

*І.В.Скульська, аспірант  
О. Й.Цісарик, д.с.-г.н., професор,  
Львівський національний університет ветеринарної медицини  
та біотехнологій імені С. З. Гжицького, Львів, Україна*

### **ДОСЛІДЖЕННЯ МІКРОБІОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ БРИНЗИ, ЩО ВИГОТОВЛЕНА З ЧАСТКОВОЮ ЗАМІНОЮ ХЛОРИДУ НАТРІЮ ХЛОРИДОМ КАЛІЮ**

*Наведено результати досліджень мікробіологічних показників зразків бринзи, що виготовлена із 20 та 30 %-ою заміною хлориду натрію хлоридом калію та використанням бактеріального препарату RSF-742 у поєднанні з препаратом Fresh-Q виробництва біотехнологічної компанії Chr. Hansen. Fresh-Q пригнічує розвиток дріжджів та плісневих грибів. Досліджено 2 групи сирів: перша група – без використання мікробіального препарату Fresh-Q, друга група – з використанням Fresh-Q. Отримано дані, які підтверджують доцільність використання часткової заміни (20%) та застосування препарату Fresh-Q. Встановлено, що чисельність молочнокислої мікрофлори впродовж усього терміну визрівання та зберігання уже зрілого сиру зростає.*

*Ключові слова: бринза, мікробіологічні показники, закваска прямого внесення, хлорид натрію, хлорид калію.*

*Приведены результаты исследований микробиологических показателей образцов брынзы, что изготовленная из 20 и 30% -ной заменой хлорида натрия хлоридом калия и использованием бактериального препарата RSF-742 в сочетании с препаратом Fresh-Q производства биотехнологической компании Chr. Hansen. Fresh-Q подавляет развитие дрожжей и плесневых грибов. Исследованы 2 группы сыров: первая группа - без использования микробиального препарата Fresh-Q, вторая группа - с использованием Fresh-Q. Получены данные, что подтверждают целесообразность использования частичной замены (20%) и применение препарата Fresh-Q. Установлено, что численность молочнокислой микрофлоры в течение всего срока созревания и хранения уже зрелого сыра растет.*

*Ключевые слова: брынза, микробиологические показатели, закваска прямого внесения, хлорид натрия, хлорид калия*

*The results of microbiological indicators of the samples of bryndza (sheep cheese) that was made from 20 and 30% of sodium chloride and potassium chloride substitution and with using of bacterial preparation of RSF - 742 with the combining of preparation of Fresh - Q made by biotechnological company Chr . Hansen are shown in the article. Fresh-Q suppresses the development of yeast and mold fungi. There were researched 2 groups of cheeses: the 1st group - made without microbiological preparation Fresh - Q, and the second with its usage. The received data justifies the necessity of usage of partial substitution (20%) and usage of Fresh - Q preparation. It is determined that the number of lactic microflora during the whole time of ripening and storage of already matured cheese increases, the exception constitute only the samples with the partial substitution of salt in the amount of 20 and 30% without using the Fresh - Q preparation.*

*Key words: cheese, microbiological indicators, direct application leaven, sodium chloride, potassium chloride*

**Вступ.** Бринза – традиційний для українців розсолений сир із своєрідним гострим смаком, який виготовляють у Карпатському регіоні України. Бринза вважається одним з найкорисніших видів сиру. Вона багата на вітаміни групи В, А, Е, мінеральні речовини, а саме на солі кальцію, калію та фосфору. У 100 г сиру міститься 520 мг кальцію. У якісній, зрілій бринзі, частка нітрогену, що піддається біохімічному розкладу, становить 25 % від загального вмісту. Це сприяє повноцінному засвоєнню білків організмом людини та визначає дієтичні властивості бринзи [7].

На сьогодні бринза все частіше використовується у ролі незамінного інгредієнта для вишуканих страв як європейської кухні, так і традиційної гуцульської.

Характерною ознакою технологічного процесу виготовлення бринзи є дозрівання у розсолі. Підвищений вміст солі створює пікантний смак і саме тому сир користується популярністю у населення, ставши автентичним представником сирної галузі. Проте надмірна кількість солі є «мінусом» бринзи. Серед сучасних трендів молочної галузі - зменшення частки кухонної солі у сирах, одним із шляхів якого є часткова заміна хлориду натрію хлоридом калію [10]. Хлорид калію не викликає гіпертонічних захворювань, хвороб серця та нирок, на відміну від хлориду натрію. Метою нашої роботи було дослідити кількість молочнокислої мікрофлори у бринзі за часткової заміни (20 %; 30 %) хлориду натрію хлоридом калію та застосування препарату Fresh-Q.

Питання про виживання молочнокислих бактерій при частковій заміні солі у сирах є недостатньо вивченим. За даними досліджень білого розсольного сиру Akawi американськими науковцями (M. M. Ayyash, F. Sherkat, N. P. Shah, 2012) спостерігається зростання чисельності молочнокислих паличок у зразках сиру, що виготовлений з частковою заміною хлориду натрію хлоридом калію у співвідношенні NaCl:KCl=3:1. Часткова заміна значно вплинула на зростання мікробної і протеолітичної активності [10]. Дані про виготовлення та дослідження в Україні сирів з частковою заміною кухонної солі хлоридом калію відсутні.

Мікрофлора бактеріальних препаратів — функціонально необхідний компонент при виробництві сирів, в тому числі бринзи. Активність мікрофлори бактеріального препарату залежить від багатьох факторів, в тому числі фізіологічного стану, біохімічної активності і складу мікроорганізмів. Сировиробники усього світу ставлять перед собою надзвичайно важливе завдання – зберегти корисні властивості заквашувальних культур, що потребує застосування спеціальних прийомів і методів. Використання заквашувальних препаратів прямого внесення навіть на основі багатовидових бактеріальних композицій виключає можливість зміни співвідношення між штамми протягом технологічного процесу, що гарантує відповідність продуктів розробленим на них нормативних документів. Використання заквашувальних препаратів прямого внесення зменшує матеріальні витрати на виробництво продукції і збільшує можливості випуску молочних продуктів гарантованої якості [6]. Культури прямого внесення впевнено займають перше місце на сучасному ринку, про що свідчать дані маркетингових досліджень [2, 3]. На сучасному етапі сироробства використання культур прямого внесення набуло широкого застосування, оскільки вони забезпечують високий рівень стандартизації процесу ферментування та якості готового продукту. Особливим попитом користуються бактеріальні препарати з наявністю лактобацил з високою здатністю до нагромадження низькомолекулярних нітрогенвмісних сполук, оскільки протеолітичні процеси є домінуючими у формуванні смакових нот сиру [ 2, 3, 4].

Бактеріальна культура RSF-742, яку ми використовували для виробництва бринзи, є мезо-термофільною, до складу якої входять: *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus helveticus*. Мікробіальний препарат Fresh-Q (*Lactobacillus rhamnosus*) проявляє згубну дію на дріжджі та плісень. Оскільки ми замінили частину хлориду натрію, важливим фрагментом досліджень був пошук шляхів подовження терміну зберігання бринзи, для чого використано препарат Fresh-Q.

*Lactobacillus rhamnosus* характеризується наданням добрих реологічних властивостей, стійкістю до солі та інгібуючих речовин молока, а також істотним рівнем протеолізу. Висока здатність до накопичення розчинних білкових сполук із низькою молекулярною масою дасть змогу уникнути формування гіркої присмаку в готовому продукті, а кількість вільних амінокислот є достатньою для досягнення зрілості сиру. Штам утворює нев'язкий молочний згусток з показником синерезису 50 % та незначним відходом білкових сполук у сироватку. Такі показники гарантують формування сирного зерна з інтенсивним відділенням сироватки та мінімізують втрати сухих речовин завдяки утворенню сирного пилу [8].

Метою наших досліджень є збереження корисних властивостей бринзи та збільшення терміну зберігання зрілого сиру, тому найбільший інтерес для нас становить збереження максимальної кількості клітин молочнокислих бактерій на кінець терміну визрівання.

**Матеріали і методи досліджень.** Бринза з частковою заміною хлориду натрію хлоридом калію у кількості 20 та 30 % була виготовлена і досліджена на кафедрі технології молока і молочних продуктів Львівського національного університету ветеринарної медицини імені С. З. Гжицького. Для виготовлення бринзи використовували сичужний фермент СНУ-MAX (Chr. Hansen, Данія), бактеріальні культури для розсолних сирів RSF-742 та мікробіальний препарат Fresh-Q (Chr. Hansen, Данія).

Виготовлено 2 групи сирів: з використанням Fresh-Q та без нього.

Перша група (без Fresh-Q): К (контроль) – з використанням NaCl; Д1 – з 20 %-ою заміною NaCl на KCl; Д2 - з 30 %-ою заміною NaCl на KCl.

Друга група (з Fresh-Q): KF- з використанням NaCl; ДФ1- виготовлена з 20 %-ою заміною NaCl на KCl; ДФ2 - виготовлена з 30 %-ою заміною NaCl на KCl.

Для сквашування молока використовували температуру  $+34\pm 1$  °С. Вказаний температурний режим вважаємо компромісним між температурним оптимумом для термофільних *Streptococcus thermophilus* та *Lactobacillus helveticus* і мезофільних *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* та *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*.

Для сквашування молока використовували рекомендовані виробниками дози заквашувальних препаратів. Підготовка проб до мікробіологічних аналізів та культивування мікроорганізмів проводилась згідно вимог існуючих нормативних документів та за загальноприйнятими методиками [4, 5, 9].

Сир виготовляли за класичною для бринзи технологією. Зразки для аналізу відбирали в полістиролові ємності місткістю 200 мл та зберігали в холодильнику за мінусових температур.

Мікробіологічні показники готового продукту вивчали одразу після закінчення технологічного процесу (соління сиру у розсолі), в середині терміну визрівання та наприкінці визрівання. Для виявлення загальної кількості лактококів було використано середовище M17; для виявлення загальної кількості паличок – MRS.

Для визначення загальної кількості лактококів та паличок, а також пліснявих грибів та дріжджів у зразках бринзи, готували вихідний матеріал для посіву на живильні середовища. Пробу масою 10 г відбирали стерильним шпателем, розтирали у фарфоровій ступці до однорідної маси. Загальну кількість лактококів та паличок визначали паралельним посівом розведень зразків бринзи в чашки Петрі з середовищем M17 та MRS з наступним інкубуванням у термостаті за температури  $+34\pm 1$  °С протягом трьох діб. Кількість паралельних повторень – трьохкратна.

**Результати досліджень.** У таблиці 1 представлені дані про кількість колонієутворювальних одиниць (КУО) лактококів у зразках бринзи після виготовлення, в середині терміну визрівання та у зрілому сирі.

Більша кількість лактококів виявлена у зразках другої групи, тобто при застосуванні препарату Fresh-Q, упродовж усього терміну визрівання. У всіх зразках цієї групи кількість КУО зросла на кінець терміну визрівання майже у 12 разів, однак заміна хлориду натрію хлоридом калію не спричинила істотного впливу на кількість лактококів - упродовж усього терміну визрівання зберігалася тенденція, зареєстрована на 5 добу визрівання. Дані підтверджують також те, що використання мікробіального препарату Fresh-Q згубно діяло на розвиток плісені. Присутності останньої у зразках другої групи не було виявлено протягом усього періоду визрівання та у зрілому сирі і під час подальшого зберігання. Щодо чисельності лактококів у зразках бринзи першої групи слід відзначити значніше їх збільшення при заміні NaCl на KCl до кінця терміну визрівання порівняно із контролем - у 1,4 рази проти 1,2 рази.

Таблиця 1.

**Кількість колонієутворювальних одиниць лактококів у зразках бринзи (M±m, n=3)**

№ п/п	Зразок	Свіжий сир	5 діб визрівання	10 діб визрівання	15 діб визрівання	20 діб визрівання (зрілий сир)
1	К	$4,7 \times 10^4$ ±0,12	$4,2 \times 10^5$ ±0,12	$4,9 \times 10^5 \pm$ 0,13	$5,5 \times 10^5 \pm$ 0,12	$5,7 \times 10^5 \pm$ 0,12
2	Д1	-	$6,1 \times 10^5$ ±0,12***	$6,0 \times 10^5 \pm$ 0,12**	$6,1 \times 10^5 \pm$ 0,13**	$6,6 \times 10^5 \pm$ 0,13**
3	Д2	-	$5,7 \times 10^5$ ±0,14*	$6,0 \times 10^5 \pm$ 0,12**	$6,3 \times 10^5 \pm$ 0,12***	$6,5 \times 10^5 \pm$ 0,14*
4	КФ	$5,6 \times 10^4$ ±0,12	$6,1 \times 10^5$ ±0,13	$6,3 \times 10^5 \pm$ 0,12	$6,8 \times 10^5 \pm$ 0,12	$7,1 \times 10^5 \pm$ 0,13
5	ДФ1	-	$6,4 \times 10^5$ ±0,13***	$6,2 \times 10^5 \pm$ 0,12***	$6,7 \times 10^5 \pm$ 0,12***	$7,4 \times 10^5 \pm$ 0,13***
6	ДФ2	-	$6,1 \times 10^5$ ±0,12**	$6,2 \times 10^5 \pm$ 0,14*	$6,7 \times 10^5 \pm$ 0,13**	$7,2 \times 10^5 \pm$ 0,12**

Примітка: \* - різниця імовірна відносно контролю: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$

Зразки ДФ1 та ДФ2 характеризуються більшими показниками чисельності паличок на 13 % у порівнянні з контролем, а дослідні зразки першої групи (Д1, Д2) – на 11,4 та 11 % відповідно (табл. 2). Проте зразки першої групи, зокрема контрольний зразок К характеризувався появою незначних утворень плісневих грибків упродовж подальшого зберігання вже у зрілому сирі.

Найсприятливіші умови для розвитку плісені – вільний доступ кисню і кисле середовище. Вона може розвиватися при рН 1,5-11,0, витримує низьку температуру  $\square 11 \pm 1$  °С. Плісневі гриби володіють ферментативною активністю, сприяють розпаду білків та білкових речовин, жирів до жирних кислот та альдегідів.

Таблиця 2

**Кількість колонієутворювальних одиниць паличок у зразках бринзи (M±m, n=3)**

№ п/п	Зразок	Свіжий сир	5 діб визрівання	10 діб визрівання	15 діб визрівання	20 діб визрівання (зрілий сир)
1	К	$1,3 \times 10^4 \pm 0,12$	$3,2 \times 10^5 \pm$ 0,12	$3,7 \times 10^5 \pm$ 0,13	$4,1 \times 10^5 \pm$ 0,12	$4,4 \times 10^5 \pm$ 0,13
2	Д1	-	$3,6 \times 10^5 \pm$ 0,14*	$3,9 \times 10^5 \pm$ 0,12**	$4,2 \times 10^5 \pm$ 0,13**	$4,7 \times 10^5 \pm$ 0,14**
3	Д2	-	$3,7 \times 10^5 \pm$ 0,12***	$3,9 \times 10^5 \pm$ 0,12**	$4,2 \times 10^5 \pm$ 0,13**	$4,7 \times 10^5 \pm$ 0,14**
4	КФ	$1,6 \times 10^4 \pm 0,12$	$3,4 \times 10^5 \pm$ 0,13	$3,9 \times 10^5 \pm$ 0,14	$4,2 \times 10^5 \pm$ 0,13	$4,5 \times 10^5 \pm$ 0,13
5	ДФ1	-	$3,7 \times 10^5 \pm$ 0,12**	$4,0 \times 10^5 \pm$ 0,12*	$4,5 \times 10^5 \pm$ 0,13***	$4,8 \times 10^5 \pm$ 0,13***
6	ДФ2	-	$3,5 \times 10^5 \pm$ 0,12**	$4,3 \times 10^5 \pm$ 0,13**	$4,7 \times 10^5 \pm$ 0,13***	$4,9 \times 10^5 \pm$ 0,14**

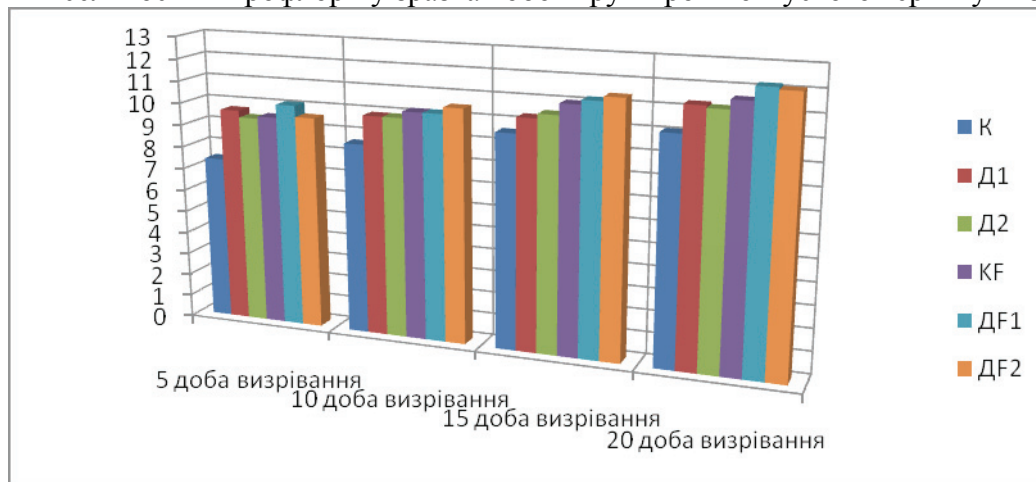
Примітка: \* - різниця імовірна відносно контролю: \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$

У результаті своєї життєдіяльності дріжджі метаболізують компоненти харчових продуктів, утворюючи власні специфічні продукти метаболізму. При цьому фізико-хімічні та органолептичні показники змінюються і продукт набуває нехарактерних особливостей, що погіршують його якість. Наявність плісневих грибів та дріжджів у сирі видно неозброєним

оком. В такому випадку на поверхні брусочків може спостерігатися наліт білого кольору зі злегка сіруватим відтінком.

Що стосується загальної кількості молочнокислої мікрофлори, то менші показники встановлено для зразків першої групи порівняно із зразками бринзи, для виробництва якої не використовували препарат Fresh-Q. Слід відзначити також позитивний вплив часткової заміни солі на загальну чисельність КУО молочнокислих бактерій - у зразках Д1 та Д2 вона на 11,9 та 10,9 % більша, ніж у контролі, а у зразках ДФ1 та ДФ2 різниця становить 5,1 та 4,3 %.

Отримані результати показані у вигляді діаграми на рисунку 1. Вони засвідчують зростання чисельності мікрофлори у зразках обох груп протягом усього терміну визрівання.



**Рис.1. Зміна чисельності мікрофлори у бринзі протягом визрівання**

**Висновки.** Часткова заміна NaCl на KCl здійснює позитивний вплив на кількість молочнокислої мікрофлори у бринзі. Позитивний ефект на чисельність молочнокислих бактерій також досягається при використанні препарату Fresh-Q, який також пригнічує розвиток дріжджів та плісені, що сприяє подовженню терміну зберігання сиру.

#### Література

1. Горина Т. А. Культури DVS компанії "Хр. Хансен" для создания пробиотических продуктов нового поколения // Молочная промышленность. 2004. № 8. С. 21–22.
2. Горина Т. А. Применение ферментов и культур DVS компании "Хр. Хансен" для улучшения качества и выхода сыров // Молочная промышленность. 2002. № 9. С. 33.
3. Закваски прямого внесения (DVS) для сыроделия // Молочная промышленность. 2001. № 6. С. 33.
4. Молоко і молочні продукти. Визначення кількості мікроорганізмів. Метод підрахунку колоній за температури 30<град>C (IDF 100B:1991, IDT):ДСТУ IDF 100B:2003. – [Чинний від 2005-01-01]. – К. : Держспоживстандарт України, 2005. - 10 с.
5. Молоко і молочні продукти. Підготовка зразків і розведень для мікробіологічних досліджень (IDF 122C:1996, IDT) : ДСТУ IDF 122C:2003. - [Чинний від 2005-01-01]. – К. : Держспоживстандарт України, 2005. - 18 с.
6. Романчук І. О. Розробка технології заквашувальних препаратів прямого внесення для йогурту та сметани / Ігор Олександрович Романчук // Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук. Київ. 2001. – 2001. -18 с.
7. Цісарик О. Й. Традиції та інновації у технології бринзи / О. Й. Цісарик, І. М. Сливка, І. В. Скульська // Журнал «Мир продуктів. Молочная индустрия», — 2014. — №4. — С. 26—29.
8. Шаптала В.В. Відбір молочнокислих бактерій для сироробства за антагоністичною активністю щодо технічно шкідливої мікрофлори. / В.В. Шаптала, Н.М.Шульга, Н.Ф.Кігель // Наукові вісті НТУУ «КПІ». -2010. –С.38-41.
9. Инструкция по микробиологическому контролю на предприятиях молочной промышленности: утверждено Отделом по производству и переработки продукции животноводства Госагропрома СССР 28.12.87. – М.: 1987. -122 с.
10. Ayyash M. M. The effect of NaCl substitution with KCl on Akawi cheese: Chemical composition, proteolysis, angiotensin-converting enzyme-inhibitory activity, probiotic survival, texture profile, and sensory properties / M. M. Ayyash, F. Sherkat, N. P. Shah // J. Dairy Sci. -2012. -95.-P.4747-4759.