

**ВИБІР СКЛАДУ КОМПЛЕКСНОЇ ЗАКВАШУВАЛЬНОЇ КОМПОЗИЦІЇ ДЛЯ
КИСЛОВЕРШКОВИХ СПРЕДІВ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ ЗАКОНОМІРНОСТЕЙ ЇЇ
ФУНКЦІОНУВАННЯ**

У статті наведено результати проведеної роботи щодо пошуку ефективного складу бактеріальної композиції для КВС. Критеріями оцінювання композицій слугували інтенсивність нагромадження клітин, синтез ароматичних сполук діацетилу та летких органічних кислот та органолептика. Показано залежність ростової та метаболічної активності мікрофлори закваски від співвідношення між штамами в посівному матеріалі. Встановлено, що залучення до складу бактеріальних композицій пропионовокислих бактерій підвищує ароматоутворювальну та кислотоутворювальну здатність закваски.

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

В статье приведены результаты проведенной работы по поиску эффективного состава бактериальной композиции для кислосливочного спреда. Критериями оценки композиций служили интенсивность накопления клеток, синтез ароматических соединений диацетила и летучих органических кислот и органолептика. Показана зависимость ростовой и метаболической активности микрофлоры закваски от соотношения между штаммами в посевном материале. Установлено, что привлечение в состав бактериальных композиций пропионовокислых бактерий повышает ароматопродуцирующую и кислотопродуцирующую способность закваски.

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

In the article conducted job performances are resulted on the search of effective composition of bacterial composition for sour cream spread. Intensity of accumulation of cells, synthesis of aromatic connections of diacetil and volatile organic acids and organoleptik, served as criteria of estimation of bacterial compositions. Dependence of growth and metabolic activity of microflora of dairy starter of the leaven of the relationship between the strains in sowing material is shown. Involvement in the complement of bacterial composition propionic acid bacteria increases the ability to produce aroma and acidity of dairy starter is founded.

Key words: bacterial composition, lactic acid bacteria, propionic acid bacteria, acidity, diacetil, volatile organic acids

На сьогоднішній день маслоробна галузь в умовах постійної конкуренції потребує оновлення асортименту. Враховуючи досвід іноземних країн з розвинутою молочною промисловістю доцільним є створення ферментованих жирових продуктів, які б не потребували модернізації та реконструкції існуючих цехів маслоробства, були привабливими для вітчизняних молокопереробних підприємств і конкурентоздатними на споживчому ринку країни.

Перспективним є відродження технологій кисловершкового масла та створення нового для України жирового продукту кисловершкового спреда. Найпростішим і економічно вигідним є спосіб їх поточного виробництва шляхом перетворення високожирних вершків. Технології їх виробництва передбачають вироблення продуктів з внесенням закваски на стадії формування структури в такій кількості, щоб відразу отримати необхідну кислотність плазми масла з бажаним смаком та ароматом [1]. Завдяки спеціальній заквасці у кисловершкових спредах «маскується» пустий смак немолочних жирів, продукт

набуває кисломолочного смаку та аромату, подібного до натурального масла, та, значно поліпшує його якість.

Слід зазначити, що тип ферментованого продукту вимагає різних підходів до відбору штамів та створення заквашувальних композицій. Враховуючи особливості виробництва означених продуктів, ключовим критерієм перспективності використання бактеріальних заквасок є вибір кислотоутворювальних штамів з високим рівнем продукування молочної кислоти та ароматоутворювальних лактококів, що інтенсивно синтезують смако-ароматичні речовини та надають готовому продукту характерного аромату [2].

Формування таких ознак можливе лише за поєднання в одній композиції різних видів молочнокислих бактерій або й доповнення мікроорганізмами інших таксономічних груп, метаболітична активність яких забезпечує специфічні органолептичні характеристики. Це досягається не лише залученням високопродуктивних штамів з певним функціональним навантаженням, але й вдалим сполученням їх у багатокомпонентній композиції [2].

Проте аналіз сучасних біотехнологій виробництва заквашувальних препаратів показав відсутність вітчизняних розробок та необхідність їх проведення для ферментованих жирових продуктів..

Метою роботи було науково-практичне обґрунтування складу заквашувальних композицій на основі комбінацій молочно- та пропіоновокислих бактерій з високою біохімічною активністю (ароматоутворювальною та кислотоутворювальною активністю) для цільового використання у виробництві кисловершкового спреду.

Матеріали та методи досліджень. У роботі для створення заквашувальних композицій використовували 21 штам мезофільних та термофільних молочнокислих мікроорганізмів видів *L. diacetylactis*, *L. lactis*, *L. cremoris*, *S. thermophilus*, *L. casei*, *L. rhamnosus*, а також пропіоновокислих бактерій *P. freudenreichii*, відібраних у результаті їх попереднього аналізу за технологічно важливими характеристиками (урожайністю, молокозсідальною активністю, енергією кислотоутворення) та здатністю до утворення смако-ароматичних речовин відповідно до вимог, що висуваються до бактеріальних культур для кисловершкового масла та спредів за їх внесення на стадії формування структури продукту.

Бактеріальні композиції оцінювали органолептично, за титрованою кислотністю кисломолочних згустків – за ГОСТ 3624-92, за урожайністю – за ДСТУ 7357:2013; за здатністю до продукування смако-ароматичних речовин у знежиреному молоці за кількістю діацетилу – за методом Залашко та Макаріної; летких органічних кислот – після дистиляції з водяною парою [3].

Результати дослідження та їх обговорення. Було створено 56 багатокомпонентних заквашувальних композицій у рівному співвідношенні складників. Їх аналізували за тривалістю утворення молочного згустку та енергією кислотоутворення, вмістом ароматичних речовин та органолептичними показниками за внесення 5% інокуляту у пастеризоване знежирене молоко за температури сквашування (32±1)°C після 12 годин визрівання продукту (табл. 1).

Як свідчать представлені в табл. 1 дані, підвищення енергії кислотоутворення на 3-10 °T відбувалося у разі залучення до ароматоутворювальної основи активних штамів молочнокислих паличок *L. casei*, тоді як застосування *L. rhamnosus* призводило до утворення кисломолочного згустку з кислотоутворювальною активністю 88-96 °T.

Окрім того, заквашувальні композиції з використанням деяких штамів *L. rhamnosus* продукували меншу кількість ароматичних сполук. Подібну закономірність було помічено при порівнянні основних показників заквасок №6 та №8, до яких додатково залучали пропіоновокислі бактерії. Очевидно, що селекціонованим штамам *L. rhamnosus* у складі цих композицій були притаманні нижча здатність до кислото- та ароматоутворення. Причиною цьому наймовірніше є несумісність штамів.

Властивості заквашувальних композицій

№ п/п	Склад заквашувальних композицій (ЗК)	Кількість проаналізованих ЗК	Титрова кислотність, °Т	Вміст діацетилу, мг/100 г	Вміст летких органічних к-т, мекв/100 г
1	<i>L.diacetilactis</i> <i>L.diacetilactis</i> <i>L. casei</i>	15	91-106	0,205-0,465	260-350
2	<i>L.diacetilactis</i> <i>L.diacetilactis</i> <i>L. rhamnosus</i>	4	88-96	0,200-0,293	243-333
3	<i>L.diacetilactis</i> <i>L.diacetilactis</i> <i>L. lactis</i> <i>L. casei</i>	6	84-91	0,205-0,490	186-300
4	<i>L.diacetilactis</i> <i>L.diacetilactis</i> <i>L. lactis</i> <i>L. cremoris</i> <i>L. casei</i>	10	85-98	0,231-0,483	120-350
5	<i>L.diacetilactis</i> <i>L.diacetilactis</i> <i>L. lactis</i> <i>L. casei</i> <i>L. rhamnosus</i>	2	90-97	0,296-0,429	175-200
6	<i>L.diacetilactis</i> <i>L.diacetilactis</i> <i>L. lactis</i> <i>L. rhamnosus</i> <i>P. freudenreichii</i>	3	87-91	0,429-0,450	180-200
7	<i>L.diacetilactis</i> <i>L.diacetilactis</i> <i>L. lactis</i> <i>L. cremoris</i>	3	90-92	0,247-0,256	233-255
8	<i>L. diacetilactis</i> <i>L. diacetilactis</i> <i>L. lactis</i> <i>L. casei</i> <i>P. freudenreichii</i>	6	97-98	0,420-0,520	310-420
9	<i>L. diacetilactis</i> <i>L. diacetilactis</i> <i>S. thermophilus</i> <i>L. casei</i> <i>P. freudenreichii</i>	7	97-100	0,380-0,415	280-320

Відомо, що відмітною особливістю пропіоновокислих бактерій є продукування смако-ароматичних та біологічно активних речовин (вітамін В₁₂, фолієвої кислоти, низькомолекулярного цукру трегалози) у доволі високих кількостях. Окрім того, однією з основних сполук, що утворюється за ферментування, є пропіонова кислота, а також бактеріоцини, що зумовлюють антагоністичну дію пропіоновокислих бактерій щодо багатьох грампозитивних бактерій [5,6].

Щоб розширити спектр функціональної дії закваски, заквашувальні композиції групи №3 було доповнено штамами пропіоновокислих бактерій (група №8). Завдяки вдосконаленню складу мікрофлори, синтез діацетилену та летких органічних кислот молочних згустків всіх заквашувальних композицій зростав відповідно в 1,2-2 та 1,4-1,7 рази порівняно з аналогічним показником без додавання пропіоновокислих бактерій.

Також кращими були композиції в разі доповнення ароматоутворювальної основи закваски декількома штамами кислотоутворювальних лактобактерій. Так, застосування одночасно культур видів *L. diacetylactis*, *L. lactis*, *L. cremoris* та *L. casei* (група №4) давало змогу одержати ароматний згусток з показниками титрованої кислотності від 85°Т до 98 °Т, широким діапазоном нагромадження діацетилену від 0,231 мг/100 г до 0,483 мг/100 г та летких органічних кислот від 120 мекв/100 г та 350 мекв/100г. Дані варіанти заквасок характеризувалися м'яким смаком та в міру в'язкою консистенцією.

Всі заквашувальні композиції з заміною *L. lactis* на штами термофільних стрептококів (група №9) за органолептичними показниками були найгіршими та відбракованими.

З-поміж проаналізованих варіантів було помічено, що введення до складу заквашувальних композицій молочнокислих паличок *L. casei*, давало змогу одержати закваски з гострішим смаком, а доповнення лактофлори закваски пропіоновокислими бактеріями збагачували її смако-ароматичний «букет».

Не всі з решти варіантів заквасок були вдалим за органолептичними якостями: через невиражений кисломолочний смак і запах або сторонній присмак, занадто в'язку чи слабку консистенцією.

Тому, за комплексом отриманих даних, було зупинено вибір на заквашувальних композиціях, до яких залучено штами *L. diacetylactis* 8, *L. diacetylactis* 7,6, *L. casei* 9, *L. lactis* 5,5, *L. cremoris* 2,4 з додаванням або без *P. freudenreichii* 3,1 у рівних співвідношеннях як 1:1:1:1:1.

№1. *L. diacetylactis* 8+*L. diacetylactis* 7,6+*lactis* 5,5+ *L. casei* 9;

№2. *L. diacetylactis* 8+*L. diacetylactis* 7,6+*lactis* 5,5+ *L. casei* 9+*P. freudenreichii* 3,1;

№3. *L. diacetylactis* 8+*L. diacetylactis* 7,6+*L. cremoris* 2,4+ *L. casei* 9+*P. freudenreichii* 1,1.

Окрім цього, отримані дані дають можливість стверджувати, що варіюванням одним складником, незалежно від штаму навіть у межах одного виду можна змінити біохімічну активність бактеріальної композиції.

Щоб пересвідчитися ще раз у правильності вибору штамів, а також упевненості вдалого сполучення штамів, базові варіанти композицій з позитивною сенсорною оцінкою було модифіковано за рахунок різних співвідношень між штамами молочнокислих бактерій та внесенням пропіоновокислих бактерій або без них.

Придатність того чи іншого варіанту композиції до подальшого використання оцінювали за основними критеріями – молокозсідальною активністю та кислотністю, рівнем продукування діацетилену та летких органічних кислот, органолептичними характеристиками, а також додатково досліджували за врожайністю всіх її складових. Заквашування проводили 5% посівного матеріалу (табл. 2).

Результати аналізу створених композицій показали, що додавання та збільшення частки пропіоновокислих бактерій сприяли підвищенню вмісту летких органічних кислот та вирізнялися багатшим смаковим «букетом». Водночас, у композиціях зі збільшенням кількості лактококів *L. diacetylactis* спостерігали зростання вмісту діацетилену.

Очевидно, що відмінність у інтенсивності аромату та смакових відтінків тісно пов'язана не тільки з видовим складом мікрофлори заквасок, але й їх співвідношенням між штамами. Водночас також спостерігали, що використання пропіоновокислих бактерій у складі варіантів баккомпозицій (№1-№3), прискорювали сквашування молока на 1 год, тоді як решта заквасок №4-№7 згортали молоко через 10 год.

Вплив компонування складових композицій на їхню ферментативну та ростову активність

№ п/п	Склад заквашувальних композицій та співвідношення між штамами	Титрова кислота, °Т	Вміст діацетилу мг/100 г	Вміст летких органічних кислот, мекв/100 г	Чисельність, КУО/см ³		
					МКБ	АМКБ	ПКБ
1	<i>L.dl.7,6+L.dl8+L.lactis 5,5+Lb.casei 9+P.fr 3,1 (1:1:1:1)</i>	97	0,519	400	1,1·10 ⁹	4,0·10 ⁸	4,0·10 ⁸
2	<i>L.dl.7,6+L.dl 8+L.lactis 5,5+Lb.casei 9+P. fr 3,1 (0,75:0,75:0,75:0,75:2)</i>	97	0,404	418	8,3·10 ⁸	2,3·10 ⁸	1,7·10 ⁸
3	<i>L.dl.7,6+L.dl8+L.lactis 5,5+Lb.casei 9+P. fr 3,1 (1,5:1,5:0,5:1,5:1)</i>	92	0,450	400	5,5·10 ⁸	2,6·10 ⁸	2,5·10 ⁸
4	<i>L.dl.7,6+L.dl8+L.lactis 5,5+Lb.casei 9 (1:1:1:1)</i>	92	0,400	225	2,0·10 ⁹	3,9·10 ⁸	-
5	<i>L.dl.7,6+L.dl8+L.lactis 5,5+Lb.casei 9 (1,5:1,5:1:1)</i>	95	0,404	250	7,0·10 ⁸	4,1·10 ⁸	-
6	<i>L.dl.7,6+L.dl8+L.lactis 5,5+Lb.casei 9 (1:1:1,5:1,5)</i>	92	0,386	320	7·10 ⁸	7,0·10 ⁷	-
7	<i>L.dl.7,6+L.dl 8+L.lactis 5,5+Lb.casei 9 (1,5:1,5:0,5:1)</i>	94	0,420	365	6,4·10 ⁸	3,2·10 ⁸	-
8	<i>L.dl.7,6+L.dl 8+L.cremoris 3,2+Lb.casei 9+P. fr 3,1 (1:1:1:1:1)</i>	92	0,420	375	4,0·10 ⁸	2,0·10 ⁸	2,0·10 ⁸

Як свідчать результати досліджень, майже всі варіанти композицій, до яких залучено лише штами молочнокислих мікроорганізмів, характеризувалися високим рівнем продукування ароматичного компоненту – діацетилу (0,386-0,420 мг/100 г). Водночас було з'ясовано, що активний синтез летких органічних кислот не співпадав з максимальним нагромадженням діацетилу. Зокрема, у заквасці №4 з значним нагромадженням діацетилу до 0,400 мг/100 г спостерігали мінімальне утворення летких органічних кислот – до 225 мекв/100г.

Під час аналізу дослідних варіантів заквашувальних композицій за здатністю до нагромадження сполук, які обумовлюють смак і аромат продукту, підвищений рівень утворення летких органічних кислот помічено у варіантах №1-3, до яких було залучено *P. freudenreichii*. Пропіоновокислі бактерії продукували значно більше летких кислот, які є важливими компонентами смако-ароматичної композиції майбутнього кисловершкового спреду. Так, додаткове залучення пропіоновокислих бактерій дозволило збільшити рівень ароматичних речовин у заквашувальних композиціях: на 13-30% діацетилу та у 1,1-1,8 рази летких органічних кислот.

Оскільки виробництво кисловершкового спреду передбачає внесення закваски в пласт спреду, достатньої для забезпечення бажаного рівня титрової кислотності плазми, не менш важливим показником придатності запропонованих комбінацій є кислотність кисломолочного згустку.

Як видно з табл. 2, титрована кислотність дозрілих кисломолочних згустків у варіантах композицій з пропіоновокислими бактеріями та без них знаходилася майже на одному рівні – відповідно 92-97°Т та 92-95 °Т.

Дослідження мікробіологічних показників показало, що чисельність молочнокислих та пропіоновокислих бактерій у всіх варіантах заквасок була достатньо високою. Однак було зафіксовано найвищу врожайність лактофлори ($1,1-2,0 \cdot 10^9$ КУО/см³) у композиціях №1 та №4 за рівного співвідношення між штамами. Поясненням цього може бути вдале співвідношення між штамами, за якого вдається досягти узгодженого росту та збалансованості всіх складових. У всіх заквашувальних композиціях вміст ароматоутворювальних лактококів знаходився на рівні $2,0 \cdot 10^8-4,1 \cdot 10^8$ КУО/см³, за винятком ЗК №6. Внаслідок зниження частки ароматоутворювальної лактофлори її чисельність знижувалася до $7,0 \cdot 10^7$ КУО/см³. Щодо вмісту пропіоновокислих бактерій, то їх кількість коливалася в межах $1,7 \cdot 10^8-4,0 \cdot 10^8$ КУО/см³.

Таким чином, довільне конструювання та дослідження заквашувальних композицій показало вплив співвідношення між бактеріальними культурами в посівному матеріалі на їх розвиток та метаболічну активність. Залучення до складу бактеріальних композицій пропіоновокислих бактерій дає змогу інтенсифікувати нагромадження діацетилу та летких органічних кислот та впливатиме на формування вираженого аромату у жировій основі спреду.

Всі бактеріальні композиції характеризувалися в міру щільною консистенцією, приємним кисломолочним смаком та ароматом та в тій чи іншій мірі задовольняли вимоги, що висуваються до таких культур у виробництві кисловершкового спреду.

Загалом, за сукупністю мікробіологічних та біохімічних показників, а також органолептикою і консистенцією найліпшими визнано варіанти заквашувальної композиції №1, 3, 8.

Таким чином, довільне конструювання та дослідження заквашувальних композицій показало вплив співвідношення між бактеріальними культурами в посівному матеріалі на їхню ростову та ферментативну активність.

Література

1. Боднарчук О.В., Майборода Ю.В., Кігель Н.Ф., Єресько Г.О. Деякі технологічні аспекти виробництва кисловершкового масла // Продовольчі ресурси – 2014. – № 3. – С.68-73
2. Боднарчук О.В., Кігель Н.Ф., Король О.В., Савчук А.І. Заквашувальні культури у виробництві кисловершкового масла // Молокопереробка. – №4. – 2013. – С. 12-19.
3. Инихов Г.С., Брио Н.П. Методы анализа молока и молочных продуктов М.: «Пищевая промышленность». – 1971. – С.132-133.
4. *Hugenholtz J., Hunik J., Santos H., Smid E.* Nutraceutical production by propionibacteria // *Le Lait*. – 2002. – Vol.82, №1. – P. 103-112.
5. *Holo H., Faye T., Brade D.A.* et al. Bacteriocins of propionic acid bacteria. // *Le Lait*. – 2002. – Vol. 82, №1. – P. 59-68.