**ТЕМА 5: ВИРОБНИЦТВО МОЛОЧНИКИСЛИХ ПРОДУКТІВ. ПРОПІОНОВОКИСЛЕ БРОДІННЯ**

**Мета:** сформувати поняттяпро пропіоновокисле бродіння та його застосування в промисловості, поглибити знання про виробництво молочнокислих продуктів.

План

1. Поняття про молочнокисле бродіння.
2. Розповсюдження молочнокислих бактерій. Потреба в чинниках росту.
3. Отримання кисломолочних продуктів.
4. Отримання сичужних сирів.
5. Пропіоновокисле бродіння.

**Основні терміни і поняття:** молочнокисле бродіння, екзоферменти, ендоферменти,конститутивні ферменти, індуцибельні ферменти, алостеричні ферменти.

Еволюційно молочнокисле бродіння вважається одним з найстародавніших і найпримітивніших типів бродіння. За характером бродіння і кінцевими продуктами розрізняють: гомоферментативне і гетероферментативне молочнокисле бродіння.

**Гомоферментативне бродіння**: в основі його лежить гліколітичний цикл зброджування з утворенням 2 молекул піровиноградної кислоти. Остання, виступаючи кінцевим акцептором гідрогену, відновлюється до єдиного продукту – молочної кислоти.



 піровиноградна кислота молочна кислота

Збудники: коки *Streptococcus* і *Pediococcus,* і паличкоподібні *Lactobacillus*. Наприклад: *Streptococcus lactis*, *Str.* *faecalis, Str. thermophiles*, *Lactobacillus lactis* (температурний оптимум 40-42 °C), *L. bulgaricus*, *L. сasei* (температурний оптимум 30–37 °C), *L. plantarum*.Зброджують за цим шляхом тільки моно- і дицукри (глюкозу, лактозу). Зброджують до 98% цукру, що знаходиться в середовищі, до молочної кислоти.

**Гетероферментативне бродіння**: в основі його лежить пентозофосфатний шлях і кінцевими продуктами є: молочна кислота, оцтова кислота, етиловий спирт, гліцерин і вуглекислий газ. При зброджуванні глюкози цим шляхом утворюються: молочна кислота, етанол, вуглекислий газ; при зброджуванні фруктози – молочна і оцтова кислоти, вуглекислий газ, маніт. Можуть зброджувати пентози і глюконову кислоту. Збудники – бактерії родів *Leuconostoc*, *Bifidobacterium* та *Lactobacillus.*

Є бактерії, які можуть здійснювати як гомо-, так і гетероферментативне бродіння, зброджуючи гексози за гліколітичним шляхом, а пентози – за пентозофосфатним.

Специфічні молочнокислі бактерії роду *Bifidobacterium* здійснюютьгетероферментативне бродіння. Найбільш розповсюджений вид *Bifidobacterium bifidum,* щоотримав таку назву за Y, V, W-форму (*bifidum* – роздвоєний), та переважає в кишечнику грудних дітей. Специфічність розвитку цих бактерій полягає в тому, що необхідний для їх існування в якості джерела вуглеводів
N-ацетилглюкозамін міститься тільки в молоці матері.Всі вони строгі анаероби, не переносять присутності кисню і для їх зростання потрібна атмосфера, що містить 10 % вуглекислого газу. Були виявлені і в кишечнику дорослих людей, і в мулі.Рід *Bifidobacterium* зараз відносять до актиноміцетів, а не до сімейства *Lactobacillaceae.*

**Розповсюдження молочнокислих бактерій**

У природі розповсюдження молочнокислих бактерій визначається їхніми складними потребами в поживних речовинах і способом отримання енергії. Ці бактерії майже ніколи не зустрічаються в ґрунті і водоймищах. Місця найбільшого розповсюдження:

1. У молоці, місцях його переробки і молочних продуктах: *Lactobacillus lactis, L. bulgaricus, L.casei, L. fermentum, Streptococcus lactis.*

1. На рослинах і рослинних залишках, що розкладаються: *L. plantarum,
L. brevis, Str. lactis Leuconostoc mesenteroides*.
2. У кишечнику і слизових оболонках людини і тварин: *L. acidophilus, Bifidobacterium, Str. faecalis, Str. pyogenes, Str. pnevmoniae*.
3. Багато стрептококів живуть на слизових оболонок рота, дихальних і сечових шляхів, статевих органів. Проте, серед них є паразити крові і дуже небезпечні збудники.

Через те, що молочнокислі бактерії утворюють дуже багато молочної кислоти, вони самі до неї стійкі і можуть швидко витісняти інші бактерії. Тому, їх легко культивувати на селективних середовищах і легко виділяти. Природні накопичувальні середовища – молоко, кисле тісто, кисла капуста, силос (зелена біомаса кукурудзи в анаеробних умовах).

**Потреба в чинниках росту**

Характерна ознака молочнокислих бактерій – потреба в ростових чинниках. Жоден із представників цієї групи не може зростати на середовищі з глюкозою і солями амонію. Більшість з них має потребу у ряді вітамінів (тіамін, біотин, пантотенова, нікотинова, фолієва кислоти) і амінокислот, а також пуринах та піримідинах.

Культивують ці бактерії на складних середовищах, що містять велику кількість дріжджевого екстракту, томатного соку, молочної сироватки і навіть крові. Виявилось, що при зростанні на середовищах з кров'ю у молочнокислих бактерій утворюються цитохроми і вони здатні здійснювати фосфорилювання в дихальному ланцюзі.

Таким чином, молочнокислі бактерії не здатні синтезувати багато метаболитов. З іншого боку, більшість з них здатні використовувати лактозу і цим вони близькі до кишкової палички. Ця особливість є пристосуванням до навколишнього середовища.

Багато молочнокислих бактерій здатні синтезувати речовини, що володіють антибіотичними властивостями (лактолін, бревін, низін, диплококцин). На цьому заснована їхня дія як антагоністів гнильних і хвороботворних бактерій в кишечнику людини.

Живуть молочнокислі бактерії при різних температурах: 40–42 °С (термофіли), 25–30 °С (мезофіли). Оптимальний рН=7, але можуть і при рН=5–5,8. Як буфер застосовують СаСО3.

**Отримання кисломолочних продуктів**

Розрізняють 2 типи молочнокислих продуктів в залежності від способу отримання:

1.Молочнокислі продукти, отримані в результаті чистого гомоферментативного молочнокислого бродіння. Це простокваші, йогурти, кисляк. Їх готують шляхом спонтанного скисання молока за рахунок присутності в молоці бактерій або шляхом внесення заквасок у вигляді чистих культур: *Lactobacillus bulgaricum, L. Acidophilum*. Для отримання масла застосовують культуру *Pediococcus cerevisiae.* Кінцеві продукти містять ацетон і діацил (надає гарний запах).

2*.* Молочнокислі продукти, отримані в результаті змішаного бродіння – спиртового і молочнокислого. Таким шляхом отримують кефір і кумис. Кефір готують на «кефірних грибках», основу яких складають нитчаста бактерія
*Str. lactis*, дріжджі, оцтовокислі бактерії. Залежно від ступеня дозрівання розрізняють: слабкий кефір – 1 день бродіння; середній кефір – 2 дні бродіння; міцний кефір – 3 дні бродіння. Незалежно від дня він повинен мати молочнокислий смак. Для отримання кефіру з вираженим спиртовим бродінням процес ведуть при температурі 16–20 °С, а не при 22–28°С як молочнокисле.

Кумис готують з кобилячого молока (в ньому 6 % цукру). В ньому енергійно йде спиртове бродіння. Основна культура – болгарська паличка.

 Показники якості кисломолочних продуктів:

* наявність активної мікрофлори (молочнокислі бактерії);
* наявність молочної кислоти.

 **Стабілізатори** – речовини, що вводять до складу молочних продуктів для зміцнення структури та надання стійкості під час зберігання. Належать до колоїдів. Розрізняють: натуральні стабілізатори – рослинні (пектин, агар, камеді) та тваринні (желатин); штучні (гідроксиметилцелюлоза).

**Отримання сичужних сирів**

Виробництво сирів складається з двох етапів:

* звурджування білків молока (коагуляція), які утворюють твердий осад і з якого видаляється рідина;
* дозрівання сирів – складний ферментативний процес, в якому беруть участь безліч мікроорганізмів.

У молодому сирі весь нітроген входить до складу нерозчинного білку, але по мірі дозрівання сиру білок розщеплюється на розчинні пептиди, амінокислоти, жирні кислоти, аміак. Наприклад, у швейцарському сирі у розчинні продукти входить 20–30 % білку, в латвійському – практично увесь.

Йде також гідроліз жирів, перетворення молочної кислоти в пропіонову.

Для виробництва молочної кислоти в промисловості використовують глюкозу, сахарозу, лактозу, а також мелясу. Для зброджування молочної сироватки можна користуватися чистою культурою *L. bulgaricum*, меляси – краще *L. delbrukii*.

**Пропіоновокисле бродіння**

Пропіоновокислі бактерії *Propionibacterium freudenreichii* – аеротолерантні анаероби або факультативні аероби. Мешкають у кишковому тракті жуйних, на рослинах. Грам-позитивні, нерухомі, не утворюють спор, для них характерне бінарне дроблення. Це факультативні анаероби, що виділяють каталазу. Морфологічно схожі з коринебактеріями. Розташовуються парами, ланцюжками. Часто зустрічаються разом із молочнокислими бактеріями, які можуть стимулювати та інгібувати їхній розвиток. Клітини булавоподібної та конусної форми, коковидні, розгалужені у вигляді V або Y, або у вигляді китайських ієрогліфів.

Для росту пропіоновокислі бактерії вимагають середовище з білками і амінокислотами, але можуть розвиватися і на простих джерелах нітрогену (солі амонію) у присутності вітамінів (біотин, пантотенова кислота). Оптимальна температура 30–37°С, оптимальний рН=7.

Під дією *Propionibacterium freudenreichii* зброджування глюкози йде гліколітичним шляхом до піровиноградної кислоти. Потім залежно від умов утворюються пропіонова, оцтова, бурштинова, молочна кислоти і вуглекислий газ. Пропіонова кислота інгібує розвиток багатьох бактерій.



 піровиноградна молочна оцтова

 кислота кислота кислота

Пропіонові бактерії використовують у промисловості для отримання вітаміну В12, який вони утворюють у великих кількостях.