

КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО КОНЦЕНТРАТА СИМБИОТИЧЕСКОЙ ЗАКВАСКИ ДЛЯ ХЛЕБОПЕКАРНОГО ПРОИЗВОДСТВА

И.В. Бояринева, И.С. Хамагаева, А.С. Столярова, Ю.Г. Калужских

Подобраны оптимальные параметры культивирования микроорганизмов комбинированной закваски, обеспечивающие максимальный выход биомассы при производстве жидкого бактериального концентрата. Подобрана защитная среда, включающая дистиллированную воду, натрий лимоннокислый трехзамещенный и сахарозу, которая способствует максимальному сохранению клеток при замораживании и хранении. Показано, что криоконсервирование значительно пролонгирует сроки хранения бактериального концентрата.

Ключевые слова: закваска, концентрат симбиотической закваски, консорциум, питательная среда, биомасса.

Ржаной и ржано-пшеничный хлеб на протяжении многих столетий занимает особое место в рационе питания народов России. Эти хлебобулочные изделия обладают не только ни с чем не сравнимым вкусом и ароматом, но и, благодаря особенностям химического состава ржаной муки, оказывают положительное влияние на здоровье человека. К сожалению, в последние годы и у нас в стране, и за рубежом отмечается тенденция снижения удельного потребления ржаного и ржано-пшеничного хлеба. Несомненно, что только постоянное совершенствование технологии приготовления этих изделий, обеспечивающее высокое качество готовой продукции при переработке нестабильного сырья, способно вернуть им былую популярность [1, 2].

Белковые вещества ржаной муки по аминокислотному составу близки к белкам пшеничной муки, однако отличаются более высоким содержанием незаменимых аминокислот – лизина, аргинина и треонина. Существенной особенностью белков ржи является их способность к быстрому и интенсивному набуханию. Значительная часть белков при этом набухает неограниченно, переходя в состояние вязкого коллоидного раствора. Особенностью белков ржаной муки является также то, что они не способны, несмотря на наличие глиадина и глютелина, к образованию клейковины. Из-за отсутствия клейковины ржаное тесто лишено упругости и эластичности, но имеет повышенную вязкость. В ржаном тесте сравнительно много водорастворимых веществ и свободной влаги. Ржаной крахмал легко клейстеризуется и гидролизуется, более атакуем амилолитическими ферментами, чем крахмал пшеничной муки.

В ржаной муке всегда имеется некоторое количество α -амилазы в активном состоянии, которая, действуя на крахмал, расщепляет его до декстринов. Декстрины придают мякишу липкость, заминаемость и не-пропеченность.

Кислотность ржаного теста с целью торможения действия α -амилазы приходится поддерживать на уровне значительно более высоком, чем в пшеничном тесте. Ржаное тесто должно иметь кислотность (10–12) °Н (градусов Неймана), поэтому готовят его на специальных заквасках.

При производстве ржаного хлеба основным брожением является молочнокислое, а спиртовое является побочным. Возбудителем спиртового процесса являются дрожжи. В отсутствие кислорода единственным путем получения энергии для жизнедеятельности дрожжевых клеток является сбраживание углеводов с образованием в качестве конечных продуктов спирта и углекислого газа. Эти процессы осуществляются через ряд промежуточных реакций с участием многочисленных ферментов. Гомоферментативные бактерии сбраживают глюкозу по гликолитическому пути Эмбдена-Мейенгофа, а гетероферментативные бактерии по пентозофосфатному пути.

Фактический баланс спиртового брожения более сложен и в значительной степени зависит от активной кислотности среды и некоторых других условий. Кислотный оптимум сбраживания глюкозы дрожжевыми клетками лежит в очень широких границах рН 3,0–7,0, однако, чем ниже активная кислотность среды, тем лучше дрожжи сбраживают глюкозу. Излишняя кислотность пшеничного теста не желательна, так как при этом ухудшаются органолептиче-

ские показатели (кислый вкус) готового продукта. Высокая кислотность характерна для ржаных заквасок и теста, что обусловлено особенностями углеводно-амилазного и белково-протеиназного комплексов ржаной муки.

Нарастание кислотности обусловлено жизнедеятельностью молочнокислых бактерий, являющихся возбудителями молочнокислого брожения [3]. Как указывалось выше, молочнокислое брожение является основным видом брожения при приготовлении ржаного хлеба. Сложный состав микрофлоры заквасок и теста обуславливает сложные биохимические процессы, протекающие в той или иной фазе приготовления ржаного хлеба.

В настоящее время производственные процессы, основанные на жизнедеятельности микроорганизмов, приобрели особое значение. Современная биотехнология неразрывно связана с использованием новых подходов к созданию и отбору новых микроорганизмов, что влечет за собой увеличение разнообразия биотехнологической продукции [4–7].

Существующая технология приготовления ржаного хлеба и ржано-пшеничных сортов хлеба предусматривает использование традиционных густых и жидких заквасок, выведенных на чистых культурах микроорганизмов по трехфазной схеме разводочного цикла и поддерживаемых непрерывным путем периодических освежений. Такая технология слишком длительна, трудоемка для хлебозаводов малой мощности, пекарен, работающих в 1–2 смены.

В связи с этим, актуальным является создание концентрированной закваски с высокими биотехнологическими свойствами, использование которой позволит интенсифицировать бродительные процессы и значительно упростить технологию приготовления ржаного хлеба.

Целью работы является разработка замороженного бактериального концентрата с высокой бродительной активностью и длительным сроком хранения.

ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Экспериментальные исследования проводились на кафедре «Технология молочных продуктов. Товароведение и экспертиза товаров» ВСГУТУ. Объектом исследований служила симбиотическая закваска, полученная методом автоселекции кефирной грибковой закваски. Количество лактозных дрожжей определяли на картофельно-лактозном агаре методом предельных разведений. Количество дрожжей, не сбраживающих лактозу, оп-

ределяли на картофельно-сахарозном агаре методом предельных разведений. Общее количество дрожжей в закваске определяли методом предельных разведений с последующим посевом в чашках Петри со средой Сабуро. Количественный учет термофильных и мезофильных лактобактерий проводили на среде «Бактофок».

Средой для получения биомассы симбиотической закваски служила сыворотка творожная с добавлением буферных солей и стимуляторов роста. Сыворотку предварительно осветляют. Для этого ее нагревают до температуры 92–95 °С, раскисляют 40 %-ным раствором гидроксида натрия, выдерживают 10–15 мин и фильтруют. В подготовленную сыворотку вносят картофельный отвар, натрий лимоннокислый, калий фосфорнокислый, магний сернокислый, сахарозу, аскорбиновую кислоту, агар и устанавливают pH среды в пределах 6,0–6,5 [8].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Важнейшим фактором, определяющим ход биохимических процессов в ржаных заквасках и тесте является видовой состав микрофлоры. По видовому составу кислотообразующие бактерии в ржаных заквасках делятся на две группы: гомоферментативные и гетероферментативные лактобактерии. Основными представителями являются *L. plantarum*, *L. delbrückii*, *L. casei*. Из гетероферментативных широко используются *L. brevis*, *L. fermenti*, *L. bucheri*.

По мнению многих исследователей, применение одних гомоферментативных молочнокислых бактерий не обеспечивает надлежащего качества хлеба, гетероферментативные бактерии являются не только кислотообразователями, но и энергичными газообразователями, играющими существенную роль в разрыхлении ржаного теста. В результате накопления молочной кислоты, специфичные для ржаного теста кислотообразующие бактерии при длительном культивировании почти полностью вытесняют не специфичную микрофлору муки.

Микрофлора кефирной грибковой закваски представляет прочный симбиоз, состоящий из гомо- и гетероферментативных молочнокислых бактерий, дрожжей, сбраживающих и несбраживающих лактозу, ацетобактерий и т. д. В процессе своего роста дрожжи обогащают среду рядом экстрацеллюлярных продуктов своего метаболизма, используемых молочнокислыми бактериями для своего развития. В свою очередь, росту

КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО КОНЦЕНТРАТА СИМБИОТИЧЕСКОЙ ЗАКВАСКИ ДЛЯ ХЛЕБОПЕКАРНОГО ПРОИЗВОДСТВА

дрожжевых клеток способствует высокая кислотность среды, создаваемая молочнокислыми бактериями, и обогащая ее, азотсодержащими веществами, за счет действия протеолитических ферментов лактобактерий.

Для получения бактериального концентрата нами использована разработанная

ранее питательная среда. В качестве инокулята – симбиотическая закваска, полученная методом автоселекции кефирной грибковой закваски в количестве 5 % от объема питательной среды [9].

Результаты исследований представлены на рисунке 1.

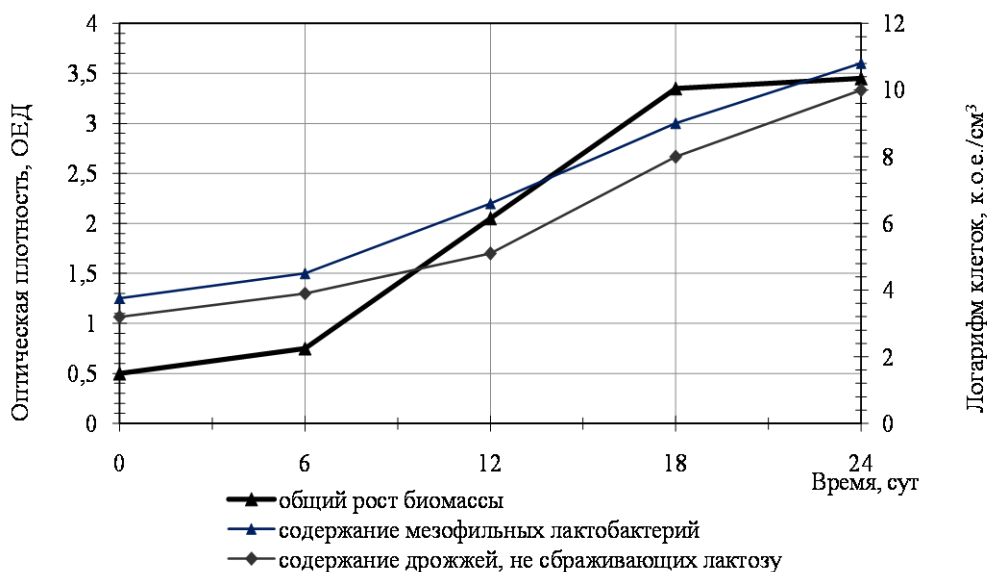


Рисунок 1 – Влияние условий культивирования на рост биомассы и количественное содержание мезофильных лактобактерий и дрожжей, не сбраживающих лактозу

Как видно из рисунка 1 лаг-фаза составляет 6 часов, а затем идет фаза экспоненциального роста, которая затем переходит в стационарную фазу. Через 18 часов культивирования в конце экспоненциальной фазы отмечено максимальное накопление биомассы. При этом отмечен активный рост мезофильных лактобактерий и дрожжей, не сбраживающих лактозу.

На основании проведенных исследований разработана технология получения жидкого бактериального концентрата. Качественные показатели бактериального концентрата представлены в таблице 1.

Как видно из таблицы 1, бактериальный концентрат характеризуется высоким титром жизнеспособных клеток мезофильных лактобактерий и дрожжей, не сбраживающих лактозу.

Использование жидкого бактериального концентрата симбиотической закваски в условиях производства позволяет вырабатывать ржаной хлеб со стабильными биохимическими и микробиологическими показателями. Широкое внедрение бактериального препарата в жидкой форме осложняется ограни-

ченным сроком хранения. В связи с этим, в дальнейших исследованиях рассматривается возможность получения консервированной формы препарата в виде замороженного бактериального концентрата.

Криоконсервация является одним из наиболее надежных способов длительного сохранения микроорганизмов в активной форме. При общем снижении температуры системы (криоанабиозе) подавляется активность ферментов, замедляется обмен веществ, развитие, рост, ослабляется чувствительность клеток к недостатку питательных веществ.

Угнетение жизнедеятельности при замораживании живых организмов вызвано частичным превращением воды в лед. Ледообразование связано с извлечением воды из протоплазмы клеток, а также уменьшением содержания свободной воды в системе. Процесс замораживания негативно сказывается на структурных компонентах клеток, что может привести к их гибели.

Поэтому, обязательным требованием при осуществлении этого процесса является наличие криозащитных веществ – криопр-

текторов. Они способствуют понижению осмотического давления внутри клеток и тем самым препятствуют разрыву клеточных

оболочек при оттаивании и замораживании.

Состав защитных сред, используемых в исследованиях, представлен в таблице 2.

Таблица 1 – Качественная характеристика концентрата симбиотической закваски

Наименование показателя	Характеристика
Консистенция и внешний вид	Однородная, допускается отделение сыворотки
Цвет	От белого до светло-желтого
Активная кислотность, pH	5,5–7,0
Количество мезофильных лактобактерий, к.о.е./см ³ , не менее	1×10 ¹¹
Количество дрожжей, не сбраживающих лактозу, к.о.е./см ³ , не менее	1×10 ¹⁰
Объем продукта (см ³), в котором не допускается:	
– БГКП (коли-формы)	
– <i>S. aureus</i>	10
– патогенные микроорганизмы	10
(в том числе сальмонеллы)	50
Плесени, к.о.е./см ³ , не более	10

Таблица 2 – Состав защитных сред

Компоненты	Массовая доля, %
Дистиллированная вода	85
Натрий лимоннокислый трехзамещенный	5
Сахароза	10
Дистиллированная вода	77
Глицерин	4
Сахароза	23
Дистиллированная вода	70
Глицерин	15
Сахароза	5
Натрий лимоннокислый трехзамещенный	10

Перед составлением суспензии биомассу центрифугировали при частоте 3500 об/с в течение 15 минут. Затем биомассу симбиотической закваски вносили в защитную среду в соотношении 1:1. Смесь тщательно перемешивали, разливали во флаконы и замораживали при температуре минус 18 °С.

Эффективность действия протекторов оценивали по количеству жизнеспособных клеток мезофильных лактобактерий и дрожжей, не сбраживающих лактозу. Полученные данные представлены в таблице 3.

Результаты, полученные в ходе эксперимента, показали, что рассмотренные протекторы в разной степени оказали защитное действие на клетки при замораживании.

Таблица 3 – Устойчивость симбиотической закваски к замораживанию

Защитные среды	Количество клеток, к.о.е. в 1 см ³	
	Мезофильные лактобактерии	Дрожжи, не сбраживающие лактозу
До замораживания	2×10 ¹¹	5×10 ¹⁰
С защитной средой (см. табл. 3):		
1	1×10 ¹¹	2×10 ¹⁰
2	4×10 ¹⁰	8×10 ⁸
3	6×10 ¹⁰	1×10 ⁹

КРИОКОНСЕРВИРОВАНИЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО КОНЦЕНТРАТА СИМБИОТИЧЕСКОЙ ЗАКВАСКИ ДЛЯ ХЛЕБОПЕКАРНОГО ПРОИЗВОДСТВА

Защитная среда № 1 позволяет максимально защитить клетки при замораживании, в этом случае выживаемость микроорганизмов наибольшая. При введении защитной среды № 2 на два порядка сократилось количество дрожжей, не сбраживающих лактозу. Картина защитного действия на мезофильную микрофлору более благоприятная – количество клеток сократилось незначительно. При применении защитной среды № 3 количество клеток мезофильных микроорганизмов было несколько выше, чем при применении защитной среды № 2, содержание дрожжевых микроорганизмов было несколько ниже по сравнению с защитной средой № 1, но выше, чем при использовании защитной среды № 2. В связи с чем, наиболее оптимальным вариантом протектора для биомассы симбиотической закваски принята защитная среда № 1. Использование защитной среды № 1, содержащей 10 % сахарозы и 5 % натрия лимоннокислого трехзамещенного наряду с малыми затратами на ее производство способствует максимальному сохранению клеток при замораживании суспензии симбиотической массы.

Таким образом, полученные данные указывают, что при использовании защитной среды № 1 количество клеток мезофильных лактобактерий после замораживания уменьшилось на порядок и составило 1×10^{10} к.о.е./см³, а количество дрожжей осталось на том же уровне.

Бродильная активность после активизации замороженной суспензии на заварке из ржаной муки не изменилась, что говорит о сохранении биохимической активности на достаточно высоком уровне.

Таким образом, на основании проведенных исследований получен замороженный концентрат симбиотической закваски, обладающей высокой бродильной активностью. Преимуществом метода криогенного хранения является малая вероятность заражения закваски, сохранение стабильности свойств микроорганизмов, а также небольшой расход материалов при подготовке культуры к хранению.

ВЫВОДЫ

В результате проведенных исследований разработан замороженный бактериальный концентрат симбиотической закваски, обладающий высокой бродильной активностью и пролонгированным сроком хранения.

Подобрана защитная среда, обеспечивающая максимальную выживаемость клеток лактобактерий и дрожжей при замораживании и длительном хранении.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Черных, И. В. Совершенствование контроля качества муки с использованием современных информационно-измерительных систем (Соктрейд) / И. В. Черных, А. В. Лебедев // *Хлебопродукты*. – 2012. – № 6. – С. 41–43.
2. Chernykh, I. G. Chempak software package as an environment for kinetics scheme evaluation / I. G. Chernykh, O. P. Stoyanovskaya, O. A. Zasyapkina // *Chemical Product and Process Modeling*. – 2008. – Т. 4. – С. 1.
3. Квасников, Е. И. Дрожжи. Биология. Пути использования / Е. И. Квасников, И. Ф. Щелокова. – Киев : Наукова думка, 1991. – 328 с.
4. Ботина, С. Г. Молекулярно-генетические характеристики и пробиотический потенциал бактерий рода LACTOBACILLUS / С. Г. Ботина, Н. Ю. Ивашкина, И. В. Маев // *Молекулярная медицина*. – 2011. – № 2. – С. 53–56.
5. Tsavkelova, E. A.. Orchid-associated bacteria produce indole-3-acetic acid, promote seed germination, and increase their microbial yield in response to exogenous auxin / E. A. Tsavkelova, T. A. Cherdynseva, S. Yu. Klimova, A. I. Shestakov, S. G. Botina, A. I. Netrusov // *Archives of Microbiology*. – 2007. – Т. 188. – № 6. – С. 655–664.
6. Botina, S. G. Speciation in bacteria: comparison of the 16s rna gene for closely related enterococcus species / S. G. Botina, V. V. Sukhodolets // *Russian Journal of Genetics*. – 2005. – Т. 42. – С. 325.
7. Приданникова, И. Новое поколение стартовых культур в развитии технологии молочных продуктов / И. Приданникова, Е. Елизарова // *Молочная промышленность*. – 2003. – № 9. – С. 32–33.
8. Бояринаева, И. В. Разработка симбиотической закваски для хлебопекарного производства / И. В. Бояринаева, И. С. Хамагаева // *Вестник ВСГУТУ*. – 2014. – № 6. – С. 101–107.
9. Бояринаева, И. В. Исследование условий культивирования микрофлоры симбиотической закваски для хлебопекарного производства / И. В. Бояринаева, И. С. Хамагаева // *Вестник ВСГУТУ*. – 2015. – № 2. – С. 74–80.

Бояринаева Ирина Валерьевна, к.т.н., докторант кафедры «Технология молочных продуктов. Товароведение и экспертиза товаров» ФГБОУ ВО ВСГУТУ, тел.: 8(3012)417206, e-mail: mip.bifivit@mail.ru, hutorokdv@gmail.com.

Хамагаева Ирина Сергеевна, д-р техн. наук, проф., зав. кафедрой «Технология молочных продуктов. Товароведение и экспертиза товаров» ФГБОУ ВО ВСГУТУ тел.: 8(3012)417206, e-mail: mip.bifivit@mail.ru.

Столярова Анна Сергеевна, к.т.н., доцент кафедры «Технология молочных продуктов. Товароведение и экспертиза товаров» ФГБОУ ВО ВСГУТУ, тел.: 8(3012)417206, e-mail: mip.bifivit@mail.ru.

Калужских Юлия Геннадьевна, к.т.н., доцент кафедры «Технология молочных продуктов. Товароведение и экспертиза товаров» ФГБОУ ВО ВСГУТУ, тел.: 8(3012)417206, e-mail: mip.bifivit@mail.ru, ygk1975@mail.ru.