

БРОДИЛЬНА АКТИВНІСТЬ ЛАКТОЗОБРОДЖУВАЛЬНИХ ДРІЖДЖІВ У СИРОВАТКО-СОЛОДОВОМУ СУСЛІ

О. В. Грек¹
О. О. Красуля¹
О. О. Тігунова²

¹Національний університет харчових технологій, Київ
²ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки»
НАН України, Київ

E-mail: olena_krasulya@ukr.net

Отримано 10.12.2012

Експериментально досліджено основні показники бродіння сироватко-солодового сусла з використанням різних штамів лактозоброджувальних дріжджів. За результатами досліджень бродильної активності різних видів лактозоброджувальних мікроорганізмів у сироватко-солодовому суслі виявлено, що найбільш активно спиртове бродіння за всіма показниками проходило в суслі, ферментованому мікроорганізмами *Zygosaccharomyces lactis 868-K* і *Saccharomyces lactis 95*. Встановлено високу здатність до утилізації вуглеводів солоду, які представлені легкозасвоюваними вуглеводами солодового екстракту. Також проведено органолептичне оцінювання ферментованих сироваткових напоїв, отриманих з відновленої суміші сухої сироватки і солоду та зброджених дріжджами *Zygosaccharomyces lactis 868-K* і *Saccharomyces lactis 95*. Виявлено, що напій, зброджений дріжджами *Zygosaccharomyces lactis 868-K*, має виражений освіжаючий аромат житнього хліба з фруктовими тонами. Спостерігається зростання інтенсивності ароматизації комплексу зразка з мікроорганізмами *Saccharomyces lactis 95*, що свідчить про високі органолептичні показники напою.

Ключові слова: молочна сироватка, сироватко-солодове сусло, лактозоброджувальні дріжджі, спиртове бродіння, ферментація, органолептична оцінка.

Молочна сироватка є продуктом з природним набором поживних і біологічно повноцінних компонентів. За якісним складом і кількістю макро- та мікроелементів напої на її основі значно перевершують традиційні освіжаючі напої, включаючи і мінеральні води. Молочна сироватка містить майже всі компоненти молока, має низьку енергетичну цінність і може бути використана для виробництва продуктів дієтичної групи. Також сироватка має високу біологічну цінність, яку зумовлюють протеїнові речовини, а також вітаміни, гормони, органічні кислоти, антитіла та інші. Виробництво ферментованих напоїв на основі молочної сироватки — один з актуальних напрямів переробки побічної молочної сировини. У таких напоях поєднуються цінні компоненти як сироватки, так і продуктів метаболізму мікроорганізмів, утворених під час бродіння (етиловий спирт, леткі кислоти, ензими, різноманітні ароматичні сполуки тощо). У молокопереробній галузі достатньо гострою є проблема утилізації молочної сироватки, яка має високу харчову і біологічну цінність, оскільки містить у своєму складі половину сухих речовин молока.

Також актуальним є раціональне використання сировинних ресурсів у молочної промисловості, що слугує одним з основних факторів підвищення ефективності виробництва. Особливої ваги ця проблема набуває у зв'язку зі значними об'ємами переробки молока і недостатнім упровадженням промислових технологій використання побічної молочної сировини, в основному молочної сироватки. У процесі виготовлення сиру сичужного її вихід становить 70–90%, сиру кисломолочного — 70–80%, казеїну — 75% [1–3].

З підвищенням закупівельних цін на молочну сировину та впровадженням технологій виробництва сучасного асортименту молочно-протеїнових продуктів перероблення молочної сироватки стає дедалі доцільнішим. Існує багато способів її промислової переробки, один з найефективніших та найменш витратних — виробництво напоїв бродіння.

Метою роботи було дослідження бродильної активності різних видів лактозоброджувальних мікроорганізмів у сироватко-солодовому суслі та придатності їх для одержання напоїв бродіння на основі відновленої суміші сухої сироватки та солоду.

Матеріали і методи

Об'єктами дослідження були лактозозброджувальні мікроорганізми *Zygosaccharomyces lactis* 868-K, *Kluyveromyces lactis* 2452, *Saccharomyces casei*, *Saccharomyces cerevisiae* M-5, *Saccharomyces lactis* 95, *Kluyveromyces lactis* 469 з «Колекції штамів мікроорганізмів та ліній рослин для харчової і сільськогосподарської біотехнології» ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки» НАН України.

Зміну показників біохімічної активності лактозозброджувальних дріжджів у процесі культивування визначали за активною кислотністю середовища, характером спиртового бродиння, глибиною утилізації субстрату. При цьому досліджувані раси в подальшому визначатимуться як *Saccharomyces casei* (1), *Saccharomyces cerevisiae* M-5 (2), *Kluyveromyces lactis* 2452 (3), *Kluyveromyces lactis* 469 (4), *Saccharomyces lactis* 95 (5), *Zygosaccharomyces lactis* 868-K (6) з умовними позначеннями від 1 до 6 відповідно.

Посівний матеріал для дослідів готували таким чином. Культуру вирощували на штрихових пластинах із солодовим суслим у термостаті за температури 30 °C протягом 24 год. Після цього переносили клітини з розрахунку $1 \cdot 10^6$ КУО/см³ середовища в колби об'ємом 2 дм³ з 1 дм³ стерильного солодового сусли (8% сухих речовин). Культивування мікроорганізмів проводили на качалці з 220 об/хв упродовж 24 год за температури 30 °C. Вирощену біомасу виділяли з культуральної рідини шляхом фільтрування на вакуум-фільтрі.

Живильне середовище для зброджування готували таким чином: сухі солод житній ферментований та сироватку змішували в співвідношенні 1:2, далі суху суміш (10%) вносили до попередньо підігрітої до температури 35–45 °C води і проводили відновлення, інтенсивно перемішуючи. Температуру суміші поступово підвищували до 75–80 °C для переведення екстрактивних речовин в розчин, за цієї самої температури здійснювали пастеризацію сусли. Охолоджену до 25–30 °C суміш піддавали декантуванню для видалення денатурованих протеїнів молочної сироватки та осаду солоду. Для зброджування сусли використовували дріжджі в пресованому вигляді з масовою часткою вологи 75%; дозування — 1,25 г на 100 м³. Колби закривали сірчаноокислими затворами і ставили в термостат. Зброджування сусли здійснювали за температури 30 °C. У контрольному варіанті готували сусли на основі води за класичною технологією

з використанням дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* P-87 [4]. У процесі бродиння контролювали кількість виділеного діоксиду вуглецю ваговим методом [5]. Зрілу бражку піддавали перегонці для визначення в дистилаті масової частки спирту [6]. У сироватко-солодовому суслі рН визначали потенціометрично [7] (до бродиння 5,65), вміст редуруючих речовин — йодометричним методом [8] (5,24%).

Для подальших досліджень органолептичних показників напоїв бродиння, отриманих з відновленої суміші сухої сироватки і солоду, застосовували сенсорний аналіз. Для його проведення послуговувались кількісним описовим профільним методом з п'ятирівневою шкалою інтенсивності, що дає змогу ілюструвати сенсорні показники напоїв. Для характеристики інтенсивності ознак використовували п'ятибальну шкалу: 0 балів — ознака відсутня, 1 бал — виражена ледь помітно, 2 — слабовиражена, 3 — виражена помірно, 4 — значно виражена, 5 — яскраво виражена.

Результати та обговорення

Відомо, що спиртове бродиння супроводжується не лише накопиченням етанолу, а й виділенням діоксиду вуглецю. Основним показником інтенсивності процесу бродиння є кількість виділеної за одиницю часу вуглекислоти, тому бродиння тривало до закінчення виділення діоксиду вуглецю [9, 10].

Динаміку накопичення вуглекислоти різними видами лактозозброджувальних мікроорганізмів у суслі на основі відновленої суміші сироватки і солоду подано на рис. 1.

Отримані дані свідчать, що досліджені дріжджі мають різну бродильну активність. Пік бродильної активності спостерігається на 1-шу–3-тю добу ферментації. Аналіз

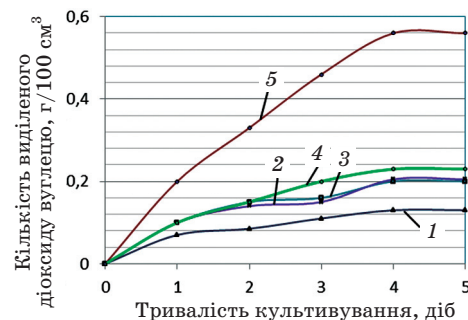


Рис. 1. Динаміка накопичення діоксиду вуглецю в сироватко-солодовому суслі залежно від виду дріжджів:

- 1 — *Saccharomyces casei*;
- 2 — *Saccharomyces cerevisiae* M-5;
- 3 — *Kluyveromyces lactis* 2452;
- 4 — *Kluyveromyces lactis* 469;
- 5 — *Saccharomyces lactis* 95

накопичення діоксиду вуглецю під час бродіння різними видами мікроорганізмів показує, що лактозоброджувальні дріжджі *Zygosaccharomyces lactis* 868-K у сироватко-солодовому суслі розвиваються найінтенсивніше порівняно з іншими штамми (2,45 г/100 см³ суслу на 5-ту добу культивування). Однак порівняно з контролем кількість виділеної вуглекислоти нижча на 1,07 г/100 см³. Дріжджі *Saccharomyces lactis* 95 (зразок 5) утилізують вуглеводи з виділенням на 4-ту добу бродіння 0,5 г діоксиду вуглецю на 100 см³ середовища. Водночас зразки 1–4 мають меншу енергію бродіння (виділяють від 0,13 до 0,23 г/100 см³ суслу). Одержані результати вказують на високу біохімічну активність дріжджів *Zygosaccharomyces lactis* 868-K та *Saccharomyces lactis* 95. Інтенсивне виділення діоксиду вуглецю свідчить про початок основного бродіння, за якого проходить активне зброджування вуглеводів. Згодом кількість виділеного діоксиду вуглецю поступово зменшується і настає стадія доброджування, тривалість якого становить 2/3 часу бродіння. Під час цього процесу проходить дооцукровування вуглеводів ензимами і зброджування отриманих цукрів до спирту і вуглекислоти. В експериментальному дослідженні доброджування суслу закінчується на 4-ту добу (рис. 1). До цього часу майже всі редукуючі вуглеводи були утилізовані дріжджовими клітинами.

Наступний етап дослідження — визначення продуктивності лактозоброджувальних мікроорганізмів за вмістом етилового спирту в бражному дистилаті та активною кислотністю зброженого суслу на кінцевий термін ферментації. Дані щодо активної кислотності та кількості етилового спирту в зброженому суслі за використання різних рас дріжджів наведено на рис. 2.

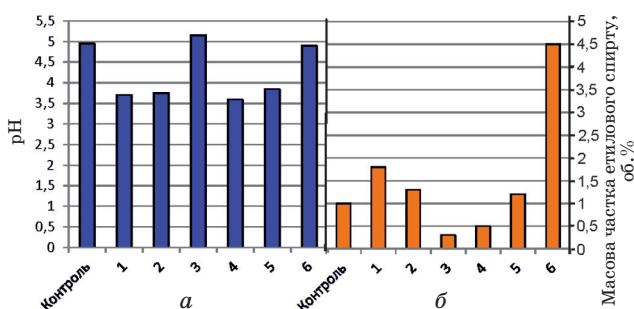


Рис. 2. Активна кислотність (а) та кількість етилового спирту (б) у зброженому суслі за використання різних рас дріжджів (1–6):

- 1 — *Saccharomyces casei*;
- 2 — *Saccharomyces cerevisiae* M-5;
- 3 — *Kluyveromyces lactis* 2452;
- 4 — *Kluyveromyces lactis* 469;
- 5 — *Saccharomyces lactis* 95;
- 6 — *Zygosaccharomyces lactis* 868-K

Як видно з показників суслу після бродіння різними видами дріжджів, найефективнішу бродильну активність виявили мікроорганізми виду *Zygosaccharomyces lactis* 868-K і *Saccharomyces casei* (4,5 та 1,7 об. %). Відносно високий вміст етилового спирту також спостерігався в зразках № 2 та № 5 із *Saccharomyces cerevisiae* M-5 і *Saccharomyces lactis* 95 (1,3 та 1,2 об. %) відповідно. У разі використання інших лактозоброджувальних дріжджів вміст етилового спирту за тих самих умов бродіння нижчий. Щодо активної кислотності, то найвищу здатність до її зміни в процесі ферментації суслу мала культура дріжджів *Kluyveromyces lactis* 2452, показник рН становив 4,3, що було наслідком високої бродильної активності.

Метаболізм лактозоброджувальних дріжджів зумовлений перебігом хімічних реакцій, що каталізуються ензимами і пов'язані з гідролізом лактози і моносахаридів солоду як джерела вуглеводів. У зв'язку з цим ми визначили кількість редукуючих речовин, що залишилися після завершення процесу бродіння суслу із сироватки та солоду різними видами дріжджів (результати подано на рис. 3).

Як видно з рис. 3, у зразках (1–5) вміст редукуючих речовин суттєво не відрізнявся і становив від 3,00 до 4,19%, тобто 20–43% від початкового вмісту. Це свідчить про невисоку активність ензимів, що каталізують гідроліз лактози. В суслі з дріжджами *Zygosaccharomyces lactis* 868-K спостерігався майже повністю завершений процес бродіння та утилізації вуглеводів, вміст редукуючих речовин — 0,07%, що суттєво нижче, ніж у контролі (1,03%). Отримані дані свідчать, що дріжджі *Zygosaccharomyces lactis* 868-K мають найвищу бродильну активність щодо вуглеводів сироватки.

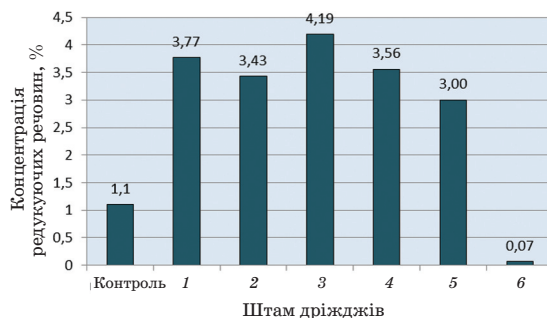


Рис. 3. Кількість редукуючих речовин у зброженому суслі на основі молочної сироватки та солоду залежно від виду дріжджів: контроль — *Saccharomyces cerevisiae* P-87; 1 — *Saccharomyces casei*; 2 — *Saccharomyces cerevisiae* M-5; 3 — *Kluyveromyces lactis* 2452; 4 — *Kluyveromyces lactis* 469; 5 — *Saccharomyces lactis* 95; 6 — *Zygosaccharomyces lactis* 868-K

Тривале зброджування сироватко-солодового суслу різними видами дріжджів показало, що мікроорганізми активно розвивались у перші 2 доби ферментації, далі переходили в стаціонарну фазу росту і завершували бродіння на 5-ту добу. З урахуванням результатів досліджень бродильної активності різних видів лактозозброджувальних мікроорганізмів у сироватко-солодовому суслі можна зробити висновок, що найбільш активно спиртове бродіння за всіма показниками проходило в суслі під час зброджування дріжджами *Zygosaccharomyces lactis 868-K* і *Saccharomyces lactis 95*. Вони виявили високу здатність до утилізації вуглеводів, присутніх у солоді, які представлені як лактозою, так і легкозасвоюваними вуглеводами солодового екстракту. Дріжджі *Saccharomyces casei* та *Saccharomyces cerevisiae M-5* виявили дещо нижчу бродильну активність. Проте кількість виділеного етанолу є достатньою згідно з вимогами до ферментованих напоїв [11].

Профілограми смаку і аромату сироватко-солодових напоїв наведено на рис. 4.

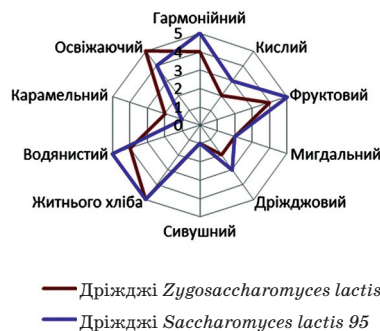


Рис. 4. Профілограми смаку і аромату сироватко-солодових напоїв, ферментованих різними штаммами лактозозброджувальних дріжджів

ЛІТЕРАТУРА

1. Еникеев А. Ф., Какимов А. К., Какимов Ж. К., Темиргалиева А. С. Пути совершенствования переработки молочной сыворотки // Мол. пром. — 2006. — № 2. — С. 41–42.
2. Pesta G., Meyer-Pittroff R., Russ W. Utilization of whey / In: Oreopoulou V., Russ W., editors. Utilization of by-products and treatment of waste in the food industry. — New York, Springer. — 2007. — P. 193–207.
3. P. Jelen. Whey processing. Utilization and Products/Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition). — 2011. — P. 731–737.
4. Рудольф В. В., Балашов В. Е. Производство безалкогольных напитков и розлив минеральных вод. — М.: Агропромиздат, 1988. — 287 с.
5. ГОСТ 6687.3-87. Напитки безалкогольные газированные и напитки из хлебного сырья. Метод определения двуокиси углерода.

Сенсорні характеристики зразків

Інтенсивність, бали	Характеристика ознаки
0	Відсутня
1	Виражена ледь помітно
2	Слабо виражена
3	Помірно виражена
4	Значно виражена
5	Яскраво виражена

Органолептичні профілі показують схожість сенсорних характеристик зразків. Так, напій, зброджений дріжджами *Zygosaccharomyces lactis 868-K*, має виражений освіжаючий аромат житнього хліба із фруктовими тонами. Спостерігається зростання інтенсивності ароматичного комплексу зразка з мікроорганізмами *Saccharomyces lactis 95*, що свідчить про високі органолептичні показники напою. Цей напій характеризується гармонійним кисло-фруктовим ароматом з освіжаючим смаком.

Таким чином, було вивчено основні показники бражок, ферментованих різними штаммами лактозозброджувальних дріжджів. Проведені дослідження показали, що найбільш придатним до зброджування сироватко-солодового суслу, отриманого з відновленої суміші сухої сироватки та солоду, є штам дріжджів *Zygosaccharomyces lactis 868-K*.

Високі органолептичні властивості продуктів, отриманих з відновленої суміші сухої сироватки і солоду, визначають доцільність широкого впровадження технології ферментованих сироваткових напоїв з використанням лактозозброджувальних дріжджів *Saccharomyces lactis 95* та *Zygosaccharomyces lactis 868-K* як на молокопереробних заводах, так і на підприємствах з виробництва безалкогольних напоїв. Це дасть змогу забезпечити попит споживачів на даний вид продукції та організацію безвідходного виробництва в молочній промисловості.

6. ГОСТ 6687.7-88. Напитки безалкогольные и квасы. Метод определения спирта.
7. ГОСТ 26781-85. Молоко. Метод измерения рН.
8. ГОСТ 3628-78. Молочные продукты. Методы определения сахара.
9. Хамнаева Н. И., Доржиева Ч. Б. Выделение чистых культур лактображивающих дрожжей из молочных сред // Хранен. перераб. сельхозсырья. — 2009. — № 3. — С. 51–54.
10. Абрамов Ш. А., Халилова Э. А., Магадова С. О. Новое в биотехнологии синтеза этанола в сбраживаемой среде // Там же. — 2006. — № 12. — С. 51–55.
11. ДСТУ 4069:2002. «Напої безалкогольні. Загальні технічні умови».

БРОДИЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ЛАКТОСБРАЖИВАЮЩИХ ДРОЖЖЕЙ В СЫВОРОТОЧНО-СОЛОДОВОМ СУСЛЕ

*Е. В. Грек*¹
*Е. А. Красуля*¹
*Е. А. Тигунова*²

¹Национальный университет
пищевых технологий,
Киев

²ГУ «Институт пищевой биотехнологии
и геномики» НАН Украины,
Киев

E-mail: olena_krasulya@ukr.net

Экспериментально исследованы основные показатели брожения сывороочно-солодового сусла с использованием различных штаммов лактосбраживающих дрожжей. По результатам исследований бродительной активности различных видов лактосбраживающих микроорганизмов в сывороочно-солодовом сусле выявлено, что наиболее активно спиртовое брожение по всем показателям проходило в сусле, ферментированном микроорганизмами *Zygosaccharomyces lactis 868-K* и *Saccharomyces lactis 95*. Установлена высокая способность к утилизации углеводов солода, которые представлены легкоусвояемыми углеводами солодового экстракта. Также проведена органолептическая оценка ферментированных сывороочных напитков, полученных из восстановленной смеси сухой сыворотки и солода, сброженных дрожжами *Zygosaccharomyces lactis 868-K* и *Saccharomyces lactis 95*. Выявлено, что напиток, сброженный дрожжами *Zygosaccharomyces lactis 868-K*, имеет выраженный освежающий аромат ржаного хлеба с фруктовыми тонами. Наблюдается рост интенсивности ароматизации комплекса образца с микроорганизмами *Saccharomyces lactis 95*, что свидетельствует о высоких органолептических показателях напитка.

Ключевые слова: молочная сыворотка, сывороочно-солодовое сусло, лактосбраживаемые дрожжи, спиртовое брожение, ферментация, органолептическая оценка.

FERMENTATION ACTIVITY OF LACTOSE-FERMENTATION YEAST IN WHEY-MALT WORT

*E. V. Greek*¹
*E. A. Krasulya*¹
*E. A. Tigunova*²

¹National University of Food Technologies,
Kyiv

²SI «Institute of Food Biotechnology
and Genomics» of National Academy
of Sciences of Ukraine,
Kyiv

E-mail: olena_krasulya@ukr.net

The main parameters of fermentation of whey-malt wort with the use of different strains of lactose-fermentation yeast was investigated experimentally. According to the findings of investigation of fermentive activity for different types of lactose-fermentation microorganisms in whey-malt wort it was found that the most active spirituous fermentation for all parameters was in wort fermented by microorganisms *Zygosaccharomyces lactis 868-K* and *Saccharomyces lactis 95*. High capacity for utilization of malt carbohydrates represented by easily metabolized carbohydrates of malt extract was determined. Also organoleptic analysis of fermented whey drinks derived from the renewed mixtures of dry whey and fermented malt and yeast *Zygosaccharomyces lactis 868-K* and *Saccharomyces lactis 95* was carried out. It was found that the drink fermented with yeast *Zygosaccharomyces lactis 868-K* had intense refreshing flavor of rye bread with fruit tones. Intensity growth of aromatization for complex of sample with microorganisms *Saccharomyces lactis 95*, indicating high organoleptic indexes of the drink was observed.

Key words: whey, whey-malt wort, lactose-fermentation yeast, spirituous fermentation, fermentation, the organoleptic evaluation.