

**Вплив залишків антибіотиків на розвиток заквашувальних культур для  
виробництва сиру**

Шульга Н.М., кандидат технічних наук,

*Технологічний інститут молока та м'яса УААН*

*Досліджено вплив деяких антибіотиків у гранично допустимих у молоці кількостях на активність заквашувальної мікрофлори, а також встановлено мінімальні інгібуючі концентрації цих антибіотиків щодо молочнокислих бактерій.*

Перебіг технологічного процесу у виробництві сирів залежить від активності використаних бактеріальних препаратів. Тому основними вимогами, які висуваються до заквашувальних культур, є певна енергія кислотоутворення, вірне співвідношення між складовими компонентами. Активність закваски залежить від багатьох факторів, що невід'ємно пов'язані з властивостями молока, умовами використання заквашувальних культур, технологічними режимами виробництва продукту тощо.

Про зниження активності закваски у виробництві твердих сичужних сирів свідчить, в першу чергу, сповільнення чи відсутність приросту кислотності сироватки під час оброблення зерна, а також зависокі значення активної кислотності сирної маси після пресування. З-поміж інших факторів (враження виробництва бактеріофагами, сезонні зміни якісного складу сировини тощо) причиною уповільнення дії бактеріальних препаратів може бути наявність у молоці інгібуючих речовин, зокрема антибіотиків [1].

Антибіотики у молоко найчастіше потрапляють після лікування худоби, хворої на мастит [2]. Останнім часом почастишали випадки навмисного внесення антибіотиків у індивідуальних сільських господарствах, особливо, у літній період, щоб запобігти швидкому зростанню кислотності. Згідно з чинними нормативними документами заготівельне молоко та сичужні сири українського асортименту нормуються лише за вмістом стрептоміцину (не

більше 0,5 од/г), пеніциліну (не більше 0,01 од/г) і антибіотиків тетрациклінової групи (не більше 0,01 од/г), а періодичність їх контролювання становить один раз на півроку. Тому ймовірність потрапляння у молоко цих сполук є високою. Наявність у сировині залишкових кількостей антибіотиків становить не лише загрозу здоров'ю споживачів, але й є істотним технологічним ризиком під час виробництва ферментованих молочних продуктів. Режими підготовки молочної суміші, що застосовують у сироробстві, не спричиняють повного знищення цих препаратів, а тому навіть незначні кількості антибіотиків можуть негативно впливати на розвиток і активність молочнокислих бактерій та інших мікроорганізмів заквашувальних композицій. Ступінь пригнічення розвитку заквашувальних культур у молоці пов'язаний з типом антибіотику та чутливістю складових штамів. Слід зазначити, що інформація щодо чутливості молочнокислих культур до антибіотиків є доволі обмеженою. Дослідженню цієї проблеми у практиці мікробіології молочного виробництва значної уваги не приділено. Відомо, що дослідниками з Німеччини було перевірено за чутливістю до деяких антибіотиків заквашувальні композиції для сирів, до складу яких було залучено *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* і *Lactobacillus lactis*. Середні концентрації антибіотиків, що необхідні для 50% чи повного пригнічення росту цих молочнокислих бактерій становили, відповідно (мг/см<sup>3</sup>): пеніциліну – 0,12 та 0,26, клоксациліну – 0,91 та 3,90, стрептоміцину – 0,59 та 2,06 [3]. За даними іспанських науковців, в результаті перевірки 90 ізолятів молочнокислих бактерій мінімальна інгібуюча доза пеніциліну для пригнічення росту *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum* та *Leuconostoc mesenteroides* становила 0,25-2,00 мкгг/см<sup>3</sup>, 2-128 мкгг/см<sup>3</sup> та 0,5-2,0 мкгг/см<sup>3</sup>, відповідно [4]. Російськими вченими також було досліджено стійкість до антибіотиків заквашувальних мікроорганізмів різних таксономічних груп, що складають основу бактеріальних концентратів для ферментованих молочних продуктів

[5, 6]. Зокрема, серед поширених на вітчизняному ринку бакконцентратів було проаналізовано “БК-Углич-№4” (НВО “Углич”, Росія) та СН-N 19 (“Chr. Hansen”, Данія) за стійкістю до ампіциліну (0,5 г/см<sup>3</sup>), левоміцетину (2,5мг/см<sup>3</sup>), пеніциліну (10 тис.од/см<sup>3</sup>), поліміксину, цефазоліну, офлоксацину і канаміцину та відмічено доволі низьку чутливість до цих речовин.

Слід зазначити, що наявність у сировині антибіотиків має істотний вплив на якість сичужних сирів. Так, в результаті дії залишків пеніциліну (від 0,05 до 0,5 МЕ/г) було помічено зниження активності заквашувальних культур та рівня рН після пресування (від 5,70 до 6,48 од.рН), внаслідок чого спостерігали інтенсивніший розвиток бактерій групи кишкових паличок порівняно з контрольним варіантом без антибіотиків [7].

Відомо, що штами молочнокислих бактерій характеризуються пасажною мінливістю та адаптацією до різних факторів, тому поступово певні заквашувальні культури можуть набути резистентності до деяких антибіотиків [8]. Однак у молочній промисловості втрати через брак продукції, насамперед внаслідок зниження активності бактеріальних препаратів, є високими. Тому для попередження проблем, викликаних наявністю у сировині залишкових кількостей антибіотиків, необхідно проводити відбір стійких за даним показником штамів.

**Мета роботи** - дослідження впливу деяких антибіотиків у гранично допустимих у молоці кількостях на активність заквашувальної мікрофлори, а також встановлення мінімальних інгібуючих концентрацій цих антибіотиків щодо молочнокислих бактерій.

**Матеріали та методи.** У роботі було використано штами мезофільних і термофільних молочнокислих бактерій та пропіоновокислі бактерії, які входять до складу вітчизняних бактеріальних препаратів для виробництва твердих і напівтвердих сичужних сирів, а також культури з колекції відділу біотехнології Технологічного інституту молока та м'яса УААН, що є перспективними для застосування у сироробстві. Рівень інгібування

заквашувальних культур у молоці визначали за зниженням приросту активної кислотності та урожайності упродовж визначеного терміну культивування при внесенні відповідного антибіотику у гранично допустимій концентрації порівняно з аналогічним показником під час ферментування молока без додавання антибіотиків. Мінімальну інгібуючу концентрацію (МІК) встановлювали методом серійних розведень за найменшою кількістю антибіотика, що затримувала видимий ріст мікроорганізму на чашках з поживним середовищем, яке містило спадаючі концентрації антибіотика [9].

**Результати досліджень.** Було досліджено вплив антибіотиків, які найчастіше виявляють у сировині, на активність заквашувальної мікрофлори у гранично допустимих у молоці та сирах концентраціях [10]. Зокрема, було перевірено рівень інгібування розвитку 36 штамів мезофільних лактококів *Lactococcus lactis* ssp., 6 штамів мезофільних лактобацил *Lactobacillus casei* ssp. *casei*, *Lactobacillus plantarum*, 26 штамів термофільних стрептококів *Streptococcus salivarius* ssp. *thermophilus*, 13 штамів термофільних молочнокислих паличок видів *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* та 4 штами пропіоновокислих бактерій *Propionibacterium freudenreichii* ssp. *shermani* вісьмома антибіотиками: тетрацикліном, стрептоміцином, пеніциліном, хлорамфеніколом, еритроміцином, ампіциліном, амоксициліном та сульфадимезином (табл. 1).

Серед проаналізованих штамів мезофільні лактококи були найуразливішими до дії еритроміцину (від 30% до 88%), ампіциліну (до 66%), амоксициліну (від 9% до 54%) та пеніциліну (від 15% до 35%), тоді як інгібуючий вплив тетрацикліну, стрептоміцину, сульфадимезину на даний вид мікроорганізмів був незначним. Подібні результати було одержано під час дослідження штамів термофільних стрептококів. Слід зазначити, що за наявності у молоці антибіотиків під час культивування деяких штамів, особливо, *S. thermophilus*, спостерігали зміну консистенції одержаних молочних згустків (меншу в'язкість, щільність згустку, відшарування мутної

сироватки), а у лактококів *L. lactis* ssp. *diacetylactis* – зниження здатності до утворення діацетилену та вуглекислого газу.

Термофільні лактобацили видів *L. helveticus*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus* характеризувалися підвищеною чутливістю щодо пеніциліну, рівень стримування росту яким досягав 60%, а також еритроміцину та амоксициліну. Стійкими до впливу більшості антибіотиків були і лактобацили *L. casei* та *L. plantarum*, на розвиток яких не позначалася наявність залишків тетрацикліну, стрептоміцину, сульфадимезину, а затримка росту під дією інших сполук була мінімальною (15-25%). В цілому, молочнокислі палички цих видів були достатньо стійкими до дії дослідженого кола антибіотиків порівняно з коками.

Найбільші значення рівня інгібування антибіотиками було зафіксовано під час культивування пропіоновокислих бактерій, які втрачали активність у присутності майже всіх досліджених антимікробних речовин. Такі дані свідчать про те, що при застосуванні під час виробництва сирів бактеріальних препаратів, які містять пропіоновокислі бактерії, необхідно ретельно відбирати сировину.

Оскільки контролювання антибіотиків у заготівельному молоці проводиться не в кожній партії, то існує ймовірність потрапляння у молоко вищих концентрацій цих речовин, що може істотно вплинути на перебіг технологічного процесу виробництва ферментованих молочних продуктів. Тому становить інтерес дослідити значення мінімальних інгібуючих концентрацій (МІК) антибіотиків проти молочнокислих бактерій (табл. 2).

Як свідчать результати проведеної роботи, серед досліджених антибіотиків небезпечним є еритроміцин, МІК якого для більшості молочнокислих бактерій лише у 1,5-5,0 разів перевищує гранично допустиму концентрацію у молоці. Отримані дані узгоджуються з роботами інших дослідників [4], які відмічали відсутність росту лактобацил та лейконостоків за вмісту еритроміцину від 0,06 до 0,25 мг/см<sup>3</sup>. Найвищі рівні МІК було отримано під час культивування лактобактерій з сульфадимезином та хлорамфеніколом (до 5 мк/см<sup>3</sup>), що у 50 раз більше за дозволена залишкову

кількість у молоці. Слід звернути увагу на високі порогові концентрації антибіотиків, які спричиняли бактеріостатичну дію на мезофільні лактобацили *L. casei* і *L. plantarum*.

**Висновки.** Залишки антибіотиків істотно впливають на розвиток заквашувальних культур під час виробництва сирів. Серед проаналізованих антибіотиків найвищу інгібуючу дію на досліджені штами молочнокислих та пропіоновокислих бактерій справляли еритроміцин та ампіцилін. Найчутливішими до дії антибіотиків були пропіоновокислі бактерії, які зазнавали до 90% втрати активності. Стійкістю щодо впливу досліджених антимікробних речовин характеризувалися лактобацили видів *L. casei*, *L. plantarum*, рівень затримки розвитку яких не перевищував 25%. Встановлено мінімальні інгібуючі концентрації 8 антибіотиків щодо молочнокислих бактерій.

### **Бібліографія**

1. Ганина В.И. В помощь микробиологу // Молочная промышленность. – 2006. - №7. – С. 50.
2. Langford F. M., Weary D. M., Fisher L. Antibiotic Resistance in Gut Bacteria from Dairy Calves: A Dose Response to the Level of Antibiotics Fed in Milk // Journal of Dairy Science. – 2003. – Vol. 86, N 11. – P.3963–3966.
3. Mathur S., Singh R. Antibiotic resistance in food lactic acid bacteria—a review // International Journal of Food Microbiology.-2005.-Vol.105, №3.-P. 281-295.
4. Zarazaga M., Saenz Y., Portillo A. et al. In Vitro Activities of Ketolide HMR3647, Macrolides, and Other Antibiotics against *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, and *Pediococcus* Isolates // Antimicrobial agents and chemotherapy. – 1999.- Vol. 43, № 12. – P.3039–3041.

5. *Артюхова С.И., Жидкова О.Н.* Устойчивость к антибиотикам микроорганизмов закваски для сметанного продукта // молочная промышленность. – 2004.- №8. – С.24-25.
6. *Виноградская С.Е., Горбачева Е.С., Ярошенко Т.П., Гордиенко Л.А.* Изучение чувствительности молочнокислых культур и микрофлоры киломолочных продуктов к антибиотикам // Сборник науч. трудов СевКавГТУ. Серия “Продовольствие”. – 2005. - №1. – С.20-25.
7. *Сухоцкене Й.Й., Стасайтите Й.Й., Гудков А.В.* Зависимость качества сычужных сыров от остатков пенициллина в молоке // Молочная промышленность. – 1984. - №12. – С. 8-10.
8. *Herreros M.A., Sandoval H., González L.* Antimicrobial activity and antibiotic resistance of lactic acid bacteria isolated from Armada cheese (a Spanish goats' milk cheese) // Food Microbiology. -2005.- Vol.22, №5. - P. 455-459.
9. *Егоров Н.С.* Основы учения об антибиотиках. –М.: Высшая школа, 1986.-447 с.
10. *Gustafson R.H.* Antibiotic residues in meat and milk // Journal of dairy science. – 1991. – Vol.74, №6. – P.1428-1432.

1. Рівень інгібування заквашувальних культур антибіотиками у молоці, %

Мікро-організми	Кількість досліджених штамів	Антибіотик, гранично допустима концентрація у молоці							
		тетрациклін (100 мкг/дм <sup>3</sup> )	стретоміцин (200 мкг/дм <sup>3</sup> )	пеніцилін (100 мкг/дм <sup>3</sup> )	хлорамфенікол (100 мкг/дм <sup>3</sup> )	еритроміцин (40 мкг/дм <sup>3</sup> )	ампіцилін (4 мкг/дм <sup>3</sup> )	амоксіцилін (4 мкг/дм <sup>3</sup> )	сульфадимезин (100 мкг/дм <sup>3</sup> )
<i>L. lactis</i> ssp.	36	0-15	0-20	15-35	5-22	30-88	0-66	9-54	0-10
<i>S. thermophilus</i>	26	0-10	5-15	0-20	0-18	10-45	10-60	5-25	0-15
<i>L. casei</i> , <i>L. plantarum</i>	6	0	0	0-20	0-15	5-25	5-25	15-20	0
<i>L. helveticus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. bulgaricus</i>	13	0-25	5-18	28-60	0-23	5-55	16-42	25-50	0-22
<i>P. freudenreichii</i> ssp. <i>shermani</i>	4	10-28	10-25	35-80	25-55	35-90	40-75	28-55	0-25

2. Антимікробна активність антибіотиків щодо молочнокислих бактерій

Мікро-організми	Кількість досліджених штамів	МІК антибіотику, мг/см <sup>3</sup>					
		тетрациклін	хлорамфенікол	еритроміцин	ампіцилін	амоксіцилін	сульфадимезин
<i>L. lactis</i> ssp.	36	0,5-1,5	0,2-0,5	0,10-0,50	0,02-0,20	0,02-0,50	2,5-(>5,0)
<i>S. thermophilus</i>	26	0,2-0,5	0,5-1,0	0,05-0,10	0,01-0,02	0,01-0,10	0,5-5,0
<i>L. casei</i> , <i>L. plantarum</i>	6	1,0-2,0	1,0-5,0	0,10-0,15	0,10-0,50	0,10-1,00	>5,0
<i>L. helveticus</i> , <i>L. acidophilus</i> , <i>L. bulgaricus</i>	13	0,5-2,5	0,1-2,5	0,05-0,10	0,01-0,50	0,01-0,50	0,1-5,0



**Шульга Н.М. Вплив залишків антибіотиків на розвиток заквашувальних культур для виробництва сиру**

Досліджено вплив деяких антибіотиків у гранично допустимих у молоці кількостях на активність заквашувальної мікрофлори, а також встановлено мінімальні інгібуючі концентрації цих антибіотиків щодо молочнокислих бактерій.

**Ключові слова:** антибіотик, мінімальна інгібуюча концентрація, закваска, сир, молоко, мікрофлора

**Шульга Н.М. Влияние остатков антибиотиков на развитие заквасочных культур для производства сыра**

Исследовано влияние некоторых антибиотиков в гранично допустимых в молоке количествах на активность заквасочной микрофлоры, а также установлены минимальные ингибирующие концентрации этих антибиотиков для молочнокислых бактерий.

**Ключевые слова:** антибиотик, минимальная ингибирующая концентрация, закваска, сыр, молоко, микрофлора

**Shulga N. The impact of antibiotic residues on the growth of starters for cheesemaking**

The influence of maximal admissible levels of some antibiotics on starters activity was investigated. The minimal inhibition concentrations of these antibiotics for lactic acid bacteria were determined.

**Key words:** antibiotic, minimal inhibition concentration, starter, cheese, milk, microflora