

## НОВЫЕ ПОДХОДЫ В ОЦЕНКЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ СВОЙСТВ МИКРООРГАНИЗМОВ КВАСНОГО ПРОИЗВОДСТВА

Е. А. Цед

Разработаны новые критерии оценки технологических свойств микроорганизмов, используемых для сбраживания квасного суслу и получения хлебного кваса, заключающиеся в определении коэффициентов кислотообразования  $K_k$  и ароматообразования  $K_a$ , что позволяет оценить способность применяемого микроорганизма обеспечивать кислотность и ароматический профиль напитка на заданном уровне.

### Введение

Производство традиционного хлебного кваса базируется на процессах сочетанного молочнокислого и спиртового брожений, осуществляемых специальными расами дрожжей и молочнокислых бактерий, технологические свойства которых определяют качество готового напитка.

За последние несколько лет в технологии квасного производства произошли существенные изменения, связанные с применением новых видов оборудования и дополнительных технологических операций, направленных на увеличение сроков годности получаемого напитка и повышение его качества [1]. Однако вкус и ароматические свойства современного хлебного кваса по-прежнему зависят от вида применяемых микроорганизмов.

Спектр применяемых микроорганизмов в квасном производстве достаточно широк. Однако, к большому сожалению, в настоящее время на современных предприятиях, выпускающих квас брожения, чаще всего применяется упрощенный вариант получения хлебного кваса, предусматривающий использование в качестве сбраживающего компонента – прессованных хлебопекарных дрожжей [2–4]. Кажущаяся простота применения такой технологии оборачивается удлинением продолжительности брожения, отсутствием требуемой кислотности кваса, ухудшением органолептических свойств напитка и снижением его стойкости. Кроме того, хлебопекарные дрожжи содержат неконтролируемую контаминантную микрофлору, среди которой могут находиться патогенные и условно-патогенные микроорганизмы, способные вызывать пищевые заболевания [5]. В итоге хлебный квас, сброженный хлебопекарными дрожжами, помимо своих низких органолептических свойств может представлять собой опасность для здоровья человека. Поэтому для производства хлебного кваса необходимо использование именно чистых культур микроорганизмов, обеспечивающих получение продукта с высокими физико-химическими и органолептическими свойствами.

Традиционными микроорганизмами, применяемыми в производстве хлебного кваса, являются чистые культуры квасных дрожжей рода *Saccharomyces cerevisiae* расы М и молочнокислых бактерий (МКБ) рода *Betabacterium brevis* штаммы  $\beta$ -11 и  $\beta$ -13, которые были выделены Л.И. Чеканом из лучших сортов кваса кустарного производства еще в 20-е годы прошлого столетия [2, 6]. Вполне естественно, что при столь длительном культивировании данных культур и их многократных последовательных пересевах свойства микроорганизмов значительно ухудшаются – снижается их бродильная активность и способность синтезировать биологически активные вещества, замедляются процессы размножения и т.д.

Кроме того, для производства кваса предлагают применять микроорганизмы, заимствованные из других производств, например, винные дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae* расы Феодосин-1-19 и Кахури), пивные дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae* и *Saccharomyces carlsbergensis* logos расы 5599, 163, 776, 44, 11, Киевская низового брожения), спиртовые дрожжи (*Saccharomyces cerevisiae* V-30, K-81, M-81, *Schizosaccharomyces pombe*-80, р. *Kluveiyromyces*)

[1, 7, 8, 9], что, несомненно, изменяет органолептический фон напитка в худшую сторону.

Поэтому вопросы поиска и исследования новых, перспективных видов микроорганизмов, способных не только интенсивно сбраживать квасное сусло, но и обеспечивать при этом высокие органолептические показатели получаемого напитка, являются весьма актуальными и имеют важное научно-практическое значение. Кроме того, учитывая большое разнообразие применяемых для сбраживания квасного сусла источников брожения, необходим поиск ключевых критериев оценки их свойств, позволяющих делать строгий отбор сбраживающего компонента с позиции получения напитка, соответствующего всем требованиям безопасности и вкусовых характеристик.

В связи с этим целью настоящей работы являлись исследования по разработке критериев оценки метаболической способности применяемых в квасном производстве микроорганизмов, способных обеспечивать высокие показатели качества хлебного кваса, и в первую очередь его органолептический и вкусовой фон.

### Результаты исследований и их обсуждение

Потенциальным источником микроорганизмов, вызывающих процессы брожения, является рисовый гриб *Oryzomycesindici* ПГЦ [10]. Однако наличие в его составе уксуснокислых бактерий, являющихся возбудителями порчи хлебного кваса, ограничивает использование рисового гриба как цельной поликультуры микроорганизмов в квасном производстве. Вместе с тем присутствие в рисовом грибе молочнокислых бактерий и дрожжей, способных потенциально участвовать в процессах брожения квасного сусла, предопределило необходимость проведения исследований по определению возможности использования их чистых культур при получении хлебного кваса.

На основании изученных нами биохимических свойств микроорганизмов, входящих в состав рисового гриба *Oryzomycesindici* ПГЦ [11], для исследований были отобраны две культуры микроорганизмов-ассоциантов: молочнокислые бактерии (МКБ) *Lactobacillusparacasei*-*subsp. Paracasei* СК (далее *Lb.paracasei* СК) и дрожжи *Zygosaccharomyces fermentati* *Naganishi* CD (далее *Zygosacch.fermentati* CD), использование которых предполагает возможность целенаправленного формирования заданных физико-химических и органолептических показателей качества готового напитка.

Были проведены исследования по определению технологических свойств новых культур микроорганизмов – молочнокислых бактерий-ассоциантов *Lb.paracasei* СК и дрожжей-ассоциантов *Zygosacch.fermentati* CD – применительно к условиям квасного производства, показавшие перспективность их использования для сбраживания квасного сусла [12, 13]. Оптимальные параметры их культивирования на квасном сусле представлены в таблице 1.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что условия жизнедеятельности исследуемых микроорганизмов согласуются с параметрами ведения технологического процесса получения хлебного кваса и их возможно применять для сбраживания квасного сусла.

Для установления генеративной активности новых дрожжей-ассоциантов *Zygosacch.fermentati* CD была также исследована динамика роста их популяции на квасном сусле в зависимости от продолжительности культивирования. В качестве контроля использовали дрожжи рода *Saccharomyces cerevisiae* расы М и КМ-94 применяемые для сбраживания квасного сусла [2, 14]. Установлено, что динамика роста дрожжей-ассоциантов *Zygosacch.fermentati* CD на квасном сусле в сравнении с классическими квасными дрожжами рода *Saccharomyces cerevisiae* расой М и расой КМ-94, характеризуется следующими фазами: продолжительность лаг-фазы – 1–2 часа, экспоненциальной фазы – 12–14 часов, за время которой дрожжи-ассоцианты *Zygosacch.fermentati* CD накапливают на 68 % клеток больше, чем раса М, и на 45 % больше, чем дрожжи расы КМ-94; после чего следует стационарная фаза, когда дрожжи-ассоцианты *Zygosacch.fermentati* CD проявляют свою максимальную бродильную активность к 20–22 часам культивирования, которая превышает таковую в сравнении с дрожжами расы КМ-94 и расы М на 11 % и 35 % соответственно.

Для определения метаболической способности изучаемых молочнокислых бактерий и дрожжей продуцировать вещества, обуславливающие органолептические и вкусовые характеристики хлебного кваса, чистые культуры МКБ-ассоциантов *Lb.paracasei* СК и дрожжей-ассоциантов *Zygosacch.fermentati* CD вносили в стерильное 8 %-ное квасное сусло, которое термостатировали в течение 24 часов при оптимальной для их развития температуре 30 °С.

Таблица 1 – Технологические свойства микроорганизмов-ассоциантов рисового гриба применительно к условиям квасоварения

Наименование параметров	Наименование микроорганизмов	
	Молочнокислые бактерии <i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i> СК	Дрожжи <i>Zygosacch aromyces fermentati</i> Naganishi CD
Форма и размеры клеток, мкм	Неподвижные грамположительные палочки (1,06–0,50) – (2,75–0,66)	Клетки круглые, слегка овальные (2,0–7,0)×(3,0–8,0)
Углеводный профиль	Сбраживают глюкозу, мальтозу, лактозу, сахарозу, трегалозу, рибозу, адонитол, галактозу, фруктозу, маннозу, дульцитол, маннитол, сорбитол, α-метил-D-глюкозид, N-ацетил-глюкозамин, амигдалин, арбутин, эскулин, салицилин, целлобиозу, инулин, гентобиозу, D-гуранозу, D-тагатозу.	Сбраживает: глюкозу, сахарозу, мальтозу, раффинозу. Ассимилируют: галактозу, L-сорбозу, целлобиозу, трегалозу, мелецитозу, инулин, этанол, маннит, сорбит, α-метил-D-глюкозид, салицин, молочную и янтарную кислоты.
Температура, °С	28–32	25–35
pH	3–4	4–6
Бродильная активность, %	–	0,45–0,52
Условия хранения	Квасное сусло и среда МРС, температура 4–6 °С, время оптимального пересева на свежую питательную среду – 1 раз в 12 дней	Сусло-агар, температура 6–8 °С, время оптимального пересева на свежую питательную среду – 1 раз в 20 дней.

В полученных разводках микроорганизмов определяли титруемую кислотность и ароматические вещества (карбонильные соединения, летучие жирные кислоты, диацетил, ацетон), которые относятся к важнейшим компонентам, отвечающим за вкус и аромат напитка. В качестве контроля служили разводки микроорганизмов, традиционно применяемые в квасном производстве, – молочнокислые бактерии рода *Betabacterium brevis* штаммы β-11 и β-13 и дрожжи рода *Saccharomyces cerevisiae* расы М и КМ-94. Полученные результаты представлены в таблице 2.

Как следует из данных таблицы 2, все исследуемые микроорганизмы в ходе своей жизнедеятельности по-разному продуцируют ароматообразующие и кислотообразующие вещества, что подтверждает нашу цель исследований и согласуется с необходимостью выявления ароматической и кислотообразующей способности микроорганизмов, применяемых для сбраживания квасного сусла и необходимости разработки новых аналитических подходов в оценке показателей технологических свойств сбраживающего компонента.

Таблица 2 – Содержание ароматообразующих соединений и титруемой кислотности в разводках чистых культур микроорганизмов, используемых для сбраживания кислого суслу

Наименование микроорганизмов	Содержание				
	ЛЖК, мг на 100 см <sup>3</sup> разводки	Карбонильных соединений, мг/экв на 100 г СВ	Диацетила, мг на 100 см <sup>3</sup> разводки	Ацетоина, мг на 100 см <sup>3</sup> разводки	Кислотность, см <sup>3</sup> 1 моль/дм <sup>3</sup> р-ра NaOH на 100 см <sup>3</sup> разводки
<i>B.brevis</i>	16,6±0,83	10,88±0,54	0,268±0,01	0,023±0,001	4,6±0,23
<i>β-11 uβ-13</i>					
<i>Sach. cerevisiaeM</i>	8,8±0,44	14,65±0,73	0,033±0,001	0,044±0,002	0,8±0,045
<i>Sacch. cerevisiae KM-94</i>	9,4±0,47	12,41±0,62	0,049±0,002	0,037±0,001	1,0±0,05
<i>Lb.paracasei CK</i>	19,7±0,9	15,9±0,7	0,186±0,009	0,019±0,001	5,2±0,26
<i>Zygosacchfermentati CD</i>	14,9±0,7	14,05±0,7	0,023±0,001	0,028±0,001	2,9±0,14

Нами предлагаются два критерия оценки ароматических и кислотообразующих свойств сбраживающих компонентов – коэффициент кислотообразования ( $K_K$ ), характеризующий способность микроорганизма продуцировать вещества кислого характера и обеспечивать кислотность напитка на заданном уровне, и коэффициент ароматообразования ( $K_A$ ), характеризующий степень влияния продуктов жизнедеятельности микроорганизма на ароматический профиль напитка.

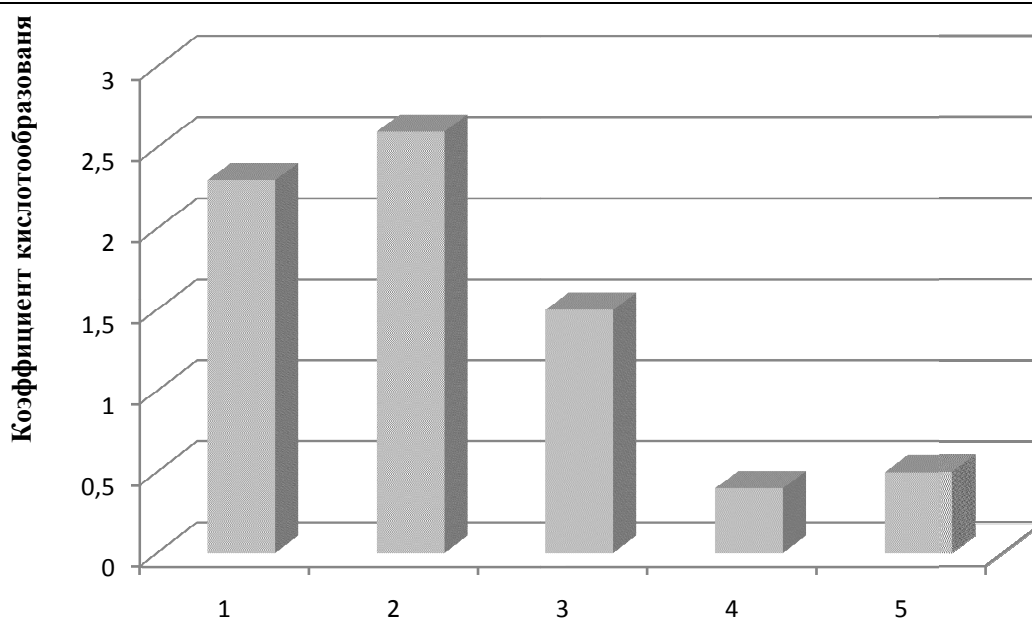
Коэффициент кислотообразования ( $K_K$ ) определяется как отношение фактической титруемой кислотности среды ( $K_F$ ) к эталонной ( $K_Э$ ), в качестве которой принята стандартная кислотность сброженного суслу равная 2,0 см<sup>3</sup> 1 моль/дм<sup>3</sup> р-ра NaOH на 100 см<sup>3</sup> напитка.

$$K_K = K_F / K_Э \quad (1)$$

Значение  $K_K > 1$  свидетельствует о высокой кислотообразующей способности применяемого микроорганизма, и соответственно при  $K_K < 1$  кислотообразование низкое. В нашем случае, коэффициент кислотообразования ( $K_K$ ) для развонок молочнокислых бактерий *B.brevisβ-11 uβ-13* составил 2,3 (4,6/2,0), для *Lb.paracasei CK* – 2,6 (5,2/2,0); для *Zygosacchfermentati CD* – 1,5 (2,9/2,0); для *Sach.cerevisiae M* – 0,4(0,8/2,0); для *Sach.cerevisiae KM-94* – 0,5(1,0/2,0) (рисунок 1).

Как следует из данных рисунка 1, наибольшей кислотообразующей способностью обладают продуценты молочной кислоты – молочнокислые бактерии, из которых наибольшим коэффициентом кислотообразования характеризовались МКБ-ассоцианты *Lb.paracasei CK* ( $K_K=2,6$ ). Среди дрожжевых развонок наиболее высокое кислотообразование отмечено у выделенных из рисового гриба дрожжей *Zygosacchfermentati CD* ( $K_K=1,45$ ).

Таким образом, определение коэффициента кислотообразования ( $K_K$ ) позволяет оценить способность используемого сбраживающего компонента обеспечивать кислотность хлебного кваса на требуемом нормативном уровне.



1 – *B.brevis β-11+β-13*, 2 – *Lb.paracasei* CK, 3 – *Zygosacchfermentati* CD,  
4 – *Sach.cerevisiae* M, 5 – *Sach.cerevisiae* KM-94

**Рисунок 1 – Сравнительный анализ кислотообразующей способности микроорганизмов квасного производства**

Коэффициент ароматообразования ( $K_A$ ), характеризующий степень продуцирования микроорганизмом ароматических веществ, рассчитывается по следующей формуле:

$$K_A = (C_{ЛЖК} + C_{КС} + C_{Д} + C_A) / (C_{ЛЖКЭ} + C_{КСЭ} + C_{ДЭ} + C_{АЭ}) \quad (2)$$

где  $C_{ЛЖК}$  – фактическое содержание ЛЖК в сброженной среде, мг на 100 см<sup>3</sup> напитка;

$C_{КС}$  – фактическое содержание карбонильных соединений в сброженной среде, мг/экв на 100 г СВ;

$C_{Д}$  – фактическое содержание диацетила в сброженной среде, мг на 100 см<sup>3</sup> напитка;

$C_A$  – фактическое содержание ацетоина в сброженной среде, мг на 100 см<sup>3</sup> напитка;

$C_{ЛЖКЭ}$  – эталонное содержание ЛЖК в сброженной среде, мг на 100 см<sup>3</sup> (эталонным значением взята концентрация ЛЖК, образуемая традиционно применяемыми в квасном производстве микроорганизмами: для молочнокислых бактерий МКБ *B.brevis β-11 и β-13* (16,6 мг на 100 см<sup>3</sup> напитка), для дрожжей (*Sach.cerevisiae* пасты M (8,8 мг на 100 см<sup>3</sup> напитка);

$C_{КСЭ}$  – эталонное содержание карбонильных соединений в сброженной среде, мг/экв на 100 г СВ (эталонным значением взята концентрация карбоксильных соединений, образуемая традиционно применяемыми в квасном производстве микроорганизмами: для молочнокислых бактерий МКБ *B.brevis β-11 и β-13* (10,88 мг/экв на 100 г СВ), для дрожжей (*Sach.cerevisiae* пасты M (14,65 мг/экв на 100 г СВ);

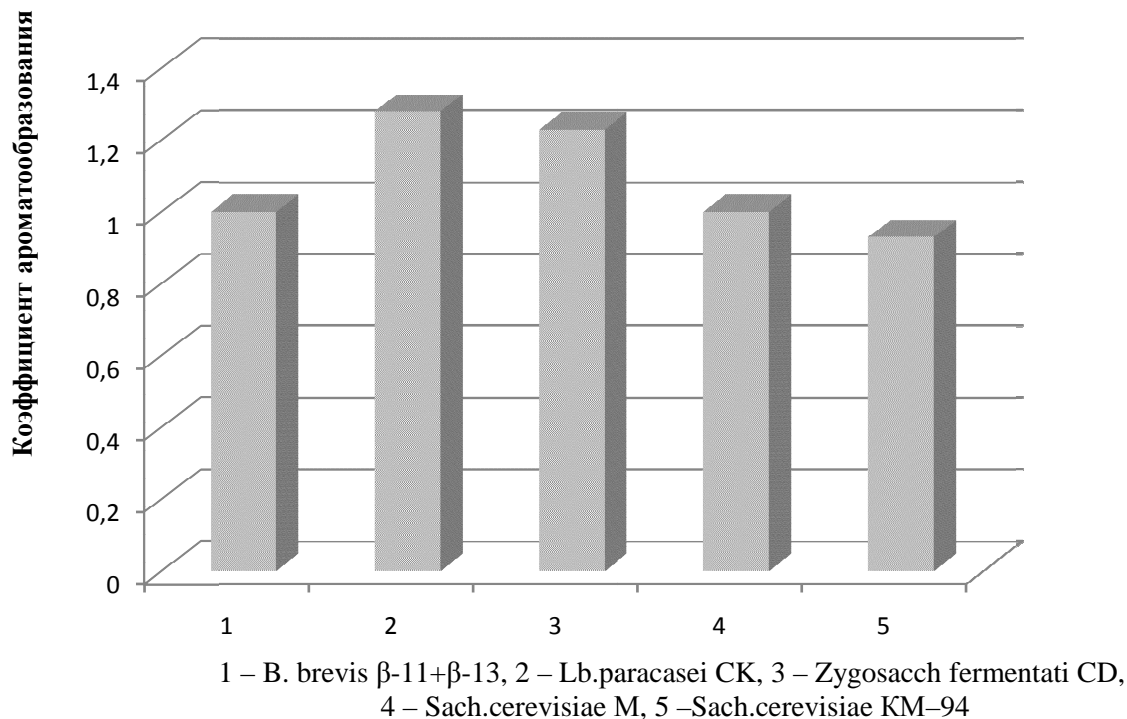
$C_{ДЭ}$  – эталонное содержание диацетила в сброженной среде, мг на 100 см<sup>3</sup> напитка (эталонным значением взята концентрация диацетила, образуемая традиционно применяемыми в квасном производстве микроорганизмами: для молочнокислых бактерий МКБ *B.brevis β-11 и β-13* (0,27 мг на 100 см<sup>3</sup> напитка), для дрожжей (*Sach.cerevisiae* пасты M (0,033 мг на 100 см<sup>3</sup> напитка);

$C_{АЭ}$  – эталонное содержание ацетоина в сброженной среде, мг на 100 см<sup>3</sup> напитка (эталонным значением взята концентрация ацетоина, образуемая традиционно применяемыми в квасном производстве микроорганизмами: для молочнокислых бактерий МКБ *B.brevis β-11 и β-13* (0,023 мг на 100 см<sup>3</sup> напитка), для дрожжей (*Sach.cerevisiae* пасты M (0,044 мг на 100 см<sup>3</sup> напиток);

напитка).

Значение  $K_A > 1$  свидетельствует о высоком ароматическом статусе применяемого микроорганизма, а при  $K_A < 1$  степень влияния продуктов жизнедеятельности микроорганизма на ароматический профиль напитка низкая. Расчетные значения коэффициентов ароматообразования у исследуемых микроорганизмов представлены на рисунке 2.

Как свидетельствуют данные рисунка 2, наибольшими значениями  $K_A$  характеризуются чистые культуры микроорганизмов-ассоциантов, выделенных из рисового гриба: молочнокислые бактерии-ассоцианты *Lb.paracasei* CKс  $K_A=1,28$  и дрожжи-ассоцианты *Zygosacch fermentati* CDс  $K_A=1,23$ .



**Рисунок 2 – Сравнительный анализ ароматообразующей способности микроорганизмов квасного производства**

Таким образом, проведенные исследования позволили установить, что новые молочнокислые бактерии-ассоцианты *Lb.paracasei* CK и дрожжи-ассоцианты *Zygosacch fermentati* CD, выделенные из состава рисового гриба *Oryzamycesindici* ПГЦ, характеризуются высокой степенью кислото- и ароматообразования, что предопределяет перспективность их использования для сбразивания квасного сула за счет формирования оптимального вкусового и органолептического фона получаемого хлебного кваса.

### Заключение

Предложены новые критерии оценки технологических свойств микроорганизмов-источников брожения квасного производства, заключающиеся в определении коэффициентов кислотообразования  $K_K$  и ароматообразования  $K_A$ , и позволившие установить, что новые молочнокислые бактерии-ассоцианты *Lactobacillusparacaseisubsp. paracasei* CK и дрожжи-ассоцианты *Zygosaccharomyces fermentati* Naganishi CD характеризуются высокой степенью кислото- и ароматообразования, что весьма важно для формирования заданных показателей качества хлебного кваса с высокими физико-химическими и органолептическими свойствами.

### Литература

- 1 Исаева, В. И. Современные аспекты производства кваса (теория, исследования, практика) / В.И. Исаева; при участии Т.В. Ивановой, Н.М. Степановой, Л.М. Думбравой, Н.Н. Раттэль. – М.: ОАО «Московская типография № 6», 2009. – 304 с.
- 2 Рудольф, В. В. Производство кваса / В.В. Рудольф. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1982. – 152 с.
- 3 Мальцев, П.М. Технология безалкогольных и слабоалкогольных напитков / П.М. Мальцев, М.В. Заирная. – М.: Пищевая пром-сть, 1970. – 356 с.
- 4 Помозова, В. А. Производство кваса и безалкогольных напитков / В. А. Помозова. – СПб: ГИОРД, 2006. – 192 с.
- 5 Новаковская, С. С. Справочник по производству хлебопекарных дрожжей / С.С. Новаковская, Ю.И. Шишацкий. – М.: Пищевая промышленность, 1980. – 375 с.
- 6 Чекан, Л. И. Комбинированное молочнокислое и спиртовое брожение в приготовлении кваса // Бродильная пром-сть. – 1931. – № 11. – С. 12–13.
- 7 Кислая, Л. В. Влияние рас дрожжей на сбраживание суслу и его качество / Л.В. Кислая, Е.А. Опекуха, В.Л. Прибыльский // Известия вузов. Пищевая технология. – 1990. – 5 с. – Деп. в АгроНИИТЭИпищепроме 28.02.90. – № 2212-пщ 90. // Химия/РЖ ВИНТИ. – 1990. – № 13. – С. 65.
- 8 Домарецкий, В. А. Технология экстрактов, концентратов и напитков из растительного сырья / В.А. Домарецкий. – М.: ФОРУМ, 2007. – 444 с.
- 9 Дерканосов, Н. И. Выбор расы дрожжей для сбраживания хлебного кваса // Известия вузов СССР. Пищевая технология. – 1978. – № 1. – С.86–89.
- 10 Цед, Е. А. Рисовый гриб – основа безалкогольных напитков / Е.А. Цед, Л.М. Королева, В.Л. Прибыльский, Л.И. Рыдевская. // Пиво и напитки. – 2001. – № 5. – С. 38.
- 11 Цед, Е. А. Природные консорциумы микроорганизмов как потенциальные источники бродильных процессов / Е.А. Цед // Вестник МГУП. — 2012. – № 2(13) – С. 93–100.
- 12 Цед, Е. А. Применение нового вида дрожжей *Zygosaccharomyces fermentatinaganishi* в квасном производстве / Е.А. Цед, З. В. Василенко, Л.М. Королева, С.В. Волкова // Пищевая промышленность: наука и технологии. – 2010. – № 4(10) – С. 52–59.
- 13 Цед, Е. А. Рисовый гриб как источник новых молочнокислых бактерий для квасного производства / Е.А. Цед, З.В. Василенко, Л. М. Королева, С.В. Волкова, Ю. А. Глушцова // Пиво и напитки. – 2011. – № 4. – С. 22–25.
- 14 Прибыльский, В. Л. Изучение технологических свойств новой расы квасных дрожжей. / В.Л. Прибыльский, Г.И. Косминский, Е.А. Цед, Л.М. Якиревич, М.А. Хотомцева // Известия вузов. Пищевая технология. – 2000. – № 4. – С. 46–47.

*Поступила в редакцию 16.06.2017*