

УДК 637.055; 579.24

О.І. Потемська, н.с
Н.Ф. Кігель, д.т.н., гол.н.с
С.Г. Даниленко, к.т.н., с.н.с.
К.В. Копилова, д.с.-г.н., заст. директора
з наукової та інноваційної роботи
В.М. Закревська, пров. фах.
Інститут продовольчих ресурсів НААН, м. Київ

ВІДБІР МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ ЗА РЕОЛОГІЧНИМИ ПОКАЗНИКАМИ

Важливими критеріями для складання заквашувальних композицій при виробництві кисломолочних продуктів є їхня кислотність, вологоутримувальна здатність (ВУЗ) та в'язкість. При виготовленні кисломолочних напоїв реологічні характеристики молочнокислих бактерій відіграють важливу роль, оскільки в'язкість культур лежать в основі розробки та підбору заквашувальної композиції для кисломолочних напоїв. У роботі наведено результати експериментальних досліджень, щодо визначення реологічних характеристик лактобактерій та обґрунтовано вибір культур даних мікроорганізмів для виробництва кисломолочних напоїв. Встановлено особливості перебігу технологічного процесу виробництва кисломолочного продукту з високим ступенем тиксотропності та синтезу природних згущувачів консистенції.

Ключові слова: реологічні показники, в'язкість, вологоутримувальна здатність, синерезис, молочнокислі бактерії, кисломолочний продукт.

O.I. Potemska, res.worker
N.F. Kigel, D.Sc.Technics, Chief res.worker
S.G. Danylenko, Ph.D., Technics, sen.res. worker,
K.V. Kopylova, D-r of Science, agriculture
Deputy Director on the Scientific and Innovation Work
V.M. Zakrevska, lead spec.
Food Resources Institute of NAAS

LACTIC ACID BACTERIA SELECTION BASED ON RHEOLOGICAL CHARACTERISTICS

In the selection of crops to produce starter compositions used to manufacture of dairy products cultures their acidity, water-holding capacity (WHC) and viscosity are of primary importance. In the manufacture of fermented drinks beverage rheological characteristics of lactic acid bacteria play an important role as viscosity cultures underlie the development and selection of a starter composition for fermented milk. The results of experimental studies to determine the rheological properties of lactic acid bacteria and justified the choice of crops microorganisms for the production of fermented beverages. Characteristics of the process of production of fermented milk product with a high degree of thixotropy and synthesis of natural thickeners consistency were determined.

Keywords: *rheological parameters, viscosity, water-holding capacity, syneresis, lactic acid bacteria, fermented milk product.*

О.И. Потемская, н.с

Н.Ф. Кизель, д.т.н., гл.н.с

С.Г. Даниленко, к.т.н., с.н.с.

*Е.В. Копылова, д.с.-х.н., зам. директора
по научной и инновационной работе*

В.М. Закревська, вед. спец.

Институт продовольственных ресурсов НААН, г. Киев

ОТБОР МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ ПО РЕОЛОГИЧЕСКИМ ПОКАЗАТЕЛЯМ

В выборе культур для составления заквашиваемых композиций при производстве кисломолочных продуктов на первый план выступает их кислотность, влагоудерживающая способность (ВУС) и вязкость. При изготовлении кисломолочных напитков реологические характеристики молочнокислых бактерий играют важную роль, поскольку вязкость культур лежит в основе разработки и подборе заквасочной композиции для кисломолочного напитка. В работе приведены результаты экспериментальных исследований, по определению реологических характеристик лактобактерий и обоснован выбор культур данных микроорганизмов для производства кисломолочных напитков. Был определен стабильный ход технологического процесса производства кисломолочного продукта с высокой степенью тиксотропности и синтеза природных загустителей консистенции.

Ключевые слова: *реологические показатели, вязкость, влагоудерживающий способность, синерезис, молочнокислые бактерии, кисломолочный продукт.*

Переважає більшість кисломолочних напоїв виробляється резервуарним способом, за якого молочно-білковий згусток після ферментації у танку піддається інтенсивній механічній обробці і руйнується під час перемішування, транспортування та фасування. Це може негативно вплинути на консистенції готового продукту і, що, не влаштовує ні виробника, ні споживача. Зазвичай, для поліпшення консистенції кисломолочних продуктів практикується використання різноманітних стабілізаторів, що негативно впливає на сприйняття цих продуктів споживачами. Доцільнішим є біологічний спосіб вирішення цих проблем, суть якого полягає у залученні до складу заквасок штамів молочнокислих бактерій, здатних до утворення в'язких екзополімерів. Така властивість притаманна, перш за все, термофілам і стрептококам, лейконостокам та деяким лактобацилам. Переважно це високомолекулярні сполуки вуглеводно-білкової природи, які разом із білками молока утворюють щільний згусток з густою консистенцією [1].

Відомо, що міцність згустку, ступінь його відновлення після руйнування та синерезис залежать від мікроорганізмів закваски та технології виробництва кисломолочного продукту. Зокрема застосування заквасок, які здатні до утворення слизу, навіть у незначній кількості, сприяє поліпшенню реологічних показників кисломолочних продуктів [2].

Кисломолочні напої (йогурти, кефір, простокваша) належать до аномально в'язких рідин. Структуровані системи, які формуються у молоці у процесі виробництва кисломолочних напоїв, містять як необернено руйнівні зв'язки конденсаційного типу так і тиксотропно обернені зв'язки. Перші з них – міцніші, вони надають структурі пружно крихких властивостей, тоді як другі, – слабші, відповідають за еластичність та пластичність. Відновлення структури молочного згустку є бажаною технологічною властивістю у виробництві кисломолочних продуктів, особливо резервуарним способом, що характеризується ступенем тиксотропного відновлення структури [3, 4].

На реологічні властивості кисломолочних напоїв в значній мірі впливають режими теплової обробки та вид заквашувальної культури. За низької температури пастеризації

утворюється слабкий згусток, з ростом температури і збільшенням витримки нагрівання він стає щільнішим та міцнішим.

Отже, дослідження реологічних властивостей згустків, утворених молочнокислими бактеріями, є перспективним для пошуку штамів – природних стабілізаторів структури.

Метою роботи було дослідити реологічні властивості молочних згустків, утворених різними штамми молочнокислих бактерій.

Матеріали і методи. Об'єктами досліджень були штами молочнокислих бактерій з колекції відділу біотехнології ІПР НААН.

Культури вирощували у стерильному знежиреному молоці за оптимальних умов для кожного із видів до утворення згустку [5].

Вологоутримувальну здатність культур оцінювали методом центрифугування [6]. Згусток ферментованого лактобактеріями молока ретельно перемішували до однорідної консистенції і вносили у 3 мірні пробірки у кількості 10 см³. Пробірки витримували упродовж 10 хв у водяній бані за температури 30-35°C, після чого центрифугували протягом 5 хв за 1000 тис.об/хв. Реєстрували кількість відділеної сироватки за градуйованою шкалою пробірки. За кінцевий результат приймали середнє значення трьох пробірок відділеної сироватки у см³.

Реологічні характеристики кисломолочних згустків визначали на ротаційному віскозиметр “RHEOTEST II” з вимірювальною системою циліндр-циліндр (S/S₃) [7, 8]

У проміжок між циліндрами вносили 30 см³ згустку, в якому під дією центрової сили обертання ротора відбувався зсув одного шару згустку відносно іншого. За швидкістю обертання ротора та силою опору його обертанню визначали реологічні характеристики продукту. Вимірювання проводили, починаючи з низьких показників швидкості деформації. Показники приладу переводили у напруження зсуву (Па) за даної швидкості деформації за формулою:

$$\tau = Z \cdot \alpha,$$

де τ – напруження зсуву, Па;

α – показники приладу;

Z – константа циліндра, Па/од. шкали приладу. Для S/S₃ Z становить 7,75.

Ефективну в'язкість дослідних зразків визначали за формулою:

$$\eta_{\text{ef}} = \tau / D_r \cdot 100,$$

де η_{ef} – ефективна в'язкість, мПа · с

τ – напруження зсуву, Па

D_r – граничне напруження зсуву, Па²/с. $D_r = \text{const}$ для кожного режиму руйнування згустку.

Відносну колову швидкість обертання внутрішнього циліндра розраховували за формулою:

$$\omega = 2 \pi R_b N,$$

де ω – відносна колова швидкість, м/с

R_b – радіус внутрішнього циліндра

N – частота обертання ротора, с⁻¹.

Крива залежності ефективної в'язкості від колової швидкості описується наступним рівнянням:

$$\eta_{\text{ef}} = B \omega^{-m},$$

де B – коефіцієнт, який дорівнює значенню ефективної в'язкості за колової швидкості 1 м/с;

m – інтенсивність руйнування структури дослідного матеріалу.

Тикскотропні властивості згустків визначали за ефективною в'язкістю незруйнованого згустку ферментованого молока [8]. Далі згустки руйнували перемішуванням. Для всіх зразків застосовували однаковий режим п'ятикратного перемішування. Після цього зразки витримували упродовж 2 годин за температури (4±2) °С і знову контролювали ефективну в'язкість.

Результати досліджень. Проведено скринінг штамів молочнокислих бактерій за характером утвореного молочнокислого згустку та його водоутримувальною здатністю. Було перевірено штамів: *S. thermophilus* – 7, *Lactococcus ssp.* – 6, *Lactobacillus ssp.* – 7 та *Leuconostoc ssp.* – 1.

Усі згустки були однорідними без утворення вічок і розрізнялись за вологоутримувальною здатністю табл.1. Вологоутримувальна здатність згустків термофільних стрептококів була вищою в порівнянні з мезофільними лактококами. За рівнем вологоутримувальної здатності штами можна умовно поділити на три групи. До першої групи відносяться нев'язкі штами з вологоутримувальною здатністю в межах $\leq 40 \geq 50$ %. До другої - середньов'язкі штами з вологоутримувальною здатністю в межах $\leq 51 \geq 64$ %. До третьої - в'язкі штами з вологоутримувальною здатністю в межах $\leq 65 \geq 100$ %.

Таблиця 1

Вологоутримувальна здатність

<i>Група</i>	<i>Назва штаму</i>	<i>Вологоутримувальна здатність, %</i>
I група	1. <i>L. casei ssp. casei</i> 3302	49,5
	2. <i>L. lactis</i> Lf3	50,0
	3. <i>L. casei ssp. casei</i> 1310	45,0
	4. <i>L. diacetylactis</i> CKГ 5	50,5
II група	5. <i>L. lactis</i> 18,3	55,0
	6. <i>S. thermophilus</i> E 27	56,5
	7. <i>Leuconostoc</i> №2	56,0
	8. <i>L. helveticus</i> 7 Oks	64,0
	9. <i>L. diacetylactis</i> Dan 6 dl2	59,5
	10. <i>L. bulgaricus</i> 3500	55,0
	11. <i>L. acidophilus</i> 3500	59,5
	12. <i>S. thermophilus</i> 2120	55,5
III група	13. <i>L. acidophilus</i> 20y	73,0
	14. <i>S. thermophilus</i> A ₄	65,0
	15. <i>L. lactis ssp. cremoris</i> КД2	74,0
	16. <i>S. thermophilus</i> CT-4	71,0
	17. <i>S. thermophilus</i> 2145	79,5
	18. <i>L. lactis ssp. cremoris</i> 24 ₁	74,0
	19. <i>S. thermophilus</i> 381	91,0
	20. <i>S. thermophilus</i> 74	65,0
	21. <i>L. bulgaricus</i> 3507	75,0

Розподіл культур за рівнем вологоутримувальної здатності зображено на рис. 1. Як впливає з отриманих даних, штами *S. thermophilus* CT-4, *S. thermophilus* A₄, *S. thermophilus* 381, *S. thermophilus* 74, *S. thermophilus* 2145, *L. acidophilus* 20y, *L. lactis ssp. cremoris* КД2, *L. lactis ssp. cremoris* 24₁, *L. bulgaricus* 3507 характеризувалися високою вологоутримувальною здатністю, що свідчить про низьку ймовірність відділення сироватки. Найбільшу вологоутримувальну здатність встановлено для згустків, утворених культурами *S. thermophilus* 381, *S. thermophilus* 2145, *S. thermophilus* CE-4 - 91%, 79,5% та 71% відповідно.

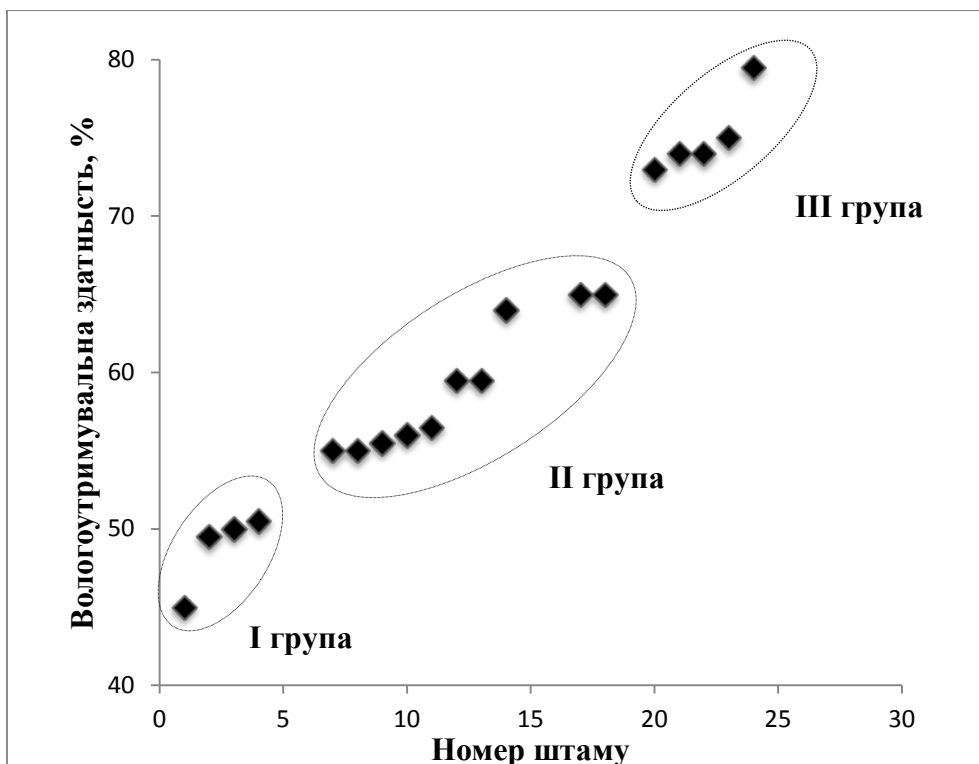


Рис. 1. Розподіл штамів за рівнем вологоутримувальної здатності

Структурно-механічні характеристики згустків ферментованого штамами *S. thermophilus CT-4*, *S. thermophilus 381* молока також були більш прийнятними порівняно з іншими варіантами. Ці згустки характеризувались стійкістю до механічного руйнування та високою тиксотропністю, що свідчить про перспективу залучення цих штамів до складу заквасок для кисломолочних напоїв, як природних згущувачів консистенції.

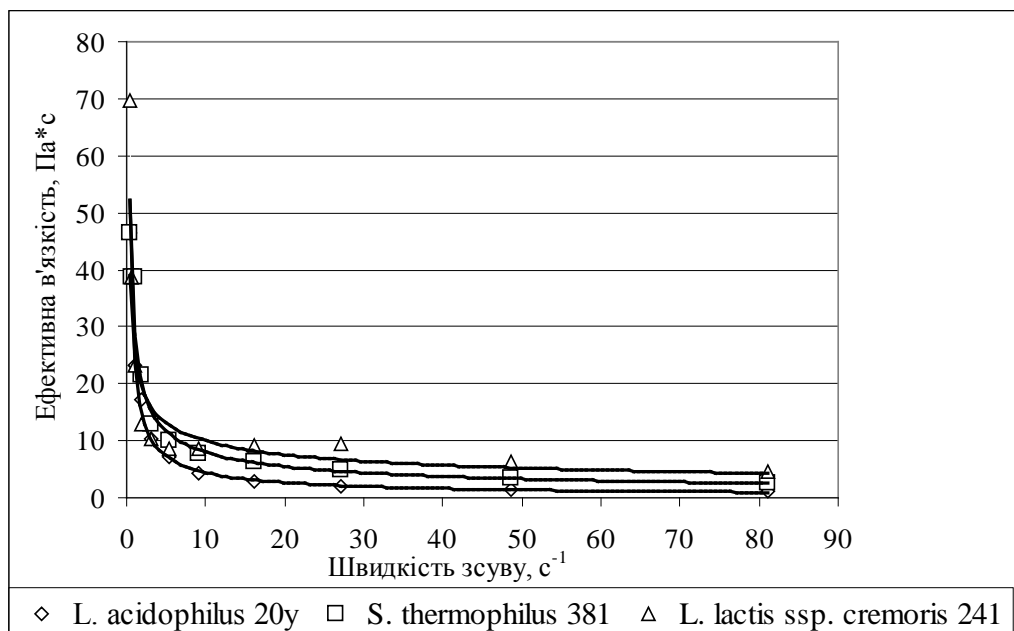


Рис. 2. Залежність інтенсивності руйнування згустку від ефективної в'язкості *L. acidophilus 20y*; *S.thermophilus St 381*, *L. lactis ssp. cremoris 241*.

Із рис. 2 видно, що ефективна в'язкість у штаму *L. lactis ssp. cremoris 241* при збільшенні напруження зменшується раніше, тоді як у штамів *L. acidophilus 20y*;

S.thermophilus St 381 – пізніше. Тому можна припустити, що культури *L. acidophilus 20y*; *S.thermophilus St 381* є стійкішими до механічного впливу.

За оціночний критерій текстуроутворювальної здатності було обрано коефіцієнт В. Він відповідає значенню ефективної в'язкості кисломолочних згустків, яку вимірювали у зразках згустків після їх дозрівання упродовж 17-18 год за температури 6-8 °С за колової швидкості 1 м/с (Табл. 2.).

Таблиця 2.

Характеристика згустків перспективних штамів

	<i>Назва культури</i>	<i>Ефективна в'язкість, Па*с</i>	<i>Вологоутримувальна здатність, %</i>
1	<i>S. thermophilus A₄</i>	24,473	65
2	<i>S. thermophilus 74</i>	20,965	65
3	<i>S. thermophilus CT-4</i>	20,310	71
4	<i>L. acidophilus 20y</i>	23,141	73
5	<i>L. lactis ssp. cremoris КД2</i>	29,995	74
6	<i>L. lactis ssp. cremoris 24₁</i>	25,349	74
7	<i>L. bulgaricus 3507</i>	20,308	75
8	<i>S. thermophilus 2145</i>	28,316	80
9	<i>S. thermophilus 381</i>	28,269	91

Дослідження таких властивостей штамів молочнокислих бактерій, як вологоутримувальна здатність та ефективна в'язкість продукту, показали, що існують прямі кореляційні зв'язки між досліджуваними параметрами, оскільки розраховане значення коефіцієнту кореляції Спірмена є позитивним та достовірним на $p \geq 0,95$. Судячи із абсолютної величини коефіцієнту кореляції $r = 0,55$, можна зробити висновок, що кореляційні зв'язки між даними параметрами є середніми за силою.

Аналіз отриманих даних показав, що реологічну поведінку згустків ферментованого молока можна описати кривими, за виглядом яких можна стверджувати про наявність пластичних та псевдопластичних властивостей. Отримані результати узгоджуються з названою інформацією про те, що кисломолочні згустки є не ньютонівськими тиксотропними рідинами, оскільки їх в'язкість зменшується у часі.

Опрацювання отриманих результатів дозволило розрахувати індекс текучості системи, який визначає ступінь руйнування або зміцнення структури за додаткового напруження (градієнт деформації) – рис. 3.



Рис. 3. Індекс текучості кисломолочних згустків, ферментованого штамами лактобактерій (нумерація штамів відповідно до таблиці 2)

Було встановлено, що індекси текучості згустків, ферментованих штамами трьох груп, були різними, а в межах кожної із обстежених груп лактобактерій вони практично не розрізнялись. Це свідчить про те, що видова приналежність мікроорганізмів впливає на структурно-механічні властивості сквашеного ними молока. Як видно з рисунку 3, максимальні значення індексу текучості від ($\geq 0,70$) характерні для двох штамів *S. thermophilus* та *L. acidophilus*, а найнижчі – 0,45 – для *L. casei ssp. casei* 1310.

Видимий прояв тиксотропності можна охарактеризувати за залежністю ефективної в'язкості від градієнту деформації при збільшенні швидкості зсуву і подальшому його зменшенні.

З отриманими даними побудували криві текучості в діапазоні збільшення та зменшення швидкості деформації від 0,33 до 145,80 c^{-1} ферментованого молока. Отримані графічні залежності напруження зсуву (τ) від швидкості зсуву (γ) культур наведено на рис. 4.

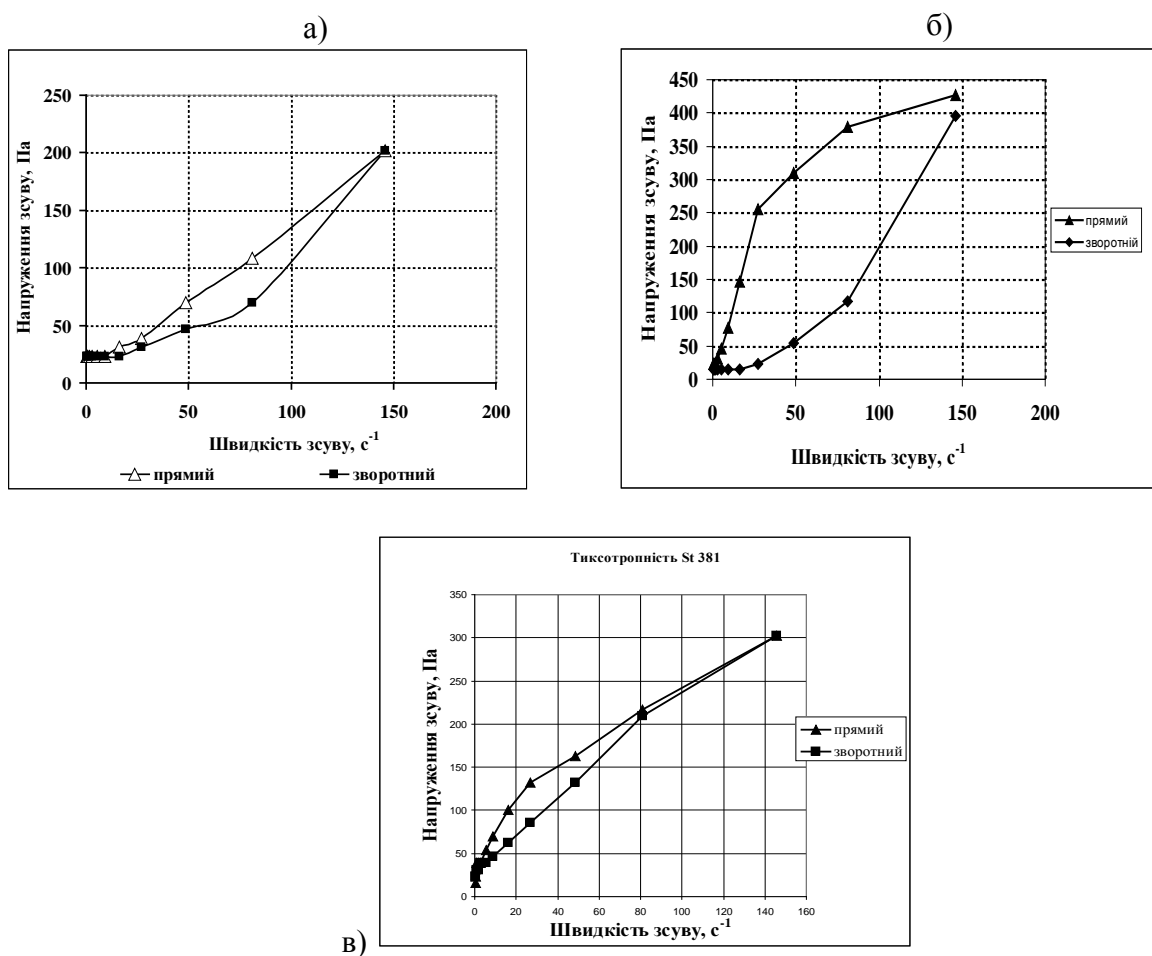


Рис 4. Криві текучості штамів а) *L. bulgaricus* 3507; б) *L. lactis ssp. cremoris* 241; в) *S. thermophilus* 381

Як видно з рис. 4, ширина «петлі гістерезису» кривих текучості, взятих до дослідження штамів розрізняється. Зі збільшенням напруження зсуву спостерігається деякий період псевдопластичної течії, після чого виникає справжня пластична течія, тобто спостерігається пропорційність між швидкістю та напруженням зсуву.

Це пояснюється тим, дані культури утворюють згусток з в'язкою і пластичною консистенцією. Тиксотропні властивості інших культур виражені меншою мірою. Отже, аналіз реологічних характеристик згустків культур показав, що культури *S. thermophilus* та *L. acidophilus* характеризувалися більшою виразністю тиксотропно-обернених зв'язків, отже, мають найбільшу здатність до відновлення структури і забезпечують стійкість

структури кисломолочних згустків під час зберігання. За зберігання ферментованого цими штамми молока синерезису не спостерігали упродовж 7 діб.

Висновки

Проведено скринінг штамів молочнокислих бактерій за якістю і вологоутримувальною здатністю згустків ферментованого ними молока. Встановлено, що штами молочнокислих бактерій за ферментації утворюють згустки різної консистенції, які було розподілено на 3 групи: – нев'язкі, середньов'язкі та в'язкі. Дослідженнями реологічних показників згустків встановлено, що між індексом текучості та ВУЗ існує середній корелятивний зв'язок – $r = 0,55$.

Скринінг штамів за реологічними показниками згустків дозволяє визначити їх перспективну сферу застосування: штами з високими в'язкістю та тиксотропністю – 0,7 слід залучати до складу заквасок для кисломолочних напоїв, як природні згущувачі, а штами з низькою ВУЗ – до складу заквасок для сирів.

Література

1. Структура и текстура пищевых продуктов. Продукты эмульсионной природы / Б.М. МакКенна (ред.); пер. с английского языка под научной редакцией канд. техн. наук, доц. Ю. Базарновой. – СПб: «Профессия», 2008. – 480 с.
2. Шмелев, В. П. Реологические и токсикологические свойства ряда микробных полисахаридов / В. П.Шмелев, В. П. Гулов, Л. В. Гребенникова, Л. В.Косенко // II съезд биофизиков России. Тезисы. М., 1999. (раздел 11: Экологическая биофизика) (<http://www.library.biophys.msu.ru/gettext?Serial=76827>)
3. Лисицын, П.А. Структурно-механическая и термодинамическая характеристика биойогурта / П.А. Лисицын, О.Н. Мусина, И.В. Кистер // Техника и технология пищевых производств. – 2014. – № 1. – с. 54-58.
4. Гаврилова, Н. Б. Биотехнология комбинированных молочных продуктов: монография / Н. Б. Гаврилова. – Омск : «Вариант-Сибирь», 2004. – 224 с
5. Інструкція щодо організації виробничого мікробіологічного контролю на підприємствах молочної промисловості / НААН; Ін-т прод. ресурсів НААН. – К.: ННЦ «ІАЕ», 2014. – 372 с.
6. Соколова, З.С. Лабораторный практикум по технологии молока и молочных продуктов / Соколова З.С., Чекулаева Л.В., Ростроса Н.К., Лакомова Л.И., Тиняков В.Г. – М.: «Лёгкая и пищевая промышленность», 1984. – 216 с.
7. Косой, В.Д. Контроль качества молочных продуктов методами физико-химической механики / В.Д. Косой, М.Ю. Меркулов, С.Б. Юдина. – СПб.: ГИОЛД, 2005. – 208 с.
8. Косой, В.Д. Реология молочных продуктов: теория, научные исследования, справочный материал: лабораторный практикум / В.Д. Косой, Н.И. Дунченко, М.О. Меркулов. – М.: ДеЛи принт, 2010. – 826 с.