

МОГИЛЕВСКИЙ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ИНСТИТУТ

УДК 637.146.33

**ШУЛЯК ТАТЬЯНА ЛЕОНИДОВНА**

**ПОДБОР И ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИ АКТИВНЫХ  
МОЛОЧНОКИСЛЫХ СТРЕПТОКОККОВ В ПРОИЗВОДСТВЕ СЫРОВ  
С НИЗКОЙ ТЕМПЕРАТУРОЙ ВТОРОГО НАГРЕВАНИЯ**

Специальность 05.18.04 – технология мясных, молочных и рыбных продуктов

**Автореферат диссертации  
на соискание ученой степени кандидата технических наук**

Могилев 2000

Работа выполнена на кафедре «Технология молока и молочных продуктов»  
Могилевского технологического института

Научный руководитель:

кандидат химических наук,  
доцент ЮКАЛО В.Г.

Официальные оппоненты:

доктор технических наук,  
академик Международной  
академии холода  
РАМАНАУСКАС Р.И.

кандидат технических наук  
ПАСТУХОВА З.М.

Опонирующая организация: ГП - Белорусский научно-исследовательский  
и конструкторско-технологический  
институт мясной и молочной промышленности

Защита состоится 7 июня в 15<sup>00</sup> часов на заседании разового  
специализированного Совета по защите диссертаций К-02.17.01 Могилевского  
технологического института по адресу 212027, Республика Беларусь, г.Могилев,  
пр.Шмидта, 3. Тел. Ученого секретаря 44-35-41.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Могилевского  
технологического института.

Автореферат разослан 2 мая 2000 г.

Ученый секретарь Совета  
по защите диссертаций



ПИСКУН Т.И.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы диссертации. Качество сычужных сыров во многом зависит от применяемой бактериальной закваски. Поэтому одним из актуальных вопросов современного сыроделия является поиск новых заквасочных культур, обладающих производственно-ценными свойствами, составление из них заквасок и всестороннее изучение свойств последних.

Одной из важнейших характеристик молочнокислых бактерий, используемых в производстве сыров, является их протеолитическая активность. Действие протеолитических ферментов микроорганизмов заквасок вносит существенный вклад в процесс гидролиза белков молока, способствующий формированию органолептических и реологических показателей сыров. Определяющую роль при этом играют состав протеиназ и пептидаз микроорганизмов, их специфичность, активность и расположение в клетках.

В частности, установлено, что приклеточные и внутриклеточные протеазы молочнокислых бактерий неоднозначно влияют на органолептические показатели сыров. От соотношения активностей указанных групп ферментов зависит развитие различных пороков вкуса готового продукта, прежде всего - горечи. Однако, несмотря на большое количество отечественных и зарубежных работ по изучению роли протеолитических ферментов микроорганизмов заквасок в производстве различных видов сыров, до сих пор отсутствует научно обоснованный критерий подбора заквасочных культур по их протеолитической активности. В свете современных знаний о протеолитических системах молочнокислых бактерий и их роли в процессе созревания сыров научный критерий подбора культур в состав заквасок должен учитывать активность и расположение в клетках протеаз, а также их роль в формировании различных показателей сыра.

Известные способы подбора штаммов молочнокислых бактерий в состав заквасок для сыров по протеолитической активности не учитывают активность протеаз различной локализации. В связи с этим общим их недостатком является отсутствие гарантии высокого качества продукта. Подбор штаммов с высокой общей протеолитической активностью часто приводит к появлению пороков вкуса сыра. Поэтому актуальным на сегодняшний день становится разработка способа подбора заквасочных культур по протеолитической активности, учитывающего соотношение активностей приклеточных и внутриклеточных протеаз и позволяющего снизить до минимума вероятность появления порока вкуса (горечи), связанного с действием протеолитических ферментов молочнокислых бактерий.

Среди молочнокислых бактерий для применения в производстве сыров большое значение имеют молочнокислые стрептококки (лактококки) *Lcc. lactis subsp. lactis*, *Lcc. lactis subsp. cremoris*, *Lcc. lactis subsp. diacetylactis*. Они входят в состав большинства заквасок и бактериальных препаратов, применяемых для производства

различных видов сыров. Кроме того, из указанных разновидностей молочнокислых стрептококков состоит закваска для сыров с низкой температурой второго нагревания, составляющих основную группу сыров, вырабатываемых в Республике Беларусь. В связи с этим, предлагаемая работа посвящена разработке способа подбора молочнокислых стрептококков по протеолитической активности в состав заквасок для сыров с низкой температурой второго нагревания, учитывающего соотношение активностей протеаз различной локализации, составлению заквасок с учетом предлагаемого способа и исследованию влияния заквасок на процесс созревания и качество сыра.

Работа приобретает особо важное значение для Республики Беларусь, так как в настоящее время одной из главных задач ученых и специалистов молочной промышленности является создание отечественных заквасок для сыров.

Связь работы с крупными научными программами, темами. В 1989-1995 г. работа выполнялась по теме НИР кафедры технологии пищевых производств Могилевского технологического института «Интенсификация технологических процессов производства и повышение качества молочных продуктов на основе использования ферментных препаратов и непрерывной технологии» (номер госрегистрации 0.1.86.0024004). С 1996 г. – по теме НИР кафедры технологии молока и молочных продуктов МТИ «Совершенствование технологии производства молочных продуктов», которая вошла в план важнейших НИР Национальной Академии наук Беларуси, утвержденный постановлением Президиума НАН Беларуси № 88 от 23.11.95г.

Цель и задачи исследования. Целью диссертационной работы является повышение качества мелких сычужных сыров на основе разработки и практического использования способа подбора молочнокислых стрептококков в состав заквасок для сыров по протеолитической активности, учитывающего соотношение активностей приклеточных и внутриклеточных протеаз. Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие задачи:

изучение основных физиолого-биохимических свойств штаммов молочнокислых стрептококков с учетом их использования в сыроделии;

изучение протеолитической активности молочнокислых стрептококков и обоснование критерия подбора заквасочных культур по протеолитической активности;

отбор производственно-ценных штаммов молочнокислых стрептококков;

составление и исследование свойств заквасок из отобранных штаммов молочнокислых стрептококков; подбор закваски, обладающей наиболее ценными для производства сыров свойствами;

исследование влияния составленной закваски на процесс созревания и качество сыра.

**Объект и предмет исследования.** Объектом исследования являются штаммы молочнокислых стрептококков, их комбинации и закваски, а также костромской сыр, как представитель сыров с низкой температурой второго нагревания, при производстве которого используются составленные закваски.

Предметом исследования являются протеолитическая активность и другие физиолого-биохимические свойства молочнокислых стрептококков, их комбинаций и заквасок, симбиотические взаимоотношения изучаемых микроорганизмов, основные параметры технологического процесса и протеолиз при производстве сыра, физико-химические и органолептические показатели продукта.

**Гипотеза.** Предполагается, что подбор молочнокислых стрептококков в состав заквасок по протеолитической активности с учетом соотношения активностей приклеточных и внутриклеточных протеаз позволит улучшить показатели качества сыра. В результате проведенных исследований выдвинутая гипотеза полностью подтвердилась, поскольку использование закваски, составленной согласно предлагаемому способу, позволило интенсифицировать протеолиз при созревании сыра, что способствовало повышению степени зрелости сыра и улучшению его вкусовых показателей. Повышение качества сыра достигнуто за счет отсутствия порока горечь и повышения степени выраженности сырного вкуса.

**Методология и методы проведенного исследования.** При выполнении диссертационной работы использованы современные микробиологические, химические и биохимические методы исследования, в частности, колориметрический метод, метод электрофореза в полиакриламидном геле, метод гель-фильтрации и ряд других, которые подробно описаны в главе 2.

**Научная новизна и значимость полученных результатов.** Разработан новый научно обоснованный способ подбора молочнокислых стрептококков в состав заквасок для сыров по протеолитической активности, учитывающий соотношение активностей приклеточных и внутриклеточных протеаз. Научная новизна разработки подтверждается патентом 1470 РБ.

Впервые изучены с учетом использования в сыроделии физиолого-биохимические свойства 47 штаммов молочнокислых стрептококков. Установлены значительные межвидовые и внутривидовые различия в свойствах. Отобраны перспективные для сыроделия протеолитически активные штаммы молочнокислых стрептококков: *Lcc. lactis subsp. lactis* – штаммы  $l_{14}$ ,  $l_{16}$ ,  $l_{17}$ ,  $l_{18}$ ,  $l_{19}$ ; *Lcc. lactis subsp. cremoris* – штаммы  $C_{11}$ ,  $C_{12}$ ,  $C_{13}$ ,  $C_{14}$ ; *Lcc. lactis subsp. diacetylactis* – штаммы  $d_{11}$ ,  $d_{12}$ ,  $d_{15}$ ,  $d_{17}$ . Показано, что отобранные протеолитически активные молочнокислые стрептококки быстрее и интенсивнее развиваются, сохраняют свою жизнеспособность и активность в процессе длительного культивирования независимо от сезонных изменений состава молока, обладают фагоустойчивостью, антагонизмом по отношению к посторонней микрофлоре молока, устойчивостью к поваренной соли и антибиотикам.

Установлено, что использование закваски, составленной из протеолитически активных штаммов с учетом соотношения активностей приклеточных и внутриклеточных протеаз, позволяет интенсифицировать протеолиз в сыре, что способствует повышению зрелости и улучшению вкусовых показателей продукта. Штаммы, отобранные в состав закваски согласно разработанному способу, способны расщеплять горькие пептиды, предотвращая пороки сыра.

**Практическая (экономическая, социальная) значимость полученных результатов.** Разработан способ тестирования заквасочных культур, который прост в исполнении, не требует дорогостоящих реактивов и оборудования и рекомендуется для использования лабораториям, выпускающим закваски для сыродельных предприятий.

Предложены промышленности высокоактивные штаммы молочнокислых стрептококков *Lcc. lactis subsp. lactis* I<sub>17</sub>, I<sub>18</sub>, I<sub>19</sub>, *Lcc. lactis subsp. cremoris* C<sub>12</sub>, C<sub>13</sub>, *Lcc. lactis subsp. diacetylactis* d<sub>11</sub>, d<sub>17</sub>, обладающие ценными для сыроделия свойствами.

На основе отобранных штаммов молочнокислых стрептококков создана закваска для производства сыров с низкой температурой второго нагревания (закваска № 8). Закваска обладает улучшенными свойствами по сравнению со стандартной стрептококковой закваской, используемой в промышленности.

Разработан технологический регламент по производству твердых сычужных сыров с низкой температурой второго нагревания с использованием закваски № 8.

Ценность работы состоит также в достижении социального эффекта, заключающегося в получении сыров более высокого качества на основе применения созданной закваски.

Экономический эффект от использования закваски № 8 за счет повышения качества продукта по результатам производственной проверки составляет 60175 рублей на 1 т сыра в среднегодовых ценах 1998 г.

#### **Основные положения диссертации, выносимые на защиту:**

1. Разработан научно обоснованный способ подбора молочнокислых стрептококков в состав заквасок для сыров по протеолитической активности, учитывающий соотношение активностей приклеточных и внутриклеточных протеаз и позволяющий снизить до минимума вероятность появления порока вкуса сыра (горьчи), связанного с действием протеолитических ферментов молочнокислых культур.

2. Обоснована возможность и целесообразность использования в сыроделии 13 штаммов молочнокислых стрептококков, обладающих ценными для производства сыров свойствами.

3. Создана закваска для производства сыров с низкой температурой второго нагревания, отличающаяся улучшенными свойствами по сравнению со стандартной закваской и позволяющая получать продукт с высокими органолептическими и

нормативными физико-химическими показателями.

4. Установлено, что использование закваски, составленной из протеолитически активных штаммов с учетом соотношения активностей приклеточных и внутриклеточных протеаз, позволяет интенсифицировать протеолиз в сыре, что способствует повышению зрелости и улучшению вкусовых показателей продукта.

**Личный вклад соискателя.** Автором диссертации самостоятельно выполнены: обзор литературы и патентные исследования; подбор методов и методик исследований; проведение экспериментальных исследований; обработка и анализ экспериментальных данных; разработка технологического регламента по производству сыров с использованием созданной закваски.

**Апробация результатов диссертации.** Основные результаты исследований были доложены на Всесоюзных конференциях «Химия пищевых веществ. Свойства и использование биополимеров в пищевых продуктах» (г. Могилев, 1990 г.), «Химические превращения пищевых полимеров» (г. Светлогорск Калининградской области, 1991 г.), на Международных научно-технических конференциях «Научно-технический прогресс в пищевой промышленности» (г. Могилев, 1995 г.), «Энергоресурсосберегающие технологии переработки сельскохозяйственного сырья» (г. Минск, 1996 г.), «Проблемы микробиологии и биотехнологии» (г. Минск, 1998 г.), на областных научно-технических конференциях «Ученые и специалисты – народному хозяйству области» (г. Могилев, 1991 г., 1993 г.), на XIII научно-технической конференции МТИ (г. Могилев, 1993 г.).

**Опубликованность результатов.** По теме диссертации опубликовано 16 работ, в том числе 2 статьи в научных журналах, одна статья в сборнике материалов конференции, 2 депонированных рукописи, один патент, 10 тезисов докладов. Общее количество опубликованных материалов составляет 60 страниц машинописного текста.

**Структура и объем диссертации.** Диссертация состоит из общей характеристики работы, аналитического обзора литературы, описания объектов и методов исследования, четырех глав собственных исследований, заключения, списка использованных источников, приложений. Работа изложена на 149 страницах машинописного текста, содержит 46 таблиц, 16 рисунков, 10 приложений, 186 наименований использованных источников.

## ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**В первой главе** освещено значение заквасок в сыроделии, рассмотрены состав и свойства бактериальных заквасок, применяемых в отечественном и зарубежном сыроделии, обсуждены принципы подбора молочнокислых бактерий в состав заквасок для сыров с низкой температурой второго нагревания. Рассмотрены

протеолитические системы молочнокислых бактерий и их роль в созревании сыров. Проведен анализ существующих способов подбора молочнокислых бактерий по протеолитической активности в состав заквасок для сыров.

На основании анализа литературных данных сформулированы основные цели и задачи исследований.

Во второй главе описаны объекты и методы исследований. В качестве объектов исследования были использованы 47 штаммов мезофильных гомоферментативных молочнокислых стрептококков (лактококков), относящихся к разновидностям: *Lcc. lactis subsp. lactis* -17 штаммов, *Lcc. lactis subsp. cremoris*-13 штаммов, *Lcc. lactis subsp. diacetylactis* -17 штаммов. Штаммы получены из Литовского пищевого института, Института микробиологии НАН Беларуси.

Объектами исследования являлись также комбинации молочнокислых стрептококков, составленные из них закваски и костромской сыр, при производстве которого использовались разработанные закваски.

Титруемую кислотность молока, культур молочнокислых стрептококков и заквасок определяли по ГОСТ 3624-92, сыров и сыворотки – по общепринятой методике. Активную кислотность определяли с помощью потенциометра рН 222.2. Массовую долю жира в сыворотке и в сыре определяли по ГОСТ 5867-90, массовую долю влаги в сыре - по ГОСТ 3626-73, содержание хлористого натрия в сыре - по ГОСТ 3627-81.

Устойчивость молочнокислых стрептококков и заквасок к поваренной соли и антибиотикам определяли на стерилизованном обезжиренном молоке. Контролем служила культуральная среда, не содержащая поваренной соли или антибиотиков. Об устойчивости культур и заквасок к NaCl и антибиотикам судили по проценту прироста титруемой кислотности культуральных сред в опытных образцах по сравнению с контролем.

Фагоустойчивость молочнокислых стрептококков и заквасок определяли по методу агаровых слоев, устойчивость к посторонней микрофлоре - по методу отсроченных антагонизмов.

Для определения протеолитической активности (ПА) молочнокислых стрептококков и заквасок использовали модифицированный метод Гула.

Образование диацетила, ацетона и CO<sub>2</sub> молочнокислыми стрептококками и заквасками устанавливали качественно общепринятыми методами.

Общее количество жизнеспособных молочнокислых бактерий определяли посевом на чашки Петри с агаризованным гидролизанным молоком. Количество ароматобразующих стрептококков учитывали на чашках с агаризованным гидролизанным молоком, к которому добавляли 5% дрожжевого автолизата, 1% сахарозы, 1% лимоннокислого кальция.



Определение летучих жирных кислот (ЛЖК) в заквасках и сыре проводили путем выделения их дистилляцией водяным паром с последующим титрованием 0,1н раствором гидроксида натрия.

Характер распада белков казеинового комплекса под действием протеолитических ферментов штаммов молочнокислых стрептококков исследовали с помощью электрофореза в полиакриламидном геле по модифицированному методу Дэвиса и Лоу.

В сырах определяли степень зрелости по Шилевичу, содержание различных фракций азотистых соединений - по методу Кьельдаля, степень протеолиза - спектрофотометрическим методом. Распад белков при созревании сыра исследовали также методами гель-фильтрации на сефадексе G-75 и электрофореза в полиакриламидном геле.

Органолептическую оценку сыров проводили комиссионно по ГОСТ 7616-85.

Для объективности суждения о степени достоверности полученных результатов проводили их математическую обработку. Повторность опытов 3-10 кратная.

Третья глава посвящена изучению физиолого-биохимических свойств молочнокислых стрептококков с учетом их использования в сыроделии. К штаммам молочнокислых стрептококков, включаемым в состав заквасок для сыров, предъявляется ряд требований. Культуры должны обладать производственно-ценными свойствами, а именно повышенным антагонизмом к посторонней микрофлоре молока, устойчивостью к действию антибиотиков, ароматобразованием, газообразованием, кислотообразованием, ростом в молоке при повышенных концентрациях NaCl, фагоустойчивостью и т. д.

Для характеристики кислотообразующих свойств исследуемых штаммов молочнокислых стрептококков определяли титруемую и активную кислотность через 6, 24, 48 и 168 ч их культивирования в стерилизованном обезжиренном молоке при температуре 30°C. Посевной материал вносили в количестве 3%. Предельное кислотообразование штаммов *Lcc. lactis subsp. lactis* варьировало в интервале 89 - 127°Т, штаммов *Lcc. lactis subsp. cremoris* - от 88 до 118°Т и штаммов *Lcc. lactis subsp. diacetylactis* - от 82 до 107°Т. Исследования показали, что активными кислотообразователями являются 35% культур *Lcc. lactis subsp. lactis*, 31% - *Lcc. lactis subsp. cremoris* и только 1 штамм ( $d_{16}$ ) - *Lcc. lactis subsp. diacetylactis*.

Способность образовывать диацетил и ацетон в той или иной степени отмечается у 82,35% штаммов *Lcc. lactis subsp. diacetylactis* и 53,85% штаммов *Lcc. lactis subsp. cremoris*. Образование углекислого газа свойственно только 88,24% штаммов ароматобразующего стрептококка *Lcc. lactis subsp. diacetylactis*.

В работе исследовалась фагоустойчивость штаммов к 150 фагам, выделенным на территории Беларуси из молока и молочных продуктов. Наибольшую фагоустойчивость показали штаммы *Lcc. lactis subsp. cremoris*. Они устойчивы ко всем 150 исследованным фагам. Из штаммов *Lcc. lactis subsp. lactis* фагоустойчивостью обладают 70,6% изученных культур. Наиболее чувствительными

к действию фагов являются штаммы *Lcc. lactis subsp. diacetylactis*. Лишь 29,4% культур ароматобразующего стрептококка устойчивы ко всем исследуемым фагам.

Штаммы молочнокислых стрептококков проверяли на способность подавлять рост некоторых посторонних микроорганизмов. В качестве тест-культур использовали *Escherichia coli AB 1157*, *Escherichia coli W 1655*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Xanthomonas campestris*, *Bacillus mycoides*. Штаммы *Lcc. lactis subsp. cremoris* отличаются менее выраженным антагонизмом к посторонним микроорганизмам по сравнению с культурами *Lcc. lactis subsp. lactis* и *Lcc. lactis subsp. diacetylactis*. Наиболее активными антагонистами являются штаммы *Lcc. lactis subsp. diacetylactis*. Наибольшее ингибиторное действие молочнокислые стрептококки оказывают на культуру *Xanth. campestris*. Тест-культура *Ps. aeruginosa* менее чувствительна к антагонистическому действию исследованных молочнокислых стрептококков. В целом можно заключить, что образование ингибиторных веществ является специфическим свойством для каждого штамма.

Исследовано развитие изучаемых штаммов молочнокислых стрептококков в присутствии 2, 4, 6,5 % NaCl в среде. Установлено, что штаммы *Lcc. lactis subsp. diacetylactis* и *Lcc. lactis subsp. lactis* более устойчивы к повышенным концентрациям NaCl, чем штаммы *Lcc. lactis subsp. cremoris*.

В работе изучено действие на штаммы молочнокислых стрептококков 5 антибиотиков медицинского назначения: пенициллина, тетрациклина, стрептомицина, олеандомицина и хлорамфеникола.

Установлены минимальные концентрации антибиотиков, задерживающие рост исследуемых молочнокислых стрептококков: для пенициллина и тетрациклина – 0,05 ME/см<sup>3</sup>, стрептомицина и хлорамфеникола – 1 ME/см<sup>3</sup>, олеандомицина – 0,5 ME/см<sup>3</sup>. Исследованные штаммы наиболее чувствительны к пенициллину и тетрациклину, далее – к олеандомицину и хлорамфениколу. Наиболее устойчивы молочнокислые стрептококки к стрептомицину.

По совокупности изученных физиолого-биохимических свойств 76,5% штаммов *Lcc. lactis subsp. lactis*, 69,2% – *Lcc. lactis subsp. cremoris* и 64,7% – *Lcc. lactis subsp. diacetylactis* можно применять в составе заквасок в производстве сыров.

В четвертой главе проведены всесторонние исследования протеолитических свойств молочнокислых стрептококков.

Протеолитическую активность (ПА) штаммов определяли после инкубирования молочнокислых стрептококков в обезжиренном молоке при 30°C, засеянном 3% свежей культуры. Полученные результаты для некоторых штаммов приведены в табл. 1.

ПА исследуемых штаммов внутри каждой разновидности варьировала в широких пределах. Для характеристики ПА молочнокислых стрептококков использовали ранее предложенную классификацию: слабые протеолиты—активности до 3 мг% тирозина и триптофана, средние протеолиты—от 3 до 6 мг%, сильные протеолиты—свыше 6мг%. Установлено, что высокой протеолитической

активностью через 7 суток инкубирования обладают 41% штаммов *Lcc. lactis subsp. lactis*, 31% - *Lcc. lactis subsp. cremoris* и 6% - *Lcc. lactis subsp. diacetylactis*.

Таблица 1

## Протеолитическая активность молочнокислых стрептококков

Штаммы	ПА, мг% тирозина и триптофана через					Критерий отбора К	Степень горечи среды, баллы
	24 ч	48 ч	72 ч	168 ч	2 мес		
<i>l</i> <sub>6</sub>	-0,05	0,37	0,43	1,80	9,00	4,9	0
<i>l</i> <sub>7</sub>	6,30	7,80	7,60	10,30	27,90	1,3	1,0
<i>l</i> <sub>8</sub>	0,40	1,20	1,00	1,90	5,20	1,6	1,0
<i>l</i> <sub>12</sub>	6,80	8,00	8,70	10,20	17,90	1,3	1,5
<i>l</i> <sub>14</sub>	3,20	4,10	4,00	8,50	14,70	2,1	0
<i>l</i> <sub>16</sub>	3,10	3,90	4,13	7,90	15,60	2,0	<0,5
<i>l</i> <sub>17</sub>	3,50	5,00	4,80	12,90	24,10	2,6	0
<i>l</i> <sub>18</sub>	3,80	4,70	5,04	10,30	20,10	2,2	0
<i>l</i> <sub>19</sub>	4,30	4,80	5,20	10,60	21,90	2,2	0
<i>C</i> <sub>4</sub>	1,50	2,30	2,60	3,48	7,90	1,5	1,0
<i>C</i> <sub>6</sub>	1,05	1,10	1,00	1,41	5,80	1,3	1,5
<i>C</i> <sub>8</sub>	0,20	0,50	0,81	1,60	5,36	3,2	0
<i>C</i> <sub>10</sub>	1,15	1,30	0,98	3,59	6,60	2,8	0
<i>C</i> <sub>11</sub>	4,00	4,60	5,00	9,20	17,40	2,0	0
<i>C</i> <sub>12</sub>	3,00	4,50	4,40	9,90	20,50	2,2	0
<i>C</i> <sub>13</sub>	3,20	4,20	4,00	9,50	16,90	2,3	0
<i>C</i> <sub>14</sub>	4,01	5,14	5,30	10,70	19,90	2,1	<0,5
<i>d</i> <sub>5</sub>	0,15	1,84	1,75	2,55	4,93	1,4	1,5
<i>d</i> <sub>7</sub>	-0,10	1,26	1,75	2,90	5,80	2,3	0
<i>d</i> <sub>11</sub>	1,40	1,50	1,90	4,20	11,60	2,8	0
<i>d</i> <sub>12</sub>	1,23	1,60	1,70	3,60	8,90	2,3	0
<i>d</i> <sub>15</sub>	2,20	2,10	2,04	4,45	8,40	2,1	<0,5
<i>d</i> <sub>16</sub>	3,33	3,60	3,40	7,58	14,90	2,1	0,5
<i>d</i> <sub>17</sub>	1,67	1,70	1,85	3,60	7,80	2,1	0

С целью изучения сохранения жизнеспособности и активности штаммов при длительном культивировании исследовалась ПА штаммов в течение их годичного хранения. В процессе длительного культивирования штаммов одновременно изучали влияние сезонных изменений состава молока на ПА. Наиболее чувствительными к

сезонным изменениям молока оказались штаммы с низкой ПА. Годичное хранение культур и сезонные изменения состава молока не повлияли на ПА 64,7% штаммов *Lcc. lactis subsp. lactis*, 46,2% - *Lcc. lactis subsp. cremoris*, 52,9% - *Lcc. lactis subsp. diacetylactis*. Большинство штаммов, являющихся сильными протеолитами, сохраняют свою жизнеспособность и протеолитическую активность в процессе длительного культивирования независимо от сезонных изменений состава молока.

Изучение ПА молочнокислых стрептококков в процессе инкубирования показало, что концентрация продуктов протеолиза изменяется неравномерно во времени. Для более полного изучения ПА проводили инкубирование штаммов на обезжиренном стерилизованном молоке при 30°C в течение 10 суток. Пробы для определения ПА отбирали через каждые 12 ч. Характерная форма кривых изменения ПА во времени, полученная для большинства исследованных молочнокислых стрептококков, показана на рис.1 на примере 3-х штаммов *Lcc. lactis subsp. lactis*, различающихся по силе протеолитических систем. Из рис.1 видно, что ПА молочнокислых стрептококков возрастает до двух суток, затем концентрация продуктов протеолиза практически не изменяется или даже уменьшается, а после 3-х суток культивирования - снова возрастает. О скорости роста молочнокислых стрептококков в процессе культивирования судили по кислотообразующей активности штаммов и количеству бактериальных клеток (рис.2). Сопоставление кривых изменения ПА во времени с фазами роста молочнокислых стрептококков позволяет заключить, что начальное увеличение концентрации продуктов протеолиза связано с активностью приклеточных протеаз во время экспоненциального роста микроорганизмов. Дальнейшее уменьшение или задержка увеличения концентрации продуктов протеолиза объясняется прекращением роста клеток в результате ингибирующего действия продуктов брожения. Второе увеличение концентрации продуктов протеолиза связано с действием внутриклеточных протеаз, освобождающихся при лизисе бактериальных клеток.

Полученные результаты и литературные данные позволили предложить способ подбора заквасочных культур по ПА, заключающийся в том, что ПА определяют по модифицированному методу Гула через 1-2 и 7-8 суток культивирования молочнокислых бактерий, а отбор бактерий в состав заквасок осуществляет по критерию:

$$K = \frac{ПА_{7-8}}{ПА_{1-2}}, \quad (1)$$

где  $ПА_{7-8}$  и  $ПА_{1-2}$  - протеолитическая активность бактерий через 7-8 и 1-2 суток культивирования соответственно, мг % тирозина и триптофана.

Определение ПА молочнокислых бактерий через 1-2 и 7-8 суток их культивирования в обезжиренном стерилизованном молоке и нахождение их отношения  $K$  позволяет учитывать соотношение активностей внутри- и приклеточных протеаз молочнокислых бактерий. С учетом положительного влияния

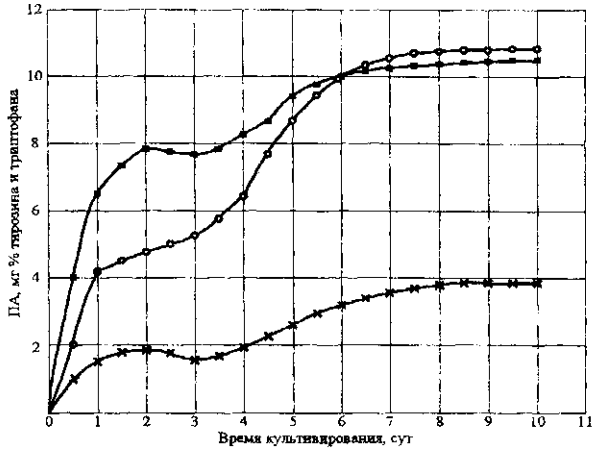


Рис. 1 Изменение протеолитической активности штаммов *Lcc. lactis subsp. lactis* в зависимости от времени культивирования

○ - штамм  $l_{19}$ , ×-штамм  $l_{15}$ , ■ - штамм  $l_7$

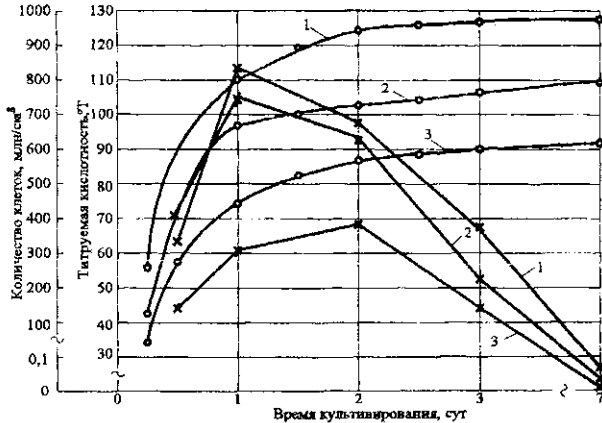


Рис. 2 Нарастание титруемой кислотности и интенсивность развития молочнокислых стрептококков *Lcc. lactis subsp. lactis* в зависимости от времени культивирования

1 - штамм  $l_{19}$ , 2 - штамм  $l_7$ , 3 - штамм  $l_{15}$

○ - титруемая кислотность, °Т; × - количество клеток, млн/см³.

внутриклеточных протеаз на качество сыра наиболее подходящими для включения в состав заквасок являются штаммы с максимальным значением  $K$ . Для всех штаммов был рассчитан критерий отбора  $K = \frac{ПА_1}{ПА_2}$  (см. табл.1). Для большинства исследованных молочнокислых стрептококков критерий отбора  $K$  равен 1,1 - 2,9. Установлено, что величина критерия отбора  $K$  у штаммов сохраняется в процессе длительного культивирования.

Штаммы молочнокислых стрептококков проверяли на способность продуцировать горькие пептиды в молоке с сычужным ферментом (см. табл.2). При критерии отбора  $K$ , равном или больше 2, горечь в культуральных средах, как правило, отсутствует, и лишь в некоторых случаях отмечается очень слабая горечь.

Полученные результаты позволяют рекомендовать включать в состав заквасок для сыров штаммы, у которых критерий отбора  $K$  равен или больше 2. При этом нецелесообразно отбирать в состав заквасок культуры молочнокислых стрептококков, имеющие значения  $ПА_2$  меньше 3 мг% тирозина и триптофана (ниже средних протеолитов), так как слишком низкая активность приклеточных протеаз препятствует нормальному развитию культур закваски в молоке, замедляя их рост.

Важное значение в формировании показателей качества сыра имеет специфичность протеолитических ферментов заквасок по отношению к отдельным фракциям молочных белков, в частности, белков казеинового комплекса. Так, преимущественный распад  $\beta$ -казеина часто сопровождается появлением порока вкуса сыра – горечи. Распад  $\chi$ - и  $\alpha_{S2}$ -казеинов в конечном итоге влияет на реологические свойства сыра. Проведен электрофоретический анализ протеолиза казеинового комплекса при инкубировании в обезжиренном молоке штаммов  $l_{17}$ ,  $C_{13}$ ,  $d_{11}$ . Наиболее существенные изменения белков казеинового комплекса обнаруживаются через 60 суток инкубирования. Для исследованных штаммов распад  $\beta$ -казеина происходит в наименьшей степени по сравнению с другими фракциями, что позволяет предположить снижение горечи в сырах, изготовленных с использованием указанных штаммов.

С учетом предлагаемого способа подбора заквасочных культур и исследованных в третьей главе физиолого-биохимических свойств молочнокислых стрептококков, установлено, что наиболее перспективными для сыроделия являются 5 штаммов *Lcc. lactis subsp. lactis* -  $l_{14}$ ,  $l_{16}$ ,  $l_{17}$ ,  $l_{18}$ ,  $l_{19}$ , 4 штамма *Lcc. lactis subsp. cremoris* -  $C_{11}$ ,  $C_{12}$ ,  $C_{13}$ ,  $C_{14}$  и 4 штамма *Lcc. lactis subsp. diacetylactis* -  $d_{11}$ ,  $d_{12}$ ,  $d_{15}$ ,  $d_{17}$ , которые были отобраны для дальнейшей работы.

**Пятая глава** посвящена составлению заквасок из отобранных штаммов и изучению их свойств.

Составлено 10 комбинаций штаммов *Lcc. lactis subsp. lactis*, 6 комбинаций - *Lcc. lactis subsp. cremoris* и 6 комбинаций - *Lcc. lactis subsp. diacetylactis*. Изучена сочетаемость штаммов всех комбинаций. Отобрано для составления заквасок 8 наиболее активных и устойчивых комбинаций.

Составлено и изучено 18 заквасок для производства сыров. В состав заквасок включали по три штамма *Lec. lactis subsp. lactis*, два штамма *Lec. lactis subsp. cremoris*, два штамма *Lec. lactis subsp. diacetylactis*. Соотношение комбинаций *Lec. lactis subsp. lactis*, *Lec. lactis subsp. cremoris*, *Lec. lactis subsp. diacetylactis* в заквасках составляло 1:1:1. Исследованы физиолого-биохимические свойства заквасок: кислотообразующая и протеолитическая активность, фагоустойчивость, антагонизм к посторонней микрофлоре, отношение к поваренной соли и антибиотикам, газообразование и способность образовывать ароматические вещества.

Подобрана для производства сыров с низкой температурой второго нагревания бактериальная закваска № 8, обладающая производственно-ценными свойствами. В состав закваски № 8 включены штаммы *Lec. lactis subsp. lactis*  $l_{17}$ ,  $l_{18}$ ,  $l_{19}$ , *Lec. lactis subsp. cremoris*  $C_{12}$ ,  $C_{13}$ , *Lec. lactis subsp. diacetylactis*  $d_{11}$ ,  $d_{17}$ . Созданная закваска имеет высокую ПА и критерий отбора  $K$ , равный 2,2, является фагоустойчивой и отличается ярким антагонизмом по отношению к *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, *Xanth. campestris*, *Vac. mycoides*, а также высокой устойчивостью к поваренной соли и антибиотикам. Установлено, что закваска № 8 более устойчива к определенным концентрациям антибиотиков в молоке, чем монокультуры, входящие в ее состав. Видимо, это связано с взаимно симбиотическими отношениями микроорганизмов в закваске.

Для полной проверки разработанного способа подбора молочнокислых стрептококков в состав заквасок для сыров по ПА дополнительно была составлена закваска № 19. В состав закваски № 19 включены протеолитически малоактивные штаммы *Lec. lactis subsp. lactis*  $l_9$ ,  $l_{10}$ ,  $l_{11}$ , *Lec. lactis subsp. cremoris*  $C_9$ ,  $C_{10}$ , *Lec. lactis subsp. diacetylactis*  $d_7$ ,  $d_{14}$ , имеющие критерий отбора  $K$  равный 2,0 – 2,8. Закваска № 19 имела ПА в 3 раза ниже активности закваски № 8 и критерий отбора  $K$  равный 2,4.

В шестой главе проведена проверка разработанного способа подбора молочнокислых стрептококков в состав заквасок для сыров по ПА при производстве костромского сыра на Чаусском маслодельно-сыродельном заводе. Опытные выработки костромского сыра проводили на заквасках № 8 и № 19. В качестве контроля использовали угличскую закваску, предназначенную для сычужных сыров с низкой температурой второго нагревания, для которой критерий  $K$  равнялся 1,5±1,8.

Проведенные производственные испытания заквасок показали, что закваска № 8 не уступает контрольной закваске, а по ряду показателей и превосходит ее. Отмечено некоторое сокращение времени свертывания молока и продолжительности обсушки сырного зерна при использовании закваски № 8. По интенсивности сбраживания молочного сахара, общему количеству бактерий и количеству ароматобразующих бактерий в сыре закваска № 8 также несколько превышает контрольную закваску.

Изучен различными методами процесс протеолиза при созревании сыров. Установлено, что распад белков происходит интенсивнее в сырах, изготовленных с использованием закваски № 8. Сыры на закваске № 8 содержат больше тирозина и

триптофана (табл. 2), растворимого небелкового и аминного азота (табл. 3), что свидетельствует о повышенной активности внутриклеточных протеаз составленной закваски. Это заключение согласуется с данными гель-фильтрации на сефадексе G-75 (рис.3) и результатами органолептической оценки (табл. 4).

Таблица 2

## Степень распада белков в сырах

Вид закваски	Количество мг% тирозина и триптофана в сырах в возрасте, сутки					
	0	15	20	30	35	45
Углическая	23±4	26±3	67±4	143±6	201±6	202±8
№ 8	28±3	59±3	152±5	212±5	248±6	249±8
№19	23±3	25±2	66±5	138±5	179±7	188±9

Таблица 3

## Изменение содержания различных фракций азотистых соединений в сырах в процессе созревания

Вид закваски	Общего растворимого азота, % к общему			Растворимого белкового азота, % к общему			Растворимого небелкового азота, % к общему			Аминного азота, % к общему		
	0 сут.	20 сут.	45 сут.	0 сут.	20 сут.	45 сут.	0 сут.	20 сут.	45 сут.	0 сут.	20 сут.	45 сут.
Углическая	4,5	15,6	22,6	2,6	11,5	13,3	1,9	4,1	9,3	0,5	2,0	4,0
№ 8	4,7	18,4	26,5	2,9	13,1	13,8	1,8	5,3	12,7	0,6	2,8	5,2
№ 19	4,5	13,8	18,7	2,7	9,9	10,5	1,8	3,3	8,8	0,5	1,5	3,4

Таблица 4

## Органолептические показатели зрелых сыров

Вид закваски	Баллы			
	Вкус и запах	Консистенция	Рисунок	Общая оценка
Углическая	38,2	23,2	8,2	89,5
№ 8	40,3	23,3	8,9	92,4
№ 19	36,0	22,3	7,7	86,0

Сыры на закваске № 8 получили оценку за вкус и запах на 2,1 баллов выше, чем контрольные сыры. Более высокое качество достигнуто за счет отсутствия порока горечь и повышения степени выраженности сырного вкуса.



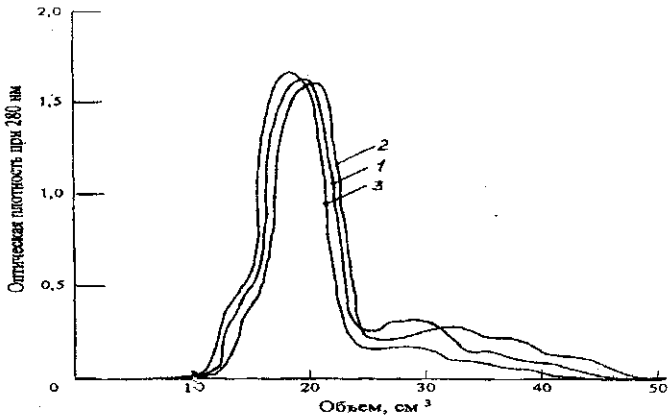


Рис.3 Хроматограммы водорастворимых белковых фракций зрелых сыров  
1- контрольный сыр; 2 - сыр на закваске № 8; 3 - сыр на закваске № 19

Проведенные исследования показали, что использование закваски, составленной из протеолитически активных молочнокислых стрептококков с учетом соотношения активностей приклеточных и внутриклеточных протеаз, позволяет интенсифицировать протеолиз, что способствует повышению зрелости сыра и улучшению его вкусовых показателей. По результатам производственных испытаний закваска № 8 рекомендована для применения в производстве сычужных сыров с низкой температурой второго нагревания. Поскольку применение закваски № 8 повышает общую оценку на 2,9 баллов, есть основание предположить, что при широком ее использовании часть сыров из оцениваемых ранее первым сортом перейдет в высший сорт. Экономический эффект за счет повышения качества продукта составляет 60175 рублей на 1 т сыра в среднегодовых ценах 1998 г.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные итоги выполненной работы состоят в следующем:

1. Изучены физиолого-биохимические свойства 47 штаммов мезофильных молочнокислых стрептококков с учетом их использования в сыроделии: протеолитическая и кислотообразующая активность, фагоустойчивость, антагонизм к посторонней микрофлоре, способность образовывать ароматические вещества, газообразование, отношение к поваренной соли и антибиотикам. Установлены значительные межвидовые и внутривидовые различия в свойствах [1, 2, 10, 12]. Показано, что активные протеолиты молочнокислых стрептококков быстрее и интенсивнее развиваются, сохраняют свою жизнеспособность и протеолитическую активность в процессе длительного культивирования независимо от сезонных изменений состава молока [3, 9].

2. Разработан новый научно обоснованный способ подбора молочнокислых стрептококков в состав заквасок для сыров по протеолитической активности, заключающийся в том, что протеолитическую активность определяют по модифицированному методу Гула через 2 и 7 суток культивирования бактерий, а отбор бактерий в состав заквасок осуществляют по критерию:

$$K = \frac{ПА_7}{ПА_2},$$

где  $ПА_7$  и  $ПА_2$  – протеолитическая активность бактерий через 7 и 2 суток культивирования соответственно, мг % тирозина и триптофана.

В состав заквасок включают культуры молочнокислых стрептококков, у которых протеолитическая активность через 2 суток культивирования равна или больше 3 мг% тирозина и триптофана, а критерий отбора  $K$  равен или больше 2/4, 5, 13, 16/.

3. Отобрано согласно разработанному способу и впервые предложено для практического использования 13 штаммов молочнокислых стрептококков, среди них 5 штаммов *Lcc. lactis subsp. lactis*, 4 штамма *Lcc. lactis subsp. cremoris* и 4 штамма *Lcc. lactis subsp. diacetylactis*. Установлено, что отобранные штаммы обладают высокой кислотообразующей активностью, фагоустойчивостью, антагонизмом по отношению к посторонней микрофлоре молока, устойчивостью к поваренной соли и антибиотикам. Изучены симбиотические взаимоотношения в комбинациях отобранных штаммов /8, 9/.

4. Составлено и изучено 18 бактериальных заквасок. Подобрана с учетом критерия отбора  $K$ , отражающего соотношение активностей приклеточных и внутриклеточных протеаз, закваска № 8 для производства сыров с низкой температурой второго нагревания. Созданная закваска обладает ценными для сыроделия свойствами. Имеет высокую протеолитическую активность и критерий отбора  $K$ , равный 2,2, является фагоустойчивой и отличается ярким антагонизмом по отношению к *E. coli*, *Ps. aeruginosa*, *Xanth. campestris*, *Bac. mycoides*, а также высокой устойчивостью к поваренной соли и антибиотикам: пенициллину, тетрациклину, стрептомицину, олеандомицину, хлорамфениколу /9, 14/.

5. Обоснована целесообразность применения созданной закваски № 8 для сыроделия. Производственные испытания показали, что использование закваски, составленной из протеолитически активных молочнокислых стрептококков с учетом соотношения активностей приклеточных и внутриклеточных протеаз, позволяет интенсифицировать протеолиз, что способствует повышению зрелости сыра и улучшению его вкусовых показателей. Штаммы, отобранные в состав закваски согласно разработанному способу, способны расщеплять горькие пептиды, предотвращая пороки сыра /4, 14, 15/.

6. Разработан технологический регламент по производству твердых сычужных сыров с низкой температурой второго нагревания с использованием закваски № 8.

## СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Шуляк Т.Л., Юкало В.Г. Некоторые физиолого-биохимические свойства молочнокислых стрептококков, применяемых в сыроделии / Могилев. технол. ин-т. - Могилев, 1990. - 12 с. - Деп. в АгроНИИТЭИММП 01.08.90. - № 714 // Указатель ВИНТИ: Депонированные научные работы. Естественные и точные науки, техника. - 1990. - № 11(229). - С.101.

2. Исследование производственно-ценных свойств молочнокислых стрептококков / Т.Л. Шуляк, Т.А. Парнюк, В.Г. Юкало, И.В. Кисляч / Могилев. технол. ин-т.-Могилев, 1991. - 13 с. - Деп. в АгроНИИТЭИММП 02.09.91.- № 757 мм 91 // Указатель ВИНТИ: Депонированные научные работы. Естественные и точные науки, техника. - 1991. - № 12(242). - С. 60 - 61.

3. Юкало В.Г., Шуляк Т.Л. Протеолитические свойства молочнокислых стрептококков, применяемых в сыроделии // Изв. вузов. Пищевая технология. -1991.- № 4-6.- С. 26 - 28.

4. Юкало В.Г., Шуляк Т.Л. Использование протеолитически активных молочнокислых стрептококков в производстве сыров // Изв. вузов. Пищевая технология. - 1996. - № 5-6. - С. 39 - 41.

5. Шуляк Т.Л., Юкало В.Г. Подбор молочнокислых стрептококков в состав заквасок для сыров по протеолитической активности // Проблемы микробиологии и биотехнологии: Материалы Междун. конф., Минск, 25 – 27 нояб. 1998 г. / Нац. Акад. наук Беларуси. Ин-т микробиологии. – Минск, 1998. – С. 199 – 200.

6. Юкало В.Г., Шуляк Т.Л. Влияние протеаз молочнокислых стрептококков на белки молока // Химия пищевых веществ. Свойства и использование биополимеров в пищевых продуктах: Тез. докл. Всес. конф., Могилев, 29-31 мая 1990 г. / Акад. наук СССР. Науч. совет по химии пищевых веществ. Могилев. технол. ин-т. - Могилев, 1990. – С. 51.

7. Юкало В.Г., Шуляк Т.Л. Протеолиз казеинов ферментами молочнокислых стрептококков // Химические превращения пищевых полимеров: Тез. докл. Всес. конф., Светлогорск, 21- 23 апр. 1991 г. / Акад. наук СССР. Науч. совет по химии пищевых веществ. Калининград. техн. ин-т рыбной пром-сти и хоз-ва.-Калининград, 1991. - С. 22.

8. Шуляк Т.Л., Юкало В.Г. Совершенствование бактериальных заквасок для сыров // Ученые и специалисты—народному хозяйству области: Тез. докл. обл. науч.-техн. конф., Могилев, 16 – 17 мая 1991 г. / Могилевский машиностроит. ин-т.-Могилев, 1991. – С. 190.

9. Шуляк Т.Л., Юкало В.Г., Малеева Е.М. Использование протеолитически активных штаммов молочнокислых стрептококков в производстве сыров // Тез. докл. XIII науч.-техн. конф. МТИ, Могилев, 15 – 16 апр. 1993 г. /Мин-во образования Респ. Беларусь. Могилев. технол. ин-т. - Могилев, 1993. - С. 91.

10. Шуляк Т.Л., Парнюк Т.А., Юкало В.Г. Антагонистическая активность молочнокислых стрептококков // Ученые и специалисты—народному хозяйству области: Тез. докл. обл. науч.-техн. конф., Могилев, 19 – 20 мая 1993 г. /Могилевский машиностроит. ин-т. - Могилев, 1993. – Ч. II. - С. 249.

11. Юкало В.Г., Шуляк Т.Л. Выделение субстратов для определения протеолитической активности молочнокислых бактерий // Ученые и специалисты—народному хозяйству области: Тез. докл. обл. науч.-техн. конф., Могилев, 19 – 20 мая, 1993 г. / Могилевский машиностроит. ин-т. - Могилев, 1993. – Ч. II. - С. 250.

12. Шуляк Т.Л. Устойчивость к антибиотикам молочнокислых стрептококков, применяемых в сыроделии // Научно-технический прогресс в пищевой промышленности: Тез. докл. Междун. науч.-техн. конф., Могилев, 22 – 24 нояб. 1995г. /Мин-во образования и науки Респ. Беларусь. Могилев. технол ин-т.- Могилев, 1995. - С. 118.

13. Юкало В.Г., Шуляк Т.Л. Способ подбора молочнокислых стрептококков в состав заквасок для сыров // Научно-технический прогресс в пищевой промышленности: Тез. докл. Междун. науч.-техн. конф., Могилев, 22 – 24 нояб. 1995 г. / Мин-во образования и науки Респ. Беларусь. Могилев. технол ин-т. - Могилев, 1995. - С. 119.

14. Шуляк Т.Л., Юкало В.Г. Влияние соотношения активностей приклеточных и внутриклеточных протеаз закваски на процесс созревания и качество сыра // Научно-технический прогресс в пищевой промышленности: Тез. докл. Междун. науч.-техн. конф., Могилев, 22 – 24 нояб. 1995 г. / Мин-во образования и науки Респ. Беларусь. Могилев. технол. ин-т. - Могилев, 1995. - С. 117.

15. Шуляк Т.Л., Новякова В.П., Юкало В.Г. Интенсификация производства костромского сыра // Энергоресурсосберегающие технологии переработки сельскохозяйственного сырья: Тез. докл. Междун. науч.-практ. конф., Минск, 9 – 11 окт. 1996 г. / Акад. аграр. наук Респ. Беларусь. Белорус. науч.-исслед. и конструкт.-технол. ин-т мясн. и молочн. пром.-сти. - Минск, 1996. –Ч. I-С. 85-86.

16. Пат. 1470 ВУ, МПК А 23С 19/032. Способ подбора молочнокислых бактерий в состав заквасок для сыров / В.Г. Юкало (UA), Т.Л. Шуляк (BY).- № 1914; Заявл. 06.05.94; Опубл. 16.12.96. // Афіцыйны бюлетэнь / Дзярж. пат. ведамства Рэсп. Беларусь. – 1996. - № 4. – Ч. I. – Ст. 121.

Пуляк Татьяна Леонидовна

Подбор и использование протеолитически активных молочнокислых стрептококков в производстве сыров с низкой температурой второго нагревания

МОЛОЧНОКИСЛЫЕ СРЕПТОКОККИ, ФИЗИОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА, ПРОТЕОЛИТИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ, ПРОТЕАЗЫ, ГОРЬКИЕ ПЕПТИДЫ, СПОСОБ ПОДБОРА ЗАКВАСОЧНЫХ КУЛЬТУР, ЗАКВАСКИ, СЫР, ПРОТЕОЛИЗ, ОРГАНОЛЕПТИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ

Молочнокислые стрептококки используют в производстве сыров в виде специально подобранных и подготовленных комбинаций – заквасок. От соотношения активностей приклеточных и внутриклеточных протеаз молочнокислых стрептококков зависит развитие горького вкуса в сырах, в результате чего органолептические показатели готового продукта ухудшаются.

Цель работы - повышение качества мелких сычужных сыров на основе разработки и практического использования способа подбора молочнокислых стрептококков в состав заквасок для сыров по протеолитической активности, учитывающего соотношение активностей приклеточных и внутриклеточных протеаз.

В соответствии с основной целью работы изучены протеолитическая активность и другие физиолого-биохимические свойства 47 штаммов молочнокислых стрептококков *Lcc. lactis subsp. lactis*, *Lcc. lactis subsp. cremoris*, *Lcc. lactis subsp. diacetylactis* с учетом их использования в сырделии. Разработан новый научно обоснованный способ подбора молочнокислых стрептококков в состав заквасок для сыров по протеолитической активности. Впервые предложено для практического использования 13 штаммов молочнокислых стрептококков. Составлено и изучено 18 бактериальных заквасок для сыров. Рекомендована для производства сыров с низкой температурой второго нагревания закваска № 8, обладающая ценными для сырделии свойствами. Использование закваски № 8 в производстве сыра позволяет интенсифицировать протеолиз, что способствует повышению зрелости сыра и улучшению его вкусовых показателей. Штаммы, отобранные в состав закваски согласно разработанному способу, способны расщеплять горькие пептиды предотвращая пороки сыра. Разработан технологический регламент по производству твердых сычужных сыров с низкой температурой второго нагревания с использованием закваски № 8.

## Шуляк Таццяна Леанідаўна

Падбор і выкарыстанне пратэалітычна актыўных малочнакіслых стрэптакокаў у вытворчасці сыроў з нізкай тэмпературай другога награвання

МАЛОЧНАКІСЛЯЯ СТРЭПТАКОКІ, ФІЗІЕЛАГА-БІЯХІМІЧНЫЯ ЎЛАСЦІВАСЦІ, ПРАТЭАЛІТЫЧНАЯ АКТЫЎНАСЦЬ, ПРАТЭАЗЫ, ГОРКІЯ ПЕПТЫДЫ, СПАСАБ ПАДБОРУ ЗАКВАСАЧНЫХ КУЛЬТУР, ЗАКВАСКІ, СЫР, ПРАТЭАЛІЗ, АРГАНАЛЕПТЫЧНЫЯ ПАКАЗЧЫКІ

Малочнакіслыя стрэптакокі выкарыстоўваюць у вытворчасці сыроў у выглядзе спецыяльна падабраных і падрыхтаваных камбінацый – заквасак. Ад суадносін актыўнасцей прыклетачных і ўнутрыклетачных пратэаз малочнакіслых стрэптакокаў залежыць развіццё горкага смаку ў сырах, у выніку чаго арганалептычныя паказчыкі гатовага прадукту пагаршаюцца.

Мэта работы - павышэнне якасці дробных сычужных сыроў на аснове распрацоўкі і практычнага выкарыстання спосабу падбору малочнакіслых стрэптакокаў у састаў заквасак для сыроў на пратэалітычнай актыўнасці, які ўлічвае суадносіны актыўнасцей прыклетачных і ўнутрыклетачных пратэаз.

У адпаведнасці з асноўнай мэтай работы вывучаны пратэалітычная актыўнасць і іншыя фізіялага-біяхімічныя ўласцівасці 47 штамаў малочнакіслых стрэптакокаў *Lcc. lactis subsp. lactis*, *Lcc. lactis subsp. cremoris*, *Lcc. lactis subsp. diacetylactis* з улікам іх выкарыстання ў сыраробстве. Распрацаваны новы навукова абгрунтаваны спосаб падбору малочнакіслых стрэптакокаў у састаў заквасак для сыроў на пратэалітычнай актыўнасці. Упершыню прапанавана для практычнага выкарыстання 13 штамаў малочнакіслых стрэптакокаў. Састаўлена і вывучана 18 бактэрыяльных заквасак для сыроў. Рэкамендавана для вытворчасці сыроў з нізкай тэмпературай другога награвання закваска № 8, якая валодае каштоўнымі для сыраробства ўласцівасцямі. Выкарыстанне закваскі № 8 ў вытворчасці сыру дазваляе інтэнсіфікаваць пратэаліз, што садзейнічае павышэнню спеласці сыру і паляпшэнню яго смакавых паказчыкаў. Штамы, адабраныя ў састаў закваскі адпаведна распрацаванаму спосабу, маюць здольнасць расчэпляць горкія пептыды, прадухляючы заганя сыру. Распрацаваны тэхналагічны рэгламент па вытворчасці цвёрдых сычужных сыроў з нізкай тэмпературай другога награвання з выкарыстаннем закваскі № 8.

## ABSTRACT

Shulyak Tatiana Leonidovna

Selection and use of proteolytic active lactic streptococci in manufacture of cheeses with low temperature cooking

LACTIC STREPTOCOCCI, PHYSIOLOGICAL-BIOCHEMICAL PROPERTIES, PROTEOLYTIC ACTIVITY, PROTEASES, BITTER PEPTIDES, METHOD OF SELECTION OF STARTER CULTURES, STARTERS, CHEESE, PROTEOLYSIS, ORGANOLEPTIC INDEXES

Lactic streptococci are used in manufacture of cheeses as the specially selected and prepared combinations – starters. The development of bitter taste in cheeses depends on a relationship of activities of cell wall-bound and intracellular proteases and as a result organoleptic indexes of a ready product are worsened.

The purpose of the work is the raise of quality of small rennet cheeses on the basis of the development and practical use of a method of selection of lactic streptococci in structure starters for cheeses on proteolytic activity, minding the relationship of activities of cell wall-bound and intracellular proteases.

According to the basic purpose of the work, proteolytic activity and other physiological-biochemical properties of 47 strains of lactic streptococci *Lcc. lactis subsp. lactis*, *Lcc. lactis subsp. cremoris*, *Lcc. lactis subsp. diacetylactis* are investigated, taking account of their use in cheesemaking. The new scientifically reasonable method of selection of lactic streptococci in structure starters for cheeses on proteolytic activity is developed. For the first time 13 strains of lactic streptococci are offered for practical use. 18 bacterial starters for cheeses are composed and investigated. Possessing valuable properties starter № 8 is recommended for manufacture of cheeses with low temperature cooking. Use of starter № 8 in manufacture of cheese allows to intensify proteolysis that promotes a raise of cheese maturity and improving its flavouring indexes. Selected, according to the developed method, strains in the starter structure are capable to split bitter peptides and prevent cheese defects. The technological regulations on manufacture of hard rennet cheeses with low temperature cooking are developed.

