

Элеманова Р.Ш.

**ПОВЫШЕНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ ЭФФЕКТИВНОСТИ
ПРОИЗВОДСТВА НАПИТКА «БОЗО»**

R.Sh. Elemanova

**INCREASING BIOTECHNOLOGICAL EFFICIENCY PRODUCTION
DRINK "BOZO"**

УДК:631.147:637.146.32

В статье приведена возможность использования комбинированной закваски из дрожжей и молочнокислых бактерий для производства напитка «Бозо».

In article is brought possibility of the use the multifunction yeast leaven and lactic bacteria for production of the drink "Bozo".

В биотехнологии основополагающая роль принадлежит стартовым культурам, специально вносимым в исходное сырье. Микроорганизмы, в частности МКБ, широко применяемые в производстве продуктов питания, во многом обуславливают протекание процесса брожения в требуемом направлении. Возникновение незапланированных изменений в ходе брожения приводит к определенным трудностям при производстве продуктов с требуемыми показателями качества и безопасности. В связи с этим особую актуальность приобретают исследования, направленные на стабилизацию развития стартовых культур в сырье различного состава.

Процесс брожения напитка «Бозо» состоит из комплекса одновременно протекающих сложных биохимических процессов, включающих спиртовое и молочнокислое брожение продуктов распада крахмала и сопровождающийся накоплением углекислоты, молочной кислоты, этилового спирта и других биологически активных компонентов.

На данном этапе эксперимента производился подбор сухих молочнокислых бактерий, пригодных для сбраживания суслу. На промышленном уровне для производства напитка «Бозо» в качестве закваски используют пекарские дрожжи.

Дрожжи, развиваясь в ассоциации с МКБ, имеют определенные преимущества. Исследователями установлено, что сочетание этих микроорганизмов значительно повышает защитные свойства сообщества [1].

Симбиоз дрожжей и МКБ, антимикробное свойство молочнокислых бактерий имеют существенное практическое значение в регулировании процессов брожения, поэтому правильный подбор закваски для бозо вызвал необходимость решения данной задачи.

Для комбинирования исследовались сухие бактериальные препараты и закваски для молочной промышленности, выпускаемые ООО «Барнаульская биофабрика», характеристика которых приведена ниже.

1. Бактериальная закваска для ряженки. Представляет собой лиофильно высушенные штаммы термофильного стрептококка *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* вязкой и невязкой консистенции. В 1 г закваски содержатся сотни миллионов жизнеспособных клеток (вариант 1).

2. Бактериальная закваска для йогурта. Представляет собой лиофильно высушенную протосимбиотическую смесь чистых культур термофильного стрептококка (*Streptococcus thermophilus*) и молочнокислой болгарской палочки (*Lactobacillus delbruekii subsp. bulgaricus*). В 1 г закваски содержатся десятки миллионов жизнеспособных клеток (вариант 2).

3. Концентрат бактериальный лиофилизированный для ферментированных молочных продуктов. Представляет собой смесь чистых культур лактококков (*Lactococcus*) и термофильного стрептококка (*Streptococcus thermophilus*). Количество жизнеспособных клеток в 1 г препарата не менее 3 млрд (вариант 3).

4. Концентрированная лиофилизированная закваска для айрана. В её состав включены штаммы мезофильных молочнокислых лактококков *Lactococcus lactis*, также *Leuconostoc*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus*.

В 1 г сухой закваски содержатся не менее 250 млрд. жизнеспособных клеток (вариант 4).

Согласно литературным данным для пшеничного теста установлено, что соотношение сбраживающей микрофлоры 1:1,7 (дрожжи:МКБ) является оптимальным и обеспечивает требуемую кислотность и хорошее качество хлеба [2, 3]. Для приготовления напитка «Максым» предложена комбинированная закваска с соотношением дрожжей и МКБ 1:0,8 [4].

На следующем этапе исследований методом математического планирования было оптимизировано соотношение и дозировка комбинации в сусло сухих дрожжей и МКБ. В качестве факторов варьирования, определяющих качество напитка, были выбраны различные соотношения дрожжей и МКБ, а также их дозировка для сбраживания образцов суслу.

Брожение представляет многофакторный процесс, характеризующийся большим количеством взаимосвязанных параметров и переменными свойствами среды.

При планировании эксперимента по исследованию процесса сбраживания суслу смешанной

закваской в качестве варьируемых факторов были взяты: дозировка дрожжей (x_1) и дозировка МКБ (x_2) в расчете на объем образца 1дм³.

В качестве критерия оптимизации выбрали сбраживаемость бродильной смеси, которая является откликом на воздействие факторов, т.е. значение содержания спирта – Y_1 и активную кислотность Y_2 .

При регулировании биохимических процессов в производстве продуктов брожения особое значение имеет активная кислотность. Хотя pH-среды и взаимосвязана с титруемой кислотностью, но в большей степени характеризует глубину биохимических процессов, так как выполняет функцию свободных ионов водорода в системе.

Уровни варьирования для двух факторов процесса брожения приведены в таблице 1.

Таблица 1

Уровни варьирования факторов процесса брожения

Показатели	Кодированное значение	Фактор и размерность	
		$x_1, (g)$	$x_2, (g)$
Верхний уровень	+1	0,3	0,15
Нулевой уровень	0	0,2	0,2
Нижний уровень	-1	0,1	0,05
Интервал варьирования	ε	0,1	0,15

Для данного процесса использована матрица полного факторного эксперимента 2², при этом опыты проводились в двух повторностях (табл. 2).

Таблица 2

Матрица полного факторного эксперимента 2²

№ опыта	Планирование		Критерий оптимизации					
	x_1	x_2	Содержание спирта, %			Значение активной кислотности, pH		
			Y_1	Y_2	$\bar{Y}_{1,2}$	Y_1'	Y_2'	$\bar{Y}'_{1,2}$
1	+1	+1	2,5	2,68	2,59	4,6	4,45	4,525
2	-1	+1	1,52	1,23	1,375	4,1	4,21	4,155
3	+1	-1	3,61	3,54	3,575	3,43	3,56	3,495
4	-1	-1	2,87	2,12	2,495	3,5	3,24	3,77

Результаты этого эксперимента можно представить в виде следующих уравнений:

$$Y = 2,5 + 0,57x_1 - 0,53x_2 \quad (1)$$

$$Y' = 3,88 + 0,12x_1 + 0,45x_2 \quad (2)$$

Анализ полученных зависимостей показывает, что основным фактором, влияющим на содержание спирта, является количество дрожжей, с увеличением которых содержание спирта повышается.

Значение активной кислотности в готовом напитке повышается с увеличением дозировки

дрожжей и МКБ. Это можно объяснить существующим симбиозом этих микроорганизмов.

После построения математической модели (получения уравнений регрессии) проводится его статистический анализ.

Планирование эксперимента и обработка экспериментальных данных связаны с определением нескольких видов ошибок, каждая из которых характеризует определенную стадию работы.

Оценку достоверности полученных коэффициентов регрессии, представляющих собой меру влияния фактора на процесс, проводили по дисперсии воспроизводимости результатов опыта, которую рассчитывали по формулам:

$$\rho_{bi}^2 = 0,021; \rho_{bi} = 0,146; \rho_{yk}^2 = 0,17; \rho^2(\bar{y}_u) = 0,085$$

для уравнения, описывающего изменение содержания спирта;

$$\rho_{bi}^2 = 0,037; \rho_{bi} = 0,06; \rho_{yk}^2 = 0,03; \rho^2(\bar{y}_u) = 0,014$$

для уравнения, описывающего изменение значения активной кислотности.

Результаты и порядок расчета дисперсии воспроизводимости процесса брожения, где критерием оптимизации является содержание спирта, представлены в таблице 3.

Таблица 3

Расчет дисперсии воспроизводимости процесса брожения, где критерием оптимизации является содержание спирта

№ Опыта	y_1	y_2	\bar{y}_u	$\bar{y}_u - y_1$	$\bar{y}_u - y_2$	$(\bar{y}_u - y_{1,2})^2$
1	2,5	2,68	2,59	0,09	0,09	0,0081
2	1,52	1,23	1,375	0,145	0,145	0,021
3	3,61	3,54	3,575	0,035	0,035	0,0012
4	2,87	2,12	2,495	0,375	0,375	0,1406

Расчет дисперсии воспроизводимости процесса брожения, где критерием оптимизации является значение активной кислотности, приведен в таблице 4.

Таблица 4

Расчет дисперсии воспроизводимости процесса брожения, где критерием оптимизации является значение активной кислотности

№ опыта	y_1	y_2	\bar{y}_u	$\bar{y}_u - y_1$	$\bar{y}_u - y_2$	$(\bar{y}_u - y_{1,2})^2$
1	4,6	4,45	4,525	0,075	0,075	0,0056
2	4,1	4,21	4,155	0,055	0,055	0,003
3	3,43	3,56	3,495	0,065	0,065	0,0042
4	3,5	3,24	3,77	0,13	0,13	0,0165

После вычисления дисперсии воспроизводимости процесса далее найдем доверительный интервал по формуле, т.е. наименьшее возможное абсолютное значение коэффициентов регрессии в

уравнениях (1), (2), тогда значение доверительного интервала для обоих критериев:

$$\Delta b = 2,78 \cdot 0,146 = 0,4; \Delta b' = 2,78 \cdot 0,06 = 0,17$$

Сравнивая абсолютные значения коэффициентов регрессии с доверительным интервалом, видим, что все коэффициенты данных уравнений (1) и (2) больше соответствующих доверительных интервалов, т. е. значимы.

Проверку соответствия уравнений регрессии описанному процессу (проверка адекватности) проводили следующим образом: в уравнения (1) и (2) подставили кодированные значения факторов для каждой строки в матрице, указанной в таблице 1.

1. Для значения содержания спирта:

$$\hat{Y}_1 = 2,5 + 0,57 - 0,53 = 2,54$$

$$\hat{Y}_2 = 2,5 - 0,57 - 0,53 = 1,4$$

$$\hat{Y}_3 = 2,5 + 0,57 + 0,53 = 3,6$$

$$\hat{Y}_4 = 2,5 - 0,57 + 0,53 = 2,46 \quad (3)$$

2. Для значения активной кислотности:

$$\hat{Y}'_1 = 3,88 + 0,12 + 0,45 = 4,46$$

$$\hat{Y}'_2 = 3,88 - 0,12 + 0,45 = 4,21$$

$$\hat{Y}'_3 = 3,88 + 0,12 - 0,45 = 3,55$$

$$\hat{Y}'_4 = 3,88 - 0,12 - 0,45 = 3,3 \quad (4)$$

Сопоставляя полученные результаты с результатами эксперимента, получаем, что уравнения (1) и (2) воспроизводят результаты с некоторой погрешностью. Величина этой погрешности определяется дисперсией адекватности и может быть рассчитана по формуле. Результаты расчета дисперсии адекватности процесса приведены в таблице 5 и 6.

Таблица 5

Расчет дисперсии адекватности процесса брожения, где критерием оптимизации является содержание спирта

№ опыта	y_u	\hat{y}_u	$y_u - \hat{y}_u$	$(y_u - \hat{y}_u)^2$	$\rho^2_{ад}$
1	2,59	2,54	0,06125	0,003752	0,002
2	1,375	1,4	0,06125	0,003752	
3	3,575	3,6	0,06125	0,003752	
4	2,495	2,46	0,06125	0,003752	

Таблица 6

Расчет дисперсии адекватности процесса брожения, где критерием оптимизации является значение активной кислотности

№ опыта	y_u	\hat{y}_u	$y_u - \hat{y}_u$	$(y_u - \hat{y}_u)^2$	$\rho^2_{ад}$
1	4,525	4,46	0,03375	0,001139	0,002
2	4,155	4,21	0,03375	0,001139	
3	3,495	3,55	0,03375	0,001139	
4	3,77	3,3	0,03375	0,001139	

Последним этапом статистического анализа результатов эксперимента является проверка пригодности получаемой математической модели, т.е. тождественность этой абстрактной модели реальному физическому процессу. Гипотезу об адекватности проверяли с помощью критерия Фишера.

В случае, если полученная дисперсия адекватности $\rho^2_{ад}$ не превышает среднюю дисперсию производительности $\rho^2(y)$ более, чем в F раз (критерий Фишера), можно сделать вывод о том, что уравнение регрессии адекватно описывает процесс.

Критерий Фишера находили по принятому уровню значимости и числу степеней свободы для обеих дисперсий $F_{табл} = 4,5$; а критерий Фишера расчетный определяем по формуле:

$F_{расч} = 0,026 \rightarrow F_{расч} < F_{табл}$ для уравнения, описывающего изменение содержания спирта;

$F'_{расч} = 0,026 \rightarrow F'_{расч} < F_{табл}$ для уравнения, описывающего изменение значения активной кислотности.

Таким образом, полученные уравнения регрессии (1) и (2) адекватно описывают процесс, так как расчетное значение критерия Фишера меньше его табличного значения.

После получения адекватной модели переходим к следующему этапу работы – поиску оптимума с помощью найденных моделей.

Для нахождения движения градиента функции по найденному направлению, изменяли факторы пропорционально полученным для них коэффициентам регрессии с учетом их знака.

Результаты программы оптимизации по линейной части уравнений (1) и (2) приведены в таблицах 7 и 8.

Таблица 7

Программа оптимизации процесса брожения, где критерием оптимизации является содержание спирта

№	Показатели	Обозначения	Факторы и их размерность		Критерий оптимизации Y_1 содержание спирта (%)
			$x_1, (z)$	$x_2, (z)$	
1.	Верхний уровень	+	0,3	0,15	
2.	Нулевой уровень	0	0,2	0,2	
3.	Нижний уровень	-	0,1	0,05	
4.	Интервал варьирования	ϵ_i	0,1	0,15	
5.	Коэффициенты регрессии	b_i	0,57	0,53	
6.	Произведение	$\epsilon_i b_i$	0,057	0,08	
7.	Базовый шаг	$\delta_{баз}$	0,1		
8.	Масштаб	μ	1,75		
9.	Шаг	$\mu b_i \epsilon_i$	0,1	0,14	
10.	Округленный шаг	$\delta_i = b_i \epsilon_i \mu_i$	0,1	0,15	
11.	Опыт на нулевом уровне		0,2	0,2	2,5
12.	Реализованный 1-й опыт		0,3	0,35	3,2
13.	Реализованный 2-й опыт		0,4	0,5	4,4

По результатам оптимизации были поставлены пять опытов, в которых наблюдалось постоянное увеличение выходного параметра, однако, начиная со второго опыта, ухудшались органолептические показатели готового напитка – появлялся дрожжевой запах и привкус, которые с увеличением дозировок микроорганизмов усиливались.

Таблица 8

Программа оптимизации процесса брожения, где критерием оптимизации является значение активной кислотности

№	Показатели	Обозначения	Факторы и их размерность		Критерий оптимизации Y ₁ рН
			x ₁ , (z)	x ₂ , (z)	
1.	Верхний уровень	+	0,3	0,15	
2.	Нулевой уровень	0	0,2	0,2	
3.	Нижний уровень	-	0,1	0,05	
4.	Интервал варьирования	ε _i	0,1	0,15	
5.	Коэффициенты регрессии	b _i	0,12	0,45	
6.	Произведение	ε _i b _i	0,012	0,0675	
7.	Базовый шаг	δ _{баз}	0,1		
8.	Масштаб	μ	8,33		
9.	Шаг	μ b _i ε _i	0,099	0,56	
1	Округленный шаг	δ _i = b _i ε _i μ _i	0,1	0,1	
1	Опыт на нулевом уровне		0,2	0,2	3,68
1	Реализованный 1-й опыт		0,3	0,3	3,68
1	Реализованный 2-й опыт		0,4	0,4	3,67

По результатам работы составленной программы, результаты критерия оптимизации отличаются незначительно, т.е. с увеличением дозировки микроорганизмов значение активной кислотности мало изменяется.

Таким образом, оптимальными дозировками микроорганизмов можно считать следующие: сухие дрожжи 0,2 г/дм³, молочнокислые бактерии - 0,2 г/дм³. Следовательно, количество сухого препарата МКБ и дрожжей составляет 0,4 г на 1 дм³ готового продукта при соотношении 1:1.

Далее для выбора вида МКБ были составлены варианты смешанных заквасок с использованием вышеописанных сухих препаратов для сбраживания суслу, в качестве контрольного варианта использованы дрожжи без МКБ. Брожение вели в лабораторных условиях при температуре 20-25 °С. Продолжительность брожения была выбрана одинаковой для всех вариантов – 12 часов, по истечении которых сусло фильтровали, и образцы были проанализированы по органолептическим показателям.

По варианту 1 напиток получался очень кислым, неприятным на вкус, с запахом кисломолочных продуктов.

Напиток, полученный при сбраживании суслу с использованием закваски по варианту 2, отличался

по органолептическим показателям от напитка, полученного по варианту 1, менее выраженным вкусом, скорее кислым, чем сладким.

Вариант 3 отличался интенсивным брожением, напиток при этом имел слабовыраженный кислый вкус, запах не свойственный напитку бозо.

Вариант 4 придавал напитку хорошо выраженный аромат, специфический кисло-сладкий вкус, свойственный для данного напитка.

Контрольный вариант имел дрожжевой запах, недостаточную кислотность.

Таким образом, для производства напитка можно использовать сухие дрожжи и сухие препараты молочнокислых бактерий. Наилучшие органолептические показатели имеет напиток, полученный сбраживанием суслу сухими МКБ *Lactococcus lactis*, *Leuconostoc*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus* и сухими дрожжами в соотношении 1:1. Этот образец напитка был дополнительно проанализирован по основным физико-химическим показателям, представленным в табл.9.

Таблица 9

Физико-химические показатели напитка с использованием МКБ

Показатель	Контрольный (дрожжи без МКБ)	Опытный (ЧКД:МКБ=1:1)
Содержание сухих веществ, %	15,3	15,8
Активная кислотность, рН	4,7	3,6
Титруемая кислотность, см ³ раствора NaOH 1,0 моль/дм ³ на 100 см ³	6,1	7,0
Массовая доля этилового спирта, %	2,2	1,3
Витамин С, мг%	0,26	0,48
Витамин В ₂ , мг%	0,74	0,83

Установлено, что в опытном образце активная кислотность ниже, содержание витаминов С и В₂ повышены по сравнению с контрольным. Это объясняется тем, что между указанными видами микроорганизмов существует сложное биохимическое взаимоотношение – симбиоз, приводящее к созданию благоприятных условий друг для друга. Низкое значение активной кислотности предпочтительно для длительного хранения напитка, а повышенное содержание витаминов способствует увеличению биологической ценности готового продукта.

Исследователями доказано, МКБ рода *Lactobacillus*, входящие в выбранный вариант для напитка, способны к адсорбции тяжелых металлов. Исследование способности лактобактерий адсорбировать тяжелые металлы показало независимость этого процесса от состояния клеток (живые или мертвые), и рекомендуется их использование, как эффективного биосорбента тяжелых металлов из организма человека [5].

Таким образом, применение комбинированной или смешанной закваски с использованием МКБ способствует повышению функциональной направленности продукта.

Кроме того, применение чистых культур тормозит развитие посторонней микрофлоры в бродильной смеси, обеспечивая стабильность процесса.

Литература:

1. Витавская А.В., Нафанаилова Л.Г., Марковченко Л.Д., Ройтер И.М. Предотвращение картофельной болезни хлеба//Хлебопекарная промышленность. 1972, № 11, -с.9-10.
2. Поландова Р.Д., Богатырева Т.Г. Основные направления исследований в области микробиологии хлебопечения. История. Современные тенденции//Хлебопечение России, 1997, №5, -с.11-12.
3. Витавская А.В., Дудикова Г.Н., Тулемисова К.А. Биологическая защита хлеба от картофельной болезни, Алматы, 1998, -238с.
4. Коджегулова Д.А. Усовершенствование технологии национального напитка «Максым» на основе злаковых культур: автореф. ... канд. техн. наук: 05.18.01 – Алматы, Алматинский технол. унив, 20085, 21 с.
5. Старовойтова С.О., Орябінська Л.Б., Горчаков В.Ю. Молочнокислі бактерії – біосорбенти важких металів//Наук. вісті Нац. техн. ун-ту України «Київ. політехн. ін-т». 2008, №1, с. 108-116.

Рецензент: д.т.н., профессор Мусульманова М.М.
