

УДК 637.164

UDC 637.164

**ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА
ФЕРМЕНТАЦИИ ОБОГАЩЕННОГО
ВТОРИЧНОГО МОЛОЧНОГО СЫРЬЯ
ПРОБИОТИЧЕСКИМИ КУЛЬТУРАМИ**

**RESEARCH OF ENRICHED SECONDARY
MILK FERMENTATION WITH COMPLEX
PROBIOTIC CULTURES**

Асланова Марина Назировна
аспирант

Aslanova Marina Nazirovna
postgraduate student

Евдокимов Иван Алексеевич
д.т.н., профессор, проректор по научной работе

Evdokimov Ivan Alekseevich
Dr.Sci.Tech., professor, vice-rector of scientific work

Куликова Ирина Кирилловна
к.т.н., доцент

Kulikova Irina Kirillovna
Cand.Tech.Sci., associate professor

Агирбова Алёна Романовна
аспирант
*Северо-Кавказский федеральный университет,
г. Ставрополь, Россия*

Agirbova Alyona Romanovna
postgraduate student
*North Caucasus Federal University, Stavropol,
Russia*

В статье представлены результаты исследования
процесса ферментации обогащенного вторичного
молочного сырья комплексными
пробиотическими культурами

The article presents the results of enriched secondary
milk fermentation by complex probiotic cultures

Ключевые слова: ОБЕЗЖИРЕННОЕ МОЛОКО,
ПЕРМЕАТ, ЛАКТОЗА,
МИКРОПАРТИКУЛЯЦИОННЫЙ
СЫВОРОТОЧНЫЙ БЕЛОК,
ПРОБИОТИЧЕСКИЕ МИКРООРГАНИЗМЫ

Keywords: SKIMMED MILK, PERMEAT,
LACTOSE, MICROPARTICULATED WHEY
PROTEIN, PROBIOTIC MICROORGANIZMS

Молоко и молочные продукты традиционно играют значимую роль в питании человека. Повышение эффективности промышленной переработки молока, рациональное использование всех его компонентов - является одной из основных задач отрасли. В связи с этим особый интерес представляет вовлечение в технологический цикл предприятий вторичных сырьевых ресурсов, в частности продуктов мембранной обработки молочного сырья, как основных источников биологически полноценных белков[1].

Сущность мембранных технологий основана на гетерогенности вторичного молочного сырья с четко выраженной селективностью компонентов по молекулярной массе, размерам и ионной силе. Мембранные методы делят на гиперфильтрацию или баромембранные

методы (микрофильтрацию, ультрафильтрацию, нанофильтрацию, обратный осмос) (табл.1). Гиперфильтрация – физический способ разделения раствором через полупроницаемую перегородку – мембрану с размером пор от 1нм до 1000 нм (0,001-1мкм).

Таблица 1. Баромембранные методы разделения.

Процесс	Размер задерживаемых частиц, мкм	Рабочее давление, МПа	Выделяемые вещества
Микрофильтрация	0,05-10	0,1-0,8	Клетки бактерий, жировые шарики, фракции казеина
Ультрафильтрация	0,005-0,1	0,4-1,3	Сывороточные белки, небелковые азотистые соединения
Нанофильтрация	0,001-0,005	0,7-4,0	Лактоза, небелковые азотистые соединения, частично минеральные вещества
Обратный осмос	Менее 0,001	2,7-7,0	Минеральные вещества

Как дополнительный способ повышения качества вторичного молочного сырья используют электродиализ. При электродиализе посредством селективной ионитовой мембраны, находящейся в контакте с раствором, под действием электрического поля происходит прохождение ионов одного заряда и препятствие прохождение противоположно заряженных ионов (способ деминерализации молочной сыворотки) [2]. В результате понижается зольность, регулируется кислотность, как следствие повышается качество сырья, расширяется возможность его переработки.

Использование мембранных технологий имеет ряд преимуществ:

-в значительной степени увеличивает рентабельность и реализует замкнутый цикл производства;

-исключает необходимость привлечения дополнительных сырьевых источников;

На сегодняшний день наиболее рациональным является добавление составных компонентов вторичного сырья, полученных путем мембранной обработки.

Одним из направлений может стать создание новых видов продуктов комплексного назначения на основе вторичного молочного сырья, а в частности - обезжиренного молока, молочной сыворотки, компонентов молочной сыворотки и пермеата, обогащенных пробиотическими микроорганизмами [1, 2].

Пробиотики- это непатогенные для человека (или животного) бактерии или другие микроорганизмы, обладающие антагонистической активностью в отношении патогенных и условно патогенных микроорганизмов и обеспечивающие восстановление нормальной микрофлоры человека или выполняющие другие полезные для человека (или животного) функции. Другими словами, это живые непатогенные микроорганизмы (или содержащие их средства), которые при применении в адекватных количествах восстанавливают микробиоценозы (нормализуют микрофлору кишечника) и создают оздоровительный эффект для организма человека [3].

Многофункциональные свойства пробиотиков широко используются в профилактике и лечении различных заболеваний. Их благоприятное влияние на здоровье человека проявляется разноплановым положительным эффектом, звенья механизма которого в целом характеризуются как пробиотическое воздействие.

Чаще в качестве микроорганизмов-пробионтов, вводимых в состав пробиотических продуктов, используют молочнокислые и бифидобактерии, реже – пропионовокислые бактерии, энтерококки, дрожжи, бациллы и др (табл. 2).

Таблица 2. Наиболее часто применяемые в пробиотических продуктах
микроорганизмы

Лактобактерии	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. brevis</i> , <i>L. celloblosus</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. plantarum</i>
Бифидобактерии	<i>B. bifidum</i> , <i>B. infantis</i> , <i>B. breve</i> , <i>B. adolescentis</i> , <i>B. longum</i> , <i>B. animals</i> , <i>B. thermophilum</i>
Грамположительные кокки	<i>Streptococcus salivarius</i> , <i>Str. Thermophilus</i> , <i>Str. Diacetylactis</i> , <i>Enterococcus faecium</i> , <i>Lactococcuslactis sp. Cremoris</i>
Дрожжи	<i>Saccharomyces boulardii</i> , <i>S. Cerevisiae</i>

Анализ литературных данных показал, что в настоящее время точно не определены рекомендации по применению пробиотических культур в технологии функциональных продуктов на основе вторичного молочного сырья [3, 4, 5]. Однако, накоплен значительный теоретический и практический опыт вовлечение молочной сыворотки в структурированные молочные продукты, опираясь на который, можно разработать линейку новых продуктов функционального назначения.

Таким образом, целью работы стало исследование процесса ферментации серийно-выпускаемых лакто- и бифидобактерий, с заявленными производителем пробиотическими свойствами, в обогащенном молочном сырье.

В качестве объектов исследования были выбраны:

1. Молочный пермеат, полученный из обезжиренного молока методом ультрафильтрации;
2. Молочный изомеризованный пермеат;
3. Сгущенный изомеризованный пермеат;
4. Обезжиренное молоко, обогащенное микропартикуляционным сывороточным белком (МПСБ);
5. Лиофилизированная концентрированная заквасочная культура LATPBAC (в состав закваски входят *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium infantis*,

- Bifidobacterium longum*) производство ООД «Лактина» «Екоком», Болгария;
6. Лиофилизированная концентрированная заквасочная культура бифидобактерий *yogurtcultures* (*Str. Thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*, *Lactobacillus delbrueckii* подвид *lactis*), производство DANISCO;
 7. Лиофилизированная концентрированная заквасочная культура «Бифилайф Форте» КБФ (*Bifidobacterium longum*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium breve*, *Bifidobacterium infantis*) производство ЗАО «Экополис»;
 8. Лиофилизированная концентрированная заквасочная культура LAT BY BT 1 (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) производство ООД «Лактина» «Екоком», Болгария
 9. Лиофилизированная концентрированная заквасочная культура «AiVi» серия LbS 22.11(Ф) (*Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus casei*) производство ООО «Зеленые линии», г. Красногорск.

В ходе эксперимента использовали следующие приборы и оборудование: термометр лабораторный, биологический микроскоп «Биолам», термостат лабораторный «ТС-1/80 СПУ», изготовленный по ТУ-9452-002-001414798-97.

Исследования проводили по типовым и общепринятым методикам [].

Для реализации эксперимента использовали смеси на основе вторичного молочного сырья, которые ферментировали серийно выпускаемыми пробиотическими микроорганизмами (таблица 3).

Образец №1 – представляет собой натуральный пермеат, полученный из обезжиренного молока посредством ультрафильтрации (УФ), массовой долей сухих веществ (5,0-5,5%). Деминерализация

пермеата проводилась путем электродиализа, что способствовало уменьшению содержания солей и улучшению органолептических показателей.

Образец №2 – молочный пермеат, массовой долей сухих веществ (5,0-5,5%) , в котором проводилась изомеризация лактозы едким натром (NaOH) при температуре (70-80) °С в течение (20-40) минут[6].

Таблица 3. Образцы смесей, используемых для эксперимента и наименование серийно-выпускаемых заквасок, участвующих в процессе ферментации смесей.

№ образца	Наименование вторичного сырья	Используемые серийно-выпускаемые закваски
Образец №1	Натуральный пермеат	Лактина LATPBAC; ЗАО «Экополис» «Бифилайф Форте» КБФ; DANISCO yogurt cultures
Образец №2	Пермеатизомеризованный	Лактина LATPBAC; ЗАО «Экополис» «Бифилайф Форте» КБФ; DANISCO yogurt cultures
Образец №3	Пермеат сгущенный изомеризованный	Лактина LATPBAC; ЗАО «Экополис» «Бифилайф Форте» КБФ; DANISCO yogurt cultures
Образец №4	Обезжиренное молоко +микропартикулят сывороточных белков	Лактина LATBYBT 1; Зеленые линии «AiBi» серия LbS 22.11(Ф)

Образец №3 –сгущенный изомеризованный пермеат, массовой доли сухих веществ (18-20%). Процесс сгущения проводился на ротационном испарителе, предназначенном для проведения работ, связанных с быстрым удалением растворителей путем пленочного испарения при нормальном или заниженном давлении и контролируемой температуре [6]. Изомеризация лактозы проводилась аналогично предыдущему образцу.

Образец №4 - обезжиренное молоко с добавлением МПСБ в количестве (3±0,1) %.В основе технологии получения МПСБ лежит технология получения КСБ (рис 1). В качестве сырья для получения МПСБ

используют сладкую подсырную сыворотку. Ее отделяют от сырной массы, сепарируют, удаляя избыточный жир, и пастеризуют. Для концентрирования белка сыворотку подвергают ультрафильтрации (УФ) при давлении (0,5 – 1) МПа. В ходе УФ удаляется некоторая часть лактозы и минеральных веществ, что в дальнейшем влияет на процесс агрегации сывороточных белков, т.к. известно, что лактоза препятствует этому процессу.

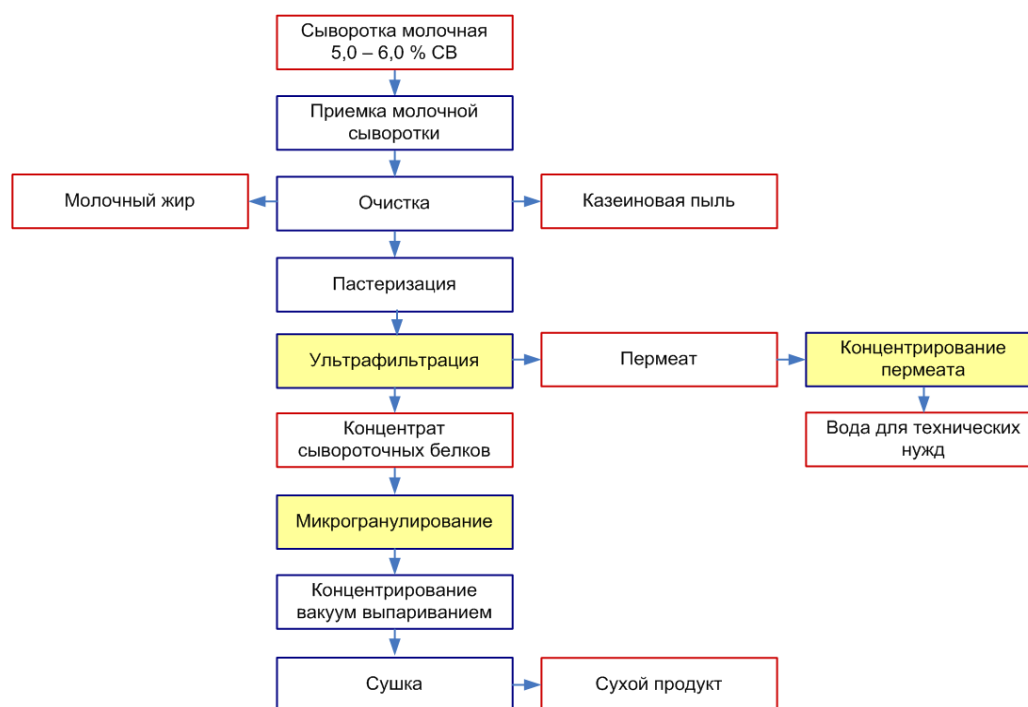


Рисунок 1- Схема получения сухого микропартикулята сывороточных белков (МПСБ)

Полученный концентрат нагревают до (80-95) °С, при этом происходит денатурация сывороточных белковых, за счет дополнительного механического воздействия, и их агрегация. Далее концентрат сгущается путем выпаривания с минимально возможной коагуляцией белка, увеличивается содержание сухих веществ до уровня, который позволит успешно провести формирование микрочастиц. При включении в процесс стадии сушки раствор с частицами МПСБ может быть высушен для более удобной транспортировки и хранения.

Процесс микропартикуляции КСБ позволяет получить микрочастицы правильной сферической формы и средним диаметром от 0.5 до 1,5 мкм. Частицы МПСБ при этом функционируют как эмульгированные жировые шарики, придавая продуктам «сливочный» вкус и эластичную текстуру. Использование МПСБ обосновано повышением биологической ценности продукта, кроме того, он проявляет пребиотическую активность, стимулируя рост лактобактерий [7, 8, 9].

Сквашивание образцов №1-3 проводили культурами, содержащими бифидобактериями (табл.1) при температуре (37 ± 1) °С в течение 24 ч. Сквашивание образца №4, проводили культурами, содержащими пробиотически лактобактерии (табл.1) при температуре (37 ± 1) °С в течение (6-8) ч.

Эффективность роста пробиотических микроорганизмов изучали в образцах после культивирования методом предельных разведений. Количественный учет бифидобактерий образцов №1, 2, 3 осуществляли на кукурузно-лактозной среде ГМК-1, согласно ГОСТ Р 51331. Количественный учет молочнокислых микроорганизмов образца №4 - на обезжиренном молоке, согласно ГОСТ 10444.11. Результаты исследований приведены в таблице 3.

При культивировании на ГМК-1 наблюдалось появление большого количества гранулированных форм, которые можно принять за кокки. Следствием такого изменения являлось наличие полноценного источника питания, высокое содержание сухих веществ в особенности в сгущенном изомеризованном пермеате (образец №3). Обнаружены клетки бифидобактерий V- и Y-формы, под микроскопом так же видны палочки бифидобактерии. Сплошной рост бифидобактерий наблюдался в изомеризованном сгущенном пермеате с биомассой бифидобактерий производства ООД «Лактина» $2 \cdot 10^9$ КОЕ/г (образец №3).

Таблица 3 –Результаты количественного учета образцов с пробиотическими культурами лакто- и бифидобактерий.

Наименование закваски пробиотических микроорганизмов.	Количество клеток пробиотических культур в образце КОЕ/г			
	Образец №1	Образец №2	Образец №3	Образец №4
1	2	3	4	5
DANISCO yogurt cultures	$2,1 \cdot 10^6$	$8,1 \cdot 10^7$	$5,3 \cdot 10^8$	-
ЗАО «Экополис» «Бифилайф Форте» КБФ;	$4,2 \cdot 10^6$	$3,5 \cdot 10^8$	$35,2 \cdot 10^8$	-
ЛактинаLATPBAC;	$12,2 \cdot 10^7$	$7,4 \cdot 10^8$	$2,1 \cdot 10^9$	-
«AiVi» серия LbS 22.11(Ф) ООО «Зеленые линии».	-	-	-	$5,8 \cdot 10^8$
LAT BY BT ООД «Лактина»	-	-	-	$9,4 \cdot 10^8$

Благодаря высокому содержанию в молочном пермеате лактозы, происходит активный рост бифидобактерий. Наибольшей степенью роста при культивировании бифидобактерий отличались изомеризованный пермеат и сгущенный изомеризованный пермеат, по сравнению с образцом натурального молочного пермеата.

В образце №4 с МПСБ так же наблюдается высокий рост пробиотических лактобактерий, что связано с увеличением углеводного питания для развития микроорганизмом. Таким образом, МПСБ выступает как активатор роста лактобактерий, проявляя пребиотическую активность.

Таким образом, вторичное молочное сырье является благоприятной средой для развития пробиотических лактобактерий, бифидобактерий и хорошей основой для продуктов функционального и лечебно-профилактического питания.

Список используемой литературы:

1. Гаврилов, Б.Г. Функциональные ингредиенты и пищевые продукты из молочной сыворотки [Текст] / Б.Г. Гаврилов // Материалы междунар. Симп. «Лактоза и ее

производные» и региональной конференции «Кисломолочные продукты – технологии и питание». М. 2007. – с. 38-39

2. Храмов А.Г. Белковые продукты из молочной сыворотки // Переработка молока. 2011.-№1.- С.18-21

3. Ганина, В.И. Пробиотики. Назначение, свойства и основы биотехнологии [Текст] / В.И. Ганина. – М.:МГУПБ, 2001. – 169 с.

4. Hekmat, S. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in ice cream for use as probiotic food // S. Hekmat, DJ. McMahon // Journal Dairy Science 2002. - 75(6). - P. 1415-1422

5. Charalampopoulos, D. Growth studies of potentially probiotic lactic acid bacteria in cereal-based substrates / D. Charalampopoulos, S.S. Pandiella, C. Webb // Journal of applied microbiology. - 2002. - 92. - P.851-859

6. Рябцева, С.А. Технология лактулозы [Текст] / С.А. Рябцева. – М.: ДеЛиПринт, 2003. – 232 с.

7. Пономарев А.Н. Микропартикулированные сывороточные белки в технологии симбиотических продуктов / А.Н. Пономарев, Н.А. Подгорный, Е.И. Мельникова, А.Н. Лосев // Молочная промышленность. 2013. № 7.- С.62-63.

8. John Tobin, Sinead Fitzsimons, Alan L Kelly, Philip Kelly Mark Auty, Mark Fenelon Microparticulation of mixtures of whey protein and inulin // International Journal of Dairy Technology.- February 2010

9. Евдокимов И.А., Володин Д.Н., Золотарева М.С., Михнева В.А. Технология низкожирной сметаны // Молочная промышленность.2010.-№1.-С.26

10. MudithaDissanayake, Alan L. Kelly and TodorVasiljevic Gelling Properties of Microparticulated Whey Proteins // J. Agric. Food Chem., 2010, 58 (11), pp 6825–6832.

References

1. Gavrilov, B.G. Funkcional'nye ingredienty i pishhevye produkty iz molochnoj syvorotki [Tekst] / B.G. Gavrilov // Materialy mezhd. Simp. «Laktoza i ee proizvodnye» i regional'noj konferencii «Kislomolochnye produkty – tehnologii i pitanie». М. 2007. – с. 38-39

2. Hramcov A.G. Belkovye produkty iz molochnoj syvorotki // Pererabotka moloka. 2011.-№1.- S.18-21

3. Ganina, V.I. Probiotiki. Naznachenie, svojstva i osnovy biotehnologii [Tekst] / V.I. Ganina. – М.:МГУПБ, 2001. – 169 с.

4. Hekmat, S. Survival of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* in ice cream for use as probiotic food // S. Hekmat, DJ. McMahon // Journal Dairy Science 2002. - 75(6). - P. 1415-1422

5. Charalampopoulos, D. Growth studies of potentially probiotic lactic acid bacteria in cereal-based substrates / D. Charalampopoulos, S.S. Pandiella, C. Webb // Journal of applied microbiology. - 2002. - 92. - P.851-859

6. Rjabceva, S.A. Tehnologija laktulozy [Tekst] / S.A. Rjabceva. – М.: DeLiPrint, 2003. – 232 с.

7. Ponomarev A.N. Mikropartikulirovannye syvorotochnye belki v tehnologii simbioticheskikh produktov / A.N. Ponomarev, N.A. Podgornyj, E.I. Mel'nikova, A.N. Losev // Molochnaja promyshlennost'. 2013. № 7.- S.62-63.

8. John Tobin, Sinead Fitzsimons, Alan L Kelly, Philip Kelly Mark Auty, Mark Fenelon Microparticulation of mixtures of whey protein and inulin // International Journal of Dairy Technology.- February 2010

9. Evdokimov I.A., Volodin D.N., Zolotareva M.S., Mihneva V.A. Tehnologija nizkozhirnoj smetany // Molochnaja promyshlennost'.2010.-№1.-S.26

10. MudithaDissanayake, Alan L. Kelly and TodorVasiljevic Gelling Properties of Microparticulated Whey Proteins // J. Agric. Food Chem., 2010, 58 (11), pp 6825–6832.