ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-4-30-38
УДК 637.1:57.063.8

Оригинальная статья
http://fptt.ru/

Разработка приемов длительного сохранения свойств молочнокислых микроорганизмов

О. В. Кригер, С. Ю. Носкова*

ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта»,
236016, Россия, г. Калининград, ул. А.Невского, 14

**e-mail: svykrum@mail.ru*

Дата поступления в редакцию: 20.10.2018
Дата принятия в печать: 28.12.2018

© О. В. Кригер, С. Ю. Носкова, 2018

Аннотация. Исследования по разработке критериев подбора мультиэнзимных комплексов молочнокислых бактерий, входящих в состав заквасочных культур, совершенствование существующих и создание новых конкурентоспособных бактериальных концентратов, способов их применения в производстве кисломолочных продуктов с заданными свойствами и составом являются актуальными. Распад белка при производстве кисломолочных продуктов приводит к созданию специфического для каждого вида, вкуса и запаха, а также оказывает существенное влияние на его консистенцию. Поэтому наибольший интерес для производства кисломолочных продуктов представляют молочнокислые бактерии, обладающие высокой протеолитической активностью. Целью данной работы являлась разработка приемов длительного сохранения свойств молочнокислых микроорганизмов. В ходе работы определяли режимные параметры лиофильной сушки комбинированной закваски. Установлено, что производство кисломолочных продуктов предъявляет высокие требования к заквасочным штаммам. Разработан способ длительного сохранения свойств у выбранных штаммов молочнокислых микроорганизмов – сублимационная сушка при следующих параметрах: температура замораживания в защитной среде, содержащей 5 % глицерина, –25 °С продолжительностью 90 мин; температура сушки 30 °С; продолжительность сушки 6 ч; тепловая нагрузка 5,45 кВт/м²; остаточное давление 0,6–0,8 кПа, толщина слоя сушки 2 мм. Разработана технологическая документация (ТУ 9225-096-02054145-2013), регламент и рецептура получения кисломолочного продукта с использованием комбинированной закваски прямого внесения.

Ключевые слова. Молочнокислые бактерии, молочнокислое брожение, штаммы, молочная кислота, закваски, молочные продукты, мультиэнзимный комплекс

Для цитирования: Кригер, О. В. Разработка приемов длительного сохранения свойств молочнокислых микроорганизмов / О. В. Кригер, С. Ю. Носкова // Техника и технология пищевых производств. – 2018. – Т. 48, № 4. – С. 30–38. DOI: https://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-4-30-38.

Original article

Available online at http://fptt.ru

Properties of Lactic Acid Microorganisms: Long-Term Preservation Methods

O.V. Kriger, S.Yu. Noskova*

Immanuel Kant Baltic Federal University,
14, A. Nevskogo Str., Kaliningrad, 236016, Russia

**e-mail: svykrum@mail.ru*

Received: October 20, 2018
Accepted: December 28, 2018

© O.V. Kriger, S.Yu. Noskova, 2018

Abstract. Among the relevant studies on lactic acid bacteria there are projects devoted to the multienzyme complexes of starter cultures, new competitive bacterial concentrates and their use in fermented functional milk products. In fermented milk production, the process of albuminolysis has a significant impact on the consistency, taste, and smell of the product. Therefore, lactic acid bacteria with high proteolytic properties are of the greatest interest for fermented milk industry. The present research features long-term methods for preservation of the properties of lactic acid microorganisms. The experiment defined the regime parameters of combined starter lyophilisation. The results prove that fermented milk production requires high-quality starter strains. The authors developed a long-term method for preservation of properties of particular strains of lactic acid microorganisms. The method presupposes freeze-drying with the following parameters: freezing temperature – minus 25°C in a protective 5%-glycerol medium (90 minutes); the drying temperature – 30°C (6 hours); refrigerating load – 5.45 kW/m²; residual pressure – 0.6–0.8 kPa, bed depth – 2 mm. The authors also developed the necessary documentation (No. 9225-096-02054145-2013), procedures, and formula of the fermented milk product with a combined direct application starter.

Keywords. Lactic acid bacteria, lactic fermentation, strains, lactic acid, milk acid, dairy products, multienzyme complex

For citation: Kriger O.V. and Noskova S.Yu. Properties of Lactic Acid Microorganisms: Long-Term Preservation Methods. *Food Processing: Techniques and Technology*, 2018, vol. 48, no. 4, pp. 30–38. (In Russ.). DOI: https://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-4-30-38.

Введение

Важной задачей при производстве бактериальных заквасок является их стабилизация. Наиболее распространенным способом стабилизации микробиологических препаратов является сублимационная сушка (лиофилизация).

Лиофилизация – это обезвоживание биологических объектов в замороженном состоянии под вакуумом. При сублимационном способе сушки удаление влаги осуществляется фазовым переходом лед – пар. Основное количество влаги (75–90 %) удаляется при сублимации льда при температуре ниже °С, и только удаление остаточной влаги происходит при нагреве материала до 40–60 °С [1].

Для сохранения высокой жизнеспособности микроорганизмов в процессе лиофильной сушки и последующем хранении используют различные защитные среды (стабилизаторы): сыворотку крови животных, альбумин, обезжиренное молоко, желатину, желатозу, пептон, сахарозу, сорбит, поливинилпирролидон, глутамат натрия и их комбинации [1, 2].

Первой технологической операцией сублимационной сушки является замораживание биологического материала. В процессе замораживания из объекта испаряется 10–15 % всей влаги за счет выделения теплоты плавления льда при замерзании воды.

Второй период (сублимация) характеризуется постоянной скоростью сушки объекта. В это время удаляется основная масса влаги. Третий период удаления остаточной влаги характеризуется падающей скоростью сушки, температура объекта становится положительной. В этот период удаляется связанная влага, не замерзшая в объекте. Скорость сушки зависит от интенсивности подвода тепла. Температура объекта постепенно увеличивается до температуры окружающей среды [1, 3].

Сублимационная сушка обеспечивает длительные сроки хранения (до 10 лет) биологических материалов и максимальную степень восстанавливаемости [2, 3].

Свойства готового микробиологического препарата во многом зависят от режимных параметров процесса лиофилизации. В настоящее время вопрос о выборе параметров и режимов сублимационной сушки микроорганизмов не теряет своей актуальности, поскольку действие низких температур на микроорганизмы может приводить к внутри- и внеклеточным изменениям. Максимальное повреждающее действие оказывает внутриклеточное образование льда, приводящее к нарушению плазматических мембран и клеточных оболочек. Образование льда приводит также к повышению концентрации внутри- и внеклеточных растворов. Это ведет к денатурации белков и нарушению барьеров проницаемости [2].

Рациональный режим сублимационной сушки должен обеспечить минимальную продолжительность и энергоемкость процесса при наилучших качественных показателях высушенного объекта. Продолжительность лиофилизации зависит от интенсивности сушки, то есть от количества влаги, удаленной с единицы площади поверхности высушиваемого биоматериала в единицу времени [1].

Целью данной работы являлась разработка приемов длительного сохранения свойств молочнокислых микроорганизмов. В ходе работы устанавливали режимные параметры лиофильной сушки комбинированной закваски.

Объекты и методы исследования

При проведении исследований использовали общепринятые, стандартные и оригинальные методы биохимического, физико-химического и микробиологического анализа, в том числе спектофотометрию, электрофорез в полиакриламидном геле по Лэммли, хроматографию, метод Дюма.

Исследовали консервирование заквасочной культуры способом сублимационной сушки. На основании теплофизических характеристик, протеолитической активности, количества удаленной влаги, органолептических показателей и антагонистических свойств подбирали параметры сублимационной (температура замораживания, состав защитной среды, температура сушки, тепловая нагрузка, остаточное давление, толщина слоя, продолжительность) сушки комбинированной закваски.

Определение протеолитической активности молочнокислых бактерий. Готовили 10 % раствор восстановленного обезжиренного молока в дистиллированной воде. Для отделения нерастворимого осадка полученный раствор центрифугировали при 4000 об/мин в течение 20 мин; отбирали супернатант и пастеризовали его при 85 °С в течение 15 мин. Молочнокислые бактерии культивировали в пастеризованном 10 % растворе обезжиренного молока в течение 18 ч при оптимальной температуре и оценивали полученный сгусток (1 перевивка). Далее, ферментированным обезжиренным молоком, полученным на стадии 1 перевивки, инокулировали очередную порцию пастеризованного молока (2 перевивка), выдерживали в течение 24 ч. Образцы хранили при 8 °С.

Для получения бактериальной суспензии образцы ферментированного обезжиренного молока смешивали с фосфатно-цитратным буфером (pH 7,0) в соотношении 2:3, центрифугировали при 6000 об/мин в течение 10 мин – 1 цикл. Осадок ресуспендировали в фосфатном буфере, центрифугировали при 8000 об/мин в течение 20 мин – 2 и 3 циклы. Отбирали супернатант, а осадок ресуспендировали в 40–45 мл фосфатного буфера (pH 6,5) и измеряли оптическую плотность (при длине волны 600 нм (ОП600)) полученной

Таблица 1 – Молочнокислые штаммы

Table 1 – Lactic acid strains

Род, вид штамма	Номер штамма
Lactococcus lactis	В 5946
Lactococcus lactis subspecies cremoris	В 2276
Lactobacillus plantarum	В 3242
Leuconostoc mesenteroides subspecies mesenteroides	В 8404

бактериальной суспензии. При изучении протеолитической активности комбинаций микроорганизмов, полученные бактериальные суспензии смешивали в равном соотношении.

В качестве субстрата использовали 0,5 % раствор белков молока (Fluka, Швейцария) в фосфатно-цитратном буфере (pH 6,5).

Контрольная проба – 150 мкл субстрата смешивали с 150 мкл бактериальной суспензии и немедленно отбирали 50 мкл образца для электрофореза по Лэммли. Для инактивации протеаз в 250 мкл смеси вносили 500 мкл 12 % трихлоруксусной кислоты и инкубировали в течение 10 мин при комнатной температуре. Центрифугировали при 13000 об/мин 5 мин.

Опытные образцы – 150 мкл субстрата смешивали с 150 мкл бактериальной суспензии, инкубировали при 37 °С в течение 24 ч, отбирали 50 мкл для электрофоретического анализа. Далее, вносили 12 % трихлоруксусной кислоты и готовили аналогично контрольным образцам.

Определение антибиотических свойств лактобактерий на плотной питательной среде проводили методом перпендикулярных штрихов и методом блоков. Культуру исследуемого штамма высевали штрихом в чашки Петри на питательную среду и инкубировали при оптимальной температуре в течение 2 ч для образования и диффузии в агар ингибиторных соединений. Затем подсевали штрихом экспоненциальную культуру тест-штамма (*Escherichia coli* или *Staphylococcus aureus*). Чашку вновь инкубировали при температуре 37 °С в течение 2 ч. При определении антимикробной активности лактобактерий методом блоков испытуемую культуру микроорганизмов высеивали глубинным способом в питательный агар в чашке Петри и инкубировали при оптимальной температуре в течение 24 ч. Затем стерильным пробочным сверлом вырезали агаровый диск (блок) с выросшей культурой лактобактерий и устанавливали его в другой чашке Петри на поверхности агаровой среды, только что засеянной культурой тест-штамма (*Escherichia coli* или *Staphylococcus aureus*). Чашку инкубировали при 37 °С в течение 36 ч.

Вывод об антибиотической активности молочнокислых микроорганизмов делали на основе величины ширины зоны ингибирования.

Массовую долю влаги и сухого вещества определяли согласно ГОСТ 3626-77 [4].

Экспериментальные данные обрабатывали методом математической статистики на ЭВМ. Для дальнейшей обработки применяли пакет программ WinStat или Statistica 5.0.

На основании анализа полученных данных разрабатывали рецептуру и технологическую схему производства кисломолочного продукта с использованием комбинированной закваски прямого внесения, исследовали состав и свойства разработанного кисломолочного продукта. Рассчитывали ожидаемую экономическую эффективность. Полученные результаты учитывали при разработке технической документации и промышленной апробации.

Объектами исследования являлись штаммы молочнокислых микроорганизмов, предоставленные ВКПМ ФГУП «ГосНИИгенетика» (http://www.genetika.ru/vkpm), которые отражены в таблице 1.

Таблица 2 – Химический состав закваски, состоящей из штаммов *Lactococcus lactis* В 5946, *Leuconostoc mesenteroides subsp. mesenteroides* В 8404, *Lactobacillus plantarum* В 3242 и *Lactococcus lactis subsp. cremoris* В 2276

Table 2 – The chemical composition of the starter, consisting of the strains of Lactococcus lactis B 5946, *Leuconostoc mesenteroides subsp. mesenteroides* B 8404, Lactobacillus plantarum B 3242, and Lactococcus lactis subsp. cremoris B 2276

Показатель	Значение показателя
Массовая доля общего белка, %	3,00 ± 0,01
Массовая доля сухих веществ, %	12,5 ± 0,5
Концентрация молочной кислоты, мг/см^3	10,3 ± 1,5

Таблица 3 – Теплофизические характеристики комбинированной закваски в жидком и замороженном состоянии

Table 3 – Thermal characteristics of the combined starter in the liquid and frozen state

Состояние закваски	Жидкий препарат (t = 20 °С)	Замороженный препарат (t = –24 °С)
Температур опроводность $a \times 10^7$, м^2/с	1,35 ± 0,07	0,545 ± 0,027
Теплопроводность λ, Вт/(м × К)	9,02 ± 0,45	1,89 ± 0,09
Плотность ρ, кг/м^3	1029,1 ± 20,6	960,5 ± 48,0
Массовая теплоемкость c_m, Дж/(кг × К)	3845,0 ± 192,3	2180,0 ± 109,0

Результаты и их обсуждение

При изучении закономерностей сублимационной сушки биологических объектов важное значение имеют теплофизические свойства во всем диапазоне температурного воздействия.

При определении теплофизических характеристик биологических объектов важной исходной информацией являются данные о химическом составе. Химический состав комбинированной закваски представлен в таблице 2.

Данные таблицы 2 свидетельствуют о том, что химический состав комбинированной закваски

Рисунок 1 – Результаты термического анализа:
1 – температура закваски, *2* – температура хладоносителя

Figure 1 – Results of thermal analysis:
1 – starter temperature, *2* – coolant temperature

на основе молочнокислых микроорганизмов соответствует требованиям нормативной документации на кисломолочные продукты.

Для оценки теплофизических характеристик комбинированной закваски в жидком и замороженном состоянии применяли первый буферный метод двух температурно-временных интервалов [5–7, 12]. Теплофизические характеристики комбинированной закваски на основе лактобактерий в жидком и замороженном состоянии представлены в таблице 3.

Из таблицы 3 видно, что замораживание комбинированной закваски значительно влияет на теплофизические свойства: наблюдается увеличение температуропроводности в 6,7 раз, теплопроводности – в 3,5 раза, уменьшение массовой теплоемкости – в 1,7 раз, уменьшение плотности – в 1,07 раз.

Важным показателем заквасок при разработке технологий их лиофилизации является криоскопическая температура – температура начала кристаллизации содержащейся в них воды.

В данной работе определение криоскопической температуры комбинированной закваски проводили методом термического анализа на основании построения кривых зависимости температуры от продолжительности замораживания (рис. 1).

На основании рисунка 1 определена криоскопическая температура комбинированной закваски. Она составляет –1,20 °С.

Далее, подбирали температуру и продолжительность замораживания комбинированной закваски и исследовали влияние замораживания на свойства комбинации молочнокислых микроорганизмов.

Изучали процесс замораживания комбинированной закваски вплоть до температуры –25 °С.

Термограмма замораживания закваски при температуре охлаждающей среды –25 °С представлена на рисунке 2.

Из рисунка 2 видно, что термограмма содержит три участка. Первый участок продолжительностью 10 мин характеризуется стабильным снижением температуры. Начало второго участка соответствует криоскопической температуре комбинированной закваски (–1,20 °С). Этот участок представляет собой изотермическую площадку. На данном этапе происходит процесс кристаллизации влаги в высушиваемой комбинации микроорганизмов. Продолжительность кристаллизации влаги составила 30 мин. Для третьего участка на термограмме характерно быстрое понижение температуры закваски. Это процесс охлаждения. По мере приближения температуры закваски к температуре охлаждающей среды наклон кривой уменьшается и термограмма становится более пологой.

Исходя из представленной термограммы, определили продолжительность замораживания комбинированной закваски 90 мин при температуре –25 °С.

При замораживании микроорганизмов особое внимание уделяется составу защитной среды, содержащей криопротекторы, проникающие через клеточную мембрану бактерий и обеспечивающие внутри- и внеклеточную защиту от замораживания. В качестве криопротекторов могут быть использованы следующие вещества: глицерин, диметилсульфоксид, сахароза, лактоза, глюкоза, маннит, сорбит, декстран, поливинилпирролидон, полигликоль и др [8, 12].

В данной работе выбор криопротекторов для молочнокислых микроорганизмов осуществляли из следующих веществ: глицерин, лактоза, поливилилпирролидон. Одинаковые количества комбинированной закваски с исходной протеолитической активностью 2100 Е/мг вносили в девять стеклянных флаконов, в которые затем добавляли три исследуемых криопротектора в разных концентрациях. Флаконы закрывали несколькими слоями марли и замораживали в воздушной среде при температуре –25 °С.

Из рисунков литературных источников [9, 13–16] известно, что быстрое нагревание замороженных микроорганизмов приводит к их быстрому восстановлению. В связи с этим после 12 часовой выдержки при температуре –25 °С флаконы размораживали на водяной бане при 37 °С и слабом встряхивании, после чего регистрировали протеолитическую активность каждого образца. Полученные результаты представлены в таблице 4.

Из таблицы 4 следует, что максимальное сохранение протеолитической активности закваски обеспечивает защитная среда на основе глицерина с концентрацией 5 %. В этом случае сохраняется 97,5 % протеолитической активности молочнокислых бактерий.

Таким образом, выбраны параметры замораживания комбинированной закваски: температура –25 °С, продолжительность 90 мин, защитная среда, содержащая 5 % глицерина.

Основными режимными параметрами сублимационной сушки являются: температура сушки, продолжительность сушки, тепловая нагрузка, остаточное давление, толщина слоя сушки [10, 11, 17, 18].

Таблица 4 – Влияние различных криопротекторов на протеолитическую активность комбинированной закваски

Table 4 – The effect of various cryoprotectants on the proteolytic activity of the combined starter

Состав образца	Протеолитическая активность после размораживания	
	Е/мг белка	% от исходной
Комбинированная закваска + 2,5 % глицерина	1790,0	85,2
Комбинированная закваска + 5 % глицерина	2047,0	97,5
Комбинированная закваска + 10 % глицерина	1914,0	91,1
Комбинированная закваска + 2,5 % лактозы	1345,0	64,0
Комбинированная закваска + 5 % лактозы	1400,0	66,7
Комбинированная закваска + 10 % лактозы	1443,0	68,7
Комбинированная закваска + 2,5 % поливинилпирролидона	1612,0	76,8
Комбинированная закваска + 5 % поливинилпирролидона	1800,0	85,7
Комбинированная закваска + 10 % поливинилпирролидона	1810,0	86,2

Оценку температуры и продолжительности сублимационной сушки комбинированной закваски проводили при постоянных значениях тепловой нагрузки и остаточного давления. Исследовали влияние уровня стабилизации температуры высохшего слоя на продолжительность лиофилизации микроорганизмов. Кривые сушки комбинированной закваски при исследуемых уровнях стабилизации высохшего слоя (20 °С, 30 °С, 40 °С) представлены на рисунке 3.

Рисунок 3 свидетельствует о том, что с повышением температуры сушки сокращается ее продолжительность. Эти данные согласуются

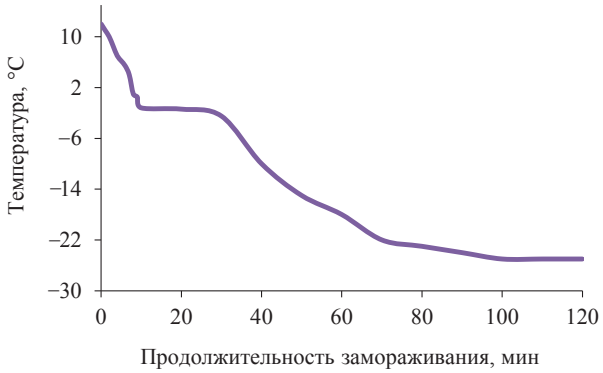


Рисунок 2 – Термограмма замораживания комбинированной закваски

Figure 2 – Freezing thermogram of the combined starter

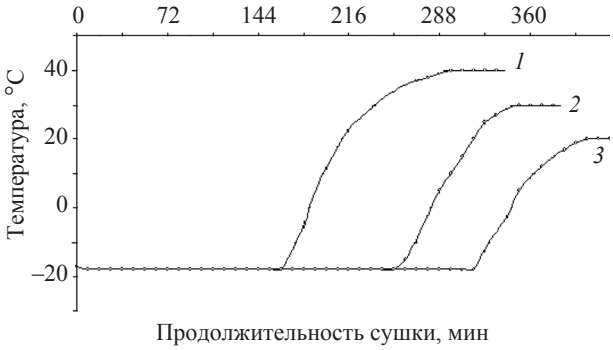


Рисунок 3 – Кривые сушки комбинированной закваски при температурах стабилизации высохшего слоя: *1* – 40 °С; *2* – 30 °С; *3* – 20 °С

Figure 3 – Drying curves of the combined starter at the following stabilization temperatures of the dried layer: *1* – 40°С; *2* – 30°С; *3* – 20°С

с количеством удаленной из закваски влаги в процессе сублимационной сушки (табл. 5).

Из таблицы 5 следует вывод о том, что с повышением уровня стабилизации температуры высохшего слоя увеличивается количество влаги, удаленной в период сублимации, и уменьшается количество влаги, удаленной в период прогрева.

С целью выбора оптимальной температуры и продолжительности сублимационной сушки закваски изучали также протеолитическую активность и органолептические показатели получаемых сгустков (табл. 6, 7).

Из таблицы 6 видно, что максимальная протеолитическая актив ность характерна для закваски, высушенной при температуре 30 °С.

На основании оценки органолептических показателей установлено, что при температурах сушки более 40 °С качество формируемого сгустка существенно снижается.

Таким образом, установлена оптимальная температура сублимационной сушки комбинированной закваски 30 °С продолжительностью 6 ч.

Важным параметром процесса сублимационной сушки является плотность теплового потока (тепловая нагрузка) – количество теплоты,

Таблица 5 – Количество влаги, удаленной из комбинированной закваски в процессе сублимационной сушки

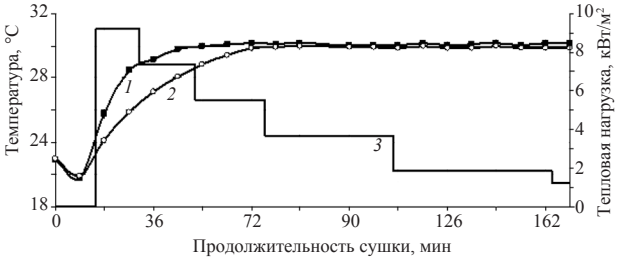
Table 5 – The amount of moisture removed from the combined starter during freeze-drying

Период сублимационной сушки	Количество влаги, удаленной во время сушки, % от общего количества, при температуре, °С				
	5	15	20	30	40
Вакуумирование системы	21	24	22	21	21
Сублимация	46	58	60	63	68
Прогрев	42	27	25	22	19
Общая продолжительность, мин	400	360	320	260	240

Таблица 6 – Влияние температуры сушки комбинированной закваски на протеолитическую активность

Table 6 – The effect of the drying temperature of the combined starter on proteolytic activity

Температура сушки, °С	Протеолитическая активность, Е/мг белка
20	2095,0
30	2110,0
40	1965,0



1 – температура на поверхности, *2* – температура в толпе, *3* – плотность теплового потока

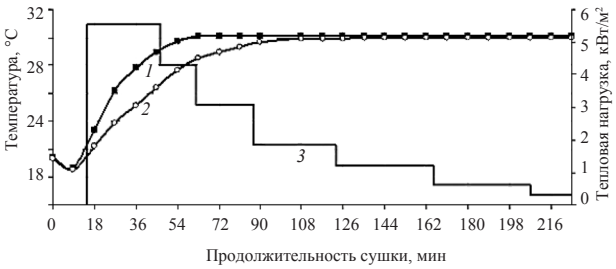
Рисунок 4 – Кривые вакуумной сушки комбинированной закваски при тепловой нагрузке 9,10 кВт/м²

Figure 4 – Vacuum drying curves for the combined starter at the heat load of 9.10 kW/m²

подведенное от нагревателей к единице площади высушиваемого продукта. От величины тепловой нагрузки зависит скорость достижения рациональной температуры сушки. Рациональную тепловую нагрузку необходимо подбирать с учетом температуры сушки, физико-химических и органолептических показателей высушиваемого продукта, продолжительности и энергозатрат процесса.

Исследования по подбору рациональной тепловой нагрузки для комбинированной закваски проводили при следующих значениях: 9,10; 5,45; 1,82 кВт/м². Температура сушки в экспериментах по определению рациональной тепловой нагрузки составляла 30 °С. Полученные результаты представлены на рисунках 4–6.

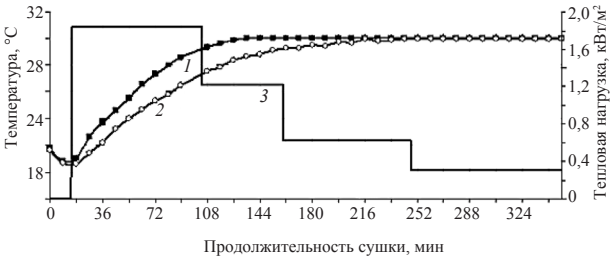
Из рисунков 4–6 следует, что с увеличением тепловой нагрузки продолжительность достижения поверхностью закваски температуры 30 °С сокращается. При тепловой нагрузке 9,10 кВт/м² температура поверхности закваски достигнута



1 – температура на поверхности, *2* – температура в толпе, *3* – плотность теплового потока

Рисунок 5 – Кривые вакуумной сушки комбинированной закваски при хранения тепловой нагрузке 5,45 кВт/м²

Figure 5 – Vacuum drying curves for the combined starter at the heat load of 5.45 kW/m²



1 – температура на поверхности, *2* – температура в толпе, *3* – плотность теплового потока

Рисунок 6 – Кривые вакуумной сушки комбинированной закваски при тепловой нагрузке 1,82 кВт/м²

Figure 6 – Vacuum drying curves for the combined starter at the thermal load of 1.82 kW/m²

за 55 минут; при 5,45 кВт/м² – 60–65 минут; при 1,82 кВт/м² – 140–150 минут.

Уменьшение тепловой нагрузки менее 5,45 кВт/м² неоправданно увеличивает продолжительность сушки до 8–13 часов. При тепловых нагрузках менее 5,0 кВт/м² комбинированная закваска имеет повышенную массовую долю влаги (рис. 7).

Рациональной тепловой нагрузкой для вакуумной сушки комбинированной закваски следует считать величину 5,45 кВт/м², так как при этой тепловой нагрузке продолжительность процесса сушки минимальна (60–65 мин), а массовая доля влаги в высушенной закваске не превышает 4,5 %.

Рациональный режим сушки осуществляется при минимальной затрате тепла и энергии и состоит в максимальном сохранении химико-технологических показателей объекта. Для осуществления такого

Таблица 7 – Влияние температуры сушки комбинированной закваски на органолептические показатели сгустка

Table 7 – The effect of the drying temperature of the combined starter on the organoleptic characteristics of the clot

Т, °С	Показатель		
	Внеш. вид и консистенция	Вкус и запах	Цвет
20	Однородная, в меру вязкая, без отделения сыворотки	Чистый кисломолочный, без посторонних привкусов и запахов	Молочно-белый, равномерный по всей массе
30	Однородная, в меру вязкая, без отделения сыворотки	Чистый кисломолочный, без посторонних привкусов и запахов	Молочно-белый, равномерный по всей массе
40	Однородная, вязкая, незначительное отделение сыворотки	Слабовыраженный	От белого до кремового, неравномерный

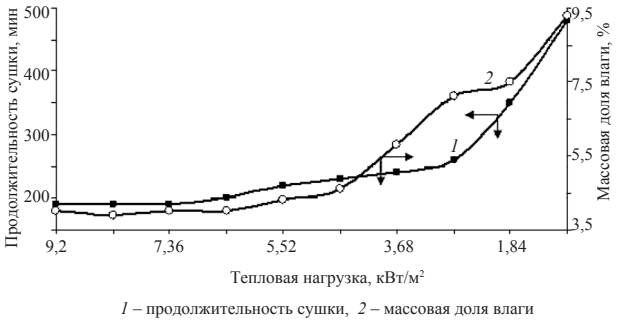


Рисунок 7 – Зависимость продолжительности сушки и массовой доли влаги в закваске от величины тепловой нагрузки

Figure 7 – The dependence of the drying time and the mass fraction of moisture in the starter on the heat load

режима сублимационной сушки необходимо знать, кроме рациональной температуры сушки и тепловой нагрузки, величину остаточного давления.

Для определения рациональной величины остаточного давления при сублимационной сушке комбинированной закваски проведены исследования при следующих его значениях: 0,3–0,5, 0,6–0,8, 1,0–1,2 кПа.

Продолжительность процесса сублимационной сушки комбинированной закваски при различных остаточных давлениях представлена в таблице 8.

Из таблицы 8 следует, что продолжительность сушки возрастает с увеличением остаточного давления. Для обоснованного выбора величины остаточного давления получены данные по удельным затратам теплоты (табл. 9).

Наименьшие удельные затраты теплоты характерны для остаточного давления 0,6–0,8 кПа. При остаточном давлении 0,3–0,5 кПа затраты теплоты увеличиваются из-за повышения коэффициентов рабочего времени холодильной машины и вакуумных насосов.

На основании анализа данных, представленных в таблицах 8–9, выбрана величина остаточного давления для осуществления процесса сублимационной сушки комбинированной закваски: 0,6–0,8 кПа.

Толщина слоя сушки является важным фактором, определяющим процесс сублимационной сушки (кинетику, скорость сушки) и качество сухого продукта (органолептические, физико-химические показатели).

Исследования по определению рациональной толщины слоя сублимационной сушки комбинированной закваски проводили при выбранных ранее режимных параметрах. Толщину слоя сушки варьировали от 1 до 3 мм с шагом 1 мм. Дальнейшее увеличение толщины слоя сушки нецелесообразно в связи с увеличением продолжительности сушки. С увеличением толщины слоя сушки продолжительность достижения центральными слоями закваски рациональной температуры увеличивается. Температура 30 °С достигается при толщине 1 мм за 110 мин; 2 мм – 190 мин; 3 мм – 360 мин.

Таблица 8 – Продолжительность сублимационной сушки комбинированной закваски в зависимости от величины остаточного давления, мин

Table 8 – Freeze-drying time of the combined starter and its dependence on the residual pressure, min

Остаточное давление, кПа	Продолжительность сушки, мин
0,3–0,5	160
0,6–0,8	240
1,0–1,2	320

Таблица 9 – Удельные затраты теплоты в зависимости от остаточного давления

Table 9 – Specific heat consumption and its dependence on residual pressure

Остаточное давление, кПа	Удельные затраты теплоты, кВт на кг удаленной влаги
0,3–0,5	1,0–1,2
0,6–0,8	0,7–0,8
1,0–1,2	1,2–1,5

Выводы

Окончательный выбор толщины слоя сушки, кроме продолжительности процесса, должен основываться на содержании массовой доли влаги в высушенной закваске.

Установлено, что массовую долю влаги не более 5,0 % имеет закваска, высушенная при толщине слоя не более 2 мм. С увеличением толщины слоя сушки массовая доля влаги возрастает. На основании проведенных экспериментов выбрана толщина слоя сушки комбинированной закваски – 2 мм.

Установлены режимные параметры сублимационной сушки комбинированной закваски: температура замораживания в защитной среде, содержащей 5 % глицерина, –25 °С продолжительностью 90 мин; температура сушки 30 °С; продолжительность сушки 6 ч; тепловая нагрузка 5,45 кВт/м²; остаточное давление 0,6–0,8 кПа, толщина слоя сушки – 2 мм.

После сублимационного высушивания комбинированной закваски при выбранных режимных параметрах ее хранили в течение 9 месяцев, контролируя протеолитическую и антагонистическую активность через каждый месяц.

Данные исследования свидетельствуют о высокой стабильности функциональной активности комбинированной закваски, высушенной сублимационным способом. После 9 месяцев хранения остаточная протеолитическая активность закваски составила 73,0 % от исходной.

Данные по антагонистической активности высушенной закваски после 3, 6 и 9 месяцев хранения свидетельствуют о сохранении высокой антагонистической активности лиофилизированной комбинированной закваски в процессе хранения.

Результаты анализа протеолитических и антагонистических свойств лиофилизированной комбинированной закваски в процессе хранения свидетельствуют о высокой эффективности

сохранения свойств выбранных штаммов молочнокислых микроорганизмов путем лиофильной сушки при подобранных режимных параметрах.

Конфликт интересов

Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

Список литературы

1. Вакуумная сушка бактериальных концентратов и заквасок молочных бактерий / Н. Э. Каухчешвили, А. Ю. Харитонов, Н. П. Сорокина [и др.] // Молочная промышленность. – 2011. – № 5. – С. 30–31.

2. Фролова, М. Д. Особенности разработки лиофилизированных заквасок / М. Д. Фролова // Молочная промышленность. – 2008. – № 6. – С. 70–71.

3. Selected lactic acid bacteria as a hurdle to the microbial spoilage of cheese: Application on a traditional raw ewes' milk cheese / L. Settanni, R. Gaglio, R. Guarcello [et al.] // International Dairy Journal. – 2013. – Vol. 32, № 2. – P. 126–132. DOI: https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.04.010.

4. ГОСТ 3626-77. Молоко и молочные продукты. Методы определения влаги и сухого вещества. – М. : Стандартинформ, 2014. – 11 с.

5. Novoselova, M. V. Technological options for the production of lactoferrin / M. V. Novoselova, A. Yu. Prosekov // Foods and Raw Materials. – 2016. – Vol. 4, № 1. – P. 90–101. DOI: https://doi.org/10.21179/2308-4057-2016-1-90-101.

6. Formation and study of symbiotic consortium of lactobacilli to receive a direct application starter / S. A. Sukhikh, V. Y. Krumlikov, A. O. Evsukova [et al.] // Foods and Raw Materials. – 2017. – Vol. 5, № 1. – P. 51–62. DOI: https://doi.org/10.21179/2308-4057-2017-1-51-62.

7. Development of osmotically active compositions for milk-based products with intermediate humidity / M. Strizhko, A. Kuznetsova, A. Galstyan [et al.] // Bulletin of the International Dairy Federation. – 2014. – № 472. – P. 35–40.

8. Kriger, O. Characteristics of The Molecular Weight Distribution of The Prion Protein Fractions in Blood and Milk Processing Products / O. Kriger, A. Lisitsyn, A. Prosekov // Biosciences Biotechnology Research Asia. – 2016. – Vol. 13, № 1. – P. 85–90. DOI: https://doi.org/10.13005/bbra/2007.

9. Functional properties of the enzyme-modified protein from oat bran / A. Prosekov, O. Babich, O. Kriger [et al.] // Food Bioscience. – 2018. – Vol. 24. – P. 46–49. DOI: https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.05.003.

10. The proteolytic activity research of the lactic acid microorganisms of different taxonomic groups / A. Prosekov, O. Babich, S. Asukhikh [et al.] // World Applied Sciences Journal. – 2013. – Vol. 23, № 10. – P. 1284–1290. DOI: https://doi.org/10.5829/idosi.wasj.2013.23.10.13143.

11. Prosekov, A. Yu. Theory and practice of prion protein analysis in food products / A. Yu. Prosekov // Foods and Raw Materials. – 2014. – Vol. 2, № 2. – P. 106–120. DOI: https://doi.org/10.12737/5467.

12. Перфильев, Г. Д. Состав микрофлоры заквасок и концентратов для сыроделия / Г. Д. Перфильев, Н. П. Сорокина, Н. В. Суслов // Сыроделие. – 1999. – № 3. – С. 10–13.

13. Калинова, М. В. Новая бактериальная закваска «LAT YC» в сыроделии / М. В. Калинова // Известия нижневолжского агроуниверситетского комплекса: наука и высшее профессиональное образование. – 2011. – Т. 22, № 2. – С. 123–127.

14. Prosekov, A. Yu. Food security: The challenge of the present / A. Yu. Prosekov, S. A. Ivanova // Geoforum. – 2018. – Vol. 91. – P. 73–77. DOI: https://doi.org/10.1016/j.geoforum.2018.02.030.

15. Королева, Н. С. Способ приготовления сухих заквасок / Н. С. Королева, И. Н. Пятницына, Л. А. Банникова // Молочная промышленность. – 1984. – № 5. – С. 27–29.

16. Регулирование и контроль процессов биосинтеза молочнокислых бактерий / Д. А. Киселев, О. С. Корнеева, Е. А. Мотина [и др.] // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 4–2. – С. 391–395.

17. Prosekov, A. Yu. Determination of cinnamic acid by capillary zone electrophoresis using ion-pair reagents / A. Yu. Prosekov, O. V. Mudrikova, O. O. Babich // Journal of Analytical Chemistry. – 2012. – Vol. 67, № 5. – P. 474–477. DOI: https://doi.org/10.1134/S1061934812030100.

18. Сорокина, Н. П. Контроль качества бактериальных концентратов и заквасок / Н. П. Сорокина // Молочная промышленность. – 2008. – № 2. – С. 20.

References

1. Kauhcheshvili N.E., Haritonov A.Yu., Sorokina N.P., and Smirnov E.A. Vacuum drying of the bacterial concentrates and lactic acid bacteria starter cultures. *Dairy Industry*, 2011, no. 5, pp. 30–31. (In Russ.).

2. Frolova M.D. Some special aspects of the lyophilized starter cultures development. *Dairy Industry*, 2008, no. 6, pp. 30–71. (In Russ.).

3. Settanni L., Gaglio R., Guarcello R., et al. Selected lactic acid bacteria as a hurdle to the microbial spoilage of cheese: Application on a traditional raw ewes' milk cheese. *International Dairy Journal*, 2013, vol. 32, no. 2, pp. 126–132. DOI: https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.04.010.

4. State Standard 3626-77. Milk and milk products. Methods for determination of moisture and dry substance. Moscow: Standartinform Publ., 2014. 11 p.

5. Novoselova M.V. and Prosekov A.Yu. Technological options for the production of lactoferrin. *Foods and Raw Materials*, 2016, vol. 4, no. 1, pp. 90–101. DOI: https://doi.org/10.21179/2308-4057-2016-1-90-101.

6. Sukhikh S.A., Krumlikov V.Y., Evsukova A.O., and Asyakina L.K. Formation and study of symbiotic consortium of lactobacilli to receive a direct application starter. *Foods and Raw Materials*, 2017, vol. 5, no. 1, pp. 51–62. DOI: https://doi.org/10.21179/2308-4057-2017-1-51-62.

7. Strizhko M., Kuznetsova A., Galstyan A., et al. Development of osmotically active compositions for milk-based products with intermediate humidity. *Bulletin of the International Dairy Federation*, 2014, no. 472, pp. 35–40.

8. Kriger O., Lisitsyn A., and Prosekov A. Characteristics of The Molecular Weight Distribution of The Prion Protein Fractions in Blood and Milk Processing Products. *Biosciences Biotechnology Research Asia*, 2016, vol. 13, no. 1, pp. 85–90. DOI: https://doi.org/10.13005/bbra/2007.

9. Prosekov A., Babich O., Kriger O., et al. Functional properties of the enzyme-modified protein from oat bran. *Food Bioscience*, 2018, vol. 24, pp. 46–49. DOI: https://doi.org/10.1016/j.fbio.2018.05.003.

10. Prosekov A., Babich O., Asukhikh S., Noskova S., and Dushlyuk L. The proteolytic activity research of the lactic acid microorganisms of different taxonomic groups. *World Applied Sciences Journal*, 2013, vol. 23, no. 10, pp. 1284–1290. DOI: https://doi.org/10.5829/idosi.wasj.2013.23.10.13143.

11. Prosekov A.Yu. Theory and practice of prion protein analysis in food products. *Foods and Raw Materials*, 2014, vol. 2, no. 2, pp. 106–120. DOI: https://doi.org/10.12737/5467.

12. Perfil′ev G.D., Sorokina N.P., and Suslov N.V. Sostav mikroflory zakvasok i kontsentratov dlya syrodeliya [The composition of the microflora of starters and concentrates for cheese making]. *Magazine Cheesemaking and Buttermaking*, 1999, no. 3, pp. 10–13. (In Russ.).

13. Kalinova M.V. Novaya bakterial′naya zakvaska “LAT YC” v syrodelii [New bacterial starter “LAT YC” in cheese making]. *Proceedings of Nizhnevolzhskiy agrouniversity complex: science and higher vocational education*, 2011, vol. 22, no. 2, pp. 123–127. (In Russ.).

14. Prosekov A.Yu. and Ivanova S.A. Food security: The challenge of the present. *Geoforum*, 2018, vol. 91, pp. 73–77. DOI: https://doi.org/10.1016/j.geoforum.2018.02.030.

15. Koroleva N.S., Pyatnitsyna I.N., and Bannikova L.A. Sposob prigotovleniya sukhikh zakvasok [A preparation method for a dry starter]. *Dairy Industry*, 1984, no. 5, pp. 27–29. (In Russ.).

16. Kiselev D.A., Korneeva O.S., Motina E.A., and Shuvaev P.V. Lactic acid bacteria biosynthesis regulation and control. *Fundamental research*, 2012, no. 4–2, pp. 391–395. (In Russ.).

17. Prosekov A.Yu., Mudrikova O.V., and Babich O.O. Determination of cinnamic acid by capillary zone electrophoresis using ion-pair reagents. *Journal of Analytical Chemistry*, 2012, vol. 67, no. 5, pp. 474–477. DOI: https://doi.org/10.1134/S1061934812030100.

18. Sorokina N.P. Quality control of the bacterial concentrates and starter cultures. *Dairy Industry*, 2008, no. 2, pp. 20. (In Russ.).

Кригер Ольга Владимировна
д-р техн. наук, профессор Института живых систем, ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», 236016, Россия, г. Калининград, ул. А. Невского, 14, тел.: +7 (923) 498-45-64, e-mail: olgakriger58@mail.ru
https://orcid.org/0000-0002-1489-0716

Olga V. Kriger
Dr.Sci.(Eng.), Professor of the Institute of Living Systems, Immanuel Kant Baltic Federal University, 14, A. Nevskogo Str., Kaliningrad, 236016, Russia, phone: +7 (923) 498-45-64, e-mail: olgakriger58@mail.ru
https://orcid.org/0000-0002-1489-0716

Носкова Светлана Юрьевна
канд. техн. наук, менеджер Института живых систем, ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта», 236016, Россия, г. Калининград, ул. А. Невского, 14, тел.: +7 (923) 616-79-56, e-mail: svykrum@mail.ru
https://orcid.org/0000-0003-1198-1951

Svetlana Yu. Noskova
Cand.Sci.(Eng.), Manager of the Institute of Living Systems, Immanuel Kant Baltic Federal University, 14, A. Nevskogo Str., Kaliningrad, 236016, Russia, phone: +7 (923) 616-79-56, e-mail: svykrum@mail.ru
https://orcid.org/0000-0003-1198-1951