

## Выводы

По результатам проведенных исследований разработаны рецептуры спредов для геродиетического и оздоровительного питания, которые соответствуют требованиям, предъявляемым к функциональным продуктам. Кроме того, разработаны рецептуры продуктов бутербродных повышенной пищевой ценности, которые позволят обеспечить потребность в микро- и макронутриентах различных групп населения. При этом в качестве обогащающих ингредиентов использованы только естественные источники физиологически значимых компонентов пищи.

## Литература

1. Ипатова, Л.Г. Жировые продукты для здорового питания. Современный взгляд / Л. Г. Ипатова, А. А. Кочеткова, А. П. Нечаев, В. А. Тутельян. – М.: ДеЛи Принт. – 2009. – 394 с.
2. Замбрицкий, О.Н. Гигиенические основы рационального питания. Оценка адекватности фактического питания: учебно-методическое пособие / О. Н. Замбрицкий, Н. Л. Бацукова; БГМУ. – Минск, 2006. – 20 с.
3. Коваль, А.В. Масложировые продукты как фактор профилактики неинфекционных заболеваний / А.В. Коваль, А. Е. Подрушняк // Масложировая индустрия: материалы XI международной конференции, Санкт-Петербург, 26-27 окт. 2011. – СПб., – 2011. – С. 138-141.
4. Лисицын, А.Н. Современные требования к масложировым продуктам / А.Н. Лисицын, Григорьева В.Н. // Масложировая индустрия: материалы XI международной конференции, Санкт-Петербург, 26-27 окт. 2011. – СПб., – 2011. – С. 6-11.
5. Николаева С.В. Применение метода линейного программирования для оптимизации смесей растительных масел / С.В. Николаева, Е.А. Клошина, Е.В. Грузинов, Т.В. Шлёнская // Масложировая промышленность. – 2007. – № 1. – С. 23–24.
6. Арсеньева, Т.П., Баранова И.В. Основные вещества для обогащения продуктов питания / Т.П. Арсеньева, И.В. Баранова // Пищевая промышленность. – 2007. – № 1. – С. 7.
7. Храмов, А. Г. Феномен молочной сыворотки / А. Г. Храмов – СПб.: Профессия. – 2011. – 802 с.

УДК 637.146.2

## ОПРАЦЮВАННЯ УМОВ ПІДГОТОВКИ ПОСІВНОГО МАТЕРІАЛУ ДЛЯ ОТРИМАННЯ БАКТЕРІАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ ДЛЯ КИСЛОВЕРШКОВОГО МАСЛА

Боднарчук О.В., канд. техн. наук, ст. наук. співр.  
Інститут продовольчих ресурсів НААН, м. Київ

*Досліджено вплив мінеральних солей як стимуляторів росту на якість посівного матеріалу ароматоутворювальних лактококів *L. diacetylactis* і термофільних мікроорганізмів *S. thermophilus* *L. bulgaricus*. Визначено, що для забезпечення розвитку всіх представників закваски необхідно проводити спільне культивування за температури 34 °С.*

*Influence of mineral salts as growth factors on quality sowing material of mesophilic lactic acid bacteria of *L. diacetylactis* and thermophilic microorganisms of *S. thermophilus* of *L. bulgaricus* are investigated. Certainly, that for providing of development of all representatives of starter is it necessary to conduct general cultivation for temperatures 34°C.*

Ключові слова: інокулят молочнокислих мікроорганізмів, ароматоутворювальна здатність, діацетил, леткі органічні кислоти.

Розробка біотехнології бактеріальних препаратів базується на вивченні фізіологічних особливостей штамів та управлінні процесами їхнього культивування у спеціально підібраних поживних середовищах.

Для культивування мікроорганізмів велике значення, насамперед, має активність посівного матеріалу. Інокулят повинен володіти високою біохімічною активністю, забезпечувати високий вихід біомаси за короткий термін культивування. Тому під час виробництва бактеріальних препаратів особливу увагу приділяють підготованню інокуляту заквашувальної мікрофлори. Використання якісного інокуляту дозволяє забезпечити біотехнологічний процес нагромадження клітин на належному рівні [1-2].

Для інтенсифікації життєдіяльності та досягнення високої урожайності клітин заквашувальних мікроорганізмів, їхньої ферментативної активності деякі дослідники пропонують використовувати для під-

готовки посівного матеріалу різні мінеральні солі. Зокрема, іони марганцю виконують захисну функцію, суть якої полягає в інактивації перекису водню. Крім того, марганець підвищує стійкість мікроорганізмів до зберігання. Іони міді входять в склад ряду ферментів, які сприяють утилізації глюкози для росту у розвитку мікроорганізмів [3-4].

Для підвищення продуктивності лактобактерій рекомендовано також вносити лимонну та оцтову кислоти, а також їхні солі. Вони прискорюють ріст заквашувальних мікроорганізмів і є необхідним субстратом для синтезу ароматоутворювальних сполук мікрофлорою закваски. За недостатньої кількості цитрату натрію у молоці процеси ароматоутворення, зокрема нагромадження діацетилю, гальмуються незалежно від рівня розвитку лактофлори.

Було встановлено, що додавання солей  $\text{CaCl}_2$  і  $\text{MgSO}_4$  активізує функцію ароматоутворення лактобацилами. Зокрема, цитрати з іонами металів утворюють комплекси, внаслідок яких клітини отримують іони в доступнішій формі. У результаті спрощується проникненість цитратів через мембрани клітин. Відмічено позитивний вплив цих іонів на дію відповідних ферментів і на стимулювання метаболізму цитратів [5-6].

На якість заквашувальних культур великий вплив має температура та тривалість культивування. Відхилення від оптимальної температури культивування негативно позначаються на розвитку заквашувальної мікрофлори. Так, за низьких температур сквашування сповільнюється синтез молочної кислоти, а за підвищених – послаблюється утворення ароматичних речовин [7].

В Інституті продовольчих ресурсів розроблено для виробництва кисловершкового масла заквашувальну композицію, внесення якої передбачено на стадії формування структури продукту. Для надання специфічного кисломолочного смаку і аромату КВМ залучено термофільні кислотоутворювальні мікроорганізми та мезофільні ароматоутворювальні лактококи з високим рівнем енергії кислотоутворення та продукування смако-ароматичних речовин.

Враховуючи те, що новостворена заквашувальна композиція є полівидовою, до складу мікрофлори якої залучено групи лактобактерій зі взаємодоповнювальними властивостями, важливим для нарощування біомаси є забезпечення температурних умов, які задовольняли б розвиток усіх її складників під час спільного культивування у ростовому середовищі.

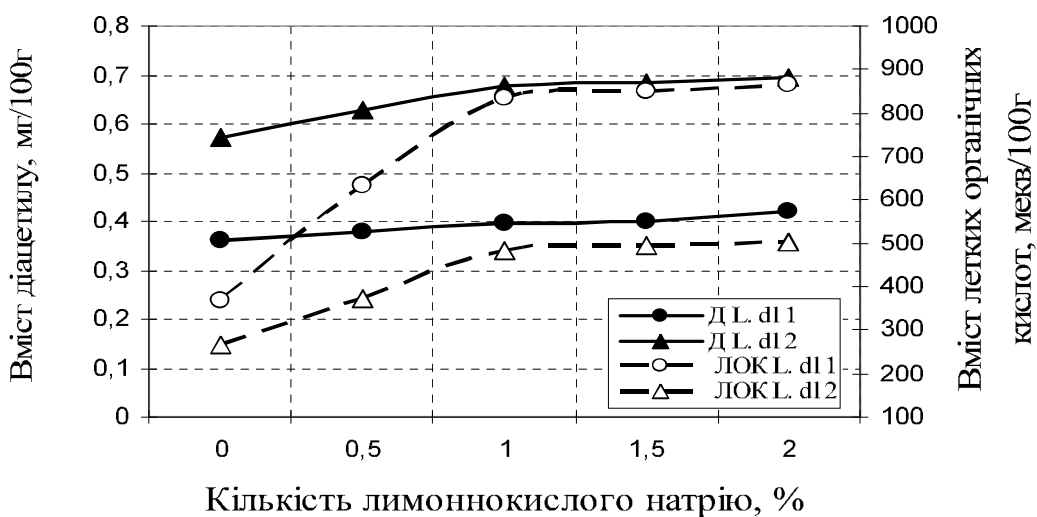
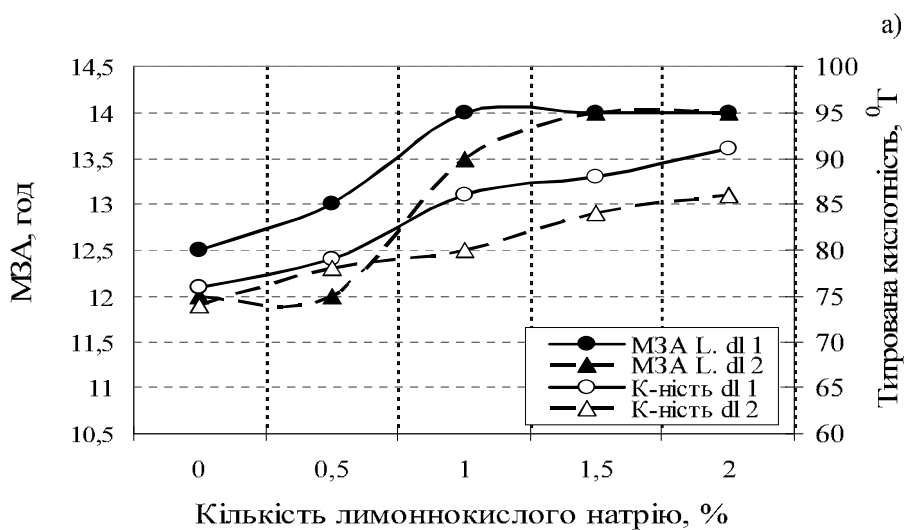
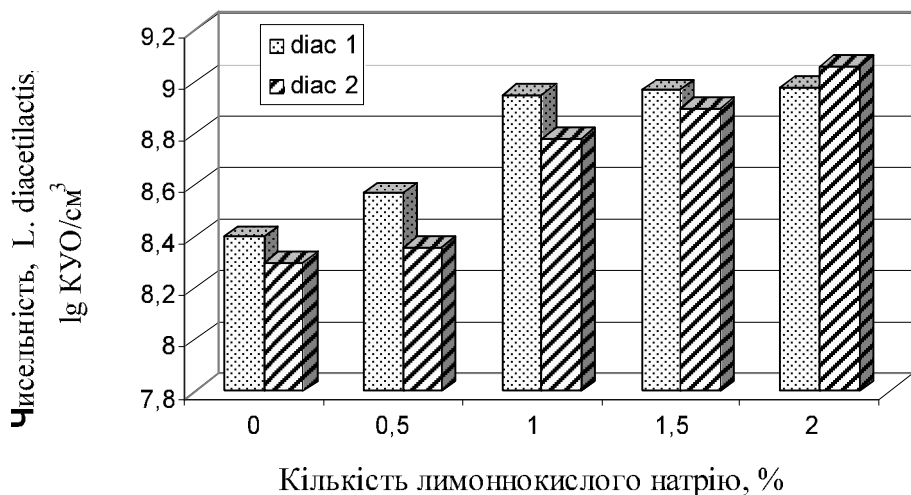
**Метою роботи** було дослідити вплив деяких стимуляторів росту на якість посівного матеріалу та вибору температурного режиму культивування для максимального нагромадження всіх представників бактеріальної композиції (як кислото-, так і ароматоутворювальних молочнокислих мікроорганізмів), що є необхідною умовою для отримання специфічних органолептичних характеристик, притаманних кисловершковому маслу.

**Прилади та матеріали.** У роботі використовували молочнокислі мікроорганізми, що входять до новоствореної заквашувальної композиції для кисловершкового масла. Мікрофлора бактеріальної композиції представлена двома штамами мезофільних ароматоутворювальних лактококів *Lactococcus lactis* ssp. *biovar. diacetylactis* та термофільними мікроорганізмами видів *Streptococcus thermophilus* та *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*. Основні фізико-хімічні, мікробіологічні та біохімічні характеристики окремих складників штамів бактеріальної композиції оцінювали після сквашування ними стерильного знежиреного молока та дозрівання утворених згустків за температури 10 °С.

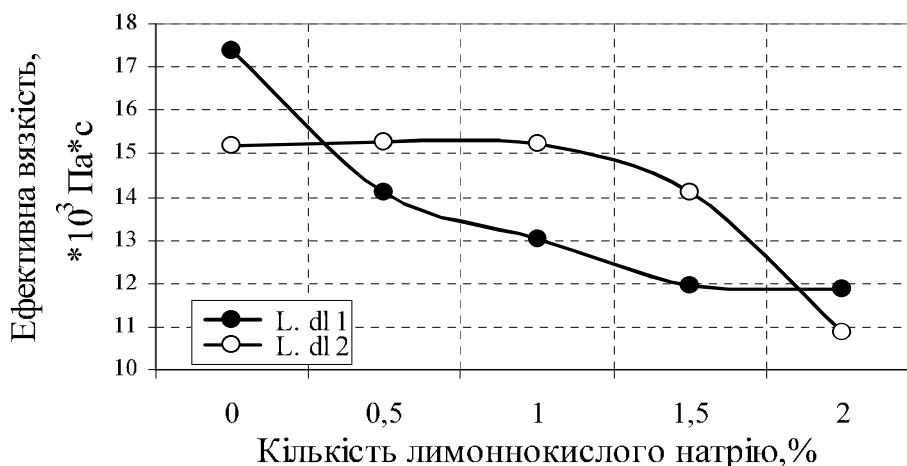
Титровану кислотність кисломолочних згустків визначали у °Т – за ГОСТ 3624-92; активну – потенціометрично; молокозідальну активність – за часом утворення молочного згустку. Рівень утворення діацетилю і летких органічних кислот – після дистиляції з водяною парою [8]. Чисельність молочнокислої мікрофлори – згідно з ГОСТ 10444.11-89. Ефективну в'язкість молока, ферментованого заквашувальними культурами, визначали на ротаційному віскозиметрі «Rheotest II» із вимірювальною системою циліндр/циліндр (S/S1) для середніх в'язкостей. Повторюваність дослідів триразова.

**Результати досліджень.** Оскільки створювана бактеріальна культура повинна мати високі смако-ароматичні характеристики, то вважали за доцільне дослідити вплив лимоннокислого натрію на ростову та біохімічну активність посівного матеріалу *L. diacetylactis* як основного продуцента ароматичних компонентів.

Якість посівного матеріалу, отриманого шляхом сквашування знежиреного молока з додаванням різних концентрацій лимоннокислого натрію (0,5-2,0 %), було проаналізовано та порівняно за фізико-хімічними, біохімічними та мікробіологічними характеристиками інокуляту, отриманого без використання згаданої солі (контроль). Як свідчать отримані результати, додавання цитрату натрію спонукає до збільшення росту клітин ароматоутворювальних лактококів та, відповідно, підвищення біохімічної активності інокуляту, пов'язаної з ароматоутворенням (рис. 1). Як видно з рис. 1а, стрімкий ріст мезофільних лактококів спостерігали за внесення солі у кількості 0,5 % та 1 %, чисельність клітин зростає до 8,95-8,78 lg КУО/см<sup>3</sup>.



в)



г)  
а) чисельність; б) молокозідальна активність та титрова кислота; в) рівень смако-ароматичних речовин; г) ефективна в'язкість

**Рис. 1. – Вплив лимоннокислого натрію на технологічні та біохімічні показники молочних згустків *L. diacetilactis***

Зі збільшенням цитрату натрію у молоці також зростає кислотність кисломолочних згустків (рис. 1б). Встановлено, що кислотність молока, ферментованого ароматоутворювальними лактококами *L. diacetilactis* 1 та 2, коливалася в межах від 79 °С до 91 °С та від 78 °С до 86 °С відповідно, тоді як у контролі було зафіксовано її значення 76-74 °С.

Збільшення концентрації цитрату натрію вище 1,0 % істотно не впливало на перебіг молочнокислого бродіння та, відповідно, нагромадження продуктів життєдіяльності мікроорганізмів. Так, кількість клітин лактобактерій зростала лише на 0,28 lg КУО/см<sup>3</sup>, а рівень діацетилю був у 1,1 разу вищим, ніж у варіанті з використанням 1% цитрату натрію. Подальше збільшення кількості лимоннокислого натрію до 2 %, хоча й давало змогу нагромадити максимальну кількість клітин, проте не приводило до істотного збільшення всіх аналізованих показників порівняно з його дією у кількості 1 %. Крім того, збільшення дози цитрату натрію, особливо у кількості 1-2 %, сповільнювало сквашування молока лактококами, хоча кислотність утворених кисломолочних згустків продовжувала зростати (рис. 1б). Слід зазначити, що використання цитрату натрію у різній концентрації мало неоднозначний вплив на показники ефективної в'язкості посівного матеріалу. У разі внесення солі більше як 1 % спостерігали зниження її величин.

Проведені дослідження показали, що додавання цитрату натрію у кількості 1 % давало змогу активізувати розвиток клітин у 1,1-1,2 рази та підвищити їхню енергію кислотоутворення на 16-20 °С у порівнянні з контрольними варіантами. При цьому досліджувані штами інтенсивніше синтезували смако-ароматичні сполуки. Зокрема, кількість діацетилю та легких органічних кислот для обох штамів *L. diacetilactis* зростала відповідно у 1,1-1,2 та 1,8-2,3 рази у порівнянні з контролем.

Отже, для підготовки інокуляту ароматоутворювальних лактококів виду *L. diacetilactis* доцільним є внесення у підготовлене знежирене молоко 1% цитрату натрію. Рекомендована доза є достатньою для забезпечення їхнього активного росту, енергії кислотоутворення і нагромадження ароматичних речовин, які є вирішальними у формуванні смако-ароматичної композиції для КВМ.

Було встановлено коефіцієнт кореляції між фізико-хімічними показниками, рівнем нагромадження смако-ароматичних сполук, а також чисельністю ароматоутворювальних лактобактерій.

Статистична обробка фізико-хімічних, біохімічних та мікробіологічних показників, що представлена в таблиці 1, демонструє доволі тісний кореляційний зв'язок між нагромадженням клітин мезофільних лактококів та їх синтезом смако-ароматичних сполук. Про це свідчать достатньо високі коефіцієнти кореляції ( $r=0,92-0,97$ ).

Коефіцієнт кореляції між чисельністю лактобактерій та кислотністю сквашеного молока становив  $r=0,95-0,97$ . Варте уваги те, що від'ємні коефіцієнти кореляції між в'язкістю та всіма досліджуваними показниками свідчать про відсутність їх впливу на реологічні властивості кисломолочних згустків.

Основним завданням промислового використання мікроорганізмів є підтримання культури в активному стані.

Таблиця 1 – Кореляція між фізико-хімічними, мікробіологічними та біохімічними показниками

Показники, <b>L. diac 1</b> <b>L. diac 2</b>	Чисель- ність	МЗА	Вміст діацетилу	Вміст летких орг. к-т	Ефек- тивна в'язкість	Титрова кислот- ність
Чисельність	–	$\frac{0,99*}{0,95}$	$\frac{0,93}{0,93}$	$\frac{0,97}{0,92}$	$\frac{-0,93}{-0,75}$	$\frac{0,97}{0,95}$
Молокозсідаць-на активність	–	–	$\frac{0,92}{0,94}$	$\frac{0,98}{0,92}$	$\frac{-0,94}{-0,78}$	$\frac{0,96}{0,91}$
Вміст діацетилу	–	–	–	$\frac{0,93}{0,99}$	$\frac{-0,93}{-0,59}$	$\frac{0,98}{0,94}$
Вміст летких орг. кислот	–	–	–	–	$\frac{-0,98}{-0,53}$	$\frac{0,94}{0,92}$
Ефективна в'язкість	–	–	–	–	–	$\frac{-0,92}{-0,75}$

\* у чисельнику – *L. diacetylactis* 1, у знаменнику – *L. diacetylactis* 2.

Щоб перевірити ефективність впливу стимуляторів росту на якість посівного матеріалу термофільних лактобактерій, залучених до складу заквашувальної композиції, культури культивували у знежиреному стерильному молоці з додаванням мінеральних солей у сумарній кількості 0,6%. Мінеральні солі готували роздільно у вигляді розчинів такого складу: 11,5% MgSO<sub>4</sub>, 2,9% MnSO<sub>4</sub>, 0,13% KJ, 0,05% CuSO<sub>4</sub>. Молоко сквашували за оптимальної для розвитку термофільних лактобактерій температури 37 °С.

Технологічну оцінку впливу мінеральних солей проводили за скороченням часу сквашування (МЗА), зміною кількості бактерій та енергією кислотоутворення. Контрольний варіант не містив добавки мінеральних солей.

Отримані дані свідчать, що додавання мінеральних солей не дало очікуваних результатів. Вони справили мізерну стимулювальну дію на розвиток термофільного стрептокока та болгарської палички під час культивування у молоці (табл. 2).

Таблиця 2 – Вплив мінеральних солей на технологічні властивості інокуляту термофільних мікроорганізмів

Штами лактобактерій	Скорочення МЗА у порів- нянні з контро- лем, хв	Збільшення кис- лотності у порів- нянні з контро- лем, Δ°Т	Зміна чисельності клітин у порівнянні з контролем, Δ lg КУО/см <sup>3</sup>
<i>S. thermophilus</i>	10	4	+0,15
<i>L. bulgaricus</i>	20	4	+0,10

Зокрема, утворення кисломолочних згустків прискорювалося лише на 10-20 хв. із збільшенням кислотності згустків на 4 °Т. При цьому не відбулося істотної активізації росту лактобактерій.

Подальша робота була спрямована на визначення впливу температурного режиму культивування на стабільність структури заквашувальної композиції.

Важливим аспектом у технології багатокомпонентних препаратів є забезпечення високої концентрації мікроорганізмів та збереження необхідного співвідношення між штамми наприкінці нагромадження біомаси.

Враховуючи те, що більшу частку (80%) у складі заквашувальної композиції становлять мезофільні лактококи, оптимальна температура росту яких – 30 °С, а термофільні мікроорганізми виду *S. thermophilus* та *L. bulgaricus* характеризуються вищим температурним оптимумом – 37 °С, було досліджено розвиток усіх представників бактеріальної композиції за різних температур (рис. 2).

За оптимальної температури для розвитку ароматоутворювальних бактерій *L. diacetylactis* нагромадилося клітин у кількості 7,8-7,9 lg КУО/см<sup>3</sup>. Культивування за температури 37 °С також давало змогу нагромадити значну кількість біомаси цих лактококів – чисельність клітин зменшилася лише на 8-9 % у порівнянні з вищезгаданою температурою. Ці втрати не є значними.

Що стосується термофільних стрептококів та болгарської палички, то зниження температури негативно позначалося на їхньому розвитку. Зокрема, за 30 °С чисельність термофільних лактобактерій зменшилась у 1,2 разу, а за 34 °С – у 1,1 разу відносно контролю.

Ці результати підтверджуються значеннями активної кислотності. Так, активна кислотність кисло-молочних згустків, сквашених окремими штатами лактобактерій, досягала максимального рівня за їхніх оптимальних температур росту.

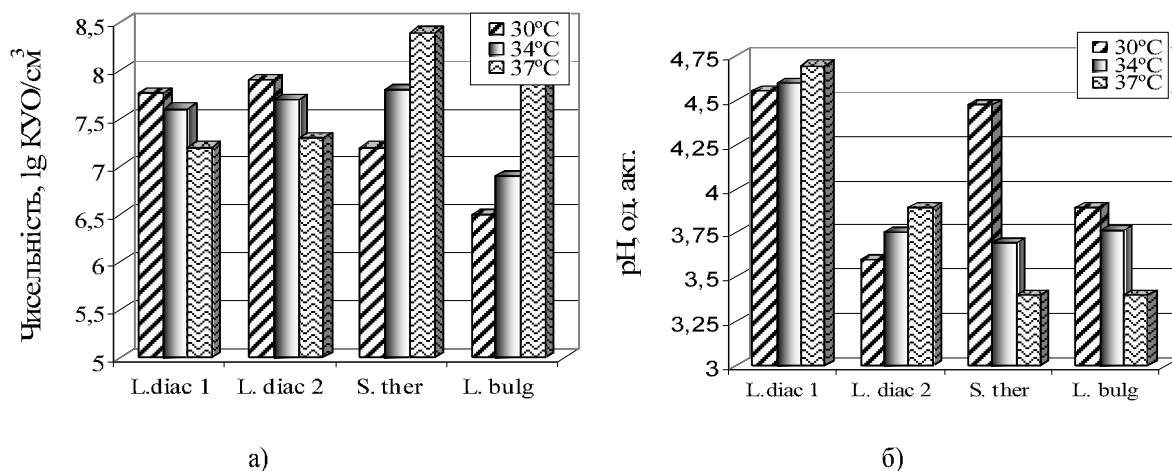


Рис. 2. – Вплив температури на розвиток складників заквашувальної композиції (а) та рівень рН утворених ними кисло-молочних згустків (б)

Проведені дослідження щодо впливу температури на розвиток окремих компонентів дали змогу зробити висновок, що всі складники заквашувальної композиції можна нарощувати як за температури 30 °С, так і 37 °С. Але враховуючи той факт, що основною функцією заквашувальної культури для КВМ є забезпечення бажаного рівня кислото- та ароматоутворення, оптимальною було визнано температуру культивування (34±1)°С. За цієї температури досягається узгоджений розвиток усіх складників заквашувальної культури та необхідний профіль біохімічної активності.

Таким чином, використання лимоннокислого натрію у кількості 1% поліпшує якість посівного матеріалу основних продуцентів аромату *L. diacetylactis* під час його підготовки, оскільки підвищує їхню ростову та біохімічну активність. Ефективним для нарощування біомаси для полівидової заквашувальної культури є температура культивування (34±1)°С.

### Література

1. Коваленко Н.К. Биотехнология культивирования молочнокислых бактерий // Молочная промышленность. – 2002. – № 2. – С. 24–25.
2. Свириденко М.И. Получение активной и стабильной производственной закваски // Переработка молока. – 2011. – № 6. – С. 30–32.
3. Rushing N.B., Senn V.J. Effect of citric acid concentration on the formation of diacetyl by certain lactic acid bacteria. // Appl. Microbiol. – 1960. – Vol. 8, N.5. – P. 286–290.
4. Романчук И.О., Насырова Г.Ф., Кигель Н.Ф. Повышение выживаемости бактериальных культур в процессе производства лиофилизированных препаратов // Вісник аграрної науки. – 2002. – № 10. – С. 63–65.
5. Ибрагимова А.В., Новотельнов Н.В. Влияние добавления лимонной кислоты на образование нейтральных карбонильных соединений молочнокислыми стрептококками. – В кн.: Совершенствование технологических процессов в молочной промышленности. Л.:Книга, 1974. – Т.1, ч. 2. – С. 22–24.
6. Pack M.V., Vedamuthu E.R., Sandine W.E., Elliker P.R., Leesment H. Effect of temperature on growth and diacetyl production by aroma bacteria in single-and mixed-strain lacung und stabilisierung des Diacetyls in Saureweckern // J.Dairy Sci. – 1968. – Vol. 51, N.4. – P. 515–516.
7. Инихов Г.С., Брио Н.П. Методы анализа молока и молочных продуктов. – М.: Пищев.пром., 1971. – С.132–133.