

Полянская Ирина Сергеевна, к.т.н., доцент

ФГБОУ ВО «Вологодская государственная молочнохозяйственная академия имени Н.В. Верещагина» (Россия, г.Вологда)

ВНУТРЕННИЙ И ВНЕШНИЙ ФАГОВЫЙ МОНИТОРИНГ МОЛОЧНЫХ И СЫРОДЕЛЬНЫХ ЗАВОДОВ – ОПТИМАЛЬНАЯ МОДЕЛЬ

Аннотация. Бактериофаг является одной из ведущих причин снижения качества ферментированной молочной продукции, в т.ч. сыров. «Методические рекомендации по проведению фагового мониторинга на сыродельных предприятиях» 1997 года были разработаны, когда молокоперерабатывающие предприятия страны использовали только отечественные бактериальные концентраты и закваски. В настоящее время в положение фаговой ситуации при производстве ферментированных молочных продуктов внесли коррективы ещё 34 зарубежных производителя бактериальных концентратов. Литературный обзор посвящён анализу моделей фагового мониторинга, которые возможны в сложившихся условиях.

Ключевые слова: бактериофаг, фаголизис, молочнокислые микроорганизмы, фаговый мониторинг.

Polyanskaya Irina Sergeevna, Ph.D., docent

Vologda State Dairy Economic Academy after N.V. Vereschagin (Russia, Vologda)

INNER AND EXTERNAL PHAGE MONITORING OF DAIRY AND CHEESE-MAKING PLANTS – OPTIMAL MODEL

Abstract. Bacteriophage is one of the basic reasons for reduction of fermented milk products including cheeses “The Guideline for carrying out phage monitoring at cheese making plants” 1997 was developed when dairy plants in our country used only domestic bacterial concentrates and starters. Nowadays more than 34 foreign producers of bacterial concentrates made amendments in the status of phage situation in the production of fermented dairy products. The literature review is devoted to the analysis to phage monitoring models which are possible in the present situation.

Key words: bacteriophage, phagolysis, lactic acid bacteria, phage monitoring.

С тех пор, как в Новой Зеландии 90 лет назад открыли бактериофаги на сыродельном заводе, проблема фаголизиса остаётся одной из сложных, вместе с тем актуальных как для зарубежных [1-3], так и для отечественных производителей ферментированной молочной продукции [4-6].

История использования в российском молочном деле чистых культур восходит началу XIX века. По мнению директора Бактериолого-

агрономической станции Общества акклиматизации животных и растений С.А.Северина, изложенному им в журнале «Молочное хозяйство» в 1913 г., благодаря широкому использованию метода чистых культур при производстве сметаны, творога, простокваши и даже кумыса из коровьего молока теперь (т. е. в 1913 г.) «...наступает очередь и для проведения метода чистых культур в наше сыроварение» [7].

К тому времени в России уже были отдельные попытки использования чистых культур при приготовлении, в частности, некоторых сортов сыра. Так, в 1901–1902 гг. специалисты Юрьевской молочно-хозяйственной лаборатория исследовали состав бактериальной флоры местного (лифляндского) творожистого сыра «Knappkase» и применили чистые культуры при его приготовлении, что дало благоприятный результат. Лаборатория начала изготавливать эти культуры.

Заведующий Ярославской лабораторией С.В.Паращук в 1908 г. усовершенствовал способ получения сухих культур путем предварительного центрифугирования жидкой закваски перед ее сушкой. Этот прием позволил повысить концентрацию клеток и дал возможность рассылать сухие культуры малыми порциями, что существенно повлияло на их стоимость.

Опыты применения чистых культур, которые не нашли отражения в специальной литературе, имели место не только в научных исследованиях, но и в практическом сыроварении. Так, С.А.Северин сообщает о распространении практического применения чистой культуры обычного молочно-кислого микроба *Bacterium lactis acidii* (современное название *Lactococcus lactis subsp. lactis*) [7,8].

С.А.Королёв (1874-1932) – профессор, зав. кафедрой микробиологии Вологодского молочно-хозяйственного института выдвинул предпосылки к рациональному подбору культур для сыроделия. По его мнению, большое значение должен иметь видовой и штаммовый состав микрофлоры закваски, так как энергия, а отчасти и направление процесса определяются не только количеством действующих клеток, но и их специфическими особенностями [9].

Таким образом, в промышленном масштабе чистые заквасочные культуры используются активно с 20-30-х годов XX века. Но только в конце 50-х годов [4] фаголизис – как причина торможения или полного прекращения молочнокислого процесса, несмотря на отличное качество молока сырья, был зарегистрирован и описан. Можно предположить, что около 30 лет использования чистых культур на молокоперерабатывающих предприятиях понадобилось, чтобы фаговая ситуация достигла угрожающих качеству продукта масштабов.

Некоторое улучшение фаговой ситуации в нашей стране произошло в начале XXI века с применением импортных коммерческих бактериальных препаратов (БП), что можно объяснить несхожестью фаготипов штаммов, включаемых в БП из коллекций не имеющих близкородственные штаммы, а также беспересадочным способом их применения (закваски прямого внесения DVS).

Автору известно, что первый случай фаголизиса произошёл только в 2013 году на крупном молокозаводе Северо-Западного региона при десятилетнем использовании заквасок прямого внесения DVS Компания Chr. Hansen и использовании ротации 2x3 (смена партии через каждые два дня, чередование трёх партий).

На многих молокозаводах, во избежание фаголизиса используют БП сразу нескольких производителей в одном коротком цикле ротации, способствуя накоплению на предприятии вирионов, гомологичных коллекционным культурам большого числа производителей БП, при котором многократно увеличиваются мутации бактериофагов, вследствие наличия одновременного нахождения на предприятии бактерий-хозяев для их естественной ампликации.

Актуальность совершенствования вопроса фагового мониторинга связана со следующей ситуацией:

1. Трудность контроля молока-сырья, заквасок, молочной сыворотки и др. объектов, где бактериофаг в угрожающих молочнокислому процессу количествах обнаруживается чаще всего (контрольные критические точки (ККТ)). Несмотря на то, что методы индикации фага разработаны [10-13] и прописаны в Методических рекомендациях по организации производственного микробиологического контроля на предприятиях молочной промышленности [14], в отсутствие индикаторных культур к бактериофагам вирулентным по отношению к штаммам импортных заквасок, такой контроль практически недоступен промышленным лабораториям, т.к. требует проведение сложной операции получения индикаторных культур, что под силу лишь нескольким научно-исследовательским лабораториям [13,15]. В этом случае внешний фаговый мониторинг, закрепленный за производителями БП (российскими или зарубежными) – оптимальный путь контроля, если поставщик БП заинтересован в продвижении своего продукта на российском рынке.

2. Отсутствуют обновлённые методические рекомендации по противофаговой дезинфекции помещений с учетом изменения фаговой обстановки, появления новых облучателей дезинфицирующих композиций и способов их аппаратного использования (тонкодисперсное распыление, распространение волной ультразвука и др.), по организации ротации заквасок на предприятии, проведении системы мер, предупреждающий фаголизис и переход на короткий ротационный цикл.

3. Внедряемые на молокоперерабатывающих предприятиях системы ХАССП не содержат схемы санитарной обработки с противофаговыми корректирующими действиями (системой мер), пример которой приведён на рисунке 1.

4. Созданию физических (ультрафиолетовое облучение, обработка паром и другие варианты прогрева) и химических условий инактивации фагов необходимо уделять повышенное внимание, по сравнению с санитарно показательными микроорганизмами. Например, фаги *L. paracasei* и *L. helveticus* и других кисломолочных бактерий инактивируются при гомогенизации в

условиях высокого давления, специальных температурных режимов, в присутствии надуксусной кислоты или химических биоцидов групп А (хлорид четвертичного аммония), С (щелочная хлоридная пена) и Е (этоксилированный нонифенол и фосфорная кислота) [15,16].

5. И наконец, сама система противофаговых мер даже в основных контрольных критических точках (ОККТ) не может быть эффективно реализована на предприятии, поскольку постановка вопроса, что явилось причиной снижения скорости (или остановкой) молочнокислого процесса, как указывалось в п. 1, становится прерогативой внешнего фагового мониторинга поставщика заквасок, методы, некогда описанные в рекомендациях для внутреннего фагового мониторинга [11,13] (рисунок 2), в настоящее время не могут быть реализованы на самом предприятии. Внешний фаговый мониторинг теряет оперативность по сравнению с внутренним, поэтому не может претендовать на исключительное право.

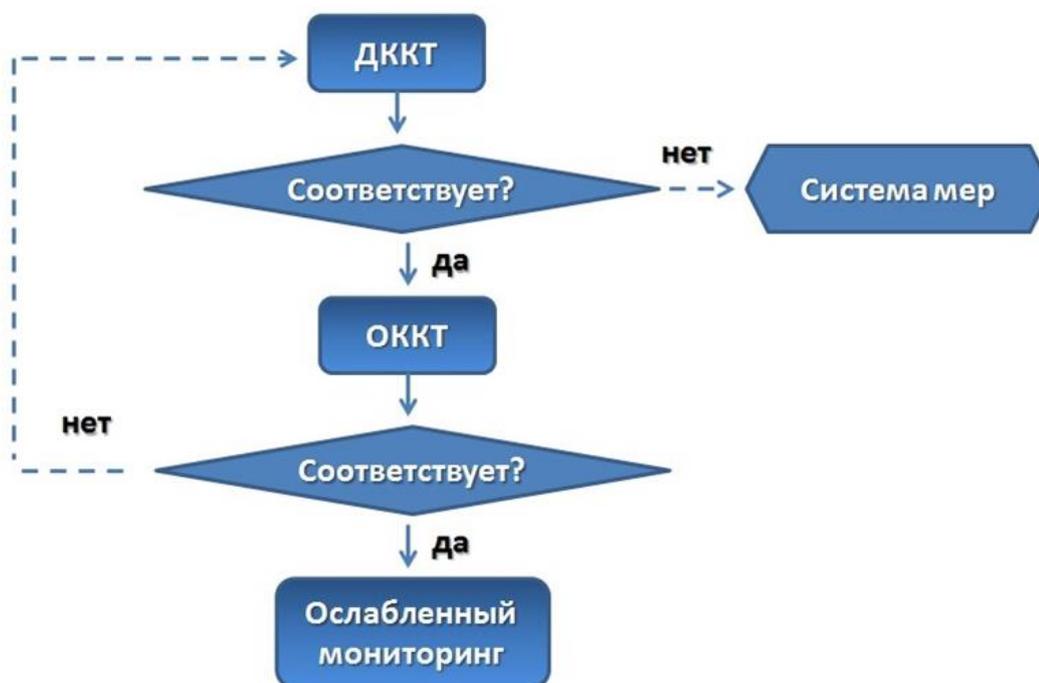


Рисунок 1 – Пример схемы фагового мониторинга на молокоперерабатывающем предприятии в рамках системы ХАССП
ОККТ – основные контрольные критические точки (внутренний фаговый мониторинг), ДККТ – дополнительные контрольные критические точки – внешний фаговый мониторинг [17].

Исходя из готовности многих производителей БП, подтверждаемой микробиологами молочной промышленности [18] на ежегодно проводимых в Вологодской ГМХА курсах повышения квалификации, а также исходя из заявления эксперта Chr.Hansen, внешний и внутренний мониторинг бактериофага – условие эффективного фагового контроля на молокоперерабатывающих предприятиях [19].

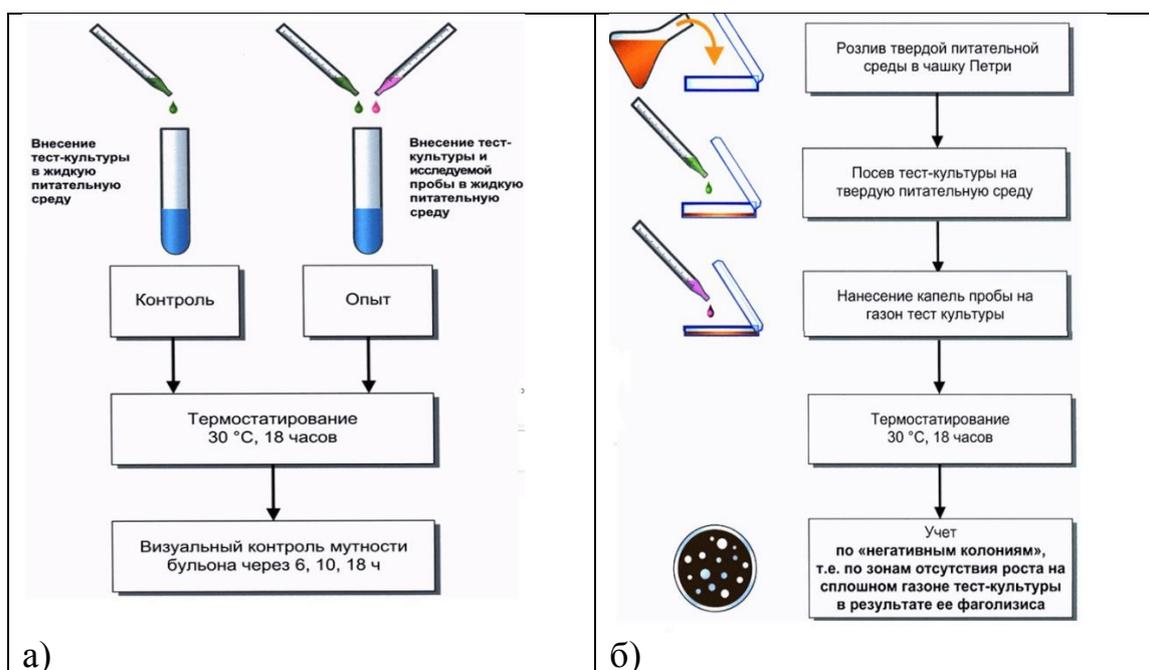


Рисунок 2 – Схемы индикации фага: а) на жидкой среде, б) на плотной питательной среде [13]

Выводы. Новые методические рекомендации внутреннего фагового мониторинга на сыродельных и молочных заводах, описывающие доступные и эффективные методы распознавания фаголизиса и противофаговые мероприятия, а также рекомендательные положения подключения внешнего фагового мониторинга (дополнительных контрольных критических точек) – настоящая необходимость, которую важно осуществить.

Список литературы

1. Accolas L.P., Veaux M. Bacteriophages of lactis starters // Technique Lai-tiere. 1983. № 976. P. 21-23, 25-28.
2. Marcó M.B., Moineau I.S. Author information Copyright and License information Disclaimer // Journal of Dairy Science. 1989. Volume 72, Issue 12. P. 3406-3428.
3. Garneau J.E., Moine S. Bacteriophages of lactic acid bacteria and their impact on milk fermentations // Microb Cell Fact 2011. № 10. P. 20 <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3231927/> (дата обращения: 10.04.2020).
4. Белоусова Н.Н. Бактериофаг в молочной промышленности // М.: Пищепромиздат, 1959. 59 с.
5. Гудков А.В., Перфильев Г.Д., Сорокина Н.П. и др. Развитие кишечной палочки при поражении заквасочной микрофлоры бактериофагом // Молочная и мясная промышленность. 1984. № 8. С. 8-10.
6. Ганина В.И. Влияние бактериофагов на формирование органолептических свойств молочных продуктов // Переработка молока. 2003. № 7 (45).
7. Полянская И.С. Сорокина Н.П., Попова В.Л. Исследование бактериофага в молочной промышленности в России // Современная наука и инновации. 2019. № 1 (25). С. 193-198.

8. Polyanskaya I.S., Sorokina N.P., Popova V.L., Starter culture phagolysis in dairy industry *Journal of Hygienic Engineering and Design*. 2019. Vol. 29, P. 41-45. <http://jhed.mk/categories/view/480/457> (дата обращения: 10.04.2020).
9. Твердохлеб Г.В., Шемякин В.О., Сажин Г.Ю. и др. Вологодское маслоделие: История развития: Моногр. СПб.ГУНиПТ. СПб.: Изд-во СПб.ГУНиПТ, 2002. 246 с.
10. Протасова И.С., Перфильев Г.Д., Гудков А.В., Рогов Г.Н. Фаговый мониторинг в системе интегрального микробиологического контроля в сыроделии // Вклад науки в развитие сыроделия и маслоделия. Углич. 1994. С. 202.
11. МУ ВНИИМС-4.1.002-97 Методические рекомендации по проведению фагового мониторинга на сыродельных предприятиях. 82 с.
12. Ткаченко В.В., Одегов Н.И., Дорофеев Р.В. Моделирование взаимодействия фаговых ассоциаций и заквасочной микрофлоры сыродельных предприятий. Часть 1. Литическая активность фаговых ассоциаций // Техника и технология пищевых производств. 2017. № 1. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/modelirovanie-vzaimodeystviya-fagovyh-assotsiatsiy-i-zakvasochnoy-mikroflory-syrodelynyh-predpriyatiy-chast-1-liticheskaya-aktivnost-1> (дата обращения: 10.04.2020).
13. МР 2.3.2.2327-08 Методические рекомендации по организации производственного микробиологического контроля на предприятиях молочной промышленности (с атласом значимых микроорганизмов) [Электронный ресурс]. — URL: <http://docs.cntd.ru/document/1200075166> (дата обращения: 10.04.2020).
14. Сорокина Н.П., Перфильев Г.Д. Активность заквасочной микрофлоры: причины снижения и способы повышения. Методы предотвращения поражения молочнокислых бактерий бakteофагами. // Молочная промышленность. 2014. № 1. С. 32-35.
15. Лахтин В.М., Алешкин А.В., Лахтин М.В. и др. Бактериофаги и молочнокислые бактерии. Обзор // *Acta Biomedica Scientifica*. 2012. №5-1 (87). [Электронный ресурс]. — URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/bakteriofagi-i-molochnokislye-bakterii-obzor> (дата обращения: 10.04.2020).
16. Mercanti D.J. et al. Resistance of two temperate *Lactobacillus paracasei* bacteriophages to high pressure homogenization, thermal treatments and chemical biocides of industrial application // *Food Microbiol.* 2012. Vol. 29. P. 99-104.
17. Полянская И.С., Семенихина В.Ф. Фаговый мониторинг на молочном производстве // Молочная промышленность. 2018. № 9. С. 40-42.
18. Курсы повышения квалификации "Микробиология молока и молочных продуктов. Организация микробиологического контроля. Правила безопасности при работе с микроорганизмами 3-4 групп патогенности" [Электронный ресурс]. — URL: https://molochnoe.ru/media/anons/2019/kpk_mikrobio_milk_2019 (дата обращения: 10.04.2020).
19. Грегори Розе, эксперт в области ингредиентов и технологий для сыроделия, Chr.Hansen // Выставка DairyTech «Молочная и мясная индустрия» Доклад (неопубл.) 11.02.20 г.