

ВІДБІР ДРІЖДЖІВ ДЛЯ ЗАЛУЧЕННЯ ДО СКЛАДУ ЗАКВАСУВАЛЬНИХ КОМПОЗИЦІЙ ДЛЯ ВИРОБНИЦТВА КЕФІРУ

*Вивчено властивості дріжджової мікрофлори кефірних грибків та відібрано промислово перспективний штам *Saccharomyces unisporus* з низьким рівнем газоутворення. Встановлено, що завдяки біостабілізації кефіру дріжджами, не здатними зброджувати лактозу, продукт був придатний до тривалішого зберігання упродовж 14 днів за температури (4±2) °С, при цьому показники якості та безпеки кефіру відповідали вимогам чинних нормативних документів.*

Ключові слова: дріжджі, заквашувальна композиція, кефірні грибки, молочнокислі бактерії, селекція

*Изучены свойства дрожжевой микрофлоры кефирных грибков и отобраны промышленно перспективный штам *Saccharomyces unisporus* с низким уровнем газообразования. Установлено, что благодаря биостабилизации кефира дрожжами, не способными сбраживать лактозу, продукт был пригоден к длительному хранению в течение 14 суток при температуре (4 ± 2)°С, при этом показатели качества и безопасности кефира отвечали требованиям действующих нормативных документов.*

Ключевые слова: дрожжи, заквасочная композиция, кефирные грибки, молочнокислые бактерии, селекция

*The properties of yeast microflora of kefir fungi and selected industrial promising strain of *Saccharomyces unisporus* low-gassing. Established that the biostabilization of yogurt yeast to ferment lactose incapable, the product was suitable for longer storage for 14 days at a temperature (4 ± 2) °C, while the quality and safety of kefir conform with applicable regulations.*

Key words: yeast, starter composition, kefir grains, lactic acid bacteria, selection

Кефір – традиційний продукт молочнокислого та спиртового бродіння. Його унікальність зумовлена застосуванням кефірних грибків – живого природного симбіозу багатьох видів бактерій та дріжджів.

Цей напій відповідно до Закону України «Про молоко та молочні продукти» визнається кефіром лише тоді, коли він виготовляється зі застосуванням кефірних грибків чи кефірної грибкової закваски. За вмістом мікрофлори відповідно до чинного ДСТУ 4417:2005 кількість дріжджів у кефірі має становити не менше ніж $1 \cdot 10^3$ КУО/см³ [1]. Тривалість зберігання кефіру, виробленого у традиційний спосіб з використанням грибкової кефірної закваски, не перевищує 7 днів [2]. Це зумовлено поступовим накопиченням лактозозброджувальними дріжджами вуглекислого газу та інших продуктів спиртового бродіння та, як наслідок, «спучуванням» пакування, погіршенням органолептичних характеристик кефіру. Це зумовило використання на більшості молочних підприємств класичної мезофільної та мезофільно-термофільної мікрофлори інших заквасок [3]. Як наслідок, продукт отриманий з їх використанням, не набуває характерного для кефіру неповторного щиплячого смаку та консистенції, що злегка піниться [4]. Тому є необхідність створення заквасок для кефіру зі зниженим рівнем газоутворення.

Мета роботи - вивчити властивості дріжджової мікрофлори кефірних грибків та відібрати промислово перспективні штами з низьким рівнем газоутворення.

Об'єкти досліджень - ізоляти дріжджів, заквашувальні композиції, кефір.

Матеріали та методи досліджень – стандартні та модифіковані фізико-хімічні, біохімічні, мікробіологічні.

Результати досліджень та їх обговорення. Нами із кефірних грибків, грибкової закваски та кефірів виділено та ідентифіковано 34 ізоляти дріжджів. Вилучені дріжджі були

представлені 8 видами: 2 - лактозозброджувальні (*Lac+*) *Kluyveromyces marxianus*, *Brettanomyces anomalus* та 6 – нездатні до зброджування лактози (*Lac-*)–*Saccharomyces unisporus*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces kluyveri*, *Saccharomyces exiguus*, *Debaryomyces hansenii*, *Pichia sp.*

Досліджено деякі властивості чистих ізолятів дріжджів у молоці після їхнього культивування упродовж 7 діб за температури 26 °С (табл. 1).

Таблиця 1

Властивості дріжджів

Показники	Характеристика дріжджів	
	(<i>Lac+</i>)	(<i>Lac-</i>)
Кислотність: - активна, од.рН	5,28-5,45	6,05-6,15
- титрована, °Т	65-78	22-26
Рівень вуглекислого газу, см	3,2-8,3	0
Вміст спирту у перерахунку на етанол, мг/100г	190-230	0-40
Вміст летких органічних кислот у перерахунку на оцтову, мкг/100г	50-120	0-60
Вміст ефірів у перерахунку на оцтово-етилловий, мкг/100г	45-110	-*
Рівень утилізації вуглеводів, %	41,1- 80,8	0- 3,58

Примітка. * - показник не визначали

Як свідчать отримані результати, дріжджі (*Lac+*) під час культивування у молоці знижували його кислотність до 5,28-5,45 од.рН, хоча утворення згустку не спостерігали. При цьому рівень газоутворення окремими дріжджами досягав 8,3 см. На 7-му добу найактивнішими дріжджами було зброджено близько 80% лактози. Лактозозброджувальні дріжджі також продукували легкі органічні кислоти, ефіри, кількість утвореного спирту досягала 230 мг/100г. Кислотність молока під час культивування дріжджів (*Lac-*), упродовж 7 діб майже не змінювалася, а вміст деяких летких компонентів, утворення яких ймовірно спричинене зброджуванням незначної кількості присутньої у молоці глюкози, був мінімальним.

Встановлено, що дріжджі є найвразливішою під час ліофілізації складовою мікрофлори кефірних грибків. Саме тому насамперед було досліджено їхню стійкість до цієї технологічної операції (табл. 2).

Таблиця 2

Стійкість до ліофілізації кефірних дріжджів

Дріжджі	Кількість штамів	Ступінь виживання, %
(<i>Lac+</i>)	10	17,0 - 81,8
(<i>Lac-</i>)	24	25,0 – 97,3

Рівень збереження життєздатності клітин проаналізованих кефірних дріжджів коливався у широкому діапазоні від 17,3% до 97,3%. Слід зазначити, що ступінь виживання під час ліофілізації не залежав від здатності дріжджів до зброджування лактози: як серед представників (*Lac+*), так і (*Lac-*)дріжджів були ізоляти, даний показник для яких не перевищував 25%. Однак характерним є те, що гірше виживали штами з великими розмірами клітин та дріжджі у фазі брунькування. Для наступної роботи було відібрано ізоляти зі ступенем виживання не менше 70%.

На основі грибкової кефірної закваски було створено три базові варіанти композицій: К I (ГКЗ+*L.diacetilactis*+*L.lactis*), К II (ГКЗ+*L.diacetilactis*+*L.diacetilactis*) та К III (ГКЗ+*L.lactis*+*L.diacetilactis*+*S.thermophilus*). Для забезпечення регламентованого ДСТУ

4417 вмісту дріжджів до усіх варіантів було додано лактозопозитивні та лактозонегативні дріжджі у кількості 1% від маси молочної суміші. Одержані продукти аналізували за органолептичними показниками, молокозсідальною активністю та кислотністю (табл 3).

Як наслідок вдосконалення складу мікрофлори, особливо зі залученням (*Lac+*) дріжджів, відчувався дріжджовий присмак через надмірний їх розвиток, а консистенція була надто рідкою та пінкою.

Композиції з позитивною сенсорною оцінкою додатково були досліджені за вмістом утвореного вуглекислого газу та чисельністю дріжджів. Майже всі варіанти з використанням дріжджів (*Lac+*) характеризувалися високим рівнем CO₂ (до 20-26 мм), що може негативно вплинути на здатність до зберігання продукту.

Таблиця 3

Властивості заквашувальних композицій на основі грибової кефірої закваски, молочнокислих лактококів та дріжджів

Склад заквашувальних композицій	Рівень утворення CO ₂ *, мм	Чисельність дріжджів*, КУО/см ³
К I + (<i>Lac+</i>)	14-18	7·10 ³ -8·10 ⁴
К I + (<i>Lac-</i>)	8-12	2·10 ³ -6·10 ³
К II + (<i>Lac+</i>)	14-26	4·10 ³ -6·10 ⁴
К II + (<i>Lac-</i>)	10-16	2·10 ³ -7·10 ³
К III + (<i>Lac+</i>)	12-20	3·10 ³ -3·10 ⁴
К III + (<i>Lac-</i>)	6-12	2·10 ³ -8·10 ³

В разі застосування дріжджів, не здатних до зброджування лактози, значного утворення вуглекислого газу не спостерігали, хоча чисельність дріжджів у цих варіантах була на рівні 2·10³-8·10³ КУО/см³, що відповідає вимогам нормативних документів. Ці продукти характеризувалися в міру щільною консистенцією, приемним кисломолочним, ледь щипким смаком. Отримані результати стали підставою для вибору штаму *Saccharomyces unisporus*. Його основні морфологічні та фізіологічні показники наведено в табл. 4.

Таблиця 4

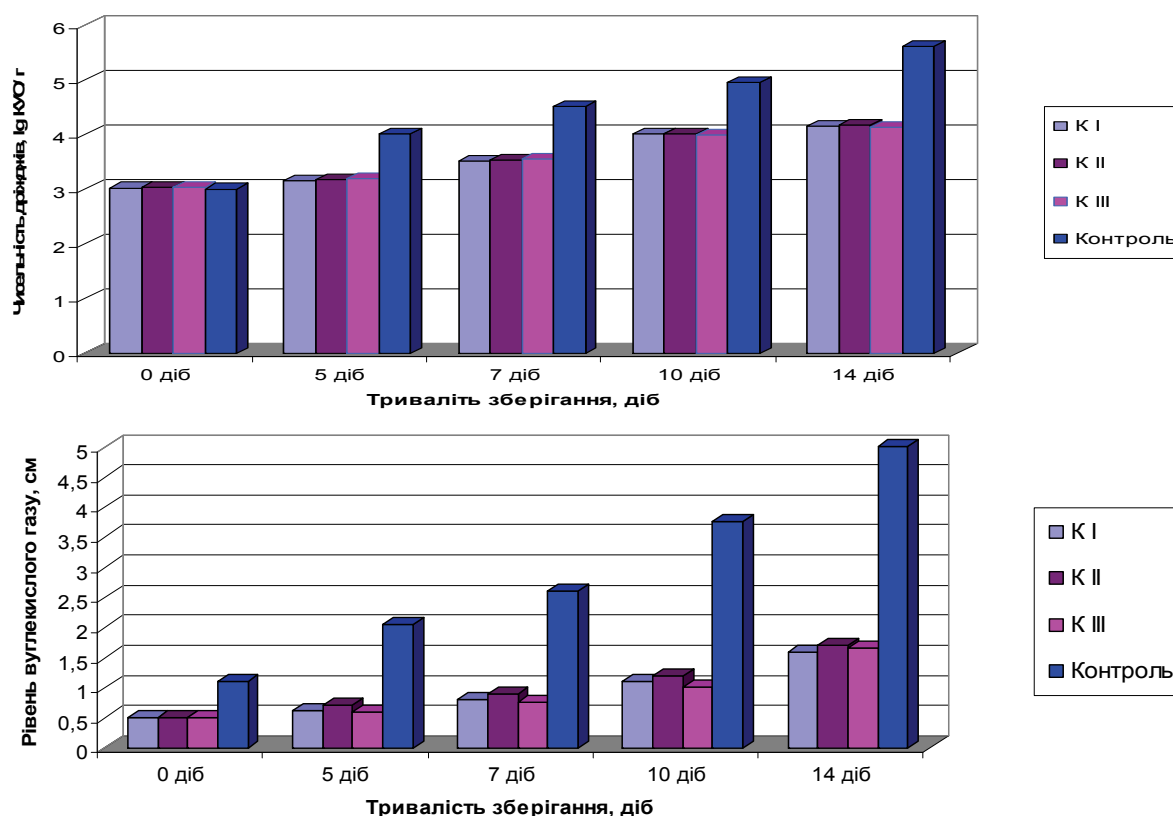
Характеристика штаму дріжджів *Saccharomyces unisporus*

Морфологічні та фізіологічні ознаки	Характеристика
Реакція з діазонієм синім В	-
Форма клітин у мікропрепараті 3-добової культури	овальні клітини середнього розміру
Гігантська колонія	біла матова випукла з нерівними краями
Спосіб вегетативного розмноження	брунькування
Істинний міцелій	-
Псевдоміцелій	примітивний, малорозвинений
Аскоспори	+
Бластоспори	-
Балістоспори	-
Бродіння:	
Глюкоза	+
Лактоза	-
Сахароза	-
Асиміляція:	
Глюкоза	+
Лактоза	-

Сахароза	-
Лізин	+
Ріст у рідкому середовищі	Каламуть
Ріст у середовищі без вітамінів	Слабкий
Ріст у середовищі з 50% глюкози	-
Ріст за температури 37°C	+
Ріст у середовищі з 1% оцтовою кислотою	-
Ріст у присутності циклогексаміду 100 мкг/см ³	-
Гідроліз TWIN-80	-
Утворення органічних кислот на середовищі з глюкозою	-

Відібраний штам є представником актиноміцетів (реакція з діазонієм синім В – негативна), клітини якого овальні середнього розміру. Штам зброджував глюкозу, не здатний до зброджування лактози, хоча асимілює це джерело вуглецю. Культура добре росла у рідких поживних середовищах з утворенням каламуті, температура росту сягала 37°C. Штам під час ліофілізації зберігав 89,7% життєздатних клітин.

Показники якості кефіру, виробленого зі застосуванням удосконаленої заквашувальної композиції, було проаналізовано впродовж зберігання за температури (4±2) °C та порівняно з аналогічними характеристиками продукту, виготовленого з використанням звичайної грибової закваски (контроль), що представлено на рис. 1.



К1- ГКЗ+*L.diacetilactis*+*L.lactis*+(Lac-)

К II (ГКЗ + *L.diacetilactis* +*L.diacetilactis* + (Lac-)

К III (ГКЗ + *L.lactis* +*L.diacetilactis*+*S.thermophilus* + (Lac-)

Контроль- ГКЗ

Рис. 1. Зміна показників якості кефірів упродовж зберігання

Отже, як свідчать отримані результати, збільшення у складі мікрофлори грибової закваски частки лактозонегативних дріжджів дало змогу сповільнити спиртове бродіння та, відповідно, утворення вуглекислого газу. У свіжовиробленому продукті за однакової чисельності дріжджів $1 \cdot 10^3$ КУО/г рівень CO_2 у контролі був у 2,5 рази вищий, ніж у дослідному варіанті. Упродовж зберігання обох зразків кефірів спостерігали поступове збільшення кількості дріжджів та накопичення продуктів бродіння. Традиційний продукт вже на 10 добу був непридатним для споживання, дослідний кефір за рахунок додаткового залучення до складу мікрофлори закваски *Saccharomyces unisporus* через 14 діб характеризувався помірним рівнем CO_2 (до 1,7 см), приємним кисломолочним тонізуючим смаком, злегка пінкою консистенцією.

Висновки

Вилучено із кефірних грибків два типи дріжджів (*Lac+*) та (*Lac-*), досліджено їх властивості. Як промислово перспективний відібрано штамп (*Lac-*) *Saccharomyces unisporus*.

Створено закавашувальну культуру для кефіру на основі кефірних грибків з додаванням штаму *Saccharomyces unisporus*.

Встановлено, що завдяки біостабілізації кефіру дріжджами, не здатними збродувати лактозу, продукт був придатний до тривалішого зберігання упродовж 14 діб за температури (4 ± 2) °С, при цьому показники якості та безпеки кефіру відповідали вимогам чинних нормативних документів.

Література.

1. Виробництво кефіру згідно з національним стандартом України // Молокопереробка. -2006. - № 5(8). – С.8-11.
2. Гарантована якість кефіру із заквасками «Даніско» // Продукты & ингредиенты. – 2006. - № 6. – С.24-25.
3. Хамнаева Н.И., Доржиева Ч.Б. Культивирование дрожжей, выделенных из природных источников // Молочная промышленность. - № 6. - 2007. - С.34-35.
4. Голубев В.И., Голубев Н.В. Отбор и характеристика активно сбраживающих лактозу дрожжей // Прикладная биохимия и микробиология. – 2004. - №3, Т. 40. - С. 332-336.
5. Алексеенко А.В., Забильская С.В. Культуральные свойства лактозосбраживающих дрожжей // Материалы III Международной научной студенческой конференции «Научный потенциал студенчества в XX веке». Естественные и точные науки. Технические и прикладные науки. - Ставрополь: СевКавГТУ. - 2009. - 278 с.