

ВІДБІР ЛАКТОБАКТЕРІЙ ДЛЯ ВИРОБНИЦТВА СИЧУЖНИХ СИРІВ
ЗІ ЗНИЖЕНОЮ МАСОВОЮ ЧАСТКОЮ ЖИРУ

Шугай М.О.¹, к.б.н, с.н.с.
<https://orcid.org/0000-0003-1844-5967>

Чорна Н.А.¹, н.с.
<https://orcid.org/0000-0002-2299-323X>

¹Інститут продовольчих ресурсів НААН, м. Київ, Україна

<https://doi.org/10.31073/foodresources2021-16-22>

Сири, вироблені за традиційною технологією, зазвичай містять 45 % - 50 % молочного жиру в сухій речовині, тому їх віднесено до висококалорійних продуктів і не рекомендовано включати до раціону людей, які потребують дієтичного харчування. В країнах Європи дієтичні низькокалорійні сичужні сири досить широко представлені в торгівельній мережі, натомість в Україні такі продукти є досить рідкісними, дорогими і зазвичай закордонного виробництва. Молочний жир є важливим структурним і смаковим компонентом сичужних сирів і суттєве зменшення його вмісту в молочній сировині призводить до отримання продукту низької споживчої якості з такими вадами як невиражений смак, груба, резиниста консистенція. Пропорційно зменшенню масової частки (МЧ) жиру в сирі, вади виявляються сильніше. Розв'язання даної проблеми потребує комплексного підходу, який полягає в корекції технологічних прийомів виробки й визрівання сиру та оптимізації складу заквашувальної мікрофлори. Поліпшити органолептичні показники низькокалорійних сирів можна завдяки введенню до їх структури екзополісахаридів (ЕПС) – високомолекулярних полімерів, які синтезуються деякими штамами молочнокислих бактерій (МКБ). **Предмет дослідження** : біологічні та технологічні властивості лактобактерій. **Метою роботи** є пошук штамів МКБ із заданими фізіолого-біохімічними характеристиками для подальшого використання у виробництві дієтичних сичужних сирів зі зниженою МЧ жиру. У роботі використані загальнозживані мікробіологічні та технологічні **методи досліджень**. **Результати дослідження**. Показано доцільність використання сахарози як єдиного джерела вуглеводного живлення для проведення скринінгу лактобактерій з ЕПС-активністю. З некомерційних кисломолочних продуктів вилучено і досліджено за технологічними властивостями шість штамів лактобактерій, ідентифікованих як *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus plantarum* і *Leuconostoc mesenteroides*. В лабораторних умовах підтверджено доцільність використання лактобактерій з ЕПС-активністю для виробництва сиру зі зниженою МЧ жиру. Залучення нових культур МКБ до закваски дозволило збільшити вміст вологи в сирі на (6,5-8,3) % порівняно з контролем та поліпшити його текстуру і смак. **Сфера застосування результатів дослідження**. Використання лактобактерій-продуцентів ЕПС дозволить поліпшити споживчі характеристики сичужних сирів з редукованою жирністю, розширити вітчизняний асортимент даних продуктів, підвищити їх біологічну цінність, що матиме позитивний вплив на здоров'я людей, які потребують дієтичного харчування, а також усіх груп населення.

Ключові слова: екзополісахариди, молочнокислі бактерії, сир зі зниженою масовою часткою жиру

SELECTION OF LACTIC ACID BACTERIA FOR THE
MANUFACTURE OF LOW-FAT RENNET CHEESE

Myroslava Shugai¹, PhD, Biological, Senior Researcher
<https://orcid.org/0000-0003-1844-5967>

Natalia Tshorna¹, Researcher
<https://orcid.org/0000-0002-2299-323X>

¹Institute of Food Resources of NAAS, Kyiv, Ukraine

<https://doi.org/10.31073/foodresources2021-16-22>

*Cheeses produced using traditional technology usually contains 45 % - 50 % of milk fat in dry matter, therefore they are classified as high-calorie foods and are not recommended to be included in the diet of people who need dietary nutrition. In the European countries, dietary low-calorie rennet cheeses are widely represented in the trade network, and in Ukraine such products are quite rare, expensive and usually of foreign production. Milk fat is an important structural and flavoring component of rennet cheeses and a significant decrease in its content in milk leads to a product of low consumer quality with problems such as unexpressed taste, coarse, rubbery consistency. In proportion to the decrease in the mass fraction of fat in the cheese, the disadvantages are more pronounced. The solution to this problem requires an integrated approach, which consists in the correction of technological methods for the production and maturation of cheese and the optimization of the composition of fermented microflora. It is possible to improve the sensorial characteristics of low-calorie cheeses by introducing into their structure exopolysaccharides (EPS) – high-molecular polymers synthesized by some strains of lactic acid bacteria (LAB). **Research subject:** biological and technological properties of LAB. **The aim of this work** is to search for strains of LAB with given physiological and biochemical characteristics for further use in the production of dietary rennet cheeses with a reduced mass fraction (MF) of fat. The common microbiological and technological **research methods** were used in the work. **Research results.** The expediency of using sucrose as the only source of carbohydrate nutrition for screening LAB with EPS-activity has been shown. Six strains of LAB identified as *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus plantarum* and *Leuconostoc mesenteroides* were withdrawn from non-commercial fermented milk products and studied for their technological properties. In laboratory conditions, the expediency of using LAB with EPS-activity for the production of cheese with a reduced MF of fat has been confirmed. The use of new cultures LAB in the composition of the starter culture allowed increasing the moisture content in the cheese by (6.5-8.3)% compared to the control and to improve its texture and taste. **Scope of research results application.** The use of LAB-producers of EPS will improve the consumer characteristics of rennet cheeses with reduced fat content, expand the domestic range of these products, increase their biological value, will have a positive effect on the health of people who need dietary nutrition, as well as all population groups.*

Key words: exopolysaccharides, lactic acid bacteria, low-fat cheese

Постановка проблеми. Низькокалорійні сири зі зниженою МЧ жиру, наближені за органолептичними показниками до їх висококалорійних аналогів, стають все більш популярними. Вони мають вищий вміст білка, їх харчова цінність визначається більшою кількістю незамінних амінокислот: лізину, треоніну, валіну, метіоніну, лейцину, тирозину, триптофану і фенілаланіну, що робить такі сири продуктами підвищеної біологічної цінності [1, 2].

Класичні напівтверді сири (Голландський, Український, Російський, та ін.), які становлять базовий асортимент більшості вітчизняних сироробних підприємств, містять МЧ жиру на рівні 45,0 % і 50,0 % в перерахунку на суху речовину. У сирах зі зниженою

жирністю вміст жиру в перерахунку на суху речовину становить зазвичай від 20,0 % до 30,0 %.

Хімічний склад сиру істотно впливає на спрямованість та інтенсивність мікробіологічних і біохімічних процесів. МЧ жиру в сирі – важливий показник, який взаємопов'язаний зі споживчими характеристиками кінцевого продукту. Наявність достатньої кількості жиру в сирі робить консистенцію більш пластичною, а смак більш вираженим за рахунок утворених під час ліполізу вільних жирних кислот. Сири редукованої жирності, вироблені за традиційною технологією, характеризуються невираженим смаком і грубою, резинистою консистенцією. Ці вади вивляються тим сильніше, чим менша масова частка жиру в сирі [3].

Проблема смаку низькожирного сиру може бути пов'язана з нестачею жиру як розчинника ароматичних сполук, зі змінами структури, а також через гальмування ферментативних реакцій ліполізу молочного жиру. Як наслідок, у сирі виявляється нижчий вміст жирних кислот, зокрема, бутанової та гексанової [4]. Зменшення вмісту жиру впливає на такі характеристики текстури продукту як твердість, клейкість, пружність і жуйність [5]. Сирам з низьким вмістом жиру притаманна менш пориста структура порівняно з повножирними аналогами (рис. 1).

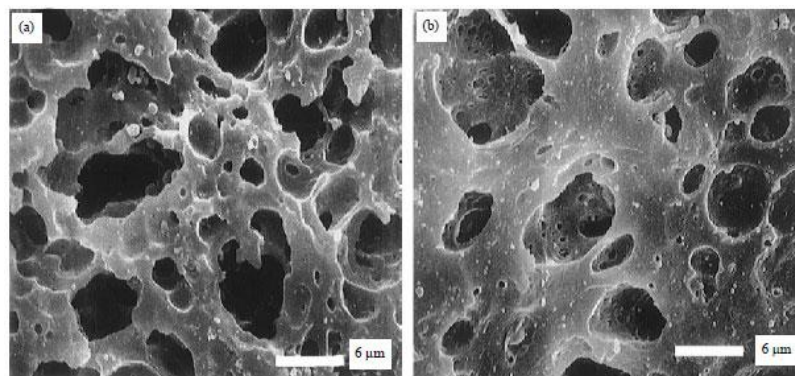


Рис. 1. Скануючі електронні мікрофотографії сиру
(ліворуч) зі звичайним вмістом жиру та (праворуч) з низьким вмістом жиру (за [4]).

Молочний жир у сирах, виготовлених за традиційними технологіями, зазвичай рівномірно розподіляється в межах казеїнової матриці. Зі зменшенням вмісту жиру в сирі, зростає вміст білка та води. Оскільки вода не може замінити вилучений об'єм жиру і гірше утримується менш пористою структурою сирого матриксу, спостерігається значне зменшення її вмісту у знежиреній речовині, що супроводжується збільшенням твердості продукту.

Таким чином, виробництво сиру зі зниженою МЧ жиру з прийнятними споживчими характеристиками потребує коригування технології. Метою корекції є підвищення співвідношення води до білка та зниження агрегації параказеїну. Коригування можуть здійснюватись в сирному молоці і стосуватися змін його складу, під час термічної обробки, гомогенізації, під час виробки – в умовах різання, впливу температури, соління, визрівання, а також пов'язані зі змінами складу заквасок [4, 6].

Поліпшити смакові та реологічні показники низькокалорійних сирів можна завдяки введенню до їх структури екзополісахаридів (ЕПС) – високомолекулярних полімерів, які синтезуються мікроорганізмами, у тому числі деякими штамми молочнокислих бактерій.

Явище синтезу молочнокислими бактеріями ЕПС нині інтенсивно досліджується і накопичено багато даних щодо складу цих природних біополімерів, їх структури та властивостей. Штами-продуценти ЕПС виявлено серед представників родів *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* і *Pediococcus*. Екзополісахариди МКБ мають унікальні фізичні та реологічні властивості, які зумовлюють їх використання у харчовій

промисловості як в'яжучих, стабілізуючих агентів, особливо у виробництві кисломолочних продуктів – йогуртів, сметани. Відомі розробки іноземних авторів щодо поліпшення споживчих характеристик низькокалорійних сирів завдяки використанню ЕПС-синтезуючих штамів [7, 8]. Також показано, що ЕПС виявляють на організм людини імуностимулюючу, протипухлинну та антиоксидантну дію [9].

Отже, ключовим питанням технології отримання сирів зі зниженою МЧ жиру є залучення до складу заквашувальних препаратів штамів МКБ, які задовольняють вимоги, що висуваються до заквашувальних культур у сироварінні та мають достатню ЕПС-синтезуючу активність. Оскільки здатність продукувати ЕПС є штамоспецифічною ознакою, пошук нових штамів-продуцентів серед МКБ – представників природної мікробіоти некомерційних ферментованих продуктів, є актуальним завданням. Саме на пошук таких культур лактобактерій та їх випробування за умов *in situ* спрямовані дані дослідження.

Матеріали та методи. Вилучення мікроорганізмів проводили з проб самоквасних молочних продуктів. Для скринінгу ЕПС-штамів скористались агаризованими середовищами – гідролізованим молоком, сахарозним середовищем і MRS з додаванням глюкози, лактози і сахарози (за концентрації вуглеводів – 5 % від об'єму середовища) (Табл. 1)

Таблиця 1

Вилучення лактобактерій з проб (умови культивування)

№	Рід або вид лактобактерій	Агаризоване середовище	Температура культивування, °С	Джерело виділення
1	<i>Streptococcus thermophilus</i>	Гідролізоване молоко	37	Варенець, простокваша
2	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	MRS з додаванням вуглеводів	37	Варенець, простокваша
3	<i>Lactobacillus plantarum</i>	MRS з додаванням вуглеводів	37	Сир кисломолочний,
4	<i>Leuconostoc</i>	Сахарозне середовище	22	Сметана, сир кисломолочний

Титровану кислотність штамів та їх композицій визначали згідно з ГОСТ 3624-92, активну кислотність – потенціометрично, молокозсідальну активність – за часом утворення молочного згустку, умовну в'язкість – за часом витікання молочного згустку з піпетки вмістом 10 см³. Вологоутримувальну здатність (ВУЗ) визначали шляхом центрифугування молочного згустку за 1000 об/хв упродовж 8 хв і обчислювали за формулою:

$$ВУЗ = \frac{h}{H} \times 100\%, \text{ де} \quad (1)$$

H – висота молочного згустку в пробірці до центрифугування, мм;

h – висота осаду після центрифугування, мм;

Біосумісність лактобацил визначали «крапельним» методом на агаризованому середовищі на основі гідролізованого молока, ідентифікацію – згідно з [10].

Дослідні виробки сирів проводили за технологією виробництва сирів з низькою температурою другого нагрівання.

Результати та обговорення. Основними критеріями відбору культур для виробництва сирів за традиційними технологіями є помірна енергія кислотоутворення при культивуванні у молоці, добрий синерезис утвореного згустку, здатність до протеолізу й синтезу ароматичних речовин. Важливими є стійкість до несприятливих для життєдіяльності лактобактерій технологічних факторів: підвищених концентрацій солі, високих температур, а також фагостійкість і висока антагоністична активність до сторонньої мікрофлори.

Особливістю заквашувальних культур для виробництва сирів з редукованою жирністю є залучення штамів, здатних продукувати ЕПС. За даними літератури ЕПС можуть частково компенсувати вилучений молочний жир завдяки вищій вологоутримувальній здатності, що дозволяє поліпшити текстуру готового продукту [11].

Загалом, з досліджуваних проб вдалось вилучити 15 штамів лактобактерій з ЕПС-активністю, придатних до культивування в лабораторних умовах. Кількість виявлених штамів лактобактерій з ЕПС-активністю була вищою у разі використання сахарози (рис. 2), натомість на середовищі з глюкозою не було виявлено жодного штаму. Очевидно, для пошуку ЕПС-активних штамів МКБ, доцільно використовувати агаризовані середовища з додаванням сахарози як єдиного джерела вуглеводного живлення.



Рис. 2. Частота виділення штамів лактобактерій, що продукують ЕПС, залежно від джерела виділення та вуглеводу в середовищі

Досліджено реологічні характеристики лактобактерій з ЕПС-активністю: умовну в'язкість утворюваних молочних згустків, їх здатність до синерезису. За результатами досліджень створено тринадцять композицій лактобактерій, визначено реологічні характеристики утворюваних згустків, проведено їх дегустацію. За критеріями смаку та умовної в'язкості до подальшої роботи відібрано композиції № 2 та № 6 (Табл. 2). Штами лактобактерій, що входили до їх складу, ідентифіковано як *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus plantarum* і *Leuconostoc mesenteroides* (Табл. 3).

Таблиця 2

Характеристики композицій лактобактерій зі штамми з ЕПС-активністю

№	Кислотність				Умовна в'язкість, с	Синерезис, %, смак
	Через 3 год, од. рН	Через 6 год, од. рН	Через 24 год, од. рН	Через 24 год, °Т		
1	6,18	5,03	4,57	94	6,0	52, посередній
2	6,15	5,05	4,57	98	21,2	45, смачний
3	6,20	5,14	4,29	116	7,0	48, пустий
4	6,21	5,16	4,29	116	29,9	49, смачний
5	6,18	5,13	4,28	116	7,5	51, пустий
6	6,20	5,17	4,30	113	24,8	46, смачний
7	6,14	5,08	4,29	114	6,7	50, пустий
8	6,14	5,13	4,30	116	25,3	47, тягучий
9	6,26	5,07	4,44	100	15,1	48, пустий
10	6,25	5,00	4,65	92	6,1	51, посередній

11	6,30	5,02	4,42	102	12,9	49, посередній
12	6,26	5,03	4,65	91	6,5	50, посередній
13	6,02	5,48	4,36	113	34,3	43, тягучий

Таблиця 3

Морфологічні та фізіолого-біохімічні властивості штамів лактобактерій

№	Характеристики	Штами					
		1	2	3	4	5	6
1.	Реакція за Грамом	+	+	+	+	+	+
2.	Морфологія клітин	К	К	П	П	К	К
3.	Рухливість клітин	—	—	—	—	—	—
4.	Наявність каталази	—	—	—	—	—	—
5.	CO ₂ з глюкози	—	—	—	—	—	—
6.	NH ₄ з аргініну	—	—	—	—	—	—
7.	Ріст за: 15 °C	—	—	—	+	+	+
	30 °C	+	+	+	+	+	+
	37 °C	+	+	+	+	+	+
	48 °C	—	—	+	—	—	—
9.	Ріст у МПБ (рН 8,3)	нд	нд	—	нд	нд	нд
10.	Ріст за наявності NaCl:						
	4 %	—	—	—	+	—	—
	5 %	—	—	—	+	—	—
11.	Ферментування:						
	Арабіноза	—	—	—	—	—	—
	Галактоза	+	+	—	+	+	+
	Глюкоза	+	+	+	+	+	+
	Лактоза	+	+	+	+	+	+
	Ксилоза	—	—	—	—	+	—
	Мальтоза	+	+	+	+	+	—
	Манітол	+	+	—	+	+	—
	Манноза	—	—	—	+	+	—
	Мелібіоза	+	+	—	+	+	—
	Рамноза	—	—	—	—	нд	нд
	Рафіноза	—	—	—	+	+	—
	Рибоза	—	—	—	—	+	—
	Сахароза	+	+	+	+	+	+
	Сорбітол	—	—	—	+	нд	нд
	Трегалоза	+	+	—	+	+	—
	Фруктоза	+	+	+	+	+	—
	Целобіоза	—	—	—	+	—	—

Примітка.

+ - наявність ознаки; — - відсутність ознаки; нд - не досліджували;

1,2 – *Streptococcus thermophilus*; 3 – *Lactobacillus bulgaricus*; 4 – *Lactobacillus plantarum*;5,6 – *Leuconostoc mesenteroides*

На наступному етапі роботи проводили виробки сирів з використанням композицій лактобактерій № 2 та № 6. Усі виробки проводили за технологією виробництва сирів з низькою температурою другого нагрівання. Контролями слугували:

- сир, вироблений з молока з МЧ жиру 3,0 % з використанням закваски Даніско (без ЕПС-бактерій)
- сир, вироблений з молока з МЧ жиру 1,0 % з використанням закваски Даніско (без ЕПС-бактерій).

Дані щодо хімічного складу отриманих сирів представлено на діаграмі (Рис. 3.)

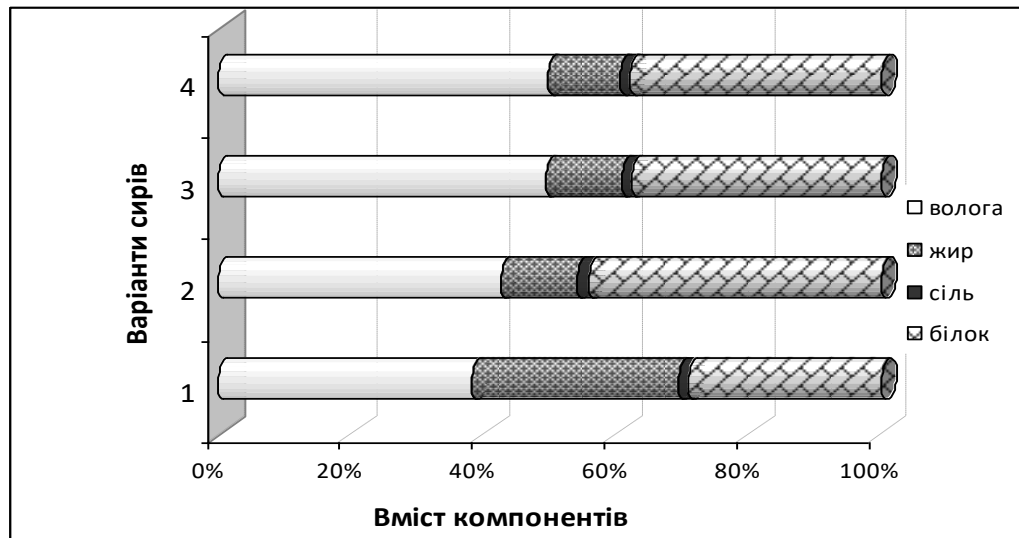


Рис. 3. Хімічний аналіз сирів, вироблених з:

- 1 – молока з МЧ молочного жиру 3,2 % з використанням традиційної закваски;
- 2 – молока з МЧ молочного жиру 1,0 % з використанням традиційної закваски;
- 3 – молока з МЧ молочного жиру 1,0 % в сухій речовині та з використанням заквашувальної композиції з ЕПС № 2;
- 4 – молока з МЧ молочного жиру 1,0 % в сухій речовині та з використанням заквашувальної композиції з ЕПС № 6.

За результатами хімічного аналізу дослідних сирів зроблено висновок, що залучення нових культур з ЕПС-активністю дозволяє збільшити вміст вологи у готовому продукті на (6,5-8,3) % порівняно з контролем, і, таким чином, поліпшити його споживчі характеристики. Під час дегустації було відмічено, що дослідні сири, вироблені з композиціями № 2 та № 6, мали ніжнішу консистенцію порівняно з контролем (сир № 2), однак за смаковими характеристиками поступалися повножировому аналогу (контрольний сир №1).

Висновки. Показано доцільність використання сахарози як єдиного джерела вуглеводного живлення для проведення скринінгу лактобактерій з ЕПС-активністю. З некомерційних кисломолочних продуктів вилучено і досліджено за технологічними властивостями шість штамів лактобактерій, ідентифікованих як *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus plantarum* і *Leuconostoc mesenteroides*.

В лабораторних умовах підтверджено доцільність використання лактобактерій-продуцентів ЕПС для виробництва сиру зі зниженою МЧ жиру. Залучення нових культур МКБ до закваски дозволило збільшити вміст вологи в сирі на (6,5-8,3) % порівняно з контролем та поліпшити його текстуру і смак.

Бібліографія

1. Papademas P., Bintsis T. (Eds) Global Cheesemaking Technology: Cheese Quality and Characteristics. Wiley; Hoboken, NJ, USA: 2017. 461 p.
2. Henriques M.H.F., Pereira C.J.D. Cheese Production, Consumption and Health Benefits. Nova Science Publishers, Inc.; Hauppauge, NY, USA: 2017. 287 p.
3. Sulejmani E. Changes in volatile compounds, microstructure and texture of sharri cheese during maturation. Journal of Nutrition, Food Research and Technology. 2018. №1. P. 6-12.
4. Mohamed A.G. Low-Fat Cheese : A Modern Demand. International Journal of Dairy Science. 2015. №10(6). P. 249-265.
5. Ognean, C.F., Darie N., Ognean M. Fat replacers-review. J. Agroalimen. Process. Technol. 2006. №12. P. 433-442.

6. Fox P.F., McSweeney P.L.H., Eds. Springer: New York, NY, USA, 2006. Volume 2, P. 377-440.
7. Hassan A.N., Awad S. Application of Exopolysaccharide-Producing Cultures in Reduced-Fat Cheddar Cheese. Cryo-Scanning Electron Microscopy Observations. *Journal of Dairy Science*. 2005. №88. P. 4214-4220.
8. Morsi E. S. Production of Low Fat Cheddar Cheese Made Using Exopolysaccharide-Producing Cultures and Selected Ripening Cultures. *Advances in Microbiology*. 2014. № 4. P. 986-995.
9. Priyanka S., Pinki S. Food and Health Potentials of Exopolysaccharides Derived from Lactobacilli. *Microbiology Research Journal International*. 2017. №22(2). P. 1-14.
10. Хоулт Дж. Определитель бактерий Берджи: в 2 т. пер. с англ. под ред. Г. А. Заварзина. Москва: Мир. 1997. Т.1. 432 с. Т.2. 368 с.
11. Gursel A., Sanli E., Acar E., Benli M. The effect of using an exopolysaccharide-producing culture on the physicochemical properties of low-fat and reduced-fat Kasar cheeses. *Int. J. Dairy Technol*. 2013. №66. 535–542.

References

1. Papademas P., Bintsis T. (Eds). (2017). *Global Cheesemaking Technology: Cheese Quality and Characteristics*. Wiley; Hoboken, NJ, USA.: 461 p.
2. Henriques M.H.F., Pereira C.J.D. (2017) *Cheese Production, Consumption and Health Benefits*. Nova Science Publishers, Inc.; Hauppauge, NY, USA. 287 p.
3. Sulejmani E. (2018). Changes in volatile compounds, microstructure and texture of sharri cheese during maturation. *Journal of Nutrition, Food Research and Technology (JNFRT)*. №1. P. 6-12.
4. Mohamed A.G. (2015). Low-Fat Cheese. A Modern Demand. *International Journal of Dairy Science*. №10(6). P. 249-265.
5. Ognean, C.F., Darie N., Ognean M. (2006). Fat replacers-review. *J. Agroalimen. Process. Technol*. №12. P. 433-442.
6. Fox P.F., McSweeney P.L.H. (2006). Springer: New York, NY, USA: Volume 2. pp. 377-440.
7. Hassan, A.N., Awad, S. (2005) Application of Exopolysaccharide-Producing Cultures in Reduced-Fat Cheddar Cheese: Cryo-Scanning Electron Microscopy Observations. *Journal of Dairy Science*. №88. P. 4214-4220.
8. Morsi E. S. (2014). Production of Low Fat Cheddar Cheese Made Using Exopolysaccharide-Producing Cultures and Selected Ripening Cultures. *Advances in Microbiology*. № 4. P. 986-995.
9. Priyanka S. Pinki S. (2017). Food and Health Potentials of Exopolysaccharides Derived from Lactobacilli. *Microbiology Research Journal International*. №22(2). P. 1-14.
10. Khoult Dzh., Zavarzina G. A. (Ed). (1997). *Opredelitel` bakterij Berdzh: v 2 t. per. s angl.* [Opredelitel' bakterij Berdzh: v 2 t. per. s angl]. Moskva: Mir. T.1. 432 p. T.2. 368 p.
11. Gursel A., Sanli E., Acar E., Benli M. (2013). The effect of using an exopolysaccharide-producing culture on the physicochemical properties of low-fat and reduced-fat Kasar cheeses. *Int. J. Dairy Technol*. №66. 535-542.