

ПЕРЕРОБЛЕННЯ ТВАРИННИЦЬКОЇ СИРОВИНИ

УДК 637.146.2

О.В. Боднарчук, к.т.н.,

Н.Ф. Кігель, д.т.н.

Інститут продовольчих ресурсів НААН

ОПРАЦЮВАННЯ СПОСОБУ НАГРОМАДЖЕННЯ БІОМАСИ ЗАКВАШУВАЛЬНОЇ КОМПОЗИЦІЇ ДЛЯ БАКТЕРІАЛЬНОГО ПРЕПАРАТУ ДЛЯ КИСЛОВЕРШКОВОГО МАСЛА

У статті наведено результати досліджень щодо способів нагромадження заквашувальної композиції для бактеріального препарату. Встановлено, що заквашувальна культура для кисловершкового масла, отримана за спільного та роздільного культивування її ароматоутворювальних мезофільних та кислотоутворювальних термофільних складових, розрізняється за вмістом ароматичних речовин та смаковими характеристиками.

Встановлено, що спільне нарощування всіх складових заквашувальної композиції впродовж 12 год забезпечує достатню її врожайність в цілому, ефективно впливає на її біохімічну активність та має переваги у економічному відношенні. Показано залежність ростової активності мікрофлори бактеріальної композиції від співвідношення між штамами в посівному матеріалі.

Ключові слова: бактеріальна композиція, діацетил, леткі органічні кислоти, молочнокислі бактерії

В статье приведены результаты исследований относительно способов накопления заквасочной композиции для бактериального препарата. Установлено, что заквасочная культура для кислосливочного масла, полученная при общем и раздельном культивировании ее ароматообразующих мезофильных и кислотообразующих термофильных составляющих, различается по содержанию ароматических веществ и вкусовым характеристикам. Установлено, что общее наращивание всех составляющих заквасочной композиции на протяжении 12 ч обеспечивает достаточную ее урожайность в целом, эффективно влияет на биохимическую активность и имеет преимущества в экономическом отношении. Показана зависимость ростовой активности микрофлоры бактериальной композиции от соотношения между штаммами в посевном материале.

Ключевые слова: бактериальная композиция, диацетил, летучие органические кислоты, молочнокислые бактерии

The results of researches relating the methods of accumulation of starter composition for bacterial preparation are adduced. Bacterial culture for sour-cream butter obtained by general and separate cultivation of its mesophilic and thermophilic constituents differed by the content of aromatic compounds and taste characteristics.

It was established, that general increase of all strains of bacterial composition during 12 h provides its whole sufficient productivity, effectively influences its biochemical activity and that it has economic advantages.

Dependence of the growth activity of microflora of bacterial composition on the cultures ratio in inoculum is shown.

Keywords: bacterial composition, diacetyl, lactic acid bacteria, volatile organic acids,

Традиційними заквашувальними культурами для виробництва кисловершкового масла є ароматоутворювальні мезофільні лактококи видів *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*

biovar. *diacetylactis*, *Leuconostoc mesenteroides*, які здатні утворювати такі ароматичні речовини як діацетил, ацетоїн, леткі органічні кислоти, але характеризуються низькою кислотоутворювальною активністю. Тому їх, зазвичай, доповнюють кислотоутворювальними штамми молочнокислих мікроорганізмів. Як правило, поряд з мезофільними лактококами використовують енергійні кислотоутворювачі – термофільні лактобацили видів *Lactobacillus helveticus*, *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, які продукують велику кількість молочної кислоти. Використання таких комбінованих культур є ефективним у технологіях поточного способу виробництва кисловершкового масла, оскільки це відразу забезпечує бажаний кисломолочний смак та аромат продукту [1-5].

Окрім того, багатовидові поєднання мікроорганізмів створюють сприятливі умови для розвитку один одного, скорочують тривалість ферментації, поліпшують органолептичні показники кінцевого продукту.

Нами було розроблено бактеріальну композицію, що містить штами молочнокислих бактерій видів *Lactococcus lactis* ssp. *diacetylactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* та є основою біотехнології заквашувальної культури для кисловершкового масла.

Метою роботи було науково-практичне обґрунтування способу нагромадження біомаси полівидової заквашувальної композиції для бактеріального препарату, призначеного для виробництва кисловершкового масла.

Матеріали та методи досліджень. У роботі заквашувальні композиції оцінювали органолептично, за активною кислотністю кисломолочних згустків – потенціометрично, за урожайністю – за ДСТУ 7357:2013; за здатністю до продукування смако-ароматичних речовин заквашувальних композиціями у знежиреному молоці за кількістю діацетилю та летких органічних кислот – після дистиляції з водяною парою [6].

Результати дослідження та їх обговорення. Мікрофлора розробленої заквашувальної композиції представлена термофільними та мезофільними мікроорганізмами, які різняться температурним оптимумом, темпами росту та енергією кислотоутворення. Тому спільне культивування є більш складним, ніж роздільне. Однак роздільне приготування двох бактеріальних культур ускладнює роботу у виробничому процесі та потребує значніших витрат на їхнє отримання.

Проте у світовій практиці виготовлення бактеріальних препаратів часто використовують окреме виготовлення різних видів культур та їхнє змішування у необхідних пропорціях. У зв'язку з цим стояло завдання визначити спосіб нагромадження біомаси заквашувальної композиції для бактеріального препарату. Для цього розглядали 3 варіанти:

№1 – нагромадження мезофільних лактококів виду *L. diacetylactis* як складових бактеріальної композиції за температури $(30\pm 1)^\circ\text{C}$;

№2 – нагромадження термофільних мікроорганізмів видів *S. thermophilus* та *L. bulgaricus* як складових бактеріальної композиції за температури $(37\pm 1)^\circ\text{C}$;

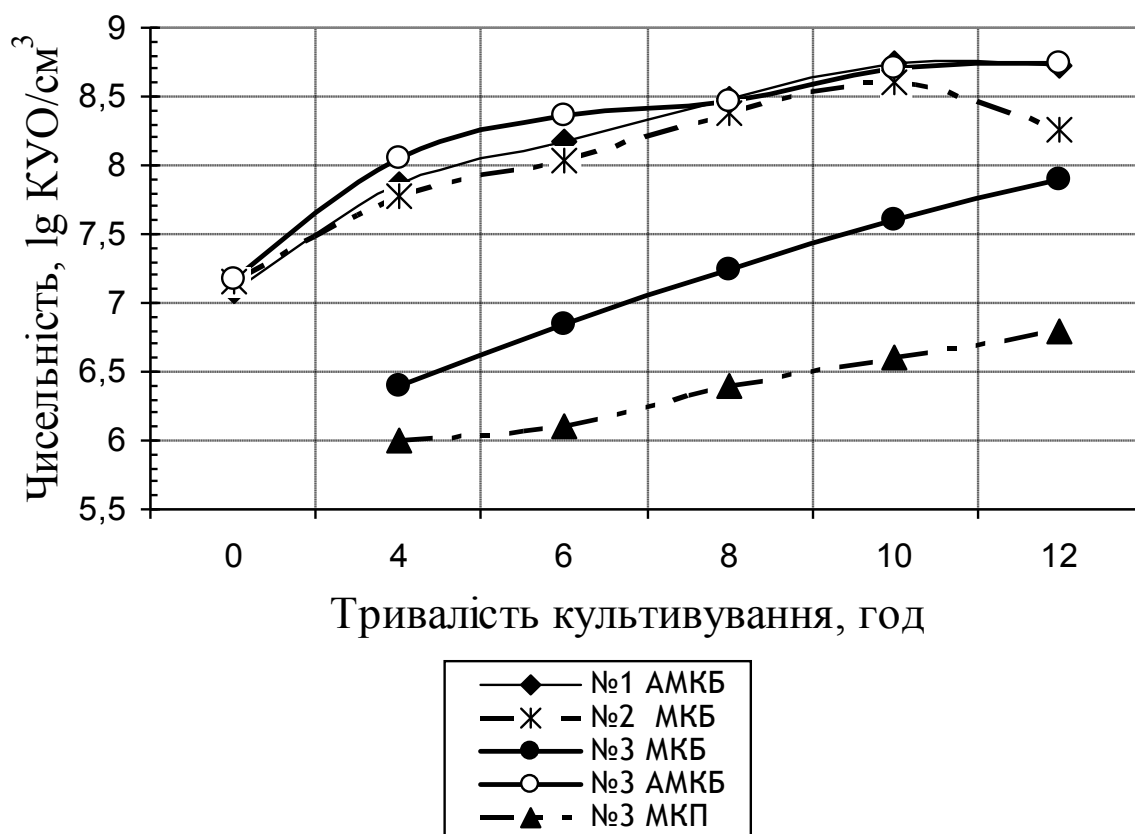
№3 – нарощування мезофільних бактерій за температури $(30\pm 1)^\circ\text{C}$ впродовж 4 год та наступне внесення термофільних бактерій і спільне культивування заквашувальної композиції за температури $(33-34)^\circ\text{C}$ впродовж 8 год.

Нагромадження біомаси здійснювали в поживному середовищі на основі сухої сироватки, до якої додавали пептон, як джерело азотного живлення, лимоннокислий та оцтовокислий натрій, дріжджовий автолізат з додаванням компонентів, які необхідні

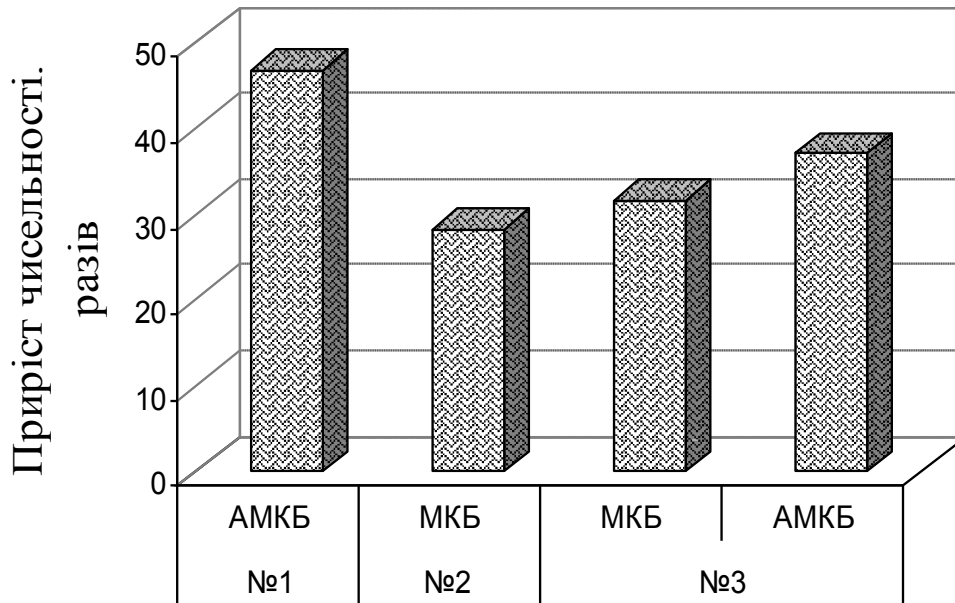
для активного розвитку лактобактерій – джерела вуглецю, азоту, мікроелементи. Активну кислотність перед заквашуванням встановлювали на рівні 6,8 од. рН.

Вирощування всіх варіантів бактеріальних композицій у поживних середовищах проводили упродовж 12 год із нейтралізацією середовища аміаком кожні 2 год.

Було встановлено перевагу спільного культивування (варіант №3), яке забезпечувало нагромадження достатнього вмісту термофільних мікроорганізмів та мезофільних ароматоутворювальних лактококів впродовж 12 год (рис 1а). Однак за умов спільного культивування, рівень болгарської палички, яка є активним кислотоутворювачем та доповнює смако-ароматичний букет, не був достатнім. Водночас, нарощування окремо мезофільних та термофільних лактобактерій дозволило нагромаджувати максимальну кількість клітин лише за 10 год, надалі клітини відмирали. Відповідно, вміст лактофлори у варіантах №1 та №2 складав \lg 8,75 і 8,6 КУО/см³. Кількість *L. diacetylactis* у варіанті №1 була найбільшою, оскільки клітини цих бактерій зросли в 47 разів. Спільне культивування (варіант №3) було ефективним для термофільних мікроорганізмів, оскільки призвело до збільшення їхньої біомаси у 32 рази, що дозволяє стверджувати про їхню сумісність та стимулювання. За цього способу нарощування чисельність ароматоутворювальних лактококів зростала у 38 разів. За умови окремого нарощування термофільної лактофлори зафіксовано зростання чисельності клітин на кінець досліду лише у 28 разів (рис.1б).



а)



б)

Рис. 1. Нагромадження біомаси бактеріальної композиції (а) та приріст чисельності (б) за різних способів наросування складових заквашувальної композиції:

№1 – наросування мезофільних ароматоутворювальних лактококів *Lactococcus diacetylactis* (АМКБ);

№2 – наросування термофільних лактобактерій *Streptococcus thermophilus* та *Lactobacillus bulgaricus* (МКБ);

№3 – спільне наросування мезофільних та термофільних мікроорганізмів;
МКП – молочнокислі палички *Lactobacillus bulgaricus*

Щоб спрогнозувати доцільність та ефективність використання у майбутньому двох бактеріальних культур мезофільного та термофільного складу, було заквашене молоко культуральними середовищами у різних співвідношеннях у кількості 3%.

Хоча показник активності росту заквашувальної мікрофлори є дуже важливим, для бактеріальних культур, призначених для виробництва кисловершкового масла, не менш важливим є їхня здатність синтезувати ароматичні сполуки. З огляду на це, дозрілі кисломолочні згустки, отримані сквашуванням різними комбінаціями термофільної та мезофільної основи (табл. 1), аналізували за вмістом смако-ароматичних речовин та порівнювали їх з молоком, ферментованим заквашувальною композицією, складові якої наросували спільно у поживному середовищі.

Слід зазначити, що ароматоутворювальна активність композицій залежала від співвідношень ароматоутворювальних та кистотоутворювальних складових закваски. Як видно з табл. 1, різні комбінації заквасок мезофільних (№1) та термофільних (№2) культур, у яких співвідношення зсунуті на користь термофільної складової, призводять до зростання вмісту речовин, які обумовлюють смак та аромат. Із проаналізованих варіантів було помічено, що введення більшої частки термофільної мікрофлори №2 стимулювало синтез діацетилу з 0,417 до 0,471 мг/100 г, а летких органічних кислот – з 300 до 370 мекв/100 г.

**Вплив способу культивування заквашувальної композиції на якість
кисломолочних згустків**

Заквашувальна композиція (ЗК)	Доза інокуляту, (співвідношення між ЗК)	Вміст діацетилу, мг/100 г	Вміст летких органічних кислот, мекв/100 г
№1	3%	0,465±4,4	206,64±1,8
№2	3%	0,320±3,1	118,67±1,0
№3	3%	0,440±4,3	316,63±2,1
№1+№2	3% (4:1)	0,417±4,0	300,00±1,9
№1+№2	3% (3:2)	0,447±3,9	317,32±1,8
№1+№2	3% (1:1)	0,423±4,0	366,63±2,4
№1+№2	3% (2:3)	0,471±4,2	370,00±2,5

Вартий уваги і той факт, що заквашувальна композиція, відібрана у попередніх дослідженнях з співвідношенням мезофільних та термофільних складових як 4:1, була вдалою і приваблювала якісними характеристикам. Її застосування є перспективним. Так, заквашувальна культура, отримана шляхом спільного культивування її складових, за продукуванням ароматичних сполук навіть дещо переважала (у 1,1 рази) спосіб змішування заквашувальних культур №1 та №2 у співвідношенні 4:1. Співвідношення 1:1 між *L. diacetylactis* та термофільними мікроорганізмами було не дуже вдалим, оскільки послаблювало продукування діацетилу, хоча кількість утворених ними летких органічних кислот була доволі високою.

Аналізуючи отримані результати окремого нарощування, можна висловити такі припущення: мезофільна культура №1 характеризуватиметься високою здатністю до продукування діацетилу у порівнянні з бактеріальною культурою №3, яку передбачається отримати спільним культивуванням її складових. Проте заквашувальна композиція термофільного складу поступатиметься за цією функцією, про що свідчить нижчий вміст як діацетилу, так і летких органічних кислот.

Молочнокислі палички за цих умов демонстрували невисокий приріст клітин (менше ніж на порядок), унаслідок нетривалого терміну культивування та температури, занадто низької для їхнього росту, однак, на нашу думку, спільне нарощування мезофільних та термофільних бактерій має переваги завдяки взаємному стимулюванню складників.

Експериментальна перевірка означеного вище припущення показала, що спосіб спільного культивування був ефективним для нарощування бажаного рівня *L. diacetylactis* та термофільних стрептококів, однак отриманий рівень кількості болгарської палички наприкінці культивування був не достатнім. Враховуючи і той факт, що надалі, у процесі ліофільного сушіння молочнокислим паличкам притаманне нижче виживання порівняно з лактококами, необхідність підвищити кількість молочнокислих паличок виду *L. Bulgaricus* є очевидною.

Підвищити рівень нагромадження лактобацил намагалися шляхом подовження культивування до 12 год за одночасного внесення мезофільних та термофільних мікроорганізмів – варіант №1, збільшенням частки лактобацил у посівному матеріалі за рахунок зниження ароматоутворювальної мікрофлори (варіанти №3,4). Контролем був означений вище варіант №2. Для переконання у правильності вибору способу спільного культивування ще раз перевіряли ефективність окремого нарощування мезофільної та термофільної основи бактеріальної композиції (варіанти №5,6). Доза внесення інокуляту у всіх варіантах – 5%. Тривалість культивування всіх варіантів заквашувальної композиції – 12 год без періодичного розкислення аміаком.

Після 12 год вирощування у культуральній рідині визначали чисельність клітин та активну кислотність. Представлені у таблиці 2 результати чітко вказують про вплив співвідношення між складовими заквашувальної культури в посівному матеріалі на їхню життєдіяльність.

Таблиця 2

Вплив складу посівного матеріалу та способу культивування на розвиток складових заквашувальної композиції під час культивування упродовж 12 год

Варіанти	Заквашувальна композиція, співвідношення, спосіб культивування	Тем-ра куль-ня, °С	Приріст чисельності клітин, разів		Кінцевий титр <i>L. bulg.</i> , КУО/см ³	рН
			МКБ	АМКБ		
1	<i>L. dl 1+L. dl 2+S. ther+L. bulg</i> (2:2:0,5:0,5) одночасне внесення інокуляту та спільне нарощування	33-34	35,48	37,00	10 ⁶	4,37
2	<i>L. dl 1+L. dl 2+S. ther+L. bulg</i> (2:2:0,5:0,5) підсів термофільних бактерій через 4 год	33-34	25,11	50,12	10 ⁶	4,68
3	<i>L. dl 1+L. dl 2+S. ther+L. bulg</i> (1,5:1,5:1:1) одночасне внесення інокуляту та спільне нарощування	33-34	50,12	42,66	10 ⁷	4,65
4	<i>L. dl 1+L. dl 2+S. ther+L. bulg</i> (1,5:1,5:0,8:1,2) одночасне внесення інокуляту та спільне нарощування	33-34	48,00	40,20	10 ⁷	4,60
5	<i>L. dl 1+L. dl 2</i>	30	-	49,00	-	4,81
6	<i>S. ther+L. bulg</i>	37	36,31	-	10 ⁷	4,60

Слід зазначити, що збільшення частки лактобацил в інокуляті сприяло стрімкому росту термофільних мікроорганізмів. Після 12 год культивування чисельність їхніх клітин збільшилася у 48-50 разів (варіанти №3,4) у порівнянні з варіантом №2, у якому було зафіксовано приріст клітин лише у 25 разів. Водночас зменшення частки ароматоутворювальних бактерій призвело до незначного сповільнення їхнього росту. Так було помічено, що приріст клітин даних мікроорганізмів була лише у 40-42 разів.

Однак найбільшу кількість молочнокислих паличок спостерігали у варіанті №4. За одночасного внесення інокуляту мезо- та термо – лактобактерій чисельність зроста, відповідно, у 35 та 37 разів. Слід зазначити, що лише за умови одночасного внесення всіх видів лактобактерій та у разі збільшення частки болгарської палички до 1,2% (варіанти №3,4) вдалося на кінець культивування досягти її вмісту 10⁷ КУО/см³.

Отже, дослідним шляхом було встановлено, що для досягнення необхідної кількості клітин та ефективного функціонування всіх представників бактеріальної композиції раціональним є нарощування мезофільних лактобактерій упродовж 4 год з наступним внесенням термофільних складових та їх спільного вирощування композиції за температури (34±1)°С упродовж ще 8 год.

Таким чином, спільне нарощування лактофлори заквашувальної композиції є перспективним, оскільки забезпечує достатню кількість життєздатних клітин як мезо-,

так і термофільних мікроорганізмів, і, як наслідок, необхідний рівень кислотності, достатню кількість ароматичних речовин, діацетила та летких органічних кислот.

Висновки

Спільне нагромадження комбінованих бактеріальних культур на основі молочнокислих мезофільних та термофільних мікроорганізмів для бактеріального препарату забезпечує достатню врожайність в цілому, розширює спектр смакоароматичних речовин та має переваги у економічному відношенні. Робота відкриває широкі перспективи щодо розвитку теоретичних аспектів підвищення біохімічної активності заквашувальної культури для кисловершкового масла та розширення асортименту продуктів маслоробства.

Література

1. Боднарчук О.В. Заквашувальні культури у виробництві кисловершкового масла / О.В. Боднарчук, Н.Ф. Кігель, О.В. Король [та ін.] // Молокопереробка. – 2013. – №4. — С. 12-19.
2. Шершнева В. Производство кисломолочного масла / Шершнева В. – Москва: Пищепромиздат, 1957. — 62 с.
3. Кігель Н.Ф. Властивості кисловершкового масла, ароматизованого внесенням закваски в пласт / Н.Ф.Кігель, Г.О. Єресько, О.В. Боднарчук // Продовольчі ресурси. – 2013. – С.91-97.
4. Гринене Э.К. Технологические аспекты по повышению качества сливочного масла на основе изучения его вкусовых и ароматических свойств : авторефер. дис. на здобуття наук. ступеня докт. техн. наук : спец. 05.18.04 «Технологія м'ясних, молочних та рибних продуктів» / Э.К. Гринене. – Каунас, 1984. – 40 с.
5. Павлова Т.А. Разработка технологии кисломолочного масла пониженной жирности: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. техн. наук : спец. 05.18.04. «Технологія м'ясних, молочних та рибних продуктів» / Т.А. Павлова. – Вологда-Молочное, 2012. – 19 с.
6. Инихов Г.С. Методы анализа молока и млочных продуктов / Г. Инихов, Н. Брио. – Москва : Пищевая промышленность, 1971. – С.132-133.