

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
«КАЗАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Шайдуллин Р.Р., Даминова А.И., Пахомова В.М., Москвичева А.Б.

**БИОТЕХНОЛОГИЯ ПЕРЕРАБОТКИ
СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННОЙ ПРОДУКЦИИ**

Учебно-методическое пособие

Казань – 2018

УДК 664.6:637.1:663.1-663.4

ББК 36-9

Б63

Составители:

Доктор сельскохозяйственных наук, доцент **Шайдуллин Р.Р.**;

Кандидат сельскохозяйственных наук, доцент **Даминова А.И.**;

Доктор биологических наук, профессор **Пахомова В.М.**;

Кандидат сельскохозяйственных наук, доцент **Москвичева А.Б.**

Рецензенты:

Гайнуллина М.К. – доктор с.-х. наук, профессор, заведующий кафедрой «Технология производства и переработки сельхозпродукции» ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана»

Нургалиев Ф.М. – кандидат вет. наук, доцент кафедры микробиологии ФГБОУ ВО «Казанская государственная академия ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана»

Владимиров В.П. – доктор с.-х. наук, профессор кафедры растениеводства и плодоowoощеводства ФГБОУ ВО «Казанский государственный аграрный университет»

Биотехнология переработки сельскохозяйственной продукции: Учебно-методическое пособие / сост. Шайдуллин Р.Р., Даминова А.И., Пахомова В.М., Москвичева А.Б. – Казань: Изд-во Казанского ГАУ, 2018. – 128 с.

В пособии изложены сведения об основных группах микроорганизмов, которые используются в биотехнологии переработки сельскохозяйственного сырья. Рассмотрены разнообразные типы брожения, производство и применение заквасок для молочных продуктов. Рассмотрены вопросы применения ферментных препаратов при производстве продуктов питания. Представлены микробиологические методики исследования молока и молочных продуктов.

Предназначено для выполнения лабораторных работ и самостоятельной подготовки студентов, обучающихся по направлению подготовки 35.03.07 «Технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции»

ISBN

© Казанский государственный аграрный университет, 2018

СОДЕРЖАНИЕ

	Стр.
РАЗДЕЛ I. ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ	
1.1 БИОТЕХНОЛОГИЯ ФЕРМЕНТОВ.....	6
1.1.1 Значение ферментов, источники их получения.....	6
1.1.2 Методы производства ферментов.....	6
1.1.3 Промышленные ферментные препараты.....	7
1.1.4 Применение ферментативных препаратов.....	8
1.1.5 Ферменты, применяемые в сыротделении.....	10
1.2 МИКРООРГАНИЗМЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПРОИЗВОДСТВЕ ФЕРМЕНТИРОВАННЫХ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ.....	13
1.2.1 Молочнокислые бактерии.....	13
1.2.2 Бифидобактерии.....	21
1.2.3 Пропионовокислые бактерии.....	21
1.2.4 Уксуснокислые бактерии.....	22
1.2.5 Дрожжи.....	23
1.3 МИКРОБИОЛОГИЯ СЫРОГО И ПАСТЕРИЗОВАННОГО МОЛОКА.....	25
1.3.1 Источники микрофлоры сырого молока и ее изменение в процессе хранения.....	25
1.3.2 Изменение микрофлоры молока при термической обработке..	26
1.4 БАКТЕРИАЛЬНЫЕ МОЛОЧНЫЕ ЗАКВАСКИ.....	27
1.4.1. Классификация молочных заквасок.....	27
1.4.2. Получение заквасочных наборов.....	31
1.4.3. Приготовления заквасок на молочном предприятии.....	32
1.4.4. Микробиологический контроль качества заквасок.....	33
1.5 БИОТЕХНОЛОГИЯ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ....	34
1.5.1 Сущность биотехнологии молочных продуктов.....	34
1.5.2 Брожение молока.....	34
1.5.3 Коагулляция казеина молока.....	37
1.5.4 Классификация кисломолочных продуктов в зависимости от состава микрофлоры заквасок.....	39
1.5.5 Характеристики заквасок ферментированных молочных продуктов.....	41
1.5.6 Микробиологический контроль производства кисломолочных продуктов.....	44
1.6 БИОТЕХНОЛОГИЯ СЛИВОЧНОГО МАСЛА.....	45
1.6.1 Состав микрофлоры масла и ее изменение в процессе хранения.....	45
1.6.2 Микробиологический контроль производства масла.....	45
1.7 БИОТЕХНОЛОГИЯ СЫРА.....	47
1.7.1 Источники микрофлоры сыров.....	47
1.7.2 Изменение микрофлоры в процессе выработки сыров.....	50

1.7.3	Сущность биохимических процессов при созревании сыров...	53
1.7.4.	Микробиологический контроль производства сыров.....	54
1.8	БИОТЕХНОЛОГИЯ ХЛЕБОПЕКАРНОГО ПРОИЗВОДСТВА	56
1.8.1	Основы биотехнологии хлебопекарного производства.....	56
1.8.2	Микрофлора полуфабрикатов хлебопекарного производства и типы брожения.....	57
1.8.3	Виды хлебопекарных дрожжей и их свойства.....	64
1.8.4	Применение заквасок в хлебопекарном производстве.....	67
1.8.5	Роль дрожжей и молочнокислых бактерий при производстве ржаного хлеба.....	71
1.9	БИОТЕХНОЛОГИЯ ОВОЩЕЙ.....	73
1.9.1	Сущность ферментации овощей	73
1.9.2	Получения ферментированных овощей.....	73
1.10	БИОТЕХНОЛОГИЯ КВАСА.....	75
1.10.1	Сущность технологии производства кваса.....	75
1.10.2	Микроорганизмы, применяемые в производстве кваса.....	76
1.11	БИОТЕХНОЛОГИЯ ПИВОВАРЕННОГО ПРОИЗВОДСТВА.....	78
1.11.1	Сущность технологии производства пива.....	78
1.11.2	Характеристика пивоваренных дрожжей.....	79
1.11.3	Производственные засевные дрожжи.....	80
1.12	БИОТЕХНОЛОГИЯ СПИРТОВОГО ПРОИЗВОДСТВА.....	82
1.12.1	Сущность производства этилового спирта.....	82
1.12.2	Характеристика микроорганизмов, используемых в производстве этилового спирта.....	83
РАЗДЕЛ II. ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ		
2.1	ВЛИЯНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТНОГО ПРЕПАРАТА НА СВЕРТЫВАЕМОСТЬ МОЛОКА.....	85
2.2	ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА СЫЧУЖНУЮ СВЕРТЫВАЕМОСТЬ МОЛОКА И СИНЕРЕЗИС СЫЧУЖНЫХ СГУСТКОВ.....	86
2.2.1	Влияние температуры свертывания на продолжительность сычужного свертывание молока.....	86
2.2.2	Влияние дозы сычужного фермента на длительность свертывания молока и синерезис сычужного сгустка.....	87
2.2.3	Влияние температуры пастеризации на сычужное свертывание молока и синерезис сычужного сгустка.....	88
2.2.4	Влияние вносимой дозы хлорида кальция на сычужное свертывание молока и синерезис сычужного сгустка.....	89
2.2.5	Влияние кислотности молока на сычужное свертывание молока и синерезис сычужного сгустка.....	90
2.3	МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЗАКВАСОК И КИСЛО-МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ НА НАЛИЧИЕ ПОЛЕЗНОЙ МИКРОФЛОРЫ.....	91
2.4	ПРИГОТОВЛЕНИЕ ЗАКВАСКИ ДЛЯ КЕФИРА.....	93

2.5 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЗАКВАСОК....	94
2.6 ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ СКВАШИВАНИЯ НА ПРОЦЕСС ЖИЗНДЕЯТЕЛЬНОСТИ РАЗНЫХ ВИДОВ ЗАКВАСОЧНЫХ КУЛЬТУР.....	97
2.7 ИЗУЧЕНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МИКРООРГАНИЗМОВ.....	99
2.8 ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОЛОЧНОКИСЛЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В ФЕРМЕНТИРОВАННЫХ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТАХ, ЗАКВАСКАХ, БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТАХ.....	101
2.9 ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА БИФИДОБАКТЕРИЙ В КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТАХ.....	103
2.10 ГРУППОВОЙ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ УЧЕТ МИКРООРГАНИЗМОВ В СЫРОМ МОЛОКЕ.....	104
2.11 ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРОСТРУКТУРЫ СЫРА	106
2.12 ОПРЕДЕЛЕНИЕ КИСЛОТНОСТИ СЫРА.....	108
2.13 ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТЕПЕНИ ЗРЕЛОСТИ СЫРА.....	109
2.14 ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЗАКВАСОК В ПРОИЗВОДСТВЕ ХЛЕБОБУЛОЧНЫХ ИЗДЕЛИЙ.....	111
2.15 АНАЛИЗ ХЛЕБОПЕКАРНЫХ ДРОЖЖЕЙ. ОРГАНОЛЕПТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ДРОЖЖЕЙ.....	112
2.16 УЧЕТ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ДРОЖЖЕВЫХ КЛЕТОК.....	114
2.17 ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЗИМАЗНОЙ И МАЛЬТАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ДРОЖЖЕЙ.....	116
2.18 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДЪЕМНОЙ СИЛЫ ДРОЖЖЕЙ УСКОРЕННЫМ МЕТОДОМ.....	118
2.19 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСМОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ДРОЖЖЕЙ	119
2.20 ОПРЕДЕЛЕНИЕ КИСЛОТНОСТИ ДРОЖЖЕЙ.....	120
2.21 ИЗУЧЕНИЕ ПРОИЗВОДСТВА БЕЗДРОЖЖЕВОГО И ДРОЖЖЕВОГО ХЛЕБА.....	120
2.22 ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ХЛЕБА.....	122
2.23 ИЗУЧЕНИЕ ПРОИЗВОДСТВА КВАСА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ДРОЖЖЕЙ И МОЛОЧНОКИСЛЫХ ЗАКВАСОК.....	124
2.24 ОЦЕНКА КАЧЕСТВА КВАСА.....	125

РАЗДЕЛ I. ТЕОРЕТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

1.1 БИОТЕХНОЛОГИЯ ФЕРМЕНТОВ

1.1.1 Значение ферментов, источники их получения

Ферменты – катализаторы белковой природы, образующиеся и функционирующие во всех живых организмах. Ферменты не изменяются и не расходуются в процессе реакции, ускоряют только те реакции, которые могут протекать и без них. Скорость протекания реакции при участии ферментов в несколько раз выше, чем под влиянием химических катализаторов. Для ферментативных реакций характерен почти 100% выход продуктов. Ферменты обладают узкой специфичностью, действуют только на те же вещества, превращение которых они катализируют.

Большинство биотехнологий основано на использовании биокатализаторов, потребность в которых постоянно увеличивается. Единственным, неограниченным источником ферментов являются микроорганизмы, из которых можно выделить любые из известных в настоящее время ферментов. Продуктивность штаммов микроорганизмов, синтезирующих ферменты, можно увеличить с помощью мутагенных факторов в 2-5 раз.

Образуемые микроорганизмами ферменты подразделяются на внеклеточные и внутриклеточные. К внеклеточным ферментам относятся амилаза, целлюлаза, лактаза, липаза, пектиназа, протеаза, к внутриклеточным – аспарагиназа, каталаза, инвертаза.

Внеклеточные ферменты получают из культуральной жидкости, предварительно отделанной от микроорганизмов. Для выделения внутриклеточных ферментов разрушают клеточные оболочки с помощью механических, физических, химических (действие кислот, растворителей), ферментативных и биологических методов.

Ферменты используются в пищевой, фармацевтической, текстильной, кожевенной и других отраслях промышленности, в медицине, сельском хозяйстве, химическом синтезе.

Выделяют 6 основных классов ферментов: Оксидоредуктазы, трансферазы, идролазы, лиазы, изомеразы, лигазы.

1.1.2 Методы производства ферментов

По характеру культивирования все технологические процессы производства ферментных препаратов делятся на две большие группы: глубинный и поверхностный методы.

Глубинный метод производства ферментов

При данном методе микроорганизмы выращиваются в жидкой питательной среде. Он технически более совершенен, чем поверхностный, так как легко поддается автоматизации и механизации. Концентрация ферmenta в среде при

глубинном культивировании обычно значительно ниже, чем в водных экстрактах поверхностной культуры. Это вызывает необходимость предварительного концентрирования фильтрата перед его выделением.

При глубинном культивировании продуцентов ферментов выделяют 5 последующих этапов: Приготовление питательных сред зависит от состава компонентов – Получение засевного материала – Производственное культивирование – Выделение – Получение товарной формы.

Поверхностный метод производства ферментов

При этом методе культура растет на поверхности твердой увлажненной питательной среды. Мицелий полностью обволакивает и прочно скрепляет твердые частицы субстрата, из которого получают питательные вещества.

Выращивание производственной культуры происходит обычно в асептических условиях.

Преимущества поверхностной культуры: более высокая конечная концентрация фермента на единицу массы среды (при осахаривании крахмала 5 кг поверхностной культуры заменяют 100 кг культуральной жидкости), поверхностная культура относительно легко высушивается, легко переводится в товарную форму.

Иммобилизация ферментов

Иммобилизованными ферментами называются ферменты, искусственно связанные с нерастворимым носителем, но сохраняющие свои катализитические свойства.

Сущность иммобилизации ферментов - прикрепление их в активной форме к нерастворимой основе или заключение в полупроницаемую мембранный систему. Прикрепление фермента к носителю производится адсорбционно, химической связью или путем механического включения фермента в органический или неорганический гель (в капсулу и т.п.).

Носитель фермента или матрица может иметь вид зернистого материала, волокнистой структуры, пластинчатой поверхности, пленок или тканей, полых волокон, трубочек, капсул и т.д. Важно иметь большую поверхность, поэтому рекомендуются небольшие частицы диаметром 0,1-0,2 мм. Носитель фермента может быть как природное вещество, так и синтетический полимер.

1.1.3 Промышленные ферментные препараты

Набольшую часть ферментов используемые промышленности, составляют **гидролазы** (реакции гидролиза), так как именно они являются основными в промышленной биотехнологии.

Основные группы ферментов.

К **амилолитическим** ферментам относятся L-амилаза, β -амилаза, глюкоамилаза. Их действие проявляется при гидролизе крахмала и гликогена. Крахмал при гидролизе сначала расщепляется на более простые полисахариды - декстрины, а затем - до глюкозы.

Эти ферменты применяются в спиртовой промышленности и хлебопекарном производстве.

Протеолитические ферменты относятся к гидролазам, образуя группу пептидгидролаз. Их действие состоит в ускорении гидролиза пептидных связей в белках и пептидах. Основная их особенность – выборочный, селективный характер действия на пептидные связи в белковой молекуле. Например, пепсин действует только на связь с ароматическими аминокислотами, трипсин - только на связь между аргинином и лизином. Из них pH 1,5-3,7 имеют кислые протеазы; pH 6,5-7,5 - протеазы; pH > 8,0 - щелочные протеазы.

Применяют **протеазы** в мясной промышленности для умягчения мяса, кожевенной промышленности – для удаление волосяного покрова и размягчении шкур; кинопроизводстве - для растворения желатинового слоя на пленках при их регенерации; парфюмерии - при создании добавок в зубную пасту, кремы, лосьоны, промышленность синтетических моющих средств - при применении моющих добавок для удаления загрязнений белковой природы.

Пектолитические ферменты объединены в одну группу по внешнему проявлению своего действия - уменьшению молекуллярной массы и снижению вязкости пектиновых веществ (пектин - пектиновые кислоты и протопектин) представителей полисахаридов. Они содержатся во фруктах, корнеплодах, стеблях. Все пектиназы делятся на два вида - гидролазы и трансэлиминазы. Используются в текстильной промышленности - вымачивание льна перед его переработкой, в виноделии - осветление вин, уничтожение мутности, в консервировании - приготовлении фруктовых соков.

Целлюлолитические ферменты, являются достаточно специфичными, их действие проявляется лишь в делополимеризации молекул целлюлозы, обычно они действуют в виде комплекса, который в целом доводит гидролиз целлюлозы до глюкозы. Применяют при получении глюкозы из целлюлозы; в медицине – для выделения лекарственных веществ (стериоидов) из растений; в пищевой промышленности - улучшение качества растительных масел; в сельском хозяйстве – в качестве добавки в комбикорма для жвачных животных.

1.1.4 Применение ферментативных препаратов

Основу промышленной переработки крахмала составляет возможность его превращения в сбраживаемые углеводы (глюкоза, мальтоза, изомальтоза), концентрированные сахара-сиропы (глюкоза, фруктоза) и низкомолекулярные олигосахариды-декстрины. Эти соединения используются при производстве ряда пищевых продуктов и напитков. Из существующих методов гидролиза крахмала (кислотный, ферментативный) ферментативный обладает рядом несомненных преимуществ.

Использование ферментов с детергентами. Все микробные протеазы можно разделить на три класса: сериновые протеазы, металлопротеазы и кислые протеазы. Сериновые и металлопротеазы синтезируются

бактериальными культурами, кислые протеазы образуют микроскопические грибы.

Сериновые и металлопротеазы. Эта группа ферментов довольно широко распространена среди бактерий.

Металлопротеазы применяются в пивоваренной и спиртовой промышленности. При производстве пива использование протеаз связано с предотвращением образования мути, являющейся результатом выпадения в осадок белковых компонентов пива. Кроме металлопротеаз для этой цели используются растительные ферменты: бромелин и папаин.

При производстве пищевого спирта ячменный солод заменяют несолодовыми зерновыми. С целью получения сбраживаемых сахаров в среду, предназначенную для сбраживания, добавляют L-амилазу и протеазу.

Кислые протеазы. Ферменты этого типа встречаются у бактерий, но преобладают у высших грибов. Чаще всего эти ферменты, ввиду их способности коагулировать молоко, используются как заменители реннина.

У молокосвертывающих ферментов коагулирующая активность должна преобладать над протеолитической. Сущность процесса коагуляции заключается в образовании комплекса казеина с ионами кальция. Сычуг телят содержит фермент ренин, который считается наиболее подходящим для этой цели протеолитическим ферментом.

Грибные протеазы широко применяются для деградации клейковины до постоянного уровня. Это позволяет стандартизовать операцию процесса хлебопечения и сократить периоды замешивания и выдержки.

Использование других ферментов (глюкозооксидаза, фруктофuranозидаза, галактозидаза, пектиназы, папаин, трипсин, химотрипсин, а также некоторые протеазы грибного и бактериального пронахождения) значительно увеличилось и практически удваивается каждые 10 лет.

Иммобилизованные ферменты. Широко используются в медицине, фармацевтической, химической и пищевой промышленности, в аналитических целях, в качестве ферментных электродов для определения концентрации углеводов, аминокислот и других соединений. Но они не применяются в практических целях в больших масштабах.

Основные преимущества иммобилизованных ферментов:

- легко отделяются от среды и могут быть использованы повторно;
- ферменты в иммобилизованном состоянии проявляют повышенную стабильность к экстремальным условиям и сохраняют активность в течение более длительного времени;
- их применение позволяет создавать непрерывные технологии;
- методами иммобилизации возможно создание мультиферментных иммобилизованных композиций, что в свою очередь, позволяет осуществлять последовательные ферментные реакции разных процессов.

У иммобилизованных ферментов имеются и недостатками:

- в результате иммобилизации в ряде случаев отмечены снижения удельной активности системы;

- иммобилизованные ферменты, ввиду фиксации ферментов на носителе, не действуют на неподвижные или нерастворимые субстраты;
- высокая стоимость иммобилизации.

1.1.5 Ферменты, применяемые в сыроделии

При выработке сыра для гидролиза белка, искусственно вносят протеолитический фермент, называемый сычужным ферментом или ренином. Ренин образуется в сычуге - в четвертом отделении желудка ягненка или теленка, питающийся молоком. С возрастом организма животных вместо сычужного фермента вырабатывает другие протеолитические ферменты, с другой субстратной специфичностью, не вызывающие свертывание молока.

Сычужный фермент получают при помощи водно-солевого экстракта четвертого отдела желудка (сычуга) «грудного» теленка. В структуру сычужного фермента входят два ключевых молокосвертывающих фермента – химозин (реннин) и пепсин. Их содержание в желудочном соке телят по разному и находится в зависимости сколько лет животному, а так же чем он питается. Сычужный фермент у молочных телят включает 80-95% химозина (Calf rennet), а такие же препараты, выделившие из сычугов телят, которых кормили грубыми кормами, содержат от 70 до 100% пепсина. Тем самым, примесь пепсина содержится в препаратах натурального сычужного фермента, который синтезируется в сычуге теленка в самом раннем возрасте.

Активность ферментов в условных единицах – это количество молока в граммах, свертывающегося под действием 1 г сычужного порошка в течение 40 мин при температуре 35°C. Фермент пепсин используется для свертывания молока в производстве творога, брынзы и небольшого количества сыра. Пепсин может вызывать горечь в сырах на первом этапе созревания. Активность пепсина по свертыванию молока по сравнению с сычужным ферментом проявляется при более низком значении pH.

Пепсин и химозин обладают специфической и неспецифической протеолитической активностью (ПА). Специфическая ПА или по-другому молокосвертывающая активность – это свойство пепсина и химозина гидролизовать важнейшую пептидную связь 105 (Phe) – 106 (Met) в молекуле каппа-казеина. Гидролиз данной связи дестабилизирует мицеллы казеина, тем самым запуская ход образования молочного сгустка. При неспецифическом протеолизе совершается гидролиз уже не только связи 105 (Phe) – 106 (Met), который находится в молекуле каппа-казеина, а и в иных пептидных взаимосвязях в альфа-, бетта- и каппа-казеинах. Неспецифическая протеолитическая активность пепсина в диапазоне pH от 2 до 6 значительно выше, чем у химозина, то что влияет на выход и качество сыров. Для обеспечения свертывания молока синтезируется химозин и поэтому гидролизует важнейшую пептидную взаимосвязь. А пепсин, синтезируемый с целью обеспечения разрушение белков, наоборот, атакует огромное число пептидных связей, как и в казеине, таким образом, и в белках, поступающих с

твёрдыми кормами. Химозин расщепляет казеин с образованием крупных фрагментов, которые в дальнейшем станут субстратами для протеаз молочнокислых микроорганизмов. Обладающий значительно наиболее высокой протеолитической активностью, пепсин гидролизует белки, образуя короткие пептиды, которые могут вызвать даже возникновение горечи в сыре

Из-за недостатка сычужного порошка в сыроподелке начали широко применять другие препараты, которые можно разделить на две категории: пепсины - желудочные протеазы жвачных и некоторых иных животных - и кислые протеазы микробиального происхождения. Из первой группы наибольшее распространение получили говяжий, свиной и куриный пепсины. Пепсины чаще всего используются в виде смесей друг с другом или с сычужным порошком.

Производство сыра из молока - дегидратационный процесс, при котором происходит концентрирование казеина и жира в 6-12 раз. В процессе созревания некоторых сыров практикуется искусственное размножение микроорганизмов (бактерии и грибы) для придания сыру специфического вкуса и аромата.

На сегодняшний день в молокоперерабатывающей промышленности применяют огромный спектр сычужного фермента (табл. 1).

Таблица 1

Состав, торговое название и производители сычужных препаратов на основе сычужного фермента

Состав	Торговое название	Производитель
100% химозин	СФ	«МЗСФ», Москва
90-95% химозин, 5-10% говяжий пепсин	СФ-90 «Экстра»	«Завод эндокринных ферментов», Московская обл.
96% химозин, 4% говяжий пепсин	Calf rennet Clerici 96/4	«Caglificio Clerici SPA», Италия
90% химозин, 10% говяжий пепсин	Red Label Spain	«Danisko», Франция
95% химозин, 5% говяжий пепсин	Bioren Liquid Rennet Premium 95L	«Hundsbichler GmbH», Австрия.
90% химозин, 10% говяжий пепсин	CARLINA 1650	«Danisko», Франция
50% химозин, 50% говяжий пепсин	СГ-50	«МЗСФ», Москва; «Шоко», Ростовская обл.
50% химозин, 50% говяжий пепсин	Clerici 50/50	«Caglificio Clerici SPA», Италия
50% химозин, 50% говяжий пепсин	Bioren Liquid Rennet Standart 50L	«Hundsbichler GmbH», Австрия
25% химозин, 75% говяжий пепсин	СГ-25	«МЗСФ», Москва
50% куриный пепсин, 50% говяжий пепсин	СК-50	«МЗСФ», Москва
30-40% химозин, 30-40% говяжий пепсин, 40% куриный пепсин	СКГ «Универсал»	«Завод эндокринных ферментов», Московская обл.

В связи с недостатком сычужного фермента и из-за нецелесообразности забоя молодняка в молочный период жизни и уменьшения числа скота, широко применяются другие ферменты, схожие по воздействию к сычужному: энзимы, пепсины, синтезируемые определенными микроорганизмами. Применяются способы генной инженерии, исполняющие синтез сычужного фермента, в геномы бактерий, и этим самым реализовывать синтез сычужного энзима микроорганизмами. Сычужный фермент, который получен методами генной инженерии изготавливается и применяется в промышленных масштабах.

Наиболее часто используемые в пищевой промышленности микробиальные молокосвертывающие ферменты указаны в таблице 2.

Таблица 2

Номенклатура, производители и производители микробиальных молокосвертывающих ферментов

Название фермента	Продуцент	Торговое название	Производитель
Аспергиллопепсин I (aspergillopepsin I) КФ 3.4.23.18	Aspergillus niger var. awamori	CHY-MAX M Liquid	«Chr. Hansen», Дания
Эндофиапепсин (endothiapepsin) КФ 3.4.23.22	Endolhia parasitica	Суперен	«Pfizer», США
Мукорпепсин (mucorpepsin) КФ 3.4.23.23	Mucor miehei	Реннилаза	«Novo Rennet», Дания
		Фромаза	«Wallerstein», США
		Микробиальный реннин	«Meito Sangyo», Япония
		Marzyme	«Danisko», Франция
		Milase	«CSK food enrichment», Нидерланды

Традиционный сычужный фермент широко применяется в сыротделении при выработке сыров с высокой температурой второго нагревания. Использование сычужного фермента, содержащий в большей степени химозина, способствует наибольшему выходу продукции лучшего качества с продолжительным сроком созревания и хранения. Кроме этого, такие ферменты позволяют сохранять на длительный период волокнистую структуру в сырах с чеддаризацией и термомеханической обработкой сырной массы.

Препараты, состоящие из 50% химозина и 50% пепсина, широко применяются при получении сыров с низкой температурой второго нагревания и сыров с коротким сроком созревания, обладающими высокими органолептическими свойствами.

Контрольные вопросы

1. Назовите основные источники получения ферментов?
2. В каких отраслях промышленности используются ферментативные препараты?
3. Что значит иммобилизованные ферменты, как их получают?
4. При производстве каких продуктов питания используются ферменты?

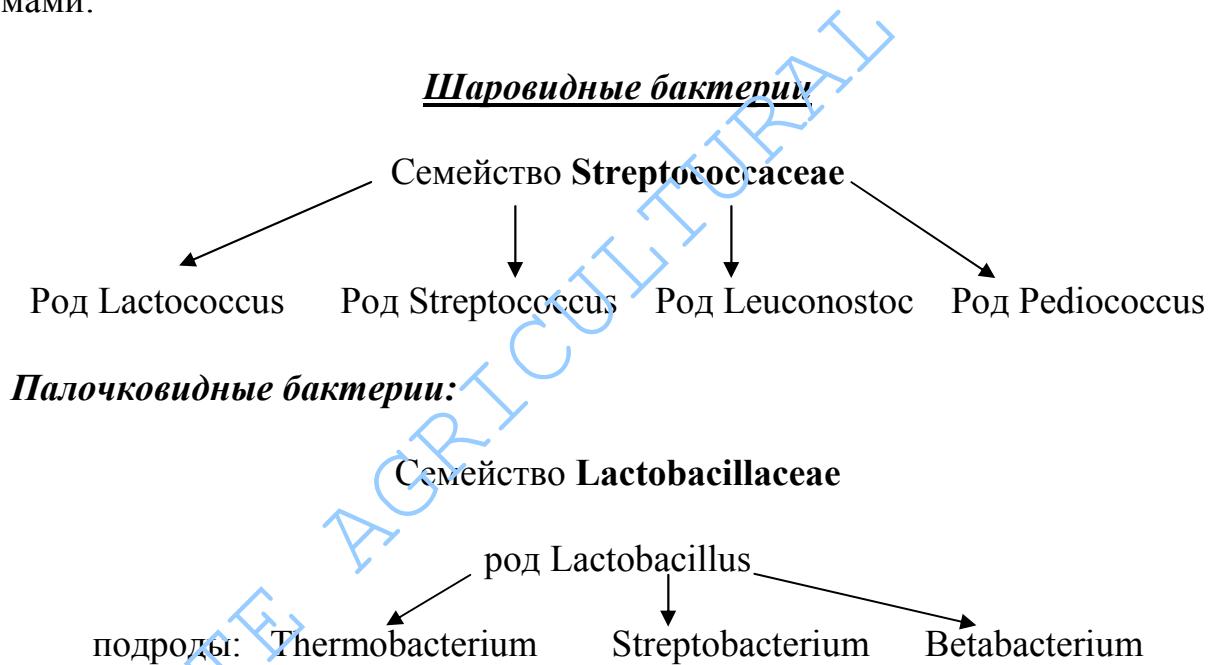
1.2 МИКРООРГАНИЗМЫ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В ПРОИЗВОДСТВЕ ФЕРМЕНТИРОВАННЫХ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

1.2.1 Молочнокислые бактерии

Молочнокислые бактерии играют решающую роль в технологии молока, так как они сбраживают молочный сахар до молочной кислоты, что приводит к снижению рН и затем к свертыванию казеина и к подавлению чувствительных к кислоте микробов.

У лактобактерий температурный диапазон следующий: оптимальная температура мезофильных видов – 25-32°C; а минимальная температура – 10°C. Оптимальная температура термофильных видов – 38-45°C, а минимальная – 20-22°C. Некоторые молочнокислые бактерии способны расти при температуре 3-5°C.

Молочнокислые бактерии представлены шаровидными и палочковидными формами:



Род Lactococcus. Бактерии рода Lactococcus используются в производстве творога, сметаны, кисломолочных напитков и других продуктов. Они гомоферментативные, так как сбраживают до 90% сахара в молочную кислоту. Предельная кислотность (через 5-7 суток развития в молоке) достигает 125°Т. К этому роду относятся: *Lactococcus lactis*, *Lactococcus cremoris*, *Lactococcus diacetilactis*.

Lactococcus lactis (молочный стрептококк) – короткие цепочки образует молочную кислоту при температуре 25°C (рис. 1). Форма клеток овальная, которые соединяются попарно или образуют короткие цепочки. 28-32°C является оптимальной температурой для их развития. Вызывает скижение молока, в котором накапливается около 0,8-1,0% молочной кислоты. Кисломолочные напитки, творог, сметана, кислосливочное масло, сыры с

низкой температурой второго нагревания изготавливаются при добавлении заквасок, содержащих штаммы молочного стрептококка.

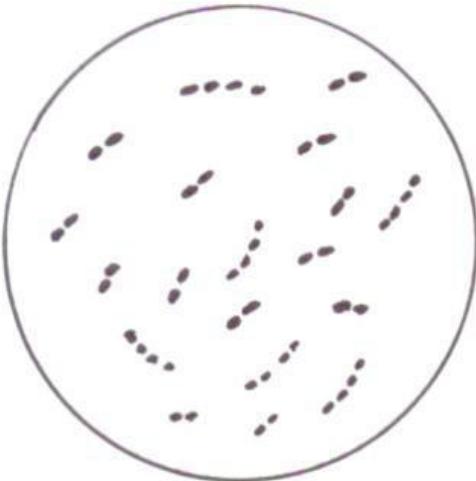


Рисунок 1. *Lactococcus lactis* (молочный стрептококк)

***Lactococcus cremoris* (сливочный стрептококк)** – длинные цепочки, образующиеся при соединении шаровидных клеток (рис. 2). Оптимальной температурой для их развития является 25-30°C. При наступлении благоприятных условий *Lactococcus cremoris* способен сворачивать молоко за сутки, при этом не образует сгусток. Слизь может образоваться при нагревании среды до 10-18°C. Предельной кислотностью в молоке является 110-115°Т. Для получения густой консистенции продукта необходимо использовать бактерии видов *Lactococcus lactis* и *Lactococcus cremoris*. Сырое молоко содержит *Lactococcus lactis* больше, чем *Lactococcus cremoris*. Сметану, кислосливочное масло и другие кисломолочные продукты изготавливают, используя в качестве закваски сливочного стрептококка.

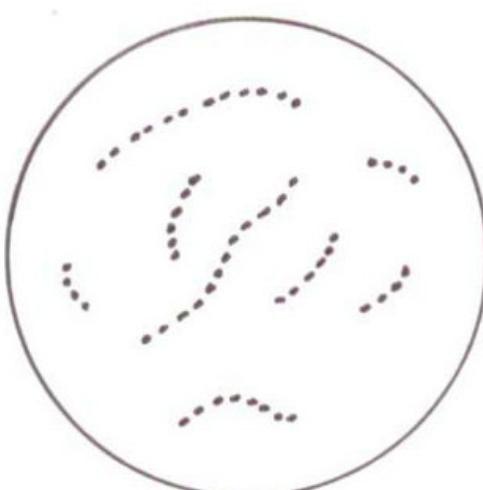


Рисунок 2. *Lactococcus cremoris* (сливочный стрептококк)

***Lactococcus diacetylactis* (ароматобразующий стрептококк)** участвует в формировании в молоке кроме молочной кислоты ацетоина и диацетила, а также важнейших ароматических масел и CO₂. В закваске, которая используется при

изготовлении масла он содержится в большом количестве. Форма клеток – диплококки, но иногда в виде коротких цепочек (рис. 3). Оптимальной температурой является 25-30°C. *Lactococcus diacetylactis* способен свертывать молоко за 16-18 ч, то есть у него слабая кислотообразующая активность, а предельная кислотность не превышает 70-100°Т.

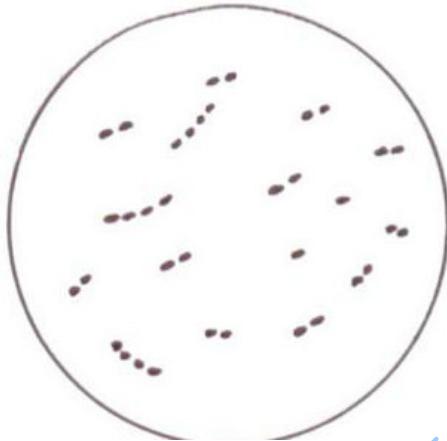


Рисунок 3. *Lactococcus diacetylactis* (ароматобазующий стрептококк)

Род *Streptococcus*. В этот род входит один вид молочнокислых бактерий - *Streptococcus thermophilus*.

***Streptococcus thermophilus* (термофильный стрептококк)** – это грамположительные факультативно анаэробные бактерии (рис. 4). Форма клеток – кокки, соединенные в длинные цепочки. Способны свертывать молоко за 3,5-4 ч при температуре 40-42°C. 20-50°C является температурным диапазоном. Предельная кислотность в молоке составляет 100-115°Т. Ряженку, варенец, йогурт, сыры с высокой температурой нагревания производят с добавлением в состав заквасок термофильного стрептококка.

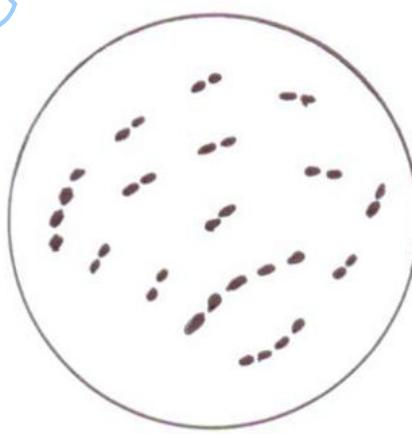


Рисунок 4. *Streptococcus thermophilus* (термофильный стрептококк)

Этот вид устойчив к повышенным температурам. Он может выдержать 75°C в течение 15 мин, а 65°C в течение 30 мин.

В связи с его устойчивостью к антибиотикам, особенно к пенициллину, его используют как тест-микроб для определения их в молоке.

Свертывание казеина, снижение pH, подавление чувствительных к кислоте микроорганизмов в молоке происходит при сбраживании молочного сахара до

молочной кислоты, которое в свою очередь, вызывают молочнокислые бактерии.

Род *Leuconostoc*. Клетки бактерий этого рода имеют форму шара, немного вытянутые. Размеры клеток: ширина 0,5-0,7 мкм, длина 0,7-1,2 мкм. Они соединены попарно или в цепочки. Бактерии этого рода способны сбраживать сахара и образовывать также уксусную кислоту и ароматические вещества (ацетоин и диацетил) из солей лимонной кислоты. При достижении значения pH ниже 5 появляется аромат. Добавление дрожжей, молочного стрептококка и глюкозы приводит к развитию в молоке многих штаммов этого рода. При приготовлении масла бактерии этого рода входят в состав заквасок как основные ароматообразующие микроорганизмы. Аромат ломтевых сыров также образуется при добавлении этих микроорганизмов. Важнейшие виды: *Leuconostoc cremoris*, *Leuconostoc dextranicum* и *Leuconostoc mesenteroides*.

***Leuconostoc cremoris*.** Он имеет шаровидные или линзовидные клетки, которые соединяются попарно или составляют короткие цепочки (рис. 5). Оптимальной температурой роста является 22-25°C. Температура около 5°C является минимальной для его развития. Протеиназная активность этого вида низкая, поэтому он не способен к свертыванию молока. Ростовые факторы (дрожжевой или кукурузный экстракт), добавленные в молоко вызывают их рост. 40-50°Т является предельной кислотностью. Снижение pH среды до 5,0-4,5 приводит к образованию диацетила, из-за этого он используется в многовидовых заквасках при производстве сыров и кислосливочного масла в сочетании с *Lactococcus lactis* и *Lactococcus cremoris*.

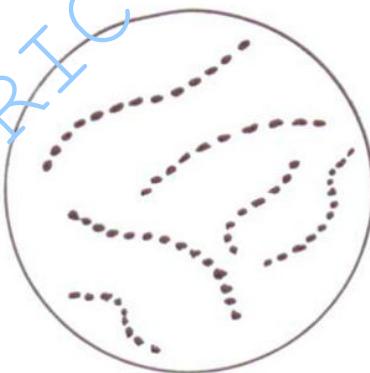


Рисунок 5. *Leuconostoc cremoris*

***Leuconostoc dextranicum*.** Этот вид внешне схож с *Leuconostoc cremoris*. Он способен свертывать молоко при оптимальной температуре 22-25°C в течение 3-4 суток. Предельная его кислотность – 70-80°Т. Приводят к синтезу метаболитов: диацетила, уксусной кислоты, диоксида углерода. Они формируют вкус и запах кефирного грибка, так как составляют его естественную микрофлору. Слизь формируется при синтезе полисахарида декстрана из сахарозы штаммами этого вида.

***Leuconostoc mesenteroides*.** Клетки этого вида имеют шаровидную или линзовидную форму. Этот вид является факультативно-анаэробным, неспорообразующим, неподвижным, гетероферментативным. Окраска по Граму

положительная. Размер клеток: длина 0,7-1,2 мкм, ширина 0,5-0,7 мкм. Клетки соединяются попарно или в короткие цепочки. Их активное развитие создает благоприятные условия для роста других молочнокислых бактерий. Эти бактерии играют большую роль в процессах квашения капусты и соления огурцов. Они развиваются во много раз быстрее остальных видов молочнокислых бактерий при концентрации соли до 4% и оптимальной температуре 18-22°C. Но могут развиваться и при сравнительно низких температурах (7,5°C).

Палочковидные бактерии

Род *Lactobacillus*. Лактобациллы являются грамположительными молочнокислыми палочками. Они имеют различную длину и толщину, не формируют споры. По сравнению со стрептококками при pH 3,2-3,5 они окисляют молоко намного быстрее. При низком содержании кислорода и низком значении pH развитие лактобацилл достигает оптимальных значений.

Подрод *Thermobacterium*. Гомоферментативные бактерии палочковидной формы, развитие которых прекращается при температуре 15°C. А 40°C является оптимальным значением для их роста.

Подрод *Streptobacterium*. Гомоферментативные бактерии, представляющие собой длинные палочки, которые состоят из коротких палочек. Оптимальная температура развития - 30°C. Но способны развиваться и при температуре ниже 15°C.

Подрод *Betabacterium*. Гетероферментативные бактерии, обитающие на растительных кормах (трава, силос, фрукты). Бактерии этого рода попадают в стерильно выдоенное молоко из окружающей среды. Они не могут выдержать высокую температуру обработки. Кисломолочные продукты, твердые сыры и ломтевые сыры изготавливают с использованием лактобацилл. При совместном развитии со стрептококками лактобациллы образуют молочную кислоту, так как стрептококки способны создавать для них благоприятные показатели pH и пониженный окислительно-восстановительный потенциал. Затем при обильном образовании молочной кислоты развитие стрептококков тормозится.

Виды, лактобацилл, которые используются в молочной промышленности следующие:

***Lactobacillus bulgaricus* (болгарская палочка).** Гомоферментативные палочковидные бактерии (рис. 6). При изготовлении йогурта болгарскую палочку применяют совместно с *Streptococcus thermophilus* или с *Lactobacillus jugurti*. Также при изготовлении кисломолочных продуктов болгарскую палочку добавляют в молочнокислую закваску. Ее используют и в производстве твердых сыров. 40-45°C является оптимальной температурой для развития этих бактерий. Она способна свертывать молоко за 4-6 ч. Предельная кислотность молока достигает 200-350°Т.

***Lactobacillus lactis* (молочнокислая палочка)** - бактерии, образующие длинные нити (рис. 7). Являются постоянными обитателями кишечника человека и животных. Чаще всего они обнаруживаются на доильном оборудовании, также молочнокислые палочки присутствуют в необработанном

(сыром) молоке. Молочнокислая палочка идентична *Lactobacillus caucasicus*, находящейся в кефире. Твердые сыры созревают при участии этих бактерий. 40°C является оптимальной температурой для развития этого вида бактерия. Предельная кислотность молока достигает 160–200°Т.

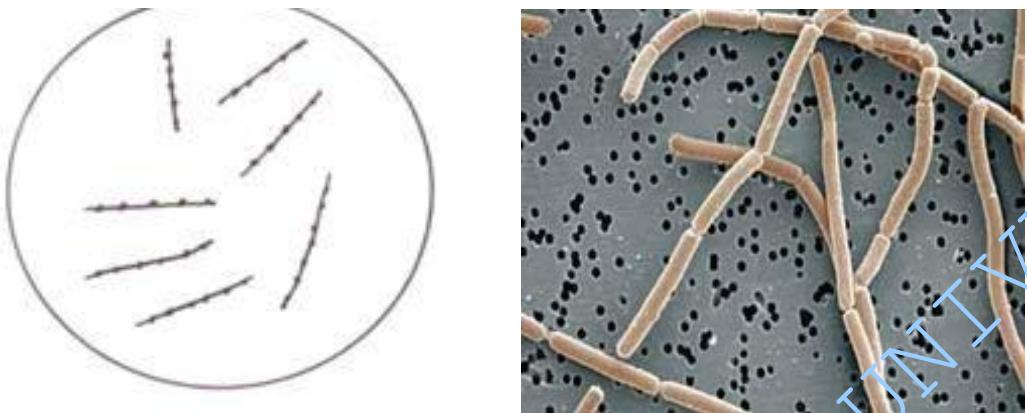


Рисунок 6. *Lactobacillus bulgaricus*



Рисунок 7. *Lactobacillus lactis*

***Lactobacillus helveticus* (швейцарская палочка)** – бактерии, образующие одиночные или короткие цепочки (рис. 8). 42-45°C является оптимальной температурой для роста этих видов бактерий. Время свертывания молока 5-6 ч. Предельная кислотность достигает 300-350°Т. Этот вид обнаруживается в необработанном (сыром) молоке, в сычуге и в сычужном ферменте телят. При изготовлении сыров с высокой температурой второго нагревания швейцарская палочка используется в заквасках.

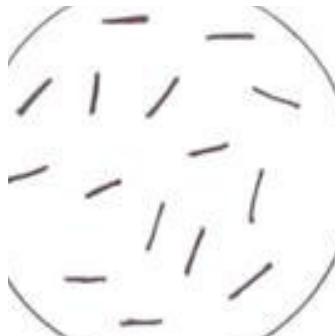


Рисунок 8. *Lactobacillus helveticus*

Lactobacillus acidophilus (ацидофильная палочка) – бактерии, образующие клетки в виде длинных и коротких палочек (рис. 9). 37-38°C является оптимальной температурой для их роста. Время свертывания молока 5-8 ч. Предельная кислотность молока составляет 260-280°Т. При использовании молочных продуктов они в большом количестве содержатся в кишечнике детей и взрослых. Также они встречаются и в кишечнике телят. *Lactobacillus acidophilus* - антагонисты гнилостных, условно-патогенных и патогенных микроорганизмов. Ацидофильная палочка способна продуцировать следующие бактериоцины – ацидофилин и лактоцидин. Поэтому она является пробиотической культурой. Ацидофилин, ацидофильное молоко, детские молочно-кислые продукты изготавливают с использованием этого вида микроорганизмов.

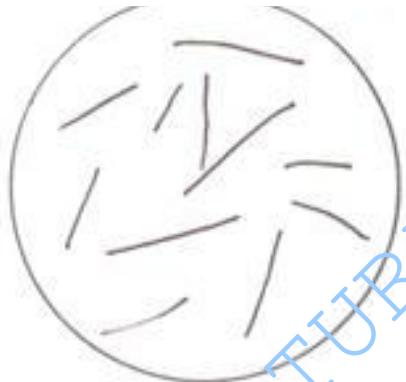


Рисунок 9. *Lactobacillus acidophilus*

Lactobacillus casei (сырная палочка) – бактерии, имеющие прямоугольные палочки располагающиеся цепочками (рис. 10). 28-32°C является оптимальной температурой для их роста. При повышении температуры до 45°C рост этих бактерий прекращается. Штаммы сырной палочки добавляют в питьевые йогурты для повышения сопротивляемости организма. *Lactobacillus casei* в борьбе за среду существования вытесняет *Helicobacter pylori*, которая является возбудителем гастритов, язв и других заболеваний желудка. Сырная палочка обеспечивает увеличение противогрибковой активности в ферментированном молочном продукте.

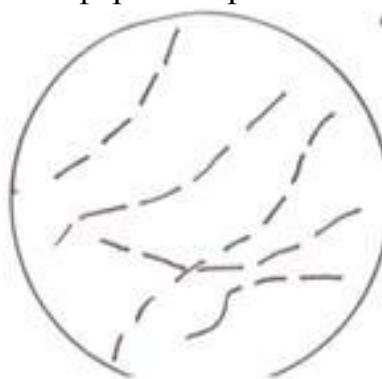


Рисунок 10. *Lactobacillus casei*

Lactobacillus plantarum – бактерии, имеющие формы длинных или коротких цепочек, состоящие из палочек разной длины (рис. 11). 30°C является

оптимальной температурой их роста. Предельная кислотность достигает 180°Т. При изготовлении силоса и квашеной капусты, используют закваску, в состав которых входит этот вид бактерий. Вещество, способное подавлять рост маслянокислых бактерий и бактерий кишечной микрофлоры синтезируется этими бактериями и называется бактериоцин плантарицин. Также они способны образовать пероксида водорода.

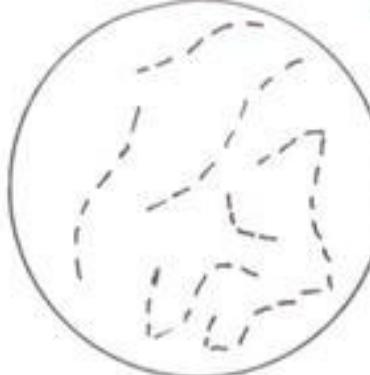


Рисунок 11. *Lactobacillus plantarum*

Роль основных видов молочнокислых бактерий в образовании качества молочных продуктов указана в таблице 3.

Таблица 3

Роль основных видов молочнокислых бактерий в формировании качества молочных продуктов

Микроорганизмы	Продукты, для производства которых применяются	Пороки, которые вызывают
<i>Streptococcus lactis</i>	Творог, сметана, напитки с плодовоягодными наполнителями	Нетипичный вкус, дряблая консистенция ацидофильных продуктов, прокисание пастеризованных молока, сливок
<i>Streptococcus cremoris</i>	Творог, сметана	Теряют активность в весенне время
<i>Streptococcus diacetylactis</i> , <i>Streptococcus acetoinicus</i>	Творог, сметана, кислосливочное масло	Стимулируют развитие термоустойчивых молочнокислых палочек - возбудителей порока «излишняя кислотность»
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Ряженка, варенец, йогурт	Нетипичный вкус и консистенция
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	Ацидофилин, ацидофильное молоко, детские кисломолочные продукты	Излишняя кислотность при медленном охлаждении после сквашивания
<i>Leuconostoc cremoris</i>	Творог, сметана	Теряют активность в весенне время
<i>Leuconostoc dextranicus</i>	Кефир	Вспучивание кефира при активном развитии

1.2.2 Бифидобактерии

Бифидобактерии относятся к семейству *Actinomycetaceae*, род *Bifidobacterium*. Это представители кишечной микрофлоры здорового человека и теплокровных животных. Они являются антагонистами патогенных и условно-патогенных микроорганизмов. Имеют разнообразную форму клеток: мелкие, иногда ветвящиеся палочки Y- или V-формы, прямые или изогнутые, булавовидные или лопатовидные (рис. 12). Расположение клеток может быть попарно, в форме розеток и цепочек, но также и встречаются одиночные клетки. Клетки имеют следующие размеры: диаметр 0,5-1,3 мкм, длина 1,5-8 мкм. Эти бактерии неподвижные, грамположительные, не образующие эндоспоры. Микрокапсула образуется у некоторых штаммов.

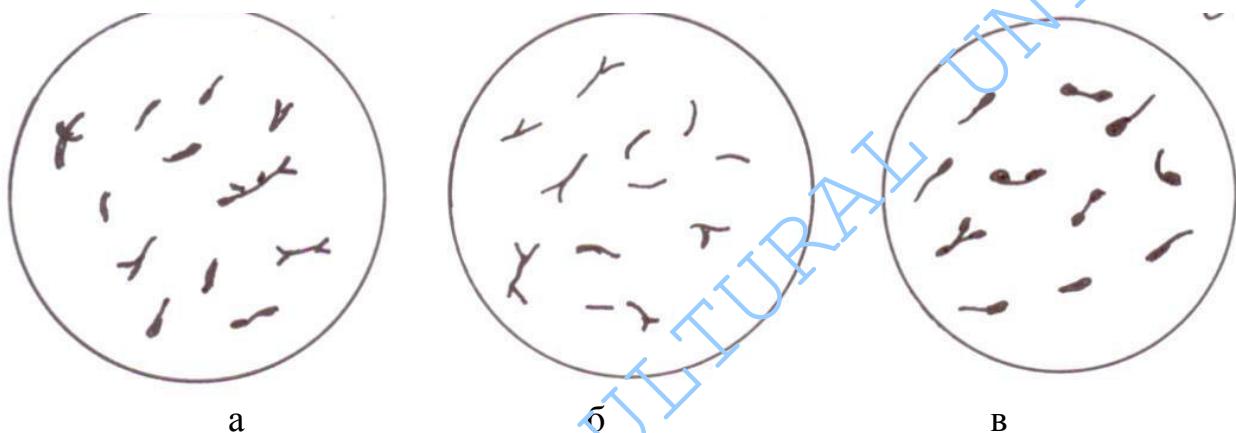


Рисунок 12. Бифидобактерии:
а – *B. bifidum*; б – *B. longum*; в – *B. adolescentis*

По отношению к кислороду эти виды облигатные анаэробы. 36-40°C является оптимальной температурой для их роста. Но могут расти при минимальных температурах (до 20°C) и при максимальных значениях (до 50°C). pH среды для их роста составляет 6-7; при понижении pH их рост задерживается. Скорость размножения этих бактерий в молоке пониженное. Молоко свертывают в течение 10-12 часов. Предельная кислотность молока составляет 120-130°Т.

Бифидобактерии способны синтезировать витамины группы В (B_1 , B_2 , B_6 , B_{12}), фолиевую кислоту, витамин К, незаменимые аминокислоты, поэтому их употребляют в производстве детских, лечебных, и диетических кисломолочных продуктов (биойогурта, бифидокефира, бифилакта и др.).

1.2.3 Пропионовокислые бактерии

Пропионовокислые бактерии включены в семейство *Propionibacteriaceae*, роду *Propionibacterium*. Основной вид этого рода – *Propionibacterium freudenreichii*.

Propionibacterium freudenreichii – неподвижные, грамположительные, неспорообразующие бактерии палочковидной формы, имеющие мелкие

размеры (в диаметре 0,5-0,8 мкм)(в длину 1-5 мкм). Форма клеток: шаровидные, удлиненные, раздвоенные или разветвленные (встречаются булавовидные формы) (рис. 13). Располагаются одиночно, попарно, в виде букв Y или V. Это факультативные анаэробы. Оптимальная температура их роста составляет 30-37°C и pH среды около 7,0. Время свертывания молока 5-7 дней. Предельная кислотность молока составляет 160-170°Т.

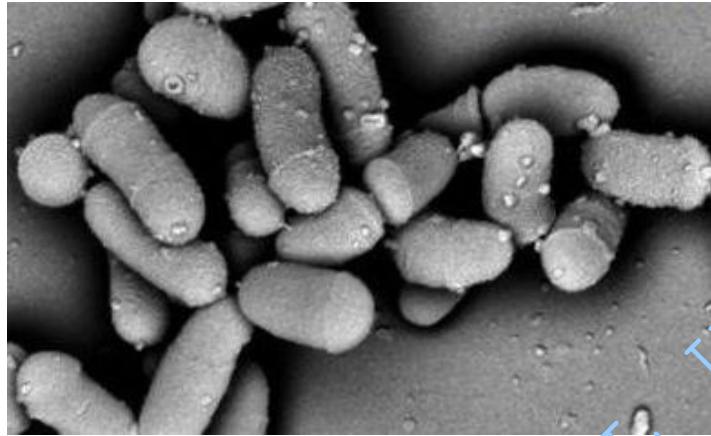


Рисунок 13. *Propionibacterium freudenreichii*

Они применяются в сыроделии при производстве сыров с высокой температурой второго нагревания. Они в ходе пропионовокислого брожения накапливают пропионовую и уксусную кислоты и диоксид углерода. Последние в свою очередь участвует в образовании рисунка в сыре. Специфический вкус и запах в сыре образуется благодаря летучим кислотам. Эти бактерии обогащают молочные продукты витамином В₁₂, так как они способны его синтезировать.

1.2.4 Уксуснокислые бактерии

Уксуснокислые бактерии относятся к роду *Acetobacter*, который включает семь видов. Типовым видом является *Acetobacter aceti*.

Acetobacter aceti – палочковидные, грамотрицательные бактерии, имеющие мелкие клетки. Размеры: в диаметре 0,6-0,8 мкм, в длину 1,0-3,0 мкм. Также среди них есть виды, с нитевидными, эллипсовидными или вздутыми формами. Клетки могут быть одиночными или в виде цепочек. По отношению к кислороду – строгие анаэробы. Не формируют споры и капсулы. Имеют способность окислять спирты в уксусную кислоту. 30°C является оптимальной температурой для их роста, оптимальные значения pH 5,4-6,3. Колония из этих бактерий формируется на поверхности жидкой питательной среды в виде пленки. Кефирная грибковая закваска всегда содержит уксуснокислые бактерии. Их положительная роль наблюдается при умеренном развитии в производстве кефира. Но запах и привкус уксусной кислоты появляется при их развитии в сметане, твороге, простокваше. Также их присутствие может вызвать ослизнение продукта.

1.2.5 Дрожжи

Дрожжи являются основными возбудителями спиртового брожения.

Дрожжевая клетка состоит из клеточной стенки, цитоплазматической мембраны и цитоплазмы с включенными в нее различными органоидами: митохондрии, рибосомы, ядро, эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи вакуоли, лизосомы (рис. 14). Размер клетки колеблется в среднем 8-10 мкм.

Дрожжи способны вовлекать простые ингредиенты системы в процесс метаболизма. Поступление веществ из внешней среды обеспечивается клеточной стенкой, цитоплазматической мембраной, пиноцитозом и эндоплазматической сетью.

Дрожжи размножаются почкованием.

Дрожжи, присутствующие в молочных продуктах, условно подразделяют на три группы (рис. 15):

1. Дрожжи, способные сбраживать лактозу. Сюда входят спорогенные (спорообразующие) дрожжи видов *Saccharomyces lactis*, *Zygosaccharomyces lactis*, *Kluyveromyces fragilis*, *Debaryomyces* и аспорогенные (неспорообразующие) дрожжи видов *Torulopsis kefir*, *Torulopsis sphaerica*, *Candida pseudotropicalis var. lactosa* и др.;

2. Дрожжи, не способные сбраживать лактозу, но ферментирующие моносахара. Они вместе с молочнокислыми бактериями, которые расщепляют лактозу на глюкозу и галактозу способны размножаться в молоке и молочных продуктах;

3. Дрожжи, способные окислять лактозу и другие сахара, но не способные их ферментировать. Эта группа не формирует споры и не способны к спиртовому брожению. В первую очередь к ним относятся дрожжи рода *Candida*.

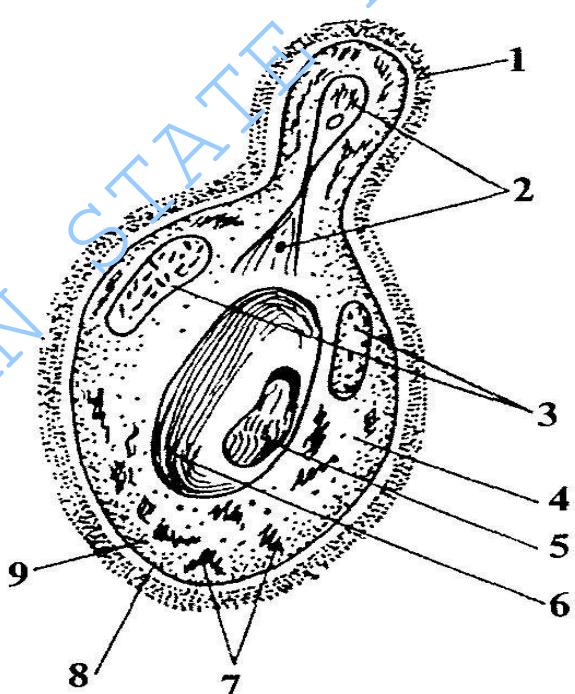
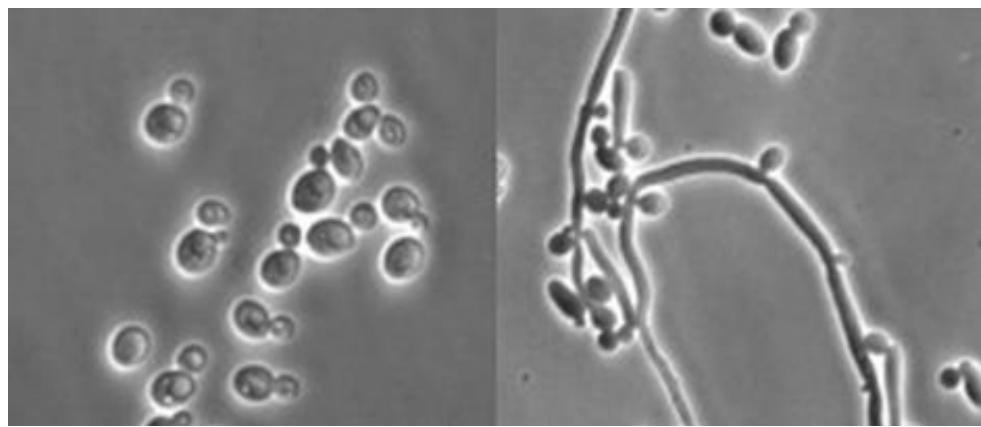
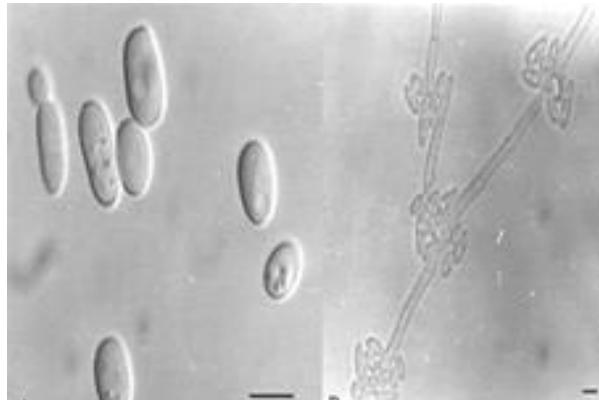


Рисунок 14. Схема строения дрожжевой клетки:

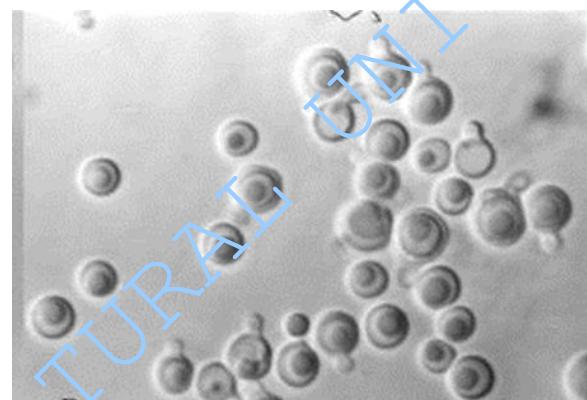
- 1 - клеточная стенка,
- 2 - делящееся ядро,
- 3 - зерна гликогена,
- 4 - цитоплазма,
- 5 - метахроматин,
- 6 - вакуоль,
- 7 - митохондрии,
- 8 - клеточная мембрана,
- 9 - рибосомы.



Torulopsis candida



Kluyveromyces fragilis



Candida crusei

Рисунок 15. Дрожжи, присутствующие в молочных продуктах

Контрольные вопросы

1. Значение молочнокислых бактерий при производстве молочнокислых бактерий?
2. Какими формами представлены молочнокислые бактерии?
3. Какая предельная кислотность в молоке у термофильного стрептококка?
4. Чем отличаются бифидобактерии от молочнокислых бактерий?
5. Какие бактерии применяются в производстве сыра и участвуют в образовании рисунка сыра?
6. Какие микроорганизмы являются основными возбудителями спиртового брожения?
7. Какой температурный диапазон у лактобактерий?
8. Бактерии какого рода способны сбраживать сахара и образовывать уксусную кислоту и ароматические вещества из солей лимонной кислоты?
9. На какие группы делятся дрожжи, присутствующие в молочных продуктах?

1.3 МИКРОБИОЛОГИЯ СЫРОГО И ПАСТЕРИЗОВАННОГО МОЛОКА

1.3.1 Источники микрофлоры сырого молока и ее изменение в процессе хранения

Источники микрофлоры сырого молока являются вымя, кожные покровы животных, аппаратура для доения и посуда, руки и спецодежда персонала ферм.

В основном в состав микрофлоры свежего молока входят микрококки. Но также обнаружены молочнокислые бактерии, бактерии группы кишечной палочки, флуоресцирующие бактерии, встречаются протеолитические спорообразующие бактерии родов *Bacillus* и *Clostridium*, плесени, дрожжи. В сыром молоке могут присутствовать и патогенные микроорганизмы: бруцеллы, микобактерии туберкулеза, сальмонеллы, золотистый стафилококк и др.

Характер кормов оказывает влияние на качественный и количественный состав микрофлоры молока. Например, при использовании сухих кормов в молоке содержится больше спорообразующих бактерий.

В сыром молоке, перерабатываемом на питьевое молоко, количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФА_{нМ}) не должно превышать $1 \cdot 10^6$ КОЕ/см³, а содержание термостойких микроорганизмов должно быть не выше значения $4 \cdot 10^4$ КОЕ/см³. К молоку, перерабатываемому на молочные консервы более жесткие требования: не допускается содержание спор бактерий в количестве более $1 \cdot 10^2$ КОЕ/см³.

Изменение первоначальной микрофлоры в количественном и качественном отношении происходит в процессе хранения. И различают *несколько фаз*:

1. *Бактерицидная фаза*. В этой фазе отсутствует размножение и даже происходит частичное отмирание микроорганизмов. Это происходит благодаря присутствию в молоке бактерицидных веществ - *лизоцимов*. Уровень бактериальной обсемененности и температура хранения молока влияет на продолжительность этой фазы. Длительность бактерицидной фазы определяется температурой хранения: 48 часов она длится при 0°C, 24 часов при 10°C, а 3 часа - при 30°C.

2. *Фаза смешанной микрофлоры*. В этой фазе микроорганизмы активно размножаются. Ниже приведены типы микрофлор, отличающиеся от температуры хранения молока:

А) *криофлора* (микрофлора с низкими температурами - от 0 до 8°C). В такой флоре идет медленное развитие психрофильных микроорганизмов родов *Pseudomonas*, *Achromobacter*, *Micrococcus*.

Б) *мезофлора* (микрофлора со средними температурами - от 10° до 35°C). В этом типе флоры молочнокислые бактерии быстро размножаются.

В) *термофлора* (микрофлора с высокими температурами - от 40° до 45°C). Термофильные бактерии хорошо развиваются в молоке.

3. *Фаза молочнокислых бактерий*. Для наступления этой фазы необходимая температура – выше 10°C. В конечном этапе этой фазы кислотность увеличивается и происходит сквашивание молока. В такой среде происходит

гибель других бактерий. В начале этой фазы идет развитие молочнокислых стрептококков которые повышают кислотность молока до 120°Т, в дальнейшем происходит развитие молочнокислых палочек, которые погибают при значениях кислотности 250-300°Т.

4. *Фаза дрожжей и плесеней.* В этой фазе начинается бурный рост плесневых грибов и дрожжей на поверхности молока, которые способны усваивать молочную кислоту. При этом снижается кислотность молока и развиваются гнилостные бактерии.

Таким образом, чтобы предотвратить развитие микроорганизмов необходимо сырое молоко быстро охладить. В результате чего увеличивается бактерицидная фаза, которая необходима для транспортировки молока на предприятие молочной промышленности.

1.3.2 Изменение микрофлоры молока при термической обработке

Для уничтожения патогенной микрофлоры и полного устранения непатогенной микрофлоры, которая снижает качество молочной продукции, проводят термическую обработку молока и молочных продуктов – пастеризацию и стерилизацию.

При использовании различных режимов растеризации происходит гибель от 98 до 99,9% вегетативных клеток. При сстаточной микрофлоры не более 0,1% от первоначального количества микроорганизмов в молоке эффективность пастеризации считается удовлетворительной. При проведении пастеризации бактерии группы кишечной палочки исчезают в 10 см³ молока. После пастеризации содержание в 1 см³ молока бактерий не превышает 10 тыс. В каждую декаду один раз проводится контроль эффективности пастеризации молока вне зависимости от качества готового продукта.

В микрофлоре пастеризованного молока остаются споры бактерий родов *Bacillus* и *Clostridium* и вегетативные клетки термоустойчивых молочнокислых бактерий, энтерококк и микрококк.

При стерилизации молока уничтожаются вегетативные клетки и большинство спор бактерий. В стерилизованном молоке не содержатся патогенные и токсигенные микроорганизмы, а также микроорганизмы-возбудители. При изготовлении стерилизованного молока используют сырье высокого качества, с содержанием спор бактерий до 100 КОЕ в 1 см³ сырого молока. В таком молоке допускается присутствие небольшого количества спор бактерий, не размножающиеся и не вызывающие изменения в продукте в течение срока хранения.

Контрольные вопросы

1. Источники микрофлоры сырого молока?
2. Назовите фазы, приводящие к изменению первоначальной микрофлоры при хранении молока.
3. Споры, каких родов бактерий остаются в микрофлоре пастеризованного молока?

1.4. БАКТЕРИАЛЬНЫЕ МОЛОЧНЫЕ ЗАКВАСКИ

1.4.1. Классификация молочных заквасок

Закваски, выращиваемые в специальных биолабораториях, называют маточными или лабораторными. Они являются основой для получения производственных или потребительских заквасок.

Потребительские закваски подразделяют на материнские, или первичные; промежуточные, или вторичные, и производственные, или третичные.

Материнские закваски получают при посевах маточных заквасок, промежуточные и производственные - соответственно при посевах материнских и промежуточных заквасок.

Различают одноштаммовые закваски, в состав которых входит один штамм микроорганизма, многоштаммовые - из нескольких штаммов одного вида и смешанные закваски, состоящие из многих штаммов разных видов микробов.

В зависимости от числа жизнеспособных клеток и способа производства различают бактериальные закваски (БЗ) и бактериальные концентраты (БК).

При изготовлении **бактериальных заквасок (БЗ)** не проводят концентрирование микробных клеток, поэтому число жизнеспособных клеток в 1 см³ или 1 г заквасок составляет не более 10 млрд. КОЕ/г ($n \times 10^8$ - $n \times 10^{10}$ КОЕ/г (см³)).

Такие закваски имеют низкое количество жизнеспособных клеток, достаточно длинную лаг-фазу, поэтому они должны быть активизированы (перевиты по крайней мере дважды: первичная, лабораторная, производственная).

При изготовлении **бактериальных концентратов (БК)** проводят обязательное концентрирование микробной массы, поэтому число жизнеспособных клеток в 1 см³ или 1 г концентрата составляет более 10 млрд. КОЕ/г ($n \times 10^{11}$ КОЕ/г (см³)).

В зависимости от числа видов микроорганизмов, входящих в состав микрофлоры, закваски делятся на два типа:

Моновидовые (условное обозначение М), состоящие из микроорганизмов одного вида;

Поливидовые (П), состоящие из двух и более видов.

В зависимости от температуры роста микроорганизмов, входящих в состав микрофлоры, закваски делятся на три типа:

- **мезофильные** (оптимальный температурный интервал жизнедеятельности микроорганизмов 25-30°C). В состав мезофильных БЗ и БК входят такие группы микроорганизмов: лактококки, лейконостоки, молочнокислые палочки, бифидобактерии и другие мезофильные микроорганизмы.

- **термофильные** (оптимальный температурный интервал жизнедеятельности микроорганизмов 40-50°C). В состав термофильных БЗ и БК входят термофильные молочнокислые палочки и термофильный стрептококк.

- **смешанные**. В состав смешанных БЗ и БК входят термофильные и мезофильные микроорганизмы.

По составу микрофлоры основные закваски, применяемые в молокоперерабатывающей промышленности, подразделяют на 3 группы: бактериальные, грибковые и смешанные (табл. 4).

Таблица 4
Закваски для молочной промышленности

Закваски	Микроорганизмы	Продукт
Бактериальные: Мезофильные молочнокислые стрептококки Термофильные молочнокислые бактерии Бактерии, участвующие в созревании сыра	Lac.lactis, Leu.cremoris, Lac.cremoris, Lac.diacetylactis, Leu.dextranicum Str.thermophilus, Lbm.bulgaricum, Lbm.acidophilum, Lbm.helveticum, Lbm.lactis Пропионовокислые бактерии, Lbm.casei subsp. rhamnosus, Brevibacterium linens	Творог, сметана, простокваша, кислосливочное масло, сыры. Мечниковская и южная простокваша, ряженка, йогурт, варенец, ацедофилин, крупные твердые сыры Сыры с высокой температурой второго нагревания, мягкие сыры
Грибковые Культура рокфора культура камамбера	Penicillium roqueforti Pen. camambri, Pen. candidum, Pen. album	Сыр корфор Сыр камамбер
Смешанные бактериально-грибковые	Lac.lactis, Lbm.buchneri, Lbm.brevis, Lbm.bulgaricum, Lbm.acidophilum, дрожжи Saccharomyces lactis и рода Torulopsis, уксуснокислые бактерии	Кефир, кумыс

Жидкие закваски. Они представляют собой чистые культуры, находящиеся в активном состоянии и выращенные в стерильном молоке. Срок годности их составляет две недели при температуре хранения 3-6 °C. При длительном транспортировании без соблюдения режима охлаждения и неправильных режимах хранения активность заквасочных культур быстро снижается.

Для фасовки жидких заквасок используют флаконы по 20, 50 и 100 см³. Частоинство этих заквасок - высокая активность микрофлоры, отсутствие бактерий в них, а недостаток - маленький срок их хранения (до 3 недель при t= 4-6°C и до 5 дней при t= 20°C). Закваски таких типов в основном употребляют молочные предприятия, которые располагаются близко к лабораториям по производству бактериальных препаратов. Количество живых клеток в таких типах заквасок: 10⁷-10⁸ клеток в 1 см³.

Для повышения сроков хранения заквасок, их активности и увеличения в заквасках концентрацию бактериальных клеток производятся сухие закваски, а также жидкий и сухой бактериальный препарат. Жидкий бактериальный препарат вырабатывается культивированием молочнокислых бактерий в питательной среде, их концентрирования (центрифужным способом) и смешивания полученной биомассы с защитной средой.

Сухой бактериальный препарат приготавливается из жидкого препарата с помощью сублимационной сушки.

Сублимация заключается в высушивании бактериального препарата в замороженном состоянии при глубоком вакууме. При этом содержание микробных клеток в 1 г сухого бактериального препарата повышается до сотен миллиардов клеток, а срок хранения увеличивается до 4-х месяцев.

В жидких концентратах содержание молочнокислых бактерий составляет $1,5 \times 10^{11}$ в 1 см³, а их содержание в сухих концентратах составляет $1,5-3,0 \times 10^{11}$ в 1 г. Сухие концентраты хранятся не более 8 месяцев при температуре 3-8°C, а жидкие – до 2 месяцев при таких же значениях температуры.

Бактериальная масса является основным веществом для приготовления некоторых сухих заквасок. Такие закваски отличаются от бактериального концентрата только по содержанию клеток бактерий.

Сухие закваски вырабатывают сублимированные (лиофилизированные) бактериальные закваски (БЗ, БК) вырабатывают при сушке культур в замороженном состоянии. При этом в основу закваски добавляют вещества, защищающие микроорганизмы от неблагоприятных факторов, т.е. защитные вещества (например, глутамат натрия, аспаркам и др.), а также криопротекторы - вещества, защищающие от переохлаждения (глюкоза, сахарно-кукурузный сироп, сахароза, мальтоза и др.). Затем в этой среде микроорганизмы выращивают и далее охлаждают до температуры -40°C, высушивают при температуре -35°C.

Для изготовления сухих заквасок используют водный раствор, который состоит из 10% сахарозы, 5% цитрата натрия, 2,5% глутамата натрия и 5% желатозы. В такую среду вносят 30% жидкой закваски. Такой состав смешивают, фасуют в флаконы по 1 см³ (одна порция), замораживают и высушивают путем сублимационной сушки. Срок хранения сухой закваски - 8 месяцев при температуре 3-8°C. В 1 г сухой закваски содержится 10^7-10^8 клеток молочнокислых бактерий. Но возможно присутствие и других микроорганизмов, но не более 1-2 клеток в 1 г закваски. В сухие закваски могут попасть другие микроорганизмы, а также может снижаться активность молочнокислых бактерий в них. Это и является недостатком сухих заквасок.

Глубоко замороженные закваски (FR1). Их замораживают в жидким азоте ($t = -196^\circ\text{C}$) и является наиболее совершенным методом консервирования культур микроорганизмов, так как при таких низких температурах молекулы воды не образуют крупных кристаллов и биохимические процессы в клетках прекращаются, т.е. бактериальная клетка находится в пассивном «мертвом» состоянии. Замороженные закваски могут сохранять свою активность в течение многих месяцев, если их хранить при температуре от -40 до -45°C и ниже.

Сухие бактериальные закваски и препараты в отличие от жидких являются удобнее транспортировать и они могут сохраняться в течение долгого времени. При использовании сухого бактериального препарата упрощается схема приготовления заквасок беспересадочным способом. Сухой бактериальный препарат активизируется растворением в стерильном обезжиренном молоке при выдержке в течение 1,5-3 часа при оптимальной температуре развития бактериальных клеток. После оживлении бактериальный препарат поступает непосредственно в производство или для получения первичной производственной закваски, приготовленной на пастеризованном молоке.

Закваски прямого внесения. Культуры прямого заквашивания (DVS) производят сухими и глубокозамороженными. Перед использованием культуры DVS нет необходимости предварительно активизировать их. Число жизнеспособных клеток в 1 грамме составляет минимально 5×10^{10} КОЕ.

Закваски прямого внесения производятся разными фирмами, поэтому при их применении следует пользоваться рекомендациями той фирмы, которая реализует или выпускает данные закваски.

Закваски прямого внесения могут быть глубокозамороженные или сухие.

Замороженные закваски прямого внесения можно использовать:

- без предварительного оттаивания непосредственно в емкость с заквашиваемым молоком для получения продукта (при этом вначале в емкость подается небольшое количество нормализованной смеси с оптимальной температурой для развития микрофлоры данного вида закваски в соответствии с технологической инструкцией на продукт, а затем при перемешивании молока подается закваска и остальное молоко);
- с предварительным оттаиванием в стерильном контейнере в водяной бане при температуре 25-30°C (сразу после оттаивания закваску вносят при перемешивании в нормализованную смесь, при этом последовательность внесения такая же, как и в первом случае).

Сухие закваски прямого внесения используют для получения продукта или производственной закваски, внося непосредственно в наполняющуюся молоком емкость.

Доза вносимых заквасок прямого внесения на определенный объем заквашиваемого молока зависит от единиц активности молочнокислых и пробиотических бактерий в закваске, которое указано на каждой единице упаковки закваски, поставляемой конкретным производителем.

Концентрированные культуры прямого внесения имеют преимущества перед обычными заквасками, полученными путем пересадок:

- постоянный состав (не нарушается соотношение между штаммами);
- простота в использовании;
- высокая активность;
- нет риска загрязнения бактериофагом.

Одно из главных достоинств культур DVS - получение ферментированных молочных продуктов высокого качества с большими сроками хранения.

Кефирные грибки

На молочных предприятиях при культивировании из обезжиренного пастеризованного молока производят кефирные грибки. При росте кефирных грибков их несколько раз в неделю (обычно 1-2 раза) от культуральной закваски отделяют. Далее их помещают в стерильные флаконы, заливают нежирным молоком или сывороткой. Он хранится примерно 10 дней при температуре 8-10°C.

При высушивании в защитной среде из живых кефирных грибков получают сухие кефирные грибки. В их состав входят молочная сыворотка с содержанием сахара 0,5%, аскорбиновая кислота 0,01%.

Кефирные грибки после их отделения из культуральной жидкости помещают в защитную среду в соотношении 1:20 на 5-6 часов при температуре 20-22°C. Здесь происходит наращивание дрожжей, наиболее чувствительные к замораживанию и высушиванию. Затем сухие кефирные грибки отделяют от защитной среды, укладывают в стерильные лотки слоем 8 мм, закрывают стерильной марлей и сушат после замораживания способом сублимационной сушки. Их помещают в полиэтиленовые пакеты порциями по 10, 20, 50 и 100 г и запаивают. Кефирные грибки хранятся 3 месяца при температуре не выше 8°C.

1.4.2. Получение заквасочных наборов

Для получения чистой культуры молочнокислых бактерий необходимы специально оборудованные лаборатории при научно-исследовательских институтах.

В музеях отраслевых научно-исследовательских институтов хранят чистые культуры.

Производственно-ценные молочнокислые бактерии, в природных источниках встречаются редко. Молочнокислые бактерии, имеющие повышенную биохимическую активность интенсифицируют процесс сквашивания молока.

Вещества, в виде чистых культур молочнокислых бактерий, которые вносятся в молоко для получения кисломолочных продуктов высокого качества называются **заквасками**. Они могут состоять из разных штаммов, даже из разного вида микрофлоры. В результате этого получают закваску, устойчивую к неблагоприятным воздействиям.

Факторы, используемые при подборе культур для заквасок:

1. *Специфические свойства продукта.* Для образования прочного сгустка в продуктах предусмотренных отделению части сыворотки от сгустка (творог) используют специальные культуры. Чтобы придать продукту аромат, в закваску добавляют ароматобразующие стрептококки.

2. *Температурные режимы;*

3. *Взаимоотношения между молочнокислыми бактериями.* Должно быть сочетание штаммов молочнокислых бактерий т.е. исключить антагонистические взаимоотношения;

4. Возможность развития бактериофага. При подборе культур с целью предотвращения развития бактериофага нужно учитывать специфичность воздействия фага и подбирать культуры таким образом, чтобы при возможном инфицировании закваски бактериофагом, процесс сквашивания молока не замедлялся.

1.4.3. Приготовления заквасок на молочном предприятии

В микробиологических лабораториях предприятия приготавливают закваски в специальном боксе. Для этого поддерживают асептические условия. Не допускают одновременное проведение посевов по контролю готовой продукции, контролю условий производства и готовить закваски. Необходимо соблюдать сроки хранения закваски. Не применяют закваски и бактериальные концентраты с истекшим сроком хранения. Вскрытие флаконов с заквасками проводят только перед употреблением и используют все содержимое флакона сразу.

Лабораторная стадия приготовления закваски должна проводиться с целью ее активизации. Поступая на предприятие закваски, ослабляются в результате транспортировки и воздействия температуры. Поэтому активность заквасок восстанавливается путем предварительного культивирования на стерильном молоке. Эффективная закваска проявляет наибольшую активность не позднее, чем после второй пересадки. При этом культивирование закваски останавливают в конце логарифмической фазы роста, что достигается у большинства заквасок при достижении титруемой кислотности 78-80°Т.

Производственная стадия получения закваски

Режимы приготовления производственной закваски зависят от вида закваски и конкретных условий производства.

Чтобы приготовить производственную закваску необходимо использовать пастеризованное или стерильное молоко. Приготовление производственной закваски чаще всего проходит в ваннах длительной пастеризации (ВДП) или заквасочниках. Расчет дозы внесения лабораторной (маточной) закваски проводят в зависимости от времени, которое необходимо для получения готовой закваски (от 0,5 до 1,0%). На крупных молочных предприятиях изготавливают первичную (на стерильном молоке) и вторичную производственную закваску.

В производстве необходимо целесообразное использование свежеприготовленной закваски, т.к. она имеет наибольшую активность. В случае необходимости температуру закваски доводят до 3-10°C и отправят на хранение. Продолжительность хранения производственной закваски на стерильном молоке - 72 часа, на пастеризованном до 24 часов.

При приготовлении продукта производственную закваску на стерилизованном молоке добавляют - 1-3%, а закваску на пастеризованном молоке в количестве 3-5%.

При приготовлении производственной кефирной закваски происходит восстановление сухих кефирных грибков, приготовление грибковой закваски и получение из нее культуральной производственной кефирной закваски.

Для восстановления сухие кефирные грибки кладут в обезжиренное пастеризованное молоко (в соотношении 1:40-50) и оставляют там при 19-21°C в течение 20-24 часов до образования сгустка. Затем отделяя их кладут в свежее пастеризованное и охлажденное молоко (в соотношении 1: 30-50). Для полного восстановления активности микрофлоры сухих кефирных грибков достаточно 2-3 пересадок, при этом масса грибков возрастает в 5 раз.

Для получения грибковой закваски восстановленные грибки помещаются в пастеризованное и охлажденное до 19-21°C обезжиренное молоко (1 часть грибков на 30-50 частей молока). Через 15-18 часов закваску перемешивая оставляют на 20-25 часов. Затем их перемешивают, отделяя грибки, и снова кладут в пастеризованное охлажденное молоко, а полученную культуральную закваску используют для приготовления кефира или производственной кефирной закваски.

1.4.4. Микробиологический контроль качества заквасок

Контроль качества лабораторной и производственной заквасок на стерилизованном молоке проводят по их активности (предельной кислотности и продолжительности свертывания молока). Если она снижается, то проводят проверку чистоты закваски просмотром окрашенного микроскопического препарата не менее чем в 10 полях зрения микроскопа.

Контроль качества производственной закваски на пастеризованном молоке проводят по активности, микроскопическому препарату, кислотности, наличию бактерий группы кишечных палочек и органолептическим свойствам сгустка. Бактерии группы кишечных палочек не допускаются в 10 см^3 закваски.

Качество кефирных грибковой и культуральной заквасок контролируют по кислотности, наличию бактерий группы кишечных палочек и микроскопическому препарату. В кефирных культуральных заквасках бактерии группы кишечных палочек не допускаются в 3 см^3 .

Контрольные вопросы

1. Назовите основные этапы получения чистой культуры молочнокислых бактерий.
2. Что такое бактериальная закваска?
3. Из каких видов микроорганизмов состоят закваски?
4. Перечислите факторы, используемые при подборе культур для заквасок.
5. Какие вещества входят в состав сухих заквасок и почему?
6. В чем преимущество сухих заквасок?
7. Какие виды заквасок существуют?
8. Особенности заквасок прямого внесения?
9. Срок хранения закваски на стерильном и на пастеризованном молоке?
10. Как используют закваски на производстве?

1.5. БИОТЕХНОЛОГИЯ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

1.5.1 Сущность биотехнологии молочных продуктов

Основные биохимические процессы, происходящие при выработке кисломолочных продуктов - это молочнокислое и спиртовое брожение молочного сахара, протеолиз, коагуляция казеина и гелеобразование, в результате которых образуется консистенция, вкус и запах готовых продуктов.

Характерными особенностями молочнокислых микроорганизмов являются:

- способность усваивать лактозу в качестве основного источника углерода и энергии;
- образование молочной кислоты с выходом более 90% от исходной концентрации лактозы в среде;
- высокая кислотоустойчивость (сохраняют жизнеспособность при pH 3,0-3,5);
- спиртоустойчивость (выдерживают до 16% этилового спирта);
- использование флавиновых оснований и коэнзима В₁₂ в окислительно-восстановительных ферментах;
- отсутствие ЦТК и окислительного фосфорилирования.

Под действием ферментов, выделяемых молочнокислой микрофлорой, происходит сбраживание молочного сахара с образованием молочной кислоты, иногда и других кислот, спирта, углекислого газа, деацетила.

При сквашивании молока также происходит частичный гидролиз белков с образованием свободных аминокислот и гликолиз глюкозы, возникают метаболиты, изменяющие биофизическую структуру мицелл казеинаткальций-фосфатного комплекса (ККФК) и биоактивность минеральных солей. Молочнокислый стрептококк выделяет также антибиотик низин, сливочный – диплококцин, ароматообразующий антибиотик, близкий к дисплококцину, молочнокислую палочку – лактонин. Продуцируемые антибиотики с большой разрушающей силой действуют на микроорганизмы гниения.

Микроорганизмы диетических кисломолочных продуктов синтезируют витамины С, В₆, В₁₂. В результате биохимических процессов кисломолочная продукция усваивается значительно легче и быстрее, чем обычное молоко. Например, за 3 часа молоко усваивается организмом на 44%, а простокваша – на 95,5%. Это обусловлено частичной пептонизацией белков молока с получением легкоусвояемых простых веществ. Полученная молочная кислота, СО₂, спирт вызывают интенсивное выделение соков и ферментов, ускоряющих усвоение с наименьшей затратой энергии.

1.5.2 Брожение молока

Брожение лактозы

При выработке большинства молочных продуктов в молоко или сливки вносят специально подобранные штаммы молочнокислых, пропионовокислых бактерий и дрожжей.

В результате жизнедеятельности микроорганизмов происходит глубокий распад лактозы, липидов и белков молока с образованием многочисленных химических соединений.

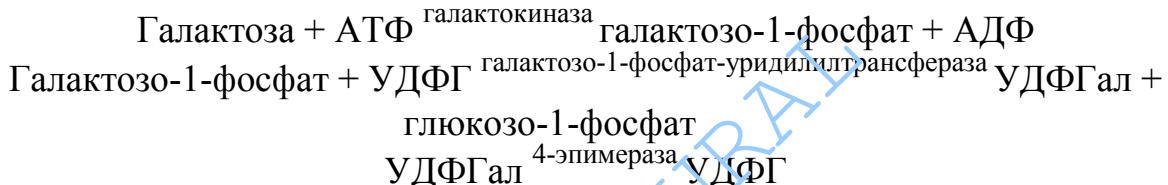
Существует несколько типов брожения лактозы, различающихся составом конечных продуктов.

Под действием ферментов, выделяемых молочнокислой микрофлорой, происходит сбраживание молочного сахара с образованием молочной кислоты, иногда и других кислот, спирта, углекислого газа, деацетила.

Начальным этапом всех типов брожения является расщепление молочного сахара на глюкозу и галактозу под влиянием фермента лактазы (-галактозидазы).

Далее брожению подвергается глюкоза.

Галактоза при участии уридинифосфатглюкозы переходит в глюкозо-1-фосфат, который после изомеризации в глюкозо-6-фосфат включается в схему превращения глюкозы:



Все типы брожения до образования пировиноградной кислоты происходят с получением одних и тех же промежуточных продуктов и по одному и тому же пути - пути Эмбдена-Мейергофа.

Дальнейшие превращения пировиноградной кислоты могут идти в разных направлениях, которые будут определяться специфическими особенностями данного микроорганизма и условиями среды.

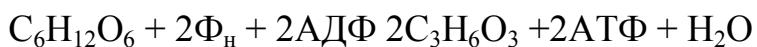
Конечными продуктами брожения могут быть молочная, пропионовая, уксусная, масляная кислоты, спирт и другие соединения.

Молочнокислое брожение является основным процессом при изготовлении заквасок, сыра и кисломолочных продуктов, а молочнокислые бактерии - главной группой микроорганизмов для молокоперерабатывающей промышленности.

Молочнокислые бактерии по характеру продуктов сбраживания глюкозы относят к гомоферментативным или гетероферментативным.

Гомоферментативные бактерии образуют главным образом молочную кислоту (более 90%) и лишь незначительное количество побочных продуктов.

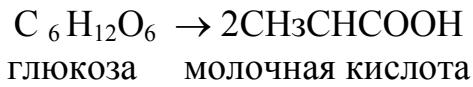
Для гомоферментативных бактерий (*Str. lactis*, *Str. cremoris*, *Str. diacetilactis*, *Lbm. bulgaricum*, *Lbm. acidophilum*, *Lbm. casei*) характерным является сбраживание глюкозы по гликолитическому пути Эмбдена-Мейергофа:



Превращение глюкозы в пировиноградную кислоту в результате ряда последовательных реакций происходит при участии 10 ферментов.

Из 1 моль глюкозы образуется 2 моль молочной кислоты с одновременным синтезом 2 моль АТФ.

Типичное гомоферментативное молочнокислое брожение можно выразить в следующем виде:



Гетероферментативные бактерии около 50% глюкозы превращают в молочную кислоту, а остальное количество - в этиловый спирт, уксусную кислоту и CO₂, летучих ароматических веществ. Гетероферментативное брожение, в свою очередь, подразделяют на идущее без выделения CO₂ и сопровождающееся газовыделением. Метаболиты гетероферментативного брожения обеспечивают уникальные органолептические свойства кисломолочных напитков, а некоторые из них, например, витамины группы В, повышают биологическую ценность продуктов.

Гетероферментативные бактерии не могут сбраживать глюкозу по гликолитическому пути, так как у них отсутствует ключевой фермент альдолаза, необходимый для расщепления фруктозо-1,6-дифосфата на две молекулы триозофосфата.

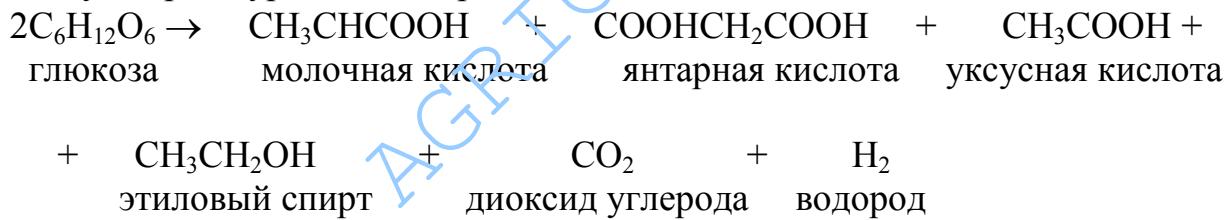
Поэтому *Str. citrovorus*, *Str. paracitrovorus*, *Lbm. brevis* сбраживают глюкозу пентозофосфатным путем:



В ходе реакций по пентозофосфатному пути из каждого моль глюкозы образуется моль молочной кислоты, моль этанола и CO₂.

В аэробных условиях возможно образование двух молекул АТФ, тогда ацетилфосфат превращается не в этанол, а в уксусную кислоту.

Суммарное уравнение сбраживания глюкозы:



Спиртовое брожение

Спиртовое брожение глюкозы применяется при производстве кефира, кумыса, курунги и других кисломолочных продуктов.

Возбудителями спиртового брожения являются дрожжи *Sacch. cartilaginosus*, *Sacch. fragilis*, *Sacch. cerevisiae* и др. Они сбраживают глюкозу с образованием этанола и углекислоты:



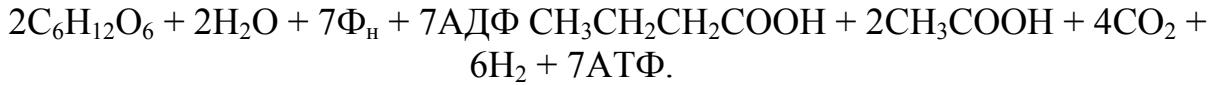
Возбудителем пропионовокислого брожения являются пропионовокислые бактерии *Propionibacterium*, которые превращают глюкозу или молочную кислоту в пропионовую и уксусную кислоты.

Пропионовокислое брожение углеводов и молочной кислоты имеет важную роль в процессе созревания твердых сыров с высокой температурой второго нагревания:



Маслянокислое брожение происходит в молочных продуктах под действием маслянокислых бактерий (*Cl. butyricum* и др.), расщепляющих как глюкозу, так и молочную кислоту.

Известно несколько типов маслянокислого брожения, различающихся образующимися продуктами. Например:



При других типах маслянокислого брожения наблюдается образование бутилового и изопропилового спиртов, этанола, ацетона.

Маслянокислое брожение является причиной порчи кисломолочных продуктов и является нежелательным процессом в молочной промышленности.

1.5.3 Коагуляция казеина молока

Важнейшими процессами, происходящими при выработке кисломолочных продуктов, являются коагуляция казеина и гелеобразование (переход коллоидной системы молока из свободнодисперсного состояния, золя, в связаннодисперсное состояние - гель).

Коагуляция казеина при производстве кисломолочных продуктов может осуществляться двумя способами - кислотным или сычужным.

Кислотная коагуляция казеина вызывается молочной кислотой, которая накапливается в молочных продуктах в результате брожения лактозы. Молочная кислота уменьшает отрицательный заряд мицелл казеина и переводит его в изоэлектрическое состояние (рН 4,6-4,7), в котором макромолекулы белка теряют свою растворимость и устойчивость. Кроме того, происходит переход в плазму фосфата кальция и органического кальция казеинаткальцийфосфатного комплекса, что дестабилизирует мицеллы казеина и вызывает их диспергирование.

Сычужная коагуляция казеина включает 2 стадии - ферментативную и коагуляционную. Механизм действия основан на теории протеолитического действия сычужного фермента (гидролитическая теория). Согласно данной теории, на первой стадии под действием химозина сычужного фермента происходит разрыв пептидной связи фенилаланин-метионин в полипептидных цепях казеинакальцийфосфатного комплекса (ККФК), при этом молекулы казеина распадаются на гидрофобный параказеин и гидрофильный гликомакропротеид. Гидратная оболочка мицелл частично разрушается, силы электростатического отталкивания между частицами снижается и дисперсная система теряет устойчивость. На второй стадии частично дестабилизованные мицеллы казеина (параказеина) собираются в агрегаты, которые затем соединяются продольными и поперечными связями в единую сетку, образуя сгусток.

Процесс гелеобразования - агрегирование частиц казеина и формирование единой пространственной сетки молочного сгустка.

Независимо от способа коагуляции, различают 4 стадии формирования сгустка:

- 1 - индукционный период;
- 2 - стадия флоккуляции - массовая коагуляция;
- 3 - стадия метастабильного равновесия - уплотнение сгустка;
- 4 - стадия синерезиса - самопроизвольное уплотнение структуры за счет перегруппировки частиц и увеличения числа контактов между ними, т.е. сжатие геля и выпрессовывание из него дисперсионной среды.

При структурообразовании дисперсных систем могут образовываться два типа пространственных структур - коагуляционные (тиксотропно-обратимые) и конденсационные (необратимо-разрушающиеся). Коагуляционные структуры обладают эластичностью, пластичностью и малой прочностью, так как частицыдерживаются только межмолекулярными силами. В конденсационных структурах частицы соединены прочными химическими связями, которые создают им прочность, но делают их хрупкими, неэластичными.

Сгустки кисломолочных продуктов имеют, как правило, смешанный характер с преобладанием необратимо-разрушающихся либо тиксотропно-обратимых связей. Соотношение этих связей зависит от целого ряда факторов, правильное использование которых позволяет получать сгустки с заданными свойствами.

Факторы, влияющие на состав и свойства казеиновых сгустков

К факторам, влияющим на свойства сгустков, относятся: состав молока и бактериальных заквасок; режимы пастеризации и гомогенизации; способ и продолжительность коагуляции белков молока.

Содержание сухих веществ, количество казеина и размер мицелл казеина обусловливают скорость кислотной коагуляции белков, определяющую прочность полученных сгустков. От состава молока зависит развитие молочнокислых бактерий закваски и, соответственно, скорость накопления молочной кислоты.

Продолжительное хранение сырого молока при низких температурах вызывает изменение структуры и состава мицелл казеина, в результате увеличивается вязкость и прочность образующихся кислотных сгустков, синерезис замедляется. Таким образом, молоко, которое хранится при низких температурах, целесообразно использовать в производстве кисломолочных напитков, а не для выработки творога.

Введение в состав заквасок энергичных кислотообразователей способствует получению плотного сгустка с хорошим отделением сыворотки, а малоэнергичных кислотообразователей - более нежного сгустка. Путем комбинирования различных видов молочнокислых бактерий можно получить продукт нужной консистенции.

С увеличением температуры пастеризации повышается прочность кислотного и кислотно-сычужного сгустков и уменьшается интенсивность отделения ими сыворотки. Это объясняется увеличением содержания в сгустках денатурированных сывороточных белков, в основном - лактоглобулина, которые усиливают жесткость их пространственной структуры и влагоудерживающую структуру.

Вязкость кисломолочных продуктов увеличивается пропорционально давлению гомогенизации сырья. При гомогенизации повышается дисперсность жира с одновременной адсорбцией на поверхности жировых шариков сывороточных белков, замедляющих синерезис сгустка.

Сгустки, полученные при кислотной коагуляции белков, состоят из более мелких частиц, имеют меньшую вязкость и прочность, чем сгустки, образующиеся при кислотно-сычужной коагуляции.

Определение момента готовности сгустка перед перемешиванием или разрезкой проводится визуально, по прочности, а также по вязкости и увеличению кислотности. Для кефира pH сгустка должен быть 4,4-4,5, для ацидофилина - 4,7-4,55, ряженки - 4,45-4,35, для жирного и полужирного творога - 5,05-5,15.

1.5.4 Классификация кисломолочных продуктов в зависимости от состава микрофлоры заквасок

Группы кисломолочных продуктов, различающиеся по составу заквасочной микрофлоры:

1)Продукты, приготовляемые с использованием многокомпонентных заквасок

Сюда входят такие продукты, как кефир и кумыс. В их изготовлении используется естественная симбиотическая закваска – кефирный гриб. Он является симбиотическим образованием. У кефирных грибков всегда определенная структура, и они способны передавать свои свойства и структуру последующим поколениям. Молочнокислые бактерии, входящие в состав кефирного гриба: виды мезофильных молочнокислых стрептококков *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*; виды ароматобразующих бактерий *Streptococcus diacetylactis*, *Leuconostoc dextranicum*; роды молочнокислых палочек рода *Lactobacillus*; некоторые виды уксуснокислых бактерий; дрожжи. На микроскопических срезах кефирного гриба можно обнаружить плотные переплетения плюшковидных нитей, формирующие струму гриба, которая удерживает остальных микроорганизмов.

В кислотообразовании и формировании сгустка участвуют мезофильные молочнокислые стрептококки. В готовом продукте их содержание составляет 10^9 в 1 см³.

Скорость развития ароматобразующих бактерий ниже, чем молочных и сливочных стрептококков. Это организмы, формирующие ароматические вещества и газ. Содержание этих организмов в кефире достигает до 10^7 - 10^8 в 1 см³.

В 1 см³ кефире содержится до 10^7 - 10^8 молочнокислых палочек. С увеличением продолжительности процесса сквашивания и при повышении температуры количество этих бактерий увеличивается до 10^9 в 1 см³, это вызывает перекисание продукта.

По сравнению с молочнокислыми бактериями скорость развития дрожжей намного медленнее, поэтому их количество увеличивается во время созревания

продукта и достигает 10^6 в 1 см³. Повышенная температура сквашивания и длительная выдержка продукта при такой температуре приводит к излишнему развитию дрожжей.

Развитие уксуснокислых бактерий происходит еще медленнее, чем дрожжей. Их содержание в кефире составляет 10^4 - 10^5 в 1 см³. Слизистая тягучая консистенция кефира может появиться при излишнем развитии уксуснокислых бактерий. Кефир сквашивается и созревает при температуре 20-22°C в течение 10-12 часов.

2) Продукты, приготовляемые с использованием мезофильных молочнокислых стрептококков

Сюда входят такие продукты, как творог и сметана. Температура сквашивания молока при изготовлении этих продуктов составляет 30°C, а время приготовления - 6-8 часов. Эти продукты состоят из гомоферментативных стрептококков: *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*; гетероферментативных ароматобразующих стрептококков: *Streptococcus diacetylactis*, *Streptococcus acetoinicus* и ароматобразующих лейконостоков вида *Leuconostoc dextranicum*. Готовый творог содержит 10^8 - 10^9 клеток в 1 г, а сметана – 10^7 клеток в 1 г.

3) Продукты, приготовляемые с использованием термофильных молочнокислых бактерий

Термофильные молочнокислые бактерии используются при изготовлении йогурта, простокваси Южной, ряженки и варенца. Температура сквашивания составляет 40-45°C, а время сквашивания - 3-5 часов.

Микрофлору йогурта и простокваси Южной составляют термофильный стрептококк (*Streptococcus thermophilus*) и болгарская палочка (*Lactobacillus bulgaricus*) в соотношении 4:1:5:1. Эти микроорганизмы также применяются в симбиозе друг с другом. В 1 см³ продукта содержится 10^7 - 10^8 клеток термофильных стрептококков и болгарской палочки. 3-5% закваска молочнокислого стрептококка используется при изготовлении ряженки и варенца. Можно добавить болгарскую палочку или термофильный стрептококк в количестве 10^7 - 10^8 клеток в 1 см³ продукта.

4) Продукты, приготовляемые с использованием мезофильных и термофильных молочнокислых стрептококков

Сюда входят такие продукты, как сметана Любительская, молочно-белковая паста «Здоровье», творог, вырабатываемый ускоренным методом, а также напитки, содержащие пониженную жирность с плодово-ягодными наполнителями. Температура сквашивания молока при изготовлении этих продуктов составляет 35-38°C, а время - 6-7 часов. В приготовлении этих продуктов участвуют мезофильные и термофильные стрептококки. Молочнокислый процесс проводят мезофильные стрептококки, которые обеспечивают влагоудерживающую способность сгустка. Содержание в 1 см³ продукта составляет 10^6 - 10^8 клеток. Главная функция термофильных стрептококков - поддержание необходимой вязкости сгустка, удерживание сыворотки и восстановление структуры после перемешивания. Их количество в продукте составляет 10^6 - 10^8 клеток в 1 см³.

5) Продукты, приготовляемые с использованием ацидофильных палочек и бифидобактерий

В эту группу относятся продукты лечебно-профилактического назначения. Сюда входят: молоко ацидофильное, ацидофилин, ацидофильно-дрожжевое молоко, ацидофильная паста, детские ацидофильные смеси, кисломолочные продукты с использованием бифидобактерий.

Бактерии *Lactobacillus acidophilus* способны выделять вещества антибиотического характера, которые подавляют развитие таких бактерий, как бактерии группы кишечных палочек, дизентерийная палочка, сальмонелла, коагулазоположительные стафилококки и др. Поэтому их используют для изготовления детского и диетического питания. Молочная кислота усиливает бактерицидное свойство ацидофильной палочки. Чистые культуры ацидофильных палочек используют при сквашивании пастеризованного молока для изготовления ацидофильного молока.

Сыворотку из ацидофильного молока с кислотностью 80-90°Т отпрессовывают, чтобы приготовить ацидофильную пасту.

При выработке ацидофилина проводят сквашивание пастеризованного молока, используя закваску, содержащую ацидофильные палочки, молочнокислые стрептококки и кефирную закваску в равных соотношениях.

Наличие в продуктах бифидобактерий говорит о том, что они обладают высокими диетическими свойствами, потому что в своем составе они содержат такие биологически активные соединения, как свободные аминокислоты, летучие жирные кислоты, ферменты, антибиотические вещества, микро- и макроэлементы.

Молочные продукты, содержащие бифидобактерии производятся в большом разнообразии. Их делят на 3 группы:

Первая группа продуктов содержит клетки бифидобактерий, которые выращены на специальных средах.

Вторая группа продуктов сквашена чистыми или смешанными культурами бифидобактерий. Причем при их изготовлении активизацию развития бифидобактерий проводят с добавлением в молоко бифидогенных факторов. Также используют мутантные штаммы бифидобактерий, которые могут развиваться в присутствии кислорода.

В третью группу относятся продукты, в сквашивании которых участвуют совместные культуры бифидобактерий и молочнокислых бактерий. И эти продукты называются продуктами смешанного брожения.

1.5.5 Характеристики заквасок ферментированных молочных продуктов

В таблице 5 приведена состав микрофлоры заквасок для производства ферментированных молочных продуктов.

Таблица 5

Характеристики заквасок ферментированных молочных продуктов

Продукт	Состав микрофлоры закваски	t сквашивания, С	Кислотность, Т,	Органолептические показатели готового продукта
1	2	3	4	5
Творог	Lactococcus lactis ssp. lactis (<i>преобладают</i>)	24-28	80-90	Вкус чистый, кисломолочный; слабый аромат диацетила; сгусток плотный, колючийся; консистенция жидкая; допускается слабое отделение сыворотки
	Lactococcus lactis ssp. cremoris (<i>преобладают</i>)			
	Lactococcus lactis ssp. lactis biovar diacetylactis			
	Leuconostoc mesenteroides ssp. cremoris			
	Streptococcus salivarius ssp. thermophilus			
Сметана	Lactococcus lactis ssp. cremoris (<i>преобладают</i>)	26-32	80-100	Вкус чистый, кисломолочный; слабый аромат диацетила; сгусток плотный, колючийся; консистенция жидкая; допускается слабое отделение сыворотки
	Lactococcus lactis ssp. lactis (<i>преобладают</i>)			
	Lactococcus lactis ssp. lactis biovar diacetylactis			
	Leuconostoc mesenteroides ssp. cremoris			
	Streptococcus salivarius ssp. thermophilus			
Простокваша «Болгарская», «Южная», «Мечниковская»	Streptococcus salivarius ssp. thermophilus	40	90-130	Вкус чистый, кисломолочный со слабым фруктовым запахом; сгусток плотный; консистенция однородная, вязкая или невязкая
	Lactobacillus delbrueckii sp bulgaricus			
Йогурт	Streptococcus salivarius ssp. thermophilus	40	90-110	Вкус чистый, кисломолочный со слабым фруктовым запахом; сгусток плотный; консистенция однородная, вязкая или невязкая
	Lactobacillus delbrueckii sp bulgaricus			
Ряженка, варенец	Streptococcus salivarius ssp. thermophilus (при низкой кислотности допускается добавление болгарской палочки в соотношении 6:1, 4:1)	42	80-90	Вкус чистый, кисломолочный; консистенция однородная, без отделения сыворотки
Кефир	Грибковая закваска: лактококки, лактобациллы, дрожжи, уксуснокислые бактерии	20	95-110	Вкус кисломолочный, острый, слабо выраженный дрожжевой; консистенция жидкая, пенящаяся
Ацидофильное молоко, ацидофильная паста	Lactobacillus acidophilus	37	100-130	Вкус чистый, кисломолочный; сгусток плотный; консистенция однородная, вязкая или невязкая; допускается слизистость

Ацидолакт , Ацидо- фильный йогурт	Lactobacillus acidophilus	37	90–120	Вкус кисломолочный; сгусток плотный; консистенция однородная, слабовязкая
	Streptococcus salivarius ssp. thermophilus			
	Lactobacillus delbrueckii sp bulgaricus			
Бифилин, Бифидин	Bifidobacterium adolescentis	37	90–120	Вкус кисломолочный с привкусом уксусной кислоты; сгусток средней плотности; консистенция однородная
Бифилакт	Lactobacillus acidophilus	37	90–120	Вкус чистый, кисло- молочный с легким привкусом уксусной кислоты; сгусток плотный; консистенция однородная
	Bifidobacterium bifidum			
Бифилайф	Bifidobacterium bifidum	37	90–120	Вкус кисломолочный с привкусом уксусной кислоты; сгусток средней плотности; консистенция однородная
	Bifidobacterium longum			
	Bifidobacterium infantis			
	Bifidobacterium adolescentis			
	Bifidobacterium breve			
Бифидо- комплекс	Bifidobacterium bifidum	37-39	90–120	Вкус кисломолочный; сгусток средней плотности; консистенция однородная
	Bifidobacterium longum			
	Bifidobacterium infantis			
	Streptococcus salivarius ssp. thermophilus			
Бифидацидофиль- ный йогурт, Биойогурт	Lactobacillus acidophilus	37-39	90–120	Вкус чистый, кисло- молочный; сгусток плотный; консистенция однородная
	Bifidobacterium bifidum			
	Bifidobacterium longum			
	Bifidobacterium infantis			
	Streptococcus salivarius ssp. thermophilus			
	Lactobacillus delbrueckii sp bulgaricus			
Кумыс	Lactobacillus delbrueckii sp bulgaricus	30	130–140	Вкус кисломолочный с дрожжевым привкусом; сгусток плотный со следами газообразования; консистен- ция однородная, пенящаяся
	Lactobacillus acidophilus			
	Saccharomyces lactis			
Масло кисло- сливочное	Lactococcus lactis ssp. cremoris	25	80–90	Вкус чистый, кисло- молочный с выраженным запахом диацетила; консистенция однородная, без выделения сыворотки
	Lactococcus lactis ssp. lactis			
	Lactococcus lactis ssp. lactis biovar diacetylactis			
	Leuconostoc mesenteroides ssp. cremoris			
Сыры с низкой температу- рой второго нагревания	Lactococcus lactis ssp. lactis	30	80–90	Вкус чистый, кисло- молочный со слabo выраженным ароматом диацетила; сгусток ровный, плотный с выделением сыворотки
	Lactococcus lactis ssp. cremoris			
	Lactococcus lactis ssp. lactis biovar diacetylactis			
	Leuconostoc mesenteroides			

	ssp. cremoris			
Сыры с высокой температурой второго нагревания	Lactobacillus helveticum	43	100–120	Вкус чистый, кисломолочный со слабо выраженным ароматом диацетила; сгусток ровный, плотный с выделением сыворотки

1.5.6 Микробиологический контроль производства кисломолочных продуктов

Контроль технологического процесса, санитарно-гигиенический контроль производства продукции проводится с помощью микробиологического контроля.

При этом проверка эффективности пастеризации молока проводится каждые 10 дней. При контроле качества заквасок отбирают пробы из трубопровода, чтобы проверить содержание бактерий относящие к группе кишечных палочек. Также проводят исследование заквашенной и сквашенной смеси.

Когда используют термостатный способ производства, пробы отбираются для проведения исследования из резервуара, бутылки или ванны. Содержание бактерий группы кишечной палочки при этом должны отсутствовать в 1 см³. Технологические процессы производства кисломолочных продуктов должны контролироваться 1 раз в месяц.

Готовая продукция контролируется на присутствие бактерий группы кишечной палочки. Если необходимо, то проводят микроскопический контроль, но один раз в пять дней.

Необходимо, чтобы бактерии группы кишечных палочек отсутствовали в 0,1 см³ кефира, простокваша, йогурта, ацидофильно-дрожжевого молока и других кисломолочных напитках. Эти бактерии не должны присутствовать в 0,01 см³ 20%-ой и 25%-ой жирной сметане, а в твороге в 0,001 г. Содержание в твороге золотистого стафилококка не допускается в 0,01 г.

Технологические процессы дополнительно контролируются, если микробиологические показатели готового продукта ухудшаются.

Контрольные вопросы

- Перечислите группы кисломолочных продуктов, различающихся по составу заквасочной микрофлоры.
- К какой группе относятся кефир и кумыс и почему?
- Какие бактерии участвуют в кислотообразовании и формировании сгустка?
- При производстве каких кисломолочных продуктов используются мезофильные молочнокислые стрептококки?
- При производстве каких кисломолочных продуктов используются термофильные бактерии?
- Назовите продукты лечебно-профилактического назначения и бактерии для их производства.

1.6. БИОТЕХНОЛОГИЯ СЛИВОЧНОГО МАСЛА

1.6.1 Состав микрофлоры масла и ее изменение в процессе хранения

При производстве масла в него вместе с водой, солью, вкусовыми наполнителями, со сливками, а также из воздуха попадают различные микроорганизмы.

Источником для сладкосливочного масла являются молочнокислые бактерии, дрожжи, микроскопические грибы, спорообразующие бактерии родов *Bacillus* и *Clostridium*, психрофильные бактерии рода *Pseudomonas* и другие микроорганизмы. В 1 г масла насчитывается от нескольких тысяч до одного миллиона клеток микроорганизмов.

При температуре 15°C и выше количество молочнокислых бактерий увеличивается. При хранении с такими значениями температуры в пятый день их количество в одном грамме продукта составляет десятки миллионов клеток. Снижение количества клеток наблюдается при дальнейшем их хранении.

При температуре хранения масла до 5°C хорошо развиваются психрофильные протеолитические бактерии, микрококки, дрожжи, микроскопические грибы. Микроорганизмы отмирают при температуре хранения сладкосливочного масла ниже -11°C, так как происходит прекращение микробиологических процессов.

Закваска – основной источник микрофлоры при производстве кислосливочного масла. Она состоит из кислотообразующих молочнокислых стрептококков *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, а также ароматообразующих стрептококков *Streptococcus diacetylactis*, обладающих способностью к образованию молочной кислоты и диацетила.

В результате хранения молочнокислые стрептококки отмирают даже при низких температурах. При высоких температурах (15°) их отмирание происходит быстрее. Количество отмерших микроорганизмов через 6-9 месяцев составляет 95-98%.

1.6.2 Микробиологический контроль производства масла

Молоко, сливки, закваски, вспомогательные материалы и готовую продукцию на маслозаводах подвергают микробиологическому контролю. Также в производственном цехе, складе, маслохранилище, заквасочной проводят контроль санитарно-гигиенического режима.

Определение количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (5000 КОЕ/см³ считается удовлетворительным для сливок) и бактерий группы кишечных палочек (не допускаются в 10 см³ сливок) проводят после пастеризации.

Микробиологический контроль позволяет выявить высокую степень обсеменения вредных микроорганизмов, после чего принимаются меры к их ограничению.

При контроле санитарно-гигиенического состояния производства масла определяют количество микроорганизмов в оборудовании, трубопроводах, инвентарях, флягах, ушатах, деревянных тарах, руках работников, воздухе, воде, пергаменте, кашированной фольге, клепках, соли.

Количество микроорганизмов в готовой продукции необходимо определять 2 раза в месяц.

Нормируют присутствие БГКП, патогенной микрофлоры и сальмонелл в кислосливочном масле.

В 0,01-0,001 г масла бактерии группы кишечных палочек не должны присутствовать. В 25 г масла не допускается присутствие сальмонелл.

Кроме этих показателей в сладкосливочном масле проводят определение мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов. Количество КМАФА_нМ в 1 г сладкосливочного масла должно составлять в пределах 10^4 - 10^5 КОЕ в зависимости от вида масла.

Контрольные вопросы

1. Какие микроорганизмы используются в заквасках при изготовлении кислосливочного масла?
2. Какие микроорганизмы развиваются при температуре хранения масла до 5°C?
3. При какой температуре хранения сладкосливочного масла происходит отмирание микроорганизмов?
4. Что проверяют при контроле санитарно-гигиенического состояния производства масла?

1.7. БИОТЕХНОЛОГИЯ СЫРА

1.7.1 Источники микрофлоры сыров

В качестве источника микрофлоры сыров считают пастеризованное молоко, сырчужный фермент, бактериальные закваски, культуры грибов и слизеобразующие бактерии, соль, оборудование, воздух, руки персонала. Закваска – единственный источник микрофлоры, который участвует в приготовлении сыра из пастеризованного молока. Попадание микроорганизмов из других источников незначительна.

В сыроделии для производства сыров обычно используют два вида бактериальных заквасок (рис.16).



Рисунок 16. Виды бактериальных заквасок для сыров

При производстве мягких, полутвердых, рассольных, комбинированных и плавленых сыров применяют бактериальные закваски для сыров с низкой температурой второго нагревания (I) или в смеси I и II с добавлением плесневых (*Penic. roque-forti*, *Penic. candidum*) и/или слизеобразующих (*Bact. linens*, *Bact. casei limbur-gensis*, *Bact. bruneum*) культур.

При выработке сыров со средней температурой второго нагревания используют комбинацию заквасок I и II.

При производстве натуральных сыров применяют обычно многоштаммовые комбинированные закваски. Они более устойчивы к бактериофагу, менее чувствительны к составу и свойствам молока, а также хорошо развиваются в широком температурном диапазоне. Применяемые в сыроделии закваски выпускают биофабрики, расположенные в г. Угличе

Ярославской области при ВНИИМС, г. Каунас (Литва). Для Сибири и Дальнего Востока закваски выпускает Барнаульская биофабрика, а также закваски импортируются из стран Западной Европы.

Бактериальные закваски для мелких сычужных сыров состоят из мезофильных молочнокислых лактотококков лактис и креморис, ароматобразующих стрептококков и лейконостоков. Ароматобразующие стрептококки и лейконостоки формируют аромат и рисунок (структуру) сыра.

Закваска из г. Каунаса, в отличие от угличской, имеет менее активные кислотообразующие штаммы микроорганизмов, что создает лучшие условия для развития ароматобразующих видов бактерий. Виды и состав сырных заквасок приведены в таблице 6.

Таблица 6
Виды и состав бактериальных заквасок для сыра

Наименование бактериальных заквасок	Род лактотококков				Род лейконостоков		Род лактобактерий					
	лактис	диацетилактис	кремо-рис	термофилус	креморис	лактис	лейконосток	лантарум	казеин	гельветикум	булгарикум	лактис
Закваска для мелких сычужных сыров (сухая) угличская	+	+	+	-	±	±						
Закваска для мелких сыров каунасская	-	+	+									
Закваска буковинская	-	+	+									
Закваска для рассольных сыров	+	+	+	-	±	±	-	±	-	-	-	-
Бакпрепарат для мелких сыров	+	+	±	-	±	±	±	-	-	-	-	-
Бакпрепарат для крупных сычужных сыров	+	+	+	+	±	±	±	-	+	-	-	+
Закваска для сыра чеддер	+	±	+	±	-	-	±	±	±	±	±	-

При недостаточной активности кислотообразующих микроорганизмов лучше применять угличские закваски, содержащие в своем составе более активные кислотообразователи.

При большом количестве маслянокислых микроорганизмов в молоке, лучше использовать бактериальный препарат «Биоантибут». Микрофлора данного препарата антагонистически действует на маслянокислые микроорганизмы.

Мягкие, рассольные и полутвердые сыры производят, с использованием заквасок для мелких твердых сыров. Мягкие сыры при созревании дополнительно обсеменяются аэробной микрофлорой слизи и дрожжей. Эта микрофлора на сыры попадает из воздуха камер созревания сыров или вносится в составе закваски.

Для сыра рокфор применяют серо-зеленую плесень пенициллиум рокфорти, для камамбера - пенициллиум кандидум.

Бакзакваски поставляются в сухом или в жидким виде. Бакзакваски (БЗ) и бакпрепараты (БП) могут называть по месту их производства: «БП-Углич-4»; «БП-Углич-5А»; «БП ТМБ-Алтай», «ТМБ-Алтай-1», «Биоантибут» и т.п.

Из сухих или жидких заквасок готовят производственные закваски на предприятии путем их развития и активизации в стерилизованном молоке по соответствующим схемам трехпересадочным способом.

Бактериальный препарат может применяться для производства сыра после его активизации или без нее. Из бактериального препарата можно готовить и производственную закваску.

Закваску лабораторную (первичную) готовят обычно на цельном или обезжиренном молоке, стерилизованном при температуре 121°C в течение 18 мин. Производственную закваску готовят на молоке, пастеризованном при температуре 95°C с выдержкой 30-40 мин. Молоко затем охлаждают до температуры 25°C и вносят бакпрепарат или бактериальные закваски в дозе 0,1-4%. Емкость с закваской закрывают и выдерживают при этой температуре до образования сгустка, после чего охлаждают до температуры 6-8°C и хранят до использования, но не более 48 ч. Перед использованием верхнюю часть закваски снимают, а остальное тщательно перемешивают, стараясь не обсеменить закваску посторонней микрофлорой.

Для ускорения созревания сыров на производстве применяют гидролизованную закваску. Ее готовят на обезжиренном молоке, пастеризованном при 95°C с выдержкой 45 мин, охлажденном до 25°C. В это молоко вносят 4-5% вторичной закваски мезофильных молочнокислых микроорганизмов (трехпересадочный способ).

Выдерживают заквашенное молоко при этой температуре 20-24 ч, после чего охлаждают до 6-8°C. Готовая гидролизованная закваска должна иметь нежный, рыхловатый сгусток с отделившейся сывороткой. Хранят гидролизованную закваску не более 48 ч при температуре 6-8°C. Перед внесением (0,6-1,0%) в молоко гидролизованную закваску тщательно перемешивают.

При подготовки закваски, опасаются загрязнением их посторонней микрофлорой и бактериофагом. Они могут привести к порче сыра. Поэтому при приготовлении заквасок следует соблюдать чистоту и стерильность. Исключают контакт между производством заквасок и выработкой сыра или других молочных продуктов, периодически менять бактериальные закваски.

Лиофилизованные бактериальные закваски прямого внесения. Данные закваски вносят в молочную смесь за 30-45 мин перед свертыванием, во время которых активизируются бактериальные клетки, происходит снижение pH молока.

Преимущества использования заквасок прямого внесения в сыроподелии заключается в следующем:

- возможность переработки молока недостаточно высокого качества;
- простота и удобство в использовании;

- стабильность видового и штаммового состава бактериальных клеток и их оптимального соотношения;
- исключение возможности заражения посторонней микрофлорой и бактериофагом;
- гарантия нормального процесса созревания сыра и достижения высокого качества готового продукта;
- соответствие мировым стандартам;
- возможность расширения ассортимента сыров.

Недостаток - высокая стоимость и задержка свертывания молока на период активизации лактобактерий.

1.7.2 Изменение микрофлоры в процессе выработки сыров

1. *Созревание молока.* Свежевыдоенное молоко является неблагоприятной средой для развития молочнокислых бактерий, поэтому его нельзя использовать при изготовлении сыра, так как при действии ферментов оно будет плохо сворачиваться. Из-за этого при изготовлении сыров молоко подвергают предварительному созреванию, то есть выдерживают без закваски и с ее использованием. При производстве различных сыров используют пастеризованное молоко с закваской, куда добавляют молочнокислые стрептококки (0,5-0,8%) и палочки (0,1-0,3%). Температура должна быть в пределах 20-22°C и кислотность характерная для каждого вида сыра (например, для твердых сыров 17-20°C). Для созревания молока без закваски достаточно довести температуру до 12°C в течение 10-15 часов.

2. *Свертывание молока и образование сгустка.* Содержание молочнокислых бактерий и титруемая кислотность увеличивается при свертывании молока хлористым кальцием, сычужным ферментом и закваской при температуре 32-35°C.

Основой производства мягкого и твердого сыров являются многоштаммовые закваски. Основным бактериальным фоном в заквасках при производстве мелких сыров являются штаммы *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*, а обязательными компонентами – ароматобразующие бактерии *Streptococcus diacetylactis*, *Leuconostoc dextranicum*.

При изготовлении крупного сыра используют две закваски: первая как для мелкого сыра, а вторая (для сыров с повышенной температурой второго нагревания) включает в себя термофильные молочнокислые палочки (*Lactobacillus helveticum*, *Lactobacillus lactis*) и термофильные стрептококки. Кроме того, добавляют пропионовокислые бактерии – *Propionibacterium shermanii*.

При разрезании, дроблении (механическая обработка) сгустка три четверти микрофлоры остается в сырном зерне, а остальное отделяется с сывороткой. Нейтрализация молочной кислоты и высокое содержание белка говорит об интенсивном размножении молочнокислых бактерий.

Повышенная температура (40-58°C) позволяет хорошо обезвоживать сырную массу при ее выработке. Но увеличение температуры выше 40-58°C

приводит к снижению общего количества микроорганизмов, но к увеличению термофильных молочнокислых бактерий.

3. *Формование и прессование.* При прессовании сырной массы в формы начинается интенсивное развитие молочнокислых бактерий. Образование молочной кислоты приводит к увеличению кислотности сырной массы, что и способствует угнетению роста и развития гнилостных бактерий. Но если нарушается санитарно-гигиеническое состояние производства в процессе формования и прессования может произойти вторичное обсеменение продукта.

4. *Посолка сыров.* Соль при посолке сыра проникает в поверхностные слои сыра, откуда диффундируют молочные сахара и другие вещества. Рост и развитие микроорганизмов подавляется при внесении соли. Концентрация соли в сыре уменьшается при равномерном ее распределении и происходит восстановление микробиологических процессов.

5. *Созревание сыра.* Вкус и выраженный рисунок на сыре после его прессования и посолки появляются только в процессе его созревания при развитии полезных микроорганизмов (пропионовокислых бактерий, молочнокислых бактерий и др.). Пороки сыров могут вызвать вредные микроорганизмы, попадающие при созревании сыра.

Изменения состава микрофлоры различных видов сыров в процессе созревания

Твёрдые сыры с низкой температурой второго нагревания

К этой группе относят жирные сыры: голландский, костромской, пошехонский, степной, эстонский, ярославский и др., а также сыры с пониженной жирностью: литовский, прибалтийский и др.

В составе микрофлоры этих сыров имеются преимущественно мезофильные молочнокислые стрептококки, развитию которых способствует высокая влажность сырной массы и относительно низкая температура созревания (12-15°C). При такой температуре не могут развиваться термофильные бактерии. Продолжительность созревания сыров данной группы составляет 2-3 месяца.

При производстве таких сыров количество молочнокислых стрептококков уже в первые 5-10 дней созревания достигает максимального значения - 2,5-3,5 млрд. клеток и более в 1 г. После этого в связи с полным сбраживанием лактозы и её отсутствием в сырной массе, происходит постепенное отмирание молочнокислых стрептококков.

В течение 1-2 месяцев основная масса стрептококков погибает, одновременно происходит увеличение количества мезофильных молочнокислых стрептобактерий *Lbm. plantarum*, которое достигает максимума через 1,5-2 месяца. При дальнейшем созревании сыра постепенно отмирают и молочнокислые палочки.

Стрептобактерии не являются заквасочными микроорганизмами. Они попадают в сыр с молоком. Их размножение на второй стадии созревания сыра связано с способностью усваивать в качестве источника углерода соли

молочной кислоты (лактат кальция).

Твёрдые сыры с высокой температурой второго нагревания

Основным представителем данной группы является швейцарский сыр. Созревают сыры данной группы при температуре 22-25°C.

В сырном зерне перед вторым нагреванием преобладают молочнокислые стрептококки. Под действием высокой температуры второго нагревания (56-60°C) снижается объем микрофлоры в сырной массе за счёт частичной гибели мезофильных молочнокислых стрептококков, в то время как термофильные молочнокислые палочки остаются жизнеспособными. В возрасте сыра 1 сутки количество палочек составляет уже 50-90%. Через 2-5 суток созревания наблюдается максимальное накопление молочнокислых бактерий, которое составляет около 1 млрд. клеток в 1 г сыра.

Далее в сыре происходит снижение общего объема микрофлоры и количества молочнокислых палочек, что связано с полным сбраживанием лактозы. В это же время имеется повышение количества молочнокислых стрептококков. Это обусловлено их большей устойчивостью к недостатку лактозы, а также воздействию поваренной соли.

К 30-му дню количество молочнокислых палочек снова увеличивается при продолжающемся снижении количества стрептококков. Это происходит за счет размножения мезофильных стрептобактерий *Lbm. plantarum*, способных усваивать лактаты. Также усваивать лактаты могут пропионокислые бактерии, которые начинают развиваться в сыре после сбраживания лактозы. Размножаясь, эти микроорганизмы выделяют углекислый газ, в результате чего через 2-3 недели в сыре появляется рисунок - глазки диаметром 1-1,5 см. Сыры типа швейцарского созревают относительно медленно (до 6 месяцев) вследствие небольшого объема микрофлоры, который уменьшается под действием повышенной температуры второго нагревания.

Мягкие сыры

В зависимости от используемых микроорганизмов, участвующих в созревании, мягкие сыры подразделяются на следующие группы:

1. Сыры, созревающие при участии молочнокислых бактерий и поверхностной микрофлоры сырной слизи (дорогобужский, калининский, пятигорский).
2. Сыры, созревающие при участии молочнокислых бактерий, белой плесени и микрофлоры сырной слизи, развивающихся на поверхности сыра (смоленский, любительский зрелый и др.).
3. Сыры, созревающие при участии молочнокислых бактерий и белой плесени, развивающейся на поверхности сыра (русский камамбер, белый десертный и др.).
4. Сыры, созревающие при участии молочнокислых бактерий и голубой плесени, развивающейся в тесте сыра (рокфор, армянский рокфор).
5. Сыры свежие, созревающие при участии молочнокислых бактерий

(любительский, геленджикский, сливочный, домашний, адыгейский и др.).

Мягкие сыры содержат большое количество сыворотки и лактозы, поскольку при их выработке не проводят второго нагревания и прессования, что влияет на быстрое развитие молочнокислых стрептококков, максимальное количество (5,0-6,0 млрд. в 1 г) которых накапливается уже в первые дни созревания.

Затем они отмирают, и через 5-10 дней количество молочнокислых стрептококков уменьшается в несколько десятков раз. Отмирание стрептококков связано с недостатком лактозы, а также интенсивным накоплением молочной кислоты. В дальнейшем снижается кислотность сырной массы за счёт щелочных продуктов, полученных при распаде белковых веществ под действием протеаз, выделяемых плесенями, находящимися внутри сыра, а также микрофлоры слизи на корке. Это создаёт благоприятные условия для развития молочнокислых бактерий.

Развитие молочнокислых стрептококков в мягких сырах происходит намного раньше, чем в других сырах, что обусловлено быстрым расходованием лактозы, и через 10 дней их содержание уже превышает количество молочнокислых стрептококков, а через 15 дней достигает максимума - нескольких миллиардов в 1 г.

Плавленые сыры

В состав микрофлоры плавленных сыров входят микроорганизмы, которые могут выдержать высокую температуру плавления (75-80°C в течение 15-20 мин или 90-95°C в течение 10-12 мин): термофильные молочнокислые палочки, стрептококки, энтерококки, маслянокислые бактерии и другие спорообразующие микроорганизмы. Количество микроорганизмов составляет сотни и тысячи клеток в 1 г.

Маслянокислые бактерии способны вызвать порок - позднее вслучивание сыра. Поэтому плавленые сыры необходимо хранить при температуре не выше 8°C.

1.7.3 Сущность биохимических процессов при созревании сыров

Экзо- и эндоферменты различных микроорганизмов играют большую роль в биохимических превращениях веществ сырной массы. При созревании сыров наиболее глубоким изменениям подвергается молочный сахар, белки, жиры, в меньшей степени минеральные вещества и витамины.

Изменение молочного сахара. В первые две недели в сырах происходит полное сбраживание молочного сахара. Значение pH при накоплении молочной кислоты влияет на скорость созревания, консистенцию, вкус сыра. От общего количества молочного сахара молочная кислота в среднем составляет 65-70%. Это говорит о том, что молочная кислота в дальнейшем превращается в лактаты и другие вещества. В крупных твердых сырах пропионовокислые бактерии сбраживают лактаты, в результате чего формируются пропионовая, уксусная

кислоты и выделяется диоксид углерода. Ароматические вещества - диацетил и ацетоин образуются из лимонной кислоты переходящей из молока.

Изменение белков. Белок казеин играет большую роль в созревании сыров. Сычужный фермент участвует в переводе казеина в параказеин. Затем в формованном сыре молочная кислота, сырчужный фермент, поваренная соль, ферменты микроорганизмов изменяет параказеин. Сычужный фермент вызывает распад белков до пептидов. Понижение значения рН приводит к усилению этого процесса.

Протеолитические ферменты: экзо- и эндопротеазы выделяются молочнокислыми бактериями. При отмирании клеток молочнокислых бактерий в среду выделяются эндоферменты, обладающие большей протеолитической активностью.

Комбинированное действие сырчужного и бактериального ферментов увеличивает эффективность действия каждого фермента в отдельности. Горечь, появляющаяся при образовании пептонов в начальный период созревания сыров, в конце этого процесса пропадает, так как они способны превратиться в пептиды и аминокислоты.

При созревании сыров освободившиеся аминокислоты изменяются при действии ферментов микроорганизмов. Вступая в реакции с кетокислотами, они могут переходить в другие аминокислоты, которые играют большую роль в формировании вкуса и запаха сыров.

Изменение молочного жира. При созревании сыров липолитические ферменты, поступающие в сыр, подвергают жир гидролизу. Источником этих ферментов являются перерабатываемое молоко и сырчужный порошок. Гидролиз жира приводит к образованию жирных кислот, в том числе летучих, участвующих в образовании характерного вкуса и запаха сыра.

1.7.4. Микробиологический контроль производства сыров

Микробиологический контроль включает санитарно-гигиенический контроль условий производства, контроль технологических процессов и готовой продукции.

Сырое молоко исследуется при контроле технологических процессов (1 раз в 10 дней). Мезофильные анаэробные бактерии и бактерии группы кишечной палочки определяют в смеси молока 1 раз в 10 дней (не допускается $0,1 \text{ см}^3$). Органолептические показатели, наличие посторонней микрофлоры, ароматобразующие молочнокислые стрептококки в заквасках контролируют еженедельно.

Содержание бактерий группы кишечной палочки в сырах после их прессования контролируют 1 раз в 10 дней. Сыр в конце созревания (каждую партию) исследуют на наличие бактерий группы кишечной палочки, а при вслучивании дополнительно определяют общее количество спор мезофильных анаэробных лактозосбраживающих бактерий.

Наличие бактерий группы кишечной палочки, содержание *Staphylococcus aureus* и наличие патогенной микрофлоры, в том числе сальмонелл являются

микробиологическими показателями при контроле качества готового сыра. Бактерии группы кишечной палочки в зависимости от вида сыра не допускаются в 0,01-0,001 г, золотистый стрептококк в 1 г – не более 500 КОЕ, патогенные микроорганизмы, в том числе сальмонеллы не допускаются в 25 г сыра.

Контрольные вопросы

1. Какие существуют источники микрофлоры сыра?
2. Почему нельзя использовать свежевыдоеное молоко при выработке сыра?
3. Как существуют виды бактериальных заквасок для сыров?
4. Какие бактериальные препараты применяют при производстве мягкого сыра?
5. Назовите закваски для приготовления твердого сыра.
6. В каких условиях при изготовлении сыра увеличивается количество термофильных молочнокислых бактерий?
7. Какие происходят изменения сахара, белков и жиров при созревании сыров?
8. Почему горечь, появляющаяся в начальный период созревания сыров, в конце этого процесса пропадает?
9. Как происходят изменения состава микрофлоры различных видов сыров в процессе их созревания
10. Какие микроорганизмы являются микробиологическими показателями при контроле качества готового сыра?

1.8. БИОТЕХНОЛОГИЯ ХЛЕБОПЕКАРНОГО ПРОИЗВОДСТВА

1.8.1 Основы биотехнологии хлебопекарного производства

При производстве хлебобулочных изделий происходят сложные процессы: коллоидные, биохимические, микробиологические, физико-химические, в результате которых мука и другие компоненты превращаются в хлеб.

Основные биотехнологические процессы, которые протекают на таких этапах технологической схемы производства хлебобулочных изделий, как замес теста, его брожение и выпечка хлеба.

Замес теста - непродолжительный этап, в значительной степени обуславливающий процессы созревания теста и качество хлеба. На этом этапе происходит образование теста в результате протекания, в большей степени, коллоидных процессов, гидратации клейковинных белков, перехода в раствор альбуминов, глобулинов и растворимых углеводов. При адгезии набухших белков образуется непрерывная структура теста, формируется белковый каркас, состоящий из нерастворимых компонентов муки.

Кроме физико-химических и коллоидных процессов при замесе теста одновременно происходят биохимические процессы, вызываемые действием ферментов муки и дрожжей (процессы протеолиза, амилолиза, ферментативное расщепление пентозанов, действие зимазного комплекса дрожжей).

Микробиологические процессы, связанные с жизнедеятельностью дрожжей и кислотообразующих бактерий муки, при замесе теста еще не успевают достичь интенсивности, при которой они могли бы играть практически важную роль.

Брожение теста занимает около 90% всей продолжительности процесса выработки хлеба по традиционной технологии. В течение этого этапа, который может иметь одну, две и более количества фаз, в хлебопекарных изделиях протекает целый ряд биохимических и микробиологических процессов, интенсивность и направленность которых зависит от свойств сырья, присутствия определенной микрофлоры, параметров окружающей среды и других факторов. Основные процессы, происходящие при брожении теста, связаны с жизнедеятельностью бродильных организмов - дрожжевых грибов и молочнокислых бактерий.

Выпечка хлеба является завершающим циклом замеса и брожения теста. Под действием высокой температуры печи происходит денатурация белков, при этом происходит закрепление пористой структуры тестовой заготовки, и частичная клейстеризация крахмала, приводящая к формированию упругого мякиша хлеба. В первый период выпечки кроме коллоидных процессов в тесте интенсивно протекают процессы ферментативного гидролиза углеводов, а также жизнедеятельность бродильной микрофлоры.

Биотехнологические процессы в хлебопекарном производстве имеют следующие особенности:

- хлебопекарное производство имеет много стадий, основные этапы которого различаются оптимальными параметрами и факторами, влияющие на направленность биохимических и микробиологических процессов;
- нестабильные состав и свойства основного и дополнительного сырья;
- присутствие собственной микрофлоры в основном сырье - муки, а также отсутствие асептических условий в объектах хлебопекарного производства;
- гетерогенность и многофазность полуфабрикатов хлебопекарного производства;
- сложный и непостоянный химический состав муки.

Знание биотехнологических процессов, которые происходя^т при производстве хлеба, умение их контролировать и регулировать, будет способствовать получению готовых хлебобулочных изделий, соответствующих установленным нормативам качества.

1.8.2 Микрофлора полуфабрикатов хлебопекарного производства и типы брожения

В основе технологии производства хлеба главная роль принадлежит процессам, протекающим с участием микроорганизмов.

При производстве хлебобулочных изделий возникают различные типы брожения, причинами которых являются микроорганизмы муки, сырья, или добавляемые бактериальные культуры в виде жидких дрожжей или заквасок.

Различают семь основных типов брожения: спиртовое, молочнокислое, пропионовокислое, бутеленглеколовое, ацетоноэтиловое, ацетонбутиловое, мясляное.

Главными представителями микрофлоры пшеничного и ржаного теста являются дрожжи и молочнокислые бактерии.

Дрожжи

Возбудителями брожения теста являются дрожжи. Технологическое значение хлебопекарных дрожжей заключается в выделении диоксида углерода, разрыхляющего тесто и придающего ему пористую структуру, а также образование этилового спирта и промежуточных продуктов брожения (уксусный альдегид, бутиловый, изобутиловый, изоамиловый спирты, органический кислоты: молочная, янтарная, винная, щавелевая), оказывающих влияние на свойства теста и принимающих участие в формировании вкуса и аромата изделий.

При производстве пшеничного хлеба применяют *Saccharomyces cerevisiae*, а также *Saccharomyces minor*, ржаного - оба вида дрожжей, но преобладают *Saccharomyces minor*.

Saccharomyces cerevisiae - спорообразующий верховые дрожжи семейства сахаромицетов. Клетки крупные, круглой и овальной формы (рис. 17). Спорообразование происходит только в условиях голодания. Оптимальная температура брожения 28-30°C; pH – 4,5-5,0; кислотность 10-12°Н. Неустойчивы к высокой концентрации сахара, соли, этилового спирта (12-14%).

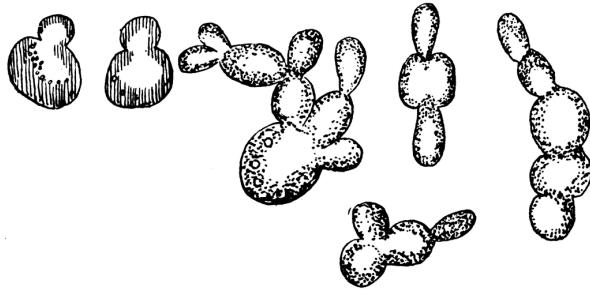


Рисунок 17. *Saccharomyces cerevisiae*

Они способны к сбраживанию глюкозы, фруктозы, сахарозы, мальтозы, простые декстрины, но не сбраживают лактозу, крахмал, клетчатку. Дрожжи этого вида усваивают этиловый спирт, молочную и уксусную кислоты, в качестве источников азота используют аминокислоты и аммонийные соли.

Saccharomyces minor - специфичны для ржаного теста. Клетки мелкие 1,5-3 мкм, круглой формы, характерны фигуры почкования по 3-7 клеток. Оптимальная температура жизнедеятельности 25-28°C. Увеличение температуры до 32-35°C приводит к их угнетению. Отличаются кислотоустойчивостью, менее требовательны к источникам витаминного и азотного питания, более спиртоустойчивы.

Спиртовое брожение

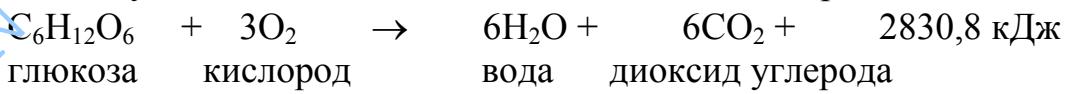
Дрожжевые клетки сахаромицетов получают необходимую для жизнедеятельности энергию за счет окисления углеводов.

Хлебопекарные дрожжи могут проявлять различные типы жизнедеятельности в зависимости от условий питательной среды:

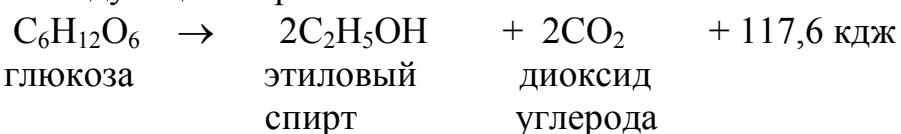
- спиртовое брожение в отсутствии кислорода воздуха (анаэробное потребление углеводов);
- дыхание в присутствии кислорода воздуха (аэробное потребление углеводов);
- размножение.

Подавление процесса спиртового брожения в присутствии кислорода получило название «эффекта Пастера» и выражается количественно сравнением величины сбраживания гексозы в анаэробных и аэробных условиях.

При доступе кислорода спиртовое брожение вытесняется полным окислением углеводов до CO₂ и воды с выделением энергии:



Суммарное уравнение спиртового брожения описывается уравнением Гей - Люссака следующим образом:



Энергетический эффект анаэробного использования углеводов дрожжами не большой, поэтому для получения необходимого количества энергии дрожжи

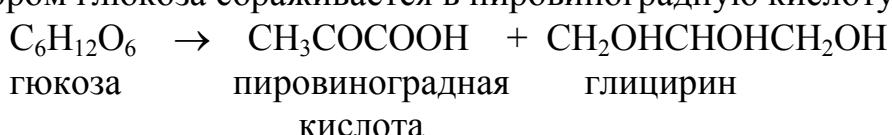
должны сбраживать значительное количество углеводов.

Процесс сбраживания сахаров в отсутствии кислорода с образованием конечных продуктов - этиалона и диоксида углерода - осуществляется через целый ряд промежуточных реакций с участием многочисленных ферментов в соответствии с **циклом Кребса**.

- Происходит фосфорилирование глюкозы с участием АТФ, катализируемое ферментом глюкокиназой с образованием глюкозо-6-фосфат.
 - Глюкозо-6-фосфат подвергается изомеризации, превращаясь при участии фермента глюкозофосфатизомеразы во фруктозо-6-фосфат.
 - Фруктозо-6-фосфат подвергается дальнейшему фосфорилированию за счет аденоцинтрифосфорной кислоты с участием фермента фосфофруктокиназы, в результате чего образуется фруктоза-1,6-дифосфат. Этой реакцией заканчивается подготовительная стадия анаэробного и аэробного расщепления сахаров.
 - Фруктозо-1,6-дифосфат при участии фермента альдолазы распадается на две молекулы фосфотриоз-фосфоглицериновый альдегид и фосфодиоксиацитон.
 - Фосфотриозы при участии фермента триозофосфатизомеразы изомеризуются.
 - Фосфоглицериновый альдегид окисляется в 1,3-дифосфоглицериновую кислоту при применении фермента дегидрогеназы фосфоглицеринового альдегида.
 - 1,3-дифосфоглицериновая кислота при участии фермента фосфаттрансферазы превращается в 3-фосфоглицериновую кислоту.
 - 3-фосфоглицериная кислота превращается в 2-фосфоглицерионовую при участии фермента фосфоглициромутазы.
 - 2-фосфоглицериная кислота превращается в фосфоэнолпировиноградную при участии фермента фосфопиразидратазы.
 - Фосфоэнолпировиноградная кислота превращается в пировиноградную при участии фермента фосфотрансферазы
 - Пировиноградная кислота при участии фермента пируватдекарбоксилазы превращается в углекислый газ и уксусный альдегид.
 - Уксусный альдегид вступает во взаимодействие с коферментом дегидрогеназы НАДН (никотинамидадениннуклеотид) с образованием

При оптимальных условиях брожения ($t = 30^\circ\text{C}$) 1 г прессованных дрожжей обрашивает 1 г сахара на 1 час.

Сушеные дрожжи могут образовывать дополнительный тип брожения, при котором глюкоза сбраживается в пировиноградную кислоту и глицерин:



Эффективность процесса спиртового брожения зависит не только от активности ферментов, катализирующих реакции цикла Кребса, но и от активности других ферментов дрожжевой клетки, осуществляющих необходимые превращения веществ: α -глюкозидазы, мальтопермеазы.

фруктоизомеразы, β -фруктофуранозидазы, карбоксилазы, протеиназы, пептидазы и др.

Ферменты, которые входят в состав дрожжевой клетки, делятся на экзоферменты и эндоферменты.

Экзоферменты выделяются клеткой для гидролиза сложных веществ среды на простые, которые затем проникают через клеточную стенку дрожжей внутрь. Экзоферменты ускоряют химические реакции, лежащие в основе дыхания, брожения, а также построения протоплазмы.

Эндоферменты переводят нерастворимые и трудно диффундирующие питательные вещества в легко усваиваемую дрожжевой клеткой форму. К таким ферментам относится мальтаза. Она имеет огромное значение, расщепляя мальтозу, которая образуется из крахмала в процессе созревания теста. Протеазы дрожжей оказывают влияние на белковые вещества муки.

Различают три способа поступления питательных веществ внутрь дрожжевой клетки: пассивный, сопряженный и активный.

Первый способ – это *пассивная диффузия*. Которая представляет собой транспорт веществ через мембрану из области с высокой концентрацией веществ в область с низкой концентрацией. Скорость диффузии пропорциональна разности концентраций по обе стороны мембраны и зависит от размера транспортируемого вещества.

Второй способ – это *сопряженный транспорт*. Согласно данному механизму субстрат на наружной поверхности мембранны образует комплекс с молекулой переносчика, который «диффундирует» к внутренней поверхности мембранны, выделяя перенесенную молекулу во внутренний объем клетки. Функции молекул-переносчиков выполняют ферменты пермеазы.

Третий способ – это *активный транспорт*. Для этого способа транспорта характерно движение вещества против градиента концентрации (из области с низкой в область с высокой концентрацией вещества). Для осуществления активного транспорта затрачивается метаболитическая энергия клетки. Скорость переноса глюкозы и аминокислот через клеточную мембрану при активном транспорте значительно выше, чем при пассивной диффузии.

Следовательно, для создания эффективного спиртового брожения в хлебопекарных полуфабрикатах необходимо обеспечения благоприятных условий среды для синтеза определенных ферментов дрожжевой клетки, применяющие транспорт питательных веществ из среды в клетку.

Промышленное производство хлебопекарных дрожжей осуществляется, как правило, на мелассной среде, в состав которой входит в основном сахароза. В связи с этим дрожжевая клетка активно индуцирует экзофермент β -фруктофуранозидазу, легко выделяющуюся в окружающую среду. Фермент β -фруктофуранозидаза всегда присутствует в клетке и сосредоточен с внешней стороны клеточной мембранны. В связи с этим гидролиз сахарозы происходит прежде, чем она проникает в дрожжевую клетку, и начинается с первых минут брожения полуфабрикатов.

Питательная смесь, в которой выращивают дрожжи, не содержит

мальтозы. Поэтому индукция фермента α -глюкозидазы происходит медленно. При наличии мальтозы в среде дрожжевая клетка секретирует фермент мальтопермеазу, который осуществляет транспорт мальтозы внутрь клетки, и фермент α -глюкозидазу (мальтазу), расщепляющий мальтозу на две молекулы глюкозы. Затем глюкоза непосредственно сбраживается при участии зимазного комплекса ферментов дрожжевой клетки с образованием диоксида углерода и этианола. Ферменты, участвующие в сбраживании мальтозы (мальтопермеаза и α -глюкозидаза), проявляют свою активность только после того, как дрожжевые клетки оказываются в среде, содержащей этот дисахарид. Они являются индуцируемыми (адаптивными) ферментами.

Способность хлебопекарных дрожжей разрыхлять тесто зависит не только от активности зимазного комплекса ферментов клеток, но и от количества сбраживаемых сахаров. В полуфабрикатах хлебопекарного производства содержатся следующие сахара:

- мальтоза, сахароза, глюкоза и фруктоза, имеющиеся в муке (1-1,5%);
- мальтоза и глюкоза, образующиеся из крахмала под действием амилолитических ферментов муки (4-5%);
- сахара, вносимые в полуфабрикаты по рецептуре изделия (1-30%).

При созревании полуфабрикатов углеводы сбраживаются последовательно. Вначале дрожжи сбраживают глюкозу, фруктозу и мальтозу через час и два часа соответственно. Глюкоза сбраживается непосредственно, а фруктоза после изомеризации ее в глюкозу фруктоизомеразой дрожжей.

Переключение процесса брожения с глюкозы на фруктозу и мальтозу требует определенного периода, связанного с индукцией ферментов, поэтому скорость газообразования в полуфабрикатах в этот период незначительно снижается. После адаптации клетки к сбраживанию мальтозы скорость газообразования в тесте опять увеличивается до тех пор, пока не наступает недостаток мальтозы в среде.

Скорость инверсии сахарозы дрожжами превышает скорость сбраживания ее компонентов - глюкозы и фруктозы. Если в бродящем тесте содержится сахар-песок, вносимый по рецептуре, то процесс образования мальтозы из крахмала не будет являться лимитирующим фактором для спиртового брожения.

Способность дрожжей эффективно разрыхлять тесто зависит также и от интенсивности других биохимических превращений, в результате которых образуются вещества, необходимые для их жизнедеятельности. Происходит гидролиз белков с накоплением аминокислот, а также гидролиз липидов с образованием жирных кислот.

Кроме того, в полуфабрикатах должны присутствовать в необходимом количестве микро- и макроэлементов (витамины, минеральные вещества).

Молочнокислые бактерии

Молочнокислые бактерии являются постоянными компонентами муки, дрожжей, молочных продуктов и др. Они оказывают влияние на вкус, аромат и усвояемость хлеба.

Молочнокислых бактерий, которые используют в хлебопекарном производстве относятся представители родов *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Lactobacillus*.

Представителями рода *Lactobacillus* являются: *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus fermenti*.

Вид *Lactobacillus delbrueckii* относится к подгруппе термобактерий. Особенностью для данного вида бактерий является способность сбраживать глюкозу без образования диоксида углерода. Также они сбраживают сахарозу, мальтозу, галактозу, но не сбраживают лактозу, раффинозу, декстрины. Они хорошо развиваются в мучных средах и обладают большой интенсивностью образования кислоты.

Вид *Lactobacillus plantarum* принадлежит к гомоферментативным видам из подгруппы стрептобактерий. Данный вид играет главное значение в процессе кислотонакопления при изготовлении пшеничных и ржаных заквасок. *L. plantarum* сбраживает большинство углеводов, в том числе мальтозу и сахарозу. Он требует для своего развития богатые среды, содержащие разнообразные углеводы, витамины, аминокислоты. Характеризуется спиртоустойчивостью при этом выдерживает концентрацию спирта до 20%.

Вид *Lactobacillus casei* относится к подгруппе стрептобактерий и является гомоферментативным по характеру брожения. В пределах вида *L. casei* различают три подвида: *L. casei var. casei*, *L. casei var. rhamnosus* и *L. casei var. alactosus*. Бактерии вида *L. casei* присутствуют в заквасках и тесте и участвуют в кислотонакоплении полуфабрикатов.

Бактерии вида *Lactobacillus brevis* являются гетероферментативными. Они сбраживает мальтозу, сахарозу, галактозу, арабинозу, нуждается в тиамине и фолиевой кислоте. Вид *L. brevis*, как и *L. plantarum*, является специфичным для ржаных и пшеничных заквасок. Продукты их метаболизма участвуют в формировании вкуса и аромата хлеба.

Вид *Lactobacillus fermenti* является гетероферментативным. Данный вид часто встречается в заквасках и является специфичным для хлебопекарного производства.

Молочнокислое брожение

Молочнокислое брожение в данном пособии было рассмотрено ранее.

Способность некоторых молочнокислых бактерий сбраживать пентозы имеет определенное технологическое значение при брожении ржаных и ржано-пшеничных полуфабрикатов, которые содержат значимое количество пентозанов и продуктов их гидролиза.

Активность молочнокислых бактерий проявляется наиболее интенсивно в слабокислой среде и для большинства их видов оптимальная активная кислотность среды составляет pH 5-6. В полуфабрикатах хлебопекарного производства бактерии активны при pH 3-3,5.

Молочнокислые бактерии обладают некоторой липолитической активностью.

Для жизнедеятельности молочнокислых бактерий большое значение имеет азотистое питание, наличие минеральных солей, витаминов, аминокислот и некоторых органических соединений. Особенно важным является спиртоустойчивость молочнокислых бактерий при совместном использовании их с дрожжами.

Другие типы брожения

В полуфабрикатах хлебопекарного производства, кроме спиртового и молочнокислого, происходят пропионовокислое, бутиленгликолевое, масляное, ацетонобутиловое, ацетоноэтиловое брожения.

Пропионовокислое брожение

Этот тип брожения характеризуется сбраживанием глюкозы, а иногда и пентоз в пропионовую и уксусную кислоты с образованием диоксида углерода и воды:



Бактерии, вызывающие пропионовокислое брожение, присутствуют в молочных продуктах, с которыми попадают в хлебопекарные полуфабрикаты.

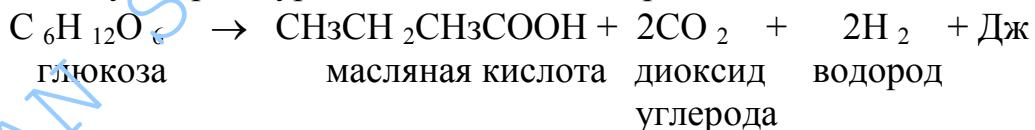
Бутиленгликолевое брожение

В муке иногда встречаются бактерии *Aerobacterium aerogenes*, которые попадают в хлебопекарные полуфабрикаты. При 2,3-бутиленгликоловом брожении образуются молочная, муравьиная, янтарная и уксусная кислоты, этиловый спирт, а также 2,3-бутиленгликоль в иных количествах и соотношениях, чем при гетероферментативном молочнокислом брожении.

Масляное и ацетонобутиловое брожение

Этот тип брожения вызывается многими микроорганизмами, встречающимися в пищевом сырье. Вид бактерий *Clostridium acetobutylicum* вызывает как маслянокислое, так и ацетонобутиловое брожение.

Суммарное уравнение масляного брожения:

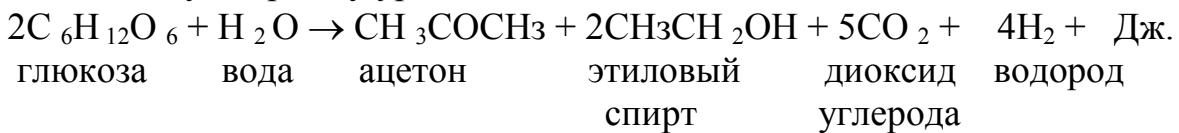


При этом образуется еще уксусная кислота и некоторые другие продукты.

Если реакция среды кислая, то основным продуктом является бутиловый спирт и ацетон. Если брожение протекает в нейтральной среде, то основным продуктом является масляная кислота, а этиanol и ацетон образуются в небольших количествах. В небольшом количестве образуются некоторые другие вещества.

Ацетоноэтиловое брожение

Этот тип брожения вызывается бактериями вида *Bacterium aceto-acetylicum* и проходит по суммарному уравнению:



Выход этилового спирта и ацетона стабилен и соотношение этих продуктов лежит в пределах 2,5:1 или 3,5:1.

Большое значение имеет способность молочнокислых бактерий (*Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus pentaaceticus*) сбраживать пентозы (L-арabinозу, D-ксилозу) с образованием молочной, уксусной кислот, диксихида углерода, а также этилового спирта, муравьиной, янтарной, пропионовой кислот и других веществ.

Фактический баланс брожения весьма сложен.

1.8.3 Виды хлебопекарных дрожжей и их свойства

Для производства хлебобулочных изделий используются следующие виды хлебопекарных дрожжей.

Прессованные дрожжи - это технически чистая культура дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, представленные в виде брикетов влажностью 67-75%. Культура выращивается на специальных питательных средах с помощью постоянного накопления биомассы маточных и засевных дрожжей в условиях интенсивной аэрации среды до получения товарных дрожжей прессованием или вакуумированием. В 1 г прессованных дрожжей содержится 10-15 млрд. клеток.

Используются для производства сдобных и булочных изделий из муки высшего и первого сортов. Применяют в виде дрожжевого молока с содержанием прессованных дрожжей 500 - 600 г \ л.

Сушеные дрожжи - это высушенные прессованные дрожжи до влажности 8-10% при определенных условиях. Их производят из прессованных дрожжей с повышенным содержанием сухих веществ и трегалозы. Сушеные дрожжи с высоким содержанием трегалозы и низким содержанием свободного аммиака намного дольше сохраняют свою биологическую активность. Их используют после предварительной регидратации. Однако эти дрожжи имеют пониженную бродильную активность даже после активации в мучной среде с добавлением сахара, и необходима дозировка в два раза выше, чем прессованных. Сушеные перед использованием размачивают в мучной суспензии и активизируют.

Инстантные дрожжи - высокоактивные сушеные дрожжи. В получении этих дрожжей используются определенные штаммы сахаромицетов и современные условия культивирования. Также, внесется в дрожжи перед высушиванием защитные добавки (антиоксиданты) – аскорбиновую кислоту, поверхностно-активных веществ или эмульгаторов, защищающих клеточные стенки и мембранны от повреждений.

Инстантные дрожжи, упакованные в атмосфере диоксида углерода или азота под вакуумом в газонепроницаемые полимерные пленки, сохраняют свои свойства в течение 2 лет.

В связи с высокопористой структурой эти дрожжи используют без предварительного размачивания (регистратации). Их в основном используют при безопарном и ускоренном способе приготовления теста с содержанием сахара и жира 7% и более к массе муки. Соотношение расхода инстантных дрожжей и прессованных составляет не менее 1:5.

Дрожжевое молоко - полуфабрикат дрожжевого производства. Они представляют собой водную суспензию клеток *Saccharomyces cerevisiae*, полученную в результате размножения их в культуральной среде, сгущения на сепараторе, выделения на вакуум-фильтрах или фильтр-прессах

Жидкие хлебопекарные дрожжи – полуфабрикат хлебопекарного производства, полученный на заквашенной заварке для хлебопекарного производства путем размножения в ней хлебопекарных дрожжей. Мучную заварку заквашивают термофильными молочнокислыми бактериями типа *Lactobacillus delbrueckii*, в которой затем выращивают дрожжи вида *Saccharomyces*. В 1 мл жидких дрожжей содержится 70-120 млн. клеток.

Жидкие дрожжи используются для выработки хлеба из пшеничной муки высшего, первого и второго сортов, ржано-пшеничного. В первую очередь желательно применять, если мука имеет пониженные хлебопекарные свойства, так как обладают высокой мальтазной активностью.

Дрожжи для готовых смесей (префикс) способны храниться при доступе кислорода и влаги, а также не требуют предварительной гидратации. Они имеют в своем строении защитные гранулы со специальной оболочкой и характеризующиеся высокой пристостью структуры, что способствует быстрому растворению гранул в полуфабрикатах хлебопекарного производства.

Дезактивированные дрожжи не обладают сбраживающей способностью, но имеют ферментативную активность. Эти дрожжи являются натуральным улучшителем восстановительного действия для теста, которому необходимо придать эластичные свойства и увеличить растяжимость.

Эффективность применения различных видов дрожжей связано с их свойствами, такими как физиологические, биологические и технологические.

При производстве и применении хлебопекарных дрожжей учитываются следующие их свойства:

Термотолерантность – способность дрожжей сохранять свою жизнедеятельность в средах с высокой температурой.

Оsmотолерантность - способность дрожжей осуществлять спиртовое брожение при повышенных концентрациях хлористого натрия (около 2% к массе муки) и сахара (более 10%).

Криотолерантность дрожжей – устойчивость дрожжей к воздействию холода. Дрожжи полусухие замороженные предназначены для применения в технологии быстрозамороженных тестовых полуфабрикатов для булочных и сдобных изделий. Содержание сухих веществ в этих дрожжах составляет 75-77%. В процессе производства дрожжей после сушки их замораживают, что

придает им большую стабильность при хранении.

Дрожжи, чувствительные к холоду, характеризуются очень низкой ферментативной активностью при температуре от 4 до 12°C и стандартной активностью при температуре 30-40°C. Что позволяет применять их для приготовления теста, предназначенного для розничной торговли. Тестовые заготовки, выработанные с использование этих дрожжей, могут храниться в течение нескольких дней при температуре 3-7°C.

Кислототolerантность дрожжей - способность дрожжей сохранять свою жизнедеятельность в средах, имеющих высокую кислотность.

Дрожжи, устойчивые к пропионату кальция, характеризуются повышенной кислототolerантностью и адаптивностью к тесту, приготовленному с добавлением пропионата кальция как средства предотвращения картофельной болезни хлебопекарных изделий.

Продолжительность и температура брожения полуфабрикатов являются важными факторами, определяющими количество дрожжей и их активность. При снижении продолжительности процесса брожения теста количество дрожжей повышается. Имеется прямая зависимость между температурой брожения и его интенсивностью: при увеличении температуры от 25 до 35°C интенсивность брожения повышается примерно в 2 раза.

Для достижения оптимальных свойств теста, приготовленного безопарным и опарным способом, и получения хлеба высокого качества, имеет значение высокая мальтазная активность дрожжей. В процессе брожения опары, продолжительность брожения которой составляет 180-240 мин, происходит адаптация дрожжевых клеток к сбраживанию мальтозы. Поэтому интенсивность газообразования в тесте, приготовленном опарным способом, в значительно меньшей степени зависит от исходной мальтазной активности дрожжей по сравнению с безопарным способом.

Общая длительность созревания полуфабрикатов в ускоренных технологиях составляет 70-100 мин, поэтому индуцирование α -глюкозидазы дрожжами, которое начинается как правило через 70-90 мин от начала процесса брожения теста, не может являться минимальным фактором технологического процесса. Кроме того, рекомендуется использовать ускоренные технологии при производстве изделий, в рецептуре которых предусмотрено не менее 2% сахара.

Доза дрожжей зависит от состава рецептуры, в первую очередь, от количества сахара и жировых продуктов. Сахаро- и жиро содержащие продукты влияют на ферментативную активность дрожжей. При использовании сахара-песка в количестве более 7% к массе муки в тесте начинаются процессы плазмолиза дрожжевых клеток, вызывающего снижение их жизнедеятельности. Внесение в тесто жировых веществ в количестве более 5% вызывает снижение газообразования, так как жир обволакивает поверхность дрожжевых клеток, что замедляет или останавливает прохождение питательных веществ через клеточную оболочку. Поэтому в рецептуре сдобных изделий предусмотрено увеличение количества дрожжей до 4-6% к массе муки и введение в технологический процесс операции отсюбки теста, предусматривающей

внесение сахара и жировых продуктов в вымоченное тесто.

1.8.4 Применение заквасок в хлебопекарном производстве

При производстве хлебобулочных изделий применяют разнообразные микроорганизмы, обеспечивающие образование органических кислот и разрыхление полуфабрикатов. Процессы брожения ржаных и пшеничных заквасок осуществляются дрожжевыми клетками и молочнокислыми бактериями в симбиотических условиях.

Закваска – это густой или жидкий полуфабрикат, приготовленный из ржаной, ржано-пшеничной и пшеничной муки путем замеса и брожения, используемый частично для приготовления теста или опары и возобновления закваски путем ее освежения.

В хлебопекарном производстве, особое значение придается использованию чистых культур, особенно при применении нестерильного сырья. Применения чистых культур молочнокислых бактерий позволяет:

- применять определенные виды и штаммы бактерий, создавать им оптимальные условия жизнедеятельности;
- комбинировать бактерии и получать изделия разнообразного вкуса, используя специфические свойства отдельных штаммов;
- обеспечивать приготовление заквасок высокого качества в наиболее короткий период времени и гарантировать подавление посторонней микрофлоры муки;
- увеличивать выход продукции за счет более экономного использования муки в процессе брожения;
- создавать условия для направленного управления технологическим процессом.

Закваски по консистенции могут быть густыми и жидкими.

Ржаные закваски

При приготовлении закваски выделяют два цикла: разводочный и производственный.

Разводочный цикл приготовления закваски состоит из трех фаз: дрожжевая, промежуточная и основная закваска.

Цель разводочного цикла является получение определенного количества активных молочнокислых бактерий. При этом в процессе данного цикла повышается кислотность закваски.

В разводочном цикле может применяться закваска прошлого приготовления и прессованные дрожжи или чистые культуры микроорганизмов.

Производственный цикл начинается с применения готовой исходной закваски для получения теста. Дальнейшее выращивание микроорганизмов закваски производится с отборами. От готовой исходной закваски отбирают 67% или 75% ее объема, а к оставшейся 33% или 25% прибавляют такое количество муки и воды, чтобы восстановить прежний объем. Готовность

заквасок определяется по конечной кислотности, подъемной силе и органолептическим показателям.

Тесто для хлебобулочных изделий из ржаной и смеси ржаной и пшеничной муки готовят на густой закваске, жидкой закваске без заварки и с заваркой, на концентрированной бездрожжевой молочнокислой закваске (КМКЗ).

Приготовление теста на густой закваске. Применяют при получения теста из ржаной обойной и обдирной муки, а также из смеси разных сортов ржаной и пшеничной муки.

Приготавливают закваску влажностью 48-50%, кислотностью 13-16 град. (из ржаной обойной) или 11-14 град. (из ржаной обдирной муки), с подъемной силой до 25 минут.

Густую закваску, полученную по разводочному циклу, накапливают до нужного количества и далее поддерживают в производственном цикле с помощью освежения с дальнейшим выбраживанием до накопления требуемой кислотности в зависимости от сорта муки. При этом выброшенную закваску делят на 4 или 3 части, из которых 25% или 33,3% в пересчете на муку, используют для воспроизведения закваски, а остальную массу расходуют на приготовление соответственно 3-х или 2-х порций теста.

Приготовление ржаного теста на жидкой закваске без заварки. Применяют для получения хлеба из ржаной и смеси разных сортов ржаной и пшеничной муки.

Приготавливают закваску влажностью 69-75%, кислотностью 9-13 град., с подъемной силой до 35 минут.

При замесе теста с жидкой закваской добавляют 25-35% муки от общей массы в тесте с последующим брожением теста до накопления требуемой кислотности в зависимости от сорта хлеба.

В производственном цикле жидкую закваску влажностью 69-75% без заварки освежают по достижении кислотности 9-13 град. через 3-5 ч путем отбора 50% готовой закваски из бродильного в расходный чан и далее на замес теста и добавления в бродильный чан к оставшейся массе такого же количества муки и воды для воспроизведения закваски.

Приготовление ржаного теста на жидкой закваске с заваркой. Применяют для получения хлеба из смеси ржаной и пшеничной муки.

Приготавливают закваску влажностью 80-85%, кислотностью 9-12 град., с подъемной силой до 30 мин. Для стимуляции жизнедеятельности дрожжей закваску освежают питательной смесью из муки и воды с добавлением заварки в количестве 20-35% к массе смеси.

При замесе теста с закваской добавляют 15-20% муки от общего количества в тесте. Брожением теста продолжается до накопления требуемой кислотности в зависимости от сорта хлеба.

В производственном цикле жидкую закваску с заваркой освежают по достижении кислотности 9-12 град. через 3-5 ч брожения путем отбора 50% готовой закваски в расходный чан и далее применения ее на замес теста и добавления в бродильный чан к оставшейся массе закваски муки, воды и заварки для воспроизведения закваски.

Приготовление ржаного теста на концентрированной бездрожжевой молочнокислой закваске. Применяют для получения хлеба из ржаной муки и смеси ржаной и пшеничной муки на предприятиях, работающих в две смены или с перерывами в отдельные дни.

Приготавливают закваску влажностью 60-70%, кислотностью 18-24 град., Основа микрофлоры состоит из молочнокислых бактерий.

При замесе теста с закваской расходуют 5-10% муки с последующим брожением теста до накопления требуемой кислотности.

В производственном цикле КМКЗ освежают при соотношении готовой закваски и питательной смеси равном 1:9 отбором 90% КМКЗ кислотностью 18-22 град и добавлением такого же количества муки и воды.

Виды микроорганизмов, применяемые при приготовлении различных видов ржаных заквасок, приведены в таблице 7.

Таблица 7

Чистые культуры микроорганизмов, используемые при приготовлении ржаных заквасок

Группы бродильных микроорганизмов	Густые	Жидкие		
		без заварки	с заваркой	бездрожевые (КМКЗ)
Молочно-кислые бактерии: мезофильные	L. plantarum-63 L. brevis-5 L. brevis-78	L. plantarum-30 L. brevis-1 L. casei-26 L. fermenti-34	L. plantarum-30 L. Brevis-1 L. casei-26 L. fermenti-34	L. plantarum-30 L .brevis-1 L. casei-26 L. fermenti-34
термофильные			L.delbruckii	
Дрожжи	S. minor «Чернореченский»	S. cerevisiae Л-1 S. Minor «Чернореченский»	S. cerevisiae Л-1	

Пшеничные закваски

Применяют пшеничные закваски в хлебопекарном производстве с целью:

- для оптимизации реологических свойств полуфабрикатов и готовых изделий;

- при переработке муки с пониженными хлебопекарными свойствами;
- для устранения опасности возникновения картофельной болезни;
- для интенсификации созревания теста в ускоренных технологиях;
- для улучшения вкуса и запаха изделий.

Требования, которые предъявляют к пшеничным закваскам:

- способность развиваться на мучных средах;
- стабильность при непрерывном культивировании;
- определенный уровень ферментативной активности;
- синтез некоторых витаминов;
- наличие антибиотической активности.

При приготовлении пшеничных заквасок отбирают микроорганизмы с учетом назначения закваски. Например, получение микробиологически чистых изделий, придание хлебу защитных свойств благодаря обогащению β-каротином и витаминами группы В и D, повышения пищевой ценности при увеличении содержания незаменимых аминокислот и легкоусвояемых сахаров. Также присутствие в составе некоторых пшеничных заквасках дрожжевых клеток с высокой мальтазной активностью дает возможность применять такие закваски в ускоренных технологиях приготовления теста (сокращая на 30-50%), а иногда и полностью не применяют хлебопекарные дрожжи в рецептуре отдельных сортов хлебобулочных изделий.

Наиболее распространенные пшеничные закваски бывают:

- на осахаренной заварке: пропионовокислая, комплексная, ацидофильная, витаминная, эргостериновая, мезофильная дрожжевая, жидкие дрожжи.
- на водно-мучной суспензии: мезофильная, концентрированная молочнокислая закваска.

Виды микроорганизмов, применяемые при приготовлении различных видов пшеничных заквасок, приведены в таблице 8.

Таблица 8

Чистые культуры микроорганизмов, используемые при приготовлении пшеничных заквасок

Закваска	Молочнокислые бактерии	Пропионовые бактерии	Дрожжи
Пропионово-кислая	-	<i>P.freudenreichi</i> ssp. <i>shermani</i> BKM-103	-
Комплексная	<i>L.casei</i> -C1, <i>L.brevis</i> -78, <i>L.fermenti</i> -34	<i>P.freudenreichi</i> ssp. <i>shermani</i> BKM-103	Гибрид N 69
Ацидофильная	<i>L.acidophilus</i> -146	-	<i>Sacch.cerevisiae</i> -NP17
Витаминная	<i>L.acidophilus</i> -146	<i>P.freudenreichi</i> ssp. <i>shermani</i> BKM-103	<i>Sacch.cerevisiae</i> -Фр-3 <i>Bullera arminioca</i> Сб-206
Эргостериновая	<i>L.casei</i> -63 <i>L.plantarum</i> -30	-	Гибрид N 576
Мезофильная дрожжевая	<i>L.casei</i> -C1 <i>L.plantarum</i> -A63	-	<i>Sacch.cerevisiae</i> -Фр-3
Концентрированная молочнокислая	<i>L.plantarum</i> -30 <i>L.brevis</i> -1 <i>L.casei</i> -26 <i>L.fermenti</i> -34		
Жидкие дрожжи	<i>L.delbruckii</i> : БДА, Э-1, 30, 30-1, 30-2, 40 и др.		<i>Sacch.cerevisiae</i> : М-23 512, 576, 69 и др.

Биохимические показатели пшеничных заквасок приведена в таблице 9.

Таблица 9

Биохимические показатели пшеничных заквасок

Наименование закваски	Мальтаз-ная активность	Амилоли-тическая активность. ед/г рН 5,2	Протеоли-тическая активность, ед/г рН 5,5	Антибиотические соединения
Пропионовокислая	-	406	660	пропионин, пропионовая кислота
Комплексная	65-70	904	720	пропионин, бревин, уксусная кислота
Ацидофильная	60-65	604	820	ацидофилин
Витаминная	60	902	520	пропионин, лактоцин
Эргостериновая	45-50	925	370	лактоцин
Мезофильная дрожжевая	60-65	912	515	лактоцин, уксусная кислота
Жидкие дрожжи	65-75	512	210	молочная кислота, этиловый спирт

1.8.5 Роль дрожжей и молочнокислых бактерий при производстве ржаного хлеба

Микрофлора ржаных заквасок и теста состоит из дрожжей *Saccharomyces* и молочнокислыми бактериями *Lactobacillus* в соотношении 1:80.

Кроме *Saccharomyces cerevisiae* в тесте встречаются дрожжи *Saccharomyces minor*. Дрожжи *S. minor*, не имеющие фермента α -глюкозидазы, хорошо развиваются в ржаных заквасках. Это связано с тем, что в ржаной муке содержится много сахаров. Также, в результате действия ферментов муки и жизнедеятельности молочнокислых бактерий образуется некоторое количество сахаров, доступных для сбраживания данным видом дрожжей.

Молочнокислые бактерии играют главную роль при брожении ржаных изделий. Молочная кислота в большей степени влияет на реологические свойства ржаного теста.

За счет кислотности набухает и происходит пептизация белков ржаной муки, при этом повышается вязкость теста, увеличивается его газоудерживающая способность. Кроме того, содержащийся в ржаной муке активный фермент α -амилаза, способствует накоплению в тесте декстринов, делая мякиш ржаного хлеба липким и заминающимся. Активность α -амилазы можно ограничить повышением кислотности закваски.

Гетероферментативные молочнокислые бактерии принимают участие в разрыхлении теста за счет образования диоксида углерода.

Молочнокислые бактерии значительно влияют на вкус и аромат ржаного хлеба, что во многом это предопределется соотношением молочной и летучих кислот. Также на аромат хлеба оказывают ди- и трикарбоновые кислоты и карбонильные соединения, в т.ч. спирты, эфиры, альдегиды, кетоны, серосодержащие соединения и многие другие.

Гомоферментативные виды молочнокислых бактерий образуют до 10% летучих кислот, а гетероферментативные в 2-3 раза больше. Гомоферментативные культуры способствуют образованию меньшего количества органических ди- и трикарбоновых кислот, но незначительно большем - летучих карбонильных соединений. Гомоферментативные виды более сильные кислотообразователи.

Хлеб, полученный на густых заквасках, с использованием одних гомоферментативных видов молочнокислых бактерий не имеет специфического аромата. При применении только гетероферментативных культур способствует большему накоплению уксусной кислоты, придающей хлебу резкий запах и более кислый вкус. Оптимальный хлеб по вкусу и аромату вырабатывается при совместном использовании гомо- и гетероферментативных видов кислотообразующих бактерий в соотношении 1:2.

В густых ржаных заквасок присутствуют два вида молочнокислых бактерий - *L. brevis* и *L. plantarum*, что связано, в большей степени с температурой получения густых заквасок. Другие виды молочнокислых бактерий при внесении в густые закваски не выдерживают конкуренции со спонтанной микрофлорой муки. Жидкие ржаные закваски по видовому составу кислотообразующей микрофлоры мало отличаются от густых. Однако, при брожении жидких заквасок важную роль кроме *L. brevis* и *L. plantarum*. играют виды *L. fermenti* и *L. Casei*.

Основными типами брожения в ржаных изделиях являются спиртовое и молочнокислое гомо- и гетероферментативное. Также пропионовокислое, бутиленгликолевое, ацетоноэтиловое, ацетонобутиловое и маслянокислое.

Контрольные вопросы

1. Назовите наиболее значимые микроорганизмы в биотехнологии хлебопекарного производства.
2. Какие типы жизнедеятельности могут проявлять хлебопекарные дрожжи в зависимости от условий питательной среды?
3. Какие ферменты дрожжей принимают участие в спиртовом брожении?
4. Как называются показатели качества дрожжей, характеризующие активность их ферментов?
5. Сущность спиртового брожения?
6. Сущность молочнокислого брожения?
7. Какие типы брожения, кроме спиртового и молочнокислого, протекают в полуфабрикатах хлебопекарного производства?

1.9. БИОТЕХНОЛОГИЯ ОВОЩЕЙ

1.9.1 Сущность ферментации овощей

Консервирование овощей основано на действии ферментов в присутствии рассола, в котором имеются молочнокислые бактерии. Консервантами здесь выступают поваренная соль и молочная кислота. Овощи, такие как капуста, огурцы, другие консервируются в рассоле с помощью брожения. Иногда овощи предварительно обрабатывают.

В рассоле овощи подвергаются последовательному воздействию разных микроорганизмов. В начальный период брожения вследствие наличия кислорода в ферментационной среде развивается аэробная микрофлора. Быстро развиваются молочнокислые бактерии и дрожжи, при этом образуются молочная и уксусная кислоты. В заключительной период брожения создаются более благоприятные условия для лучшего развития дрожжей. Брожение заканчивается при исчезновении сбраживаемых углеводов. Для успешного регулирования процесса брожения вместо спонтанно размножающейся микрофлоры используют чистые культуры - молочнокислые бактерии. При точном соблюдении температуры ($7,5^{\circ}\text{C}$) и концентрации соли (2,25%) получают соленые (отброженные) овощи высокого качества.

В процессе брожения овощи обогащаются метаболитами, которые придают им соответствующий вкус и аромат. Также в результате брожения пища обогащается белковыми соединениями.

Преимущества ферментированных овощей

Ферментированные овощи недорогие, долго сохраняются при пониженных температурах или в высушенном виде, легко поддаются переработки и консервации. Ферментированное пюре из помидоров, капусты лучше и легче воспринимается организмом, особенно больных, чем сырье овощи.

Среди главных преимуществ ферментированных овощей:

- улучшает пищеварение,
- поддерживает иммунную функцию,
- улучшает усвоение,
- восстанавливает естественный кислотно-щелочной баланс организма.

1.9.2 Получения ферментированных овощей

При получении квашеных овощей выделяют три этапа: предварительного периода, главного брожения и дображивания.

1. *На предварительном этапе* происходит диффузия соли в ткани, выделение клеточного сока, помутнение, бурное развитие молочнокислых бактерий, кислотность рассола достигает концентрации 0,3–0,4%.

2. *Главное брожение* характеризуется быстрым накоплением молочной кислоты (не менее 0,6–0,8%), выделением газов, а также может образовываться пена у квашеной капусты и моченых яблок.

При брожении выделяется углекислый газ, который оказывает асептическое действие. У квашеной капусты, кроме CO₂, образуется сероводород и меркаптан за счет разложения серосодержащих веществ капусты. Данные газы придают продукту неприятный запах, поэтому их отсасывают с помощью вакуум-насосов или пробиванием отверстий.

3. *Дображивание* происходит при не высоких температурах. При этом интенсивность брожения снижается, газы перестают выделяться, спадает пена, изменяются органолептические и физико-химические показатели качества квашеных овощей. Концентрация соли в рассоле и овощах выравнивается.

Мутный рассол становится прозрачным, приобретает характерные оттенки для готового продукта, консистенция становится хрустящей, кислотность достигает оптимального предела (0,6–1,2%), приятный на вкус.

Сроки ферментации зависят от вида овощей, температуры и способа квашения. Для квашеной капусты оптимальной температурой ферментации является 18–24°C, продолжительность 5–7 суток. При использовании чистых культур молочнокислых бактерий можно повышать температуру до 25–30°C, а сам срок ферментации уменьшать до 5–6 дней.

Ферментацию соленых огурцов, томатов проводят при дифференцированном режиме: предварительная ферментация – при температуре 20–25°C длительностью 36–48 ч для последующего хранения в прохладном месте и не более 12 ч – в неохлаждаемых складах при температуре 10–12°C длительностью главного брожения – 40–45 дней, при температуре 18–20°C – 30 дней. Дображивание проводят при температуре 1–4°C продолжительностью 15 дней.

После ферментации овощи расфасовывают в бочки или потребительскую тару (стеклянные банки, полиэтиленовые мешки и др.) и отправляют на реализацию. Температура хранения ферментированных овощей 1–4°C при относительной влажности воздуха 90–95%.

Контрольные вопросы

1. Какие преимущества ферментированных овощей?
2. Сущность консервирования овощей?
3. Назовите основные этапы получения ферментированных овощей?
4. Какие овощи в основном используют для консервирования?
5. Назовите особенности получения квашеной капусты?

1.10 БИОТЕХНОЛОГИЯ КВАСА

1.10.1 Сущность технологии производства кваса

Квас в некоторой степени относится к пиву. Но есть маленькое отличие - квас употребляют до окончания брожения. Если квас оставить бродить дальше - получается слабое кислое пиво с невыраженным вкусом.

Квас получают при комбинированном незаконченном спиртовом и молочнокислом брожении. Квас содержит ряд веществ формирующие питательную ценность: углеводы (сахарозу, мальтозу, декстрины), аминный азот, витамины В и D. и придающие специфический вкус: CO_2 , молочная кислота, меланоидины, спирт, альдегиды.

Квас делят на хлебный квас брожения и газированный, полученный купажированием. Хлебные квасы брожения - хлебный и окрошечный - составляют более 90% общего количества кваса. К газированным квасам относят не только квасы, полученные на основе концентрата квасного сусла (ККС), вкусовых и ароматических добавок, но и квасы, вырабатываемые на основе специфических концентратов. Готовый хлебный квас брожения должен содержать 5,4-5,8% сухого вещества, а окрошечный - 3-3,2%.

Квас вырабатывают на основе ржаного и ячменного солода, ржаной и ячменной муки, квасных хлебцев или концентрата квасного сусла. При купажировании кваса применяют сахарный сироп. Для некоторых сортов кваса используют концентраты яблочного и виноградного сока, ряд вкусовых и ароматических добавок. Концентрат квасного сусла (ККС) представляет собой вязкую густую жидкость темно-коричневого цвета, кисло-сладкого вкуса с ароматом ржаного хлеба. ККС содержит около 70% сухих веществ.

Для создания определенной кислотности применяют кислоты: молочную, лимонную и уксусную. Сырьем для производства хлебного кваса являются сухой ржаной солод, ржаная мука, сухой ячменный солод, квасные хлебцы и сухой квас. Основным сырьем является ржаной солод и ржаная мука, влияющие на аромат и цвет. Ячменный солод используется для осахаривания ржаной муки, применяемой на выработку квасного сусла и квасных хлебцев.

Квас, выработанный методом брожения представляет собой напиток приготовленным незаконченным спиртовым и молочнокислым брожением, полученного из смеси экстрактивных веществ хлебного сырья и сахарного сиропа.

Производство кваса состоит из следующих этапов:

Получение квасного сусла. Получают сусло двумя способами:

1) *настойным способом* из квасных ржаных хлебцев или из сухого кваса путем экстрагирования горячей водой растворимых в них веществ и отделение не растворившейся массы (квасной гущи).

2) *растворение концентрата квасного сусла* до необходимой массовой доли сухих веществ. Он является наиболее распространенный. При данном способе в бродильно-купажный аппарат наливают концентрата квасного сусла в количестве 70% от рецептуру, разводят водой с температурой 30-35°C в 2-2,5

раза (получается массовая доля сухих веществ в сусле 1,4% для хлебного кваса). Остальные 30% ККС используется при купажировании сбраженного кваса.

Сбраживание квасного сусла. Сбраживают с помощью комбинированной закваски, которая состоит из квасных дрожжей расы и молочнокислых бактерий рас в бродильном или бродильно-купажном аппаратах. После перекачивания сусла в бродильный аппарат вводят 25% сахарного сиропа при температуре 25°C и тщательно перемешивают. Затем добавляют предварительно подготовленную комбинированную закваску из чистых культурных квасных дрожжей и молочнокислых бактерий (0,8% дрожжей и 0,06% молочнокислых бактерий) в дозе 2-4% к объему сусла.

Дрожжи и молочнокислые бактерии при совместном действии образуют этиловый спирт, молочную и уксусную кислоты, углекислый газ, некоторые ароматические продукты, которые придают квасу специфический вкус и аромат.

Брожение квасного сусла производят при температуре 25-28°C до снижения массовой доли сухих веществ на 1% и кислотности не ниже 2 см³. Продолжительность брожения – 14-18 часов. По окончании брожения квас охлаждают до 6°C, при этом дрожжи оседают на дно аппарата.

Купажирование кваса. Квас перекачивают в купажный аппарат и купажируют, при этом в сбраженный квас добавляют оставшиеся 75% сахарного сиропа и 30% ККС. Купаж тщательно перемешивают мешалкой или диоксидом углерода для уменьшения потерь CO₂. Квас охлаждается 30-60 минут и осаждаются хлебные частицы и дрожжи. После проверки основных показателей передают на розлив.

Розлив кваса. Разливают квас в различную тару при температуре не более 12°C.

1.10.2 Микроорганизмы, применяемые в производстве кваса

Хлебный квас является продуктом незаконченного спиртового и молочнокислого брожения. Спиртовое брожение вызывается квасными дрожжами – сахаромицетами, при этом накапливаются до 0,5% спирта и выделяется диоксид углерода. Молочнокислые бактерии (гетероферментативные), превращают сахара квасного сусла в молочную, уксусную, янтарную кислоты, CO₂, ароматические вещества, этиловый спирт.

Квасные дрожжи относятся к виду *Saccharomyces minor* (раса M, 131-К) и *Saccharomyces cerevisiae* (C-2).

Квасные молочнокислые бактерии относятся к виду *Lactobacillus fermenti* штаммов 11 и 13, которые выделены из лучших образцов хлебного кваса.

В большинстве случаев в изготовлении кваса применяют комбинированную закваску, содержащую чистые культуры квасных дрожжей и молочнокислых бактерий.

При взаимоотношении дрожжей и молочнокислых бактерий в комбинированной закваске проявляется как синергизм, так и антагонизм.

Молочнокислые бактерии, продуцируя молочную кислоту, создают благоприятные значения pH 5-5,5 для дрожжей, а продукты жизнедеятельности дрожжей (витамины) стимулируют развитие молочнокислых бактерий. Однако далее в процессе брожения квасного сусла молочнокислые бактерии вступают в антагонистические отношения с дрожжами. Дальнейшее развитие бактерий и повышение кислотности снижают бродильную активность дрожжей.

Приготовление смешанной закваски дрожжей и молочнокислых бактерий

Закваску для кваса готовят непосредственно на предприятии по схеме. В разводке дрожжей чистых культур для закваски должно содержаться дрожжей не менее 40 млн. клеток в 1 см³, кислотность молочнокислых бактерий 6,8-7 см³.

Приготовление разводки дрожжей и молочнокислых бактерий основывается на нескольких пересевов с повышением квасного сусла и числа микроорганизмов в лаборатории, а затем в отделении чистых культур и в производстве.

Смешанную закваску готовят в сборнике смешанной закваски, куда подают разводку дрожжей и молочнокислых бактерий в соотношении 1:20 и добавляют сусло в соотношении 1:10.

Разведение хлебопекарных дрожжей

Кроме комбинированной закваски при выработке кваса используют прессованные хлебопекарные дрожжи. Для разведения хлебопекарных дрожжей подготавливают сусло с содержанием сухих веществ 3-3,2%, прибавляют сахарный сироп до концентрации сухих веществ 8%. Сусло кипятят в течение 30 минут и охлаждают до температуры 28-30°C. Дрожжи в дозе 15 г на 10 дал подготовленного сусла смешивают с водой в соотношении 2:1 при температуре 20-30°C. Затем полученную массу доводят до pH = 2,7-2,9 при помощи добавления молочной кислоты и выдерживают 3 ч при температуре 20-30°C. Далее полученную массу смешивают с подготовленным суслом и через 2-3 ч доводят в бродильно-купажный аппарат.

Контрольные вопросы

1. Какие микроорганизмы используются в производстве кваса?
2. Какова роль молочнокислых бактерий при приготовлении кваса?
3. Назовите этапы производства кваса?
4. Что является сырьем для производства кваса?
5. Что такое концентрат квасного сусла?
6. Какие существуют методы производства кваса?

1.11 БИОТЕХНОЛОГИЯ ПИВОВАРЕННОГО ПРОИЗВОДСТВА

1.11.1 Сущность технологии производства пива

Основные ингредиенты пива составляют вода, солод, хмель и дрожжи

Сущность пивоварения является сбраживание дрожжами сахарсодержащего сырья (злаковых культур, содержащих крахмал), в результате которого образуются этиловый спирт и углекислый газ.

Технология производства пива состоит из следующих этапов:

Подработка солода - проращивание зерен злаков (ячменя), сушка и очистка от ростков. При проращивании крахмал в зернах расщепляется на сахара. Степень сушки (жарки) солода влияет на производство разных типов пива - светлого, темного, черного.

Затирание сусла - солод размельчается и смешивается с водой. Сусло при этом приобретает сладковатый вкус. При затирания производят медленный нагрев с «температурными паузами», необходимыми для действия различных ферментов. В производстве пива таких пауз может быть несколько:

- белковая пауза, температура 50-52°C в течение 10-15 минут, при этом происходит расщепление белков;

- мальтозная пауза, температура 62-63°C в течение 30-40 минут при этом происходит расщепления крахмала на крупные фрагменты с помощью фермента бета-амилазы;

- осахаривание, температура 70-72°C в течение 10-15 минут, при этом расщепляются декстрины на более мелкие фрагменты - олигосахариды, мальтозу с помощью альфа-амилазы.

Для инактивации ферментов и уменьшения вязкости в конце данного этапа затор нагревают до температуры 78°C и подают на фильтрацию.

Фильтрация затора - затор перекачивается в фильтр - чан, где происходит его разделение на неохмеленное сусло и дробину (нерасторимые остатки ячменя). Фильтрация состоит из двух стадий. На первой отбирается сусло-самотек, на второй - дробину промывают горячей водой. Обе порции смешиваются в сусловарочном котле. Следовательно, дробина играет роль фильтровальной перегородки. Также используют фильтры-прессы, в которых роль фильтра играет синтетический материал, а фильтрация происходит не под действием тяготения, а пневматическим сжатием фильтровальных элементов.

Кипячение сусла – сусло варят в течение 1-2 часа с добавлением хмеля и других ингредиентов. Во время кипячения хмель растворяется, белковые вещества коагулируют и выпадают в осадок. Кроме того, происходит выпаривания различных ароматических компонентов, неблагоприятно влияющие на вкус пива.

Осветление сусла - сусло перекачивают в вихревую ванну (вирпул) для отделения нерастворимых остатков ячменя и хмеля. Эти частицы, под действием силы трения слоев жидкости, собираются в центре днища гидроцикла. После 20-30 минут отстаивания сусло отделяют от нерастворимого остатка.

Охлаждение и аэрация сусла - сусло перекачивается в бродильный резервуар. При перекачки сусло охлаждается и обогащается кислородом, необходимым для размножения дрожжей.

Брожение – с помощью дрожжей происходит сбраживания простейших сахаров, содержащиеся в сусле, в спирт и углекислый газ. Продолжительность (не более одной недели) и температура брожения зависят от того, какое пиво получают верховое (эль) или низовое (лагер) пиво. Полученный на этой стадии «молодое пиво» затем помещают в танки длительного отделения для дозревания. Дозревание проводят для улучшения органолептических свойств пива, расщепление диацетила и сложных эфиров.

1.11.2 Характеристика пивоваренных дрожжей

Дрожжи, используемые в пивоваренном производстве, относятся к классу *Ascomycetes*, порядку *Endomycetales*, семейству *Saccharomycetaceae*, роду *Saccharomyces*, видам *Saccharomyces cerevisiae* и *Saccharomyces carlsbergensis*.

Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* относятся к дрожжам верхового брожения и применяются главным образом для темных и специальных сортов пива. Оптимальной температурой для развития этих дрожжей - 14-25°C. При брожении они всплывают на поверхность в виде «шапки».

Дрожжи *Saccharomyces carlsbergensis* проводят низовое брожение пивного сусла - оседая на дно бродильных емкостей. Эти дрожжи хорошо бродят при температуре 5-10°C и применяются для выработке стандартного и сортового пива.

Пивоваренные дрожжи должны обладать следующими свойствами:

- *Высокая бродильная активность* - степень сбраживания сусла. Показывает отношение массы сброшенного экстракта к массе сухого вещества в начальном сусле.
- *Флокуляционная способность* - медленно и полно оседать на дно бродильных аппаратов в конце главного брожения.
- *Умеренная способность к размножению*. Слишком активное размножение дрожжей нежелательно, т.к. при этом расходуются экстрактивные вещества сусла и образуется повышенное количество побочных продуктов;
- *Стойкость к неблагоприятным условиям и инфицированию*;
- *Способность придавать пиву характерный вкус и аромат*.

На жизнедеятельность дрожжей влияют следующие условия:

- *Углеводный состав сусла*. Устанавливается присутствием в сусле сбраживаемых и несбраживаемых сахаров. Концентрация сбраживаемых сахаров в сусле составляет 70-80% сухих веществ, куда входят мальтоза (60-70%), мальтотриоза (15-20%), глюкоза (10-15%). Быстрее всего сбраживаются моносахара, медленнее мальтоза и хуже всего мальтотриоза.

- *Азотистый состав сусла*. Азотистые компоненты необходимы клеткам для синтеза веществ, которые обеспечивают их жизнедеятельность. Главными источниками азота являются аминокислоты, пуриновые и пиrimидиновые основания. Аминокислоты образуются при биосинтезе дрожжей и придают

пиву бархатистую консистенцию.

- *Температура и наличие кислорода.* При низкой температуре и анаэробных условиях размножение дрожжей замедляется, но они вырастают более крупными с большим запасом резервных веществ и высокой бродильной активностью. При повышении температуры и аэрации повышается потребность дрожжей в питательных веществах, размеры клеток уменьшаются, они не содержат запасных веществ и вырастают более слабыми.

Дрожжи в период главного брожения и дображивания

В пивоварении используют чистые культуры дрожжей. В условиях пивоваренных предприятий чистые культуры хранят при температуре не выше 5-8°C и периодически (не реже 4 раз в год) пересевают на свежий сусло-агар.

Разведением чистой культуры увеличивается биомасса дрожжей от объема пробирки до объема, вводимого в бродильный аппарат. Производят разведение на стерильном охмеленном сусле с концентрацией сухих веществ 11-13%, постепенно адаптируя дрожжи к суслу и низкой температуре.

Дрожжи вводят в сусло в начальный момент заполнения бродильного аппарата. Начальное количество дрожжевых клеток составляет 25-50 млн. клеток (0,4-0,5 л на 10 дал). От нормы введения дрожжей зависят скорость брожения и рост дрожжей: скорость пропорционально возрастает, а рост наоборот - тормозится.

Рост и размножение дрожжей в период главного брожения подчиняется закону роста статической культуры. В *лагфазе* видимых признаков размножения дрожжей нет. Продолжительность этой фазы 1-1,5 суток. При этом повышаются размеры клеток, возрастают число почекующихся клеток, содержание мертвых клеток в этот момент минимальное. В *лагфазе* рост дрожжей наиболее интенсивный, скорость почкования максимальна. Из-за быстрого размножения размеры клеток уменьшаются. В *стационарной фазе* размножение дрожжевых клеток снижается. К концу стационарной фазы количество живых клеток остается без изменения, а их размеры вновь увеличиваются - начинается спиртовое брожение. В *фазе замедления роста* размножение дрожжей останавливается из-за уменьшения количества экстракта и накопления спирта. Клетки инактивируются и отмирают, оседают на дно бродильного аппарата или собираются на поверхности.

1.11.3 Производственные засевные дрожжи

Засевные дрожжи - это дрожжи, осевшие в бродильных аппаратах после главного брожения, которых собирают и применяют для последующих производственных циклов несколько раз (10-12 генераций).

Получение засевных дрожжей состоит из нескольких операций:

- *Съем дрожжей.* Все фракции осадочных дрожжей обладают достаточно высокой бродильной активностью. Поэтому собирают после деконтакции молодого пива все осевшие дрожжи.

- *Очистка дрожжей.* После сбора дрожжи направляют на вибрационное

сито, где их путем процеживания отделяют от крупных белковых хлопьев и остатков хмельевых веществ. Очищенные дрожжи направляют в дрожжевые ванночки и заливают 2-3 кратным количеством охлажденной до температуры 0-2°C водой. После тщательного перемешивания дрожжи отстаивают 2-3 часа. Мутную воду, содержащую остатки пива, мелкие взвешенные белковые и хмельевые вещества и мертвые клетки, осторожно сливают. При наличии в засевных дрожжах большого количества посторонних микроорганизмов их очищают минеральными кислотами. Очистка дрожжей кислотами ослабляет дрожжевые клетки, поэтому норму введения их в сусло увеличивают.

• **Хранение дрожжей.** Дрожжи хранят под слоем воды при температуре 0-2°C не более 4-5 суток, т.к. при этом снижается бродильная активность. Не реже 1-2 раз в сутки воду с поверхности воды заменяют свежей холодной водой. В прессованном виде дрожжи можно хранить в закрытых баках при температуре от -2 до 0°C в течение 1-2 недель. Можно также хранить дрожжи под слоем свежего пива (5-10 см) в течение не более 4 недель при 0-2°C.

• **Активирование дрожжей.** Перед введением в бродильные аппараты дрожжи активируют различными способами:

1. Дрожжи смешивают с аэрированным суслом с температурой 15-17°C в соотношении 1:1, после чего добавляют 1/3-1/4 часть холодного сусла;

2. Дрожжи заливают суслом на 2-4 ч для увеличения содержания гликогена в клетках;

3. В засевные дрожжи вносят водные вытяжки или экстракты солодовых ростков, богатых азотом и биологически активными веществами.

В бродильный аппарат вводят здоровые, физиологически активные засевные дрожжи, содержащие не более 5% мертвых клеток.

Контрольные вопросы

1. Какую роль выполняют дрожжи в пивоварении?
2. Какие дрожжи относятся к дрожжам верхового и низового брожения?
3. Как влияет скорость размножения дрожжей на процесс размножения пива?
4. Какое значение при производстве пива имеет способность дрожжей к флокуляции?
5. Какие основные процессы при производстве пива?
6. Для чего и как проводят фильтрацию сусла?
7. Что такое «чистая культура» дрожжей?
8. Какие дрожжи называют засевными?
9. Какие микроорганизмы входят в состав микрофлоры зерна и солода?
10. Как влияет микрофлора солода на качество готового пива?

1.12. БИОТЕХНОЛОГИЯ СПИРТОВОГО ПРОИЗВОДСТВА

1.12.1 Сущность производства этилового спирта

В основе биотехнологического получения этилового спирта лежит процесс брожения. А сам процесс брожения основывается на превращении источника углерода глюкозы в ключевой промежуточный продукт - пировиноградную кислоту, из которой синтезируются дальнейшие продукты, включая этиловый спирт.

Этиловый пищевой спирт получают из зерновых культур, картофеля, свёклы и мелассы.

Существует два метода получения спирта:

- биохимический - сбраживанием сахаров под действием ферментов дрожжей;
- химический или синтетический - путём присоединения к этилену воды в присутствии катализаторов.

При биохимическом методе производства спирта используют сырье трёх видов:

- сахаросодержащее (отходы сахарного производства, свёкла, фрукты, ягоды, виноград);
- крахмалсодержащее (картофель, рожь, овёс, ячмень, кукуруза, пшеница);
- содержащее клетчатку (древесина, щепа, сульфитные щёлочки, солома, плёнки злаковых культур и другие отходы растений).

Технология производства спирта состоит из трех основных стадий:

Подготовка сырья к сбраживанию. При переработке сахаросодержащего сырья данная стадия является наиболее простой. Так, мелассу разбавляют водой до массовой доли сухих веществ 21-22%, подкисляют соляной или серной кислотой, добавляют питательные вещества, содержащие азот и фосфор, необходимые для питания дрожжей.

При переработке крахмалсодержащего сырья, на данной стадии производят осахаривание крахмала. Для того чтобы облегчить осахаривание ферментами (амилаза), крахмал разваривают насыщенным паром при давлении около 500 кПа. Крахмал гидролизуют до образования мальтозы, и получают сладкий затор.

При переработки сырья содержащего клетчатку, производят гидролиз клетчатки. Который проходит в несколько стадий с образованием промежуточных соединений, а затем простейших сахаров - манноз. Гидролиз сырья проводят при высокой температуре 160-180°C в присутствии кислот и катализаторов. При этом получают гидролизат с кислой реакцией (рН 1,8-2,2), который перед сбраживанием нейтрализуют до рН 5-6. Из 1 т древесины можно получить 170-200 л спирта.

Брожение. Происходит процесс превращения углеводов в спирт при помощи дрожжей. Для проведения процесса брожения, как правило, используют культуры сахаромицетов. Сахаромицеты интенсивно усваивают различные

моносахариды: глюкозу, фруктозу, галактозу; дисахариды: сахарозу, мальтозу, сбраживая их в этиловый спирт. В ходе брожения углеводы расщепляются в конечном итоге до этилового спирта, углекислого газа и воды. В результате жизнедеятельности дрожжей в питательной среде накапливается спирт, и эта среда называется бражкой. Зрелая бражка содержит дрожжи, соли, несброшенные углеводы, красящие вещества, глицерин, а её летучая часть - этиловый спирт, вода, примеси этилового спирта.

В конце брожения этиловый спирт накапливается в количестве 14-16%. Данная концентрация спирта подавляет размножение дрожжей; к этому моменту отличительным качеством среды является повышение кислотности за счёт вновь образовавшихся органических кислот. Именно такое сочетание определяет биологические качества сброшенного водного раствора спирта, что отличает его от раствора чистого спирта той же концентрации.

Выделение спирта из полученной бражки. Происходит путём отгонки на брагоректификационных установках. Проводят концентрированию этилового спирта и выделение чистой фракции Полученный спирт-сырец, при объёмной доле спирта примерно 90%, содержит летучие примеси (эфиры, альдегиды, кислоты, сивушные масла). После повторной отгонки (ректификации), получают спирт-ректификат.

1.12.2 Характеристика микроорганизмов, используемых в производстве этилового спирта

В спиртовом производстве применяют дрожжи вида *Saccharomyces cerevisiae*, которые относятся к дрожжам верхового брожения. Дрожжи, которые используются при производстве спирта, должны отвечать следующим требованиями:

- Высокая бродильная активность. Спиртовые дрожжи должны образовывать максимальное количество спирта;
- Способность сбраживать как моносахариды, так и дисахариды и некоторые декстринны;
- Способность сбраживать растворы с большой концентрацией сахара;
- Способность проводить спиртовое брожение при высоком содержании спирта в растворе.

При производстве спирта из крахмалсодержащего сырья чаще всего используют рису ХП, а в производстве спирта из мелассы - рисы Я, Л и В.

Основные факторы, влияющие на жизнедеятельность дрожжей в производстве спирта являются:

Температура. Оптимальная скорость роста спиртовых дрожжей 30-32°C, но дрожжи, выращенные при температуре ниже оптимальной имеют более высокую бродильную активность, поэтому процесс брожения начинают при температуре 18-22°C, а во время брожения ее поддерживают на уровне 29-30°C. Более высокая температура вызывает снижение бродильной активности и ускоряет развитию молочнокислых бактерий и диких дрожжей.

pH среды. Водородные ионы в зависимости от концентрации могут

повысить или снизить проницаемость оболочки клеток для отдельных веществ и ионов. От величины pH зависит скорость поступления питательных веществ в клетку, активность ферментов, образование витаминов.

При изменении pH среды изменяется характер брожения: если pH смещается в щелочную сторону, то повышается содержание глицерина и побочных веществ в бражке. Оптимальным pH для развития дрожжей является 4,8-5, однако в производстве спирта его стараются поддерживать на уровне 3,8-4, чтобы не развивались молочнокислые бактерии. Необходимый pH создают добавлением серной, соляной или молочной кислоты.

Содержание сахара в сусле. Высокая концентрация сахара увеличивает осмотическое давление в дрожжах, а низкая - экономически невыгодны, поэтому сбраживают сусло с содержанием 13-15% сахара. В зависимости от исходной концентрации сахара содержание спирта в зрелой бражке - 8-9,5%.

Содержание спирта. Спирт тормозит размножение дрожжей и их бродильную способность. Торможение брожения происходит при содержании спирта 12-16%. Поэтому концентрация сахаров в сусле должна быть такой, чтобы в зрелой бражке крепость спирта не превышала 10%.

Для повышения кислотности сусла при производстве спирта из картофеля и зерна используют молочнокислые бактерии вида *Lactobacillus delbrueckii* штаммов 52 и смешанная культура со штаммом 70. Они осуществляют гомоферментативное молочнокислое брожение.

Культивирование молочнокислых палочек ведут при температуре 50°C до кислотности 2,0-2,2 градусов для картофельного и 1,7-2 для зернового сусла, а потом проводят пастеризацию сусла при температуре 75°C. При применении молочнокислых бактерий, повышается содержание растворимых азотистых веществ, что положительно сказывается на размножение дрожжей

Контрольные вопросы

1. Назовите основные процессы в производстве этилового спирта?
2. Какие виды дрожжей используются в производстве этилового спирта?
3. Роль молочнокислых бактерий в производстве спирта?
4. Какие факторы, влияют на жизнедеятельность дрожжей в производстве спирта?
5. Какое сырье используется для производства спирта?

РАЗДЕЛ II. ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ

2.1 ВЛИЯНИЕ АКТИВНОСТИ ФЕРМЕНТНОГО ПРЕПАРАТА НА СВЕРТЫВАЕМОСТЬ МОЛОКА

Цель занятия: Изучить, как влияет активность молосвертывающего ферментного препарата на свертываемость молока

Приборы и оборудование: Баня водяная, электроплитка, термометр, секундомер, пробирки, пипетки вместимостью 10 и 2 мл.

Реактивы: Рабочий раствор (3%) сычужного фермента.

Ход работы. В две пробирки наливают по 10 мл каждого образца исследуемого молока, в водяной бане нагревают до температуры 35°C. Затем в каждую пробирку вносят по 2 мл 0,03% раствора сычужного фермента, который готовят непосредственно перед проведением исследования из 3% раствора (1 мл 3% раствора фермента разбавляют дистиллированной водой до 100 мл) и тщательно перемешивают стеклянной палочкой. Молоко с внесенным раствором фермента помещают в водяную баню при температуре 35°C для свертывания. Время с момента внесения сычужного фермента до момента окончания свертывания определяют секундомером. Через каждые 2-3 минуты пробирки слегка наклоняют, чтобы определить начало свертывания молока. Окончанием процесса свертывания молока считается момент, когда при повороте пробирки на 180 градусов сгусток не выпадает из нее.

Задание 1. Провести сычужное свертывание молока с помощью молосвертывающих ферментных препаратов с разной активностью. Результаты занести в таблицу 10 и сделать вывод о влиянии активности ферментов на свертывание молока.

Таблица 10

Влияние активности ферментного препарата на свертываемость молока

МФП	Молокосвертывающая активность МФП, у.е	Состав МФП, %		Время свертывания молока, с	Состояние сычужного сгустка
		Химозин	Пепсин		

Контрольные вопросы

1. Сущность сычужного свертывания молока?
2. Сычужный фермент, его получение.
3. Состав и свойства молокосвертывающих ферментных препаратов.
4. Физико-химическая сущность ферментативного свертывания молока.

2.2 ФАКТОРЫ, ВЛИЯЮЩИЕ НА СЫЧУЖНУЮ СВЕРТЫВАЕМОСТЬ МОЛОКА И СИНЕРЕЗИС СЫЧУЖНЫХ СГУСТКОВ

Цель работы - изучить процессы сычужного свёртывания белков молока, синерезиса сычужных сгустков и факторов, влияющих на них.

Приборы и оборудование: Стаканы термостойкие ёмкостью 150-200 мл, пробирки, пипетки объёмом 1, 5, 10 мл, цилиндры ёмкостью 250 мл, стеклянные палочки, воронки, марлевые или бумажные фильтры, pH-метр, водяная баня, электроплитка, секундомер, термометр, кастрюля, приборы и оборудования кислотности молока (бюretка для титрования).

Реактивы: 1% раствор сычужного фермента, 4% раствор хлорида кальция, молочная кислота, вода дистиллированная, реактивы для определения кислотности молока (0,1 н раствор NaOH, 1% спиртовой раствор фенолфталеина).

Ход работы. Методика проведения одинаковая для каждой серии опытов. Во все пробы вносят по 1 мл 4% раствора хлорида кальция (исходя из расчета 40 г CaCl₂ на 100 кг молока) и по 10 мл 1% раствора сычужного фермента. Содержимое тщательно перемешивают и оставляют в покое. В момент внесения фермента включают секундомер и отмечают момент готовности сгустка в каждой пробе. Готовность сгустка определяют пробой на излом. Для этого шпателем на поверхности сгустка делают надрез, плоской частью шпателя слегка его приподнимают по направлению разреза. Готовый сгусток дает трещину с острыми краями и глянцевой поверхностью, выделяя прозрачную сыворотку.

Продолжительность свёртывания каждой пробы заносят в соответствующую таблицу.

Готовый сычужный сгусток разрезают в стакане ножом на кубики с первоначальным размером по ребру около 8 мм и далее до 4 мм. Быстро переливают содержимое стакана вместе с отделившейся сывороткой на марлевые воронки с фильтрами, установленными на мерных цилиндрах. Отмечают количество выделившейся сыворотки через 5, 10, 15 минут от момента разрезки. Результаты записывают по форме таблицы и строят графики зависимости количества выделившейся сыворотки от продолжительности обезвоживания для каждой серии опытов при двухкратной повторности.

2.2.1 Влияние температуры свертывания на продолжительность сычужного свертывания молока

Ход работы. Подготавливают образцы сырого молока для исследований. В шесть стаканов отмеряют по 100 мл молока. Нагревают молоко: в двух стаканах – до температуры 25°C, в других двух – до 35°C и в других двух – до 45°C. Последующие операции проводят в соответствии с вышеописанной методикой определения. Так, в каждую пробу вносят фермент и раствор хлористого кальция в рекомендуемых дозах. Свертывание проводят при той же

температурае (в двух стаканах - при 25°C, в двух стаканах – при 35°C, в остальных двух стаканах – при 45°C).

Задание 1. Провести свертывание молока при разных температурах. Полученные данные занести в таблицу 11.

Таблица 11

Продолжительность свертывания молока в зависимости от температуры свертывания

Образец молока	Температура свертывания, °C	Продолжительность свертывания, с	Состояние сычужного сгустка
1	25		
2			
3	35		
4			
5	45		
6			

Задание 2. Построить график зависимости продолжительности свертывания молока при разных температурах свертывания.

2.2.2 Влияние дозы сычужного фермента на длительность свертывания молока и синерезис сычужного сгустка

Ход работы. Готовят образцы сырого молока для исследований. В шесть стаканов отмеряют по 100 мл молока. Подогревают молоко до температуры 35°C. Во все пробы вносят по 1 мл 4% раствора хлорида кальция и по 10 мл раствора сычужного фермента разной концентрации по следующей схеме:

1 образец – из расчета 1,5 г сычужного фермента на 100 кг молока;

2 образец – из расчета 2,5 г сычужного фермента на 100 кг молока;

3 образец – из расчета 3,5 г сычужного фермента на 100 кг молока.

Остальные операции по свертываемости и синерезису проводят в соответствии с вышеописанной методикой определения.

Задание 1. Провести исследование свертываемости молока и синерезиса сычужного сгустка в зависимости от дозы сычужного фермента. Полученные данные в таблицу 12.

Задание 2. Построить графики зависимости продолжительности свертывания молока и количества выделившейся сыворотки от дозы сычужного фермента.

Таблица 12

Влияние дозы сычужного фермента на продолжительность свёртывания молока
и синерезис сычужных сгустков

Образец молока	Доза сычужно- го фермента на 100 кг молока, г	Продолжитель- ность свёртыва- ния, мин	Количество сыворотки, выделившейся после разрезки сгустка, мл (через ... мин.)		
			5	10	15
1	1,5				
2					
3	2,5				
4					
5	3,5				
6					

2.2.3 Влияние температуры пастеризации на сычужное свертывание молока и синерезис сычужного сгустка

Ход работы. Готовят образцы молока для исследования. В три термостойких стакана отмеряют по 100 мл сырого молока для пастеризации и в один 100 мл для контроля. Или можно сначала пробы молока пастеризовать в кастрюле, затем разлить в стаканы по 100 мл.

Схема опыта:

1 образец – сырое молоко (контроль)

2 образец - молоко пастеризуют при температуре 63-65°C в течение 30 мин;

3 образец – молоко пастеризуют при температуре 72–75°C в течение 20 с;

4 образец – молоко пастеризуют при температуре 80-85°C без выдержки.

После пастеризации молоко сразу охлаждают до температуры свёртывания 35°C путем погружения тары с молоком в холодную воду при непрерывном перемешивании.

Остальные операции по свертываемости и синерезису проводят в соответствии с вышеописанной методикой определения.

Задание 1. Провести исследование свертываемости молока и синерезиса сычужного сгустка в зависимости от тепловой обработки. Полученные данные занести в таблицу 13.

Задание 2. Построить графики зависимости продолжительности свертывания молока и количества выделившейся сыворотки от температуры пастеризации.

Таблица 13

Влияние тепловой обработки на время свёртывания молока и синерезис сычужных сгустков

Образец молока	Режим тепловой обработки, °C	Продолжительность свёртывания, мин	Количество сыворотки, выделившейся после разрезки сгустка, мл (через ... мин.)		
			5	10	15
1	Сыре молоко				
2	63-65				
3	72-75				
4	80-85				

2.2.4 Влияние вносимой дозы хлорида кальция на сычужное свертывание молока и синерезис сычужного сгустка

Ход работы. Молоко нагревают при температуре 72-76°C в течение 25-30 с. Затем охлаждают до температуры 35°C. Затем в три стакана отмеряют по 100 мл молока и в один 100 мл для контроля. В пробы молока вносят хлорид кальция в виде 4% раствора в следующих количествах:

- 1 образец – контроль (без хлорида кальция);
- 2 образец – доза из расчета 20 г на 100 кг молока;
- 3 образец - доза из расчета 30 г на 100 кг молока;
- 4 образец – доза из расчета 40 г на 100 кг молока.

В каждую пробу вносят по 10 мл 1% раствора сычужного фермента, хорошо перемешивают и оставляют в покое до образования сгустка.

Остальные операции по свертываемости и синерезису проводят в соответствии с вышеописанной методикой определения.

Задание 1. Провести исследование свертываемости молока и синерезиса сычужного сгустка в зависимости от дозы хлорида кальция. Полученные данные занести в таблицу 14.

Таблица 14

Влияние дозы хлорида кальция на длительность свёртывания молока и синерезис сычужных сгустков

Образец молока	Доза CaCl_2 на 100 кг молока	Продолжительность свёртывания, мин	Количество сыворотки, выделившейся после разрезки сгустка, мл (через ... мин.)		
			5	10	15
1	Без хлорида кальция				
2	20 г на 100 кг				
3	30 г на 100 кг				
4	40 г на 100 кг				

Задание 2. Построить графики зависимости продолжительности свертывания молока и количества выделившейся сыворотки от дозы хлорида кальция.

2.2.5 Влияние кислотности молока на сычужное свертывание молока и синерезис сычужного сгустка

Ход работы. В два стакана отмеряют по 100 мл молока и в один 100 мл для контроля. В пробы молока для повышения кислотности внести молочную кислоту по следующей схеме:

- 1 образец – контроль (сырое молоко);
- 2 образец – вносят 0,1-0,2 мл молочной кислоты;
- 3 образец – вносят 0,4-0,5 мл молочной кислоты.

Определяют кислотность во всех пробах молока методом титрования или pH-метром.

В каждую пробу вносят по 10 мл 1% раствора сычужного фермента, хорошо перемешивают и оставляют в покое до образования сгустка.

Остальные операции по свертываемости и синерезису проводят в соответствии с вышеописанной методикой определения.

Задание 1. Провести исследование свертываемости молока и синерезиса сычужного сгустка в зависимости от кислотности молока. Полученные данные занести в таблицу 15.

Задание 2. Построить графики зависимости продолжительности свертывания молока и количества выделившейся сыворотки от кислотности молока.

Таблица 15
Влияние кислотности молока на продолжительность свёртывания молока и синерезис сычужных сгустков

Образец молока	Кислотность молока	Продолжительность свёртывания, мин	Количество сыворотки, выделившейся после разрезки сгустка, мл (через ... мин.)		
			5	10	15
1	Сырое молоко				
2					
3					

Контрольные вопросы

1. Какие факторы оказывают влияние на процесс сычужного свертывания?
2. Как влияет кислотность молока на процесс сычужного свертывания?
3. При производстве основных видов сычужных сыров какая наиболее применяемая температуре свертываемости молока?

2.3 МИКРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ЗАКВАСОК И КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ НА НАЛИЧИЕ ПОЛЕЗНОЙ МИКРОФЛОРЫ

Цель занятия: Ознакомиться с полезной микрофлорой заквасок и классификацией кисломолочных продуктов в зависимости от состава микрофлоры заквасок.

Приборы и оборудование: Микроскопы, горелки, предметные стекла, микробиологическая петля, фильтровальная бумага.

Реактивы: Иммерсионное масло, краситель (фуксин, краска Муромцева, генцианвиолет, метиленовая синь и др.), жидкие закваски на стерильном молоке, кисломолочные продукты.

Приготовление препаратов фиксированных клеток. Для получения фиксированных препаратов важно правильно подготовить предметные стекла. Они должны быть чистыми и тщательно обезжиренными. Для этого стекла, бывшие в употреблении, выдерживают 1-2 часа в хромовой смеси (в 1 л воды вносят 50 г бихромата калия и 100 г технической серной кислоты), после чего ополаскивают теплой водой и спиртом. Можно также кипятить стекла в течение 15 мин. в растворе соды или мыльной воды. Для проверки чистоты стекла на его поверхность наносят каплю воды. При достаточном обезжиривании капля растекается равномерно и не собирается в выпуклые, медленно высыхающие пузырьки. Берут стекла пинцетом или аккуратно за грани, так как пальцы оставляют на поверхности жирные пятна.

Техника отбора чистых культур микроорганизмов:

1. Зажигают горелку (спиртовку).

2. Пробирку с культурой помещают в левую руку между большим и указательным пальцами в наклонном положении. Поверхность с налетом микроорганизмов должна быть обращена вверх и хорошо видна.

3. Петлю держат вертикально в пламени горелки и прокаливают докрасна, затем наклоняют и обжигают примыкающую к ней часть петледержателя.

4. Мизинцем и безымянным пальцем правой руки прижимают к ладони наружную часть ватной пробки, вынимают ее из пробирки и держа в таком положении, не касаясь окружающих предметов.

5. Края открытой пробки обжигают в пламени горелки.

6. Осторожно вводят стерильную петлю в пробирку с культурой и охлаждают ее о стенки пробирки или прикоснувшись к питательной среде, свободной от микроорганизмов. Немного отстранив пробирку с культурой от пламени горелки, легким движением осторожно отбирают небольшое количество микробной массы с поверхности среды или каплю жидкости с клетками. Вынимая петлю из пробирки, следят за тем, чтобы отобранный материал не касался стенок и петля не оказалась над пламенем горелки.

7. Снова обжигают в пламени горелки край пробирки, затем, легким круговым движением, обжигают марлевую пробку и закрывают пробирку.

8. Пробирку с культурой ставят в штатив, а извлеченный материал используют для приготовления препарата.

9. Клетки микроорганизмов, оставшиеся не петле, сжигают в пламени горелки.

Ход работы. На предметном стекле готовят **фиксированный мазок** из молочнокислого сгустка заквасок или кисломолочных продуктов (кефира, сметаны, творога, йогурта, варенца, ряженки и др.).

1. На середину чистого обезжиренного предметного стекла стерильной петлей наносят небольшую каплю воды. В нее вносят исследуемый продукт. Затем полученное распределяют по поверхности стекла тонким слоем так, чтобы препарат распределился на площади примерно 2-3 см².

2. Полученный мазок высушивают при комнатной температуре на воздухе.

3. Производят фиксацию мазка. Для этого стекло с высохшим мазком проводят 3-4 раза над пламенем горелки той стороной, где мазок отсутствует.

Последовательность **окрашивания мазка простыми методами** следующая:

1. На фиксированный препарат наносят несколько капель красителя так, чтобы он покрывал всю поверхность мазка и выдерживают в течение определенного времени. Так, при окраске фуксином на мазок наносят несколько капель красителя и выдерживают его на мазке 2-3 мин. При окрашивании препарата из кефира на него краску Муромцева наносят на мазок через полоску фильтровальной бумаги на 3-5 мин.

2. Краску смывают с мазка слабой струей до бесцветной смывной воды. При этом стекло держат в наклонном положении над лотком.

3. Мазок подсушивают фильтровальной бумагой, которую осторожно прикладывают к стеклу, и досушивают на воздухе.

4. На окрашенный мазок наносят каплю иммерсионного масла и рассматривают препарат с объективом ×90 или ×100 в 10 полях зрения.

На основании микроскопирования отмечают качественный состав полезной микрофлоры и их морфологические строение, а также выявляют наличие посторонних микроорганизмов.

Задание 1. Провести микроскопическое исследование заквасок и кисломолочных продуктов

Задание 2. Зарисовать микроскопическую картину полученного образца и под каждым рисунком сделать вывод о качестве исследованного образца

Контрольные вопросы

1. Для чего необходимо проводить микроскопическое исследование заквасок и кисломолочных продуктов?
2. Сущность метода микроскопическое исследование заквасок и кисломолочных продуктов?
3. Чем отличаются разные виды полезной микрофлоры заквасок и кисломолочных продуктов при микроскопическом исследовании?

2.4 ПРИГОТОВЛЕНИЕ ЗАКВАСКИ ДЛЯ КЕФИРА

Цель занятия: научиться приготавливать и определять в кефирной закваски вид микроорганизмов.

Приборы и оборудование: Термостат, холодильник, стерилизатор, электроплитка, предметные стекла, горелка, микроскоп.

Реактивы: Спирт, дезенфицирующие и моющие средства, метиленовый синий.

В помещениях, где готовят закваску, необходимо строго поддерживать чистоту: пол и стены необходимо протирать дезинфицирующим раствором, воздух стерилизовать бактерицидными лампами. Рабочий стол в помещении обрабатывают спиртом.

Ход работы. В подготовленное стерилизованное или пастеризованное молоко с температурой 20-25°C вносят от 0,5 до 3% посевного материала от массы заквашиваемого молока. Затем заквашенное молоко помещают в термостат и выдерживают 12-16 ч при температуре 20-25°C. По окончания сквашивания готовый продукт вынимают из термостата и помещают в холодильник.

Для ознакомления с микрофлорой кефирного грибка кусочек его тщательно растирают между двумя предметными стеклами. Препарат фиксируют в пламени горелки и окрашивают метиленовым синим. В препарате преобладают палочки стромы грибка, видны скопления дрожжевых клеток, кокки встречаются редко (рис. 18, а).

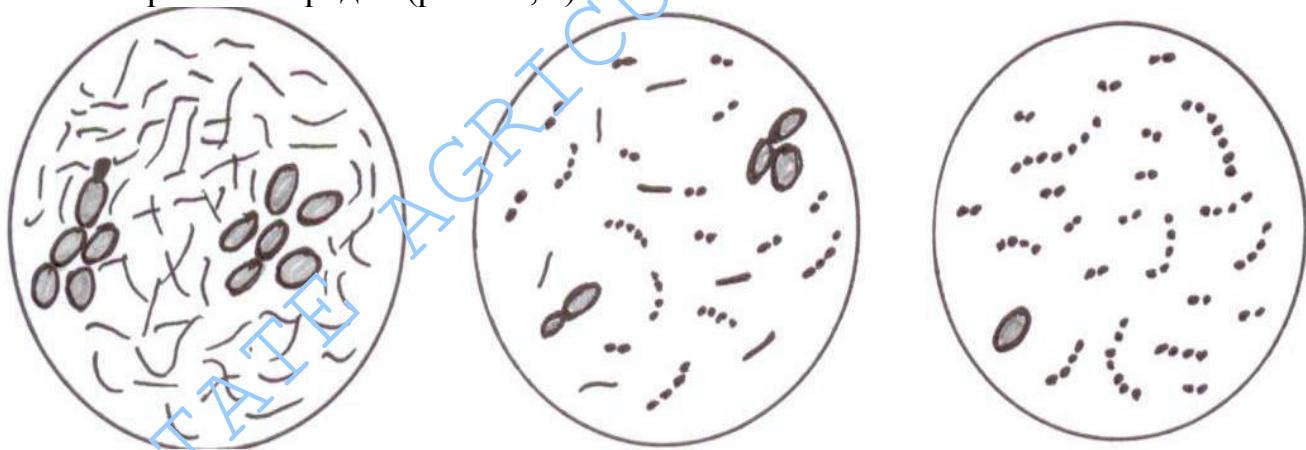


Рисунок 18. Микроскопическая картина кефирной закваски:
а – стромы кефирного грибка; б – грибковой закваски; в – кефирной производственной закваски

В препарате грибковой закваски преобладают мезофильные молочнокислые стрептококки, часто встречаются скопления дрожжей, в каждом поле зрения имеются короткие молочнокислые палочки (см. рис. 18, б).

В препарате производственной кефирной закваски преобладают диплококки и короткие цепочки кокков палочки встречаются реже, чем в грибковой закваске, дрожжи обнаруживаются не в каждом поле зрения (см. рис. 18, в).

Задание 1. Приготовить закваску для кефира

Задание 2. Ознакомится с помощью микроскопии с микрофлорой кефирной закваски, и определить разновидности микрофлоры (рис. 18).

Контрольные вопросы

1. Для чего готовят закваску в производственных условиях?
2. Как готовят закваску для кефира?
3. Как готовят препарат закваски кефира для микроскопирования?

2.5 КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА БАКТЕРИАЛЬНЫХ ЗАКВАСОК

Цель занятия: Определение качества бактериальных заквасок

Активность закваски

Приборы и оборудование: Термостат, стерилизатор, холодильник, электроплитка.

Ход работы. Определяют по продолжительности сквашивания пастеризованного молока при внесении в него 5% закваски. Для закваски на основе молочнокислых стрептококков длительность сквашивания молока не должна превышать 7 ч, а для закваски на основе молочнокислых палочек – 6 ч.

Микробиологический контроль закваски

Приборы и оборудование: Термостат, водяная баня с терморегулятором, микроскоп, пробирки, мерный цилиндр, пипетки градуированные, чашки Петри, микробиологическая петля, горелка, пинцет, парафин

Реактивы: среда Кесслера, раствор метиленового синего.

К микробиологическим показателям качества закваски относятся микроскопия препарата закваски, определение наличия бактерий группы кишечной палочки (БГКП), споровых бактерий и бактериофага.

Ход работы. При микроскопии просматривают не менее 10 полей зрения, проверяя чистоту закваски и соотношение между ее компонентами. Если возникает сомнение в микробиологической чистоте закваски, а под микроскопом не обнаруживаются посторонние микроорганизмы, делают посев первых 4-5 разведений закваски в стерильное молоко и после термостатирования просматривают микроскопические препараты сгустков.

Наличие БГКП в закваске устанавливают путем посева ее в среду Кесслера. Они должны отсутствовать в 3 см³ закваски для кефира и в 10 см³ закваски для остальных продуктов.

Присутствие споровых бактерий определяют следующим образом. В 2 пробирки со стерильным молоком наливают по 1 см³ закваски (в одну пробирку добавляют кусочек парафина) и нагревают их на водяной бане при температуре 85°C продолжительностью 10 мин. Затем пробирки охлаждают и выдерживают в термостате при температуре 30°C в течение 2 суток. При развитии споровых анаэробных бактерий парафиновая пробка поднимается. В молоке при развитии

споровых аэробных и анаэробных бактерий может наблюдаться пептонизация, в микроскопическом препарате видны утолщенные палочки, иногда со спорами.

При определении наличия бактериофага к 10 см³ стерильного обезжиренного молока добавляют 0,5 см³ рабочего раствора метиленового синего и одну каплю закваски. Содержимое пробирки тщательно перемешивают и выдерживают при температуре 37°C, наблюдая за восстановлением индикатора. Если после восстановления метиленового синего снова будет происходить посинение молока (через 4–5 ч), то это указывает на наличие в закваске бактериофага.

Химический контроль качества закваски

Приборы и оборудование: Водяная баня, колбы вместимостью 100–150 мл, пипетки вместимостью 1, 5 и 10 мл, бюретки, пробирки, чашки Петри, бумажный фильтр.

Реактивы: 0,1 н раствор едкого натра, 1% спиртовой раствор фенолфталеина, 68% раствор этилового спирта, 2,5% раствор сульфата кобальта, 40 % раствор KOH, дистиллированная вода.

К химическим показателям качества закваски относятся титруемая кислотность, присутствие в закваске CO₂ и диацетила.

Ход работы. Определение титруемой кислотности закваски определяют стандартным методом: в колбочку на 100 см³ вносят 10 см³ закваски, 20 см³ дистиллированной воды, три капли фенолфталеина и титруют 0,1 н. раствором NaOH до появления розового окрашивания. Если кислотность закваски мезофильных стрептококков превышает допустимую (90°Т), то ее следует проверить на наличие термоустойчивых молочнокислых палочек – возбудителей порока молочных продуктов «излишняя кислотность».

Углекислота и четырехуглеродные соединения являются продуктами жизнедеятельности ароматобразующих бактерий *Lac. diacetylactis* и лейконостоков. Наличие в закваске этих веществ говорит о нормальном развитии ароматобразующих культур.

Определение CO₂. Закваску хорошо перемешивают, отбирают 20 см³ в пробирку диаметром 15 мм и, отметив уровень закваски, ставят пробирку в водяную баню с холодной водой. Воду нагревают до 90°C и, не вынимая пробирки из воды, отмечают уровень поднятия сгустка. Если закваска содержит CO₂, то сгусток становится губчатым и приподнимается над сывороткой на 0,6–3 см и более. При отсутствии углекислоты сгусток совсем не поднимается или даже опускается на дно.

Определение наличия диацетила с ацетоином. Закваску перемешивают и фильтруют через бумажный фильтр. Отбирают три капли фильтрата и прибавляют три капли 40 %-го раствора KOH и тщательно перемешивают. Отмечают время появления розового окрашивания. Если окрашивание появилось до истечения 10 мин, то считают, что в закваске присутствует диацетил.

Органолептический контроль качества закваски

Закваску оценивают по органолептическим показателям: вкус и запах, характер сгустка и консистенция. Закваска должна иметь ровный плотный сгусток, требуемую для данного продукта консистенцию, чистый кисломолочный вкус и выраженный аромат.

Задание 1. Провести контроль качества закваски по активности и результаты занести в таблицу 16.

Таблица 16

Наименование закваски	Заквасочные культуры	Продолжительность сквашивания, час	Активность

Задание 2. Провести контроль качества закваски по микробиологическим показателям и результаты занести в таблицу 17.

Таблица 17

Микроскопические показатели	Наименование закваски	Наличие/отсутствие
Микроскопия		
БГКП		
Споровые бактерии		
Бактериофаг		

Задание 3. Провести контроль качества закваски по химическим показателям и результаты занести в таблицу 18.

Таблица 18

Наименование закваски	Титруемая кислотность, Т	CO ₂	Диацетил с ацетоином

Задание 4. Провести контроль качества закваски по органолептическим показателям и результаты занести в таблицу 19.

Таблица 19

Органолептические показатели	Характеристика
Вкус	
Запах	
Сгусток	
Консистенция	

Контрольные вопросы

1. Для чего необходимо проводить контроль качества бактериальных заквасок?
2. Какие методы контроля качества заквасок существует?

3. По каким показателям оценивается закваска при микробиологическом контроле?
4. По каким показателям оценивается закваска при химическом контроле?
5. По каким показателям оценивается закваска при органолептическом контроле?

2.6 ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ И ПРОДОЛЖИТЕЛЬНОСТИ СКВАШИВАНИЯ НА ПРОЦЕСС ЖИЗНДЕЯТЕЛЬНОСТИ РАЗНЫХ ВИДОВ ЗАКВАСОЧНЫХ КУЛЬТУР

Цель занятия: Изучить влияние технологических режимов сквашивания на жизнедеятельность разных видов заквасочных культур

Приборы и оборудование: Термостат, электроплитка, холодильник, вискозиметр, центрифуга, колбы, кастрюли, аппаратура для определения титруемой кислотности молока

Реактивы: Реактивы для определения титруемой кислотности, молоко, дистиллированная вода, закваска.

Ход работы. Молоко нагревают до 25-37°C (в зависимости от вида получаемого кисломолочного напитка) и заквашивают закваской. Масса закваски составляет 3-5% от массы нормализованной смеси.

Заквашенную смесь перемешивают в течение 15 минут и разливают в три термостойких стакана на 200 мл. Сквашивают в термостате при разных температурах и продолжительности (табл. 20 и 21).

Таблица 20
Разная температура сквашивания при использовании разных видов заквасочных культур

Название закваски	Заквасочные культуры	Температура сквашивания, С	Органолептические показатели	Кислотность, Т	Вязкость	Микроскопирование
Простакваша		28				
		40				
		46				
Ацидо-фильный йогурт		28				
		40				
		46				
Бифидо-йогурт		28				
		40				
		46				
Кефир		25				
		35				
		40				

Таблица 21

Разная продолжительность сквашивания при использовании разных видов заквасочных культур

Название закваски	Заквасочные культуры	Продолжительность сквашивания, час	Органолептические показатели	Кислотность, Т	Вязкость	Микроскопирование
Простакваша		5				
		8				
		12				
Ацидофильный йогурт		5				
		8				
		12				
Бифидо-йогурт		5				
		8				
		12				
Кефир		5				
		8				
		12				

После сквашивания у готового продукта определяю:

Органолептические показатели. внешний вид, консистенция, цвет, вкус, запах.

Кислотность стандартным методом с помощью титрования.

Вязкость определяют с помощью вискозиметра. Пробы исследуемых продуктов хорошо перемешивают и нагревают до температуры 20°C.

В начале работы необходимо ввинтить сопло с нужным диаметром в резервуар вискозиметра. Затем помещают резервуар в штатив, который устанавливают на горизонтальной поверхности стола.

Закрывают выходное отверстие сопла резервуара пальцем для исключения вытекания жидкости.

Медленно, чтобы не образовывались пузырьки воздуха, наливают в резервуар до верхней кромки 100 мл исследуемого продукта. Образовавшийся мениск удаляют стеклянной пластиной.

Устанавливают приемный сосуд так, чтобы расстояние между выходным отверстием резервуара и приемным сосудом было не менее 100 мм.

Открывают выходное отверстие резервуара и, как только началось истечение жидкости из отверстия, одновременно включают секундомер.

В момент первого прерывания струи останавливают секундомер и отсчитывают время.

Время истечения продукта определяют с погрешностью не более 0,5 с.

Количество повторений измерений может быть от 3 до 5 раз. Последующие измерения условной вязкости жидкого продукта можно проводить сразу после

окончания предыдущих измерений. Из полученных данных рассчитывают среднее арифметическое значение времени истечения продукта.

Микроскопирование с помощью микроскопического исследования. Определить наличие и количество заквасочных микроорганизмов.

Задание 1. Провести сквашивания молока при разных температурах и с разными заквасочными культурами. Полученные данные занести в таблицу 20 и сделать вывод о влиянии температуры на жизнедеятельность заквасочных культур.

Задание 2. Провести сквашивания молока при разной продолжительности и с разными заквасочными культурами. Полученные данные занести в таблицу 21 и сделать вывод о влиянии длительности сквашивания на жизнедеятельность заквасочных культур.

Контрольные вопросы

1. Как влияет температура сквашивания на характер молочнокислого брожения?
2. Как влияет продолжительность сквашивания на характер молочнокислого брожения?
3. Как влияет температура сквашивания на качество готового продукта?
4. Как влияет продолжительность сквашивания сквашивания на качество готового продукта?
5. Как влияет температура сквашивания и продолжительность сквашивания на наличие и количество заквасочных микроорганизмов?
6. Что в большей степени влияет на характер молочнокислого брожения - температура сквашивания или продолжительность сквашивания?

2.7 ИЗУЧЕНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МИКРООРГАНИЗМОВ

Цель занятия: изучить морфологические свойства микроорганизмов и научиться проводить окрашивание бактерий методом Грамма.

Приборы и оборудование: термостат, стерилизатор, чашки Петри, микробиологическая петля, горелка, пинцет.

Реактивы: красители трифенилметановой группы: генциановый, метиловый фиолетовый или кристалловиолет, раствор Люголя или йодистый раствор по Граму (водный раствор йодида калия и кристаллического йода в соотношении 2:1), фуксин, этиловый спирт (96°) или ацетон.

Окраска по Граму относится к сложному способу окраски, когда на мазок воздействуют двумя красителями, из которых один является основным, а другой - дополнительным.

Грамположительные Грам (+) микроорганизмы прочно соединяются с основными красителями и йодом. При этом они не обесцвечиваются при воздействии на них спиртом, вследствие чего при дополнительной окраске

фуксином Грам (+) микроорганизмы не изменяют первоначально принятый фиолетовый цвет.

Грамотрицательные Грам (-) микроорганизмы образуют с основными красителями и йодом легко разрушающееся под действием спирта соединение. В результате микробы обесцвечиваются, и затем окрашиваются фуксином, приобретая красный цвет.

Ход работы. Исследуемый материал распределяют тонким слоем по поверхности хорошо обезжиренного предметного стекла. Приготовленный мазок высушивают на воздухе и после полного высыхания фиксируют.

При фиксировании мазок закрепляется на поверхности предметного стекла, и поэтому при последующей окраске препарата микробные клетки не смываются. Убитые микробные клетки окрашиваются лучше, чем живые.

Можно использовать физический или химический способ фиксации.

Физический способ фиксации: Предметное стекло с препаратом берут пинцетом или 1-м и 2-м пальцами правой руки за рёбра мазком кверху и плавным движением проводят 2-3 раза над верхней частью пламени горелки. Продолжительность фиксации должна занимать не более 2 с.

Химический способ фиксации: Мазок фиксируют спиртом. Предметное стекло с высушенным мазком погружают в склянку с фиксирующим веществом на 10-15 минут и затем высушивают на воздухе.

Процесс окрашивания: На фиксированный мазок наносят один из основных красителей на 2-3 мин. Во избежание осадков окрашивают через фильтровальную бумагу. Сливают краску, аккуратно удаляют фильтровальную бумагу. Мазок заливают на 1-2 мин раствором Люголя или йодистым раствором по Граму на 1-2 минуты до почернения препарата.

Раствор сливают, мазок прополаскивают этиловым спиртом (или ацетоном), наливая и сливая его, пока и мазок не обесцветится и стекающая жидкость не станет чистой (приблизительно 20-40-60 секунд).

Тщательно промывают стекла в проточной воде 1-2 мин.

Для выявления грамотрицательной группы бактерий препараты дополнительно скрашивают фуксином (2-5 мин).

Промывают в проточной воде и высушивают фильтровальной бумагой.

Полученный препарат микроскопируют с использованием иммерсионного объектива ($\times 90$). При микроскопировании препаратов обращают внимание на форму клеток; их взаимное расположение; наличие спор; отношение к окраске по Граму (грамположительные бактерии окрашиваются в фиолетовый цвет, а грамотрицательные – в розовый). Эти признаки позволяют отнести микроорганизмы к определенной группе.

Задание 1. Провести окрашивание бактерий методом Грамма и выяснить к какой группе бактерий (+ или -) относится.

Контрольные вопросы

1. Для чего используется метод окраски по Граму?
2. В чем сущность метода окраски по Граму?
3. Какие приборы и реактивы используют при методе окраски по Граму?

2.8 ОПРЕДЕЛЕНИЕ МОЛОЧНОКИСЛЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ В ФЕРМЕНТИРОВАННЫХ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТАХ, ЗАКВАСКАХ, БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРЕПАРАТАХ

Цель занятия: научиться определять молочнокислые микроорганизмы в молочных продуктах, заквасках и бактериальных препаратах.

Приборы и оборудование: Термостат, стерилизатор, pH-метр, весы, чашки Петри, колбы, пробирки, микробиологическая петля, горелка, электроплитка, ножницы, пипетки, водяная баня, фарфоровая ступка и пестик, бумажный фильтр.

Реактивы: Агар, спирт, гидролизованное молоко, физиологический раствор, бикарбонат натрия, порошок панкреатина, хлороформ, 40%-й раствор NaOH, дистиллированная вода.

Ход работы. Для определения наличия и подсчета количества молочнокислых бактерий в кисломолочных напитках отобранную для анализа упаковку протирают спиртом, надрезают ее край чистыми ножницами и отбирают стерильной пипеткой 1 см³ продукта.

Для определения молочнокислых бактерий в твороге или сыре взвешивают с соблюдением правил стерильности 10 г продукта, переносят навеску в стерильную ступку и растирают, порциями добавляя жидкость из колбы, содержащей 90 см³ стерильного физиологического раствора. Приготовленную суспензию переносят обратно в колбу и получают исходное разведение продукта 10⁻¹.

Для приготовления разведений сухих заквасок или бактериальных препаратов края флакона или пакета протирают спиртом, край флакона обжигают и вынимают пробку, а пакет надрезают профламбированными ножницами. Отвешивают 1 г испытываемого материала в стерильную или профламбированную ступку, прикрытую стерильной крышкой от чашки Петри, тщательно растирают, добавляя небольшое количество стерильного физиологического раствора или фосфатного буфера из колбы, содержащей 99 см³ раствора или буфера. Суспензированный материал переливают в колбу с оставшимся раствором и таким образом получают разведение сухой закваски или бактериального препарата 10⁻². Из продуктов или их исходных разведений готовят следующие десятикратные разведения в соответствии с допустимым количеством микроорганизмов, указанным в нормативно-технической документации.

В таблице 22 приведены разведения молочных продуктов для посева на питательные среды.

Для посева в агаризованную среду отбирают те разведения продукта, при посеве которых на чашках Петри вырастает от 15 до 150 колоний.

Для учета молочнокислых бактерий в ферментированных молочных продуктах, заквасках и бактериальных препаратах чашечным методом в качестве питательной среды используют агар с гидролизованным молоком.

Таблица 22

Разведения молочных продуктов для определения в них количества молочнокислых бактерий

Наименование продукта	Разведения, используемые для посева
Кисломолочные напитки, закваски жидкие и сухие, творог, сметана, сыры	10^{-6} ; 10^{-7} ; 10^{-8} ; 10^{-9}
Бактериальные препараты молочнокислых бактерий	10^{-9} ; 10^{-10} ; 10^{-11}
Сухие кисломолочные продукты	10^{-6} ; 10^{-7} ; 10^{-8}

Питательные среды для культивирования лактобактерий

Гидролизованное молоко

Берут 1 дм³ обезжиренного молока, кипятят и охлаждают до температуры 45°C. Добавляют бикарбонат натрия и устанавливают pH 7,6-7,8. В молоко вносят 0,5-1,0 г порошка панкреатина, предварительно разведенного в небольшом количестве теплой воды. В смесь вносят 5 см³ хлороформа, колбу закрывают корковой пробкой и выдерживают в термостате при 40°C в течение 24-48 ч. В течение первых 3-5 ч молоко несколько раз перемешивают, приоткрывая пробку для удаления хлороформа, затем гидролизованное молоко фильтруют через бумажный фильтр, разводят дистиллированной водой в соотношении 1:1, устанавливают pH 7,0-7,2, добавляя 40%-й раствор NaOH, и стерилизуют при 0,1 МПа в течение 15 мин.

Агар с гидролизованным молоком

В 1 дм³ гидролизованного молока вносят 15 г агара. Среду нагревают до полного расплавления агара, фильтруют ее через ватный фильтр, разливают в колбы или пробирки и стерилизуют при 0,1 МПа в течение 10 мин.

Подсчет выросших колоний молочнокислых бактерий на чашках Петри и пересчет их содержания в 1 г или 1 см³ продукта проводят таким же образом, как и при определении КМАФАнМ.

Задание 1. Провести определение молочнокислых микроорганизмов в ферментированных молочных продуктах.

Задание 2. Провести определение молочнокислых микроорганизмов в заквасках или бактериальных препаратах.

Контрольные вопросы

- Для чего проводят определение молочнокислых микроорганизмов в ферментированных молочных продуктах или заквасках?
- Методика проведения молочнокислых микроорганизмов в ферментированных молочных продуктах или заквасках?
- Какие используют питательные среды для культивирования лактобактерий.

2.9 ОПРЕДЕЛЕНИЕ КОЛИЧЕСТВА БИФИДОБАКТЕРИЙ В КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТАХ

Цель занятия: научиться определять бифидобактерии в кисломолочных продуктах.

Приборы и оборудование: Термостат, стерилизатор, микроскоп, весы, чашки Петри, мерные колбы, пробирки, пипетки, микробиологическая петля, горелка, электроплитка, пипетки, водяная баня, предметное стекло.

Реактивы: Агар, 70% этиловый спирт, раствор бикарбоната натрия, физиологический раствор, среда Блаурука, кукурузно-лактозная – КЛС или гидролизатно-молочная – ГМС. Реактивы для окрашивания по Грамму (красители трифенилметановой группы: генциановый, метиловый фиолетовый или кристаллифиолет, раствор Люголя или йодистый раствор по Граму (водный раствор йодида калия и кристаллического йода в соотношении 2:1), фуксин, этиловый спирт (96°) или ацетон).

Ход работы. Подготовка. Перед вскрытием поверхность упаковки моют, протирают и обрабатывают 70 %-м этиловым спиртом. Вскрытие упаковки производят в асептических условиях. Из упаковки после тщательного перемешивания отбирают в стерильную колбу 10 см³ исследуемого продукта и добавляют 1,0 см³ стерильного раствора бикарбоната натрия с массовой концентрацией 100 г/дм³. Все перемешивается в колбе. К нейтрализованному образцу продукта добавляют физиологический раствор до достижения общего объема пробы 100 см³, после чего смесь опять тщательно перемешивают. Получают разведение продукта 10⁻¹. Пипетку, которой отбирали пробу продукта, промывают до 10 раз полученной смесью до верхнего уровня имеющихся на ней делений. Из полученного первого разведения готовят последующие, используя новую стерильную пипетку для каждого разведения. Для посева используют разведения 10⁻⁵; 10⁻⁶; 10⁻⁷; 10⁻⁸.

Проведение исследования. Готовят два ряда питательных сред, каждый по пять пробирок, содержащих среду Блаурука; кукурузно-лактозную – КЛС или гидролизатно-молочную – ГМС. Перед использованием среду нагревают на кипящей водяной бане для удаления, содержащегося в ней растворенного кислорода. При применении плотных питательных сред их разогревают до полного расплавления агара и затем остужают до температуры 40°C.

Затем вносят посевной материал в среду с последнего разведения, внося в две последние пробирки по 1 см³ разведения 10⁻⁸. Для каждого посева используют новую стерильную пипетку. Пробирки с посевами разведений продукта выдерживают в термостате при температуре 37°C в течение 72 ч, просматривая посевы через 24 и 48 ч. По окончании термостатирования учитывают последние пробирки, в которых выросли колонии, типичные для бифидобактерий: в виде «гвоздиков», «вытянутых веретен», иногда в виде «полос», расположенных вдоль пробирки. В плотных средах колонии бифидобактерий выглядят в виде «дисков» или «гречишных зерен». Выросшие колонии подсчитывают. Подтверждение присутствия колоний бифидобактерий устанавливают под микроскопом. Препараты из колоний окрашивают по

Граму. Бифидобактерии грамположительны и имеют под микроскопом вид тонких, мелкозернистых, слегка изогнутых палочек с раздвоением на концах или без него; располагаются группами, скоплениями в виде китайских иероглифов, могут образовывать короткие цепочки. Содержание живых бифидобактерий в 1 см³ продукта определяют по формуле:

$$X = a \cdot 10^n,$$

где X – количество клеток живых бифидобактерий в 1 см³ продукта;
 a – среднее количество колоний в последнем, засеянном в двух рядах разведении продукта;
 n – показатель последнего разведения продукта, в котором отмечен рост бифидобактерий.

Задание 1. Провести анализ по определению содержания бифидобактерий в кисломолочном продукте.

Задание 2. Найти в окрашенных препаратах бифидобактерии.

Контрольные вопросы

1. Для чего проводят определение количества бифидобактерий в кисломолочных продуктах?
2. Сущность методики определение количества бифидобактерий в кисломолочных продуктах?
3. Как выглядят бифидобактерии в готовых препаратах.

2.10 ГРУППОВОЙ И КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ УЧЕТ МИКРООРГАНИЗМОВ В СЫРОМ МОЛОКЕ

Цель занятия: научиться проводить групповой и количественный учет микроорганизмов в сыром молоке.

Приборы и оборудование: Термостат, стерилизатор, чашки Петри, пробирки, микробиологическая петля, горелка, электроплитка, водяная баня, предметное и покровное стекло.

Реактивы: Агар, гидролизованное молоко, мел, молоко, парафин, раствор Люголя, говяжий жир.

Количественный учет молочнокислых бактерий.

Ход работы. При определении молочнокислых бактерий сеют разведения сырого молока в чашки Петри. Перед тем, как залить чашку агаром с гидролизованным молоком, расплавленным и остуженным заранее до 45-50°C на дно засыпают 0,5 г измельченного мела. Агар застывает, и чашку Петри переворачивают вверх дном и помешают в термостат с температурой 35°C. Через 36-48 часов выдержки, считают количество молочнокислых бактерий по зонам просветления вокруг них, которые появляются за счет образования растворимого лактата кальция.

Количественный учет протеолитических бактерий

Метод определения протеолитических бактерий основан на их способности расщеплять белки под действием протеолитических ферментов.

Ход работы. Чтобы определить количество протеолитических бактерий сеют по 1 см³ разведений молока в заранее стерилизованные чашки Петри. Затем в них наливают расплавленный и остуженный до 45-50°C молочный агар. Агар застывает, и чашку Петри помещают в термостат с температурой 30°C. Через 36-48 часов выдержки, считают количество протеолитических бактерий по зонам просветления вокруг них, образующихся вследствие разложения молочного белка. Наиболее распространенные протеолитические бактерии: псевдомонады, палочки протея, большинство спорообразующих бактерий.

Количественный учет маслянокислых бактерий

Ход работы. Высевают разведения исследуемого продукта в пробирки со стерильным молоком и парафином. Затем пробирки помещают в водяную баню и нагревают до температуры 85°C в течение 10 мин. После этого их остужают до 30°C и ставят в термостат при температуре 30°C на 3 суток. Три признака, по которым можно определить наличие маслянокислых бактерий: 1) образование газа; 2) запах масляной кислоты; 3) присутствие в микроскопическом препарате спорообразующих бактерий, которые имеют форму барабанных палочек и дают положительную реакцию на гранулезу. Для определения гранулезы берут предметное стекло, на него наносят каплю взвеси микроорганизмов и добавляют каплю раствора Люголя, покрывают покровным стеклом. Если в клетках содержится гранулеза, то она приобретает синий цвет. Определение основных групп микроорганизмов, наиболее часто встречающихся в сыром молоке, приведено в таблице 23.

Количественный учет липолитических бактерий

Липолитические микроорганизмы способны разлагать жир, в результате чего появляются различные пороки вкуса и запаха молочных продуктов

Ход работы. В чашку Петри наливают стерильный расплавленный говяжий жир и сразу сливают. Заставший жир остается на дне чашки. В эту же чашку Петри вносят 1 см³ исследуемого разведения молока и заливают расплавленным и остуженным до температуры 45–50°C питательным агаром. При застывании агара чашки Петри с посевами необходимо держать при 20°C в течение 5-6 суток. Подсчитывают количество колоний липолитических микроорганизмов, вокруг которых образовались белые зоны.

Количественный учет дрожжей и плесеней

Ход работы. Разведенное молоко наливают в чашки Петри, добавляют расплавленный и остуженный до 45-50°C сусло-агар. Чашки ставят в термостат и выдерживают при температуре 30°C на 3 суток. Подсчет количества колоний дрожжей и плесеней проводят отдельно.

Задание 1. Провести количественный учет различных групп микроорганизмов в сыром молоке.

Таблица 23

Определение основных групп микроорганизмов в сыром молоке

Определяемый показатель	Метод исследования	Используемая питательная среда	Засеваемое разведение молока	Количество чашек (или пробирок)	Результат исследования
Количество бактерий: молочно-кислых	Чашечный	Агар с гидролизованным молоком и мелом	4	1	
			5	1	
			6	1	
протеолитических	Чашечный	Молочный агар	2	1	
			3	1	
			4	1	
масляно-кислых	Предельных разведений	Стерильное молоко с добавлением парафина	1	2	
			2	2	
			3	2	
			4	2	
липо-литических	Чашечный	Питательный агар с говяжьим жиром	1	1	
			2	1	
			3	1	
Количество дрожжей и плесеней	Чашечный	Сусло-агар или среда Сабуро	0	1	
			1	1	
			2	1	

Контрольные вопросы

1. В чем отличия количественного учета различных групп микроорганизмов в молоке?
2. В чем сущность количественного учета различных групп микроорганизмов в молоке?
3. Какие микроорганизмы можно обнаружить при количественном учете?

2.11 ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРОСТРУКТУРЫ СЫРА (по Г. Тинякову)

Цель занятия: изучить микроструктуру сыра.

Приборы и оборудование: Холодильник, микроскоп, нож, бритва, предметное и покровное стекло

Реактивы: 10% раствор формалина, 50% и 96% спирт, раствор судана III (реактив 32), гематоксилин (реактив 36), глицерин-желатин (реактив 37), 5% раствор азотнокислого серебра, 1% водный раствор пирогалловой кислоты, 5% раствор тиосульфата

Ход работы. Вначале готовят препараты из сыра, для этого из середины сыров вырезают небольшой кубик (около 1 см³) и фиксируют его в 10% растворе формалина 12-24 ч и 2-3 раза промывают водой. Можно обойтись без фиксации, но в этом случае препараты хуже окрашиваются. На

замораживающем микротоме готовят срезы с помощью бритвы сыра толщиной около 15-20 мкм. Их сразу переносят в воду.

Затем срезы сыра последовательно опускают на 2 мин в 50% спирт, на 10-15 мин в раствор судана III (реактив 32) и на 10 мин в ванночку с гематоксилином (реактив 36). После этого срез ополаскивают в дистиллированной, водопроводной и снова в дистиллированной воде, помещают на предметное стекло, заливают каплей расплавленного глицерин-желатина (реактив 37) и закрывают покровным стеклом, слегка прижимая его иглой для равномерного распределения жидкости. В гематоксилине большинство белковых элементов, в частности прослойки между микрозернами, некоторые неорганические вещества окрашиваются в темно-синий цвет.

Для просмотра распределения в сыре солей кальция срезы делают по Коссу из кусочков сыра, зафиксированных в 96%-ном спирте, так как соли кальция в формалине растворяются. Срезы при дневном освещении помещают на 30 мин в 5%-ный раствор азотнокислого серебра и ополаскивают в воде. На 2-3 мин срез опускают в 1%-ный водный раствор пирогалловой кислоты, ополаскивают водой, на 1 мин погружают в 5%-ный раствор тиосульфата (не обязательно), промывают водопроводной водой и задельвают на предметном стекле в расплавленном глицерин-желатине. Препараты остаются бесцветными, только соли кальция окрашиваются в черный цвет.

Приготовленные препараты рассматривают при увеличении микроскопа в 56-80 раз (окуляр 7 или 10, объектив 8). В поле зрения микроскопа должна быть хорошо видна микроструктура зерен и вкрашенные в белковую массу микрозерна. Макрозерна тесно соприкасаются одно с другим, но между ними должны быть видны сывороточные прослойки, окрашенные гематоксилином в синий или фиолетовый цвет. При малом увеличении они имеют вид тонких нитей, а при большом (около 500 раз) четко выявляется их величина (в среднем 11 мкм). Прослойки - это белково-сывороточный материал, в нем почти нет липоидных включений.

Макрозерна состоят из белков, нейтральных жиров и липоидов. Наиболее резко выделяются капли жира при обработке Суданом III, окрашивающим их в ярко-оранжевый цвет. Светло-желтый оттенок имеют многочисленные белково-липоидные микрозерна.

Микроскопические препараты рассматривают, пользуясь окулярным микрометром, вложив его в окуляр, и объективом с линейкой длиной 1 мм, разделенной на 100 частей. Следовательно, величина каждого деления линейки равна 0,01 мм. Положив объективометр на столик микроскопа вместо препарата и подведя деления окулярмикрометра к делениям объективометра, определяют цену каждого деления. При окуляре 7 и объективе 8 одно деление окулярмикрометра равно двум делениям объективометра, поэтому одно деление окулярмикрометра равно 20 мкм. При данном окуляре и объективе устанавливают линейные размеры любой частицы зерна. На препарате измеряют короткие и длинные оси макрозерен. Вычисляют средние величины макрозерен не менее чем из десяти определений,

площади макрозерен, толщину прослоек между макрозернами, микропустотки и т.д.

Задание 1. Провести микроскопическую оценку сыра. Рассчитать величину макрозерен и макрозерен.

Контрольные вопросы

1. С помощью чего определяют микроструктуру сыра?
2. Что можно обнаружить при микроскопировании сыра?
3. Что влияет на количество микро и макрозерен?

2.12 ОПРЕДЕЛЕНИЕ КИСЛОТНОСТИ СЫРА

Определение титруемой кислотности сыра

Цель занятия: Научиться определять кислотность сыра разными методами.

Приборы и оборудование: Колба на 10-100 мл, пипетки, бюретки, термометр, электроплитка, фарфоровая ступка.

Реактивы: Гидроксид натрия (0,1 н раствор), фенолфталеин (1% спиртовой раствор), дистиллированная вода.

Биохимические изменения в сыре приводят к увеличению содержания в нем кислот. При этом кислый характер продукта связан с ионами водорода, которые образуются в результате электролитической диссоциации, содержащихся в сыре кислот и кислых солей. Определение титруемой кислотности служит прежде всего для выявления роста кислотности в результате деятельности молочнокислых бактерий.

Ход работы. Взвешивают 5 г сыра и помещают в фарфоровую ступку и тщательно растергают, постепенно приливая 50 мл дистиллированной воды, нагретой до 35-40°C. Добавляют 3 капли фенолфталеина и титруют 0,1 н раствором гидроксида натрия до появления слабо-розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин. Количество щелочи в (мл), пошедшей на титрование, умножают на 20, получим кислотность (расхождение между двумя определениями не более 4°Т).

Определение активной кислотности (рН) сыра

Приборы и оборудование: pH-метр, электроды, термометр, фарфоровая ступка, колба на 50 мл.

Значение показателя pH является определяющим для развития микроорганизмов, входящих в состав внутренней и поверхностной микрофлоры сыров, производства ферментов этими микроорганизмами, активности различных ферментов, содержащихся в продукте, независимо от того, имеют они микробное происхождение или внесены экзогенным путем.

Ход работы: Прибор прогревают 30 минут. Электроды тщательно промывают дистиллированной водой, её остатки удаляют фильтровальной бумагой. В стаканчик ёмкостью 50 мл наливают 40 мл буферного раствора температурой 20°C и погружают в него электроды. Через 1-2 минуты отсчитывают на шкале показания прибора. Если показания отличаются от значения pH буферного раствора, то проводят корректировку резистором прибора «настройка по буферу». Затем наполняют стаканчик на 2/3 заранее приготовленной пробой сыра и погружают электроды. Через 1-2 минуты считывают показания.

Подготовка пробы сыра состоит в следующем: 20 г натёртого сыра смешивают с 20 мл дистиллированной воды в ступке. Полученную смесь переносят в химический стакан на 50 мл и анализируют. В стакан с вытяжкой погружают электроды и через 2 мин считывают показания pH-метра. Проводят не менее двух параллельных определений, расхождение между которыми не должно превышать 0,03 pH в диапазоне измерений от 3 до 8 pH.

Задание 1. Определить титруемую кислотность сыра.

Задание 2. Определить активную кислотность сыра.

Задание 3. Полученные результаты занести в таблицу 25 и сделать заключение о свежести сыра на основе данных таблицы 24.

Таблица 24

Показатели свежести сыра

Сыр	Значения pH		Буферность зрелых сыров, °Ш
	свежий	зрелый	
Твердый: с высокой температурой 2-го нагревания	5,2-5,3	5,7	240
	5,2-5,3	5,5-5,7	80
Мягкий	4,7-4,9	5,6-5,9	85

Таблица 25

Название сыра	Кислотность		Вывод
	titruemая, Т	pH	

Контрольные вопросы

1. Для чего проводят определения кислотности сыра?
2. Чем отличаются методики определения титруемой кислотности сыра от активной?
3. Какую кислотность имеет созревший сыр?

2.13 ОПРЕДЕЛЕНИЕ СТЕПЕНИ ЗРЕЛОСТИ СЫРА (по М. Шиловичу)

Цель занятия: Научиться определять степень зрелости разных видов сыра (твердого, полутвердого, мягкого).

Приборы и оборудование: Весы, электроплитка, термометр, колба на 50 мл, пипетка на 10 мл, фарфоровая ступка, бумажный фильтр, термометр.

Реактивы: 0,1 н раствора NaOH, 1% спиртовый раствор фенолфталеина, 0,1% раствор тимолфталеина (растворенный в 50% растворе спирта), дистиллированная вода.

Степень зрелости сыра устанавливают по буферным свойствам водной вытяжки из него. Под буферными свойствами понимают способность раствора связывать как кислоту, так и щелочь, удерживая таким образом pH на определенном уровне. У зрелого сыра буферность растворимой части в 2 раза выше, чем у молодого. Разность между количеством 0,1 н раствора щелочи, пошедшей на титрование 10 мл водной вытяжки сыра с индикатором фенолфталеином и 10 мл водной вытяжки с индикатором тимолфталеином, умноженная на 100, показывает степень зрелости сыра в градусах Шиловича ($^{\circ}\text{Ш}$). Степень зрелости (С3) в $^{\circ}\text{Ш}$ вычисляют по формуле:

$$\text{С3} = (\text{Ут}-\text{Уф})100$$

где Ут - количество щелочи, пошедшее на титрование вытяжки с тимолфталеином, см³;

Уф - количество щелочи, пошедшее на титрование вытяжки с фенолфталеином, см³.

Ход работы. 1. Навеску сыра в 5 г тщательно растирают в фарфоровой ступке с 45 мл дистиллированной воды, нагретой до 40-45°C, и после отстаивания фильтруют через бумажный фильтр в колбочку, стараясь не переносить на фильтр жир и осадок;

2. В две чистые колбочки отмеряют пипеткой по 10 мл прозрачного фильтрата;

3. В одной колбочке фильтрат титруют 0,1 н раствором NaOH с 3 каплями 1% спиртового раствора фенолфталеина до слабо-розового окрашивания, не исчезающего при взбалтывании, в другой – с 10-15 каплями 0,1% раствора тимолфталеина (растворенного в 50% растворе спирта) – до синего окрашивания;

4. Определяют степень зрелости сыра в градусах. Для этого разницу между количеством щелочи (мл), израсходованной на титрование фильтрата с индикатором фенолфталеином и тимолфталеином, умножают на 100.

Сыр «Советский» в возрасте от 3 до 4 месяцев считается зрелым с градусом зрелости 230-270 $^{\circ}\text{Ш}$; в возрасте старше 4 мес. - 310-370 $^{\circ}\text{Ш}$.

Сыр «Голландский» зрелый в возрасте 2-2,5 месяцев с градусом зрелости 80-120 $^{\circ}\text{Ш}$, молодой в возрасте 1,5-2 месяца - 40-75 $^{\circ}\text{Ш}$.

Сыр «Латвийский» зрелый в возрасте 2-3 месяцев - 100-140 $^{\circ}\text{Ш}$.

Задание 1. Определять степень зрелости разных видов сыра. Полученные данные занести в таблицу 26. Сделать соответствующие выводы.

Таблица 26

Вид сыра	Степень зрелости, $^{\circ}\text{Ш}$	Вывод

Контрольные вопросы

1. Принцип установления степени зрелости сыра?
2. Для чего проводят определение степени зрелости сыра?
3. Какой имеет градус Шиловича созревший сыр?

2.14 ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ЗАКВАСОК В ПРОИЗВОДСТВЕ ХЛЕБОБУЛОЧНЫХ ИЗДЕЛИЙ

Цель занятия: Научиться приготавливать закваску для хлеба.

Приборы и оборудование: Кухонная посуда, марля, мерный стакан, весы.

Реактивы: Мука (пшеничная, ржаная, цельнозерновая), изюм, вода, сахар.

Ход работы: Готовим закваску, для этого необходимо вырастить заквасочную культуру, которая проводится в несколько этапов:

1-й день. Берем 100 г муки (пшеничная или ржаная, лучше цельнозерновая) и 100 г воды, тщательно размешиваем, но не взбиваем, до получения консистенции густой сметаны. Полученное тесто для закваски помещают в стеклянную банку (чтобы можно было сквозь стекло видеть пузырьки в закваске и определить её готовность). Накрываем полотенцем или марлей и ставим в теплое место без сквозняков (25-30°C). Оставляем на сутки до появления маленьких пузырьков, при этом 2-3 раза перемешиваем.

2-й день. Подкармливаем закваску: добавляем 100 г муки и воду для получения консистенции сметаны. Опять накрываем и ставим в тепло еще на сутки. 2-3 раза перемешиваем. Сразу же после подкормки, закваска начинает бродить, в ней постоянно меняется соотношение бактерий и дрожжей. Сначала она пахнет очень тонко, свежо и самую малость кисло, в ней начинают расти и размножаться молочнокислые бактерии. Через 2-3 часа внутри теста появляются признаки активного брожения, оно растет и всыхает шапкой

3-й день. Закваска должна уже бурлить, пузыриться и расти. Подкармливаем: добавляем 100 г муки и воду для получения консистенции сметаны. Опять накрываем и ставим в тепло еще на сутки. Когда закваска вырастет в два раза – это будет пик ее активности, в этот момент она наиболее сильна. Через еще 12 ч пузыри опадают, и появляется запах прелых яблок. На этом этапе в ней уже достаточно много дрожжей, которые появляются вслед за молочнокислыми бактериями, и ее уже можно использовать для хлебной опары.

Если закваску не трогать и оставить бродить дальше, она опадет, ее запах станет более резким и кислым, а потом приобретет фруктовые или винные нотки.

Если немного еще подождать, то можно заметить, как пузыри внутри закваски становятся все меньше, а сама закваска превращается в однородную массу желтоватого цвета и неприятного запаха погибших дрожжей.

Для выпечки хлеба берут 360 мл готовой закваски, на 500 г муки.

Изюмная закваска

1-й день: Предварительно промытый изюм необходимо измельчить, например, в блендере или можно порезать ножом на мелкие кусочки. Затем размешайте 1/2 стакана муки с 1/2 стакана воды и 1 ч.л. сахара до однородной массы. Добавьте в эту массу измельченный изюм. Выложить всё в банку, накрыть тряпкой и поставить в тёплое место.

2-й день: Подкармливаем закваску смесью 100 мл теплой воды и 100 г муки. Тщательно перемешайте до густоты сметаны, накройте вновь марлей и оставьте в теплом месте на 12 часов. По прошествии этого времени в закваске по всему объему вновь образуются пузырьки.

3-й день: Подкармливаем закваску вдвое большей массой подкормки: 200 мл теплой воды и 200 г муки. Тщательно перемешайте (при перемешивании закваска «опадет» и по консистенции будет похожа на густую сметану). Оставляем смесь вновь на 12 часов. Спустя это время она заметно «поднимется» (примерно вдвое увеличится в объеме), по всему объему будут пузыри.

Задание 1. Приготовить разные виды заквасок: 1 - на обычной муке; 2 - на цельнозерновой; 3 - на изюме. Сделать заключение о продолжительности накопления заквасочных культур в закваске и пика активности. Результаты занести в таблицу 27.

Таблица 27

Вид закваски	Продолжительность приготовления, дней	Консистенция	Запах	Цвет

Контрольные вопросы

1. Для необходима закваска в хлебопекарном производстве?
2. Принцип приготовления закваски?
3. Как определяют пик активности закваски?

2.15 АНАЛИЗ ХЛЕБОПЕКАРНЫХ ДРОЖЖЕЙ. ОРГАНОЛЕПТИЧЕСКАЯ ОЦЕНКА ДРОЖЖЕЙ

Цель занятия: Изучить показатели качества хлебопекарных дрожжей и определить у сухих дрожжей органолептические показатели.

Приборы и оборудование: Кухонная посуда.

Реактивы: Дрожжи хлебопекарные.

В производстве хлебобулочных изделий используют дрожжи прессованные (ГОСТ Р 54731-2011), сущенные (ГОСТ Р 54845-2011)

Качество хлебопекарных дрожжей оценивается по органолептическим и физико-химическим показателям. К органолептическим показателям дрожжей относят цвет, запах, вкус и консистенция. При оценке качества дрожжей по

физико-химическим показателям определяют массовую долю влаги, кислотность, подъемную силу, стойкость.

Требования к качеству прессованных и сухих дрожжей представлены в таблицах 28 и 29

Таблица 28

Органолептические показатели прессованных и сухих дрожжей

Показатель	Прессованные дрожжи	Сухие дрожжи
Цвет	Равномерный, без пятен, светлый, допускается сероватый, кремоватый или желтоватый оттенок	Светло-желтый или серо-коричневый
Консистенция	Плотная масса, легко ломается и не мажется	Форма вермишели, гранул, мелких зерен, кусочков, порошка или крупообразный
Запах	Свойственный прессованным дрожжам	Свойственный сушеным дрожжам, без посторонних запахов: гнилостного, плесени и др.
Вкус		Свойственный сушеным дрожжам

Таблица 29

Физико-химические показатели прессованных и сухих дрожжей

Показатель	Прессованные дрожжи		Сухие дрожжи	
	Сорт «высший»	Сорт «первый»	Сорт «высший»	Сорт «первый»
Важность, %, не более	75		8	10
Подъемная сила, мин, не более	50	60	60	70
Кислотность дрожжей в пересчете на уксусную кислоту в день выработки, мг на 100 г дрожжей, не более	55	90	-	-
Кислотность дрожжей на 30-е сутки хранения при температуре от 0°C до 4°C, мг на 100 г дрожжей, не более	320	-	-	-
Кислотность дрожжей на 12-е сутки хранения, мг на 100 г дрожжей, не более	-	300	-	-
Стойкость, ч, не менее	72	60	-	-

Ход работы: Сухие дрожжи определяют по следующим показателям и принципу:

1. *Определение формы*: Рассмотреть небольшое количество дрожжей. Они могут иметь форму мелких зерен, кусочков или гранул. Допускается содержание в них до 10 % пылевидных частиц.

2. *Определение цвета*. Рассмотреть дрожжи и определить их цвет. Он должен быть светло-желтый или светло-коричневый.

3. *Определение вкуса*. Дрожжи попробовать на вкус. Они должны иметь вкус, свойственный сушеным дрожжам, без постороннего привкуса.

4. *Определение запаха*. Исследуемые дрожжи понюхать. Они должны иметь запах, характерный для дрожжей, без посторонних запахов.

Задание 1. Оценить органолептические показатели дрожжей и полученные данные занести в таблицу 30.

Таблица 30

Органолептические показатели дрожжей

Номер образца дрожжей	Цвет	Консистенция	Запах	Вкус

Контрольные вопросы

1. Назовите преимущества и недостатки прессованных дрожжей?
2. Назовите преимущества и недостатки сухих дрожжей?
3. Какие основные органолептические показатели прессованных и сухих дрожжей?
4. Какие основные физико-химические показатели прессованных и сухих дрожжей?

2.16 УЧЕТ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ДРОЖЖЕВЫХ КЛЕТОК

Цель занятия: Научиться определять физиологическую активность (почкования) и жизнеспособность дрожжевых клеток в составе хлебопекарных дрожжей.

Приборы и оборудование: Микроскоп, пробирки, весы, предметные и покровные стекла, тонкая стеклянная палочка, фильтровальная бумага.

Реактивы: метиленовая синь (1:40), суспензия дрожжей концентрацией около 107 клеток/мл., дистиллированная вода

Методика учета физиологической активности (почкования) дрожжевых клеток методом раздавления капли

Ход работы: Для определения количества мертвых клеток на предметное стекло наносят по 1 капле нефильтрованной дрожжевой суспензии и раствора метиленовой сини. Каплю закрывают покровным стеклом, излишек жидкости собирают листком фильтровальной бумаги и через 2 мин наблюдают

окрашенный препарат с помощью микроскопа. В поле зрения микроскопа считают общее количество дрожжевых клеток, затем только синие, после чего препарат передвигают и подсчет ведут в новом поле зрения. Следовательно, подсчитывают общее количество клеток в трех полях зрения.

После попадания в клеточную цитоплазму под действием ферментов редуктаз краситель (метиленовая синь) восстанавливается живыми дрожжевыми клетками до бесцветных соединений. Мертвые клетки окрашиваются в синий цвет. Эффективность данного метода зависит не только от состояния клеточной мембраны, но и от активности оксидоредуктаз в клетке.

Методика определения количества живых и мертвых дрожжевых клеток в составе хлебопекарных дрожжей методом витального окрашивания метиленом синим

Количество мертвых клеток определяют с помощью красителя метиленовой сини, который проникает в клетку через клеточную мембрану, причем проницаемость у мертвых клеток значительно выше, чем у живых.

Ход работы: Навеску дрожжей 0,1–0,2 г помещают в пробирку, добавляют несколько капель воды и тщательно растирают стеклянной палочкой. Затем, осторожно помешивая, добавляют 5 мл дистиллированной воды. Клеточная суспензия должна быть однородной и не содержать комочеков дрожжей. Для определения количества мертвых клеток на предметное стекло наносят каплю дрожжевой суспензии клеток и каплю раствора метиленовой сини (1:40). Препарат накрывают покровным стеклом. Излишек жидкости убирают фильтровальной бумагой и через 2 мин препарат рассматривают под микроскопом.

Мертвые клетки отличаются от живых более темной окраской. Подсчитывают общее количество клеток и количество мертвых клеток в пяти полях зрения. Затем вычисляют долю мертвых клеток в процентах от общего числа дрожжевых клеток. При оптимальных условиях технологического процесса дрожжевая популяция клеток может содержать 0,5–1% мертвых клеток.

Задание 1. Провести учет физиологической активности (почкования) дрожжевых клеток методом раздавления капли хлебопекарных дрожжей разных производителей в трех повторениях (вариантах). По степени почкования обозначить: 1 - мало почкуются, 2 - слабо, 3 – активно, 0 - не почкуются. Полученные результаты занести в таблицу 31.

Таблица 31

Дрожжи (марка, производитель)	Вариант	Степень почкования
	1	
	2	
	3	

Задание 2. Провести определения жизнеспособности дрожжевых клеток в составе хлебопекарных дрожжей методом витального окрашивания метиленом синим разных производителей в трех повторениях (вариантах). Полученные результаты занести в таблицу 32.

Таблица 32

Дрожжи (марка, производитель)	Вариант	Общее количество клеток	Число живых клеток	Процент	Средняя оценка
	1				
	2				
	3				

Контрольные вопросы

1. Для чего необходим учет физиологической активности и жизнеспособности дрожжевых клеток в составе хлебопекарных дрожжей?
2. Сущность метода «раздавленная капля»?
3. На что указывает число живых клеток в дрожжах?

2.17 ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЗИМАЗНОЙ И МАЛЬТАЗНОЙ АКТИВНОСТИ ДРОЖЖЕЙ

Цель занятия: Научиться определять зимазную и мальтазную активность хлебопекарных дрожжей.

Приборы и оборудование: термостат, газометрическая установка, колбы, весы.

Реактивы: 10% раствор сахара, вода.

Показателями активности ферментов хлебопекарных дрожжей является **зимазная и мальтазная активность**. Методика определения ферментной активности дрожжей основана на учете времени, в течение которого суспензия дрожжей выделит заданное количество диоксида углерода из соответствующего раствора сахара – глюкозы или мальтозы. Количественным критерием активности мальтазы, или зимазного комплекса, служит время в минутах.

Зимазная и мальтазная активность дрожжей (мин) колеблется в широких пределах:

зимазная активность	мальтазная активность	качество дрожжей
---------------------	-----------------------	------------------

30 – 40	50 – 90	хорошее
---------	---------	---------

41 – 70	90 – 100	удовлетворительное
---------	----------	--------------------

71 и более	101 и более	неудовлетворительное
------------	-------------	----------------------

Суммарная сбраживающая способность дрожжей определяется их подъемной силой.

При определении ферментативной активности пользуются газометрической установкой (рис. 19).

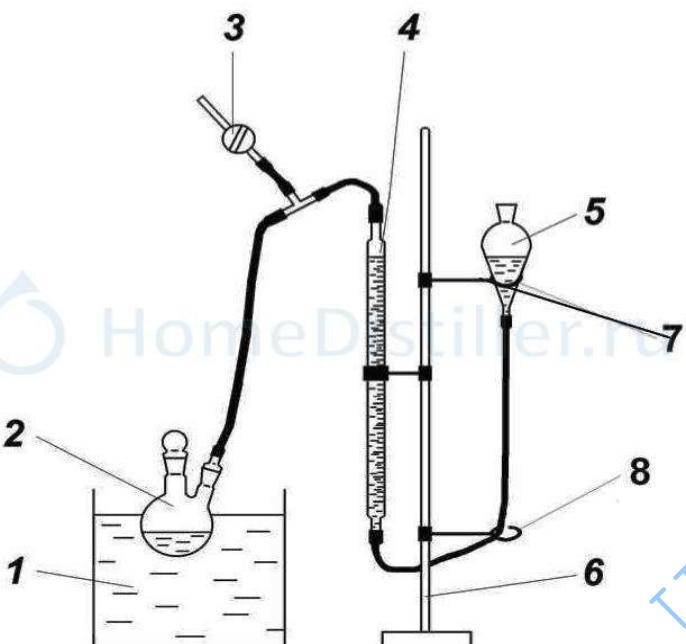


Рисунок 19. Газометрическая установка:

1 - водяной термостат; 2 -двугорлая колба; 3 - одноходовой кран; 4 - бюретка;
5 - уравнительный сосуд; 6 - штатив; 7 - верхнее кольцо, 8 - нижнее кольцо

Ход работы: 0,5 г дрожжей помещают в колбу, заливают 10 мл воды температурой 35°C и размешивают до полного растворения. К полученной суспензии дрожжей добавляют 10 мл 10%-ного раствора сахара (сахарозы, глюкозы или мальтозы) для достижения общего содержания сахара 5% с учетом воды в дрожжах и быстро закрывают колбу пробкой, содержимое перемешивают для прогрева и расширения воздуха в колбе. Помещают колбу в термостат при температуре 35°C (можно в водяную баню). Перемещая бюретку в штативе, устанавливают уровень жидкости на отметку «0». Закрывают выход газа через одноходовой вентиль (можно вполне заменить обычным зажимом). Наблюдают за временем выделения 10 мл углекислоты, т.е. отмечают время, в течение которого из бюретки будет вытеснено 10 мл солевого раствора.

Отдельно проводят измерение малтазной (с использованием мальтозы) и зимазную (глюкозы) активность.

Задание 1. Определить зимазную и малтазную активность хлебопекарных дрожжей.

Контрольные вопросы

1. С какой целью определяют зимазную и малтазную активность хлебопекарных дрожжей?
2. Сущность определения зимазную и малтазную активность хлебопекарных дрожжей?
3. Что показывает зимазную и малтазную активность хлебопекарных дрожжей?

2.18 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДЪЕМНОЙ СИЛЫ ДРОЖЖЕЙ УСКОРЕННЫМ МЕТОДОМ (метод всплывающего шарика)

Цель занятия: Научиться определять подъемную силу хлебопекарных дрожжей.

Приборы и оборудование: Весы, предметные и фарфоровая чашка, термостат, электроплитка, стакан.

Реактивы: 2,5% раствор поваренной соли, мука 2 сорта (85%-ного помола

Ход работы: Берут 0,31 г прессованных дрожжей и переносят их в фарфоровую чашку. Затем приливают 4,8 мл 2,5%-го раствора поваренной соли, нагретого до 35°C, и тщательно перемешивают палочкой.

К полученной дрожжевой суспензии добавляют 7 г муки 2 сорта, замешивают той же палочкой в течение 2 мин тесто и придают ему форму шарика.

Шарик опускают в стакан с водой, нагретой до 35°C, после чего стакан с шариком помещают в термостат с такой же температурой. Фиксируют время в минутах от момента помещения стакана с шариком в термостат до момента всплытия шарика.

Подъемная сила дрожжей характеризуется временем, прошедшим с момента опускания шарика в воду до момента его всплытия. Время подъема шарика (в минутах) умножают на коэффициент пересчета $K = 3,5$, полученный результат характеризует подъемную силу дрожжей.

Чем выше полученное значение, тем хуже работают дрожжи.

Метод всплывающего шарика не учитывает всего выделенного дрожжами газа, особенно на последних стадиях брожения теста, когда его газоудерживающая способность уменьшается. В результате этого создается неверное представление об активности дрожжей в тесте и расстойке.

Для определения бродильной активности дрожжей по стадиям технологического процесса используют методы, позволяющие контролировать процесс брожения по образующемуся углекислому газу.

Задание 1. Определить подъемную силу хлебопекарных дрожжей.

Контрольные вопросы

1. С какой целью определяют подъемную силу хлебопекарных дрожжей?
2. Сущность определения подъемной силы хлебопекарных дрожжей?
3. Что показывает подъемная сила хлебопекарных дрожжей?

2.19 ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСМОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ДРОЖЖЕЙ

Цель занятия: Научиться определять осмочувствительность хлебопекарных дрожжей.

Приборы и оборудование: Весы, предметные и фарфоровая чашка, термостат, электроплитка, стакан.

Реактивы: 3,35% раствор поваренной соли, мука 2 сорта (85%-ного помола)

Оsmочувствительность – это свойство прессованных дрожжей снижать бродильную активность в средах с повышенным осмотическим давлением. Оsmочувствительные хлебопекарные дрожжи медленнее поднимают тесто с повышенным содержанием соли и сахара.

Метод определения осмочувствительности дрожжей основан на сравнительной оценке их подъемной силы при нормальном и повышенном осмотическом давлении, а именно в тесте без соли и в тесте с повышенным содержанием соли. Разница во времени (в мин) характеризует степень осмочувствительности дрожжей.

Ход работы: Отвешивают две навески по 0,31 г прессованных дрожжей и переносят их в две фарфоровые чашки. К первой навеске добавляют 4,8 мл воды, нагретой до 35°C а к второй – 4,8 мл 3,35%-ного раствора поваренной соли, нагретой до 35°C.

К каждому полученному образцу добавляют 7 г муки 2 сорта, замешивают той же палочкой в течение 2 мин тесто и придают ему форму шарика.

Шарики опускают в стаканы с водой, нагретой до 35°C, после чего стаканы с шариками помещают в термостат с такой же температурой. Фиксируют время в минутах от момента помещения стакана с шариком в термостат до момента всплытия шарика

Определяют в обоих случаях подъемную силу дрожжей по времени всплытия шарика. Шарик, замешанный на воде без соли, всплывает быстрее, чем шарик на солевом растворе. Зависимость качества прессованных дрожжей от их осмочувствительности показана в таблице 33.

Таблица 33

Зависимость качества дрожжей от их осмочувствительности

Осмочувствительность, мин	Качество дрожжей
От 1 до 10	Хорошее
От 10 до 20	Удовлетворительное
20, более	Неудовлетворительное

Задание 1. Определить осмочувствительность хлебопекарных дрожжей.

Контрольные вопросы

1. С какой целью определяют осмочувствительность хлебопекарных дрожжей?
2. Сущность определения осмочувствительности хлебопекарных дрожжей?
3. Что показывает осмочувствительность хлебопекарных дрожжей?

2.20 ОПРЕДЕЛЕНИЕ КИСЛОТНОСТИ ДРОЖЖЕЙ

Цель занятия: Научиться определять кислотность хлебопекарных дрожжей.

Приборы и оборудование: Весы, предметные и фарфоровая чашка, термостат, электроплитка, стакан.

Реактивы: 1 н раствор NaOH, 1%-ного раствора фенолфталеина, дистиллированная вода

Длительность хранения дрожжей без изменения их качественных показателей зависит от величины кислотности, которая определяется степенью промывки дрожжей. Кислотность измеряется количеством уксусной кислоты (в миллиграммах), пошедшем на титрование 100 г дрожжей.

На технических весах отвешивают 10 г прессованных дрожжей. Навеску переносят в сухую фарфоровую чашку, добавляют 50 мл дистиллированной воды и тщательно перемешивают содержимое до получения однородной массы. Полученную дрожжевую суспензию титруют 0,1 н раствором NaOH в присутствии 5–10 капель 1%-ного раствора фенолфталеина до появления розового окрашивания, не исчезающего в течение 30 с.

Кислотность 100 г дрожжей K (в пересчете на уксусную кислоту) вычисляют по формуле:

$$K = \frac{V \cdot 6 \cdot 100 \cdot f}{10},$$

где V – количество 0,1 н раствора NaOH, пошедшее на титрование, мл;

6 – количество уксусной кислоты, соответствующее 1 мл 0,1 н раствора NaOH, мг;

f – поправочный коэффициент 0,1 н раствора NaOH;

10 – переводной коэффициент.

Задание 1. Определить кислотность хлебопекарных дрожжей.

Контрольные вопросы

1. С какой целью определяют кислотность хлебопекарных дрожжей?
2. Сущность определения кислотности хлебопекарных дрожжей?
3. Что показывает кислотность хлебопекарных дрожжей?

2.21 ИЗУЧЕНИЕ ПРОИЗВОДСТВА БЕЗДРОЖЖЕВОГО И ДРОЖЖЕВОГО ХЛЕБА

Цель занятия: Научиться приготавливать бездрожжевой и дрожжевой хлеб.

Приборы и оборудование: Кухонная посуда, печь, мерный стакан, весы.

Реактивы: Ингредиенты рецептуры хлеба

Ход работы: Выработка бездрожжевого хлеба. В кастрюле смешать 9 столовых ложек закваски с 250 мл теплой жидкости. Затем добавить 2 ч.л. сахара и 1 ч.л. соли, хорошо размешать, добавить 2 ст.л. растительного масла. Размешать, и аккуратно, понемногу ввести теплую просеянную муку с содой - 3 стакана (250 мл). Хорошо вымесить, тесто очень липкое, но так и должно быть.

Тесто для бездрожжевого хлеба должно получиться плотное, но при этом довольно мягкое и эластичное. Если же тесто очень сильно липнет к рукам и посуде, то значит оно слишком влажное, и стоит добавить еще немного муки.

После того, как замесили тесто, формируем из него «колобок», присыпаем небольшим количеством муки, накрываем слегка влажным полотенцем (можно и сухим) и отставляем в теплом месте на 3-5 часов подниматься. После того, как тесто поднимется, положить его в формы и в теплое еще на 40-60 мин и дать ему подойти.

Выставляют духовку на 200°C и отправляю в нее тесто. Первые 20 минут пекут именно при такой температуре, потом уменьшают до 180°C и продолжают печь еще 40 минут. В общей сложности хлеб печется 60 минут.

Выработка дрожжевого хлеба. 2 ч.л. сухих дрожжей и 0,5 ст.л. сахара внести в 250 мл теплой воды оставить на 15 мин, после этого перемешать.

Добавить 2 ст.л. молока, 0,5 ч.л. соли, 2 ст.л. подсолнечного масла, добавляем 0,4 кг пшеничной муки.

Все этого перемешивается с 250 мл водой (которое стояло 15 мин), делаем колобок и оставляет на 1,5-2 ч в теплое место.

Затем процесс аналогичен, как и при выработке бездрожжевого хлеба.

Таблица 34

Рецептура хлеба

Ингредиенты	Единица измерения	Хлеб	
		Дрожжевой	Бездрожжевой
Мука	г	400	400
Соль	чайная ложка	1	1
Сахар	чайная ложка	2	2
Сода	чайная ложка	0,5	0,5
Масло растительное	столовая ложка	2	2
Молоко	столовая ложка	2	2
Дрожжи (сухие)	чайная ложка	2	-
Закваска	столовая ложка	-	10

Задание 1. Произвести выработку бездрожжевого хлеба в соответствии с рецептурой таблицы 34

Задание 2. Произвести выработку дрожжевого хлеба в соответствии с рецептурой таблицы 34

Задание 3. Сравнить между собой полученный дрожжевой и бездрожжевой хлеб.

Контрольные вопросы

1. Особенность производства бездрожжевого хлеба?
2. Различие между производством бездрожжевого и дрожжевого хлеба?
3. Роль микроорганизмов в производстве хлеба?

2.22 ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ХЛЕБА

Цель занятия: Научиться оценивать качество хлеба по органолептическим и физико-химическим показателям.

Приборы и оборудование: Кухонная посуда, печь, мерный стакан, колбы, сушильный шкаф, бюксы, эксикатор, весы, цилиндрический нож с острыми краями (ножом Журавлева).

Реактивы: 1 н раствор NaOH, 1% раствор фенолфталеина, дистиллированная вода

Качество хлеба оценивают по органолептическим и физико-химическим показателям.

Органолептические показатели

Органолептические свойства формового хлеба должны отвечать следующим требованиям:

- 1) поверхность гладкая; без крупных трещин и дефектов;
- 2) окраска равномерная, верхняя и боковые корки должны иметь блеск, не подгоревшие и не отслаивающиеся;
- 3) мякиш пропеченный с равномерной пористостью, не липкий и не влажный, без «закала» (беспористой плотной полоски мякиша вдоль нижней корки, возникающей при выпечке хлеба в недостаточно прогретой печи) и «непромесов» (комочеков муки или кусочков старого хлеба в толще мякиша);
- 4) консистенция эластичная, быстро восстанавливающая форму;
- 5) вкус приятный, соответствующий виду хлеба, без постороннего привкуса;
- 6) не должно быть хруста на зубах;
- 7) отсутствие признаков плесневения, «картофельной болезни», примесей и поражения «чудесной палочкой».

Задание 1. Оценить хлеб по органолептическим показателям. Полученные данные занести в таблицу 35.

Таблица 35

Вид хлеба	Поверхность	Окраска	Мякиш	Консистенция	Вкус

Определение пористости хлеба (отношение объема пор к объему мякиша в %)

Ход работы: Вырезать пробу мякиша хлеба цилиндрическим ножом с острыми краями (ножом Журавлева), который позволяет получить кусочки

хлеба стандартного объема ($V=27 \text{ см}^3$). Взвесить пробу хлеба с точностью до 0,1 грамма (M). Определить плотность хлеба в зависимости от сорта (табл. 37).

Пористость хлеба рассчитывают по формуле:

$$X = (V - M/P) \cdot 100/V, \%,$$

где X – пористость, %; M – масса пробы хлебного мякиша, г; P – плотность массы данного сорта хлеба без пор, $\text{г}/\text{см}^2$; V – объем пробы мякиша вместе с порами (27 см^3).

Физико-химические показатели

Таблица 36

Нормы физико-химических показателей хлеба

Вид хлеба	Физико-химические показатели		
	Влажность, %	Пористость, %	Кислотность, град
Ржаной	≤ 51	≥ 45	≤ 12
Пшеничный	≤ 47	≥ 50	≤ 3
Смешанный	≤ 50	≥ 47	$\leq 9-11$

Таблица 37

Плотность беспористой массы мякиша хлеба

Сорт хлеба	Плотность, $\text{г}/\text{см}^2$
Ржаной и смешанный (из смеси ржаной и пшеничной муки)	1,21
Ржаной заварной	1,27
Пшеничный 2-го сорта	1,26
Пшеничный 1-го сорта («нарезной»)	1,31

Задание 2. Дать оценку пористости хлеба, сравнивая с нормами (табл. 36). Полученные данные занести в таблицу 38.

Определение кислотности хлеба.

Ход работы: Кислотность хлеба равна объему 1 н раствора NaOH, пошедшему на нейтрализацию кислот (уксусной и молочной) в 100 г хлеба.

Взвесить 25 г хлеба, измельчить, поместить в колбу объемом 250 мл. Прилить 50 мл дистиллированной воды и растереть мякиш стеклянной палочкой до однородной массы. Добавить к смеси 150 мл дистиллированной воды (общий объем воды 200 мл), колбу закрыть пробкой, энергично встряхивать 2-3 минуты и оставить отстаиваться на 10 минут. Полученную смесь отфильтровать через марлю. Отобрать 50 мл фильтрата в колбу на 100 мл, добавить 2-3 капли 1% фенолфталеина и титровать 0,1 н раствором NaOH до появления стойкого светло-розового окрашивания. Вычислить кислотность хлеба в градусах по формуле:

$$X = V \times 4 \times 4 / 10 = 1,6 \cdot V,$$

где X – кислотность; V – объем 0,1 н раствора щелочи, пошедший на титрование кислот в исследуемом образце хлеба, мл.

Задание 3. Определить кислотность хлеба и дать оценку кислотности хлеба, сравнивая с нормами (табл. 36). Полученные данные занести в таблицу 38.

Определение влажности хлеба

Взвесить металлический бюкс с крышкой, поместить в него 5 г измельченного мякиша хлеба (M1), поставить открытым в сушильный шкаф (130°C) на 40 минут. Бюкс закрыть крышкой, вынуть из шкафа, охладить в эксикаторе, после чего взвесить в бюксе с крышкой (M2). Рассчитать влажность хлеба по разности веса до (M1) и после (M2) высушивания: $X = / 5, \%$, где X – влажность, %, M1 – вес бюкса с крышкой и навеской хлеба до высушивания, г, M2 - вес бюкса с крышкой и навеской хлеба после высушивания, г.

Задание 4. Определить влажность хлеба и дать оценку хлеба, сравнивая с нормами (табл. 36). Полученные данные занести в таблицу 38.

Таблица 38

Оценка качества хлеба по физико-химическим показателям

Вид хлеба	Влажность, %	Пористость, %	Кислотность, град
Ржаной			
Пшеничный			
Смешанный			

Контрольные вопросы

1. Назовите основные показатели качества хлеба?
2. Что относится к физико-химических показателей хлеба?
3. На что влияет превышение или понижение физико-химических показателей хлеба?
4. Отличаются ли физико-химических показателей пшеничного и ржаного хлеба?

2.23 ИЗУЧЕНИЕ ПРОИЗВОДСТВА КВАСА ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ДРОЖЖЕЙ И МОЛОЧНОКИСЛЫХ ЗАКВАСОК

Цель занятия: Научиться вырабатывать квас при использовании дрожжей и молочнокислых заквасок.

Приборы и оборудование: Кухонная посуда, электроплитка, мерный стакан, весы.

Реактивы: Ингредиенты кваса в соответствии с рецептурой.

Ход работы: 1. Берут 180 г квасной хлебной основы (крошка сухарей ржаных и пшеничных, солод ржаной ферментированный) и заливают 3 л кипятка.

2. Настаивают 1-1,5 ч.
3. Добавляют 200 г сахара, размешивают.
4. Остужают до температуры 35°C.
5. Добавляют сухую закваску (предварительно растворяют в небольшом количестве квасного сусла, затем переливают в основную посуду)
6. Накрывают марлей или полотенцем.
7. Оставляют в теплом месте на 18-24 ч для брожения.
8. После брожения процеживают через марлю
9. Добавляют сахар из расчета 9 г на 1 л кваса
10. Разливают в бутылки, укупорка.
11. Оставляют при комнатной температуре до 1 ч
12. Помещают в холодильник для охлаждения на 2-3 ч.
13. Хранят в холодильнике.

Задание 1. Произвести выработку 3 видов кваса:

1. На основе сухой квасной хлебной основы (крошка сухарей ржаных и пшеничных, солод ржаной ферментированный) в соответствии с рецептурой
2. На основе сухой квасной хлебной основы (крошка сухарей ржаных и пшеничных, солод ржаной ферментированный) с меньшим содержанием дрожжей на 40% от нормы
3. На основе жидкого квасного концентрата (ржаной и ячменный солод).

Контрольные вопросы

1. Особенность производства кваса?
2. Роль микроорганизмов в производстве кваса?
3. Значение солода в производстве кваса?

2.24 ОЦЕНКА КАЧЕСТВА КВАСА

Цель занятия: Научиться оценивать качество кваса по органолептическим и физико-химическим показателям.

Приборы и оборудование: Кухонная посуда, электроплитка, мерный стакан, колбы, рефрактометр, спиртометр или виномер, весы.

Реактивы: 1 н раствор NaOH, 1% раствор фенолфталеина, дистиллированная вода

По органолептическим показателям квас должен соответствовать требованиям, указанным в таблице 39.

По физико-химическим показателям квас должен соответствовать требованиям, указанным в таблице 40.

Таблица 39

Органолептические показатели кваса

Наимено- вание показате- ля	Характеристика квасов		
	нефильтрованных		фильтрованных
	неосветленных	осветленных	
Внешний вид	Непрозрачная пенящаяся жидкость. Допускается осадок, обусловленный особенностями используемого сырья, без посторонних включений, свойственных продукту	Прозрачная пенящаяся жидкость с опалесценцией, обусловленной особенностями используемого сырья, посторонних включений, свойственных продукту	Прозрачная пенящаяся жидкость без осадка и посторонних включений, не свойственных продукту. Допускается опалесценция, обусловленная особенностями используемого сырья
Цвет	Обусловленный цветом используемого сырья		
Вкус и аромат	Освежающий вкус и аромат сбраженного напитка, соответствующий вкусу и аромату используемого сырья. Допускаются дрожжевые привкус и аромат		

Таблица 40

Физико-химические показатели кваса

Наименование показателя	Значение показателя
Массовая доля сухих веществ, %, не менее	3,5
Кислотность, к. ед.	От 1,5 до 7,0
Объемная доля спирта, %, не более	1,2
Массовая доля двуокиси углерода, %, не менее	0,30

Определение сухих веществ рефрактометрическим методом

Метод основан на определении массовой доли сухих веществ по шкале рефрактометра при температуре 20°C после проведения в пробе продукции полной инверсии.

Ход работы: На нижнюю призму рефрактометра наносят стеклянной палочкой 2-3 капли кваса. Верхнюю часть призмы опускают, плотно прикладывают к нижней неподвижной части призмы и проводят отсчет по шкале рефрактометра.

При отсчете показаний прибора отмечают температуру, при которой проводят испытания.

Проводят не менее 2 параллельных определений.

Определение кислотности

Метод основан на титровании раствором щелочи всех веществ кислого характера после полного освобождения кваса от CO_2 . Кислотность выражают в кубических сантиметрах раствора гидроокиси натрия концентрацией 1 моль/, израсходованного на титрование 100 см³ кваса.

Ход работы: В 3 конические колбы из термостойкого стекла вместимостью 250 см³ с помощью мерного цилиндра наливают по 100 см³ дистиллированной воды и нагревают ее до кипения. От средней пробы кваса, частично освобожденного от CO_2 отбирают пипеткой по 10 см³ в каждую из колб с кипящей водой. Для темноокрашенных квасов отбирают по 5 см³ кваса в колбы с 250 см³ кипящей дистиллированной воды. Закрыв колбу воронкой, кипятят ее содержимое в течение 5 мин.

По окончании кипячения содержимое колб быстро охлаждают в проточной воде до комнатной температуры.

В охлажденный раствор прибавляют 4-5 капель фенолфталеина и титруют 0,1 н раствором NaOH до появления розовой окраски, не исчезающей в течение 30 с. Одну из колб с напитком, разведенным водой, используют при титровании для сравнения окраски титруемого раствора с первоначальной. Поводят не двух параллельных определений.

Кислотность (X) в кубических сантиметрах раствора NaOH, израсходованного на титрование 100 см³ кваса, вычисляют по формуле:

$$X = V \times K \times 10 / A,$$

где V - объем раствора NaOH, израсходованный на титрование, см³;

K - поправочный коэффициент раствора NaOH;

A - объем кваса, взятый на определение, см³.

Задание 1. Провести органолептическую оценку кваса. Полученные результаты занести в таблицу 41.

Таблица 41

Вид кваса	Внешний вид	Цвет	Вкус и аромат

Задание 2. Провести оценку кваса по физико-химическим показателям. Полученные результаты занести в таблицу 42.

Таблица 42

Вид кваса	Массовая доля сухих веществ, %	Кислотность, к. ед.	Объемная доля спирта, %,

Контрольные вопросы

- Назовите основные показатели качества кваса?
- Что относится к физико-химических показателей кваса?
- На что влияет превышение или понижение физико-химических показателей кваса?

ЛИТЕРАТУРА

1. Белов, А.Н. Молокосвертывающие препараты / А.Н. Белов, В.В. Ельчанинов, А.Д. Коваль // Молочная промышленность. – 2003. - №2. - С. 45-47.
2. Белооков, А.А. Основы биотехнологии переработки сельскохозяйственной продукции: Учебное пособие / А.А. Белооков – Троицк: УГАВМ, 2006. - 112 с.
3. Еремина, И.А. Микробиология продуктов растительного происхождения. Учебное пособие / И.А. Еремина, Н.И. Лузина, О.В. Кригер. – Кемерово: Изд-во Кемеровского ТИПП, 2003. – 87 с.
4. Еремина, И.А. Микробиология молока и молочных продуктов: учебное пособие / И.А. Еремина. – Кемерово: Изд-во Кемеровского ТИПП, 2004. – 80 с.
5. Еремина, И.А. Лабораторный практикум по микробиологии: Учебное пособие / И.А. Еремина, О.В. Кригер. – Кемерово: Изд-во Кемеровского ТИПП, 2005. – 112 с.
6. Клещев, Н.В. Общая промышленная технология. Технология бродильных производств: Учебное пособие / Н.В. Клещев, М.П. Бенько. - Харьков: НТУ «ХПИ», 2007. – 200 с.
7. Коник, Н.В. Товароведение продовольственных товаров: Учебное пособие / Н.В. Коник. - М.:ИНФА - М, 2009. – 416 с.
8. Красникова, Л.В. Микробиология хлебопекарного, кондитерского и макаронного производств: Учебное пособие/Л.В. Красникова, И.Е. Кострова. - СПб.: ГУНиПТ, 2001. – 81 с.
9. Красникова, Л.В. Микробиология молока и молочных продуктов: Лабораторный практикум: Учебно-методическое пособие / Л.В. Красникова, П.И. Гунькова, В.В. Маркелова. - СПб.: НИУ ИТМО; ИХиБТ, 2013. – 25 с.
10. Микробиологическая порча пищевых продуктов / Под ред. К. де В. Блекберна: Пер. с англ. – СПб.: Профессия, 2008. – 784 с.
11. Мирошникова, Е.П. Микробиология молока и молочных продуктов: Учебное пособие / Е.П. Мирошников. – Оренбург: ГОУ ОГУ, 2005. – 135 с.
12. Музафаров, Е.Н. Очерки по истории биотехнологии: Учебное пособие / Е.Н. Музафаров, Б.С. Абдрасилов, В.А. Алферов. - Тула: Изд-во ТулГУ, 2013. – 359 с
13. Оганесянц, Л.А., Технология безалкогольных напитков / Л.А. Оганесянц, А.Л. Панасюк. – СПб.: ГИОРД, 2012. – 200 с
14. Рожнов, Е.Д. Оценка качества прессованных хлебопекарных дрожжей: Методические рекомендации / Е.Д. Рожнов. – Бийск: Изд-во Алтайского ГТУ, 2016.- 23 с.
15. Степаненко, П.П. Микробиология молока и продуктов из молока: Учебник / П.П. Степаненко. – 3-е изд., испр. – М.: Лира, 2003. – 415 с.
16. Степаненко, П.П. Руководство к лабораторным занятиям по микробиологии молока и молочных продуктов / П.П. Степаненко. – М.: Лира, 2005. – 652 с.
17. Цыганова, Т.Б. Биотехнологические основы производства хлеба: Учебно-практическое пособие / Т.Б. Цыганова, Г.Д. Касаткина, И.И. Люшинская, Л.С. Энкина. – М., МГУТУ, 2004. – 76 с.
18. Шайдуллин, Р.Р. Лабораторный практикум по технологии и технохимическому контролю молока и молочных продуктов: Учебное пособие / Р.Р. Шайдуллин, А.Б. Москвичева, Г.С. Шарафутдинов. – Казань: Изд-во Казанского ГАУ, 2016. – 240 с.