



Бактериофаги – невидимый враг молочных продуктов

О бактериофагах

Бактериофаги были обнаружены в начале XX века Фредериком Твортом (1915) и Феликсом д'Эрелем (1917). Но именно Дерелль описал вновь обнаруженные микроорганизмы как «бактериофаги» и доказал, что они являются вирусами.

- » Считается, что первое научное описание деятельности бактериофагов принадлежит Эрнесту Ханкину, который наблюдал бактериолитические свойства воды из реки Ганг (Индия) во время эпидемии чумы.
- » Бактериофаги являются самыми многочисленными существами в биосфере. Предполагается, что число их приближается к 10^{31} . Они существуют там, где живут их хозяева - бактерии. В окружающей среде содержится от 5 до 10 фаговых частиц на одну бактериальную клетку.
- » С биологической точки зрения фаги не являются живыми организмами, а представляют собой комплексы нуклеопротеинов - композитных частиц, состоящие из нуклеиновых кислот ДНК или РНК и белков. Фаги не имеют клеточного строения и не обладают метаболизмом, но в тоже время состоят из молекул, характерных для живых организмов.
- » Способность фагов к размножению впечатляет: 1 фаг может превратиться в 100 000 000 фагов за 2,5 часа. Таким образом, заражая клетку-хозяина, бактериофаги обычно вызывают ее гибель. Однако, они не проявляют никакой активности вне клетки и не могут расти самостоятельно, являясь патогенами только для своих хозяев.
- » Фаги одного типа, как и другие вирусы, способны поражать клетки только одного вида, иногда даже одного штамма. Поэтому, потребление их в пищу не представляет никакого риска для потребителя.
- » Некоторые фаги, которые поражают патогенные бактерии, используются для сохранения пищевых продуктов, а также в терапевтических целях.

Кисломолочные продукты занимают большую долю в мировой биотехнологии

Производственные процессы в молочной промышленности основаны на использовании заквасочных культур для сквашивания молока и получения продукта с определенной текстурой, ароматом и вкусом. Наиболее часто применяют *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus* и отдельные виды рода *Lactobacillus* (в основном *Lb. delbrueckii* и *Lb. helveticus*). В большинстве своем молочнокислые бактерии чувствительны к бактериофаговым инфекциям.

На молочных предприятиях основными источниками бактериофагов являются сырое молоко, которое содержит фаговые частицы, и бактерии, в которых находятся профаги. Сырое молоко, поступающее непосредственно с фермы, может содержать до 10^6 фагов на 1 литр. Другим источником фагов является заквасочная культура неизвестного происхождения или с неопределенным штаммовым составом.

Самыми распространенными фагами молочнокислых бактерий являются фаги *Lactococcus* и *St. thermophilus*. Гораздо менее подвержены инфицированию фагами штаммы *Lactobacillus*.

Вторичное инфицирование может происходить из окружающей среды (воздух, загрязненная рабочая одежда, поверхности и производственные помещения).

Обнаружение бактериофагов молочнокислых бактерий

Развитие бактериофага является одним из самых проблемных биологических процессов, который влияет на ферментацию и рост бактериальной культуры, а также ее метаболическую активность. В зависимости от стадии производственного процесса, на котором будет идти инфицирование, последствия могут быть разными. Фаговая атака заквасочной культуры может вызвать замедление сквашивания и даже остановку процесса, приводящее к недостаточному кислотообразованию, что способствует росту патогенной микрофлоры, формированию неплотной структуры, а также появлению неприятных запахов в продукте. В конечном итоге это снижает качество готового продукта или может привести к потере всей партии товара. Раннее обнаружение присутствия фагов в сыром молоке и в ферментационных танках позволяет ограничить потенциальные потери.

Фагоустойчивые закваски

Одним из наиболее эффективных способов защиты от повышения уровня бактериофага на предприятии является использование фагоустойчивых заквасок. У молочнокислых бактерий возникли системы защиты от фагов, которые действуют на разных стадиях цикла репликации фагов. Эти системы обычно кодируются на плаزمиде (мобильных генетических элементах), что позволяет легко переносить их на другие бактериальные штаммы. Таким образом у чувствительных к фагам штаммах вырабатывается иммунитет.

Адаптация бактериофагов к технологическим условиям

Бактериофаги могут сохраняться в производственной среде в течение длительного времени и адаптироваться к неблагоприятным условиям, таким как термическая и химическая обработка.

Было доказано, что некоторые фаги *Lb. Paracasei* и *Lb. delbrueckii* не инактивируются в восстановленном обезжиренном молоке при нагревании до 90 °C в течение 30 минут.

Еще одной особенностью, которая является результатом адаптации фагов, является снижение чувствительности к дезинфицирующим средствам, таким как гипохлорит натрия и надуксусная кислота. Это вынуждает предприятия применять различные ротационные программы в области санитарии.

Бактериофаги также постоянно эволюционируют для того, чтобы преодолеть механизмы иммунитета устойчивых к фагам штаммов. Следовательно, проблема фагового инфицирования не может быть решена универсальным образом, а методы профилактики должны постоянно совершенствоваться.

Стратегии фагового контроля

Бактериофаги являются источником существенных финансовых потерь для молочных заводов, они вызывают неконтролируемое сквашивание, которое влияет на работу предприятия. В результате возникает риск снижения качества конечного продукта.

В отдельных случаях фаги могут вызвать полную остановку процесса ферментации, которая, например, при производстве творога приводит к потере довольно большого количества сырья. Ввиду огромного разнообразия бактериофагов, встречающихся в сыром молоке, и их общей устойчивости к термической обработке, поддержание нулевого уровня фагов на предприятии является невыполнимой задачей. Таким образом, единственный способ защиты от потерь - это соблюдение санитарно-гигиенических процедур и технологических рекомендаций, а также использование устойчивых к фагам заквасочных культур.

Концентраты сывороточных белков часто могут содержать фаги. Поэтому при использовании этих продуктов в производстве заквашивание рекомендуется проводить разными заквасочными культурами. Это особенно важно в случае применения сывороточных продуктов, полученных в результате ферментации с использованием природных культур. Природные закваски часто

содержат бактериофаги, которые представляют серьезную угрозу определенным заквасочным культурам, часто состоящим из небольшого числа штаммов.

Одной из причин высокого содержания бактериофагов в сыром молоке является практика использования одних и тех же цистерн для транспортировки сыворотки и молока. Так как бактериофаги чрезвычайно устойчивы к высоким температурам, то они легко выдерживают температуры пастеризации, особенно при производстве творога и сыра. Исследования показали, что тепловая обработка при 90°C в течение 20 мин. инактивирует большинство бактериофагов.

Важно понимать, что использовать подсырные сливки для нормализации молока необходимо с большой осторожностью. Для безопасного применения подсырных сливок в производстве нужно соблюдать такие же правила как и при работе с сывороткой. Перед использованием сливки рекомендуется стерилизовать.

Основные причины развития бактериофага на предприятии:

- » некорректные процедуры обработки и дезинфекции производственных линий и производственных помещений;
- » отсутствие планирования работы с фагами на предприятии на стадии проектирования объектов и производственных линий;
- » неправильная ротация и дозирование заквасочных культур;
- » транспортировка молока и сыворотки в одних и тех же цистернах;
- » использование подсырных сливок для нормализации молока;
- » снижение дозировки заквасок;
- » использование одних и тех же цистерн для транспортировки сыворотки и молока.

О мойке и дезинфекции

Молочные заводы иногда проводят химическую дезинфекцию с использованием реагентов, которые эффективны против нежелательных микроорганизмов, но не эффективны в борьбе с бактериофагами. Химическая дезинфекция должна быть обязательным этапом обработки оборудования, особенно это касается ферментационных танков. Многочисленные исследования подтверждают эффективность работы двух реагентов:

- » гипохлорит натрия в концентрации 0,75% (необходимо помнить что этот ингредиент очень агрессивен даже для нержавеющей стали);
- » надуксусная кислота в концентрации 0,02% (часто используется в сочетании с перекисью водорода).

Указанные концентрации относятся к стандартному процессу дезинфекции. В случае фаговой атаки дозировки реагентов повышают в 2 раза.

Необходимо проводить дезинфекцию производственных помещений вышеупомянутыми реагентами с использованием фумигационных установок с периодичностью обработки один раз в 1-2 недели в зависимости от типа производимого продукта и технологии производства. В момент обработки персонал в помещении должен отсутствовать. В случае фаговой атаки частота обработки должна быть увеличена.

При проектировании объектов и производственных линий необходимо планировать последующую работу с бактериофагом. Все процессы обработки сыворотки или пермеата следует строго разделять с процессами ферментации. Это правило также относится и к оборудованию, используемому для осветления сыворотки.

Установка закрытых производственных линий, включая закрытые сыроизготовители, значительно

снижает риск фаговой атаки. Кроме того, необходимо предусмотреть оборудование для фильтрации воздуха в помещениях.

Также важно предотвращать неконтролируемое перемещение персонала между цехом переработки сыворотки и цехом ферментации.

Для линий по транспортировке и обработке сыворотки или пермеата необходимо использовать отдельной станции CIP мойки. Моющие средства не уничтожают бактериофаги, которые в последствии с легкостью обнаруживаются в моющих растворах. Следовательно, использование одной и той же станции для мойки линии молока и сыворотки представляет серьезную опасность.

К вопросу о ротации культур

Правильная ротация заквасок - это система, к которой следует подходить очень индивидуально, принимая во внимание тип и условия производства. Универсального правила ротации не существует. Система ротации культур - это использование культур, принадлежащих к различным фаговым группам. Ее принцип состоит в том, чтобы на производстве применять одну культуру как можно дольше, не подключая другие ротационные культуры. Затем переходят к использованию второй культуры из предложенного ротационного ряда в течение следующего периода времени и так далее.

Предприятиям также рекомендуется иметь резервные культуры. Резервная система культур означает применение культур, принадлежащих к другой фагоальтернативной группе по сравнению с основными ротационными культурами. Такие культуры держатся в резерве. Их главная цель - заменить ту культуру в ротации, которая подверглась фаговой атаке.

Снижение дозировки заквасок может также привести к риску возникновения фаговой атаки. Следует помнить, что бактериофаги размножаются намного быстрее, чем бактерии, и, следовательно, чем меньше бактерий в начале ферментации, тем легче они будут уничтожены бактериофагами.

Бактериофаги являются одной из самых серьезных технологических угроз для современной молочной промышленности. Постоянное увеличение производственных мощностей вызывает проблему бактериофагов, которая со временем будет становиться все более острой. Если не уделять достаточного внимания управлению уровнем фага, то последствия могут быть очень серьезными вплоть до нарушения взаимоотношений между компаниями. Вовремя принятые меры могут свести риск серьезного ущерба от фаговой атаки до минимума.

Возьмем вместе под контроль бактериофаги!

Ирина Лапшевич

менеджер по работе с ключевыми клиентами "Хр. Хансен"