

УДК 637.057, 637.148, 637.236

**Жукова Я.Ф.**, к.б.н., **Король Ц.О.**, к.т.н., **Петрищенко С.С.**<sup>©</sup>

(yagoslava-zhukova@yandex.ru, tsvetana.korol@yandex.ua)

Інститут продовольчих ресурсів Національної Академії Аграрних Наук України,  
Київ, Україна**ВИЗНАЧЕННЯ ІНТЕНСИВНОСТІ КИСЛОМОЛОЧНОГО АРОМАТУ  
У ФЕРМЕНТОВАНИХ ВЕРШКАХ**

Відсутність критеріїв якості за вмістом ароматичних сполук і відповідних біохімічних досліджень у цьому напрямку призводить до того, що продукти з однаковою назвою різних виробників мають відмінні органолептичні властивості. Це стосується різних молочних продуктів, зокрема вершків, як сировини, та кисловершкового масла. Основними сполуками, що обумовлюють аромат молочних продуктів, вважають леткі жирні кислоти, альдегіди, кетони та лактони. На даному етапі роботи досліджено вплив монокультур молочнокислих лактококів підвидів *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* та *L. lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* на особливості накопичення летких жирних кислот та лактонів у вершках. Для виявлення та ідентифікації хімічних сполук застосовано метод капілярної газової хроматографії.

Грунтуючись на експериментальних даних, запропоновано використовувати співвідношення масової частки оцтової до масляної кислоти, як хімічного критерію інтенсивності кисломолочного аромату вершків.

Показано, що культури *L. diacetylactis* мають найбільший потенціал щодо ароматизації продукту, порівняно з культурами *L. cremoris* та *L. lactis*. Співвідношення суми лактонів ( $\delta C_{(8+10+12)}$ ) до суми ЛЖК для вершків, ферментованих культурами *L. diacetylactis*, варіювало від 0,3 до 0,5, для культур *L. cremoris* – від 0,13 до 0,26; для *L. lactis* – від 0,1 до 0,14.

Показано, що культури *L. cremoris* не мають високої кореляції між вмістом лактонів, летких жирних кислот та молочної кислоти, на відміну від культур *L. lactis* та *L. diacetylactis*, що вказує на відмінність їх метаболічних процесів.

Одержані дані слугуватимуть підґрунтям при розробці хімічних критеріїв якості аромату кисловершкового масла.

**Ключові слова:** аромат, вершки, молочнокислі лактококи,  $\delta$ -лактони, леткі жирні кислоти.

УДК 637.057, 637.148, 637.236

**Жукова Я.Ф.**, к.б.н., **Король Ц.А.**, к.т.н., **Петрищенко С.С.**Інститут продовольственных ресурсов Национальной Академии Аграрных  
наук Украины, Киев, Украина**ОПРЕДЕЛЕНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ КИСЛОМОЛОЧНОГО  
АРОМАТА В ФЕРМЕНТИРОВАННЫХ СЛИВКАХ**

Отсутствие критериев качества по содержанию ароматических соединений в продуктах и соответствующих биохимических исследований в этом направлении приводит к тому, что продукция с одинаковым названием, но разных производителей имеет отличные органолептические свойства. Это

касається різних видів молочних продуктів, в частині сливок, як сиря, і кислосливочного масла. Основними соединениями, обуславлюючими аромат молочних продуктів, вважають летучі жирні кислоти, альдегіди, кетони і лактони. На даному етапі роботи досліджено вплив монокультур молочнокислих лактококков підвидов *Lactococcus lactis ssp. lactis*, *Lactococcus lactis ssp. cremoris* і *L. lactis ssp. lactis biovar. diacetylactis* на особливості накоплення летучих жирних кислот і лактонов в сливках. Для виявлення і ідентифікації хімічних соединений застосовано метод капілярної газової хроматографії.

Основою на експериментальних даних, запропоновано використовувати співвідношення масової частини оцтової до масляної кислоти, як хімічного критерію інтенсивності кислосливочного аромату сливок.

Показано, що культури *L. diacetylactis* мають найбільший потенціал по ароматизації продукту, порівняно з культурами *L. cremoris* і *L. lactis*. Співвідношення сумми лактонов ( $\delta C_{(8+10+12)}$ ) до сумми ЛЖК для сливок, ферментованих культурами *L. diacetylactis*, варіювало від 0,3 до 0,5, для культур *L. cremoris* - від 0,13 до 0,26; для *L. lactis* - від 0,1 до 0,14.

Показано, що культури *L. cremoris* не мають високої кореляції між вмістом лактонов, летучих жирних кислот і молочної кислоти, в порівнянні з культурами *L. lactis* і *L. diacetylactis*, що вказує на різницю їх метаболічних процесів.

Отримані дані послужать основою для розробки хімічних критеріїв якості аромату кислосливочного масла.

**Ключові слова:** аромат, сливки, молочнокислі лактококки, s-лактони, летучі жирні кислоти.

UDC 637.057, 637.148, 637.236

**Y.F. Zhukova, Ph. D., Ts.O. Korol, Ph. D., S.S. Petrischenko**

*Institute of Food Resources of National Academy of Agrarian Sciences of Ukraine,  
Kyiv, Ukraine*

#### **DETERMINING THE INTENSITY OF FLAVOR IN FERMENTED MILK FERMENTED CREAM**

*The lack of quality criteria on the content of aromatic compounds in products and associated biochemical investigations in this direction leads to the fact that products with the same name, but from different manufacturers have different organoleptic properties. This applies to different kinds of dairy products, in particular cream, as raw materials, and sour cream. The main compounds, which cause the fragrance of dairy products, are volatile fatty acids, aldehydes, ketones and lactones.*

*At this stage of work the influence of monocultures lactic lactococcal subspecies *Lactococcus lactis ssp. lactis*, *Lactococcus lactis ssp. cremoris* and *L. lactis ssp. lactis biovar. diacetylactis* on the peculiarities of accumulation of volatile fatty acids and lactones in cream were investigated. For the detection and identification of chemical compounds was applied the method of capillary gas chromatography.*

*Based on the experimental data it is proposed to use the ratio of the mass fraction of acetic acid to butyric acid, as chemical criteria of intensity of sour cream flavor.*

It is shown that culture *L. diacetylactis* have the greatest potential flavoring product, compared with cultures of *L. cremoris* and *L. lactis*. The ratio of the sum of lactones ( $\delta C_{(8+10+12)}$ ) to the amount volatile fatty acids for cream, fermented by cultures *L. diacetylactis* varied from 0.3 to 0.5, for *L. cremoris* - from 0.13-0.26; *L. lactis* - from 0.1 to 0.14.

It is shown that cultures *L. cremoris* do not have a high correlation between the contents of lactones, volatile fatty acids and lactic acid, unlike *L. lactis* and *L. diacetylactis*, that indicates the differences in their metabolic processes. The received data will provide the basis for the development of chemical criteria of the quality of sour cream aroma.

**Key words:** aroma, cream, lactococci,  $\delta$ -lactones, volatile fatty acids.

Основними сполуками, що обумовлюють аромат молочних продуктів, вважають леткі жирні кислоти, альдегіди, кетони, ефіри, лактони, сірковмісні сполуки, вільні амінокислоти. Ретельне дослідження в цьому напрямку набуло поширення лише нещодавно, з появою новітнього газо-хроматографічного обладнання і поки немає жодних хімічних критеріїв для органолептичної оцінки харчових продуктів. Відсутність відповідних біохімічних досліджень та критеріїв якості за ароматичними компонентами призводить до того, що продукти з однаковою назвою різних підприємств мають відмінні органолептичні властивості і навпаки.

Молочнокислі бактерії відіграють важливу роль при ферментуванні харчових продуктів, сприяючи їх санітарно-гігієнічній безпеці, стабільності під час зберігання та створюючи привабливі органолептичні властивості. *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* - грам-позитивні бактерії, які широко застосовують для ферментування різних харчових продуктів, зокрема, при промисловому виробництві кисломолочних продуктів: сирів, йогуртів, кисломолочних напоїв, кисловершкового масла. Формування типового смаку та запаху кисломолочних продуктів визначається складом та кількістю мікроорганізмів, а різноманітність смако-ароматичних відтінків - обумовлена різним якісним та кількісним складом летких сполук та їх співвідношень.

Основними процесами під час ферментування молочних продуктів лактококами вважають гідроліз білків, жирів, вуглеводів та перетворення лимонної кислоти.

Протеоліз є безперечно одним з найважливіших процесів, що забезпечує органолептичні властивості продуктів, зокрема їх запах та текстуру. Амінокислоти є попередниками багатьох летких ароматичних компонентів продуктів.

Як правило, першим етапом катаболізму амінокислот є етап трансамінування. Він призводить до утворення альфа-кетокислот, які можуть у подальшому перетворюватись в альдегіди шляхом декарбоксілування і, відповідно, у спирти або карбонові кислоти шляхом дегідрогенізації [1].

Розгалужені амінокислоти є попередниками таких ароматичних компонентів як розгалужені жирні кислоти. Вважають, що ізомаляна кислота може походити з валіну, ізовалеріанова та валеріанова з лейцину та ізолейцину. Теоретичні припущення щодо таких перетворень знайшли підтвердження лише нещодавно, коли вдалося виділити кілька відповідних ферментів. У штамі *L. lactis* LM 0230 було знайдено ген (*ilvE*) ферменту амінотрансферази розгалужених амінокислот, що відповідає за трансамінування останніх. Цей

фермент складається з 340 амінокислотних залишків і за класифікацією GenBank відноситься до IV класу амінотрансфераз пирідоксаль 5-фосфатзалежних амінотрансфераз. Встановлено, що він може реагувати з ізолейцином, валіном, лейцином, метіоніном, фенілаланіном. З штаму *L. cremoris* NCDO виділено іншу амінотрансферазу (VcaT), яка активно ініціює реакцію трансамінування ізолейцину та валіну, меншою мірою лейцину та метіоніну і теж відноситься до IV класу амінотрансфераз. Вважають, що первинна функція цього ферменту полягала у біосинтезі вільних амінокислот, особливо ізолейцину. Та оскільки молочнокислі бактерії є автотрофами щодо розгалужених амінокислот, функції VcaT полягають у катаболізмі для подальшого перетворення цих кислот в ароматичні компоненти [2].

Жирні кислоти, що походять з розгалужених амінокислот мають важкий, жирний, ефірний, дещо фруктовый аромат при концентраціях 5 мг/кг, при більш високих концентраціях – фруктовый, восковий, солодкуватий, яблуневий. Перетворення розгалужених амінокислот пов'язано із утворенням відповідних альдегідів, що мають помірно солодовий аромат, а спирти, що утворюються з таких альдегідів мають у 50 разів вищий поріг чутливості. Перетворення лейцину у 3-метилбутаналь може спричинити неприємний запах, так само як і 2-метилпропаналь з валіну або 2-метилбутаналь з ізолейцину. Слід відзначити, що 2-метилбутаналь і 3-метилбутаналь у значних кількостях поки у молочних ферментованих продуктах не виявлено.

Як спирти так і альдегіди утворені з розгалужених амінокислот можуть псувати аромат продукту, зокрема сирів. Так, сир Чеддер, що містить від 18 до 90 мг/кг 3-метилбутанала та від 9 до 45 мг/кг 3-метилбутанолу вважається некондиційними за органолептичними властивостями. А для сиру Ементаль встановлено, що 3-метилбутаналь є характеристичною сполукою якості цього продукту, що сприяє неприємного запаху старої масляної кислоти у концентраціях вище 200 мкг/кг. Перетворення альдегідів у спирти або карбонові кислоти відбуваються за участю алкогольдегідрогеназ та альдегідегідрогеназ, відповідно.

Ефіри, що походять з коротколанцюжкових жирних кислот, такі як етилбутаноат, етилізовалеріат можуть утворюватись внаслідок метаболізму амінокислот. Вони привносять фруктову ноту ароматичний букет, зокрема, сирів. На сьогодні відомий ген *estA*, що кодує естеразу, причому у різних видів молочнокислих бактерій виявлено високу гомологію цього гену. Показано, що у лактококів, в яких був штучно відсутній ген *estA* коротколанцюжкових ефірів не утворювалось [3].

Слід відзначити, що перетворення  $\alpha$ -кетокислот у леткі ароматичні сполуки може відбуватись трьома різними шляхами. За участі декарбоксілази (ген *kdcA*) для перетворення в альдегіди, як було знайдено у *L. lactis* B1157. Проте жодних подібних послідовностей не було знайдено в інших молочнокислих бактеріях, крім часткової гомології в *L. lactis* IL 1403. На підставі цього було висунуто думку, що декарбосилування альфа-кетокислот притаманне немолочним мікроорганізмам і лише невелика кількість молочнокислих культур утворюють альдегіди саме з вільних амінокислот. Однак такі спирти, і альдегіди знайдені як продукти метаболізму молочнокислих бактерій. Тому припускають що додатковим шляхом для утворення цих сполук з альфа-кетокислот може бути окислювальне декарбосилування. Тобто перетворення альфа-кетокислоти в ацил коензим А

(ацил-CoA) за допомогою дегідрогенази  $\alpha$ -кетокислот (KaDH), ферменту з чотирьох субодиниць: E1  $\alpha$ , E1 $\beta$ , E2 та E3 [4].

Перетворення метіоніну може відбуватись за участю амінотрансфераз розгалужених амінокислот або ароматичних амінокислот, або через ліазну активність  $\beta$ -ліази цистатіоніну (CBL),  $\gamma$ -ліази цистатіоніну (CGL), або  $\gamma$ -ліази метіоніну. Амінотрансферазна активність потребує  $\alpha$ -кетоглутарата або іншої  $\alpha$ -кетокислоти як косубстрата, що призводить до утворення 4-метилтіо-2-кетомасляної кислоти (КМВА). Остання сполука може перетворитись на метилтіопропаналь (метіональ).

Хоча цистатіонін ліази досить активні за умов виготовлення сирів, їх активність щодо метіоніну не доведено за допомогою  $^{13}\text{C}$  ядерного магнітного резонансу. Таким методом поки підтверджено лише амінотрансферазну активність, яку вважають найбільш значною у продукуванні метантіолу з метіоніну [2, 5].

Провідна роль у створенні аромату належить діацетилу. Здатність до продукції діацетилу в результаті засвоєння цитрату молока властива молочнокислим бактеріям з роду *Lactococcus* і різним видам *Leuconostoc* [6].

Вважають, що кислий запах вершків формує не молочна кислота (оскільки вона має низький тиск парів), а оцтова, пропіонова та мурашина леткі кислоти, ацетоїн, діацетил та інші. Є дані, що кислий запах з'являється раніше, ніж вершки набувають кислого присмаку. Кислий запах більшість дегустаторів виявляють, коли вміст молочної кислоти становить більше її нормального вмісту на 0,01 %, в той час як кислий смак – при збільшенні на 0,07 – 0,10 %.

Є думка, що в якісному солодковершковому маслі леткі жирні кислоти мають не перевищувати:  $\text{C}_2$  - 30-40 мг/кг,  $\text{C}_4$  - 5-6 мг/кг,  $\text{C}_5$  - 1-2 мг/кг,  $\text{C}_6$  - 1 мг/кг,  $\text{C}_8$  - 1 мг/кг. До того ж внесок окремих ЛЖК на смак та аромат продукту залежить від кислотності плазми, з підвищенням якої зменшується поріг їх відчуття. Так, в кисловершковому маслі з кислотністю плазми 40-45 °Т при вмісті кислот  $\text{C}_2$  - до 100-110 мг/кг,  $\text{C}_4$  - до 6 мг/кг,  $\text{C}_5$  - до 1 мг/кг,  $\text{C}_6$  - до 3-3,5 мг/кг і  $\text{C}_8$  - до 2-2,5 мг/кг - не виявляються виражені негативні зміни смаку та аромату [7].

Лактони є важливим компонентом запаху молочних продуктів. Вміст лактонів у сирому молоці залежить від стадії лактації та годування, породи тварин. Кількість  $\delta$ -лактонів знижується на початку лактації, що обумовлено дефіцитом коротколанцюжкових кислот. На сьогодні виявлено та ідентифіковано понад 30 видів насичених та ненасичених  $\delta$ - та  $\gamma$ -лактонів з кількістю вуглецевих атомів від 6 до 20. Вважають, що дельта-лактони мають ендогенне походження, тобто їх утворення пов'язано із наявністю жирних кислот ( $\text{C}_8$ - $\text{C}_{14}$ ), які у процесі синтезу піддаються окисленню [8].

Слід відзначити, що різні джерела надають різні дані щодо вмісту та впливу окремих компонентів на аромат та смак продуктів, що пояснюється відсутністю уніфікованої пробопідготовки зразків, обладнання та системи опрацювання даних. Втім традиційні показники якості (вміст білку, жиру, вуглеводів, сухих речовин) на теперішній час є недостатніми критеріями, оскільки не відображають органолептичних властивостей продукту.

**Метою даної роботи** було дослідження накопичення летких жирних кислот та лактонів у ферментованих вершках культурами *L. lactis*.

**Матеріали та методи.** Об'єктами досліджень були вершки жирністю 32-36%, ферментовані культурами підвидів *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*,

*Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* та *L. lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis* з музею мікроорганізмів відділу біотехнології ІПР НААН.

Вміст ароматичних сполук у вершках досліджували на газовому хроматографі "Кристаллюкс 4000М", обладнаному капілярною колонкою FFAP довжиною 60 м з внутрішнім діаметром 0,25 мкм.

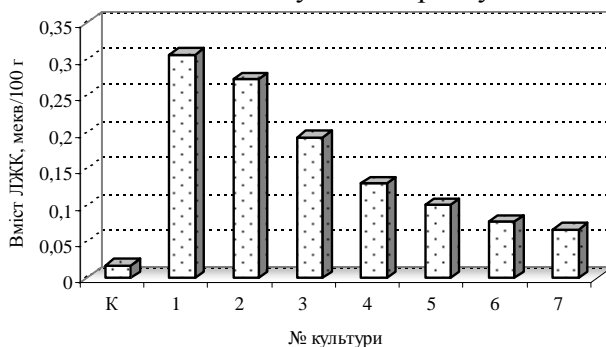
**Результати та обговорення.** Вважають, що загальний вміст летких жирних кислот (ЛЖК) може слугувати критерієм в оцінці придатності сировини та заквашувальних препаратів для вироблення високоякісних продуктів.

Було показано, що загальний вміст летких жирних кислот упродовж ферментування вершків варіював в залежності від застосованого штаму (рис. 1).

Суттєво зростає упродовж ферментування вершків загальний вміст летких жирних кислот за участі культур *L. diacetylactis*: порівняно з контролем на кінець ферментування він становив від 0,193 до 0,306 мекв/100 г (рис. 1).

Найнижчий рівень зафіксовано у варіантах з культурами *L. lactis* – 0,6-0,7 мекв/100 г. Загальний рівень ЛЖК за участі *L. cremoris* варіював від 0,1 до 0,13 мекв/100 г. Цей факт можна пояснити різною активністю та видами ферментів, залучених до розщеплення білків, вуглеводів та жирів. Є думка, що лактококи *L. diacetylactis* та *L. cremoris* мають більш високу ліполітичну активність порівняно з *L. lactis*, що відбивається на загальному вмісті ЛЖК.

Пороги чутливості окремих вільних ЛЖК обумовлюються їх взаємним співвідношенням та кислотністю плазми. За літературними даними, з підвищенням кислотності плазми зменшується поріг чутливості ЛЖК [7].



**Рис. 1. Вміст летких жирних кислот у вершках, ферментованих культурами лактококів**

К – вершки, № 1 - *L. diacetylactis* 1, № 2 - *L. diacetylactis* 2, № 3 - *L. diacetylactis* 9, № 4 - *L. cremoris* 1; № 5 - *L. cremoris* 2; № 6 - *L. lactis* 1; № 7 - *L. lactis* 2.

Дані щодо вмісту окремих ЛЖК у вершках, ферментованих культурами мезофільних лактококів наведено у табл. 1 та 2.

Збільшення загального вмісту ЛЖК при ферментуванні культур відбувалось переважно за рахунок оцтової кислоти, меншою мірою, ізовалеріанової кислоти, оскільки зміна вмісту інших ЛЖК є незначною. За літературними даними для вироблення масла з приємним смаком і запахом вміст цих кислот у маслі не повинен перевищувати 30-40 мг/кг; підвищення рівня загального вмісту ЛЖК може стати причиною погіршення аромату та смаку продукту [8].

При цьому слід підкреслити, що рівномірне збільшення концентрації всіх компонентів фракції ЛЖК менш негативно відображається на ароматичних

властивостях готового продукту порівняно з різким збільшенням кількості одного або двох компонентів.

Табл. 1.

**Якісний та кількісний склад летких жирних кислот вершків, ферментованих культурами *L. lactis* ssp. *lactis* biovar. *diacetylactis***

№	Кислота, мг/кг	Контроль	Вид лактобактерій		
			<i>L. diacetylactis</i>		
			1	2	9
1.	Оцтова	4,20±0,01	12,35±0,03	12,49±0,02	12,82±0,02
2.	Пропіонова	0,90±0,02	3,74±0,02	5,71±0,03	1,56±0,01
3.	Ізомасляна	0,30±0,01	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
4.	Масляна	2,85±0,01	6,78±0,02	8,85±0,02	9,84±0,02
5.	Ізовалеріанова	0,73±0,02	5,95±0,02	6,87±0,01	6,57±0,01
6.	Ізокапронова	0,02±0,01	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
7.	Капронова	2,70±0,03	4,02±0,01	4,27±0,01	7,65±0,01
8.	Гептанова	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
9.	Сума	11,70±0,03	32,84±0,02	38,19±0,02	38,44±0,03

Дані щодо вмісту окремих летких жирних кислот вказують на варіабельність фракцій окремих кислот в залежності від досліджуваних культур (див. табл. 1, 2). Домінуючими кислотами були оцтова, масляна, ізовалеріанова та капронова.

Табл. 2

**Якісний та кількісний склад летких жирних кислот вершків, ферментованих культурами *L. lactis* та *L. cremoris***

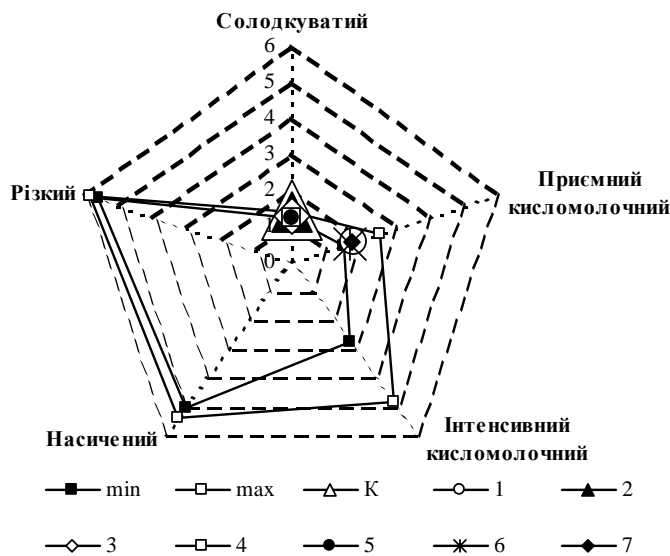
№	Кислота, мг/кг	Контроль	Вид лактобактерій			
			<i>L. cremoris</i>		<i>L. lactis</i>	
			1	2	1	2
1.	Оцтова	4,20±0,01	7,49±0,02	11,53±0,02	10,31±0,03	11,30±0,03
2.	Пропіонова	0,90±0,02	0,83±0,01	2,81±0,01	0,93±0,02	2,00±0,02
3.	Ізомасляна	0,30±0,01	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,01±0,001
4.	Масляна	2,85±0,01	6,27±0,02	9,36±0,02	6,16±0,02	6,38±0,02
5.	Ізовалеріанова	0,73±0,02	4,23±0,01	7,98±0,03	5,59±0,01	7,80±0,01
6.	Ізокапронова	0,02±0,01	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
7.	Капронова	2,70±0,03	3,80±0,03	5,52±0,02	4,17±0,02	3,00±0,02
8.	Гептанова	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00	0,00±0,00
9.	Сума	11,70±0,03	22,63±0,02	37,20±0,03	27,16±0,02	30,49±0,02

Якісний та кількісний аналіз летких жирних кислот показав його провідну роль в оцінюванні органолептичних властивостей продукту. Так, найбільший відносний вміст оцтової кислоти був виявлений у ферментованих вершках культурами *L. lactis* 1 та 2. При цьому загальний вміст летких жирних кислот був найбільшим у продукті, ферментованому культурами *L. diacetylactis* від 32 до 38 мг/кг, що на 13-33% більше, ніж у варіанті з культурами *L. lactis* 1 та 2.

Аналіз органолептичних властивостей ферментованих вершків та кількісного вмісту окремих кислот дозволив виявити наступні закономірності. Солодкуватий аромат і присмак мали вершки, ферментовані за участю культур

*L. diacetylactis* 2, 9, при цьому співвідношення масової частки оцтової кислоти до масляної становила 1,41; 1,30 відповідно, а також культури *L. cremoris* - співвідношення масової частки оцтової кислоти до масляної знаходилось у межах 1,195 - 1,312 (рис.2). В контрольному варіанті вершків це співвідношення становило 1,47. Приємний кисломолочний аромат мали культури *L. diacetylactis* 1 (табл. 1, рис. 2), *L. lactis* 1, 2 – співвідношення масової частки оцтової кислоти до масляної знаходилось у межах 1,514 - 1,822 (див. табл.2).

Таким чином, для визначення інтенсивності кисломолочного аромату можливо використовувати співвідношення оцтової кислоти до масляної, причому значення співвідношення буде змінюватись в залежності від жирової фази сировини.



**Рис. 2. Оцінювання інтенсивності кисломолочного аромату за вмістом оцтової та масляної кислот.**

*K* – вершки, № 1 - *L. diacetylactis* 1, № 2 - *L. diacetylactis* 2, № 3 - *L. diacetylactis* 9, № 4 - *L. cremoris* 1; № 5 - *L. cremoris* 2; № 6 - *L. lactis* 1; № 7 - *L. lactis* 2.

Упродовж ферментування вміст лактонів змінювався в залежності від обраної культури. Оскільки титрована кислотність у вершках наприкінці досліду була близько 56-70 °Т, то накопичення лактонів великою мірою залежало від цього показника (табл. 3) та специфікою метаболізму лактококів.

За участі культур *L. lactis* 1 та 2 відбувалось зменшення загального вмісту визначених лактонів порівняно з вихідною сировиною на 40,3%–55,1%. За участі культур *L. cremoris* зменшення вмісту лактонів відбувається на 15,1%–51,4%; при ферментуванні культурами *L. diacetylactis* спостерігали збільшення вмісту лактонів на 49%–174%.

У досліджуваній вихідній сировині, а саме стерилізованих вершках 33% жирності, було виявлено  $\delta$ -декалактон, що має персиковий, молочний, солодкуватий аромат та  $\delta$ -додекалактон, якому притаманний маслянистий аромат з нотами кокосового горіху та  $\delta$ -окталактон, що мав ванільний, карамельний.



У досліджених ферментованих вершках вміст  $\delta$ -окталактону варіював від 4 до 10 мг/кг,  $\delta$ -декалактону варіював від 3 до 8 мг/кг продукту;  $\delta$ -додекалактону – 0,7 до 8 мг/кг (табл. 3).

Табл. 3

**Вміст лактонів у вершках, ферментованих лактококами**

№ п/п	Назва сполуки, мг/кг	Контроль	Вид лактобактерій						
			L. diacetylactis			L. cremoris		L. lactis	
			1	2	9	1	2	1	2
1	$\delta$ -окталактон	3,31	4,49	5,18	5,34	2,91	4,18	1,50	0,50
2	$\delta$ -декалактон	2,51	4,94	3,51	5,74	1,98	1,08	1,35	1,41
3	$\delta$ -додекалактон	1,22	2,62	1,80	8,24	1,05	0,72	1,07	1,25
4	Сума	7,04	12,05	10,49	19,32	5,94	5,98	3,92	3,16

Тенденцію зменшення вмісту лактонів можна пояснити високим рівнем титрованої кислотності ферментованих вершків за участі культур *L. lactis*, оскільки у зразках цей показник був вищий 60 °Т. Відомо, що за таких умов рівновага взаємних перетворень лактони-оксикислоти може зсуватися у бік оксикислот внаслідок гідролітичних процесів [10].

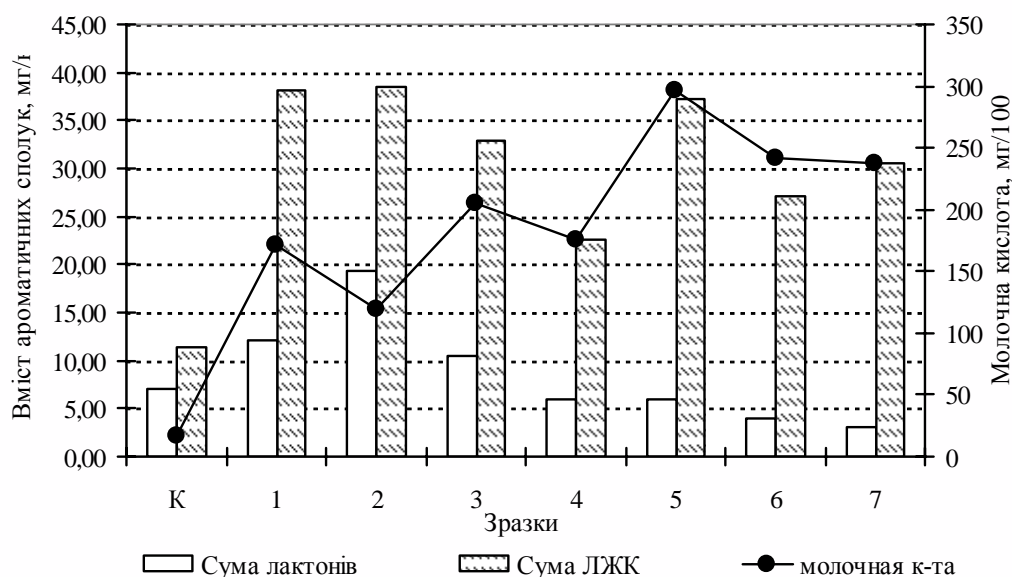
Визначення залежності між вмістом летких жирних кислот та загальної суми досліджуваної дельта-лактонів (рис. 3) показало для ферментованих вершків за участі культур *L. diacetylactis*, *L. cremoris* та *L. lactis* коефіцієнт кореляції становив  $r=0,67$  ( $n=5$ ;  $P<0,05$ );  $r=0,31$  ( $n=5$ ;  $P<0,05$ );  $r=0,74$  ( $n=5$ ;  $P<0,05$ ), відповідно.

Між накопиченням молочної кислоти та лактонами коефіцієнт кореляції становив за участі культур *L. diacetylactis* 1, 2, 9 -  $r=0,97$  ( $n=5$ ;  $P<0,05$ ); за участі культур *L. cremoris* -  $r=0,60$  ( $n=5$ ;  $P<0,05$ ); за участі культур *L. lactis* --  $r=0,84$  ( $n=5$ ;  $P<0,05$ ); коефіцієнт кореляції між накопиченням діацетила та лактонами дорівнював за участі культур *L. diacetylactis*  $r=0,92$  ( $n=5$ ;  $P<0,05$ ).

Таким чином, отримані дані підтвердили важливу роль кислотності середовища щодо накопичення ароматичних сполук у молочній сировині. Показано, що культури *L. cremoris* не мають високої кореляції між вмістом лактонів, летких жирних кислот та молочної кислоти, на відміну від культур *L. lactis* та *L. diacetylactis*, що вказує на їх відмінні метаболічні процеси.

Обрахування співвідношення загальної суми визначених лактонів ( $\delta C(8+10+12)$ )/загальної кількості летких жирних кислот показало, що для вершків ферментованих культурами *L. diacetylactis* цей показник варіював від 0,3 до 0,5, для культури *L. cremoris* - від 0,13 до 0,26; для *L. lactis* – від 0,1 до 0,14.

Якщо вважати, що погіршення аромату молочних продуктів часто пов'язують із низьким вмістом лактонів, то можна зробити висновок, що культури *L. diacetylactis* мають найбільший потенціал щодо ароматизації продукту, порівняно з монокультурами *L. cremoris* та *L. lactis*.



**Рис. 3. Вміст летких ароматичних компонентів та молочної кислоти у вершках, ферментованих культурами *L. diacetylactis*, *L. cremoris* та *L. lactis*.**

К – вершки, № 1 - *L. diacetylactis* 1, № 2 - *L. diacetylactis* 2, № 3 - *L. diacetylactis* 9, № 4 - *L. cremoris* 1; № 5 - *L. cremoris* 2; № 6 - *L. lactis* 1; № 7 - *L. lactis* 2.

#### Висновки.

1. Запропоновано застосування співвідношення масової частки оцтової до масляної кислоти, як хімічного критерію інтенсивності кисломолочного аромату у вершках.

2. Показано, що культури *L. diacetylactis* мають найбільший потенціал щодо ароматизації продукту, порівняно з культурами *L. cremoris* та *L. lactis*. Співвідношення суми лактонів ( $\delta C_{(8+10+12)}$ ) до суми ЛЖК для вершків, ферментованих культурами *L. diacetylactis*, варіювало від 0,3 до 0,5, для культур *L. cremoris* – від 0,13 до 0,26; для *L. lactis* – від 0,1 до 0,14.

3. Показано, що культури *L. cremoris* не мають високої кореляції між вмістом лактонів, летких жирних кислот та молочної кислоти, на відміну від культур *L. lactis* та *L. diacetylactis*, що вказує на відмінність їх метаболічних процесів.

**Перспективи подальших досліджень.** В подальшому планується розширити діапазон відтінків кисломолочного аромату за хімічними критеріями - вмістом та співвідношеннями окремих ароматичних сполук.

#### Література

1. Liu M., Nauta A., Francke C., Siezen Roland J. Comparative Genomics of Enzymes in Flavor-Forming Pathways from Amino Acids in Lactic Acid Bacteria // Appl Environ Microbiol. - 2008. – Vol. 74, № 15. – P. 4590-4600.

2. Yvon M., Chambellon E., Bolotin A. Characterization and role of the branched-chain aminotransferase (BcaT) isolated from Lactococcus subsp. Cremoris NCDO 763 // J. Appl. Environ. Microbiol. - 2000. - Vol. 66, № 2. - P. 571-577.

3.Nardi M., Fiez Vandal C. The EstA esterase is responsible for the main capacity of *Lactococcus lactis* to synthesize short chain fatty acid esters in vitro // J. Appl. Microbiol. - 2002. - Vol. 93, № 6. - P. 994-1002.

4.Smit B.A, Engels W.J.M., Alewjin M. Chemical conversion of alpha-keto acid in relation to flavor formation in fermented food //J. Agric. Food Chem. – 2004. - Vol. 52, № 5. - P.1263-1268.

5.Tsutomu Kaneko, Masahiro Takahashi, and Hideki Suzuki. Acetoin Fermentation by Citrate-Positive *Lactococcus lactis* 3022 Grown Aerobically in the Presence of Hemin or  $\text{Cu}^{2+}$  // Applied and Environmental Microbiology. – 1990. - Vol. 56, № 9. – P. 2644-2649.

6.Hugenholtz J. Citrate metabolism in lactic acid bacteria// FEMS Microbiol. Rev. – 1993. – Vol. 12, №1-3. – P. 165-178.

7.Гринене Е., Дайлиденене В. Метод ТЖХ для изучения образования лактонов в процессе биохимического созревания сливок. – В кн.: Методы в биохимии. Мат. ко 2 съезду биохимиков ЛитССР. Вильнюс. – 1975. – с. 422-425.

8.Loney B.E., Bassette R. Changes in Free Fatty Acids and Lactones in Sterile Concentrated Milk During Storage // Journal of Dairy Science – 1971. - Vol. 54, № 3 - P. 343-348.

9.Parliment T.H., Nawar W.W., Fagerson I.S. Origin of Delta-Lactones in Heated Milk Fat// Journal of Dairy Science. – 1966. - Vol. 49, № 9. - P.1109-1112.

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