

ВЛИЯНИЕ ОЛИГОХИТОЗАНОВ С РАЗЛИЧНОЙ МОЛЕКУЛЯРНОЙ МАССОЙ И ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНОГО ХИТОЗАНА НА КУЛЬТИВИРОВАНИЕ *LACTOBACILLUS BULGARICUS*

**Шрамко М.И.², Березуева Е.В.², Алиева Л.Р.², Лодыгин А.Д.², Евдокимов
И.А.², Сушинская Н.В.¹, Головач Т.Н.¹, Курченко В.П.¹**

¹Белорусский государственный университет, Минск,
kurchenko@tut.by

²Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь

Для получения функциональных кисломолочных напитков диетического и лечебно-профилактического назначения широко используются закваски на основе чистых культур молочнокислых микроорганизмов вида *Lactobacillus bulgaricus*. Для производства молочнокислых продуктов характерна тенденция совершенствования традиционных технологий производства йогуртов, простокваши, ряженки и варенца за счет обогащения продуктов функциональными ингредиентами: олигосахаридами, эссенциальными макро- и микронутриентами, пищевыми волокнами. Среди пищевых волокон важное место занимает хитозан. Хитозан является биогенным гетерополимером N-ацетилглюкозамина и глюкозамина. В ранее проведенных исследованиях показано, что он обладает широким спектром биологической активности, в частности, способностью снижать уровень холестерина, антибактериальными и противогрибковыми свойствами. Хитозан имеет большую молекулярную массу, а олигохитозаны – низкомолекулярные олигомеры с молекулярной массой от 2 до 50 кДа.

Существует ограниченное количество публикаций посвященных влиянию олигохитозанов на лактобактерии. В этих исследованиях не определено влияние степени полимеризации и деацетилирования олигохитозанов на процесс молочнокислого брожения. У грам-положительных бактерий *Lactobacillus bulgaricus* главной мишенью для олигохитозанов могут быть тейхоевые кислоты, отрицательный заряд которым придают многочисленные остатки фосфорной кислоты. Кроме компонентов клеточной стенки бактерий мишенью для олигохитозанов является цитоплазматическая мембрана. Олигохитозаны при взаимодействии с ней нарушают проницаемость плазмалеммы, что может приводить к падению мембранного потенциала. Важное значение имеет изменение конформации мембранных белков, вызванное действием олигохитозанов. Они могут влиять на проницаемость цитоплазматической мембраны и активность ферментов, участвующих в энергетическом метаболизме.

Основной целью данного исследования являлось изучение влияния различных концентраций высокомолекулярного хитозана и олигохитозанов с

различной степенью полимеризации на процесс молочнокислого брожения *Lactobacillus bulgaricus*.

Материалы и методы. В качестве объектов исследований использовались: молоко сухое обезжиренное соответствующее требованиям ГОСТ Р 33629-2015, (изготовитель: АО «Молочный комбинат «Ставропольский», Россия); закваска чистой культуры *Lactobacillus bulgaricus* (изготовитель: АО «Молочный комбинат «Ставропольский», Россия), соответствующая требованиям СанПиН 2.3.2.1078-01. После восстановления в обезжиренном молоке содержалось: 0,15% жира, 3,2% белка, 5% лактозы. В опытные образцы к 100 мл восстановленного обезжиренного молока добавляли раствор хитозана с молекулярной массой 350 кДа в 5%-й молочной кислоте до конечной концентрации 0,0025, 0,005, 0,0075 и 0,01%. Аналогично проводились опыты с использованием олигохитозанов с молекулярными массами 7,0, 25,4, 45,3 кДа. Опытные и контрольные образцы пастеризовали при температуре 85 – 87°C с выдержкой в течение 3 – 5 минут. После охлаждения до температуры заквашивания 43 – 45°C вносилась бактериальная закваска *Lactobacillus bulgaricus* в количестве 3% от общего объема образцов. Окончание процесса сквашивания определяли органолептически по плотности сгустка, а также по титруемой и активной кислотности. После чего образцы герметично укупоривали и хранили, контролируя температуру термометрически по ГОСТ 26754-85 при $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$. Продолжительность хранения образцов составила 17 суток. Отбор проб для проведения исследований проводили в асептических условиях. В процессе хранения в контрольном и опытных образцах определяли: активную кислотность (рН) потенциметрически по ГОСТ 32892-2014, титруемую кислотность титриметрически по ГОСТ 3624-92 и количество молочнокислых микроорганизмов (КОЕ/г) по ГОСТ 10444.11-2013 в трех повторностях.

Результаты. Исследовалось влияние различных концентраций высокомолекулярного хитозана 350 кДа и олигохитозанов с молекулярной массой 7,0, 25,4, 45,3 кДа на физико-химические свойства молочнокислого продукта в процессе культивирования *Lactobacillus bulgaricus* и длительном хранении после завершения процесса сквашивания.

После 20 часов процесса культивирования, при низких концентрациях (0,0025%, 0,005%) олигохитозанов, наблюдается существенное снижение рН, уменьшение концентрации лактозы и увеличение молочной кислоты. При содержании в кисломолочных продуктах исследуемых олигохитозанов в концентрации 0,01%, 0,0075% на 20 час культивирования рН, титруемая кислотность, концентрация молочной кислоты и лактозы близки к контролю. Высокомолекулярный хитозан в процессе культивирования на 20 час не вызывал существенных изменений рН, титруемая кислотность, концентрация молочной кислоты и лактозы.

Таким образом, в процессе сквашивания происходит уменьшение pH до 5,0 - 5,2, что приводит к постепенной нейтрализации отрицательно заряженных групп казеина. В результате этого наступало полное разрушение мицелярной структуры казеина, снижалась его гидратация и наблюдалась агрегация гидрофобных частиц и формировался молочный сгусток.

После завершения процесса культивирования *Lactobacillus bulgaricus* исследовались физико-химические свойства молочнокислого продукта при длительном хранении. В соответствии с требованиями «Технического регламента Таможенного союза 033/213» максимальная титруемая кислотность молочнокислых продуктов должна быть около 140 °Т. Оптимальный вкус и аромат кисломолочного продукта достигается, при pH 4,2 - 4,5 и титруемой кислотности 70 - 140 °Т, как правило, на 5 сутки.

В процессе хранения молочнокислого продукта при 4°С в контроле оптимальная pH сохранялась на 7 сутки. В опытных образцах с содержанием исследуемых олигохитозанов в концентрации 0,0075% и 0,01% оптимальная pH сохранялась до 17 дня как видно из рисунка 1. Высокомолекулярный хитозан не вызывал существенных изменений pH в процессе хранения молочнокислого продукта до 17 дней.

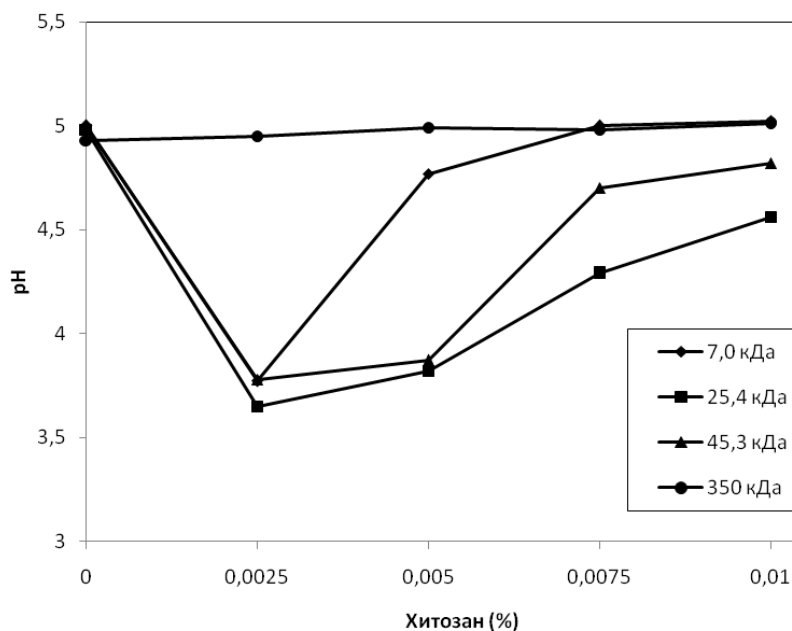


Рисунок 1 – Изменение pH молочнокислого продукта, содержащего различные концентрации высокомолекулярного хитозана и олигохитозанов с молекулярными массами 7,0, 25,4, 45,3 кДа на 17 день хранения.

На 17 сутки хранения молочнокислого продукта, по сравнению с контролем, в опытных образцах содержащих олигохитозаны (0,0075%, 0,01%) активная кислотность снижалась значительно медленнее, и продукт сохранял оптимальный вкус и аромат, что полностью соответствует требованиям к кисломолочным продуктам, как видно из рисунка 2. Высокомолекулярный

хитозан не вызывал существенных изменений титруемой кислотности в процессе хранения молочнокислого продукта вплоть до 17 дня.

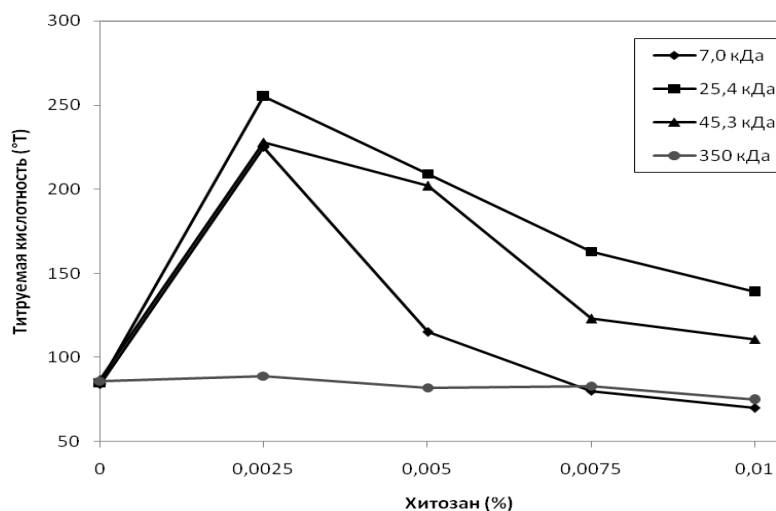


Рисунок 2 – Изменение титруемой кислотности молочнокислого продукта, содержащего различные концентрации высокомолекулярного хитозана и олигохитозанов с молекулярными массами 7,0, 25,4, 45,3 кДа на 17 день хранения

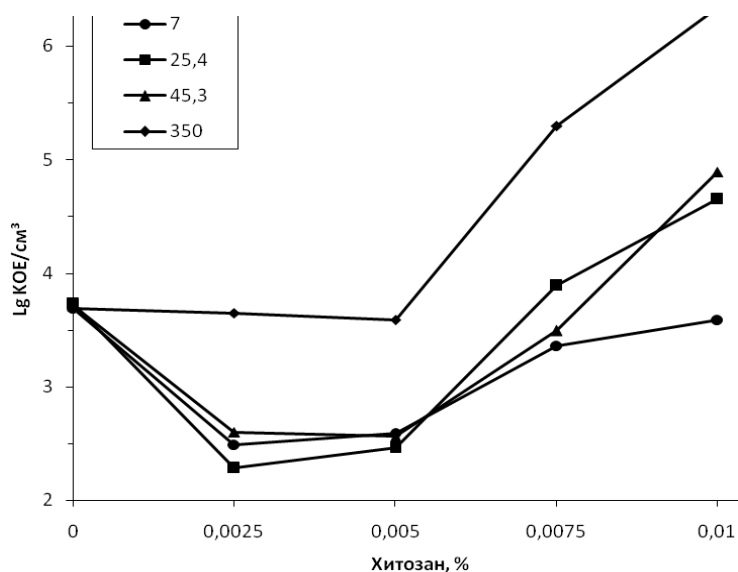


Рисунок 3 – Количество молочнокислых микроорганизмов в зависимости от концентрации внесенного высокомолекулярного хитозана и олигохитозанов с молекулярными массами 7,0, 25,4, 45,3 кДа на 17 день хранения.

Представленные на рисунке 3 данные свидетельствует о том, что исследованные олигохитозаны не проявляют пребиотических свойств. Высокомолекулярный хитозан в концентрациях 0,0075% и 0,01% повышал

содержание молочнокислых микроорганизмов в 1000 раз по сравнению с контролем.

Таким образом, исследованные олигохитозаны с различной степенью полимеризации не проявляли пребиотических свойств и не увеличивали сроки хранения продукта. Высокомолекулярный хитозан в концентрации 0,01% может быть рекомендован в качестве пребиотика, увеличивающего сроки хранения молочнокислого продукта с *Lactobacillus bulgaricus*.