

# БИОТЕХНОЛОГИЯ

УДК 637.146.3

Поступила в редакцию 19 сентября 2023 года

*И.А. Сидерко, Н.Н. Фурик, к.т.н., Н.К. Жабанос, к.т.н., Е.Н. Бирюк, к.с.-х.н.  
Институт мясо-молочной промышленности, Минск, Республика Беларусь*

## **ОЦЕНКА ВЛИЯНИЯ *LACTOBACILLUS DELBRUECKII* SUBSP. *LACTIS* И *LACTOBACILLUS CASEI* SUBSP. *CASEI* В СОСТАВЕ БАКТЕРИАЛЬНОГО КОНСОРЦИУМА ДЛЯ СЫРОВ НА СКОРОСТЬ КИСЛОТООБРАЗОВАНИЯ**

*I. Siderko, N. Furik, N. Zhabanos, E. Biruk  
Institute for Meat and Dairy Industry, Minsk, Republic of Belarus*

### **EVALUATION OF THE IMPACT OF *LACTOBACILLUS DELBRUECKII* SUBSP. *LACTIS* AND *LACTOBACILLUS CASEI* SUBSP. *CASEI* AS PART OF A BACTERIAL CONSORTIUM FOR CHEESE ON THE RATE OF ACID FORMATION**

*e-mail: myirinka718@gmail.com, furik\_nm@tut.by, nzhabanos@tut.by, biohimbel@rambler.ru*

*Изучен процесс ферментации молочного сырья бактериальным консорциумом, состоящим из мезофильных и термофильных молочнокислых бактерий и содержащим молочнокислые палочки *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* и *Lactobacillus casei* subsp. *casei*. В результате исследований установлено, что повышение температурных режимов, оказывает влияние на скорость снижения кислотности молочного сырья бактериальным консорциумом для сыров, в то же время лактобациллы *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* и *Lactobacillus casei* subsp. *casei* в исследованных дозах инокуляции оказывают небольшое влияние на процесс снижения активной кислотности.*

*The process of fermentation of dairy raw material by bacterial consortium consisting of mesophilic and thermophilic lactic acid bacteria and containing lactic acid bacilli *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* and *Lactobacillus casei* subsp. *casei* was studied. As a result of research it was found that the increase in temperature regimes, has an effect on the rate of acidity reduction of dairy raw material by bacterial consortium for cheese, at the same time lactobacilli *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* and *Lactobacillus casei* subsp. *casei* in the studied doses of inoculation have a small effect on the process of reduction of active acidity.*

**Ключевые слова:** закваска; сыр; консорциум; лактобациллы; *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Lactis*; *Lactobacillus casei* subsp. *casei*.

**Key words:** starter; cheese; consortium; lactobacilli; *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Lactis*; *Lactobacillus casei* subsp. *casei*.

**Введение.** Видовой состав заквасок для промышленного изготовления сыров обусловлен особенностями технологического процесса и требуемыми органолептическими характеристиками готового продукта. Заквасочные микроорганизмы обеспечивают интенсивность и направленность микробиологических и биохимических процессов в сыре и гарантируют его безопасность, качество и хранимоспособность.

Отбор микроорганизмов в состав поливидовых заквасок для сыров осуществляется на основе индивидуальных характеристик бактерий, удовлетворяющих выполняемым технологическим функциям при производстве продукта. Оптимальное протекание технологического процесса выработки сыра достигается за счет подбора специального состава бактериальных заквасок: определенные виды, подвиды, штаммы молочнокислых бактерий и определенное соотношения между ними. Для максимального преобразования белковой составляющей молока во вкусоароматические соединения, а также предупреждения развития нежелательных процессов и посторонней микрофлоры, закваски для

изготовления сыров часто включают помимо лактококков и термофильного стрептококка мезофильные и термофильные молочнокислые палочки. Важным процессом, для развития вкуса, аромата и текстуры готового продукта в ходе производства и созревания сыров, является превращение высокомолекулярных соединений в аминокислоты, альдегиды, тиоэфиры, летучие кислоты и спирты, чему так же способствует присутствие в заквасках лактобацилл [1, 2].

Термофильные лактобациллы *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* встречаются в различных сырах, имеющих статус защищенного наименования места происхождения (статус PDO), например, таких как Копанисти и Пекорино Романо. Данные микроорганизмы обладают хорошими протеолитическими характеристиками, антагонистической активностью по отношению к посторонней микрофлоре, являются сильными кислотообразователями при оптимальных для них температурах [3–5].

Мезофильные молочнокислые палочки *Lactobacillus casei* subsp. *casei* широко используются в бактериальных заквасках для сыроделия, они способны сбрасывать галактозу, которая высвобождается при ферментации лактозы термофильным стрептококком, тем самым предотвращая образования свободных ниш, которые могут занимать незаквасочные микроорганизмы и своим развитием приводить к образованию пороков, помимо этого *Lb. casei* также обладают протеолитической активностью и способностью к антагонистическим взаимодействиям [1, 6].

Лактобациллы принимают участие в основном на конечных стадиях изготовления сыров при их созревании, однако необходимо учитывать их вклад в снижение кислотности молочного сырья на начальных этапах, поэтому актуальной является оценка влияния лактобацилл на снижение кислотности молочного сырья при различных температурных режимах, соответствующих процессу выработки сыров.

**Материалы и методы исследований.** Объектами исследований являлись закваски замороженные концентрированные молочнокислых бактерий, изготовленные на опытно-технологическом производстве РУП «Институт мясо-молочной промышленности» и образцы ферментированного ими молочного сырья.

В исследованиях использовали среду ВОР-10 (пастеризованный 10%-ный водный раствор сухого обезжиренного молока).

Изменение активной кислотности молочного сырья регистрировали с помощью системы для автоматического контроля ферментации i-Cinac (France) в соответствии с инструкцией по эксплуатации прибора при температуре 32°C и при комбинированном температурном режиме: два часа ферментации при температуре 32°C и постепенное увеличение температуры в течение 30 мин до 40°C.

Снижение pH оценивали через 6 часов. Введение заквасок концентрированных замороженных лактобацилл *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* и *Lactobacillus casei* subsp. *casei* осуществляли в дозах инокуляции  $5 \cdot 10^4$ ,  $1 \cdot 10^5$ ,  $5 \cdot 10^5$  КОЕ/см<sup>3</sup>.

**Результаты и их обсуждение.** Для оценки влияния введения термофильных лактобацилл *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* в состав консорциума, состоящего из лактококков и термофильного стрептококка, изучен процесс снижения кислотности при внесении различных доз инокуляции заквасок концентрированных замороженных лактобацилл *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*  $5 \cdot 10^4$ ,  $1 \cdot 10^5$ ,  $5 \cdot 10^5$  КОЕ/см<sup>3</sup>. Изменение активной кислотности молочного сырья при различных дозах инокуляции *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* регистрировали в процессе ферментации при температуре 32°C (рисунок 1).

Установлено, что через 6 часов активная кислотность молочного сырья при ферментации консорциумом, содержащим лактококки и термофильный стрептококк, составляла 5,04 ед. pH. При ферментации консорциумом, содержащим *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* с дозой инокуляции  $1 \cdot 10^5$  и  $5 \cdot 10^5$  КОЕ/см<sup>3</sup> кислотность достигала уровня ниже 5,04 ед. pH и составляла 4,99 и 4,97 ед. pH соответственно; при дозе инокуляции  $5 \cdot 10^4$  КОЕ/см<sup>3</sup> кислотность составляла 5,09 ед. pH.

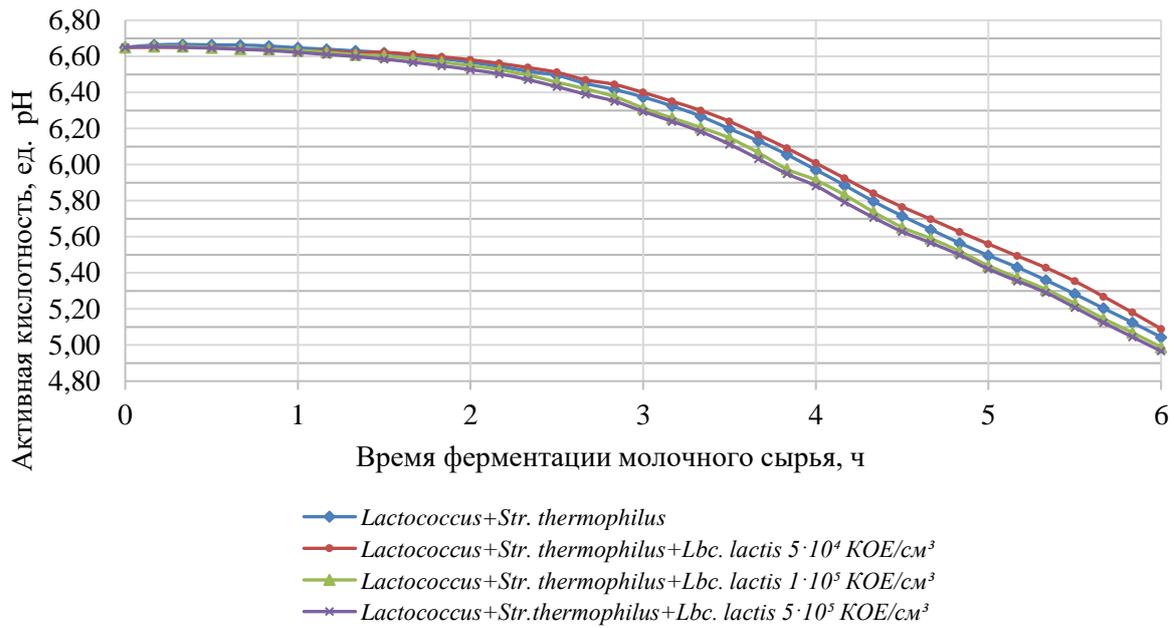


Рисунок 1 – Изменение активной кислотности молочного сыря в процессе ферментации при различных дозах инокуляции *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis*  
 Источник данных: собственная разработка.

Изучено влияние различных доз внесения закваски замороженной концентрированной лактобацилл *Lactobacillus casei subsp. casei* в бактериальный консорциум, состоящий из лактококков, термофильного стрептококка и *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis* (контроль). На рисунке 2 представлены данные об изменении активной кислотности молочного сыря в процессе ферментации с внесением различных доз инокуляции *Lactobacillus casei subsp. casei* ( $5 \cdot 10^4$ ;  $1 \cdot 10^5$ ;  $5 \cdot 10^5$  КОЕ/см<sup>3</sup>) при температуре 32°C, доза инокуляции *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis* была фиксированной и составляла  $1 \cdot 10^5$  КОЕ/см<sup>3</sup>.

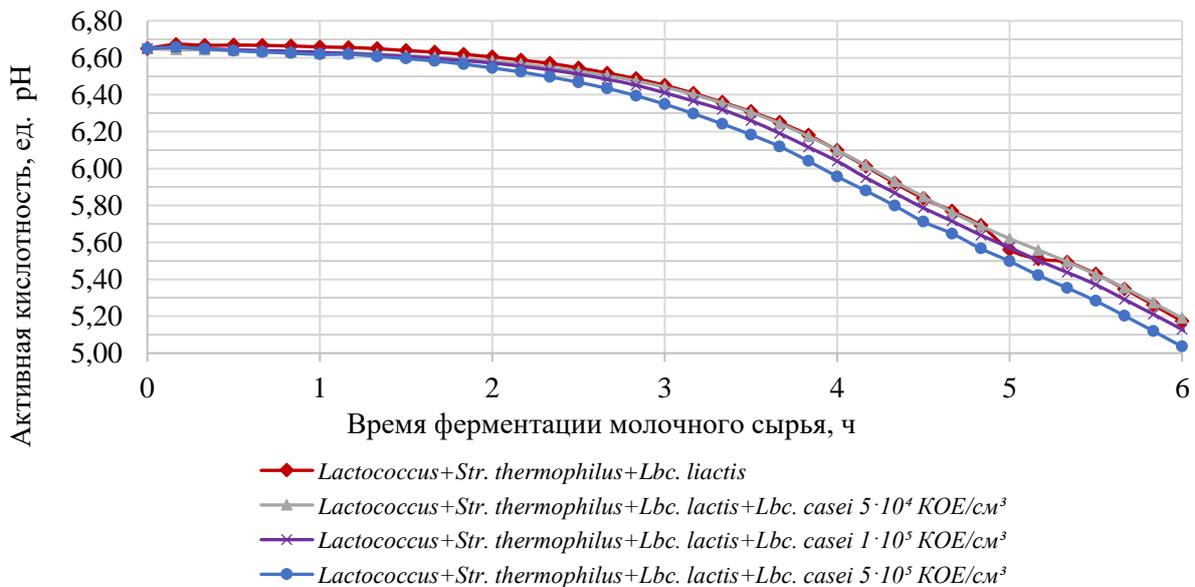


Рисунок 2 – Изменение активной кислотности молочного сыря в процессе ферментации при различных дозах инокуляции *Lactobacillus casei subsp. casei*  
 Источник данных: собственная разработка.

Через 6 часов ферментации активная кислотность молочного сыра для контрольного варианта составляла 5,13 ед. рН, как и при внесении *Lactobacillus casei* subsp. *casei* с дозой инокуляции  $5 \cdot 10^4$  КОЕ/см<sup>3</sup>. При внесении *Lactobacillus casei* subsp. *casei* с дозой инокуляции  $1 \cdot 10^5$  и  $5 \cdot 10^5$  КОЕ/см<sup>3</sup> активная кислотность молочного сыра составляла 5,09 и 5,05 ед. рН соответственно.

Поскольку *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* является термофильным микроорганизмом изучено его влияние на нарастание кислотности молочного сыра при комбинированном температурном режиме, наиболее приближенном к процессу производства сыров, когда после двух часов пребывания при температуре 32°C идет постепенное увеличение температуры в течение 30 мин до 40°C.

Изменение активной кислотности молочного сыра в процессе ферментации при различных дозах инокуляции *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* при комбинированном температурном режиме представлено на рисунке 3.

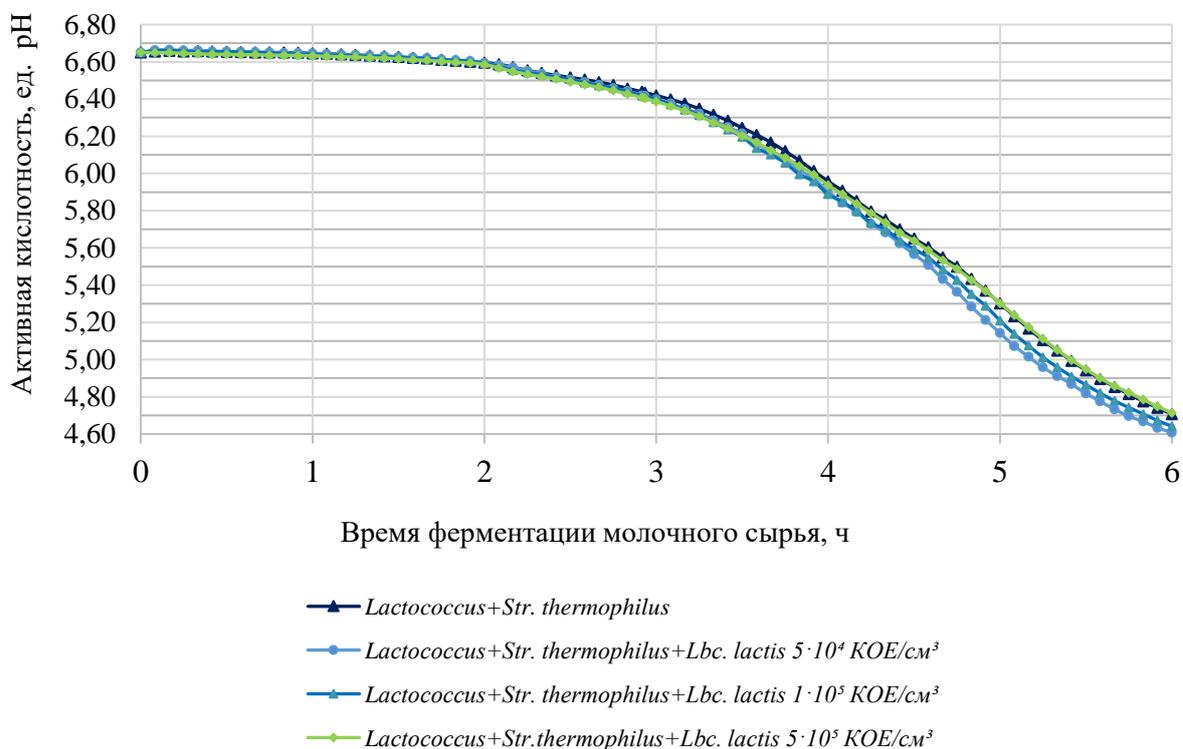


Рисунок 3 – Изменение активной кислотности молочного сыра в процессе ферментации при различных дозах инокуляции *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* при комбинированном температурном режиме

Источник данных: собственная разработка.

При ферментации молочного сыра при комбинированном температурном режиме консорциумом, состоящим из лактококков и термофильного стрептококка, активная кислотность через 6 часов ферментации составляла 4,71 ед. рН, как и при внесении *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* с дозой инокуляции  $5 \cdot 10^4$  КОЕ/см<sup>3</sup>. При внесении *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* с дозой инокуляции  $1 \cdot 10^5$  и  $5 \cdot 10^5$  КОЕ/см<sup>3</sup> активная кислотность молочного сыра составляла 4,64 и 4,63 ед. рН соответственно.

Изучено влияние различных доз внесения *Lactobacillus casei* subsp. *casei* в поливидовой бактериальной консорциум, содержащий *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* на изменение активной кислотности в процессе ферментации молочного сыра при комбинированном температурном режиме (рисунок 4).

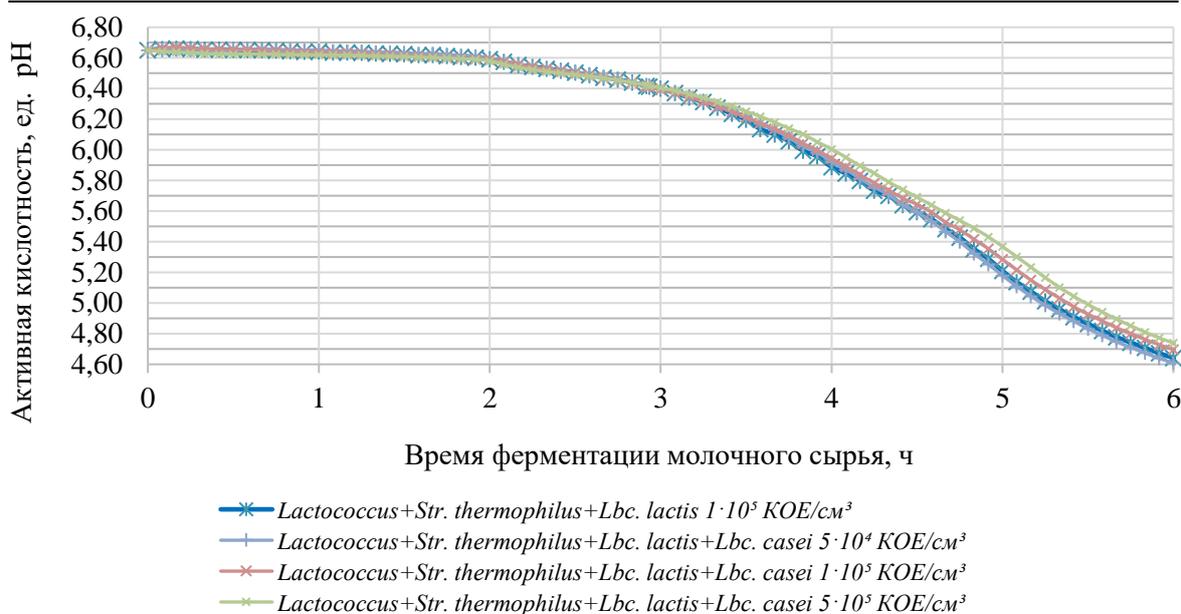


Рисунок 4 – Изменение активной кислотности молочного сыря в процессе ферментации при различных дозах инокуляции *Lactobacillus casei* subsp. *casei*  
 Источник данных: собственная разработка.

Через 6 часов ферментации активная кислотность молочного сыря для контрольного варианта составляла 4,61 ед. рН. При внесении *Lactobacillus casei* subsp. *casei* с дозой инокуляции  $1 \cdot 10^5$  и  $5 \cdot 10^5$  КОЕ/см<sup>3</sup> кислотность составляла 4,60 и 4,58 ед. рН соответственно, при дозе инокуляции  $5 \cdot 10^4$  КОЕ/см<sup>3</sup> – 4,66 ед. рН.

Изучен процесс снижения активной кислотности при ферментации молочного сыря бактериальным консорциумом для сыров, состоящим из *Lactococcus lactis* subsp., *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*, *Lactobacillus casei* subsp. *casei* в соотношении 60:5:1:0,5. Изменение кислотности при ферментации молочного сыря при различных технологически значимых при производстве сыров температурных режимах 30, 32, 34°С представлено на рисунке 5.

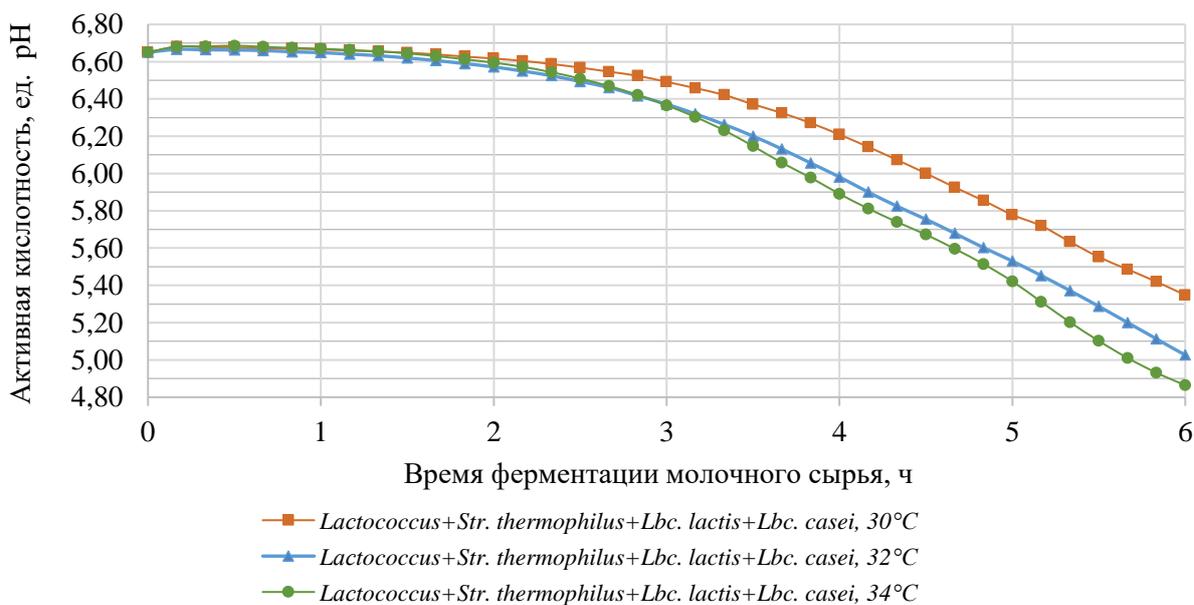


Рисунок 5 – Изменение активной кислотности молочного сыря в процессе ферментации закваской при различных температурных режимах  
 Источник данных: собственная разработка.

Установлено, что при температуре 30°C через 6 часов ферментации молочного сырья заквасочной активной кислотность составляла 5,35 ед. рН; при температуре 32°C – 5,03 ед. рН; при температуре 34°C – 4,86 ед. рН.

**Заключение.** В результате исследований установлено, что, при внесении в бактериальный консорциум, состоящий из лактококков и термофильного стрептококка, молочнокислых термофильных палочек *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* в дозах инокуляции  $1 \cdot 10^5$  и  $5 \cdot 10^5$  КОЕ/см<sup>3</sup>, кислотность молочного сырья снижалась на 0,05 и 0,07 ед. рН соответственно, при комбинированном температурном режиме – на 0,07 и 0,08 ед. рН соответственно. При добавлении *Lactobacillus casei* subsp. *casei* также наблюдали снижение кислотности молочного сырья: при дозе инокуляции  $1 \cdot 10^5$  и  $5 \cdot 10^5$  КОЕ/см<sup>3</sup> кислотность молочного сырья снижалась на 0,04 и 0,08 ед. рН соответственно, при комбинированном температурном режиме – на 0,01 и 0,03 ед. рН соответственно. Анализируя полученные данные можно сделать вывод, что введение термофильных лактобацилл *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* и мезофильных молочнокислых палочек *Lactobacillus casei* оказывает незначительное влияние на снижение кислотности молочного сырья при комбинированном температурном режиме и температурном режиме 32°C.

При ферментации бактериальным консорциумом, содержащим лактококки, термофильный стрептококк и исследованные лактобациллы, увеличение температуры ферментации на 2°C позволяет увеличить скорость кислотообразования за 6 часов на 0,32 ед. рН, а при увеличении на 4°C на 0,49 ед. рН.

#### Список использованных источников

1. Свириденко, Г. М. Анализ производственно значимых свойств мезофильных лактобацилл с целью их использования в составе бактериальных заквасок для сыроделия / Г. М. Свириденко, О. М. Шухалова, Д. С. Мамыкин // Молочная промышленность: научно-технич. и производств. журнал. – 2021. – № 6. – С. 52-54.
1. Sviridenko, G. M. Analiz proizvodstvenno znachimykh svojstv mezofil'nykh laktobacill s cel'yu ih ispol'zovaniya v sostave bakterial'nykh zakvasok dlya syrodeliya [Analysis of the production-significant properties of mesophilic lactobacilli for the purpose of their use in bacterial starter cultures for cheese making] / G. M. Sviridenko, O. M. SHuhalova, D. S. Mamykin // Molochnaya promyshlennost': nauchno-tekhnich. i proizvodstv. zhurnal. – 2021. – № 6. – S. 52-54.
2. Шухалова, О. М. Основные критерии подбора заквасочных микроорганизмов в состав бактериальных заквасок для созревающих сыров / О.М. Шухалова // Пищевые системы. – 2021. – Т. 4. – № 3. – С. 315-320.
2. SHuhalova, O. M. Osnovnye kriterii podbora zakvasochnykh mikroorganizmov v sostav bakterial'nykh zakvasok dlya sozrevayushchih syrov [Basic criteria for the selection of starter microorganisms in the composition of bacterial starters for ripening cheeses] / O.M. SHuhalova // Pishchevye sistemy. – 2021. – T. 4. – № 3. – S. 315-320. 3.
3. Biodiversity and Microbial Resistance of Lactobacilli Isolated From the Traditional Greek Cheese Kopanisti / G. Rozos [et al.] // Front Microbiol, 2018. – Т. 9: 517.
4. Comparison of Activity of Commercial Protective Cultures and Thermophilic Lactic Acid Bacteria against *Listeria monocytogenes*: A New Perspective to Improve the Safety of Sardinian PDO Cheeses / M.P Meloni, [et al.] // Foods, 2023. – № 12: 1182.
5. Autochthonous Natural Starter Cultures: A Chance to Preserve Biodiversity and Quality of Pecorino Romano PDO Cheese / L. Chessa [et al.] // Sustainability. – 2021. – № 15: 8214.
6. Invited review: Review of taxonomic changes in dairy-related Lactobacilli / T.S. Oberg [et al.] // Dairy Sci, 2022. – № 105. – P. 2750-2770.