

**С.Н. Хазагаева**, аспирант кафедры «Технология молочных продуктов.  
Товароведение и экспертиза товаров»  
**И.С. Хамагаева**, д-р техн. наук, проф., зав. кафедрой «Технология молочных продуктов.  
Товароведение и экспертиза товаров»  
**Н.А. Замбалова**, канд. экон. наук, ст. преп. кафедры  
«Метрология, стандартизация и сертификация»  
Восточно-Сибирский государственный технологический университет  
**Тиансонг Сан**, профессор, Сельскохозяйственный государственный университет,  
Внутренняя Монголия, Н.Р. Китай

УДК 579.873.13

## КАЧЕСТВЕННАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МУЛЬТИШТАММОВОЙ ПРОБИОТИЧЕСКОЙ ЗАКВАСКИ

*В статье представлены результаты исследований по разработке бактериального препарата для пробиотического продукта. Установлены оптимальные режимы культивирования подобранной комбинации бифидобактерий, лакто- и пропионовокислых бактерий. Определены качественные показатели готовой пробиотической закваски.*

**Ключевые слова:** лактобактерии, пропионовокислые бактерии, симбиотическая закваска, комбинированный бактериальный концентрат.

**S.N. Khasagaeva**, P.G.  
**I.S. Khamagaeva**, Dr. Sc. (Engineering), Prof.  
**N.A. Zambalova**, Cand. Sc. (Economics)  
**Tiasong Sun**, Prof.

## QUALITY CHARACTERISTICS OF MULTISTRAIN PROBIOTIC FERMENT

*The article presents the results of studies on the development of a bacterial preparation for the probiotic product. The optimal combination of selected modes of cultivation of bifidobacteria, lactobacilli and propionic acid bacteria are established. Quality indicators of finished starter are defined.*

**Key words:** lactobacilli, propionic acid bacteria, symbiotic starter, combined bacterial concentrate.

В последние годы большой интерес вызывает возможность производства обогащённых продуктов для ежедневного рациона человека. Сметана - один из наиболее популярных кисломолочных продуктов в нашей стране, отличающихся повышенной пищевой и энергетической ценностью, высокими вкусовыми достоинствами. Одним из способов улучшения функциональных свойств сметаны является применение закваски на основе пробиотиков.

В настоящее время особое внимание уделяется разработкам заквасок прямого внесения, в состав которых входит несколько видов микроорганизмов, принадлежащих к различным родам и видам. Работа по комбинированию молочнокислых бактерий, пропионовокислых бактерий и бифидобактерий позволяет получить принципиально новую закваску для производства сметаны с высокими пробиотическими свойствами.

Целью работы является создание мультиштаммовой закваски для производства продукта с высокими пробиотическими свойствами.

### Объекты и методы исследований

Объектом исследований служили чистые культуры пропионовокислых бактерий *Propionibacterium Freudenreichii subsp. Schermanii* AC 2503 (фонд Всероссийской коллекции микроорганизмов Института биохимии и физиологии микроорганизмов), *Bifidobacterium bifidum* 8<sub>3</sub> (AC-1248 фонд Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов ФГУП ГосНИИ Генетика), активизированные биотехнологическим методом, разработанным в ВСГУ [1, 2]. Титруемую кислотность определяли по ГОСТ 3624-92. Величину активной кислотности – потенциметрическим методом на рН-метре АНИОН 7000 по ГОСТ 3624-87. Количество клеток бифидобактерий и пропионовокислых бактерий определяли методом предельных разведений по МУК 4.2.999-00. Концентрацию экзополисахаридов определяли антроновым методом [2].

## Результаты и их обсуждение

При создании комбинированной закваски необходимо учитывать взаимную сочетаемость бактерий для установления стабильного равновесия микробного консорциума. Многолетний опыт по подбору микрофлоры заквасок показывает, что лучше всего сочетаются штаммы, имеющие близкую активность кислотообразования [3]. Исследуемые штаммы бактерий характеризуются умеренной скоростью кислотонакопления. Сложность составления комбинаций заквасочных культур заключается в том, что бактерии, составляющие конструкцию закваски, нуждаются в различных температурных оптимумах (*Str. Cremoris*, *Propionibacterium Freudenreichii subsp. Schermanii* AC 2503 30°C, *B.bifidum* 8<sub>3</sub> 37°C). Учитывая различные оптимальные температуры развития, необходимо было подобрать условия для сбалансированного роста данных микроорганизмов в симбиотической закваске. Различные комбинации количественных соотношений исследуемых бактерий культивировали при 30°C, 35°C, 37°C. В результате исследований установлено, что наиболее благоприятными условиями для развития комбинаций *B.bifidum*, *St.Cremoris*, *Propionibacterium Freudenreichii subsp. Schermanii* является температура 35°C и соотношение культур в закваске 40:30:30. Полученная при этих условиях закваска обладает наилучшими органолептическими, реологическими показателями и содержит высокое количество жизнеспособных клеток. Таким образом, было выбрано оптимальное сочетание культур *B.bifidum* 8<sub>3</sub>, *P. Freudenreichii subsp. Schermanii* AC2503 и *St.Cremoris* 40:30:30 и температура культивирования 35°C.

Для полного изучения свойств полученной закваски была проведена серия опытов по определению органолептических, физико-химических и микробиологических показателей. Качественная характеристика закваски представлена в табл. 1.

Таблица 1

Качественная характеристика комбинированной закваски

Показатель	Характеристика
Внешний вид и консистенция	Однородная, плотная, в меру вязкая, без отстоя сыворотки
Вкус и запах	Чистый кисломолочный, без посторонних привкусов и запахов
Цвет	Молочно-белый или с кремовым оттенком
Активность, ч.	10-12
Кислотность, °Т	68-70
Активная кислотность, рН	4,94
Количество жизнеспособных клеток <i>B.bifidum</i> , К.О.Е./см <sup>3</sup>	3·10 <sup>9</sup>
Количество жизнеспособных клеток <i>Str. cremoris</i> , К.О.Е./см <sup>3</sup>	1·10 <sup>9</sup>
Количество жизнеспособных клеток <i>P. schermanii</i> , КОЕ /см <sup>3</sup>	2·10 <sup>9</sup>
Степень синерезиса, %	52
Экзополисахариды, мкг/мл	12,6

Из данных, представленных в таблице, видно, что разработанный инокулят характеризуется высокой биохимической активностью, экзополисахаридным потенциалом и соответствует требованиям, предъявляемым к закваскам для производства сметаны. Количественное соотношение жизнеспособных клеток *B.bifidum* 8<sub>3</sub>, *Str. cremoris*, *P. freuden-reichii subsp. schermanii* остаётся постоянным. Высокая плотность популяций культур свидетельствует, что микроорганизмы находятся в прочных симбиотических отношениях, которые гарантируют стабильность микробного консорциума. Таким образом, данный инокулят можно применить для производства бактериального концентрата.

Использование бактериальных концентратов позволяет исключить процесс приготовления производственных заквасок, который отличается высокой трудоемкостью и риском потери активности заквасок, сохранить заданное равновесие между штаммами, снизить вероятности обсеменения посторонней микрофлорой в процессе заквашивания. При этом основной задачей технологии производства бактериальных препаратов на основе живых микроорганизмов является обеспечение таких условий получения и переработки микробной массы, при которых в готовой продукции сохранилось максимальное число жизнеспособных клеток и высокая скорость ферментации.

Для производства данного бактериального концентрата использовали питательную среду на основе творожной сыворотки для культивирования бифидобактерий и пропионовокислых бактерий. Применение сыворотки для культивирования микроорганизмов обусловлено содержащимися в ней углеводами (моно-, олиго- и аминосохарарами), минеральными солями, витаминами, органическими кислотами,

ферментами и микроэлементами. Лактоза является энергетическим субстратом для развития микроорганизмов, входящих в состав инокулята. Для роста молочнокислых бактерий большое значение имеют буферные свойства среды. Сыворотка по сравнению с обезжиренным молоком обладает меньшей буферной емкостью, поэтому в состав среды вносят натрий лимоннокислый [4].

Серия ранее проведенных опытов по совместному культивированию *Str. cremoris*, *Propionibacterium Freudenreichii subsp. schermanii* и *B. bifidum* 8<sub>3</sub> подтвердила целесообразность применения этой среды.

Динамика роста культур комбинированной закваски на питательной среде представлена на рисунке 1. Диаграмма, построенная на основе полученных данных, свидетельствует об активном росте микроорганизмов на выбранной среде.

Процесс производства бактериального концентрата заключается в наращивании биомассы бактерий комбинированной закваски на питательной среде при 35°C в течение 22-24 часов с промежуточной нейтрализацией. После окончания процесса культивирования бактериальную массу отделяют от культуральной жидкости путем центрифугирования. Суспензию клеток смешивают в определенном соотношении с защитной средой и фасуют во флаконы в асептических условиях. Бактериальный концентрат замораживают при -20°C.

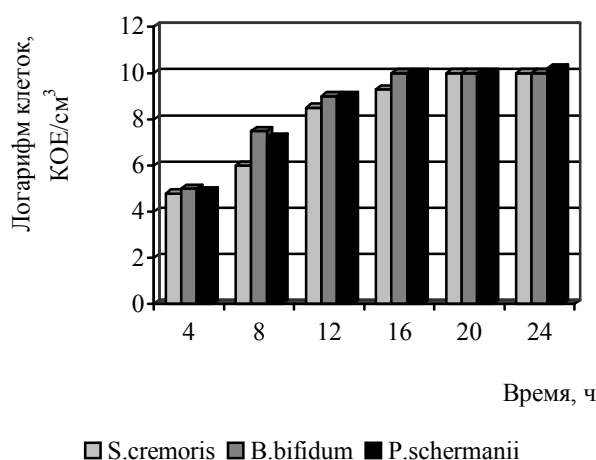


Рис 1. Рост культур комбинированной закваски на питательной среде

Качественная характеристика мультиштаммового бактериального концентрата для производства пробиотической сметаны представлена в таблице 2.

Таблица 2

Качественная характеристика замороженной концентрированной закваски

Наименование показателя	Значение показателя
Консистенция и внешний вид	Замороженная суспензия
Цвет	От белого до светло-желтого
Активность сквашивания сливок, ч	12-14
Предельные значения, рН	5,5-7,0
Объем замороженного концентрата, мл	5
Температура при выпуске с предприятия, °С, не более	-20±2
Количество бактерий, КОЕ/см <sup>3</sup> , не менее, на конец срока годности:	
<i>Str. cremoris</i>	10 <sup>10</sup>
<i>B. bifidum</i> 8 <sub>3</sub>	10 <sup>10</sup>
<i>P. schermanii</i> ,	10 <sup>10</sup>
Объем продукта (см <sup>3</sup> ), в котором не допускаются:	
БГКП (колиформы)	10
<i>S. aureus</i>	10
Патогенные микроорганизмы (в т.ч. сальмонеллы)	100
Дрожжи, КОЕ/см <sup>3</sup> , не более	5
Плесени, КОЕ/см <sup>3</sup> , не более	5

Данные таблицы свидетельствуют о том, что концентрированная симбиотическая закваска обладает высокой биохимической активностью и содержит достаточное количество жизнеспособных клеток. Таким образом, в результате исследований была разработана технология бактериального концентрата для производства сметаны с высокими пробиотическими свойствами.

Для определения дозы внесения замороженного бактериального концентрата при выработке сметаны была проведена серия опытов по исследованию биохимической активности концентрата. В результате опытов установлено, что 1 флакон, содержащий 5 мл (5 единиц активности) закваски прямого внесения, способен сквасить 200 кг сливок за 10-12 ч при температуре 35°C. При внесении выбранной дозы бакконцентрата наблюдается оптимальная энергия кислотообразования в процессе сквашивания сливок, кислотность сгустка через 12 часов составляет 66°Т. Это способствует получению плотного сгустка с хорошими органолептическими и реологическими характеристиками, а также высокими тиксотропными показателями, которые обеспечивают хорошую консистенцию сметаны. Кроме этого, было отмечено высокое содержание жизнеспособных клеток пробиотических микроорганизмов (*B. bifidum* 8<sub>3</sub> - 2·10<sup>9</sup>, *Str. cremoris* - 1·10<sup>9</sup>, *P. shermanii* - 2·10<sup>9</sup>) в готовом продукте.

### Выводы

1. В результате проведенных исследований разработана комбинированная закваска, обладающая высокой биохимической активностью.

2. Установлено, что применение разработанной закваски прямого внесения для ферментации сливок позволяет получить продукт высокого качества с хорошими органолептическими и структурно-механическими свойствами.

### Библиография

1. Хамагаева И.С. Научные основы биотехнологии кисломолочных продуктов для детского и диетического питания: Монография. – Улан-Удэ: Изд-во ВСГТУ, 2005. -279 с.
2. Пирог Т.П., Гринберг Т.А., Малащенко Ю.Р. Защитные функции экзополисахаридов, синтезируемых бактериями *Acetobacter sp.* // Микробиология. – 1997. – Т. 66, №3. – С.335-340.
3. Бабошин М.А., Головлева Л.А. Стратегия подбора штаммов для смешанной культуры, осуществляющей быструю конверсию смеси полиароматических соединений // Микробиология. -2010. –Т.79, №1. –С.79-88.
4. Holland, R., and T. Coolbear. 1996. Purification of tributyrin esterase from *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* E<sub>8</sub>. I. Dairy Res. 63:131-140.

### Bibliography

1. Khamagaeva I.S. Scientific basis of biotechnology of fermented milk products for children and dietary food: A monograph. - Ulan-Ude: ESSTU Press, 2005. - 279p.
2. Pirog T.P., Grinberg T.A., Malashenko Y.R. Protective functions of exopolysaccharides synthesized by the bacteria *Acetobacter sp.* // Microbiology. - 1997. - V.66, № 3. - P.335-340.
3. Baboshin M.A., Golovleva L.A. Strategy for selection of strains for the mixed culture, performing a quick conversion of a mixture of polycyclic aromatic compounds // Microbiology. -2010. -V. 79, № 1. P.79-88.
4. Holland, R., and T. Coolbear. 1996. Purification of tributyrin esterase from *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* E<sub>8</sub>. I. Dairy Res. 63:131-140.