

УДК 637.3.05

ПЕРСПЕКТИВИ ВИКОРИСТАННЯ *LACTOBACILLUS CASEI* У ВИРОБНИЦТВІ СИРУ ЗІ СКОРОЧЕНИМ ТЕРМІНОМ ВИЗРІВАННЯ

Шурай М. О., к.б.н, с.н.с.

<https://orcid.org/0000-0003-1844-5967>

Інститут продовольчих ресурсів НААН, м. Київ, Україна

<https://doi.org/10.31073/foodresources2022-19-19>

Предмет дослідження. У виробничому циклі отримання натуральних сирів значний період часу становить дозрівання. Його тривалість залежить від виду сиру і може займати від кількох тижнів до декількох місяців. Під час визрівання найважливішу роль відіграють перетворення, пов'язані з розщепленням протеїнів – реакції протеолізу, внаслідок яких з'являються різноманітні речовини, що визначають споживчі характеристики кінцевого продукту. Останнім часом з огляду на економічні чинники велика увага приділяється прискореному дозріванню сиру. Проблема виробництва сирів зі скороченим терміном визрівання полягає у створенні умов, за яких реакції протеолізу перебігали б інтенсивніше, але без появи гірких пептидів, які зазвичай утворюються за надмірного первинного протеолізу. **Мета.** Дослідити вплив молочнокислих бактерій виду *Lactobacillus casei* (L. casei) на технологічний процес виробки і визрівання сиру та органолептичні показники цільового продукту; оцінити перспективи використання даного методу і штаму як додаткової культури, що скорочує термін визрівання сиру. **Методи.** За технологією твердих сичужних сирів з низькою температурою другого нагрівання (період визрівання 40 діб за температури 10÷12°C) вироблено два варіанти сиру: дослідний, до якого одночасно із закваскою внесли додаткову культуру – L. casei з розрахунку, щоб чисельність клітин штаму в молочній суміші становила 1×10^5 КУО/см³, та контрольний сир, що містив лише закваску. Мікробіологічні та біохімічні аналізи проводили за стандартизованими методиками. Визначали: загальну чисельність молочнокислих бактерій і лактобацил; активну кислотність та масову частку вологи у сирі; вміст загального, розчинного і небілкового нітрогену (методом К'ельдаля); амінокислотний склад. Біохімічні дослідження здійснювали після пресування та наприкінці визрівання сиру. Органолептично оцінювали сир на 40-й день визрівання за стобальною шкалою відповідно до ДСТУ 4421:2005. **Результати.** Використання L. casei як додаткової культури поглибило протеолітичні реакції, внаслідок чого зріс вміст розчинних продуктів розщеплення білків. Наприкінці визрівання дослідний сир містив вищий вміст (%) розчинного ($23,36 \pm 0,23$) і небілкового ($16,54 \pm 0,20$) нітрогену порівняно з контролем ($20,47 \pm 0,21$ і $13,21 \pm 0,21$ відповідно), у тому числі коротколанцюгових пептидів та вільних амінокислот, які формують смак і консистенцію сиру. Амінокислотний профіль дослідного сиру характеризувався більшим вмістом амінокислот та містив цистин і треонін, яких не виявлено у контролі. Дослідний сир порівняно з контрольним мав багатшу смакову гаму, більш виражений аромат і ніжнішу текстуру, завдяки чому його оцінено у 91 бал, тоді як контрольний – у 87 балів. **Сфера застосування результатів.** Внесення додаткової культури одночасно із закваскою є перспективним способом скорочення терміну визрівання сиру, а штаму L. casei придатним для такого використання. Результати досліджень будуть використані під час розроблення нових технологій сирів.

Ключові слова: виробництво сиру, додаткова культура, прискорене визрівання сиру, *Lactobacillus casei*

PROSPECTS OF THE USE OF *LACTOBACILLUS CASEI* IN THE PRODUCTION OF CHEESE WITH A REDUCED MATURATION PERIOD

Myroslava Shugai, Ph.D., Biological, Senior Researcher

<https://orcid.org/0000-0003-1844-5967>

Institute of Food Resources of NAAS, Kyiv, Ukraine

<https://doi.org/10.31073/foodresources2022-19-19>

Subject of research. In the production cycle of obtaining natural cheeses, a significant period of time is ripening. Its duration depends on the type of cheese and can take from several weeks to several months. During ripening, the most important role is played by the transformations associated with the splitting of proteins – proteolysis reactions, as a result of which various substances appear that determine the consumer characteristics of the final product. Recently, in view of economic factors, much attention is paid to the accelerated ripening of cheese. The problem of the production of cheeses with a shortened ripening period is to create conditions under which proteolysis reactions would take place more intensively, but without the appearance of bitter peptides, which are usually formed during excessive primary proteolysis. **Purpose.** Investigate the influence of lactic acid bacteria *Lactobacillus casei* (L. casei) on the technological process of production and ripening of cheese and the organoleptic indicators of the target product; to evaluate the prospects of using this method and strain as an additional culture that shortens the ripening period of cheese. **Methods.** According to the technology of hard rennet cheeses with a low temperature of the second heating (ripening period of 40 days at a temperature of 10–12 °C), two variants of cheese were produced: the experimental one, to which an additional culture – L. casei was added simultaneously with the sourdough, with the calculation that the number of cells of the strain in of the milk mixture was 1×10^5 CFU/cm³, and the control cheese containing only sourdough. Microbiological and biochemical analyzes were performed according to standardized methods. The following were determined: the total number of lactic acid bacteria and lactobacilli; active acidity and mass fraction of moisture in cheese; content of total, soluble and non-protein nitrogen (Kjeldahl method); amino acid composition. Biochemical studies were carried out after pressing and at the end of cheese ripening. The organoleptic evaluation of the cheese was carried out on the 40th day of ripening on the 100 bal scale in accordance with DSTU 4421:2005. **Results.** The use of L. casei as an additional culture deepened the proteolytic reactions, as a result of which the content of soluble protein cleavage products increased. At the end of ripening, the experimental cheese contained a higher content (%) of soluble (23.36 ± 0.23) and non-protein nitrogen (16.54 ± 0.20) compared to the control (20.47 ± 0.21 and 13.21 ± 0.21 , respectively), including short-chain peptides and free amino acids, which form the taste and consistency of cheese. The amino acid profile of the experimental cheese was characterized by a higher content of amino acids and contained cystine and threonine, which were not detected in the control. Compared to the control cheese, the experimental cheese had a richer taste range, a more pronounced aroma and a softer texture, due to which it was evaluated at 91 points, while the control - at 87 points. **Scope of research results.** Adding an additional culture at the same time as the sourdough starter is a promising way to shorten the ripening period of cheese, and the L. casei strain is suitable for such use. The research results will be used during the development of new cheese technologies.

Key words: accelerated ripening of cheese, adjunct cultures, cheese making, L. casei

Постановка проблеми. Конкуренція на продуктовому ринку стимулює виробників шукати шляхи поліпшення якості продукції, що випускається, підвищення її споживчих характеристик і зниження собівартості. За цих умов можливість зменшення терміну дозрівання сиру набуває особливої актуальності.

У виробничому циклі отримання натуральних сирів значний період часу становить дозрівання. Його тривалість залежить від виду сиру і може займати від кількох тижнів до декількох місяців. Під час дозрівання у сирній масі послідовно відбувається комплекс складних мікробіологічних, біохімічних і фізико-хімічних перетворень, які можна звести до трьох основних процесів: гліколізу, протеолізу та ліполізу. Найважливішу роль відіграють перетворення, пов'язані з розщепленням протеїнів – реакції протеолізу. Спрямованість та швидкість цих реакцій спричиняє появу і накопичення речовин різних хімічних класів, які визначають смак, аромат, консистенцію і біологічну цінність

кінцевого продукту [1-3]. Тому проблема виробництва сирів зі скороченим терміном визрівання полягає у створенні умов, за яких реакції протеолізу перебігали б інтенсивніше, але контролювано, щоб не допустити появи гірких пептидів, які зазвичай утворюються при надмірному первинному протеолізі [4-7].

Дозрівання сиру, спричинене комбінованим впливом зсідального фермента і мікрофлори закваски, відбувається у певних інтервалах температури, вологості сирної маси та кислотності середовища, які залежать від виду сиру і відображені у технологічній інструкції на його виробництво. Зміна умов впливає на темп і спрямованість ферментативних реакцій. Навіть незначні зміни фізико-хімічних умов дозрівання можуть істотно позначитися на органолептиці і безпеці цільового продукту. Підвищення температури у камерах дозрівання інтенсифікує протеоліз, але згаданий метод має суттєве обмеження: використане для виробництва сиру молоко має бути мікробіологічно безпечним через підвищення ризику надмірного розвитку сторонньої мікрофлори. Крім того, температура дозрівання сиру не повинна перевищувати 20-25 °С для недопущення розм'якшення і деформації сиру, виділення жиру та надмірної втрати вологи. Тому даний спосіб можна використати для сирів, що дозрівають за нижчих температур, до прикладу Чеддер, який дозріває при 6-8°C [8-10].

Як універсальніший спосіб слід вказати використання спеціальних додаткових культур, які прискорюють дозрівання сиру, їх вносять до молочної суміші одночасно із закваскою. Серед таких культур дослідники надають перевагу мезофільним лактобацилам, представленими видами *L. casei*, *L. paracasei*, *L. rhamnosus* та *L. plantarum*. Порівняно з заквашувальною мікрофлорою лактобактерії цих видів краще пристосовані до розвитку в середовищі з обмеженою кількістю поживних речовин, яке спостерігається на пізніх стадіях дозрівання сиру. Оскільки за цих умов лактоза практично відсутня (вона спожита заквашувальною мікрофлорою ще на початку визрівання), мезофільні лактобацили як джерело азоту та енергії використовують переважно пептиди й амінокислоти. Потенційним субстратом для них також можуть бути нуклеїнові кислоти та цукри з глікопротеїнів і гліколіпідів лізованих клітин лактобактерій закваски. [11, 12].

Мета. Дослідити вплив молочнокислих бактерій виду *L. casei* на технологічний процес виробки і визрівання сиру та органолептичні показники цільового продукту; оцінити перспективи використання даного методу і штаму як додаткової культури, що скорочує термін визрівання сиру.

Методика досліджень. Виробки сирів проводили з пастеризованого за температури 72±2°C упродовж 15 с молока з використанням заквашувального препарату прямого внесення «CHOOZITTM RA 070 series 71» фірми «Даніско» за технологією твердих сичужних сирів з низькою температурою другого нагрівання і високим рівнем молочнокислого бродіння (період визрівання 40 діб за температури 10÷12°C). Закваску вносили відповідно до рекомендацій виробника.

Виробили два варіанти сиру: дослідний (№ 1), до якого одночасно з закваскою внесли додаткову культуру – штам *L. casei* з розрахунку, щоб чисельність клітин штаму в молочній суміші становила 1×10^5 КУО/см³ та контрольний (№ 2) – містив лише закваску.

Для мікробіологічними та фізико-хімічними досліджень відбирали проби сирів після пресування та на 5-й, 10-й, 20-й, 30-й і 40-й дні визрівання. Визначали: загальну чисельність МКБ (на ГА – агаризованому середовищі на основі гідролізованого відновленого молока), чисельність лактобацил (на агаризованому МРС), активну кислотність і вміст вологи у сирі.

Масову частку вологи сирів визначали згідно з ДСТУ 8552:2015 «Молоко та молочні продукти. Методи визначання вологи та сухої речовини». Уміст загального розчинного і небілкового нітрогену визначали методом К'ельдаля згідно з ДСТУ 5038:2008 «Сири. Визначення вмісту азоту методом К'ельдаля», амінокислотний склад – на

амінокислотному аналізаторі LC-2000 Біотронік (Чехія). Біохімічні дослідження проводили після пресування та наприкінці визрівання сиру.

Органолептично сир оцінювали на 40-й день визрівання за стобальною шкалою відповідно до ДСТУ 4421:2005 «Сири тверді (український асортимент). Технічні умови».

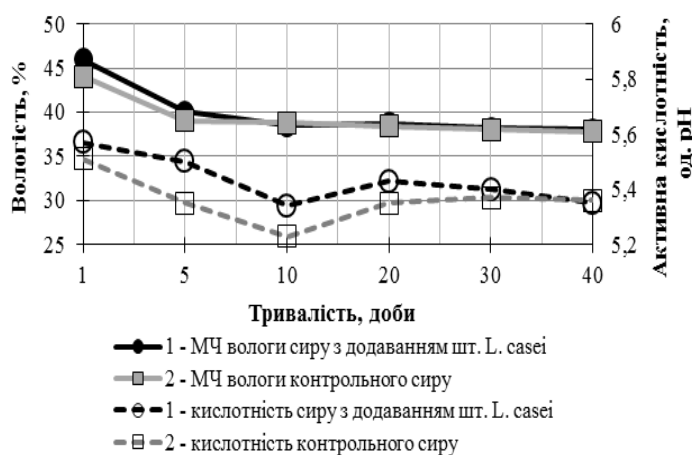


Рис. 1. Динаміка зміни масової частки вологи та активної кислотності упродовж дозрівання сирів

кінець терміну визрівання активна кислотність обох сирних головок практично зрівнялась і становила 5,36-5,37 одиниць рН (рис.1).

Втрата вологи у сирах під час соління становила (5-7)%, у подальшому після парафінування її вміст зменшився незначно.

Спостерігали відмінності мікробних профілів сирів під час визрівання (рис.2), зокрема у сирі зі штамом *L. casei* падіння чисельності лактобактерій на початку визрівання було менш вираженим. Загалом, у сирі № 1 зафіксовано дещо вищу загальну чисельність лактобактерій упродовж усього періоду визрівання порівняно з контролем.

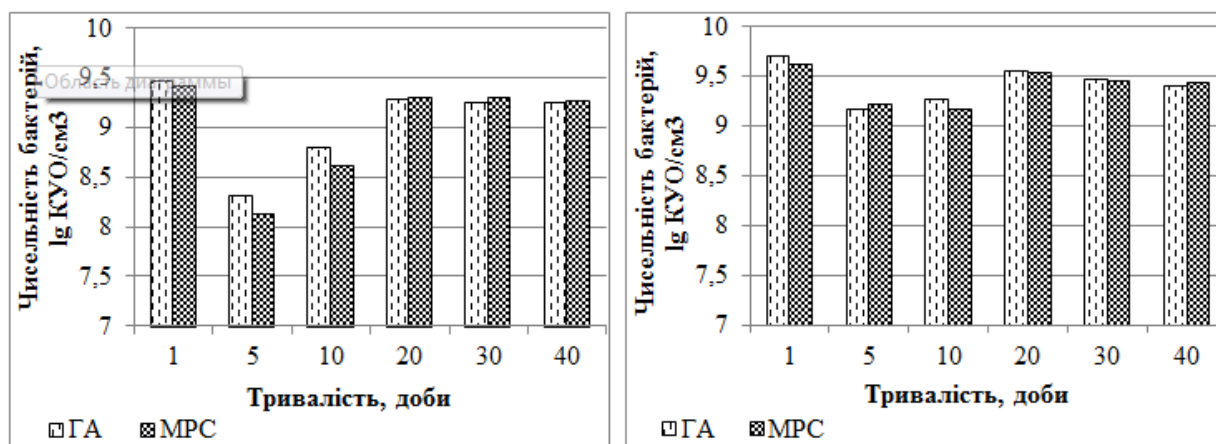


Рис. 2. Динаміка зміни чисельності лактобактерій упродовж визрівання сирів: 1 – дослідний сир, вироблений з додаванням штаму *L. Casei*; 2 – контрольний сир

На кінець визрівання вміст (% від загального нітрогену) фракцій розчинного і небілкового нітрогену в дослідному сирі був вищим, ніж у контрольному: $23,36 \pm 0,23$ і $16,54 \pm 0,20$ проти $20,47 \pm 0,21$ і $13,21 \pm 0,21$ відповідно, що свідчить про глибший рівень протеолізу у дослідному сирі. Залучення *L. casei* сприяло поглибленню протеолітичних реакцій, внаслідок чого зросла кількість розчинних продуктів розщеплення білків, у тому числі коротколанцюгових пептидів та вільних амінокислот, які формують смак і консистенцію сиру. Зміни торкнулися як кількісного, так і якісного складу вільних

амінокислот, зокрема, значно зросла їх кількість, а цистин і треонін виявлено лише у дослідному сирі (рис. 3). Отримані результати узгоджуються з літературними даними [13, 14] щодо вищої протеолітичної активності протеолітичних ферментів у мезофільних молочнокислих паличок порівняно з лактококами (зауважимо, що заквашувальна культура містила мезофільні й термофільні кокові форми лактобактерій).

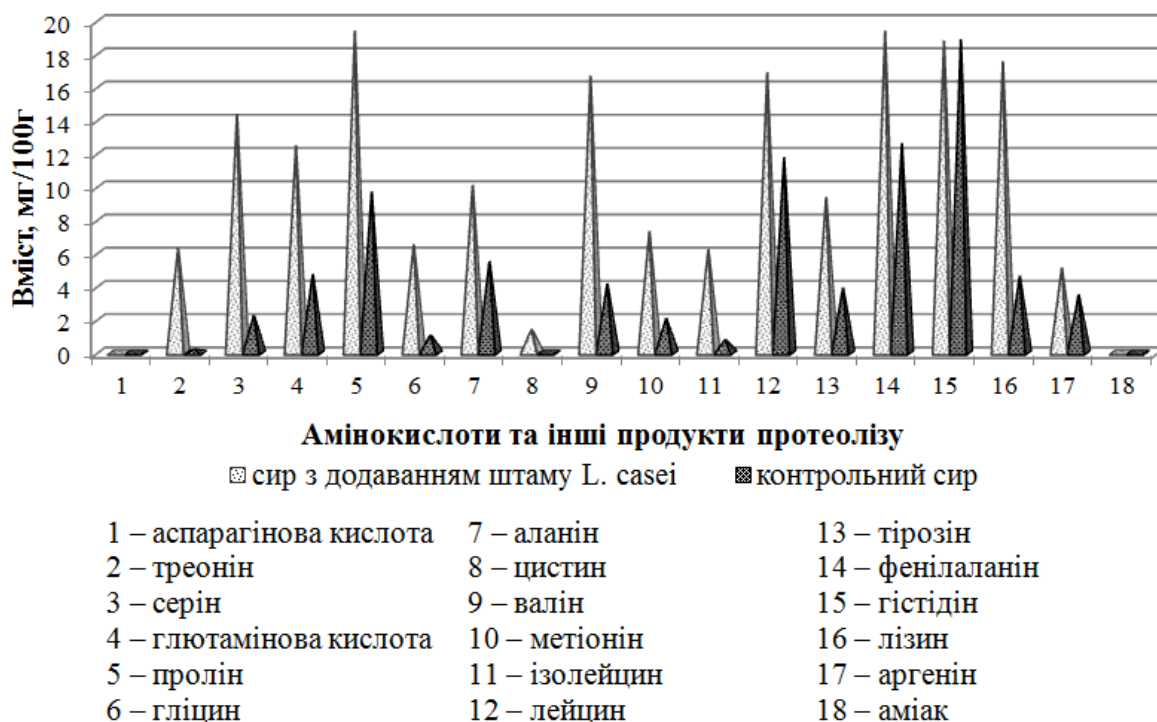


Рис. 3. Вміст вільних амінокислот і аміаку в дослідному та контрольному сирі після 40 діб визрівання

За органолептичними показниками обидва варіанти сирів відповідали вимогам нормативних документів: характеризувались сирним, ледь кислуватим смаком без сторонніх присмаку і запаху; на розрізі мали рівномірний рисунок з вічок неправильної форми. Відзначено, що дослідний сир мав багатшу смакову гаму, більш виражений аромат і ніжнішу текстуру, завдяки чому його було оцінено у 91 бал, натомість контрольний сир – у 87 балів.

Висновок. Використання *L. casei* як додаткової культури у виробці сиру поглибило протеолітичні реакції, внаслідок чого зріс вміст розчинних продуктів розщеплення білків. На 40-й день визрівання дослідний сир містив вищий відсоток розчинного ($23,36 \pm 0,23$) і небілкового нітрогену ($16,54 \pm 0,20$) порівняно з контролем ($20,47 \pm 0,21$ і $13,21 \pm 0,21$, відповідно), у тому числі коротколанцюгових пептидів та вільних амінокислот, які формують смак і консистенцію сиру. Амінокислотний профіль дослідного сиру характеризувався більшим вмістом амінокислот та містив цистин і треонін, яких не виявлено у контролі.

Дослідний сир порівняно з контрольним мав багатшу смакову гаму, більш виражений аромат і ніжнішу текстуру завдяки чому його оцінено у 91 бал, тоді як контрольний – у 87 балів.

Отже, внесення додаткової культури одночасно із закваскою слід вважати перспективним способом скорочення терміну визрівання сиру, а штам *L. casei* придатним для такого використання. Важливо, що внесення згаданого штаму суттєво не вплинуло на технологічний процес виробки сиру і не потребувало його коригування.

Бібліографія

1. Zuljan F. A., Mortera P., Alarcón S. H., Blancato V. S., Espariz M., Magni C. Lactic acid bacteria decarboxylation reactions in cheese. *Int. Dairy J.* 2016. Vol. 62. P. 53-62.
2. Murtaza M. A., Salim Ur-Rehman, Anjum F. M., Huma N., Hafiz I. Cheddar Cheese Ripening and Flavor Characterization: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 2014. 54 (10). P. 1309-1321.
3. McSweeney P. L. H., Sousa M. J. Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Le Lait Dairy Science and Technology.* 2000. Vol. 80. P. 293-324.
4. Gagnon M., Goulet C., LaPointe G., Chouinard P. Y., Roy D. Effect of two thermoresistant non-starter lactic acid bacteria strains on volatilome profile during Cheddar ripening simulation. *International Journal of Food Microbiology.* 2021. Vol. 357. P. 182-193.
5. Khattab A. R., Guirguis H. A., Tawfik S. M., Farag M. A. Cheese ripening: A review on modern technologies towards flavor enhancement, process acceleration and improved quality assessment. *Trends in Food Science & Technology.* 2019. № 88. P. 343-360.
6. Murray N. M., O'Riordan D., Jacquier J.-C., O'Sullivan M., Holton T. A., Wynne K., Robinson R. C., Barile D., Nielsen S. D., Dallas D. C. Peptidomic screening of bitter and nonbitter casein hydrolysate fractions for insulinogenic peptides. *Journal of Dairy Science.* 2018. № 101 (4). P. 2826-2837.
7. Ivens K. O., Baumert J. L., Hutkins R. L., Taylor S. L. Effect of proteolysis during Cheddar cheese aging on the detection of milk protein residues by ELISA. *Journal of Dairy Science.* 2017. № 100 (3). P. 1629-1639.
8. Ha H-K. Modern technologies for the ripening acceleration and flavor improvement of cheese. *Korean J Food Sci Anim Resour.* 2019. 8 (1). P. 46-57.
9. Walsh E. A., Diako C., Smith D. M., Ross C. F. Influence of storage time and elevated ripening temperature on the chemical and sensory properties of white Cheddar cheese. *J. Food Sci.* 2020. 85 (2). P. 268-278.
10. Folkertsma B., Fox P. F., McSweeney P. L. H. Accelerated ripening of Cheddar cheese at elevated temperatures. *International Dairy Journal.* 1996. Vol. 6. №11-12. P. 1117-1134.
11. Stefanovic E., Kilcawley K. N., Roces C., Rea M. C., O'Sullivan M., Sheehan J.J., McAuliffe O. Evaluation of the Potential of *Lactobacillus paracasei* Adjuncts for Flavor Compounds Development and Diversification in Short-Aged Cheddar Cheese. *Front. Microbiol.* Vol. 9. 05.07.2018 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01506>.
12. Settanni L., Moschetti, G. Non-starter lactic acid bacteria used to improve cheese quality and provide health benefits. *Food Microbiol.* 2010. № 27. P. 691-697.
13. Takafuji S. Proteolytic enzymes of lactic acid bacteria. 1997. *Food Science.* № 37. P. 753-767.
14. Olson N. F. The impact of lactic acid bacteria in cheese flavor. *FEMS Microbiol. Rev.* 1990. Vol. 87. P.131-148.

References

1. Zuljan, F. A., Mortera, P., Alarcón, S. H., Blancato, V. S., Espariz, M., Magni, C. (2016). Lactic acid bacteria decarboxylation reactions in cheese. *Int. Dairy J.* Vol. 62. P. 53-62.
2. Murtaza, M. A., Salim, U. R., Anjum, F. M., Huma, N., Hafiz, I. (2014). Cheddar Cheese Ripening and Flavor Characterization: A Review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition.* 54 (10):1309-21.
3. McSweeney, P. L. H., Sousa, M. J. (2000). Biochemical pathways for the production of flavour compounds in cheeses during ripening: A review. *Le Lait Dairy Science and Technology.* Vol. 80. P. 293-324.
4. Gagnon, M., Goulet, C., LaPointe, G., Chouinard, P. Y., Roy, D. (2021). Effect of two thermoresistant non-starter lactic acid bacteria strains on volatilome profile during Cheddar ripening simulation. *International Journal of Food Microbiology.* Vol. 357. P. 182-193.
5. Khattab, A. R., Guirguis, H. A., Tawfik, S. M., Farag, M. A. (2019). Cheese ripening: A review on modern technologies towards flavor enhancement, process acceleration and improved quality assessment. *Trends in Food Science & Technology.* № 88. P. 343-360.
6. Murray, N. M., O'Riordan, D., Jacquier, J.-C., O'Sullivan, M., Holton, T. A., Wynne, K., Robinson, R. C., Barile, D., Nielsen, S. D., Dallas, D. C. (2018). Peptidomic screening of bitter and

nonbitter casein hydrolysate fractions for insulinogenic peptides. Journal of Dairy Science. № 101(4). P. 2826-2837.

7. Ivens, K. O. Baumert, J. L, Hutkins, R. L., Taylor, S. L. (2017). Effect of proteolysis during Cheddar cheese aging on the detection of milk protein residues by ELISA. Journal of Dairy Science. 100 (3). P. 1629-1639.

8. Ha, H-K. (2019). Modern technologies for the ripening acceleration and flavor improvement of cheese. Korean J Food Sci Anim Resour. 8 (1). P. 46-57.

9. Walsh, E. A., Diako, C., Smith, D. M., Ross, C. F. (2020). Influence of storage time and elevated ripening temperature on the chemical and sensory properties of white Cheddar cheese. J. Food Sci. 85 (2). P. 268-278.

10. Folkertsma, B., Fox, P. F., McSweeney, P. L. H. (1996). Accelerated ripening of Cheddar cheese at elevated temperatures. International Dairy Journal. Vol. 6. №11-12. P. 1117-1134.

11. Stefanovic, E., Kilcawley, K. N., Rocas, C., Rea, M. C., O'Sullivan, M., Sheehan, J. J., McAuliffe, O. Evaluation of the Potential of *Lactobacillus paracasei* Adjuncts for Flavor Compounds Development and Diversification in Short-Aged Cheddar Cheese. Front. Microbiol. Vol. 9. 05.07.2018 Access mode: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01506>.

12. Settanni, L., Moschetti, G. (2010). Non-starter lactic acid bacteria used to improve cheese quality and provide health benefits. Food Microbiol. № 27. P. 691-697.

13. Takafuji, S. Proteolytic enzymes of lactic acid bacteria. (1997). Food Science. № 37. P. 753-767.

14. Olson, N. F. The impact of lactic acid bacteria in cheese flavor. FEMS Microbiol. Rev. 1990. Vol. 87. P. 131-148.