

Получение заквасок молочной промышленности

Основными микроорганизмами, используемыми при производстве молочных продуктов, являются молочнокислые бактерии. Это специфическая группа микроорганизмов, обуславливающих молочнокислое брожение, т.е. распад углеводов до молочной кислоты, так же образуются побочные продукты: уксусная кислота, углекислый газ, ароматические вещества, этиловый спирт.

Субстратом для приготовления молочных продуктов является молоко. Для процессов ферментации молока используются чистые культуры микроорганизмов, называемые *заквасками*. Исключение составляют закваски для кефира, которые представляют естественный симбиоз нескольких видов молочнокислых грибов и молочнокислых бактерий.

Закваска – основная и наиболее важная часть первичной микрофлоры кисломолочных продуктов. С внесением её молоко обогащается микроорганизмами в 10 – 100 раз, биохимическая активность которых в совокупности с технологическими манипуляциями позволяет получить готовый продукт с различными органолептическими свойствами. От качественного состава заквасок в значительной мере зависит весь ход процесса выработки кисломолочных продуктов.

Характеристика микроорганизмов, входящих в состав заквасок. К основным группам микроорганизмов, используемым при производстве молочных продуктов, относят молочнокислые, пропионовокислые бактерии, бифидобактерии, уксуснокислые бактерии и дрожжи. В созревании сыров со слизевой поверхностью участвует незаквасочный пигментообразующий микроорганизм слизи *Brevibacterium lines*.

Молчнокислые бактерии по характеру вызываемого ими брожения делят на 2 группы: гомо- и гетероферментативные.

Гомоферментативные – образуют из сбраживаемых сахаров молочную кислоту и незначительное количество других продуктов.

Гетероферментативные – кроме молочной кислоты образуют значительное количество уксусной кислоты, этилового спирта, глицерина, углекислого газа, ароматических и других веществ.

К возбудителям гомоферментативного молочнокислого брожения относятся следующие молочнокислые бактерии: *Lactococcus lactis*, *Lactococcus cremoris*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus lactis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*.

Возбудителями гетероферментативного молочнокислого брожения являются: *Lactococcus diacetylactis*, *Lactococcus acetoinicus*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus fermentum*, все виды рода *Leuconostoc*.

Lactococcus lactis Оптимальная температура развития 25 – 30 °С, максимальная 40 °С, минимальная 10 °С и ниже. При оптимальной температуре активные штаммы свертывают молоко за 10–12 ч, образуя плотный ровный сгусток. Через 18 ч кислотность сгустка достигает 80 – 90 °Т, а через 5 – 7 дней – 100–125 °Т. *Lac. lactis* – основной компонент состав

микрофлоры кефирного грибка, заквасок для творога, сметаны, простокваши. Благодаря относительно низкому конечному пределу кислотообразования можно получить продукт со сравнительно невысокой кислотностью.

Lac. Cremoris (сливочные лактококки). Морфология и форма колоний такая же, как и у *Lac. lactis*. Оптимальная температура развития 25 – 30 °С. максимальная 36 °С, предельная кислотность молока 110 – 115 °С. При пониженных температурах культивирования (15 – 20 °С) некоторые штаммы *Lac. cremoris* образуют значительное количество летучих кислот. Развиваясь в молоке, *Lac. cremoris* образует сгусток, напоминающий по консистенции сметану. Это свойство *Lac. cremoris* можно использовать при подборе заквасок для продуктов, характеризующихся густой консистенцией (сметана).

Lac. diacetylactis (ароматобразующие лактококки). Клетки расположены чаще всего в виде диплококков и коротких цепочек. На питательных средах образуют колонии: поверхностные, крупные, каплевидные, глубинные – чечевицеобразные. Оптимальная температура развития в молоке 25 – 30 °С. *Lac. diacetylactis* растет при 39 – 40 °С, при температуре 45 °С рост отсутствует. Предельная кислотность 90 – 100 °Т. Сгусток молока плотный, часто с наличием пузырьков газа. Вкус чистый, кисловатый, слегка щиплющий, иногда сладковатый. Аромат специфический, обусловленный накоплением диацетила. Штаммы *Lac. diacetylactis* сбраживают лактозу, соли лимонной кислоты с образованием CO₂, а также и диацетила и ацетона. До сих пор нет единого мнения о том, относятся ли *Lac. diacetylactis* к группе гетероферментативных или гомоферментативных стрептококков. По способности образовывать значительное количество молочной кислоты они приближаются к *Lac. lactis*, а по способности образовывать побочные продукты брожения – к гетероферментативным стрептококкам.

Род *Leuconostoc* объединяет 9 видов. В молочной промышленности имеет значение вид *Leu. mesenteroides*: он включает два три подвида: *Leuc. dextranicum*, *Leuc. cremoris*, *Leu. mesenteroides*. Лейконостоки имеют сферические, несколько вытянутые клетки. Располагаются парами или цепочками. По Граму красятся положительно, неподвижные, спор не образуют. *Leu. cremoris* имеет клетки, которые обычно выстраиваются в длинные двойные цепочки. Лейконостоки на плотных средах образуют мелкие (до 1 мм в диаметре) гладкие круглые серовато-белые колонии; на средах, содержащих сахарозу, образуют мелкие слизистые колонии. Лейконостоки являются факультативными анаэробами. Растут на специальных питательных средах. Оптимальная температура роста 20 – 30 °С, а минимальная составляет 5 °С. Молоко является бедной питательной средой для развития лейконостоков. Большинство штаммов растет в молоке при добавлении ростовых факторов, экстракта дрожжей и глюкозы. Применение *Leu. cremoris* наиболее целесообразно там, где необходимо получить мягкий долговременный аромат, например, в производстве стойкого к хранению масла. *Leu. dextranicum* вместе с другим ароматобразующими стрептококками чаще вводят в состав заквасок для сыров. Входит в состав

микрофлоры естественной кефирной закваски. Играет большую роль в образовании вкуса и аромата кефира. В случае излишнего их развития наблюдается вспучивание.

Str. thermophilus (термофильные молочнокислые стрептококки) включает один вид молочнокислых кокков – *Streptococcus thermophilus*. Форма клеток в молоке – кокки, часто соединенные в длинные цепочки. На агаре с гидролизованным молоком термофильные молочнокислые стрептококки развиваются медленнее, чем мезофильные (через 48 ч), и дают более мелкие колонии – темные, зернистые, иногда локонообразные. Оптимальная температура развития 40 – 45° С; свертывает молоко при 50° С. При оптимальной температуре активные штаммы свертывают молоко за 12 – 14 ч. Предел кислотообразования отдельных штаммов *Str. thermophilus* – 100 – 115 °Т. Термофильные стрептококки применяют при производстве южной и мечниковской простокваши, йогурта, ряженки, варенца. Многие культуры отличаются способностью образовывать вязкие, иногда тягучие сгустки, но встречаются штаммы, образующие колющиеся сгустки. Из-за сравнительно низкой энергии кислотообразования *Str. thermophilus* редко используют в чистой культуре, чаще их применяют в комбинации с молочнокислыми палочками – болгарской и ацидофильной или мезофильными молочнокислыми стрептококками.

Lactobacillus bulgaricus (болгарская палочка) выделена Григоровым из болгарского кислого молока в 1905 г. Форма клеток в молоке – длинные и короткие палочки от 5 до 20 мкм, толщиной 1 – 1,5 мкм. По Граму окрашиваются положительно, спор не образуют. На плотных питательных средах образуют колонии: поверхностные – более или менее крупные (диаметром 1,5 – 3 мм), локонообразные, светлые; глубинные – в виде кусочков ваты («паучки»). Оптимальная температура развития 40 – 45 °С, максимальная 60 – 62 °С, минимальная 20 °С. Свертывают молоко при 40 – 45 °С за 8 – 12 ч. Максимальная кислотность достигает через 7 суток 200 – 350 °Т. В молоке образуют преимущественно D (—) или DL молочную кислоту, иногда в небольшом количестве летучие кислоты. Некоторые штаммы болгарской палочки образуют также ацетальдегид, который придает продуктам специфический вкус и аромат и антибиотические вещества, подавляющие нежелательную микрофлору Болгарскую палочку в сочетании с термофильным стрептококком применяют в качестве энергичного кислотообразователя для улучшения вкуса и аромата при производстве южной и мечниковской простокваши, а также йогурта и ряженки.

Lactobacillus acidophilus (ацидофильная палочка) – термофильные бактерии. Температурный оптимум роста 37 – 40 °С, минимум около 20 °С. При сквашивании в молоке накапливается 2,2 % кислоты. В молоке образуют молочную кислоту. Основным отличительным свойством ацидофильных бактерий является их антибиотическая активность. Ацидофильные бактерии способны подавлять развитие ряда микроорганизмов, в том числе бактерий группы кишечной палочки, дизентерийной, паратифозной и других. Культуры и ацидофильной палочки наряду с молочной кислотой образуют

специфические вещества, оказывающие антибиотическое действие на кишечную палочку. Эти вещества термостабильны: не разрушаются даже при кипячении и проходят через бактериальные (мембранные) фильтры. Антибиотические вещества, выделяемые ацидофильной палочкой, угнетающе действуют на ряд патогенных представителей бактерий группы кишечной палочки и дизентерийных палочек, гнилостных бактерий и ряд других микроорганизмов. Штаммы ацидофильных бактерий применяют для приготовления ацидофильных кисломолочных продуктов, кумыса из коровьего молока.

Другие микроорганизмы, входящие в состав кисломолочных продуктов.

К представителям технически полезной микрофлоры кроме молочнокислых бактерий можно отнести бифидобактерии, осуществляющие полезные для организма функции (синтезируют витамины группы В, некоторые незаменимые аминокислоты, обладают антагонистической активностью против патогенных микроорганизмов); дрожжи и уксуснокислые бактерии, входящие в состав естественной симбиотической закваски для кефира; а также специфические сырные микроорганизмы - бактерии, вырабатывающие красную слизь, пропионовокислые бактерии и плесневые грибы.

Bifidobacterium. В настоящее время идентифицировано 24 вида бифидобактерий. Представляют собой чрезвычайно вариабельные по форме палочки – прямые, изогнутые, разветвленные, раздвоенные Y– или V–формы, булабовидные. Располагаются одиночно, парами, иногда цепочками. Размер клеток 0,5 – 1,3 x 1,5 – 8 мкм. Грамположительные, не образуют спор капсул, неподвижные. На плотных питательных средах бифидобактерии образуют разнообразные колонии: плоские, полушаровидные, блестящие, шероховатые, окруженные валиком, имеющие более темный центр и т.д. Цвет колоний изменяется от белого и серого до темно-коричневого.

Все виды бифидобактерий при первичном выделении являются строгими анаэробами. В присутствии углекислого газа они могут быть толерантными к кислороду. При лабораторном культивировании эти микроорганизмы приобретают способность развиваться в присутствии некоторого количества кислорода, а в высокопитательных средах – расти в полностью аэробных условиях. Чувствительность к кислороду у многих штаммов бифидобактерий варьирует, что обусловлено различиями в механизме брожения. Оптимальной является температура 37 – 41 °С. Бифидобактерии применяют при изготовлении кисломолочных продуктов для детей раннего возраста и пробиотиков для людей и животных, так как способствуют нормализации микрофлоры кишечника. Они сообщают продукту диетические и лечебные свойства, так как синтезируют витамины группы В (В₁, В₂, В₆, В₁₂, фолиевую кислоту), витамин К, также незаменимые аминокислоты, при этом в качестве азота используют аммиак. Эти микроорганизмы разрушают канцерогенные вещества, образуемые некоторыми представителями кишечной микрофлоры при азотном обмене, выполняя, таким образом, роль «второй печени». Бифидофлора играет важную

роль в жизнедеятельности человека, поддерживая его здоровье на оптимальном, уровне, это облигатная и доминирующая часть кишечной микрофлоры здорового человека и теплокровных животных. Она проявляет антагонистическую активность по отношению к патогенным, условно-патогенным и нежелательным микроорганизмам в кишечнике.

Acetobacter (уксуснокислые бактерии) – микроорганизмы, окисляющие этиловый спирт в уксусную кислоту, называют уксуснокислыми бактериями или ацетобактериями. Типовым видом является *Acetobacter aceti*. Ацетобактерии представляют собой мелкие прямые или слегка изогнутые палочки. Встречаются эллипсоидные, удлинённые, нитевидные, разветвлённые или имеющие вздутия формы. По Граму окрашиваются отрицательно. Спор и капсул не образуют. Уксуснокислые бактерии являются облигатными аэробами. Оптимальная температура роста 25 – 30 °С, хорошо растут при 20 °С и слабо при 37 – 38 °С. В молоке в чистой культуре ацетобактерии практически не развиваются, так как лактозу не усваивают. Совместно с молочнокислыми бактериями, образующими молочную кислоту и лактаты, развиваются очень активно, при этом некоторые штаммы могут синтезировать флавины, в результате чего на поверхности, свернувшегося молока появляется оранжевое кольцо. Некоторые штаммы ацетобактерии способны синтезировать витамин В₁₂.

Уксуснокислые бактерии входят в состав постоянной микрофлоры кефирной грибковой закваски (кефирного грибка), участвуют в формировании специфического вкуса и консистенции кефира. При излишнем развитии вызывают порок – ослизнение и тягучесть кефирной закваски.

Brevibacterium linens – бактерии, вырабатывающие красный пигмент участвующие в образовании слизи на сырах со слизистой поверхностью наряду с пигментообразующими микрококками и дрожжами. Род *Brevibacterium* объединяет четыре вида бактерий, он выделен в группу коринебактерий, которая охватывает различные протеолитически активные микроорганизмы. Бrevибактерии представляют собой грамположительные палочки неправильной формы, располагаются одиночно или в парах, часто V-образно, т.е. под углом друг к другу. Встречаются разветвлённые клетки. Спор не образуют, неподвижные. При инкубации на свету бrevибактерии образуют слизистые округлые, различного цвета колонии – желтые, кремовые, оранжевые, красные, красно-коричневые, желто-коричневые, белые и серые, Пигментация колоний зависит от состава питательных сред и условий культивирования. По отношению к кислороду бrevибактерии являются облигатными аэробами. Оптимальная температура развития 20 – 35 °С. На мягком сыре с плесенью (камамбер и др.) бrevибактерии развиваются на более поздних стадиях созревания, после того как произойдет раскисление поверхности сыра, вызванное плесенью рода *Penicillium*. При этом сначала слизиобразующие бактерии развиваются в виде красновато-желтой кромки, а затем на всей поверхности сыра. Они продуцируют протеолитические и

липолитические ферменты, диффундирующие в сыр и вызывающие в результате расщепления белка и жиров характерный слегка пикантный запах.

Бактерии, вырабатывающие красную слизь, обычно не культивируют на молочных предприятиях, а применяют непосредственно при изготовлении кисломолочного сыра, камамбера и других сыров со слизью. При этом считается, что добавить культуру в молоко при производстве сыра неэкономично; более целесообразно опрыскивать сыр или обтирать (сыр с плесенью) разбавленной культурой.

Propionibacterium (пропионовокислые бактерии) являются возбудителями пропионовокислого брожения, при котором углеводы ферментируются с образованием главных продуктов брожения – пропионовой кислоты и её солей – пропионатов. Бактерии пропионовокислого брожения представляют собой неподвижные, не образующие спор и капсул грамположительные полиморфные палочки. Клетки могут быть кокковидными, удлинёнными, раздвоенными или разветвлёнными, встречаются булабовидные формы. Располагаются одиночно, парами, короткими цепочками, в виде букв Y или V. Пропионовокислые бактерии являются факультативными анаэробами и хемоорганотрофами. Продукты ферментации включают большие количества пропионовой и уксусной кислот, и меньшие количества муравьиной, янтарной, молочной кислот и диоксида углерода. В молоке пропионовокислые бактерии развиваются медленно свёртывают его через 5 – 7 дней. Пропионовокислые бактерии используют в составе заквасок при производстве твёрдых сыров с длительным сроком хранения. После окончания молочнокислого брожения лактозы в созревающем сыре наступает стадия пропионовокислого брожения, сопровождающаяся сбраживанием молочной кислоты в уксусную и пропионовую кислоты. Эти кислоты придают сырам острый вкус, а образующийся диоксид углерода формирует рисунок сыра (глазки). Пропионовокислые бактерии способны синтезировать витамин В₁₂ и обогащать им молочные продукты.

Saccharomyces (дрожжи) – являются основными возбудителями спиртового брожения. К этому роду относятся и молочные дрожжи *S. lactis*, *S. casei*, которые могут развиваться в сырах и кисломолочных продуктах.

В молоке и молочных продуктах выявляются и другие как спорообразующие, так и неспорообразующие дрожжи. Дрожжи являются факультативными анаэробами, но лучше развиваются при наличии в среде кислорода. Оптимальная температура развития 25 – 30 °С, минимальная 5 – 12 °С. Большинство дрожжей предпочитают для своего развития кислую реакцию среды, поэтому они широко распространены в кисломолочных продуктах и могут быть обнаружены почти в любом образце продукта, приготовленного на естественных заквасках. Большинство видов дрожжей, развивающихся на молочных продуктах, обладают липолитической способностью. В связи с этим размножение дрожжей в жирсодержащих продуктах при холодильном хранении вызывает их порчу: прогоркание,

осаливание, появление неприятного запаха. Роль дрожжей в производстве кисломолочных продуктов исключительно велика. Дрожжи формируют специфические вкус и запах, витаминизируют продукты, стимулируют размножение молочнокислых бактерий, подавляют вредную микрофлору. Дрожжи используют также при повышении стойкости масла. Они способны вырабатывать антибиотические вещества, подавляющие развитие возбудителя туберкулеза, бактерий группы кишечных палочек и других нежелательных микроорганизмов.

Penicillium (плесневые грибы) относится к порядку гифомицетов (*Hyphomycetales*) из класса несовершенных грибов (*Deuteromycota*). Естественное местообитание этих грибов – почва, они часто обнаруживаются на самых разных субстратах, главным образом растительного происхождения. Большое значение имеют пенициллы вида *P. roqueforti*, которые используются при изготовлении сыров, характеризующихся «мраморностью»: «Рокфор», «Горгонцولا» «Стилон» и др. Всем этим сырам свойственны рыхлая структура, специфический «плесневелый» вид (прожилки и пятна голубовато-зеленого цвета) и характерный аромат. *P. roqueforti* является микроаэрофильным микроорганизмом. При приготовлении мягких французских сыров «Камамбер», «Бри» и некоторых других используются *P. camamberti* и *P. caseicolum*, которые образуют на поверхности сыра характерный белый «войлочный» налет. под воздействием ферментов этих грибов сыр приобретает сочность, маслянистость, специфические вкус и аромат.

Производственно-ценные свойства микроорганизмов заквасок

Гликолиз или расщепление глюкозы до молочной кислоты, является основной функцией организмов закваски при изготовлении ферментированных молочных продуктов.

В результате воздействия гомоферментативных лактококков устанавливается равновесие между молочной кислотой L (+) и D (–), с преобладанием молочной кислоты L(+), при гетероферментным гликолизе (*Leuconostoc*) образуется в первую очередь молочная кислота D (–). L(+)-молочная кислота является обычным продуктом обмена веществ в организме животных и человека, D (–)-молочная кислота появляется только при обмене веществ микроорганизмов. Поэтому D (–)-молочная кислота чужеродна для человека и животных. Следовательно, ее польза для человека ограничена меньшей способностью к расщеплению.

Большое значение имеет количественная сторона гликолиза, выраженная активностью процесса сквашивания и общей массой образовавшейся молочной кислоты. Активность сквашивания характеризуется тем, как быстро закваска преодолевает лаг-фазу в отношении кислотообразования и размножения клеток и как круто поднимается логарифмическая часть кривой роста.

Важным фактором стимулирования гликолиза является поддержание микроаэрофильных условий культивирования. Интенсивная аэрация культуры препятствует гликолизу.

Практическое значение имеет сохранение сквашивающей активности заквасок в течение возможно длительного времени. Охлаждением созревшей закваски до 5 °С можно добиться сохранения полной активности до 48 ч без снижения качества. Удлинение сохраняемости до 5 – 6 мес. возможно, если закваску после инокуляции замораживать при –35 °С с добавлением глицерола или лактозы в качестве предохранительного средства. Другими способами удлинения сохраняемости материнских заквасок являются лиофилизация и глубокое замораживание.

Протеолиз. Расщепление белка, преимущественно казеина, ведет к образованию свободных аминокислот; процесс может остановиться на стадии полипептидов. Молочнокислые стрептококки способствуют обогащению молока свободными аминокислотами лишь до 0,03 %.

Значение протеолитической активности организмов закваски состоит в удовлетворении потребности бактерий в важных соединениях азота и серы (и тем самым стимулирование роста и гликолиза); метабиотическом снабжении других микроорганизмов полезными продуктами расщепления белка; образовании типичных ароматических веществ, а также нежелательных вкусовых компонентов (например, в сыре и масле).

Слишком слабая протеолитическая активность организмов может привести к ограничению роста и гликолиза. Протеолитически активные штаммы в состоянии стимулировать рост штаммов с пониженной протеолитической активностью.

Использование протеолитически активных штаммов, приводит к ускорению созревания, однако часто является причиной снижения качества сыра (пороки консистенции и нежелательный вкус). При этом особенно заметен привкус горечи, который вызывают так называемые «горькие пептиды». Обеспечение безупречного созревания достигается за счет комбинации штаммов.

Газообразование (образование диоксида углерода). Основная часть диоксида углерода вырабатывается из лимонной кислоты с помощью бактерий рода *Leuconostoc* и *Lc. diacetylactis*. Добавление в молоко лимонной кислоты способствует образованию CO₂. Кроме того, бактерии рода *Leuconostoc* в состоянии образовывать диоксид углерода вместе с молочной кислотой, уксусной кислотой и этанолом посредством гетероферментативного расщепления молочного сахара. В зависимости от области применения заквасок образование диоксида углерода может быть необходимым или нежелательным.

Для получения глазков во многих видах сыра образование CO₂ необходимо. С другой стороны, оно не должно быть настолько сильным, чтобы приводить к порокам сырного сгустка. В кисломолочных напитках присутствие диоксида углерода в известной степени улучшает вкус (легкий пикантный привкус). Нежелательно наличие диоксида углерода во всех ферментированных молочных продуктах, упакованных в газонепроницаемую упаковку.

Ароматообразование. Благодаря обогащению веществами с интенсивным запахом и вкусом организмы закваски способствуют ароматизации продуктов, которые производят с их помощью. Однако, одно и то же соединение, вызывающее приятный аромат в одном молочном продукте, может вызвать порок аромата в другом.

Ароматообразующие соединения образуются в качестве основных или побочных продуктов при гликолизе, протеолизе, липолизе или других процессах обмена веществ. *Молочная кислота* вызывает кисловатый привкус у многих ферментированных молочных продуктов, который в отсутствие диацетила или других ароматических веществ часто воспринимается как пустой или терпкокислый. При гетероферментативном гликолизе кроме молочной кислоты образуются также диоксид углерода, уксусная кислота, этанол, пропионовая кислота, диацетил, ацетальдегид и другие соединения.

Особенно много ароматизирующих продуктов распада образуется при протеолизе, среди них пептиды (включая горькие пептиды), аминокислоты, а также серосодержащие соединения (меркаптан, диметилдисульфит). Липолиз высвобождает жирные кислоты (например, масляную, капроновую, каприловую, каприновую, миристиновую, олеиновую кислоты) и их продукты распада, что может привести к порокам вкуса.

Диацетил, ацетоин и 2,3-бутиленгликоль. Диацетил имеет особое значение как вещество, ароматизирующее масло. Он также желателен как ароматизирующий компонент в сливках и различных сортах свежего сыра. Ацетоин и 2,3-бутиленгликоль не обладают ароматизирующими свойствами, но тесно связаны с диацетилом и поэтому могут быть образованы в результате его ступенчатого восстановления.

Исходным соединением для диацетила и ацетоина является пировиноградная кислота. Расщепление лимонной кислоты также происходит через пировиноградную кислоту. Образование диацетила можно интенсифицировать добавлением кофермента А.

Бактерии рода *Leuconostoc* наиболее подходящие организмы для образования диацетила. Их используют в сочетании с *Lc. diacetylactis*.

Ацетальдегид является важным ароматическим компонентом в йогурте. Большинство штаммов *Lc. lactis*, *Lc. cremoris* и *Lc. diacetylactis* в состоянии образовывать ацетальдегид в различных количествах. Существует равновесие между этанолом и ацетальдегидом: высокие концентрации этанола обуславливают появление небольшого количества ацетальдегида, и наоборот.

Пороки аромата

Недостаточный аромат. Недостаточный аромат масла из-за слабого образования диацетила.

Горький привкус. Горький привкус может появиться почти во всех ферментированных продуктах, в самих заквасках, сметане и особенно в сыре. Потребитель всегда воспринимает горький вкус молочных продуктов как порок. Горький привкус возникает в связи с протеолитическими процессами, при которых образуются горькие пептиды.

Многие штаммы организмов закваски *Lc. lactis* и *Lc. cremoris* образуют горькие полипептиды, характеризующиеся относительной молекулярной массой 2000 – 3000. По их способности образовывать «горькие» соединения различают «горькие» и «негорькие» штаммы.

Способность образовывать в молоке, смешанном с мелом, больше полипептидов с относительной молекулярной массой 2000 – 3000 может служить критерием для исключения горьких штаммов при селекции организмов закваски.

Солодовый привкус иногда проявляется в масле, пахте, сметане или в заквасках. Этот порок вызывается штаммом *Lc. lactis*, var. *maltigenes*, который распространен в виде дикого штамма и попадает в культуры или продукты в результате загрязнения. Солодовый привкус возникает при переходе лейцина и некоторых других аминокислот в изовалериановый альдегид и подобные альдегиды, которые уже в небольших концентрациях дают солодовый привкус. В результате селекции организмов закваски штаммы, вызывающие образование солодового аромата, можно исключить.

Фруктовый привкус может возникнуть не только в результате загрязнения дрожжами, образующими фруктовые эфиры, но и организмами закваски, которые образуют в большом количестве этанол из ацетальдегида. С помощью свободных аминокислот этанол превращается в эфиры с фруктовым ароматом (например, этилбутират, этилгексаноат и др.).

Броженный привкус проявляется в чеддере, часто в сочетании с фруктовым привкусом. Его обычно вызывают закваски, содержащие преимущественно *Lc. lactis* и *Lc. diacetylactis* и образующие в больших количествах карбонильные соединения.

Привкус йогурта. Привкус йогурта появляется в заквасках, пахте, сметане, а также в свежем сыре при избытке ацетальдегида по отношению к диацетилу, при преобладании *Lc. diacetylactis* в качестве ароматообразующего микроорганизма.

Факторы влияющие на рост микроорганизмов закваски.

Химические факторы. *Питательные вещества среды.* Микроорганизмы закваски предъявляют высокие требования к снабжению их питательными и биологически активными веществами. Кроме углеводов им необходимы низкомолекулярные азотистые соединения (пептиды, многие аминокислоты, пурины и витамины группы В). Из минеральных веществ важны К, Mg (Ca), Fe, Mn, V, Mo и Se.

На молокоперерабатывающих предприятиях чаще всего в качестве питательной среды для выращивания культур применяют молоко. В качестве среды для культивирования подходит молоко от поголовья коров, не больных туберкулезом или бруцеллезом, не содержащее ингибиторов какого-либо рода, имеющие рН 6,5 – 6,75 (соответствующую кислотности 15,5 – 17,5 °Т) и содержащее не менее 3 % белков. Предпочтительней использование нежирного молока поскольку в нем легче выявить органолептические пороки культур. Такое молоко подвергают нагреванию с целью уничтожения нежелательной микрофлоры и бактериофагов, разрушения неустойчивых к

теплу ингибиторов, понижения окислительно-восстановительного потенциала молока (удаление кислорода, образование сульфидов и СН-групп), гидролиза молочного белка.

Ингибирующие вещества молока. Собственно молочные ингибиторы. К собственно молочным ингибиторам относятся агглютинины (иммуноглобулины). Агглютинины появляются в большом количестве в молоке в конце лактационного периода, в молоке от коров, больных маститом, с большим содержанием соматических клеток, а также в молозиве. Неспецифические агглютинины могут вызвать у чувствительных штаммов закваски склеивание (агглютинацию) и оседание клеток. Торможение, вызванное ингибиторами, может быть устранено нагреванием молока, используемого для приготовления культур.

Посторонние вещества, ухудшающие сквашивающую способность молока торможением организмов закваски (гетерогенная группа веществ), являются активно или пассивно воспринимаемыми животными биологически активными веществами (лекарства, пестициды, составные части корма, инсектициды, гербициды), которые из крови попадают в молоко, или химикаты, которые попадают в молоко после дойки (остатки моющих и дезинфицирующих средств, а также консерванты).

Наибольшее значение имеют *антибиотики*, применяемые при лечении мастита. Все организмы закваски чувствительны к применяемым против мастита антибиотикам. Наиболее часто применяют пенициллин, стрептомицин, хлортетрациклин, окситетрациклин и хлорамфеникол. Подавление организмов закваски в результате воздействия веществ типа антибиотиков, вырабатываемых посторонней микрофлорой сырого молока, например микрококками, псевдомонадами, бациллами, в высокой степени вероятно.

Чтобы предотвратить пороки сквашивания необходим выжидательный срок, в течение которого молоко не должно поставляться для переработки. Кроме того, большинство антибиотиков термостабильно и не поддается инактивации при нагревании молока.

Инсектициды, пестициды и гербициды оцениваются как довольно безобидные для микроорганизмов закваски. *Моющие и дезинфицирующие средства*, приводящие при определенных концентрациях к ингибирующему действию, при правильном использовании попадают в молоко лишь в незначительных количествах. Появление пороков сквашивания из-за наличия слишком больших их остатков можно отнести либо на счет небрежного использования, либо умышленного добавления для стимуляции более высокого качества молока.

Физические факторы. Спектр температур. Решающее влияние на интенсивность роста имеет температура. Чем ближе температура выращивания к оптимальной температуре для данных видов или штаммов, тем короче время образования популяции и тем быстрее протекают все фазы кривой роста. Выращивание при оптимальной температуре также ведет не только к очень быстрому размножению, но и к укорочению жизни культур.

Температуры выше оптимальной приводят к замедлению роста и нередко к явлениям дегенерации штаммов и пониженной эффективности. Температуры ниже оптимальной, но выше минимальной приводят к замедлению роста, но, с другой стороны, отмечается более высокое конечное количество микробов, поскольку токсичные продукты обмена будут накапливаться медленнее. На практике замедление роста часто оказывается целесообразным. Температура является существенным фактором для поддержания равновесия штаммов в многоштаммовых заквасках одного вида.

Диапазон кислотности. Образование молочной кислоты организмами закваски ведет к быстрому понижению pH до 4,5 – 4,0. Поскольку оптимальное значение pH для организмов 6,0 – 6,6 (исключая *Leuconostoc*), а при pH ниже 5,0 деление клеток сильно тормозится, значение pH является важным фактором ограничения роста. В молочных заквасках без буферного воздействия количество клеток в 1 см³ едва превышает 10⁹. За счет добавления глицеринфосфата или обогащения белком, а также добавления нейтрализующих средств – растворы гидроксида калия и натрия, гидроксида аммония и карбоната натрия в различных комбинациях можно увеличить количество бактерий.

На рост организмов сквашивания влияет содержание лактозы, находящееся в тесной связи с pH. Снижение содержания лактозы до 1 – 0,5 % может привести к лучшему росту, чем при нормальном содержании лактозы.

Кислород. Все организмы заквасок микроаэрофильны: повышенное содержание кислорода приводит к торможению. Присутствие диоксида углерода стимулирующее действует на рост бактерий и процесс сквашивания.

Биологические факторы. Равновесие между штаммами. Для роста многоштаммовых заквасок большое значение имеют особенности обмена у разных микроорганизмов. При комбинировании штаммов следует обращать внимание на то, чтобы в отношении определенных критериев не возникал антагонизм. Особенно это относится к оптимальной температуре, времени популяции, гликолитической активности и устойчивости к кислотности. При выращивании многоштаммовых заквасок возникают проблемы из-за конкурирующего

роста *Lc. diacetylactis* и *Lc. cremoris* или *Lc. diacetylactis* и *Leuconostoc*.

Используя более низкие температуры выращивания и большие массы инокулята, удастся, например, ограничить рост *Lc. diacetylactis* и способствовать размножению видов *Leuconostoc*.

Бактериофаги. Благоприятные условия для размножения фагов находятся в диапазоне температур от 8 до 46 °C. При этих температурах они размножаются (количество их возрастает в 40 – 200 раз) в течение 1 ч, в то время как количество бактерий за это время увеличивается максимум в 4 раза. Особую опасность бактериофаги представляют для одноштаммовых заквасок. В течение нескольких часов почти вся популяция закваски может быть лизирована, образования молочной кислоты почти не происходит, и закваска оказывается непригодной. Бактериофаги распространены повсеместно. Поэтому первичное загрязнение молока происходит обычно на ферме.

Другими источниками загрязнения являются воздух, зараженная фагами вода, а также недостаточно вымытые и продезинфицированные емкости.

Получение чистых культур молочнокислых бактерий и составление заквасочных наборов для производства кисломолочных продуктов

Чистые культуры молочнокислых бактерий получают в специально оборудованных лабораториях при научно-исследовательских институтах.

Основными этапами получения чистых культур молочнокислых бактерий являются:

Селекция из естественных мест обитания. Особое значение имеет селекция (отбор) местных штаммов молочнокислых бактерий, т.е. штаммов, соответствующих географическому диапазону применения. Такие штаммы лучше адаптируются к молоку, используемому в данной местности.

Обогащение (получение накопительной культуры). Образцы, полученные из различных источников, обогащают молочнокислыми бактериями путем 2–3 кратного пассерования (пересева) в стерильном обезжиренном молоке.

Выделение чистых культур. Накопительную культуру молочнокислых бактерий пересевают из соответствующего разведения на плотные питательные среды (например, на агар с гидролизованным молоком) в чашки Петри и проводят культивирование при определенной температуре. Разведение для посева выбирают с таким расчетом, чтобы в чашке выросло не более 20 – 30 изолированных колоний. –35 °С

Дифференциация и идентификация. Выделенные штаммы молочнокислых бактерий характеризуют по микроскопической картине, активности свертывания (продолжительности свертывания молока) и органолептическим показателям. Полученные штаммы исследуют также на резистентность (устойчивость к антибиотикам), проверяют на чувствительность к бактериофагу. Непригодные штаммы выбраковывают.

Проверка на постоянство признаков. Штаммы молочнокислых бактерий, выделенных из природных источников, имеют различную стойкость при перевивках в стерильное обезжиренное молоко. Ценными являются штаммы, которые длительное время сохраняют биохимическую активность.

Практические испытания. Учитывая специфические свойства, которые желательно получить у готового продукта, составляют закваски, так для творога, необходимо учесть, что микроорганизмы закваски должны активно повышать кислотность в начале цикла производства, но способность их к дальнейшему кислотообразованию должна быть ограничена. Таким требованиям удовлетворяют молочнокислые стрептококки. Однако из молочнокислых стрептококков нужно выбрать культуры, которые обладали бы хорошим вкусом и ароматом. Поэтому целесообразно наряду с культурами *Lc. lactis* вводить *Lc. acetiienicus* или *Lc. diacetylactis*. Для продуктов, в процессе производства которых предусмотрено отделение части сыворотки от сгустка (творог и пр.), подбирают культуры, образующие сгустки, легко отделяющие сыворотку. Для продуктов, в производстве которых нужно предотвратить отделение сыворотки, рекомендуется

подбирать культуры, дающие при свертывании молока сгустки сметанообразной консистенции. С целью получения продуктов с лечебными свойствами в состав закваски вводят ацидофильные бактерии, специально подобранные дрожжи и т. д. Подобным же образом учитывают свойства культур и при подборе заквасок для других кисломолочных продуктов.

Коллекционирование отобранных штаммов чистых культур молочнокислых бактерий. Хранятся чистые культуры в музейных коллекциях чистых культур отраслевых научно-исследовательских институтов.

Для производства кисломолочных продуктов обычно применяют закваски, состоящие из разных штаммов, а часто и из разных видов и родов микроорганизмов. Это позволяет получить закваску, устойчивую к неблагоприятным воздействиям.

Получением различных комбинаций заквасок для производства кисломолочных продуктов занимаются специальные лаборатории или заводы по получению бактериальных препаратов, откуда закваски поступают непосредственно на молочные предприятия.

Технология производства заквасок

На заводах и в лабораториях по производству бактериальных препаратов выпускают жидкие и сухие бактериальные концентраты, а также маточные закваски в виде сухих и жидких заквасок. Производство большинства заквасок основывается на двух основных принципах:

- составление и стерилизация питательной среды в ферментерах подходящего размера; инокуляция производственной закваски с помощью инокуляционных шпателей при сохранении стерильности, выращивание по составленной программе, охлаждение, фасовка, хранение в охлажденном состоянии, отправка;
- составление, расфасовка питательных сред в транспортировочную тару и стерилизация, инокуляция производственных заквасок в пересылочные емкости (инъекция через затворы), запрограммированное выращивание в емкостях, хранение в охлажденном виде, отправка.

Производственные закваски на предприятиях получают в отделениях чистых культур или в специальном боксе при микробиологической лаборатории предприятия. В этих отделениях необходимо поддерживать асептические условия. Не допускается одновременно проводить посеvy по контролю готовой продукции, контролю условий производства и готовить закваски. Нельзя применять закваски и бактериальные концентраты с истекшим сроком хранения. Флаконы с заквасками вскрывают непосредственно перед употреблением и используют все содержимое флакона сразу.

Лабораторная стадия приготовления закваски проводится с целью ее активизации. Поступающие на предприятие закваски ослаблены в результате транспортирования и воздействия температуры. Поэтому активность заквасок необходимо восстановить путем предварительного культивирования на стерильное молоко. Эффективная закваска должна проявлять наибольшую

активность не позднее, чем после второй пересадки. При этом культивирование закваски необходимо остановить в конце логарифмической фазы роста, что достигается у большинства заквасок при достижении титруемой кислотности 78 – 80 °Т.

Производственная стадия получения закваски. Режимы приготовления производственной закваски зависят от вида закваски и конкретных условий производства.

Для приготовления производственной закваски используют пастеризованное или стерильное молоко. Готовят производственную закваску чаще всего в ваннах длительной пастеризации (ВДП) или заквасочниках. Дозу внесения лабораторной (маточной закваски) рассчитывают в зависимости от времени, которое необходимо для получения готовой закваски (от 0,5 до 1,0 %). На крупных молочных предприятиях готовят первичную (на стерильном молоке) и вторичную производственную закваску.

В производстве целесообразно использовать свежеприготовленную закваску, т.к. она обладает наибольшей активностью. В случае необходимости закваску охлаждают до 3 – 10 °С и направляют на хранение. Продолжительность хранения производственной закваски на стерильном молоке составляет до 72 часов, на пастеризованном – 24 часа.

В процессе приготовления продукта производственную закваску на стерилизованном молоке вносят в молоко в количестве 1 – 3 %, а закваску на пастеризованном молоке – 3 – 5 %.

Характеристика заквасок и бактериальных концентратов, используемых в молочной промышленности.

Жидкие закваски готовятся на стерильном молоке. Фасуют жидкие закваски во флаконы по 20, 50 и 100 см³. Достоинством таких заквасок является высокая активность микрофлоры, бактериальная чистота, недостатком – небольшой срок хранения (до 3 недель при 4 – 6 °С и до 5 дней при комнатной температуре). Используются такие закваски на молочных предприятиях, расположенных недалеко от лабораторий по производству бактериальных препаратов. Концентрация живых клеток в жидких заквасках составляет 10⁷ – 10⁸ клеток в 1 см³.

Сухие закваски – обезвоженные жидкие закваски в защитной среде. Жидкую закваску в количестве 30 % вносят в защитную среду – водный раствор, содержащий сахарозу (10 %), цитрат натрия (5 %), глутамат натрия (2,5 %) и желатозу (5 %). Смесь перемешивают, фасуют в пенициллиновые флаконы по 1 см³ (одна порция), замораживают и высушивают путем сублимационной сушки. Сухую закваску можно хранить не более 8 месяцев при температуре 3 – 8 °С. Количество молочнокислых бактерий в 1 г сухой закваски составляет 10⁷ – 10⁸ клеток. Допускается наличие посторонних микроорганизмов (не более 1 – 2 клеток в 1 г закваски). К недостаткам сухих заквасок относятся снижение активности молочнокислых бактерий и возможность попадания посторонней микрофлоры.

Сухие и жидкие бактериальные концентраты готовятся путем культивирования чистых культур молочнокислых бактерий на специальных

жидких питательных средах с последующим отделением клеток от культуральной жидкости. Далее полученный концентрат вносят в защитную среду, охлаждают, разливают по пенициллиновым флаконам и для получения сухих концентратов проводят удаление влаги способом сублимационной сушки. В качестве питательных сред используют молочную сыворотку с добавлением кукурузного экстракта (или аминокислотно-минерально-витаминного комплекса), буферных солей (цитрата или ацетата натрия) и стимуляторов роста (сульфата марганца, аскорбиновой кислоты и др.). Концентрация клеток молочнокислых бактерий в жидких концентратах не менее $1,5 \times 10^{11}$ в 1 см³, в сухих – не менее $1,5 - 3,0 \times 10^{11}$ в 1 г. Срок хранения сухих концентратов – не более 8 месяцев при температуре 3 – 8 °С, жидких – до 2 месяцев при той же температуре.

Некоторые сухие закваски готовят из бактериальной массы (бактериального концентрата) в защитной среде. Такие сухие закваски по составу микрофлоры идентичны сухому бактериальному концентрату и отличаются от него лишь по количеству клеток бактерий. Они содержат примерно в 100 раз меньше бактериальных клеток, чем бактериальный концентрат, из-за большого разведения бактериальной массы защитной средой.

Кефирные грибки. Получают кефирные грибки путем культивирования на обезжиренном пастеризованном молоке непосредственно на молочных предприятиях. По мере роста грибков один-два раза в неделю их отделяют от культуральной закваски, фасуют в стерильные флаконы, заливают обезжиренным молоком или сывороткой. Срок хранения кефирного грибка – не более 10 дней при температуре 8 – 10 °С.

Сухие кефирные грибки получают из натуральных (живых) кефирных грибков путем их высушивания в защитной среде, состоящей из молочной сыворотки с добавлением сахара (0,5 %) и аскорбиновой кислоты (0,01 %). Отделенные от культуральной жидкости грибки помещают в защитную среду в соотношении 1:20 и выдерживают в ней 5 – 6 часов при температуре 20 – 22 °С для наращивания дрожжей, которые являются наиболее чувствительными к замораживанию и высушиванию. После этого грибки отделяют от защитной среды, укладывают в стерильные лотки слоем 8 мм, закрывают стерильной марлей и сушат после замораживания способом сублимационной сушки. Сухие кефирные грибки фасуют порциями по 10, 20, 50 и 100 г в пакеты из полиэтилен-целлофана и запаивают. Срок хранения кефирных грибков 3 месяца при температуре не выше 8 °С.