

CULTURI STARTER DE BACTERII LACTICE TERMOFILE PENTRU PRODUSELE LACTATE FERMENTATE

Cartășev Anatoli, Rudic Valeriu

*Institutul Științifico-Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare
Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al Academiei de Științe a Moldovei*

Rezumat

Lucrarea prezintă rezultatele privind obținerea, în baza tulpinilor autohtone de bacterii lactice termofile *Streptococcus thermophilus* și *Lactobacillus bulgaricus*, a culturilor mixte active și stabile destinate utilizării în producerea culturilor starter pentru fabricarea iaurtului și laptelui covășit. Din tulpinile selectate, prin asocieri treptate, au fost obținute 4 culturi noi cu formule determinate de culturi termofile cu activitate optimală de acidifiere și coagulare a laptelui și proprietăți biochimice și tehnologice corespunzătoare cerințelor tehnologice pentru fabricarea produselor lactate fermentate. Culturile elaborate în baza asociațiilor tulpinilor autohtone de bacterii lactice sînt stabile și asigură fermentarea laptelui, îndeplinesc funcția tehnologică conform destinației și contribuie la obținerea produselor de calitate corespunzătoare cerințelor tehnice. Consorțiile de bacterii lactice elaborate pot fi recomandate pentru utilizare în compoziția culturilor

starter fago-alternative destinate fabricării iaurtului și laptelui covăsit fără stabilizatori și conservanți.

Cuvinte cheie: *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, cultură starter.

Depus la redacție: 10 octombrie 2016

Adresa pentru corespondență: Cartasev Anatoli, Institutul Științifico-Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare, str. Costiujeni 14, MD-2070 Chișinău, Republica Moldova; e-mail: cartasev@gmail.com; tel. +373 22 55-10-20

Introducere

Produsele lactate fermentate sunt considerate alimente dietetice și au proprietăți curative. Valoarea dietetică și alimentară a produselor lactate fermentate rezultă din faptul, că ele conțin toate substanțele nutritive din lapte într-o formă mai accesibilă pentru organism. Substanțele proteice suferă în procesul fabricării un început de hidroliză, ceea ce determină o digestibilitate mai mare a acestora [1,2,3].

În Republica Moldova se produce un asortiment vast de produse lactate fermentate, printre care iaurtul și laptele covăsit sunt cele mai preferate de consumatori. Conform Reglementării Tehnice, iaurtul prezintă produsul lactat fabricat prin fermentarea laptelui cu culturi starter de *Streptococcus thermophilus* și *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* sau culturi de *Streptococcus thermophilus* și orice specie de *Lactobacillus*; laptele covăsit – produs lactat fabricat prin fermentarea laptelui înăbușit cu culturi starter de *Streptococcus thermophilus*, cu sau fără culturi de *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*. [4]. De aceea căutarea și selectarea tulpinilor noi pentru fabricarea acestor produse este o sarcină foarte importantă.

Streptococcus thermophilus și *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* fac parte de culturi probiotice tranzitori, care au un efect pozitiv asupra sănătății umane, dar nu supraviețuiesc în intestin [5]. Deaceia trebuie să fie prezente în alimentația omului în fiecare zi.

Bacteriile lactice sunt foarte pretențioase și creșterea lor în lapte este deseori limitată din cauza insuficienței nutrienților esențiali. Astfel, succesul procesului de coagulare a laptelui este bazat pe simbioza tulpinilor din specia *S. thermophilus* și *Lb. bulgaricus*. Această relație pozitivă are un efect benefic asupra dezvoltării bacteriilor și producerea acidului lactic și compușilor aromatici. Într-adevar, *S. thermophilus* produce acidul piruvic, acidul formic și CO₂, care stimulează creșterea *Lb. bulgaricus*. La rândul său, *Lb. bulgaricus* produce peptide și aminoacizi, care stimulează creșterea *S. thermophilus*, deoarece *S. thermophilus* are o activitate proteolitică mai slabă în comparație cu *Lactobacillus*. Aceste două microorganisme prin dezvoltarea reciprocă schimbă compoziția laptelui astfel obținându-se un produs cu caracteristici definite. Crearea culturilor simbiotice între *S. thermophilus* și *Lb. bulgaricus* cu termen lung de păstrare este dificilă, minuțioasă și de multe ori nerealizabilă [6-8].

Crearea de culturi starter ce asigură inofensivitatea, calitatea și valoarea nutritivă sporită a produselor lactate fermentate de valoare este un factor important pentru îmbunătățirea sănătății în lanțul aliment-sănătate. Utilizarea asociațiilor active dintre microorganisme compatibile biologic, selectate și dezvoltate pentru influență benefică asupra componentelor din lapte este principala condiție pentru dezvoltarea proceselor tehnologice și obținerea produselor lactate de înaltă calitate [9].

Caracteristicile structurale și organoleptice ale iaurtului și laptelui covăsit sunt factori foarte importanți pentru selectarea tulpinilor de bacterii lactice și pentru obținerea culturilor starter. Folosind acești factori pot fi create produse lactate cu diferite caracteristici organoleptice și nutriționale. Prin acest mod se poate crea un grup nou de produse lactate fermentate cu caracteristici nutritive îmbunătățite [7].

O tendință importantă în investigarea produselor lactate fermentate este studiul caracteristicilor tulpinilor *S. thermophilus* și *Lb. bulgaricus* în calitate de monocultură și culturi mixte. Scopul acestei lucrări este obținerea culturilor starter noi pentru fabricarea iaurtului și laptelui covăsit.

Materiale și metode

În calitate de obiecte de studiu au servit tulpini autohtone de bacterii lactice *Streptococcus thermophilus* și *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* izolate din probe de lapte cu fermentare spontană prelevate din gospodării individuale, depozitate în Colecția Ramurală a Laboratorului de biotehnologii alimentare al Institutului Științifico-Practic de Horticultură și Tehnologii Alimentare și în Colecția Națională de Microorganisme Neapatogene de pe lângă Institutul de Microbiologie și Biotehnologie al Academiei de Științe a Moldovei. Bacteriile au fost cultivate pe mediul nutritiv de lapte degresat. Cercetările au fost efectuate în baza conceptelor expuse în lucrările savanților în domeniul studiilor bacteriilor lactice și a microbiologiei laptelui [10-14].

Investigațiile și aprecierile privind determinarea caracteristicilor microbiologice, fiziologo-biochimice și organoleptice ale tulpinilor de bacterii lactice și combinațiilor de tulpini au fost efectuate conform metodelor de analiză stipulate în standardele în vigoare [15-16]. Rezultatele au fost evaluate conform cerințelor tehnologice pentru culturi cu destinație industrială [11, 13, 14].

Pentru obținerea iaurtului a fost utilizat lapte integral cu conținut de grăsime de 3,6%, pasteurizat la 85° C timp de 15 min. Pentru lapte covăsit a fost utilizat lapte integral cu conținut de grăsime de 3,6%, termizat la 95° C timp de 3 ore, obținându-se lapte înăbușit. Prepararea produselor a fost efectuată conform tehnologiilor tradiționale prin metoda la rezervuar. Încularea laptelui cu 5% cultură și fermentarea au fost realizate în bioreactorul „Biostat Aplus Sartorius”, cu monitorizarea acidității active și titrabile.

Rezultate și discuții

1. Selectarea tulpinilor de bacterii lactice termofile de perspectivă pentru aplicare în compoziția culturilor starter. Culturile de bacterii lactice *Streptococcus thermophilus* și *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* au fost restabilite din stare liofilizată și apreciate după principalele criterii tehnologice: durata de restabilire și aspectul coagulului, aspectul microscopic al celulelor, activitatea acidifiantă în lapte integral cu inocul de 5% cultură.

Au fost studiate 10 tulpini de bacterii lactice din colecția destinate fabricării produselor lactate fermentate și selectate 3 tulpini *Streptococcus thermophilus* și 2 tulpini de *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, care au manifestat proprietăți botehnologice valoroase. Rezultatele sînt prezentate în tabelul 1.

Tabelul 1. Caracteristicile tehnologice ale tulpinilor

Cod tulpină	Caracteristicile				
	Durata restabilirii, ore	Aspectul coagulului	Aspectul microscopic	Durata coagulării, ore	Aciditatea titrabilă, ° T
Streptococcus thermophilus					
Cerințe	Max.20	Omogen, consistență densă, cremoasă, sau vîscoasă, filantă, fără eliminare de zer	Coci, asociați în diplococi și în lanțuri de diferite lungimi	Max. 6 ore	60-90
St-177(12) CNMN-LB-50	18	Corespunde +consistența vîscoasă	Corespunde	5,0±0,1	72,5±0,7
St-65 (12) CNMN-LB-51	18	Corespunde +consistența vîscoasă	Corespunde	4,1±0,1	69,1±0,1
St-12-1 (12) CNMN-LB-52	18	Corespunde	Corespunde	4,5±0,1	78,3±0,6
Lactobacillus bulgaricus					
Cerințe	Max.20	Omogen, consistență densă, vîscoasă, posibil filantă, fără eliminare de zer	Bacili separați, și asociați în lanțuri de diferite lungimi	Max. 6 ore	75-100
B-2i(98) CNMN-LB-45	18	Corespunde + filant	Corespunde	4,0	90±0,1
B-1i(99) CNMN-LB-44	18	Corespunde + ne filant	Corespunde	4,0	92±1,0

Rezultatele obținute demonstrează, că 5 tulpini de *Streptococcus thermophilus* și *Lactobacillus bulgaricus* depozitate în CNMN IMB al AȘM, s-au restabilit în timp necesar (max 20 ore). Culturile restabilite au format coagul în 4,5-5 ore, cu aspect omogen, consistență densă, la unele puțin vîscos, gust caracteristic laptelui fermentat; aciditate titrabilă 67-78° T pentru streptococi și 90-92° T. Deci, aceste tulpini posedă proprietăți tehnologice corespunzătoare și pot fi aplicate în combinațiile pentru culturile starter destinate fabricării iaurtului și laptelui covăsit.

2. Formarea în cadrul speciilor a asociațiilor de bacterii lactice termofile de tulpini compatibile. Proprietățile specifice ale iaurtului și laptelui covăsit sunt determinate în principal de caracteristicile biologice ale speciilor de *S. thermophilus* și *Lb. bulgaricus*, raportul lor și activitatea biochimică și microbiană în dezvoltarea lor concomitentă. Dificultățile în obținerea și menținerea culturilor starter provin din diferențele de generație și temperatura optimă de creștere a celor două specii [6-8].

Cooperarea între aceste două specii de bacterii lactice este o interacțiune foarte importantă care determină procesul de fermentație și calitatea produsului finit. Cu toate acestea, asocierea dintre aceste două specii nu este obligatorie și ele pot supraviețui separat.

Pentru crearea combinațiilor, tulpinile alese în rezultatul testărilor au fost asociate treptat (în raport 1:1) în cadrul speciilor, studiindu-se compatibilitatea lor la nivel de acțiune acidifiantă și coagulantă. Au fost selectate acele asociații, care au demonstrat activitate de acidogeneză intensivă - în max. 5 ore, cu formarea unui coagul omogen, dens, cremos sau vâscos cu filanță moderată. Combinațiile formate în cadrul speciei sînt prezentate în tabelul 2.

Tabelul 2. Asociațiile de tulpini de *S. thermophilus* destinate fabricării lactelui covăsit și iaurtului.

Nr.	Asociații de tulpini	Caracteristicile organoleptice	Codul
1	St-177(12) CNMN-LB-50 + St-12-1 (12) CNMN-LB-52	Formează coagul omogen, dens, moderat de vâscos	S1
2	St-65 (12) CNMN-LB-51 + St-12-1 (12) CNMN-LB-52	Formează coagul omogen, dens, moderat de vâscos, moderat de filant	S2
3	St-177(12) CNMN-LB-50 + St-12-1 (12) CNMN-LB-52 + St-12-1 (12) CNMN-LB-52	Formează coagul omogen, dens, foarte vâscos și filant	S3

Datele din tabel arată, că la fabricarea lactelui covăsit și iaurt pot fi utilizate asociațiile S1 și S2, care formează coagul corespunzător cerințelor: cu consistență omogenă, densă, moderat de vîscoasă, moderat de filantă. Asociația S3 formează coagul foarte vîscos, ceea ce nu permite obținerea produsului finit corespunzător.

Din tulpinile *Lb. bulgaricus* a fost alcătuită o singură asociație S4, care formează coagul omogen, dens, moderat de vîscos, nefilant.

În baza asociațiilor formate în cadrul speciilor, au fost obținute culturi starter mixte destinate fabricării lactelui covăsit și iaurtului. Caracteristicile combinațiilor de tulpini sînt prezentate în tabelul 3.

Tabelul 3. Caracteristicile culturilor mixte (mediu de lapte degresat steril, inocul cultură 5%, termostatare 40° C).

Compoziție de tulpini	Caracteristicile			
	Durata coagulării, ore	Consistența coagulului	Aciditatea titrabilă, ° T	Sinereză, %
Lapte covăsit				
Cerințe	max.6	Omogenă, densă, cremoasă sau moderat de vîscoasă și moderat de filantă.	65-100	3-5
S1	5,0	Corespunde +moderat vîscos	68±0,5	3,5±0,1
S2	5,0	Corespunde +moderat vîscos +filant	69±1,0	
Iaurt				
S1+S4	4,5	Corespunde+moderat vîscos +moderat filantă	80±1,0	3,0±0,1
S2+S4	4,5	Corespunde +moderat vîscos	83±1,0	3,5±0,1

Datele tabelului 3 demonstrează, că caracteristicile tehnologice ale culturilor mixte compuse corespund cerințelor pentru culturi destinate fabricării laptelui covăsit și iaurtului. Asociațiile S1 și S2 pentru lapte covăsit, posedă proprietăți identice și pot fi utilizate la producere în calitate de culturi fago-alternative, culturi care au aceleași caracteristici tehnologice, dar microfloră compozițională de origine diferită, ceea ce contribuie la apărarea de acțiunea bacteriofagilor la întreprinderile de procesare a laptelui.

Deoarece culturile mixte formează în lapte coagul dens, moderat de vâscos și moderat de filant, rezistent la scuturare, se recomandă de a fi utilizate în special la fabricarea laptelui covăsit prin metoda la rezervor, în care se fermentează și apoi se distribuie în ambalaje.

Culturile S1+S4 și S2+S4 pentru iaurt formează coagul cu consistență și aciditate diferită. Cultură S1+S4 formează coagul moderat de vâscos și filant și se recomandă de a fi utilizată prin metoda la rezervor, unde există pericolul deteriorării coagulului și eliminării zerului la turnarea pentru ambalare. Cultura S2+S4, spre deosebire de S1+S4, formează coagul nefilant predispus mai mult separării zerului și se recomandă de a fi utilizat prin metoda de termostat, unde fermentarea are loc direct în ambalaj.

Aspectul frotiurilor microscopice ale culturilor mixte de tulpini autohtone de *S. thermophilus* destinate fabricării laptelui covăsit și ale culturilor simbiotice de tulpini autohtone de *S. thermophilus* și *L.bulgaricus* destinate fabricării iaurtului sunt prezentate în figură 1.

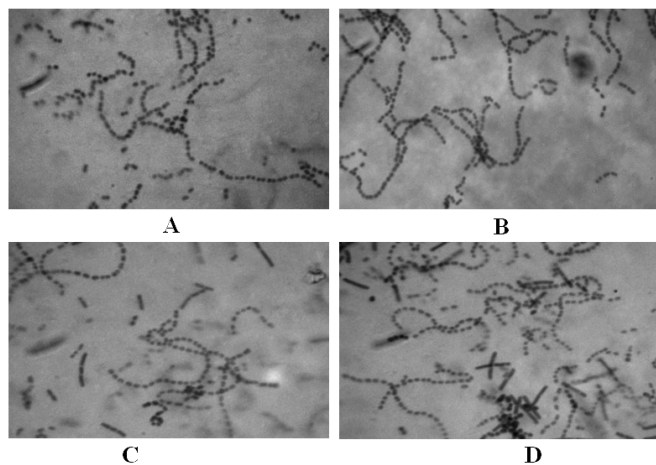


Figura 1. Microscopia culturilor: A – cultură S1, B – cultură S2, C – cultură S1+S4, D – cultură S2+S4.

3. Prepararea lotului experimental și prepararea produselor lactate în condiții de laborator. Culturile mixte elaborate pe bază de tulpini autohtone au fost amestecate cu mediu protector în raport 1:1 și repartizate în flacoane Rotilabo, pentru liofilizare și păstrare. Liofilizarea a fost efectuată în instalația de marca Labconco. A fost obținut un lot experimental de culturi liofilizate, ce reprezintă 4 culturi de tulpini de bacterii lactice termofile autohtone: 2 pentru iaurt și 2 pentru lapte covăsit. În rezultatul verificării probelor de culturi liofilizate s-a constatat, că după reactivare din starea liofilizată culturile și-au păstrat caracteristicile tehnologice inițiale (tabelul 3).

Culturile bacteriene liofilizate au fost testate la prepararea laptelui covăsit și iaurtului în condiții de laborator. Pentru obținerea iaurtului a fost utilizat lapte integral

cu conținut de grăsime de 3,6%, pasteurizat la 85° C timp de 15 minute. Pentru lapte covăsit a fost utilizat lapte integral cu conținut de grăsime de 3,6%, termizat la 95° C timp de 3 ore, obținându-se lapte înăbușit. Prepararea produselor a fost efectuată conform tehnologiilor tradiționale prin metoda la rezervor. Procesele de fermentare sînt ilustrate prin curbele din figurile 3 și 4, ce reprezintă dinamica acidității active.

Din figura 2 se vede, că în procesul de fermentare a laptelui pentru iaurt la temperatura de 40° C sub acțiunea culturilor bacterine elaborate scăderea pH-ului laptelui pînă la valoarea de circa 4,5 (valoare la care are loc precipitarea caseinei laptelui și formarea coagulului), are loc pe parcursul a 5 ore, iar în procesul de fermentare a laptelui pentru lapte covăsit la temperatura de 42° C pe parcursul a 4 ore, ceea ce se încadrează în limitele cerințelor tehnologice și demonstrează o activitate intensivă de acidifiere a laptelui.

La această etapă coagulul laptelui covăsit a atins aciditatea titrabilă de 68° T, iar al iaurtului 78° T, avînd o consistență omogenă, moderat de densă, cremoasă, moderat filantă la laptele covăsit și moderat vîscoasă cu filanță la iaurt.

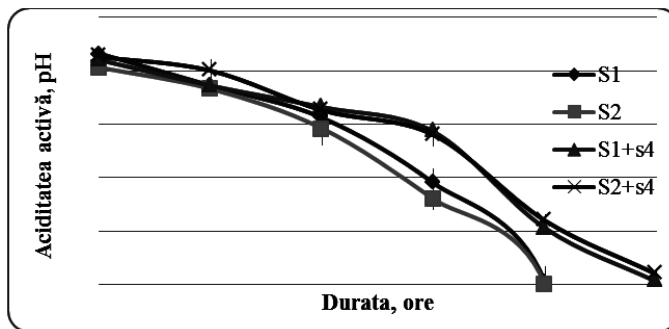


Figura 2. Dinamica procesului de fermentare a laptelui pentru obținere a laptelui covăsit (S1, S2) și a iaurtului (S1+S4, S2+S4).

Produsele au fost prerăcite și turnate în recipiente a câte 150 ml, care au fost lăsate pe noapte în condiții de frigider pentru maturare și formarea definitivă a consistenței. Caracteristicile laptelui covăsit și iaurtului obținute cu utilizarea culturilor autohtone elaborate sînt prezentate în tabelul 4.

Rezultatele prezentate în tabelul 4 demonstrează, că caracteristicile tehnice ale laptelui covăsit și iaurtului, fabricate sub acțiunea culturilor de bacterii lactice elaborate corespund cerințelor tehnice pentru aceste produse.

Tabelul 4. Caracteristicile laptelui covăsit și ale iaurtului obținute cu utilizarea culturilor de tulpini autohtone.

Denumirea indicilor	Lapte covăsit	Iaurt
Consistența	Omogenă, cremoasă, moderat filantă.	Omogenă, moderat vîscoasă, moderat filantă
Gust și miros	Specific laptelui fermentat, fără gust și miros străin	Specific laptelui fermentat, fără gust și miros străin, moderat înțepător
Aciditatea titrabilă, °T	75-78	86-90
Bacterii lactice, UFC/1ml	7×10^8	7×10^8

Deci, culturile autohtone elaborate asigură fermentarea amestecului lactic de producere, îndeplinesc funcția tehnologică și contribuie la obținerea produselor cu consistență, culoare, gust, miros, aciditate și indici microbiologici corespunzătoare cerințelor tehnice pentru lapte covăsit și iaurt îmbogățite cu bacterii lactice viabile și foloșitoare.

Concluzii

Din tulpinile selectate, prin asocieri treptate, au fost obținute 4 combinații noi cu formule determinate de culturi termofile cu activitate optimală de acidifiere și coagulare a laptelui și proprietăți biochimice și tehnologice corespunzătoare cerințelor tehnologice pentru fabricarea laptelui covăsit și iaurtului.

Culturile de bacterii lactice elaborate și utilizate în producerea iaurtului și laptelui covăsit contribuie la accelerarea procesului tehnologic și îmbunătățirea caracteristicilor senzoriale; textura produselor devine mai consistentă și mai fină, iar structura mai rezistentă, ceea ce are importanță deosebită pentru produsele cu conținut redus de grăsime, evitând utilizarea de substanțe stabilizatoare speciale și pot fi recomandate pentru utilizare în compoziția culturilor starter destinate fabricării produselor lactate fermentate – iaurtului și laptelui covăsit, inclusiv cu conținut redus de grăsime

Bibliografie

1. *Bellisle F., et al.* Functional food science in Europe. // Brit. J. Nutr. 1998, vol. 80, 193p.
2. *Diplock A.T., et al.* Scientific concepts of functional foods in Europe: Consensus document. // Brit. J. Nutr. 1999, vol. 81, 28p.
3. *Guzun V., et al.* Industrializarea laptelui, Chișinău: Tehnica-info, 2001, p. 111-118.
4. Hotărîre Guvernului nr. 611 din 5 iulie 2010, Reglementarea Tehnică "Lapte și produsele lactate". // Monitorul Oficial al Republicii Moldova, Nr. 119-120, art Nr. 692, 13.07.2010, Chisinau.
5. *Королев, С.А.* Основы технической микробиологии молочного дела. Москва: Пищевая промышленность, 1974. - 344 с.
6. *Tamime A.Y., Robinson R.K.* Yogurt: Science and technology, CRC Press, New York, 2003, 661p.
7. *Driessen F.M.* Protoocooperation of yogurt bacteria in continuous culture. Mixed Cultures Fermentation. M.E. Buchell, J.H.Slater Eds., Academic Press, New York, 1981, pp. 99-120.
8. *Driessen F.M., Kingma F., Standhouders J.* Hol yougurt bacterien alkaar helpen grocien. // Zuivelicht 1982, vol. 74, pp. 176-178.
9. *Bottazi V.* Functional fermented milks. New health benefit. Elite Communication Srl-Viale Teorico, Milano, 2006, p. 99
10. *Богданов В.* Молочнокислая микрофлора молока и ее источники. Труды ВНИМИ, 1959, выпуск 20, 70 с.
11. *Банникова Л.* Селекция молочнокислых бактерий и их применение в молочной промышленности. Москва: Пищевая промышленность, 1975. 256 с.
12. *Квасников Е., Нестеренко О.* Молочнокислые бактерии и пути их использования. Москва: Наука, 1975. 389с.
13. *Банникова Л.А., Королева Н.С., Семенихина В.Ф.* Микробиологические основы молочного производства. Москва: Агропромиздат, 1987. 400 с.
14. *Laudoni A.* Obținerea și utilizarea culturilor pentru fabricarea diferitelor sortimente de brînzeturi. București: Institutul de Chimie Alimentară, 1995. 20 p.
15. ГОСТ 3624-92 Молоко и молочные продукты. Методы определения кислотности.
16. ГОСТ 9225-84 Молоко и молочные продукты. Методы микробиологического анализа. Москва, 1984, 24 с.