

УДК 637.146.33

Боднарчук О.В., к.т.н. ©*Інститут продовольчих ресурсів, НААН***ДОСЛІДЖЕННЯ ФЕРМЕНТАТИВНОЇ АКТИВНОСТІ
ЗАКВАШУВАЛЬНИХ КУЛЬТУР ДЛЯ КИСЛОВЕРШКОВОГО МАСЛА**

Досліджено рівень зброджування вуглеводів, зміну вмісту галактози та β-галактозидазної активності у молоці заквашувальними композиціями та їхніми складниками для виробництва кисловершкового масла.

Ключові слова: *лактоза, галактоза, β-галактозидазна активність, заквашувальні культури*

Виробництво кисловершкового масла (КВМ) способом внесення закваски на стадії формування структури продукту виробляють із несквашених вершків шляхом додавання закваски молочнокислих бактерій у пласт масла або в масляне зерно на стадії його обробки в такій кількості, щоб відразу забезпечити необхідну кислотність плазми масла з бажаним смаком та запахом. Для того, щоб масло мало такі особливості, після виготовлення його зберігають 2-3 доби за температури 8-10°C з метою завершення кристалізації гліцеридів та остаточного формування смако-ароматичних характеристик продукту [1].

Для підвищення активності кислотоутворення та урізноманітнення смако-ароматичного букету, як правило, залучають до складу закваски штами молочнокислих паличок видів *L. helveticus*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. plantarum* у комбінації з ароматоутворювальними лактококами *L. diacetylactis* [2]. Продуктування ними молочної кислоти та діацетилю не тільки впливає на формування органолептичних показників, а й інгібує розвиток патогенної та умовно-патогенної мікрофлори. Це має велике значення з позицій безпеки продукту та тривалості його зберігання [3-4].

Проте ефективність заквашувальних препаратів у виробництві кисловершкового масла залежить не тільки від їхніх біологічних властивостей. Значну роль відіграють також умови розвитку бактеріальних культур.

Одним із головних факторів, що впливає на розвиток, ферментативну активність та особливості функціонування бактеріальних культур під час виробництва продукту, є температура.

Під час ферментування заквашувальна мікрофлора використовує як енергетичний субстрат 20-30% лактози молока, які надалі трансформуються у сполуки – глюкозу і галактозу, необхідні для розвитку культур. Лактобактерії, володіючи достатньо високою β-галактозидазною активністю, розпочинають утилізацію вуглеводів з моменту внесення закваски в пласт масла та на початку його визрівання. Саме від активності β-галактозидази залежить інтенсивність

засвоєння лактози бактеріями, та, відповідно, перебігу біохімічних процесів, які впливають на формування якісних властивостей продукту.

Отже, інтенсивність перебігу цих процесів залежить від активності даного ферменту за таких специфічних умов.

Однак матеріали наукових досліджень В.В. Малою з цього питання вказують на значні розбіжності за цим показником у межах одного виду мікроорганізмів [7].

Оскільки температура є одним із найістотніших факторів впливу на функціонування заквашувальних культур у будь-якому середовищі чи продукті, вивчення рівня активності даного ферменту заквашувальної мікрофлори з наукової точки зору є цінним для оцінки їхньої ферментативної активності за температурних умов, які складаються під час виготовлення кисловершкового масла.

Отже, дослідження поведінки розвитку бактеріальних композицій та їхньої метаболітичної активності у модельних системах за умов, які імітують визрівання свіжого масла, є доцільним і викликає науковий та практичний інтерес.

Метою роботи було дослідження поведінки розвитку та ферментативної активності лактофлори бактеріальних композицій та її складових, що використовуються у виробництві кисловершкового масла.

Матеріали та методи досліджень. У роботі використовували новостворені заквашувальні композиції для кисловершкового масла, що вносяться на стадії дозрівання продукту. Мікрофлора цих бактеріальних культур представлена штамми мезофільних ароматоутворювальних лактококів та термофільних мікроорганізмів видів: *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetilactis* 1353 і 1320₂, *Streptococcus thermophilus* 21132 та 21135 та *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* 3509. Активність β-галактозидази бактеріальних композицій для кисловершкового масла та їхніх компонентів визначали після сквашування ними стерильного знежиреного молока та дозрівання утворених згустків за температури 10 °С.

Активність β-галактозидази визначали за реакцією зі специфічним хромогенним субстратом – о-нітрофеніл-β-D-галактопіранозидом. За одиницю ферментативної активності приймали таку кількість ферменту, яка каталізує гідроліз 1.0 мкМ його з утворенням забарвленого о-нітрофенолу при рН 4,6 од і 30 °С за 1 хв [8]. Для аналізування вуглеводного складу ферментованого молока застосовували метод високоефективної рідинної хроматографії на хроматографі LC-5 (“Shimadzu”). Кількість життєздатних клітин молочнокислої мікрофлори визначали згідно з ГОСТ 10444.11-89.

Результати досліджень. Було проведено аналіз рівня споживання лактози штамми мезофільних та термофільних молочнокислих бактерій за їхнього культивування у знежиреному молоці та дозрівання згустків впродовж 7 діб. Отримані дані, представлені на рис. 1, свідчать, що процес молочнокислого бродіння відбувається найінтенсивніше за ферментування молока окремими штамми термофільних молочнокислих мікроорганізмів, особливо лактобацил

виду *L. bulgaricus*. Рівень утилізації лактози цим штамом за 7 діб зберігання за температури 10°C складав до 41,5 %.

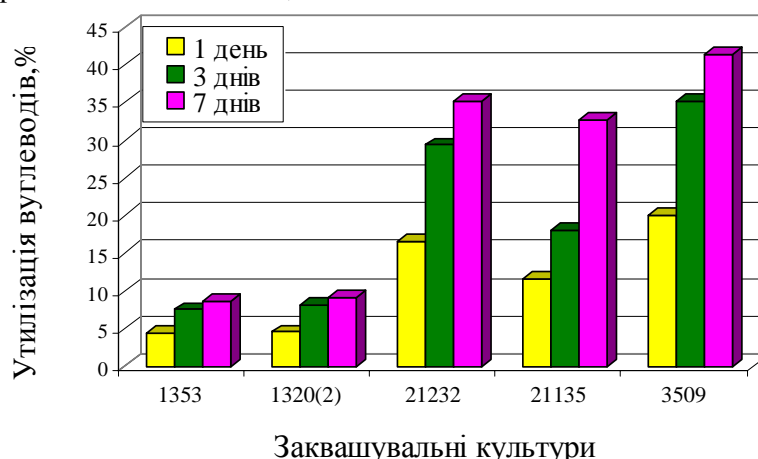


Рис. 1, Утилізація вуглеводів заквашувальними культурами у молоці

Штами термофільних стрептококів *S. thermophilus* 21132 та, особливо, *S. thermophilus* 21135 дещо поступалися за здатністю до розщеплення молочного цукру і спроможні утилізувати у молоці до 33% та 35% лактози відповідно. Показники рівня утилізації лактози лактобактеріями узгоджувалися з опублікованими даними [7].

Відомо, що мезофільні ароматоутворювальні лактококи володіють низькою β-галактозидазною активністю та пасивніше розщеплюють молочний цукор. Обидва штами *L. diacetylactis* 1353 та 1320₂, які залучені до складу заквашувальних композицій, за 7 діб гідролізували лише 8,6%-9,2% молочного цукру. Водночас, спостерігаючи за динамікою зброджування лактози молочнокислими бактеріями у молоці, було помічено поступове її споживання.

Слід зазначити, що у більшості з проаналізованих культур було зафіксовано найінтенсивніше розщеплення лактози впродовж перших 5 діб.

Аналіз зміни вмісту галактози показав (рис. 2), що ароматоутворювальні мікроорганізми *L. diacetylactis* здатні засвоювати цей вуглевод на 25% від початку сквашування ними молока аж до зберігання кисломолочних згустків за низької температури.

Так, у кисломолочних згустках з моменту сквашування до їхнього зберігання впродовж 7 діб вміст галактози знижувався відповідно від 0,75 до 0,56 мг/см³ та від 0,69 до 0,44 мг/см³. Решта штамів молочнокислих бактерій її продукували у кількостях від 5,1 мг/г до 6,3 мг/см³.

Поступове нагромадження цього моносахариду є результатом специфічної ферментативної активності термофільної лактофлори.

Інтенсивність збродження молочного цукру лактобактеріями визначається рівнем їхньої β-галактозидазної активності. Тому активність цього ферменту є додатковим критерієм для оцінки поведінки заквашувальної

мікрофлори під час дозрівання масла. Це, зрештою, може дати яснішу картину стосовно прогнозування інтенсивності перебігу біохімічних процесів та якості виробленого масла.

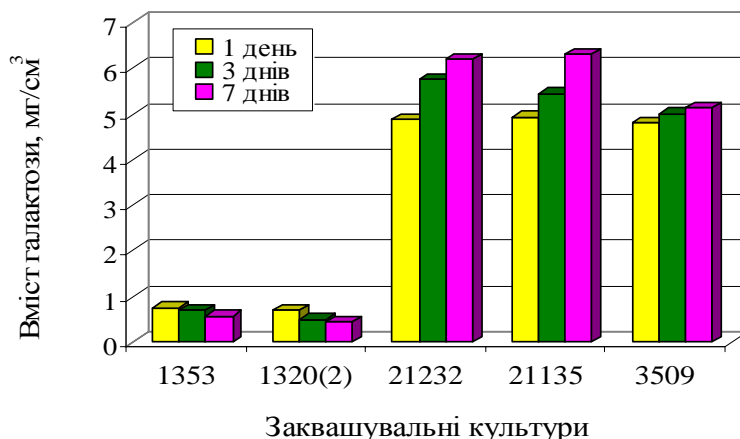


Рис. 2. Зміна вмісту галактози у молоці

Результати отриманих досліджень, проілюстровані на рис. 3, вказують, що характер ферментативної активності бактеріальних композицій №3 та №7 і їхніх окремих складових, істотно різняться. Встановлено поступове зростання активності β-галактозидази. Мезофільні лактококи виду *L. diacetylactis* демонстрували невисоку активність цього ферменту у молоці відразу після його сквашування та впродовж зберігання, порівняно з термофільними молочнокислими мікроорганізмами. Причому значення β-галактозидазної активності цих культур знаходилися у вузькому діапазоні від 110 до 180 о.а./см³·хв.

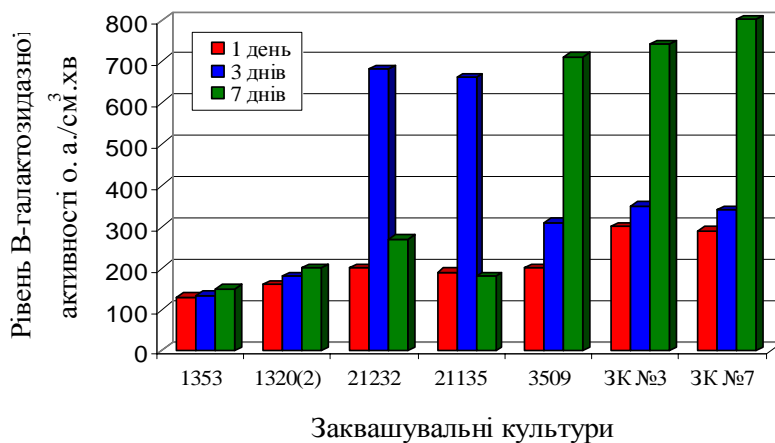


Рис. 3. Зміна β-галактозидазної активності заквашувальних композицій та її складових у молоці

Слід відзначити, що молочнокислим паличкам була притаманна висока активність β -галактозидази, тоді як для термофільних стрептококів вона була значно стриманішою.

Варто уваги і те, що у термофільних стрептококів вона більше проявлялася у перші 3 доби зберігання сквашеного молока. Активність β -галактозидази на цьому проміжку часу коливалася в межах 660-680 о.а./см³·хв. Проте надалі ці культури її втрачали і наприкінці експериментальних досліджень рівень β -галактозидазної активності становив від 180 до 270 о.а./см³·хв. Разом з тим, стрімке зростання β -галактозидазної активності від 740 до 800 о.а./см³·хв було відмічено у бактеріальних композиціях наприкінці зберігання.

Ці результати досліджень співпадають з літературними даними, які свідчать про те, що за низьких температур лактазна активність лактобактерій не втрачається [6].

Отже, термофільним мікроорганізмам та бактеріальним композиціям, створених з їхнім використанням, були притаманні висока β -галактозидазна активність, яка виражалася інтенсивним розщепленням молочного цукру та вивільненням більшої кількості галактози.

Паралельно з біохімічними дослідженнями було проаналізовано розвиток заквашувальних культур у молоці після сквашування молока та його зберігання за температури 12 °С.

У результаті мікробіологічного аналізу було зафіксовано, що чисельність окремих молочнокислих мікроорганізмів та їхніх композицій поступово спадала у ферментованому ними молоці. Зокрема, після 1 доби сквашування знежиреного молока до кінця зберігання за температури 12 °С загальна чисельність лактобактерій знижувалася від $1,1 \cdot 10^9$ до $8,4 \cdot 10^8$ КУО/см³ у молоці. Чисельність роматоутворювальних лактококів змінювалися від $9,5 \cdot 10^8$ до $1,5 \cdot 10^6$ КУО/см³.

Висновок.

Впродовж зберігання молока, ферментованого окремими штамми лактобактерій та бактеріальними композиціями, за низьких температур (10°C) знижується чисельність заквашувальних культур, проте не припиняється їхня метаболічна активність, а саме: посилюється їхня β -галактозидазна активність, що активізує перебіг бродіння, який супроводжується активним розщепленням молочного цукру та нагромадженням галактози. Це можна пояснити вивільненням ферменту після автолізу клітин лактобактерій.

Література

1. Шершнева В. Производство кисломолочного масла [Текст] / Шершнева В. – М.: Пищепромиздат, 1957г. — 62с.
2. Лаузакас В. Закваска для масла с молочнокислыми палочками [Текст] / Лаузакас В. — Тр. Лит. фил. ВНИИМСа. – 1974. — ч. IX — с. 179.
3. R. Lanciotti. Evaluation of diacetyl antimicrobial activity against *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* and *Staphylococcus aureus* [Text] / R. Lanciotti, F.

Patrignani, F. Bagnolini, M. E. Guerzoni and F. Gardini // Food Microbiology. — 2003. — Vol. 20, №5 — P. 537-543.

4. James M. Jay. Antimicrobial properties of diacetyl // Applied and Environmental Microbiology — 1982 — Vol. 44, No 3 — P. 525-532.

5. Данилов М.Б. Активность β -галактозидазы микроорганизмов, используемых в производстве молочных продуктов [Текст] / Данилов М.Б. // Хранение и переработка сельхозсырья. — 2001. — № 7. — С. 30-31.

6. Gilliland S.E. Influence of Storage at Freezing and Subsequent Refrigeration on β -Galactosidase Activity of *Lactobacillus acidophilus* compounds [Text] / // Gilliland S.E., Lara R.C. // Applied and Environmental Microbiology. — 1988. — Vol. 54, № 4. — P. 898-902.

7. Малова В.В. Дослідження β -галактозидазної активності заквашувальних культур промислово цінних штамів молочнокислих та біфідобактерій [Текст] Малова В.В., Шульга Н.М., Кігель Н.Ф. Матеріали ІХ Міжнар. наук.-техн. конф. “Нові технології та технічні рішення в харчовій та переробній промисловості: сьогодення і перспективи”. – Ч 1. – К.: НУХТ. – 2003. – С. 64-65.

8. Henmat S. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in Ice cream for Use a Probioti food [Text] / Henmat S., Momaham D. // Journal of Dairy Science. — 1992. — vol. 75. — P. 1415–1422.

Summary

The level of fermentation of carbohydrates, change of content of galactose and level of β -galactosidase activity is investigational in milk by starter compositions and their constituents for the production of sour cream butter.

Рецензент – д.с.-г.н., професор Цісарик О.Й.