

УДК 637.146 : 579.67 : 613.2

ОБГРУНТУВАННЯ СКЛАДУ ЗАКВАШУВАЛЬНОЇ КОМПОЗИЦІЇ ДЛЯ ВИРОБНИЦТВА АЦИДОФІЛЬНИХ КИСЛОМОЛОЧНИХ ПРОДУКТІВ ДЛЯ ДИТЯЧОГО ХАРЧУВАННЯ

Дідух Н.А., д-р техн. наук, професор, Авершина А.С., аспірантка
Одеська національна академія харчових технологій, м. Одеса

У роботі наведено основні етапи розробки складу заквашувальної композиції з *Lactobacillus acidophilus* La-5 та змішаних культур *Bifidobacterium* з використанням фруктози як біфідогенного фактора для виробництва ацидофільних кисломолочних продуктів для дитячого харчування.

In work necessity is shown and the basic design of composition of a symbiotic complex with *Lactobacillus acidophilus* La-5 and *Bifidobacterium* with use of fructose as bifidogenic factor for the production of acidophilic milk products for infant nutrition.

Ключові слова: дитяче харчування, біфідобактерії, ацидофільні кисломолочні продукти, біфідогенний фактор, заквашувальна композиція, ферментація, пробіотичні властивості.

Постановка проблеми і її зв'язок із найважливішими науковими та практичними завданнями.

Впродовж останніх років в Україні спостерігається тенденція до збільшення народжуваності, що веде до збільшення кількості немовлят та дітей віком до трьох років, яким необхідно споживати продукти зі збалансованим складом [1]. Сьогодні обсяг ринку молочних продуктів дитячого харчування складає близько 1,5 млн. тонн; при цьому біля 75 % продуктів дитячого харчування в країну імпортується і лише 25 % представлено продукцією вітчизняних виробників [1–3].

Провідну роль у побудові імунітету дитини відіграють кисломолочні продукти. Завдяки вмісту в них молочнокислих та біфідобактерій вони підтримують баланс мікрофлори в кишечнику, захищаючи організм від інфекцій і вірусів [3, 4]. Регулярне вживання якісних кисломолочних продуктів є обов'язковою умовою нормального розвитку дитини. Особливе місце серед кисломолочних продуктів для дитячого харчування посідають ацидофільні кисломолочні продукти завдяки наявності у їхньому складі живих культур *Lactobacillus acidophilus*. Однак високий рівень кислотності ацидофільних кисломолочних продуктів для дитячого харчування суттєво знижує їхні споживчі характеристики. Введення до складу заквашувальних композицій для виробництва ацидофільних кисломолочних продуктів для дитячого харчування біфідобактерій дозволило б суттєво підвищити їхні пробіотичні й імуномодулюючі властивості, а також знизити рівень кислотності [5].

Кишечник малюків колонізують біфідобактерії трьох видів – *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium infantis* [5, 6]. *Bifidobacterium bifidum* переважає у кишечнику дітей, *Bifidobacterium longum* ідентифікують у 40-60 % малюків, *Bifidobacterium infantis* – у 20-25 % малюків [6].

На кафедрі технології молока та сушіння харчових продуктів ОНАХТ розроблено заквашувальну композицію зі змішаних культур (ЗК) біфідобактерій для виробництва продуктів для дитячого харчування [7]: *B. bifidum* + *B. longum* + *B. infantis* у співвідношенні 1:1:10.

Метою даної роботи стало визначення раціонального співвідношення між МК *Lactobacillus acidophilus* La-5 та ЗК *B. bifidum* + *B. longum* + *B. infantis* у складі заквашувальної композиції для виробництва ацидофільних кисломолочних продуктів для дитячого харчування.

У роботі вирішувалися такі **завдання**:

- дослідження процесу ферментації стерилізованого молока, збагаченого фруктозою, заквашувальними композиціями із МК *Lactobacillus acidophilus* La-5 та ЗК *B. bifidum* + *B. longum* + *B. infantis*;
- дослідження процесу зберігання ферментованих згустків, отриманих із використанням заквашувальних композицій із МК *Lactobacillus acidophilus* La-5 та ЗК *B. bifidum* + *B. longum* + *B. infantis*;
- обґрунтування раціонального співвідношення між МК *Lactobacillus acidophilus* La-5 та ЗК *B. bifidum* + *B. longum* + *B. infantis* у складі заквашувальної композиції для виробництва ацидофільних кисломолочних продуктів для дитячого харчування.

Викладення основного матеріалу.

У роботі використовували МК *Lactobacillus acidophilus* La-5 у складі закваски безпосереднього внесення *FD DVS* La-5, адаптовані до молока МК *Bifidobacterium bifidum* 1, адаптовані до молока МК *Bifidobacterium longum* ЯЗ із колекції кафедри біохімії, мікробіології та фізіології харчування ОНАХТ та МК *Bifidobacterium infantis* 512, виділені з медичного препарату «Лінекс» і адаптовані до молока (адаптацію МК *Bifidobacterium* до молока здійснювали у відповідність з рекомендаціями, наведеними у [8, 9]).

Для експериментальних досліджень було складено чотири заквашувальні композиції: композиція 1 – співвідношення біфідобактерій та лактобацил 1:1, вихідна концентрація культур у молоці – $1 \cdot 10^5$ КУО/см³; композиція 2 – співвідношення біфідобактерій та лактобацил 1:1, вихідна концентрація культур у молоці – $1 \cdot 10^6$ КУО/см³; композиція 3 – співвідношення біфідобактерій та лактобацил 10:1, вихідна концентрація ЗК *Bifidobacterium* у молоці – $1 \cdot 10^6$ КУО/см³, МК *Lv. acidophilus La-5* – $1 \cdot 10^5$ КУО/см³; композиція 4 – співвідношення біфідобактерій та лактобацил 1:10, вихідна концентрація ЗК *Bifidobacterium* у молоці – $1 \cdot 10^5$ КУО/см³, МК *Lv. acidophilus La-5* – $1 \cdot 10^6$ КУО/см³.

При виконанні досліджень титровану кислотність зразків визначали титрометричним методом за ГОСТ 3624–92, активну кислотність – потенціометричним методом за ГОСТ 25754–85, температуру – за ГОСТ 25754–85, масову частку жиру – кислотним методом Гербера за ГОСТ 5867–90, умовну в'язкість згустку – за тривалістю витікання 100 см³ згустку з піпетки з вихідним отвором 5 мм, органолептичні показники – органолептично за ГОСТ 13264-88, кількість бактерій групи кишкових паличок – за ГОСТ 9225-84, кількість лактобацил – за ГОСТ 10444.11–89, кількість біфідобактерій – за методом, який ґрунтується на вирощуванні біфідобактерій у тіогліколевому середовищі, розлитому високим стовпчиком у пробірки, без доступу кисню [10].

Експериментальні дослідження проводили у два етапи: на першому етапі досліджували процес ферментації молока складеними заквашувальними композиціями з використанням біфідогенного фактора – фруктози; на другому – процес зберігання ферментованих згустків при температурі (4 ± 2) °С.

Для виключення впливу залишкової мікрофлори на розвиток мікроорганізмів, включених до складу заквашувальних композицій, дослідження проводили на стерилізованому молоці. У нормалізоване молоко до теплового оброблення вносили фруктозу; масова частка фруктози складала 0,1 % від маси молока [8, 9]. Стерилізацію нормалізованого молока здійснювали при температурі (120 ± 1) °С протягом (20 ± 1) хв., після чого охолоджували до температури ферментації – (37 ± 1) °С і вносили адаптовані до молока змішані культури біфідобактерій та МК *Lv. acidophilus La-5* у вказаних співвідношеннях.

У процесі біотехнологічного оброблення чотирьох експериментальних зразків складеними заквашувальними композиціями контролювали зміну титрованої і активної кислотності, умовної в'язкості (рис. 1), а також кількості життєздатних клітин ЗК біфідобактерій та МК *Lv. acidophilus La-5* (рис. 2, а, б) і розраховували питому швидкість росту клітин біфідобактерій та лактобацил (рис. 2, в, г).

Як свідчать дані, наведені на рис. 1, б, при ферментації стерилізованого молока складеними заквашувальними композиціями з використанням фруктози як бідогенного фактора, гелеутворення експериментальних зразків триває 7,0...8,0 год.; ізоелектричний стан білків молока відзначається через 7,0 год. для зразка 2 і через 8,0 год. для зразків 1, 3 та 4. Ізоелектричний стан білків молока досягається під впливом суміші молочної та оцтової кислот, що накопичуються адаптованими до молока ЗК біфідобактерій та МК *Lv. acidophilus* при розщепленні цукрів – фруктози і лактози. Титрована кислотність всіх зразків наростає поступово протягом 8-ми годин ферментації (рис. 1, а) і в кінці сквашування її рівень становить 60...70 °Т. Найвищу титровану кислотність через 8 годин ферментації має зразок 2, оскільки за цей час відзначається переквашування згустка (рН через 8 годин ферментації складає 4,42 од.); у зразках 1, 3 і 4 рівень титрованої кислотності відрізняється незначно: у зразках 1 і 3 кислотність нижча (60 і 63 °Т), відповідно, у зразку 4 – вища (66 °Т). Нижчий рівень титрованої кислотності отриманих ферментованих згустків у порівнянні зі згустками, які отримують ферментацією молока МК *Lv. acidophilus*, пояснюється тим, що до складу використаних в експерименті заквашувальних композицій входять біфідобактерії, які при зброджуванні цукрів накопичують суміш молочної й оцтової кислот, тоді як лактобацили накопичують лише молочну кислоту. Оцтова кислота є більш сильним електролітом, тому при однакових значеннях активної кислотності згустки, отримані ферментацією молока композиціями, до складу яких поряд з лактобактеріями входять біфідобактерії, мають нижчу титровану кислотність, ніж згустки, отримані ферментацією молока лактобактеріями.

Рівень в'язкості усіх зразків починає збільшуватися після 5-тої години ферментації (рис. 1, в): величина умовної в'язкості сквашених зразків 1 і 3 коливається у межах 56,2...59,5 с, зразок 4 має дещо вищу умовну в'язкість (64,5 с), найвище значення досліджуваного показника (79,8 с) має зразок 2.

Монокультури біфідобактерій, використані у експериментах, не є сильними кислотоутворювачами в порівнянні з лактобактеріями [5-7], але активність їхнього кислотоутворення підвищується у процесі адаптації до молока [9]. Питома швидкість росту ЗК біфідобактерій (μ) у складі композицій 2 та 4 з *Lb. acidophilus La-5* найнижча; протягом перших двох годин ферментації вона складає 1,11 та 1,06 год⁻¹, відповідно (рис. 2, в), тоді як у зразку 1 вона складає 1,31 год⁻¹, а у зразку 3 відзначається максимальне значення цього показника – 1,46 год⁻¹. З другої по четверту години ферментації питома швидкість росту ЗК біфідобактерій у складі композицій 2 та 3 складає 1,22 год⁻¹, а у зразках 1 та 4 вона складає 1,32...1,34 год⁻¹. Завдяки найвищій питомій швидкості росту ЗК біфідобактерій протягом перших двох годин ферментації кількість

життєздатних клітин біфідобактерій у ферментованому зразку 3 через 8 годин сквашування найвища – $(3,8 \pm 0,2) \cdot 10^9$ КУО/см³ (рис. 2, а). У зразках 1 та 2 кількість життєздатних клітин ЗК біфідобактерій у кінці ферментації складає $(7,3 \dots 7,8) \cdot 10^8$ КУО/см³, у зразку 4 вона найнижча – $(4,7 \pm 0,3) \cdot 10^8$ КУО/см³ (рис. 2, а).

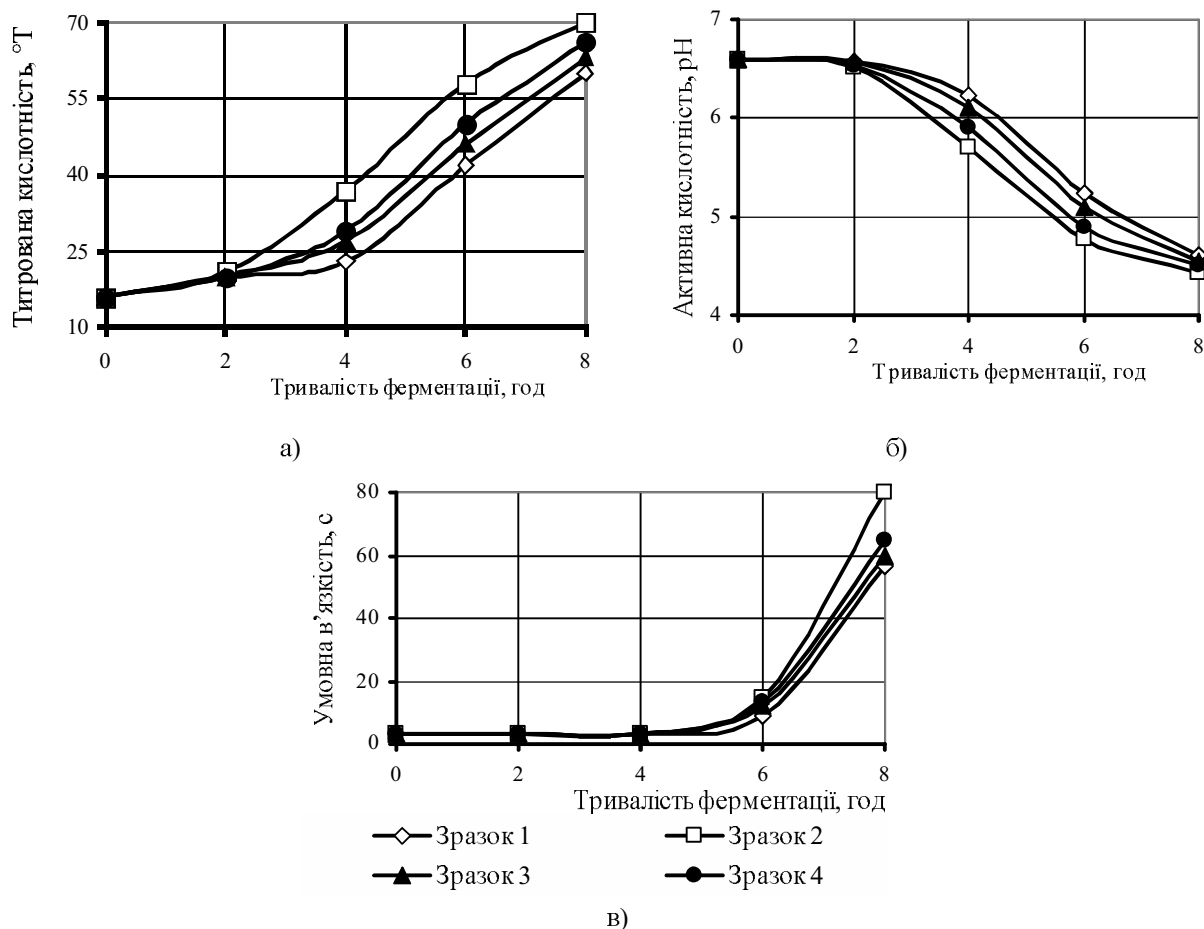


Рис. 1 – Зміна титрованої (а), активної (б) кислотності та в'язкості (в) стерилізованого молока, збагаченого фруктозою, у процесі ферментації заквашувальними композиціями з використанням МК *Lb. acidophilus La-5* та ЗК *Bifidobacterium*

Питома швидкість росту клітин МК *Lb. acidophilus La-5* у процесі біотехнологічного оброблення зразків 1 та 2 протягом перших двох годин складає $1,04 \text{ год}^{-1}$, у зразку 3 вона найвища – $1,20 \text{ год}^{-1}$, у зразку 4 – найнижча – $0,81 \text{ год}^{-1}$ (рис. 2, г). З 2-ої по 4-ту години ферментації у зразку 3 питома швидкість росту клітин МК *Lb. acidophilus La-5* залишається практично на тому ж рівні ($1,23 \text{ год}^{-1}$), максимальне її значення відзначається у зразку 1 ($1,42 \text{ год}^{-1}$), зразки 2 та 4 мають однакове значення цього показника ($1,15 \text{ год}^{-1}$). Після чотирьох годин ферментації питома швидкість росту клітин МК *Lb. acidophilus La-5* знижується до $0,58 \dots 0,91 \text{ год}^{-1}$, після шести годин – до $0,10 \dots 0,40 \text{ год}^{-1}$. Ферментовані зразки 2 та 4 мають вищу концентрацію життєздатних клітин *Lb. acidophilus La-5* ($(6,0 \dots 7,0) \cdot 10^8$ КУО/см³ – рис. 2, б), що обумовлено вищою вихідною їх концентрацією при заквашуванні; ферментовані зразки 1 та 3 мають нижчу концентрацію цих пробіотичних культур – $(1,3 \pm 0,1) \cdot 10^8$ та $(2,5 \pm 0,1) \cdot 10^8$ КУО/см³, відповідно.

При розвитку в молоці у процесі ферментації МК *Lb. acidophilus La-5* виробляють позаклітинну β -галактозидазу, що гідролізує лактозу молока до моноцукрів – глюкози та галактози, які (поряд із внесеною до молока у процесі нормалізації фруктозою) є поживним середовищем для ЗК біфідобактерій. У свою чергу, у процесі метаболізму адаптовані до молока ЗК біфідобактерій синтезують вільні амінокислоти, які стимулюють ріст та розвиток *Lb. acidophilus* [6], що сприяє отриманню згустків із високою концентрацією всіх використаних у складі заквашувальних композицій пробіотичних культур. За сумою чотирьох пробіотичних культур, використаних у складі заквашувальних композицій, найвищі пробіотичні властивості має зразок 3.

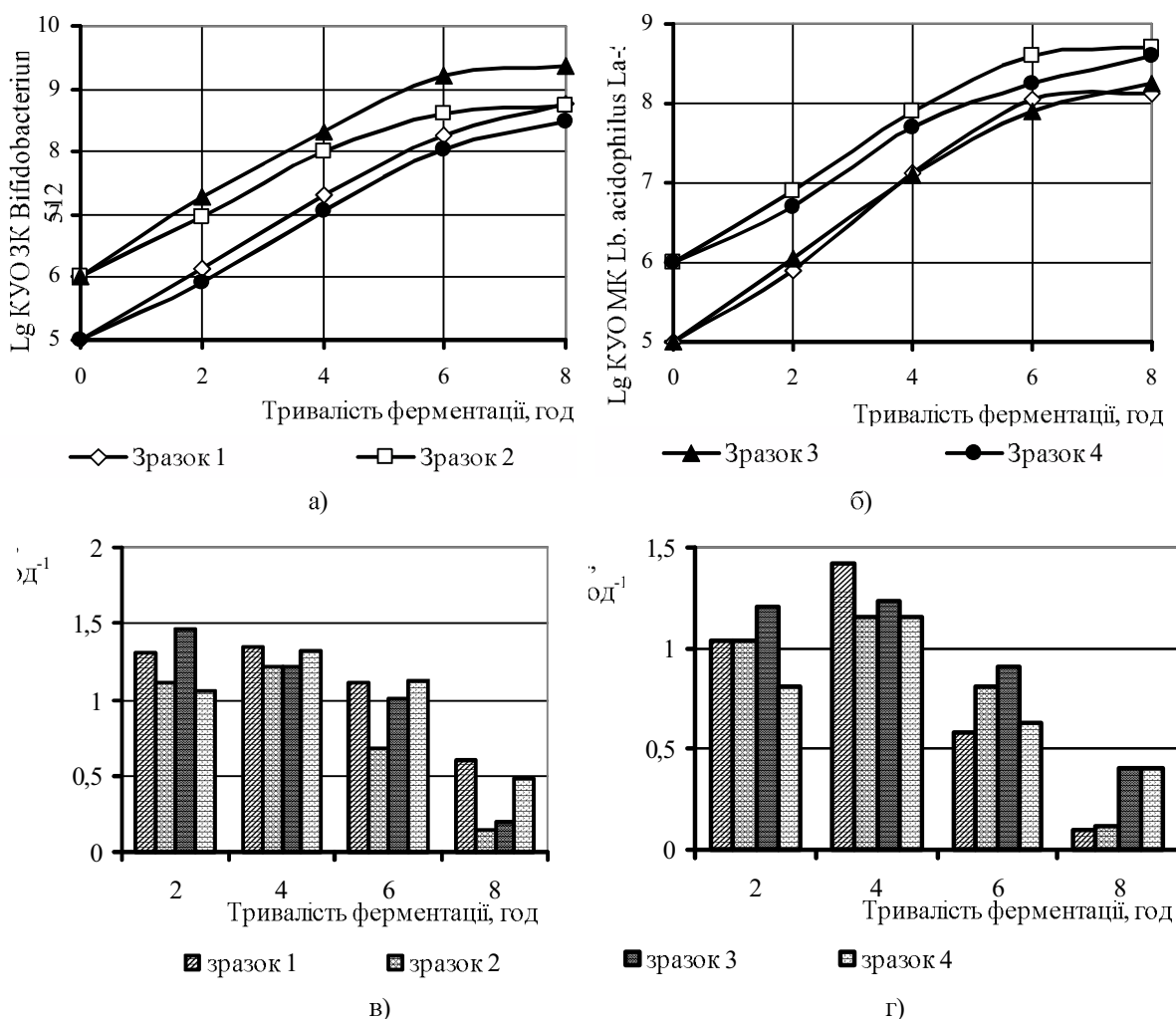


Рис. 2 – Зміна концентрації живих клітин ЗК *Bifidobacterium* (а) та МК *Lb. acidophilus* (б) та питомої швидкості росту ЗК *Bifidobacterium* (в) та МК *Lb. acidophilus* (г) при ферментації стерилізованого молока, збагаченого фруктозою, заквашувальними композиціями з використанням МК *Lb. acidophilus* La-5 та ЗК *Bifidobacterium*

За рахунок використання ЗК біфідобактерій у складі заквашувальних композицій всі ферментовані згустки мають м'яку, ніжну, сметаноподібну консистенцію. Згустки мають чистий, свіжий, кисломолочний смак та запах, без сторонніх присмаків та запахів.

Здатність ферментованих молочних продуктів, збагачених пробіотичними культурами, зберігати показники якості – органолептичні, фізико-хімічні, мікробіологічні, пробіотичні, при низьких температурах (4±2 °С) протягом тривалого терміну є визначальною для встановлення терміну їхнього зберігання і раціональних співвідношень між біфідо- та лактокультурами у складі заквашувальних композицій, які дозволять виробляти ацидофільні продукти для дитячого харчування з максимально високою концентрацією пробіотичних культур, високими органолептичними, нормованими мікробіологічними та фізико-хімічними показниками, зокрема, невисоким рівнем кислотності, а також подовженим терміном зберігання.

Тому другим етапом експериментальних досліджень стало визначення показників якості ферментованих пробіотичних згустків у процесі зберігання за температури (4±2) °С протягом 28 діб. У процесі зберігання досліджуваних зразків у них визначали титровану, активну кислотність, в'язкість – рис. 3, а також кількість життєздатних клітин ЗК біфідобактерій та МК *Lb. acidophilus* в 1 см³ згустків (рис. 4).

При зберіганні зразків 2 і 4, отриманих ферментацією молока заквашувальними композиціями із МК *Lb. acidophilus* та ЗК біфідобактерій, протягом перших 14-ти діб у них різко знижується рівень активної кислотності (на 0,30...0,33 рН), при цьому титрована кислотність збільшується на 23...25 °Т (рис. 3, б, а), що обу-

мовлено вищою концентрацією у цих зразках життєздатних клітин *Lb. acidophilus* (рис. 4, б) у порівнянні зі зразками 1 та 3. Протягом наступних 14 діб у зразках 2 та 4 активна кислотність знижується лише на 0,07...0,09 рН, титрована кислотність при цьому підвищується ще на 23...24 °Т (рис. 3, б, а). На 14-ту добу зберігання активна кислотність у цих зразках складає 4,20...4,24 рН, титрована – 90...93 °Т. У зразках 1 та 3 на 14-ту добу зберігання активна кислотність складає 4,38...4,39 рН, титрована – 83...84 °Т; на 28-му добу зберігання – 4,20...4,21 рН та 108...109 °Т, відповідно. Титрована кислотність зразків 1 та 3 невисока протягом перших 14 діб зберігання, що обумовлює чистий кисломолочний смак згустків без занадто вираженого кислого присмаку. Виражений кисломолочний смак всі згустки мають протягом 14...28 діб зберігання, що недопустимо для продуктів дитячого харчування. Найнижчі значення титрованої кислотності має зразок 1, що обумовлено найнижчою концентрацією в ньому життєздатних клітин *Lb. acidophilus*.

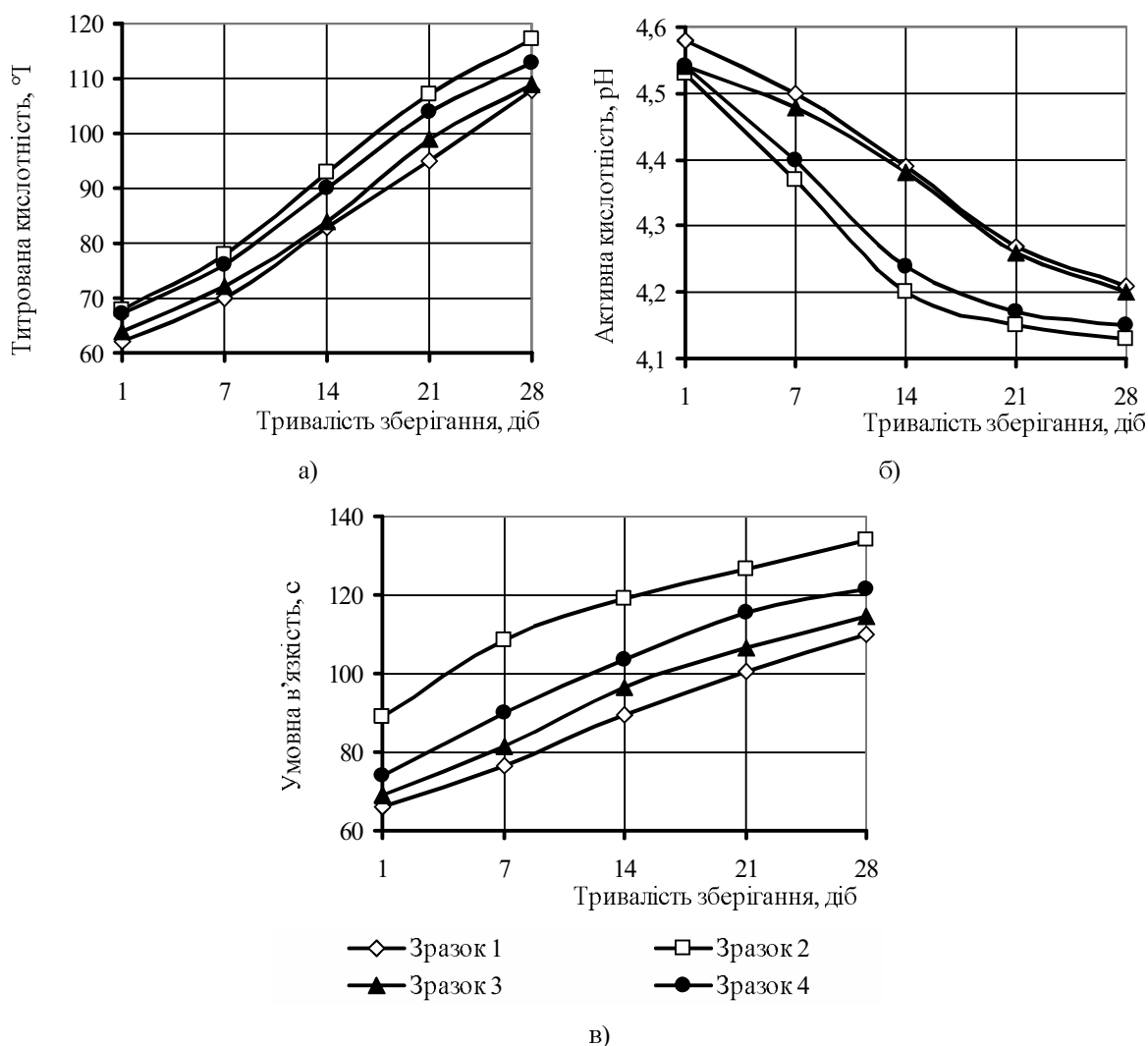


Рис. 3 – Зміна титрованої (а), активної (б) кислотності, в'язкості (в) зразків, отриманих при ферментації стерилізованого молока, збагаченого фруктозою, заквашувальними композиціями з використанням МК *Lb. acidophilus* La-5 та ЗК біфідобактерій, у процесі зберігання

Нижчий рівень кислотності у зразках 1 та 3 обумовлений більш активним розвитком у цих зразках біфідобактерій (рис. 4, а), які накопичують при зброджуванні цукрів, крім молочної, оцтової кислоти, яка є більш сильним електролітом у порівнянні з молочною і викликає менш виражені зміни титрованої кислотності.

Найвища концентрація життєздатних клітин ЗК біфідобактерій відзначається у зразку 3 (рис. 4, а): протягом перших 14 діб зберігання вона збільшується від $(3,8 \pm 0,2) \cdot 10^9$ КУО/см³ до $(7,6 \pm 0,3) \cdot 10^9$ КУО/см³, протягом наступних 14 діб зменшується до $(9,8 \pm 0,2) \cdot 10^8$ КУО/см³. У зразках 1, 2 та 4 характер зміни біфідофлори аналогічний, але кількість життєздатних клітин біфідобактерій на порядок нижча, ніж у зразку 3.

Показники в'язкості досліджуваних згустків знаходяться у допустимих межах. Найвищу в'язкість має зразок 2 (рис. 3, в), що обумовлено найвищою концентрацією життєздатних клітин *Lb. acidophilus* у ньому протягом всього процесу зберігання.

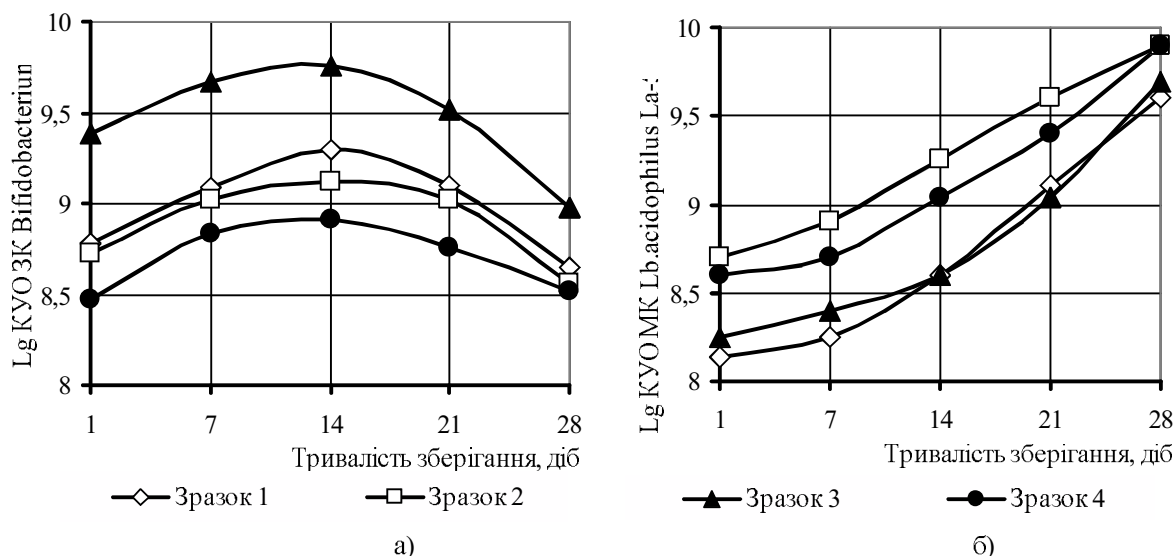


Рис. 4 – Зміна концентрації живих клітин ЗК біфідобактерій (а) та МК *Lb. acidophilus* (б) у зразках, отриманих при ферментації стерилізованого молока, збагаченого фруктозою, заквашувальними композиціями з використанням МК *Lb. acidophilus* La-5 та ЗК біфідобактерій, у процесі зберігання

Оцінюючи пробіотичні властивості ферментованих згустків, можна констатувати, що за сумарною кількістю клітин пробіотичних культур (МК *Lb. acidophilus* + ЗК біфідобактерій) слід віддати перевагу зразку 3, оскільки кількість життєздатних клітин ЗК біфідобактерій та МК *Lb. acidophilus* протягом 14 дб зберігання складає $(3,8...7,6) \cdot 10^9$ та $(2,5...6,0) \cdot 10^8$ КУО/см³, відповідно (рис. 4, а, б), причому в цьому зразку переважає біфідофлора, що обумовлюватиме невисоку кислотність продуктів, отриманих на його основі.

Висновки. Для виробництва ацидофільних кисломолочних продуктів для дитячого харчування рекомендовано використовувати заквашувальну композицію з використанням ЗК *B. bifidum* 1 + *B. longum* ЯЗ + *B. infantis* 512 (співвідношення культур 1 : 1 : 10, відповідно) та МК *Lb. acidophilus* La-5 при співвідношенні біфідобактерій та лактобацил у комплексі 10:1, вихідна концентрація клітин ЗК біфідобактерій та *Lb. acidophilus* La-5 у молоці при заквашуванні повинна складати – $1 \cdot 10^6$ та $1 \cdot 10^5$ КУО/см³, відповідно.

Література

1. <http://www.slaviane.net/?163&read>
2. Шальгіна, А.М. Молочные продукты для детского и диетического питания [Текст] / А.М. Шальгіна, Г.Н. Крусь, Н.Н. Коткова ; под ред. А.М. Шальгіной. – М.: АгроНИИТЭИММП, 1993. – 37 с.
3. Кузнецов, В.В. Справочник технолога молочного производства. Технология детских молочных продуктов [Текст] / В.В. Кузнецов, Н.Н. Липатова. – Санкт-Петербург: ГИОРД, 2005. – 525 с.
4. Касьянов, Г.И. Технология продуктов детского питания [Текст] / – М.: Академия, 2003. – 240 с.
5. Бифидобактерии и использование их в молочной промышленности [Текст] / Красникова Л.В., Салахова И.В., Шаробайко В.И., Эрвольдер Т.М. – М.: АгроНИИТЭИММП, 1992. – 32 с. / Обзор. информ. Сер. Молочная пром-сть /.
6. Biavati, V. Probiotics and *Bifidobacteria* [Text] / V. Biavati, V. Bottazzi, L. Morelli. – Novara (Italy): MOFIN ALCE, 2001. – P. 79.
7. Назаренко, Ю.В. Удосконалення технології сиру кисломолочного для дитячого харчування. Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук за спеціальністю 05.18.04. [Текст] / Ю.В. Назаренко. – Одеса: ОНАХТ, 2012. – 174 с.
8. Дідух, Н.А. Дослідження процесу спільного культивування змішаних культур *B. bifidum*, *B. longum*, *B. infantis* [Текст] / Н.А. Дідух, Ю.В. Назаренко // Наук. праці молодих учених, аспірантів та студентів. – Одеса, ОНАХТ. – 2010. – С. 211–214.
9. Дідух, Н.А. Заквашувальні композиції для виробництва молочних продуктів функціонального призначення [Текст] / Н.А. Дідух, О.П. Чагаровський, Т.А. Лисогор. – Одеса: Видавництво «Поліграф», 2008. – 236 с.
10. Инструкция по микробиологическому контролю производства на предприятиях молочной промышленности. [Текст] – М.: Госагропром. – 1988. – 122 с.