

**Богдан ГОЛУБ,
Світлана ДАНИЛЕНКО**

ДИНАМІКА БІФІДОФЛОРИ В СИНБІОТИЧНИХ МОЛОЧНИХ НАПОЯХ ПРИ ЗБЕРІГАННІ

Розглянуто особливості динаміки біфідофлори у нових ферментованих молочних напоях при зберіганні. Наведено результати оцінювання динаміки кількісного складу біфідофлори та послаблення активності біфідобактерій під час зберігання.

Харчова цінність синбіотичних напоїв зумовлюється вмістом достатньої кількості живих пробіотичних мікроорганізмів і рекомендованих доз синбіотичних компонентів. Характерною відмінністю еубіотичних молочних ферментованих продуктів є відсутність етапу припинення життєдіяльності мікроорганізмів після завершення технологічного процесу. Адже мікроорганізми не повинні перебувати в стадії відмирання, оскільки проходження через кишково-шлунковий тракт

© Богдан Голуб, Світлана Даниленко, 2011

людини і колонізація кишечника потребує активізації ферментного апарату та захисних сил клітин для активної протидії несприятливим чинникам і конкуруючій мікрофлорі. Для збереження прийнятних органолептичних властивостей харчових продуктів під час товароруху необхідно стримувати активність молочнокислих бактерій, щоб уникнути прискорення молочнокислого бродіння, накопичення надмірної кількості молочної кислоти, прискорення синерезису молочного згустка, появи дефектів смаку та запаху.

Гальмування життєдіяльності мікроорганізмів для продовження терміну зберігання можливе лише шляхом зниження температури, рекомендовані межі якої для ферментованих молочних продуктів становлять $2 \div 6$ °С. Переважна кількість пробіотичних мікроорганізмів мають вищі температурні межі росту – молочнокислі термофільні та мезофільні еубактерії родів *Lactobacillus* – $5\text{--}53$ °С, *Streptococcus* – $20\text{--}52$ °С, *Lactococcus* – $10\text{--}45$ °С, *Enterococcus* – $10\text{--}45$ °С, *Bifidobacterium* – $20\text{--}46$ °С. При пониженні температури відбувається уповільнення розвитку мікроорганізмів, зменшується їх опірність впливу негативних чинників зовнішнього середовища [1; 2].

Ферментовані молочні напої характеризуються низьким значенням рН внаслідок молочнокислого бродіння. Так, рН дослідних зразків на момент закінчення ферментації становило $4.5\text{--}4.9$ із певними коливаннями в цих межах [3]. Установлено, що протягом першого тижня зберігання напоїв, рН поступово знижується до $4.3\text{--}4.4$ в результаті затухаючого бродіння. Надалі, внаслідок утворення продуктів протеолізу рН поступово підвищується, проте не виходить за вказані межі. Молочнокислі бактерії різних родів відрізняються за стійкістю до дії кислого середовища. Еубактерії родів *Lactobacillus* зазвичай не розвиваються поза межами рН $5.5\text{--}6.9$, *Streptococcus* – $4.0\text{--}7.1$, *Lactococcus* – $4.5\text{--}7.0$, *Enterococcus* – $5.0\text{--}7.5$, *Bifidobacterium* – $4.5\text{--}8.5$ (за виключенням *B. thermacidophilum* – 4.0) [1; 2]. При цьому розвиток в умовах пониженого рН призводитиме до ураження клітин, оскільки зумовлює зміщення метаболізму в бік підтримання стабільного внутрішнього значення рН і уповільнення синтетичних процесів у клітині. Це може вплинути на пробіотичну цінність ферментованого продукту, тому що зниження життєздатності пробіотичних мікроорганізмів зменшує його харчову цінність.

Серед пробіотичних харчових продуктів найбільша частка припадає на молочні напої, зокрема ферментовані. Закваски для їх виробництва здебільшого містять бактерії родів *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*. А важливі пробіотичні мікроорганізми біфідобактерії містяться переважно як додатковий компонент. Це зумовлюється гіршою здатністю біфідобактерій ферментувати молоко (через низьку протеолітичну активність) і особливостями кислотоутворення (значної кількості оцтової кислоти). Біфідобактерії також характеризуються повільнішим, ніж інші молочнокислі бактерії, ростом у кислому сере-

довищі. Це створює небезпеку погіршення харчової цінності ферментованих ними продуктів протягом зберігання через відмирання клітин і зниження гарантованого вмісту колонієутворювальних одиниць (КУО) біфідобактерій на момент закінчення терміну зберігання. Відома також здатність окремих штамів *B. lactis* і *B. animalis* існувати певний час за умов досить високої кислотності (рН 3) протягом 3–5 год, що відіграє позитивну роль у збереженні їхньої життєздатності при проходженні через кишково-шлунковий тракт (рН 3–4). Проте термін зберігання ферментованих молочних напоїв значно довший – 72–168 год.

Витривалість і життєздатність пробіотичних культур у молочних продуктах зумовлено такими чинниками:

- видовий склад закваски та тип (концентрована, сублімована тощо);
- хімічний склад молока, наявність інгібіторів росту;
- вміст і склад сухого знежиреного молочного залишку (СНМЗ);
- кількість інокуляту та час ферментації;
- значення рН після завершення ферментації;
- біодоступність речовин, наявність речовин-промоутерів, концентрація і склад вуглеводів (особливо при додаванні сторонніх цукрів, пребіотиків);
- окисно-відновний потенціал молока та концентрація кисню;
- рекомендована температура під час товароруху.

Результати досліджень закордонних авторів показують можливість лише незначного відмирання біфідобактерій протягом холодильного зберігання ферментованих молочних напоїв. Використання синбіотичних ферментованих молочних напоїв як джерела пробіотиків для організму людини має ще й такі переваги, як стимулювання життєздатності еубактерій під час зберігання за рахунок пребіотичних чинників [4; 5].

Мета роботи – дослідження динаміки чисельності КУО біфідобактерій протягом зберігання ферментованих молочних синбіотичних напоїв, для яких основними заквашувальними культурами використано монокультури *Bifidobacterium animalis* ssp. *lactis* (BB-12) виробництва *Chr. Hansen* (Данія) та *Bifidobacterium longum* VKPM-1514 (каталоговий номер 4201) виробництва Технологічного інституту молока та м'яса Української академії аграрних наук (ТІММ УААН). Обидві культури рекомендовані для виробництва молочних продуктів.

При дослідженні застосовано закваски на основі зазначених монокультур (відповідно зразок № 1 і № 2) та їхньої суміші у співвідношенні 1 : 1 (зразок № 3).

Культивування бактерій проведено за методичними вказівками "Визначення кількості біфідобактерій у кисломолочних продуктах" і згідно чинним стандартам [6–8]. Інокулят у кількості 5 % вносився у поживне середовище. Після нарощування біфідобактерій у рідкому гідролізатно-молочному середовищі та пропіоновокислих бактерій у

рідкому лактатному середовищі визначено приріст чисельності методом граничних десятикратних розведень і наступного висіву 1 см³ розведень 10⁵, 10⁶, 10⁷ і 10⁸ на відповідні тверді середовища. Після інкубації (72 год) визначено загальну чисельність бактерій у досліджуваних зразках за формулою:

$$N = \frac{C}{v(n_1 + 0.1n_2)} d,$$

де N – загальна кількість колонієутворювальних одиниць мікроорганізмів;
 C – сума кількості колоній у врахованих пробірках;
 v – об'єм інокуляту, внесеного в пробірки під час посіву;
 n_1 – кількість пробірок першого з розведень, врахованого при підрахунку;
 n_2 – кількість пробірок другого з розведень, врахованого при підрахунку;
 d – значення першого врахованого розведення при підрахунку колоній.

Аналітична повторюваність досліджу трикратна.

Аналіз росту бактерій під час зберігання нових ферментованих синбіотичних молочних напоїв проведено аналогічно, проте посіви на тверді середовища здійснювалися не після 16-годинного нарощування на рідких середовищах, а після утворення молочного згустка та кожні три доби протягом зберігання за температури 4±1 °С. Тривалість зберігання визначено за кількістю КУО біфідобактерій, яка не повинна бути нижчою за встановлену чинною нормативною документацією – 10⁶ КУО/см³. Рецептuru кислomолочного напою складено за рецептурою кисляку 3.2-процентної жирності – в 100 г продукту міститься 79 % молока 3.2-процентної жирності, 6 % вершків 30-процентної жирності, 10 % закваски біфідобактерій [9]. Використано молоко та вершки виробництва ВАТ "Галактон", які піддавалися попередній стерилізації.

Результати дослідження динаміки КУО у ферментованих синбіотичних молочних напоях наведено у таблиці.

Таблиця

Динаміка кількості біфідобактерій у ферментованих синбіотичних молочних напоях протягом зберігання, х 10⁶ КУО/см³

Номер зразка	Термін зберігання готового продукту, діб								
	0 (після завершення ферментації)	3	6	9	12	15	18	21	24
1	100	120	120	150	200	50	50	30	13
2	400	400	480	470	200	60	55	50	40
3	400	200	350	450	500	80	70	75	90

Результати експерименту свідчать про збереження високої життєздатності монокультур біфідобактерій протягом 12 діб. Відзначено зменшення темпу приросту після шести діб зберігання. Натомість

кількість КУО бікультуральної закваски показує триваліше й рівномірне зростання з уповільненням темпів після 12 діб зберігання, що може пояснюватися сприятливим взаємним впливом двох штамів.

Попередні дослідження амінокислотного складу та органолептичних досліджень довели вищу протеолітичну та гліколітичну активність штаму *Bifidobacterium longum* VKPM-1514 вітчизняної селекції, ніж у найбільш комерційно доступного штаму *Bifidobacterium animalis ssp. lactis* (BB-12) закордонної селекції [10]. Це дає змогу припустити, що зростання КУО біфідобактерій у напоях, ферментованих бікультуральною закваскою в першій половині терміну зберігання, може зумовлюватися залишковою активністю штаму *Bifidobacterium longum* VKPM-1514, а в другій – завдяки менш активним бактеріям штаму *Bifidobacterium animalis ssp. lactis* (BB-12) за рахунок продуктів протеолізу молочних білків. Це припущення підтверджується динамікою КУО в напоях на основі монокультуральних заквасок. Штам *Bifidobacterium longum* VKPM-1514 характеризується найвищою динамікою зростання протягом перших шести діб із подальшим різким уповільненням через накопичення продуктів метаболізму та вичерпання поживних речовин. КУО біфідобактерій у напоях на основі штаму *Bifidobacterium animalis ssp. lactis* (BB-12) має найслабшу динаміку серед зразків. Зростання практично не відбувається, а уповільнення динаміки є найстрімкішим. Подальше зберігання не проводилося через погіршення органолептичних властивостей напоїв.

Проведене дослідження показало доцільність ферментування синбіотичних молочно-цикорних напоїв бікультуральними заквасками зі штамми з різною біохімічною активністю, а також можливість продовження терміну зберігання готової продукції без використання додаткової обробки за умови дотримання відповідних санітарних норм.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. *The Prokaryotes. A Handbook on the Biology of Bacteria. Vol. 3 : Archaea. Bacteria: Firmicutes, Actinomycetes* / ed. Martin Dworkin et al. — Singapore : Springer Science+Business Media, 2006. — 1145 p.
2. *The Prokaryotes. A Handbook on the Biology of Bacteria. Vol. 4: Bacteria: Firmicutes, Cyanobacteria* / ed. Martin Dworkin et al. — Singapore : Springer Science+Business Media, 2006. — 1143 p.
3. Голуб Б. Динаміка фізико-хімічних показників синбіотичних ферментованих молочних напоїв при зберіганні / Б. Голуб, С. Даниленко, Г. Рудавська // Товари і ринки. — 2011. — № 1. — С. 121—127.
4. Lourens-Hattingh A. Yogurt as probiotic carrier food / A. Lourens-Hattingh, B. C. Viljoen // *International Dairy Journal*. — 2001. — N 11. — P. 1—17.
5. Shah N. P. Improving viability of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. in yogurt / N. P. Shah, W. E. V. Lankaputhra // *International Dairy Journal*. — 1997. — N 7. — P. 349—356.

6. МВК 10.10.2.2.–119–2005. Визначення кількості біфідобактерій у кисломолочних продуктах. Метод. вказівки. — К. : Держ. сан.-епід. служба України ; МОЗ України, 2005.
7. *Мікробіологія харчових продуктів та кормів для тварин. Готування досліджуваних проб, вихідної суспензії та десятикратних розведень для мікробіологічного досліджування. Ч. 1. Загальні правила готування вихідної суспензії та десятикратних розведень (ISO 6887-1:1999, IDT) : ДСТУ ISO 6887-1:2003.* — [Чинний від 2004—10—01]. — К. : Держспоживстандарт України, 2005. — 10 с.
8. *Молоко і молочні продукти. Визначення кількості мікроорганізмів. Метод підрахування колоній за температури 30 °С (IDF 100В:1991) ДСТУ IDF 100В:2003.* — [Чинний від 2005—01—01]. — К. : Держспоживстандарт України, 2005. — 10 с.
9. *Степанова Л. И.* Справочник технолога молочного производства. Технология и рецептуры / Л. И. Степанова. — Т. 1 : Цельномолочная продукция — СПб. : Гиорд, 1999. — 360 с.
10. *Голуб Б. О.* Вплив біфідофлори на амінокислотний склад ферментованих синбіотичних молочних напоїв / Б. О. Голуб, С. Г. Даниленко, Г. Б. Рудавська // Наукові праці ОНАХТ. — 2010. — Вип. 38, Т. 2. — С. 203—207.

Стаття надійшла до редакції 26.09.2011.

Голуб Б., Даниленко С. Динамика бифидофлоры в синбиотических молочных напитках при хранении. Рассмотрены особенности динамики бифидофлоры в новых ферментированных молочных напитках при хранении. Приведены результаты оценки динамики количественного состава бифидофлоры и ослабления активности бифидобактерий во время хранения.

Holub B., Danylenko S. Bifidobacteria dynamics in the synbiotic dairy beverages during storage. The features of Bifidobacteria dynamics in new synbiotic dairy beverages during storage were reviewed. The results of estimation of quantity composition dynamics and decreasing activity of Bifidobacteria during storage were shown.