

DOI: 10.24411/9999-008A-2020-10004

УДК 664

Полянская И.С., к.т.н., доцент кафедры технологии молока и молочных продуктов, Вологодская ГМХА



## ФАГОЧИПИРОВАНИЕ КАК СПОСОБ ЗАЩИТЫ ПРАВ НА ФЕРМЕНТИРОВАННЫЕ МОЛОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ

**Аннотация.** Многие производители высококачественных ферментированных молочных продуктов, в частности сыров, задумываются о методах защиты своего продукта от подделок, подрывающих репутацию фирмы. Бактериофаг – существенно устойчивее, по сравнению с заквасочными микроорганизмами, которые при длительном созревании сыра практически полностью погибают в продукте. Бактериофаг, даже при отсутствии возможности размножиться в сыре может сохраняться годами. Предложено фагочипирование заквасочных штаммов, т.е. анализ использованной для производства закваски по остаточному бактериофагу в продукте.

**Abstract.** For many manufacturers of high-quality fermented dairy products, in particular cheeses, the problem of anti-counterfeit technologies that can defend the company's reputation is becoming more relevant. Bacteriophage is significantly more stable, compared with starter microorganisms, which almost completely die in the product if the cheese needs a long period for ripening. Bacteriophage can be kept in cheese over years, even under conditions that are inappropriate for multiplying. The author proposes to use phage chipping of starter strains, i.e. analysis of whether a unique ferment has been used to produce the residual bacteriophage in the product.

**Ключевые слова:** бактериофаг, фагочипирование, сыроделие.

**Key words:** bacteriophage, phage chipping, cheese making.

Развитие технологий ферментированных молочных продуктов, в частности сыроделия, носит непрерывный характер. Известно, что именно с используемыми заквасочными штаммы связывают большинство полезных изменений, происходящих с молоком при выработке кисломолочных продуктов и сыров. Часто производители используют в качестве заквасочных – собственные патентованные культуры, которые необходимо защищать не только от несанкционированного использования другими производителями, но охранять марку самого продукта от подделок-имитаций [1]. Ясно, что такая защита должна быть многоуровневой.

В частности в настоящее время исследования по способам защиты своих культур ведутся в Цюрихском университете, Швейцарском государственном техническом институте ETH, Федеральной исследовательской станция Agroscope [1].

Известно, что даже среди природных культур одного вида могут быть уникальные культуры, обладающие более высокими качествами, среди которых определяющими их производственной и пробиотической ценностью могут быть [2-5]:

- антагонистическая активность заквасочных бактерий в отношении технической, патогенной и условно-патогенной микрофлоры обусловленная их способностью синтезировать антибиотические вещества (лактаины, лантабиотики и др.), перекись водорода, лизоцим и др. метаболиты;

- высокая кислотообразующая активность в сочетании со стоп-окислительным эффектом, или способность к ограничительному накоплению кислых продуктов ферментации; сообщающих готовому продукту излишне кислый вкус;

- способность образовывать ароматические вещества (диацетил, ацетоин и др.);

- иммуномодулирующие свойства с помощью различных механизмов;

- способность образовывать супероксиддисмутазу:

- протеолизитические или липолитические свойства штаммов,

- относительно кислото-, желче- и ферментативно устойчивые в требуемом диапазоне значений, характеризующим ЖКТ группы лиц, для которых пробиотик предназначен;

- возможность использования штаммов в консорциуме, без подавления, как друг друга, так и без угнетения индигенной нормобиоты человека;

– возможность капсулирования или «квазикапсулирования» как методы повышения выживаемости в ЖКТ и/или уменьшения возможных антагонистических взаимоотношений с индигенной нормобиотой у некоторых лиц;

– колонизационная резистентность (КР), или способность заселять слои, прилежащие к клеткам ворсинок в дистальных отделах тонкого и толстого кишечника, участвуя в процессах пищеварения, детоксикации субстратов, обеспечивая питание клеток слизистой оболочки, препятствуя её заселению патогенной и условно-патогенной микрофлорой;

Надземные части растений (стебли, листья, цветы), особенно прикорневая зона, является одним из объектов выделения молочнокислых бактерий, бифидобактерий, пропионовокислых культур и др. При отборе образцов для выделения, исходит из следующего основного положения: эпифитная микрофлора культурных растений, ягод, овощей и фруктов представлена большим разнообразием видов и большей плотностью популяции (до  $10^6$  КОЕ/г), чем диких (до  $10^3$  КОЕ/г) [3]. Самоквасные молочные продукты, биотопы животных и человека – также являются источниками новых молочнокислых штаммов.

Гетерогенность культур одного вида по основным отбираемым признакам позволяет отбирать лучшие. Еще более гетерогенны по перечисленным свойствам культуры, отобранные селекцией. Так, например, методами селекции (которые не превращают микроорганизмы в ГМО, т.к. не используется межвидовой перенос генов) получали увеличение протеолитической активности в 2,5-4,6 раза, повышение кисло-



тообразования в 3-4 раза, увеличение образования ароматических веществ – до 5 раз [3].

К методам исследования безопасности пробиотических штаммов относят также изученный профиль внехромосомных элементов (плазмид, транспозонов, бактериофагов и др.). При наличии внехромосомных элементов должна быть охарактеризована и доказана их неспособность к генному трансферу и др. [5].

В последнее время для более четкой дифференцировки микроорганизмов на уровне рода и вида (подвида), когда биохимические и основанные на молекулярно-биологических подходы ПЦР-диагностики недостаточны, предлагают использовать, наряду с определением последовательностей нуклеотидов (секвенированием), многокоординатную таксономию. Более тонким методом оценки генетического сходства организмов является метод молекулярной гибридизации нуклеиновых кислот, с помощью которого определяют число и степень сходства гомологичных участков в геномах сравниваемых видов [7].

Фагочипирование предложено нами, как дополнительный, сравнительно простой, уровень защиты ферментированного продукта от подделки.

Основные положения, характеризующие актуальность, цели, задачи, условия и методы исследований – при использовании такого способа:

– многие виды сыров (кроме свежих) к концу своего созревания не содержат в своём составе исходные заквасочные микроорганизмы, поэтому биохимические и молекулярно-биологические методы выявления (использовалась ли патентованная закваска) – невозможны;

– тоже относится к термизованным продуктам, которые предпочтительны, если пробиотический эффект связан с метаболитами культур, выделяющихся, преимущественно в результате лизиса клеток при термизации (эндо-метаболиты),

– в перечисленных выше случаях целью является нахождение в продукте таких биомаркеров, которые бы служили подтверждением оригинальности продукта, в частности использования патентованной закваски;

– бактериофаг остаётся жизнеспособным, как показали наши исследования, при  $(73 \pm 1)^\circ\text{C}$  в течение 20-30 с, так и при  $(65 \pm 1)^\circ\text{C}$  в течение  $(30 \pm 1)$  мин и всегда может быть выделен из сыров, независимо от срока его созревания (рис. 1);

– для работы с бактериофагом, как вирусом, абсолютно безопасным для человека, и представляющим собой природный механизм обмена удачными «эволюционными находками» [1], не требуется аккредитация работающим с ним лаборатории, на том уровне, как для работы с патогенными микроорганизмами;





а) индикация чашечным методом



б) бактериофаг В1 типа



в) бактериофаг В2 типа

**Рисунок 1. Бактериофаги заквасочных микроорганизмов**

– индикации бактериофага к эксклюзивным заквасочным штаммам в кисломолочном продукте или сыре, чашечным методом (рис. 1а) является довольно простой и точной; и может быть дополнена, в случае необходимости, классификационными характеристиками выделенных вирионов (рис. 1б, 1в);

– не имея лицензированных культур (из сыра с длительным сроком созревания их не выделить), бактериофаг к этим культурам поддельному производителю не размножить с целью имитации оригинального продукта;

– развитие относительно недорогих методов ПЦР-диагностики, предполагающих амплификацию генетического материала, располагает к последующей унификации этого метода (фагочипирования) для выявления в торговой сети продуктов-фальсификатов, в том числе для продуктов не содержащих заквасочные культуры, но содержащих гомологичный к ним бактериофаг.

Таким образом, фагочипирование может иметь место при разработке способов защиты патентованных заквасочных культур.

**Литература**

1. Agroscope создаёт ДНК швейцарских сыров <http://nashagazeta.ch/news/le-coin-dugourmet/agroscope-sozdaet-dnk-shveycarskih-syrov>.
2. Polyanskaya I., Semenikhina V., Popova V. Quasicapsulation of probiotics // Journal of Hygienic Engineering and Design. – 2018. – Vol. 24, no. September. – P. 31–38. <http://jhed.mk/filemanager/JHED%20Vol.%2024/03.%20FPP/01.%20Full%20paper%20-%20Irina%20Polyanskaya.pdf>.
3. Тераевич А.С., Полянская И.С., Корюкина М.В. и др. Эффективные пробиотики в животноводстве. Подбор, получение и применение // Saarbrücken, 2016. – 128 с.
4. Bio-elements in functional foods / I. Polyanskaya, A.Teraevich, P. Valentina et al. / Journal of Hygienic Engineering and Design. – 2017. – Vol. 21. – P. 70–76. <http://jhed.mk/filemanager/JHED%20Vol.%2021/03.%20FPP/05.%20Full%20paper%20-%20Irina%20Polyanskaya.pdf>.
5. МУ 2.3.2.2789-10. 2.3.2. Продовольственное сырье и пищевые продукты. Методические указания, по санитарно-эпидемиологической оценке, безопасности и функционального потенциала пробиотических микроорганизмов, используемых для производства пищевых продуктов. – Законодательство России, подп. Онищенко Г.Г. 2010 г.
6. Лысак В.В. Микробиология: учеб. пособие / В. В. Лысак. – Минск БГУ, 2007. – 426 с.

**ПИЩЁВКА ED**

3-я ОТРАСЛЕВАЯ БИЗНЕС-КОНФЕРЕНЦИЯ для РУКОВОДИТЕЛЕЙ ПИЩЕВЫХ ПРЕДПРИЯТИЙ

28-30 АПРЕЛЯ 2020, отель Bridge Resort SPA 4\*, СОЧИ



ПИЩЁВКА 3D это:  
**250+** участников  
**30** отраслевых спикеров  
**3** дня сессии, дискуссии, кейсы  
**3** отрасли: хлеб/кондитерка, мясо, молоко



«Передовые руководители стремятся к общению с коллегами, делятся опытом, принимают внешний опыт - это факт. Пищёвка 3D - это супер формат конференции, круглого стола. Всем рекомендую посещение и участие.»  
 - **Руслан Шахбанов**, генеральный директор **Костромской Мясокомбинат**



«... Так держать. Приятно удивлен!»  
 - **Владимир Зюков**, генеральный директор компании **Нева Милк**



«ПИЩЁВКА 3D – это событие, где стерта граница между сценой и залом! Возможность встретиться с коллегами, провести переговоры, получить инсайты и зарядиться энергией Сочи»  
 - **Роман, Калинин**, генеральный директор компании **ВАТЕЛЬ МАРКЕТИНГ**

[www.pischevka3d.ru](http://www.pischevka3d.ru)  
 +7 (812) 600-19-75  
 +7 (962) 686-60-42  
 info@vatelmarketing.ru



**-10% с промокодом: AGROFORUM**

