Дополнительные культуры в сыроделии. Нужны всегда, иногда или никогда?

Нинель Петровна Сорокина, канд. техн. наук, руководитель экспериментальной биофабрики
E-mail: n.sorokina@fncps.ru
Анастасия Леонидовна Бруцкая, аспирант
E-mail: a.brutskaya@fncps.ru
Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия – филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова, г. Углич

Обязательным элементом современного промышленного сыроделия являются бактериальные закваски. В соответствии с Техническим регламентом Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции» (ТР ТС 033/2013), бактериальные закваски являются функциональными компонентами, необходимыми для производства продуктов переработки молока. В главе II «Основные понятия» приведено следующее определение заквасок: «Закваски для производства продуктов переработки молока – специально подобранные непатогенные, нетоксигенные микроорганизмы и (или) ассоциации микроорганизмов (преимущественно молочнокислых)».

В техническом регламенте ТР ТС 033/2013 приведены требования к двум типам заквасок: заквасками, содержащим не менее 1 млрд. КОЕ/г, и к концентрированным заквасками, содержащим не менее 10 млрд. КОЕ/г. Кроме этого указано, что изготовитель молочной продукции должен обеспечивать безопасность производственной закваски и процессов ее производства, а также ее соответствие требованиям документа (стандарта или технического документа изготовителя, в соответствии с которым производится продукт переработки молока). Приведенные требования охватывают большинство аспектов использования заквасок: от их выбора для выработки конкретных видов молочных продуктов (*соответствие требованиям документа изготовителя*, в которых приведен состав микрофлоры молочной продукции) до соблюдения всех правил и норм в процессе работы заквасочного отделения (*обеспечение безопасности производственной закваски*).

Непосредственно в ТР ТС 033/2013 приведен состав микрофлоры ряда кисломолочных продуктов – сметаны, творога, йогурта и др., но в нем нет указаний на состав микрофлоры заквасок для сыров, который должен устанавливаться в технологических инструкциях или рецептурах по их производству.

Источник изображения: unsplash.com

После введения в действие межгосударственного стандарта ГОСТ 34372–2017 «Закваски бактериальные для производства молочной продукции. Общие технические условия» арсенал официальной терминологии в заквасочном деле существенно расширился. В этом документе приведены определения различных типов заквасок, характеризующие их состояние и свойства:
– сухие, жидкие, замороженные закваски – отражают физическую форму;
– мезофильные, термофильные и мезофильно-термофильные закваски – отражают отношение заквасочной микрофлоры к температуре;
– ароматообразующие, газообразующие, кислотообразующие закваски – отражают физиолого-биохимические свойства микрофлоры;
– защитные закваски – отражает наличие антагонистического действия на микроорганизмы порчи;
– фагоальтернативные закваски – отражает фаготип штаммов.

Но в последние годы в научно-технической литературе, в рекламных и информационных материалах изготовителей заквасок появились новые термины и понятия, которые также объясняют определенные характеристики или свойства бактериальных заквасок. В первую очередь следует обратить внимание на определения «**основные**» и «**дополнительные**» закваски (культуры). Основные закваски также называют первичными, а дополнительные – вторичными, защитными, созревательными.

Основные или первичные закваски – это бактериальные закваски, главной функцией которых является сбраживание лактозы с образованием молочной кислоты, то есть обеспечение необходимого уровня молочнокислого процесса, регламентированного технологическими инструкциями по производству молочной продукции. К основным относят закваски, включающие лактококки и термофильный стрептококк.

Дозы внесения основных заквасок значительны: обеспечивают концентрацию жизнеспособных клеток 10^6 – 10^7 в 1 мл молока. Но следует подчеркнуть, что молочнокислые бактерии основных заквасок выполняет и другие функции:
– обладают протеолитической и липолитической активностью;
– некоторые виды бактерий кроме молочной кислоты продуцируют ароматические вещества и углекислый газ (лактококки – из цитратов, лейконостоки – из цитратов и лактозы), а также экзополисахариды и специфические антибиотические вещества, подавляющие технически вредные и патогенные микроорганизмы.

Многие виды сыров можно выработать с применением только основных заквасок. Кроме этого, имеется большое количество поливидовых заквасок, в состав микрофлоры которых входят не только кислотообразующие лактококки и/или термофильный стрептококк, но и газоароматообразующие бактерии (цитратсбраживающие лактококки и лейконостоки), а также молочнокислые палочки.

Дополнительные или вторичные закваски – используются преимущественно в сыроделии; принимают участие в созревании сыров. Дозы внесения их ниже, чем основных заквасок, т. к. они не оказывают существенного влияния на уровень молочнокислого брожения в сырной ванне. При этом дополнительные закваски характеризуются более широким таксономическим разнообразием. В них входят представители не только различных видов, родов, семейств микроорганизмов, но даже другого царства (*Fungi* – грибы).

Созревательные культуры (закваски) – используются только в сыроделии. По своей сути они являются дополнительными культурами, так как не используются самостоятельно, а вносятся только дополнительно к основной закваске.

В качестве дополнительных (созревательных) культур используют:
– молочнокислые палочки родов *Lactobacillus*, *Lacticaseibacillus*, *Lactiplantibacillus*, *Limosilactobacillus* и др.;
– пропионовокислые бактерии;
– бревибактерии (бактерии сырной слизи);
– плесневые грибы (на поверхности и/или внутри головок сыра).

За рубежом, кроме этого, при изготовлении сыров, созревающих с микрофлорой поверхностной слизи, используют и дрожжи, стафилококки, коринебактерии, артробактерии, а также протеобактерию – грамотрицательную бактерию из семейства *Enterobacteriaceae* вида *Hafnia alvei*.

В молочной промышленности в настоящее время сформировалась устойчивая тенденция к расширению видового состава заквасочной микро-

Источник изображения: unsplash.com

флоры, обусловленная тем, что для современного промышленного производства характерно снижение микробного биоразнообразия, особенно в сырах из пастеризованного молока, которые вырабатываются с закваскими, имеющими регламентированный видовой и штаммовый состав.

Микробный пейзаж самоквасных кисломолочных продуктов и сыров из сырого молока был более разнообразным, но и более вариабельным, неконтролируемым и зачастую приводил к выработке некачественных и даже опасных для здоровья потребителей молочных продуктов. Это послужило толчком к использованию искусственных заквасок гарантированного состава даже в отсутствии тепловой обработки молока для обеспечения нужной направленности микробиологических процессов.

В современных условиях отечественные сыроделы решают большую задачу импортозамещения не только в объемах выпуска сыров, но и в расширении ассортимента своей продукции. Это легко увидеть на торговых полках наших магазинов. Поэтому в стремлении увеличить разнообразие сортов сыра очень важно взвешенно подходить к выбору и использованию дополнительных культур, руководствуясь положением ТР ТС 033/2013 об обеспечении соответствия заквасок требованиям документа изготовителя, в соответствии с которым производится продукт переработки молока. Сыры могут вырабатываться, к примеру, в соответствии с ГОСТ 32260-2013 «Сыры полутвердые. Технические условия» или по техническим условиям и стандартам организаций. Если сыры производятся по ГОСТ 32260-2013, то состав микрофлоры используемых заквасок должен соответствовать типовым технологическим инструкциям к этому стандарту, представленному в таблице 1.

Анализ рынка заквасок в нашей стране показывает, что практически все поставщики заквасок имеют в своем ассортименте дополнительные культуры для сыроделия. Большая доля их представлена различными видами молочнокислых палочек, среди которых встречаются хорошо знакомые нам виды, но с новыми утвержденными в 2020 г. наименованиями, а также новые, недавно выделенные виды лактобацилл. Учитывая то, что обширные изменения в классификации и номенклатуре лактобацилл произошли не так давно, не во всех нормативных и технических документах приведены новые наименования родов и видов молочнокислых палочек. Но в современной научной литературе и рекламных материалах производителей заквасок уже используются новые названия. Для внесения некоторой ясности в этот вопрос в таблице 2 при-

Таблица 1
Состав микрофлоры сыров, вырабатываемых по ГОСТ 32260-2013 «Сыры полутвердые. Технические условия»

Наименование сыра	Тип и состав микрофлоры закваски
Сыры с низкой температурой второго нагревания:	
Голландский, Костромской, Ярославский, Степной, Угличский, Эстонский, Российский, Латвийский	Мезофильные закваски, включающие: лактококки, лейконостоки, мезофильные молочнокислые палочки (видов *L. plantarum*, *L. casei*)
Сыры с высокой температурой второго нагревания:	
Советский, Алтайский, Швейцарский	Мезофильно-термофильные закваски, включающие: лактококки, термофильный стрептококк, мезофильные молочнокислые палочки (видов *L. plantarum*, *L. casei*), термофильные молочнокислые палочки (*L. helveticus*, *L. delbrueckii* sps. *lactis*), пропионовокислые бактерии

ведены старые и новые наименования лактобацилл, перечисленных в ГОСТ 34372–2017 «Закваски бактериальные для производства молочной продукции. Общие технические условия». Как видно из таблицы 2, наименования многих родов усложнились, что обусловлено тем, что род *Lactobacillus* был разделен на 23 новых рода и необходимо было дать новым родам новые наименования. При это названия всех новых родов начинаются на букву *L* и в каждом названии сохранен слог *lact* (в начале или в середине слова).

Для правильного перевода из старой в новую номенклатуру (и наоборот) родов и видов семейства *Lactobacillaceae*, в который входят молочнокислые палочки, можно воспользоваться следующей ссылкой http://www.lactobacillus.uantwerpen.be на инструмент «Лактотакс».

Наиболее часто в качестве дополнительных культур предлагаются лактобациллы видов *L. casei*, *L. pentosus*, *L. rhamnosus*, *L. paracasei*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *L. helveticus* как в моновидовом варианте, так и в составе комплексных поливидовых заквасок, включающих 2–3 вида молочнокислых палочек. Имеются также варианты совместных культур палочек и пропионовокислых бактерий. Лактобациллы обладают более высокой протеолитической активностью, чем лактококки и термофильный стрептококк. Они увеличивают скорость гидролиза казеина, что приводит к повышению содержания низкомолекулярных пептидов и свободных аминокислот – предшественников многих вкусовых и ароматических соединений.

Протеолиз считается наиболее сложным и важным биохимическим процессом формирования консистенции и вкусового профиля сыров. После действия молокосвертывающего фермента, вызывающего первичный протеолиз, протеазы лактококков основных заквасок активно расщепляют пептиды, уже присутствующие в сыре в результате начального протеолиза, до свободных аминокислот. Аминокислоты становятся доступными для превращения в различные ароматические соединения, включая кислоты, сложные эфиры, спирты, альдегиды и серо-

Таблица 2
Старая и новая номенклатура молочнокислых палочек

Наименование вида, подвида лактобацилл	
Старое наименование	**Новое наименование, утвержденное в 2020 г.**
Lactobacillus acidophilus	*Lactobacillus acidophilus*
Lactobacillus brevis	*Lactobacillus brevis*
Lactobacillus buchneri	*Lactobacillus buchneri*
Lactobacillus delbrueckii subsp. *bulgaricus*	*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*
Lactobacillus delbrueckii subsp. *delbrueckii*	*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *delbrueckii*
Lactobacillus delbrueckii subsp. *lactis*	*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis*
Lactobacillus gasseri	*Lactobacillus gasseri*
Lactobacillus helveticus	*Lactobacillus helveticus*
Lactobacillus jensenii	*Lactobacillus jensenii*
Lactobacillus jonsonii	*Lactobacillus jonsonii*
Lactobacillus casei	*Lacticaseibacillus casei*
Lactobacillus pentosus	*Lacticaseibacillus pentosus*
Lactobacillus rhamnosus	*Lacticaseibacillus rhamnosus*
Lactobacillus paracasei subsp. *paracasei*	*Lacticaseibacillus paracasei* subsp. *paracasei*
Lactobacillus paraplantarum	*Lactiplantibacillus paraplantarum*
Lactobacillus plantarum subsp. *plantarum**	*Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *plantarum**
Lactobacillus kefiri	*Lentilactobacillus kefiri*
Lactobacillus fermentum	*Limosilactobacillus fermentum*
Lactobacillus reuteri	*Limosilactobacillus* reuteri

* В утвержденных списках отсутствует вид *Lactobacillus plantarum*, приведенный в стандарте; в списки и соответственно в инструмент «Лактотакс» включен вид *Lactobacillus plantarum* subsp. *plantarum*

Источник изображения: unsplash.com

содержащие соединения. Расщепление серосодержащих аминокислот метионина и цистеина считается особенно важным процессом, приводящим к развитию специфических ароматических веществ. Молочнокислые бактерии вымирают в сыре во время его созревания, но их внутриклеточные ферменты высвобождаются после лизиса клеток и гидролизуют белки в течение всего срока созревания.

Мезофильные молочнокислые палочки *L. casei* и *L. plantarum* являются представителями характерной для сыров микрофлоры; относятся к факультативно гетероферментативным микроорганизмам: сбраживают лактозу гомоферментативно с преимущественным образованием молочной кислоты, а пентозы (рибозу, арабинозу и др.) – гетероферментативно. *L. plantarum* используются в составе микрофлоры антагонистических заквасок, так как способны продуцировать перекись водорода, подавляющую развитие маслянокислых бактерий, и специфические антибиотические вещества, ингибирующие рост кишечных палочек, шигелл, сальмонелл и других микроорганизмов. В нашей стране закваски, содержащие *L. plantarum* с антагонистической активностью к маслянокислым и энтеробактериям, широко применяются в сыроделии с 70-ых годов. Многолетний позитивный опыт применения в сыроделии характерен и для *L. casei*.

Палочки *L. rhamnosus* и *L. paracasei* на первый взгляд кажутся новыми микроорганизмами, но ранее они являлись подвидами *L. casei* и могли использоваться в закваскаx под этим наименованием. Следует отметить, что в качестве дополнительных культур используются не любые культуры какого-либо вида, а хорошо изученные индивидуальные штаммы лактобацилл, обладающие технологически значимыми, можно сказать целевыми, свойствами. Некоторые штаммы ценны своим антагонистическим действием на микроорганизмы порчи, другие ускоряют созревание и обеспечивают в сыре определенные вкусовые ноты.

Термофильные молочнокислые палочки являются активными кислото-образователями. В сыроделии чаще всего применяют *L. helveticus*, *L. delbrueckii* subsp. *lactis*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Палочка *L. helveticus* растет при температуре от 22 до 50 °C (оптимальная температура 40 °C), а также при наличии в среде от 2 до 5 % поваренной соли. L. *delbrueckii* subsp. *lactis* может развиваться при температуре 22–45 °C (оптимальнаятемпература 40 °C). Используются в составе заквасочной микрофлоры, применяемой при производстве сыров с высокой температурой второго нагревания, выполняют в крупных сырах две функции: сбраживают углеводы и вносят большой вклад в формирование специфических для этого класса сыров органолептических показателей. Температура второго нагревания при производстве крупных сыров составляет 50–55 °C, то есть близка к максимальной границе для роста термофильных лактобактерий или немного выше ее. После второго нагревания во время выработки крупных сыров, они быстро восстанавливают активность и начинают размножаться во время прессования сыров. Термофильные лактобактерии прекращают размножаться во время посолки, когда температура сыра снизится до 18–20 °C, и возобновляют на какое-то время размножение после помещения сыра

в теплую бродильную камеру. Применение *L. helveticus* при изготовлении сыров с низкой температурой второго нагревания может привести к образованию молочного камня при созревании или хранении, что является пороком для этих сыров.

Пропионовокислые бактерии – представители нормальной микрофлоры отдельных видов сыров и ограниченного числа кисломолочных продуктов. Метаболизм их существенно отличается от лактобактерий, они сбраживают не только лактозу, но и лактаты, пируваты с образованием пропионовой и уксусной кислот, небольших количеств изовалериановой, муравьиной, янтарной или молочной кислот, углекислого газа. Пропионовые бактерии – представители необходимой микрофлоры для производства большинства сыров с высокими и средними температурами второго нагревания, ответственные за формирование в них специфического слегка сладковатого пряного вкуса и крупного рисунка, формируемых в результате сбраживания части лактатов до пропионовой кислоты и CO_2 и расщепления казеина с образованием большого количества аминокислоты пролин, обладающей сладковатым вкусом. Значительное размножение этих микроорганизмов в сырах не может не повлиять на их органолептические показатели.

Недавно на рынке появилась дополнительная культура, содержащая совсем новый вид *Lactobacillus nodensis*, выделенный японскими микробиологами из соленых огурцов в 2009 году. Позднее в 2011 г. эта лактобацилла была выделена из датских сыров, выработанных из сырого молока. Оценка эффективности *L. nodensis* в качестве дополнительной закваски при изготовлении сыра Гауда показала его способность усиливать вторичный протеолиз и резко изменять вкусовой профиль во время созревания за счет увеличения присутствия летучих сернистых соединений, в том числе сероводорода и метанетиола. В то же время была отмечена важность подбора подходящих комбинаций с основными закваскими и молокосвертывающими ферментами, поскольку изменения любого из этих параметров влияли на конечный продукт. В некоторых комбинациях сочетание основной закваски с *L. nodensis* вызывало дисбаланс вкусов, приводивший к доминированию в сыре вкуса серы и неприятного запаха сероводорода (тухлые яйца), а использование основной низинобразующей закваски, подавляющей маслянокислые бактерии, приводило к существенному торможению развития этой дополнительной культуры.

В таблице 3 приведены данные по влиянию некоторых видов дополнительных культур на органолептические характеристики сыров.

Во всем мире ведется активный поиск новых дополнительных культур среди молочнокислых палочек незаквасочного, но молочного происхождения, среди пропионовокислых бактерий, а также среди микрофлоры других ферментированных пищевых продуктов – растительных, рыбных, мясных. На наш взгляд, к микроорганизмам немолочного происхождения нужно относиться с осторожностью и тщательно изучать их влияние на качество сыров.

При подборе любых заквасок для сыров необходимо правильно оценивать их влияние на качество, безопасность и хранимоспособность сыров.

Таблица 3
Влияние дополнительных культур на характеристики сыров

Вид микроорганизма	Влияние на характеристики сыров
Lactiplantibacillus plantarum	Ускорение созревание, более пластичная консистенция, небольшая пряность
Lacticaseibacillus casei	Ускорение созревания, улучшение консистенции, придает различные оттенки вкуса (сливочный, ореховый, луговых трав, сена)
Lacticaseibacillus paracasei	Ускорение созревания, различные вкусовые нюансы (маслянисто-ореховый с долгим послевкусием), в некоторых условиях способствует образованию молочного камня в процессе длительного созревания или хранения
Lacticaseibacillus rhamnosus	Сладковатые, сливочно-ореховые вкусовые ноты
Lactobacillus helveticus	Ускорение созревания, улучшение вкуса – нейтрализация горечи, улучшение эластичности при нагревании, способствует образованию сырного камня
Limosilactobacillus fermentum	Придает различные фруктовые, ванильные, шоколадные ноты вкусовому букету
Lactobacillus nodensis	Возможно усиление сырного вкуса, изменение вкусового профиля (пока еще недостаточно информации об этой культуре)

При выборе созревательных культур дополнительно к уже использующимся на предприятии основным заквасками необходимо проведение контрольных выработок не менее, чем в трехкратной повторности для каждого варианта сочетания основной и дополнительной закваски, с контролем всех ключевых показателей процесса выработки и созревания сыров и их качества. Исследования нужно проводить в течение установленного срока созревания, а также в период допустимых сроков хранения, поскольку протеолиз продолжается и при хранении, что может привести к перезреванию, ухудшению органолептических показателей сыров и даже появлению пороков. После этого целесообразно провести статистический анализ полученных результатов для оценки достоверности полученных результатов. Особенно это важно в случае с использованием новых видов микроорганизмов, не имеющих длительной практики использования в сыродельной промышленности.

Хотелось бы отметить, что использование одной и той же дополнительной культуры, показавшей хорошие результаты при изготовлении какого-то вида сыра, в виде ускорения созревания или обеспечения оригинального вкуса, при изготовление всего ассортимента сыров приведет к утрате индивидуальности и все сыры будут иметь сходные органолептические показатели. Нужен особый подход к заквасками для разных сортов или групп сыров.

Таким образом, выбор и успешное использование в промышленном сыроделии основных бактериальных заквасок и дополнительных культур требует внимательного изучения состава и свойств микрофлоры заквасок, определения его соответствия требованиям нормативных и технических документов, анализа качества и безопасности сыров в процессе выработки, созревания и хранения. Введение нехарактерной для молочного продукта микрофлоры опасно и в связи с тем, что при снижении скорости развития основной заквасочной микрофлоры, например, при поражении лактококков бактериофагами, дополнительные культуры получат возможность для более интенсивного размножения с непредсказуемым влиянием на качество продукции. ■

Источник изображения: Freepik.com