУ 01.11-37-512:2006 «Сировина котячої м'яти. Загальні технічні умови»).

Рослинну сировину попередньо піддавали механічному подрібненню до рекомендованих середніх розмірів часточок 0,2...0,5 см. В якості екстрагента використовували питну очищену воду [5].

ТЕХНОЛОГІЯ

Визначення мікробіологічних показників рослинних екстрактів проводили шляхом їх поверхневого висіву по 0,1 см³ на агаризовані поживні середовища: м'ясо-пептонний агар (виявлення МАФАНМ), сусло-агар (виявлення дріжджів та грибів), середовище №10 (виявлення *S. aureus*) та ендосередовище (виявлення *E. coli*). Чашки з посівами інкубували протягом 2...3 діб за температури 37 °С для визначення загальної кількості мікроорганізмів (МАФАНМ), патогенних мікроорганізмів та бактерій групи кишкових паличок. Посіви на чашки з середовищем сусло-агар для виявлення грибів та дріжджів інкубували за температури 28 °С протягом 5...7 діб.

Антимікробну дію екстрактів визначали методом дифузії в щільне поживне середовище (м'ясо-пептонний агар). Антимікробну активність екстрактів визначали за утворенням зон пригнічення росту внесених у поживне середовище тест-культур (*Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*) навкруги лунок з досліджуваним матеріалом.

Вміст фенольних сполук в рослинних екстрактах визначали фотокалориметричним методом з реактивом Фоліна-Деніса [6].

Викладення основного матеріалу досліджень

На першому етапі наукової роботи було проаналізовано хімічний склад досліджуваних рослин, що містять біологічно-активні речовини і можуть впливати на умовно-патогенні та патогенні мікроорганізми. За вмістом фенольних сполук та органолептичними показниками (аромат, смак, наявність природних пігментів) авторами попередньо було обрано гібіскус, лаванду, котовник, троянду чайну, мелісу. При цьому також було враховано наявність рослинної сировини на внутрішньому ринку, дозвіл до застосування у харчових цілях та технологічні властивості (коефіцієнт дифузії, переважання водорозчинних екстрактивних речовин та ін.).

На наступному етапі роботи за раціональних технологічних режимів було отримано водні екстракти гібіскусу, лаванди, котовника, троянди, меліси [5] та досліджено динаміку зміни мікрофлори (МАФАНМ) при їх зберіганні за температури 4±2 °С протягом 7 діб. Результати аналізу кількості мікроорганізмів представлено у табл.1 та 2.

Мікробіологічні показники свіжовиготовлених екстрактів гібіскусу, троянди, лаванди та котовника відповідають вимогам щодо мікробіологічних показників згідно існуючих нормативів за кількістю КУО МАФАНМ (не більше, ніж 5·10³) [7]. Сировина з меліси відрізняється підвищеною мікробіологічною забрудненістю порівняно з іншими видами обраної рослинної сировини. У всіх зразках екстрактів на початку зберігання виявлено контамінуючу мікрофлору КУО МАФАНМ у кількостях, зумовлених початковим мікробіологічним обміненіям сухого рослинного матеріалу. Так, для екстрактів, виготовлених при 80 та 100 °С, кількість МАФАНМ, КУО/г, знаходиться у межах 1·10³...1·10⁴ та 1·10³...4·10³ відповідно.

Впродовж 7 діб зберігання екстрактів за температури 4±2 °С можна відмітити наступні зміни мікробіологічної чистоти досліджуваних зразків, виготовлених за температури 100 °С. У екстрактах лаванди та котовника на 5 добу зберігання спостерігалось збільшення кількості мікроорганізмів. Екстракти троянди та гібіскусу володіли більшою стабільністю: число МАФАНМ зростало лише на 7-му добу зберігання. Слід відмітити, що кількість мікроорганізмів для всіх зразків одного порядку, що свідчить про певну мікробіологічну стабільність рослинних екстрактів. Узразках екстрактів, виготовлених при 80 °С, на 7 добу зміна КУО МАФАНМ суттєвіша (у середньому у 1,5...2,0 рази). Встановлений ефект свідчить про виняткову роль температурного фактору у підготовці екстрактів до застосування у виробництві морозива.

Отже, рекомендованим для подальшого застосування у технології морозива є такий спосіб одержання екстрактів гібіскусу, троянди, лаванди та котовника: свіжоприготовлені екстракти за температури 80 °С або екстракти, одержані при 100 °С, які можна зберігати за температури 4±2 °С протягом до 5 діб. Екстракт меліси рекомендовано застосовувати відразу після виготовлення при температурі 100 °С.

Мікробіологічні показники всіх досліджуваних екстрактів за вмістом БГКП, кількістю грибів та дріжджів, *Staphylococcus aureus*, сальмонел відповідають встановленим вимогам [7].

З метою пошуку ефективних способів впливу на мікробіологічні показники морозива та, враховуючи можливу антимікробну дію обраних видів рослин, авторами було зроблено спробу пояснити ефект пригнічення розвитку мікроорганізмів в екстрактах в попередній серії експерименту під час їх зберігання.

Таблиця 1. Мікробіологічні показники водних екстрактів, отриманих за температури 80 °С

Водні екстракти	МАФАНМ, КУО/г, не більше				БГКП (коліформи) в 0,1 г				Кількість грибів та дріжджів, КУО/г				Staphylococcus aureus, в 1,0 г				Патогенні мікроорганізми, в т.ч. сальмонели, в 25 г			
	Свіже виготовлений	3 доба	5 доба	7 доба	Свіже виготовлений	3 доба	5 доба	7 доба	Свіже виготовлений	3 доба	5 доба	7 доба	Свіже виготовлений	3 доба	5 доба	7 доба	Свіже виготовлений	3 доба	5 доба	7 доба
Троянди	3·10 ³	3·10 ³	3·10 ³	5·10 ³	Не виявленні				Не виявленні				Не виявленні				Не виявленні			
Гібіскусу	1·10 ³	1·10 ³	2·10 ³	3·10 ³	Не виявленні				Не виявленні				Не виявленні				Не виявленні			
Котовника	4·10 ³	4·10 ³	5·10 ³	6·10 ³	Не виявленні				Не виявленні				Не виявленні				Не виявленні			
Меліси	1·10 ⁴	1·10 ⁴	1·10 ⁴	2·10 ³	Не виявленні				Не виявленні				Не виявленні				Не виявленні			
Лаванди	3·10 ³	3·10 ³	4·10 ³	5·10 ³	Не виявленні				Не виявленні				Не виявленні				Не виявленні			
Норма [7]	5·10 ³				не допускаються				2·10 ³				не допускаються				не допускаються			

Таблиця 2. Мікробіологічні показники водних екстрактів, отриманих за температури 100 °С

Водні екстракти	МАФАНМ, КУО/г, не більше				БГКП (коліформи) в 0,1 г				Кількість грибів та дріжджів, КУО/г				Staphylococcus aureus, в 1,0 г				Патогенні мікроорганізми, в т.ч. сальмонели, в 25 г			
	Свіже виготовлений	3 доба	5 доба	7 доба	Свіже виготовлений	3 доба	5 доба	7 доба	Свіже виготовлений	3 доба	5 доба	7 доба	Свіже виготовлений	3 доба	5 доба	7 доба	Свіже виготовлений	3 доба	5 доба	7 доба
Троянди	1·10 ³	1·10 ³	1·10 ³	2·10 ³	Не виявленні				Не виявленні				Не виявленні				Не виявленні			
Гібіскусу	1·10 ³	1·10 ³	1·10 ³	2·10 ³	Не виявленні				Не виявленні				Не виявленні				Не виявленні			
Котовника	3·10 ³	3·10 ³	4·10 ³	4·10 ³	Не виявленні				Не виявленні				Не виявленні				Не виявленні			
Меліси	4·10 ³	6·10 ³	8·10 ³	9·10 ³	Не виявленні				Не виявленні				Не виявленні				Не виявленні			
Лаванди	2·10 ³	2·10 ³	4·10 ³	5·10 ³	Не виявленні				Не виявленні				Не виявленні				Не виявленні			
Норма [7]	5·10 ³				не допускаються				2·10 ³				не допускаються				не допускаються			

ТЕХНОЛОГІЯ

Авторами також було визначено кількісний вміст фенольних сполук в досліджувальних екстрактах лаванди, котовника, меліси, троянди та гібіскусу (табл. 3).

Таблиця 3. Вміст фенольних сполук у рослинних екстрактах, отриманих за різних температур

№	Водний екстракт	Кількість фенольних сполук у екстракті, мг/мл,	
		80 °С	100 °С
1	Лаванди	0,083±0,0040,	0,085±0,0040,
2	Котовника	114±0,0020,	132±0,0050,
3	Меліси	104±0,0020,	112±0,0050,
4	Троянди	121±0,0050,	149±0,0040,
5	Гібіскусу	119±0,005	140±0,005

З метою вивчення впливу фенольних сполук на життєдіяльність окремих видів мікроорганізмів у досліджуваних зразках на кафедрі біотехнології мікробного синтезу Національного університету харчових технологій було визначено антимікробні властивості водних екстрактів лаванди, котовника, меліси, троянди та гібіскусу по відношенню до грампозитивних (*Staphylococcus aureus*), грамнегативних (*Escherichia coli*) мікроорганізмів та спорової культури (*Bacillus subtilis*). Результати проведених досліджень представлено у табл. 4. Найбільш виражений антимікробний ефект проілюстровано на прикладі екстракту троянди (рис. 1).

Таблиця 4. Антимікробна дія рослинних екстрактів

Водний екстракт	Зона пригнічення росту тест-культури, мм		
	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Троянди	60	8	18
Гібіскусу	12	0	2
Котовника	5	2	0
Меліси	0	0	0
Лаванди	2	0	0

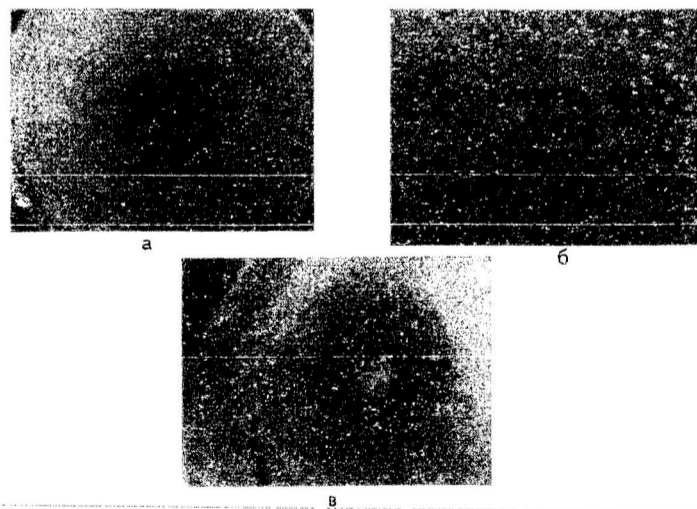


Рис. 1. Антимікробна дія екстракту троянди по відношенню до тест-культур:
а — *Bacillus subtilis*; б — *Staphylococcus aureus*; в — *Escherichia coli*
(на рисунках позначені зони пригнічення росту тест-культур)

ТЕХНОЛОГІЯ

Результати досліджень свідчать про антимікробну дію різного ступеня по відношенню до використовуваних тест-культур. Всі групи мікроорганізмів виявилися високочутливими по відношенню до екстракту троянди. Антимікробну дію екстракту гібіскусу виявлено щодо тест-культур *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*. Екстракт котовника пригнічував розвиток *Bacillus subtilis* та *E. coli*, а екстракт лаванди — лише *Bacillus subtilis*.

Даний ефект можна пояснити тим, що у екстрактах троянди та гібіскусу міститься більша кількість фенольних сполук (0,149 та 0,140 мг/см³) порівняно з екстрактами лаванди та котовника (0,085 та 0,132 мг/см³).

Екстракт меліси, що містить більше фенольних сполук порівняно з екстрактом лаванди, не виявляє антимікробну дію. Подібний, парадоксальний, на перший погляд, ефект може бути пояснений тим, що вихідний екстракт меліси за мікробіологічними показниками містить найбільшу кількість КУО МАФАНМ, тому фенольні сполуки екстракту за цих умов не виявляють очікувану антимікробну дію.

Таким чином, всі досліджені рослинні екстракти можна рекомендувати до застосування у виробництві морозива з врахуванням одержаних авторами результатів мікробіологічних досліджень. Це дасть змогу не лише збагатити готовий продукт БАР, а й покращити його мікробіологічні показники. В подальшій науковій роботі заплановано дослідити антимікробну дію екстрактів на мікробіологічні показники сумішей під час технологічного циклу виробництва та зберігання морозива.

Висновки. 1. Рекомендованими для застосування у технології морозива є свіжоприготовлені екстракти троянди, гібіскусу, лаванди та котовника за температури 80 ° або екстракти, одержані при 100 °С.

2. Екстракт меліси рекомендовано застосовувати відразу після одержання при температурі 100 °С.

3. Гарантований термін зберігання екстрактів троянди, гібіскусу, лаванди та котовника до їх застосування у виробництві морозива становить 5 діб за температури 4±2 °С.

4. Всі тест-культури виявилися високочутливими по відношенню до екстракту троянди. Антимікробна дія екстракту гібіскусу виявлена до *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, екстракту котовника — до *Bacillus subtilis* та *Escherichia coli*, екстракту лаванди — до *Bacillus subtilis*.

ЛІТЕРАТУРА

1. Беляевская С.Ю., Осолодченко Т.П., Батрак Е.А., и др. // Экспериментальная і клінічна медицина. — 2004. — № 4. — С. 75—79.
2. Фостер Э.М., Нельсон Ф.Ю. и др. // Микробиология молока. — 1961, Москва: Пищепромиздат, 534 с.
3. Толкунова Н.Н., Чуева Е.Н., Бидюк А.Я. Влияние экстрактов лекарственных растений на развитие микроорганизмов // Пищевая промышленность — 2002 - №8 — с. 70—71.
4. Adeniji BA, Fong NN, Pezzuto JM, Luyengi L, Odelola HA. Antibacterial activity of diospyrin, isodiospyrin and bisisodiospyrin from the root of *Diospyros piscatoria* (Gurke) (Ebenaceae). *Phytother Res* 2000 Mar;14(2):112—7
5. Поліщук Г.Є., Гулак О.В., Вовкодав Н.І., Бреус Н.М., Перцевий Ф.В. Обґрунтування технологічних режимів одержання рослинних екстрактів для їх застосування у виробництві морозива // Наукові праці Національного університету харчових технологій — 2010 — № 33 — с. 20—23
6. Запретов М.Н. Основы биохимии фенольных соединений. М.: Высшая школа, 1974 — 213 с
7. Шигина Е.В., Маюрникова Л.А., Гореликова Г.А., Пермькова А.В., Дерябина В.И. Функциональные напитки антиоксидантного действия // Пиво и напитки — 2006 — № 4 — с. 41—43.

Одержано редколлегією 24.12.2010 р.