New Knowledge Journal of Science

Списание за наука „Ново знание”

University of Agribusiness and Rural Development Academic Publishing House
Bulgaria

Академично издателство на Висше училище по агробизнес и развитие на регионите
Пловдив

http://uard.bg

СУХ ПРЕПАРАТ СТАРТЕРНИ КУЛТУРИ ОТ МЛЕЧНОКИСЕЛИ МИКРООРГАНИЗМИ

Ат. Краевска, П. Иванова, Ст. Андонова

Институт за изследване и развитие на храните - Пловдив

***Ключови думи**:*
млечнокисела закваска
Lb.plantarum щам 226/1

Резюме

Целта на тази работа е да се проучи възможността за производство на лиофилизирана млечно кисела закваска Lb. plantarum щам 226/1, предназначена за стартерна култура при производството на туршии. Резултатите, получени от нашите изследвани, доказват постигането на тази цел чрез определените параметри на процеса.

DRY COMPOSITION OF STARTER CULTURES FORM LACTIC ACID MICROORGANISMS

A. Kraevska, P. Ivanova, S. Andonova

Food research and development institute - Plovdiv

***Key words**:*
lactic acid starter
Lb.plantarum strain 226/1
pickles
lyophilization

Abstract

The purpose of this work is to investigate the possibility of producing of lyophilized lactic acid starter *Lb. plantarum* strain 226/1, designed for a starter culture in the production of pickles. The results of our studies demonstrate achievement of this goal by the specified process parameters.

Увод

Сублимационното сушене се прилага широко при производството на сухи закваски от млечнокисели бактерии.

Преживяемостта и запазването на първоначалните свойства на млечнокиселите микроорганизми при замразяване и сублимационно сушене зависят от много фактори. Основните са биологичните им особености, съставът на защитната (протективната) среда, режимите на замразяване и сушене, остатъчната влажност, условията на съхранение. По-обстойно са изследвани видовете Str. termophilus, Lb. bulgaricum и Lb. acidophilum. Установено е, че различните видове и щамове млечнокисели бактерии имат различна чувствителност към замразяване и сублимационно сушене. Не ни е известно обаче какво е влиянието им върху преживяемостта на млечнокисела закваска от Lb. Plantarum - основният микроорганизъм при производството на туршии. Определихме най-целесъобразните варианти на третиране и режимните параметри за протичане на посочените процеси.

Материали и методи

Изследвахме млечнокиселата закваска от Lb. plantarum щам 226/1, регистриран в Националната банка за промишлена микробиология и клетъчни култури. Той е получен чрез многостепенен скрининг на 520 щама и има висока биохимична активност - натрупване на млечна киселина, устойчивост към натриев хлорид и възможност за развитие при температура 15 - 16^{o}C.

Като среда за култивиране и същевременно като защитна среда използвахме обезмаслено краве

мляко, инокулирано с 4 - 5 % бактериален концентрат от Lb.plantarum.

Криопротекторите играят съществена роля при лиофилизацията на бактериите - главно захари, аминокиселини, техните соли, естествените биологични субстрати и полимери.

Битото мляко е утвърден биопротектор при замразяване и лиофилизация на млечнокисели бактерии поради високото съдържание на лактоза, защитната активност, естествената среда за култивиране, липсата на влияние върху вкуса на закваската и не на последно място – ниската цена.

Микробната концентрация на закваската преди замразяването вариране от $0{,}8.10^8$ до 4.10^8.

В изследването ни основният критерий за качеството на предлагания щам при различни обработки е неговата преживяемост. От тази гледна точка се спряхме на най- целесъобразните варианти и режими на третиране. Общото микробно число определихме чрез класическия метод на Р.Кох - директно броене на прорастнали в твърда хранителна среда колонии от 1 cm^3 суспензия, получена чрез десеткратни пастьорови разреждания и съдържаща от 30 до 300 микробни тела, както и по метода на Мак Креди.

Експериментирахме в целия възможен за реализация диапазон на скоростите на замразяване - от 1.10^2 C/s до 1^o C/s, като използвахме следните методи на охлаждане:

- във въздушна среда при естествена и принудителна циркулация на въздуха, с температури от -20 ^{o} C до -75 ^{o} C и скорост от 6 до 8 m/s;
- в течен студоносител (етилен-глюкол) в температурния диапазон от -20^o C до -70^o C при естествено и принуцително движение на студоносителя със скорост до 2 м/сек;
- с течен азот с температура -196^{o}C, чрез оросяване.

Закваската поставихме в измервателна гилза, която моделира процеса в безкрайна пластина с дебелина 5 - 7 mm. Това е дебелината на слоя продукт в тавите на сублиматора, която се ползва в практиката.

С малоинерционна термодвойка и автоматичен пишещ потенциометър клас 0,1 % заснехме термограмата на замразяване и отчетохме средната скорост на процеса в интервала от +15 до -15^o C.

Паралелно определихме броя на виталните микроорганизми преди и след замразяването, като за всеки вариант на замразяване проведохме от 3 до 16 паралелни опита. При микробиологичните изследвания всяко определение се прави 5 - 6 пъти. Като протективна среда използвахме 9% обезмаслено мляко с pH от 4,6 до 4,8.

Основните параметри на сублимационното сушене - температурата на пълно втвърдяване (T_{cs}) , както и минималната и максималната температура на началното разтапяне (T_{im} и T'_{im}), са определени по метода на диференциалния термичен анализ. Работи се с бактериален концентрат.

Резултати и обсъждане

Обобщените данни за преживяемостта на Lb.plantarum щам 226/1 при различни методи на замразяване и при различни скорости са представени в таблици 1 и 2.

От данните се вижда, че преживяемостта на стартерните култури варира в широки граници. Във всички случаи тя е доста висока за този род микроорганизми. Те трудно понасят подобно третиране, сравнени например с коковите бактерии.

Табл.1. Обобщени данни за преживяемостта на Lb.plantarum щам 226/1 при различни методи на замразяване

Метод на замразяване	**Температурни условия, ^{o}C**	**Степен на преживяемост, %**	
		от –до	средно
Въздушно-свободна конвекция	-20	48-57	55
Въздушно с принудително движение	-20 до -30	55-65	60
Въздушно-свободна конвекция	-60 до -75	83-94	91
Въздушно с принудително движение	-60-75	72-88	80
В течен студоносител - свободна конвекция	-70	95-98	96
В течен студоносител с принудително движение	-70	97-100	98
В течен азот - чрез потапяне	-196	82-89	85

Табл. 2. Обобщени данни за преживяемостта на Lb.plantarum щам 226/1 при различни скорости на замразяване

Скорости на замразяване от-до, ^{o}C/ s	Степен на преживяемост средно, %
0,01-0,02	58
0,04-0,09	75
0,1-0,3	70
0,7-1	85

Табл. 3. Влияние на концентрацията на протективната среда върху преживяемостта на стартерни култури Lb.plantarum

Протективна среда	Жизнеспособни клетки, КОЕ./cm^3		Степен на преживяемост, %
	Преди замразяване	След замразяване	
Обезмаслено краве мляко с 9 % сухи вещества	4.10^8	$2,8.10^8$	70
Обезмаслено краве мляко с 12 % сухи вещества	2.10^7	$1,7.10^7$	85

Очерта се значително предимство на нискотемпературните методи на замразяване. Въздушните и имерсионните средно температурни методи (до -30° С) гарантират преживяемост около 60 %, докато нискотемпературните (до –75° С) и свръх нискотемпературните (течен азот) осигуряват много висока преживяемост – 80 – 95 процента.

Резултатите показват, че замразяването с течен азот няма предимство пред нискотемпературното въздушно или имерсионно замразяване. Това облекчава промишлената технология за получаване на сухи закваски и нейните ефекти.

От гледна точка на криобиологията преживяемост над 7 % е добър резултат, който може да бъде постигнат както чрез бавно замразяване при скорости от 0,05 до 0,3° С/s , така и при високи скорости от 0,7 до 1° С/s (течен азот).

Влиянието на концентрацията на протективната среда върху преживяемостта на микроорганизмите в изследваната закваска е представено в таблица 3. Резултатите са осреднени данни от 4 определения. Замразяването е проведено във въздушна среда при -40° С и pH на закваската 4,8. И двете среди осигуряват добра преживяемост, но по-високата концентрация е със значително предимство.

Диференциалният термичен анализ при затоплянето на предварително замразената закваска в интервал -196- ° С, позволиха да се определи температурата на втвърдяване ($T_{cs.}$=-38,5°С), както и минималната и максималната температура на началното разтапяне (T_{im} = - 35 °С и T'_{im} = -21 °С).

В таблица 4 са посочени експерименталните данни и режимите на замразяване и сублимационно сушене на стартерни култури Lb.plantarum щам 226/1.

Табл. 4. Режими на замразяване и сублимационно сушене на стратерни култури Lb. plantarum щам 226/1

параметри	мярка	Вид на инсталацията за сублимационно сушене	
		С радиационен топлодвод	С кондуктивен топлоподвод
Продуктивна среда		12 % обезмаслено краве мляко	
Замразяване			
Температурен диапазон	°С	-50 до -75	-50 до -75
Начин на замразяване		- В течен студоносител - Във въздушна среда, със или без принудително движение	
Темпериране	°С	-40 до -45	-35 до-40
Сублимационно сушене			
Натоварване на носещата повърхност със закваска	kg/m^2	7,5	7,5
Дебелина на слоя закваска	mm	5-7	5-7
Температура на закваската при зареждане	°С	-40 до -45	-38 до -40
Температура на сублимация	°С	-30 до -35	-30 до -35
Общо налягане в сублиматора	Pa	19 до 21	19 до 21
Температура в десублиматора При сублимация При доизсушаване	°С °С	-50 -60 до -65	-50 -50 до -55
Максимална температура на топлоносителя	°С	120	
Максимална температура на нагревните плочи	°С	100	32 до 33
Максимална температура на продукта	°С	30	30
Време за цикъла	h	13 до 14	36 до 38
Остатъчна влажност на сухата закваска	%	2 до 3	2 до 3
Начин на съхранение на сухата закваска		Под вакуум	Под вакуум
Време за съхранение на сухата закваска	месеци	До 6	До 6

Влиянието на сублимационното сушене върху преживяемостта на стартерни култури е представено в таблица 5.

Двата режима на радиационен топлоподвод дават практически едни и същи резултати. При кондуктивния топлоподвод резултатите са незадоволителни.

В таблица 6 е представено влиянието на концентрацията на протективната среда. Трябва да се отбележи, че преживяемост 55 и 70 % е много висока за пръчковидни микроорганизми.

Сухите лиофилизирани закваски претърпяват значителни промени при дългосрочно съхранение.

Преживяемостта на изследваната закваска, съхранявана при стайна температура (около 20^{o} C) в два вида херметични опаковки (във въздушна среда и под вакуум), е представена в таблица 7. Срокът на съхранение е 6 месеца.

Табл. 5. Влияние на режима на топлоподвод върху преживяемостта на стартерна култура

Режим на топлоподвод			Жизнеспособни клетки, КОЕ./ cm^3		Степен на преживяемост,%
Характеристика на топлоподвода	Продължителност на цикъла, h	Температура на плочите	Преди сублимационно сушене	След сублимационно сушене	
Радиационен „мек”	20	50	2.10^6	1,1.10^6	55
Радиационен „твърд”	13	100	2.10^8	1,2.10^8	60
Кондуктивен	38	34	1,5.10^8	1,7.10^7	11

Табл. 6. Влияние на концентрацията на протективната среда върху преживяемостта на стартерните култури

Протективна среда	Жизнеспособни клетки, КОЕ./ cm^3		Степен на преживяемост, %
	Преди сублимационно сушене	След сублимационно сушене	
Обезмаслено мляко с 9 % сухо вещество	2.10^6	1,1.10^6	55
Обезмаслено мляко с 12 % сухо вещество	2.10^7	1,4.10^7	70

Табл. 7. Изменение на микробните концентрации (бр./г) в сухата закваска в процеса на съхранение при стайна температура (15 - 20^{o} C)

Начин на съхранение	6 дни след сублимационно сушене	След 1 месец	След 3 месеца	След 6 месеца	След 1 година
въздух	1,8.10^8	1,7.10^8	1,5.10^8	1,4.10^8	1,4.10^7
вакуум	6.10^7	6.10^7	4,3.10^7	4,0.10^7	4,5.10^6

Изводи

Изследванията, представени в тази работа, доказват възможността за производство на лиофилизирана млечнокисела закваска Lb.plantarum щам 226/1, предназначена за стартерна култура при производството на туршии. Определени са параметрите на процеса.

Литература

1. Корольова, Н., М. Кондратенко- Симбиотични закваски от термофилни бактерии за производство на млечнокисели продукти, С.,Техника.

2. Лагода, И. Исследвание основных факторов при сублимационной сушке влияющих на качества и стойкость заквасох молочно-кислых бактерии, М.Изд.на ВНИИМП.

3. Поповский, В., 1975. Сублимационная сушка пищевых продуктов растительного произхождения, М., Пищевая промышленость.

4. Пушкар, Н., 1981.Проблемы криобиологии, Киев, Наукова думка.

5. Скородумова, А., 1963. Практическое руководство по технической микробиологии молока и молочных продуктов, М., Пищепромиздат,

6. Charampopoulus, D., R. Wang, S. S. Pandiella, C.Webb. 2002. Aplication of cereals and cereal components in functional foods. A review.Int. J. Food Microbiol., 82, pp.133-141.

7. Baati, L., Fabre-Ga, C., Auriol, D. 2000. Study of the cryotolerance of Lactobacillus acidophilus; Effect of culture and freezing conditions on the viability and cellular protein levels. International Journal of Food Microbiology, 59, pp. 241-247.

8. Broadbent, J., C. Lin, 1999, Effect of heat shock or cold shock treatment on the resistance of Lactococcus lactis to freezing and lyophilization. Cryobiology, 39, pp.88-102.

9. Carvalho, A., J. Silva, P. Ho, P. Teixeira, P. Gibbs, 2002.Effect of additives on survival of freeze-dried Lactobacillus plantarum and Lactobacillus rhamnosus during storage.Biotechnology Letters, 24, (19), pp. 1587-1591.

10. Castro, H., P.Teixeira, R.Kirby.1995. Storage of lyophilized cultures of Lactobacillus bulgaricus upon different temperatures and atmospheres. Applied Microbiology and Biotechnology, 44, pp. 172-176.

11. Salminen, S., A.Wright,1993. Lactic acid Bacteria. Marcel Dekker, New York.