

Учреждение образования
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Р. М. МАРКЕВИЧ, М. В. РЫМОВСКАЯ

БИОТЕХНОЛОГИЯ

В ПИЩЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВАХ

ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ

*Рекомендовано
учебно-методическим объединением
по химико-технологическому образованию
в качестве учебно-методического пособия для студентов
учреждений высшего образования по специальности
1-48 02 01 «Биотехнология»
специализации 1-48 02 01 02 «Технология ферментов, витаминов
и продуктов брожения»*

Минск 2021

УДК 606:663/664(075.8)

ББК 65.9(2)304.25я73

М26

Р е ц е н з е н т ы :

кафедра технологии и технического обеспечения процессов переработки сельскохозяйственной продукции УО «Белорусский государственный аграрный технический университет»
(заведующий кафедрой кандидат технических наук, доцент *А. Б. Торган*);
ведущий научный сотрудник отдела «Научно-производственный центр биотехнологий» ГНУ «Институт микробиологии НАН Беларуси» кандидат биологических наук *Л. В. Романова*

Все права на данное издание защищены. Воспроизведение всей книги или ее части не может быть осуществлено без разрешения учреждения образования «Белорусский государственный технологический университет».

Маркевич, Р. М.

М26 Биотехнология в пищевых производствах. Лабораторный практикум : учеб.-метод. пособие для студентов специальности 1-48 02 01 «Биотехнология» специализации 1-48 02 01 02 «Технология ферментов, витаминов и продуктов брожения» / Р. М. Маркевич, М. В. Рымовская. – Минск : БГТУ, 2021. – 161 с.
ISBN 978-985-530-924-7.

Лабораторный практикум разбит на 4 главы. Каждая из них содержит теоретическую часть и одну или несколько лабораторных работ. В основу последних положена система комплексного анализа качества сырья, полупродуктов и продуктов пищевых производств, составленная в соответствии с современными нормативно-техническими документами и установившейся практикой, а также моделирование части конкретного производственного процесса (образования кисломолочного или сычужного сгустка, замачивания и проращивания ячменного солода, приготовления теста из пшеничной муки).

Информация из теоретической части лабораторного практикума позволяет оценить влияние значимых факторов на скорость и эффективность протекания изучаемого биотехнологического процесса. Использование разного сырья и микроорганизмов, варьирование условий процесса способствуют формированию навыков исследовательской работы и выявлению закономерностей протекания процесса.

Предназначен для студентов специальности 1-48 02 01 «Биотехнология» специализации 1-48 02 01 02 «Технология ферментов, витаминов и продуктов брожения», также будет полезен магистрантам и аспирантам.

УДК 606:663/664(075.8)

ББК 65.9(2)304.25я73

ISBN 978-985-530-924-7

© УО «Белорусский государственный технологический университет», 2021

© Маркевич Р. М., Рымовская М. В., 2021



ПРЕДИСЛОВИЕ

Для грамотного управления биотехнологическими процессами получения пищевых продуктов с заданными характеристиками необходимо знать химический состав сырья, последовательность стадий ступенчатого преобразования его свойств, уметь оценить вероятность и степень протекания сопутствующих процессов, освоить методы анализа сырья, полупродуктов и продуктов.

Лабораторный практикум дополняет теоретическую часть учебной дисциплины «Биотехнология в пищевых производствах», позволяя углубить знание технологических процессов производства пищевых продуктов в части характеристики качества сырья и изменения его состава и свойств при промышленной переработке, моделирования ключевых стадий технологического процесса в условиях лаборатории с получением полупродуктов или продуктов и оценкой их качества.

Пособие соответствует учебной программе дисциплины «Биотехнология в пищевых производствах» и используется для овладения обучающимися специальности 1-48 02 01 «Биотехнология» основными практическими навыками управления производственными процессами, а также методами химического, биохимического и микробиологического контроля процессов производства пищевых продуктов.

Перед началом выполнения работ в лаборатории студенты должны изучить правила охраны труда, техники безопасности и противопожарной профилактики и в процессе работы безоговорочно их выполнять.

В отчете о лабораторной работе должны быть приведены название работы и цель, план работы, краткое описание выполнения эксперимента и полученные результаты с необходимыми пояснениями и расчетами, сформулированы выводы.



1. АНАЛИЗ КАЧЕСТВА МОЛОКА, ПОЛУЧЕНИЕ И АНАЛИЗ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

1.1. Показатели качества молока

Свойства молока, поступающего для промышленной переработки на предприятия молочной отрасли, влияют на экономические показатели производства и качество готовой продукции. Требования к молоку как к сырью при переработке на различные продукты неодинаковы. Питьевое молоко должно иметь высокую биологическую ценность. Для маслоделия лучшим считается молоко с высоким содержанием жира в виде крупных шариков. В молоке, используемом в сыроделии, должно быть больше белка. От технологических свойств молока зависят расход сырья на единицу продукции и ее качество, а также стойкость продукции при хранении.

При поступлении на молочный завод молоко проверяют по органолептическим и физико-химическим показателям в каждой партии.

Органолептические свойства обуславливаются веществами, входящими в его состав. Например, жир придает нежность вкусу, лактоза – сладость, белки – полноту вкуса. По цвету молоко должно быть от белого до светло-кремового, по внешнему виду и консистенции – однородной непрозрачной жидкостью без осадка, сгустков, хлопьев белка, посторонних привкусов и запахов, не свойственных свежему молоку. Не допускается замораживание.

Несмотря на то, что органолептические показатели субъективны, их характеристики регламентированы нормативной документацией. Определение вкуса, цвета, консистенции и запаха – это самый простой и недорогой способ, позволяющий выявить нарушения технологии производства молока. О фальсификации молока водой с солью может свидетельствовать его солоноватый вкус. Неоднородность консистенции может указывать на получение молока от маститных коров. Запах навоза или кормов отмечается при несоблюдении технологии доения и хранения.

Химический состав молока оказывает существенное влияние на его технологические свойства, выход, качество и пищевую ценность молочных продуктов и может изменяться в широких пределах в зависимости от периода лактации, возраста, состояния здоровья животных, условий их кормления, содержания, периодичности доения. Наибольшим изменениям подвергнуто содержание жира, затем белка, в меньшей степени – лактозы и минеральных веществ.

Белки являются важнейшей составной частью молока. В результате большинства технологических операций происходят изменения белков: денатурация, кислотная, сычужная и термокальциевая коагуляция, протеолиз.

Молочный жир – наиболее энергетически ценный компонент молока. Кроме того, он обуславливает определенный вкус и консистенцию молочных продуктов, их высокую пищевую ценность. Эмульсия жира в молоке довольно устойчива. Нагревание молока, механическое воздействие влияют на стабильность эмульсии. Состав и структура оболочек жировых шариков изменяются в процессе обработки, охлаждения и хранения молока. Снижение прочности оболочки, частичный разрыв ее приводят к выделению свободного жира. Такое нарушение жировой эмульсии и появление свободного жира увеличивают его потери при производстве молочных продуктов и снижают их качество.

Лактоза имеет большое практическое значение. Она содержится во всех молочных продуктах, участвует в формировании их свойств и качества молока. Лактоза обуславливает пищевую ценность молока. Она служит исходным веществом при брожении в процессе производства кисломолочных продуктов.

Витамины А, D, E, B₁, B₂, C представляют основной интерес для молочной промышленности. Часть витаминов влияет на ход окислительно-восстановительных процессов, протекающих в молоке, и играет роль антиокислителей жиров. Многие витамины являются необходимыми факторами роста микроорганизмов, сбраживающих молочный сахар с образованием молочной кислоты.

Физико-химические показатели определяются для оценки возможности переработки молока в готовые молочные продукты.

Окислительно-восстановительный потенциал (редокспотенциал) выступает количественной мерой окисляющей или восстанавливающей способности молока. Редокспотенциал, определяемый потенциометрическим методом, нормального свежего молока равен 0,25–0,35 В (250–350 мВ).

Молоко содержит ряд химических соединений, способных отдавать или присоединять электроны (атомы водорода): аскорбиновую кислоту, токоферолы, цистеин, глутатион, рибофлавин, молочную кислоту, кислород, металлы и пр. В окислительно-восстановительную систему молока входят разнообразные системы, например:

Аскорбиновая кислота → Дегидроаскорбиновая кислота

Цистеин → Цистин

Молочная кислота → Пировиноградная кислота

Плотность молока при 20°C колеблется от 1027 до 1032 кг/м³. Она зависит от температуры (понижается с ее повышением) и химического состава (понижается при увеличении содержания жира и повышается при увеличении количества белков, лактозы, солей). Нарушения в кормлении приводят к снижению в молоке уровня СОМО из-за уменьшения массовой доли белка и минеральных веществ, а это, в свою очередь, снижает плотность продукта.

Плотность закупаемого молока определяют не ранее, чем через 2 ч после дойки, так как она изменяется. Это объясняется улетучиванием части газов и повышением плотности жира и белков при постепенном понижении температуры молока.

Вязкость, или внутреннее трение, нормального молока при 20°C в среднем составляет $1,8 \cdot 10^{-3}$ Па·с с колебаниями от $1,3 \cdot 10^{-3}$ до $2,2 \cdot 10^{-3}$ Па·с. Она зависит главным образом от содержания белков и жира, дисперсности мицелл казеина и шариков жира, степени их гидратации и агрегирования.

В процессе хранения и обработки вязкость молока повышается. Это объясняется увеличением степени диспергирования жира, укрупнением белковых частиц, адсорбцией белков на поверхности шариков жира и т. д.

Вязкость молочных продуктов повышается с увеличением содержания сухих веществ.

Поверхностное натяжение молока (сила, действующая на единицу длины границы раздела фаз молоко – воздух) при 20°C равно около $44 \cdot 10^{-3}$ Н/м. Оно зависит от температуры молока, химического состава, состояния белков, жира, активности липазы, продолжительности хранения, режимов технологической обработки и т. д. Поверхностное натяжение снижается при нагревании молока и особенно сильно при его липолизе, так как в результате

гидролиза жира образуются ПАВ – ди- и моноацилглицериды, жирные кислоты, понижающие величину поверхностной энергии.

Осмотическое давление молока обусловлено высокодисперсными веществами: лактозой и ионами солей, преимущественно калия и натрия. Белковые вещества и коллоидные соли незначительно влияют на осмотическое давление молока, жир практически не влияет.

Температура замерзания молока – довольно постоянная величина, колеблющаяся в узких пределах (от $-0,505$ до $-0,575^{\circ}\text{C}$). Она зависит от химического состава молока, поэтому изменяется в течение лактационного периода, при заболевании животных, а также при разбавлении молока водой.

Удельная электропроводность молока в среднем составляет $46 \cdot 10^{-3}$ См/м. Ее обуславливают ионы Cl^- , Na^+ , K^+ , H^+ , Ca^{2+} и др. Электрически заряженный казеин, сывороточные белки и шарики жира в силу больших размеров передвигаются медленно и несколько тормозят подвижность ионов, т. е. практически уменьшают электропроводность молока. Электропроводность повышается при нарастании кислотности молока и снижается при разбавлении его водой. Концентрирование молока вследствие повышения вязкости и усиления межмолекулярных взаимодействий приводит к снижению электропроводности.

Для расчетов затрат теплоты и холода на нагревание или охлаждение молока и молочных продуктов необходимо знать их теплофизические свойства, которые зависят от температуры, содержания сухих веществ, влаги, жира, кислотности, дисперсности жира и т. д.

Наиболее важными из них являются удельная теплоемкость, теплопроводность и коэффициент температуропроводности.

Удельная теплоемкость молока в интервале температур 273–333 К изменяется незначительно: ее можно считать постоянной величиной, равной 3900 Дж/кг·К.

Теплопроводность молока равна примерно $0,5$ Вт/($\text{m}^2 \cdot \text{K}$) при 20°C . Она увеличивается с повышением температуры и незначительно уменьшается с увеличением содержания в нем жира.

Коэффициент температуропроводности зависит от температуры, жирности, влажности, плотности и пористости пищевых продуктов. Коэффициент температуропроводности молока при 20°C равен около $13 \cdot 10^{-8}$ m^2/c .

Показатель преломления молока при 20°C колеблется от 1,3440 до 1,3485. Он складывается из показателей преломления воды и составных частей обезжиренного остатка молока – лактозы, казеина, сывороточных белков, солей, небелковых азотистых соединений и прочих компонентов.

С помощью рефрактометрического метода можно осуществлять косвенный контроль натуральности молока. Показатель преломления сыворотки натурального свежего молока является величиной относительно постоянной, равной около 1,342–1,343. При добавлении к молоку воды число рефракции молочной сыворотки понижается пропорционально количеству добавленной воды – в среднем на 0,2 на каждый процент воды.

Кислотность молока характеризуется двумя величинами – титруемой и активной кислотностью (рН). При приемке молока обычно определяют титруемую кислотность, выражаемую в градусах Тернера (°Т).

Титруемая кислотность свежесырокомого молока составляет 16–18°Т (значение рН от 6,55 до 6,75), из которых 4–6°Т обусловлено содержанием белков, 9–13°Т – минеральных солей, около 3°Т – органических кислот (молочной, угольной, лимонной, аскорбиновой и др.).

Увеличение кислотности при хранении молока связано с накоплением молочной кислоты в процессе жизнедеятельности молочнокислых бактерий. При титруемой кислотности сырого молока выше 18°Т рН понижается незначительно. Медленное изменение рН объясняется наличием в молоке ряда буферных систем – белковой, фосфатной, цитратной, гидрокарбонатной, лактатной и т. д.

Буферная способность белков молока (главным образом казеина) объясняется наличием аминных и карбоксильных групп. Эти группы вступают в реакцию с ионами водорода образовавшейся или добавленной молочной кислоты. Буферная способность фосфатов заключается во взаимном переходе гидрофосфатов в дигидрофосфаты и обратно. Цитраты, бикарбонаты и лактаты при добавлении кислоты вступают в реакцию с ионами H^+ аналогично фосфатам.

Буферная способность составных частей молока играет большую роль в жизнедеятельности молочнокислых бактерий при производстве кисломолочных продуктов и сыров. Молочнокислые бактерии чувствительны к низким значениям рН среды, границы их

развития в молоке лежат в определенном интервале рН, характерном для отдельных групп; рН среды также влияет на характер образующихся продуктов брожения, в том числе на выход диацетила.

Кислотность свежесвыдоенного молока меньше 16°T свидетельствует о заболевании животного или фальсифицировании молока (добавление соды, аммиака и др.). В последнее время в зимне-весенний период чаще стала выявляться проблема повышенной кислотности молока по причине нарушения кормления коров. К сдвигу рН молока в кислую сторону приводит высокий уровень концентратов в рационе или выдача их в чистом виде, а также дефицит минеральных веществ, кислые корма. Как правило, эта проблема решается нормированием кормления по минеральным веществам.

Группу чистоты молока определяют по наличию механических примесей, большое количество которых свидетельствует об антисанитарных условиях получения, хранения и транспортировки молока.

Чистоту молока определяют фильтрованием 250 см^3 подогретого до $35\text{--}40^{\circ}\text{C}$ и тщательно перемешанного молока. В качестве фильтрующего материала используют ватный или фланелевый фильтр. Цвет фильтра должен совпадать с цветом молока. По окончании фильтрования фильтр помещают на лист бумаги и просушивают на воздухе, предохраняя от попадания пыли. Осадок на подсушенном фильтре сравнивают с эталоном, на основании чего устанавливают группу чистоты молока (табл. 1.1). При изменении цвета фильтра молоко, независимо от количества имеющейся на фильтре механической примеси, относят к III группе чистоты.

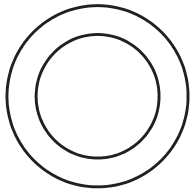
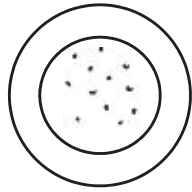
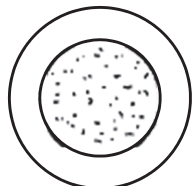
Молоко – благоприятная среда для развития микроорганизмов. В молоке и молочных продуктах встречаются чаще всего бактерии, дрожжеподобные и мицелиальные грибы. В процессе жизнедеятельности бактерий, имеющих в молоке или попавших в него в процессе получения либо обработки, накапливается фермент редуктаза. Этот фермент способен обесцвечивать краситель метиленовый синий и изменять окраску молока с резазурином. В зависимости от времени изменения цвета косвенно можно установить бактериальную обсемененность непастеризованного молока.

Редуктазную пробу используют также для определения ингибирующих веществ в молоке добавлением в него культуры термофильного стрептококка, чувствительного к ингибирующим веществам (при наличии таких веществ микроорганизм не размножается, и молоко остается окрашенным), и для выявления бактериофагов

(после обесцвечивания молока через 5 ч наблюдается восстановление окраски).

Таблица 1.1

Образец сравнения для определения группы чистоты молока

Группа чистоты	Образец сравнения	Характеристика
I группа		Молоко чистое. На фильтре отсутствуют частицы механической примеси (для сырого молока допускается наличие на фильтре не более двух частиц механической примеси)
II группа		Молоко слегка загрязненное. На фильтре имеются отдельные частицы механической примеси (до 13 частиц)
III группа		Молоко сильно загрязненное. На фильтре заметный осадок частиц механической примеси (волоски, частицы корма, песка)

На молочном производстве редуктазную пробу и определение ингибирующих веществ в молоке проводят один раз в декаду, исследуют молоко каждого поставщика.

Любой инфекционный процесс приводит к увеличению количества соматических клеток (в первую очередь лейкоцитов) в крови и, соответственно, в молоке, поэтому уровень соматических клеток в молоке – показатель состояния здоровья животного. Сепарирование молока приводит к снижению содержания соматических клеток в нем, но не вызывает снижение содержания бактерий-возбудителей воспалительного процесса (например, мастита) и их токсинов.

Таким образом, достичь стабильно высокого качества молока можно лишь путем строжайшего соблюдения технологии получения и его первичной обработки, а также профилактики и лечения заболеваний животных.

В соответствии с государственным стандартом СТБ 1598-2006 «Молоко коровье. Требования при закупках» в третьей редакции (в силе с 1.09.2015) молоко в зависимости от показателей качества делится на три сорта: экстра, высший, первый (табл. 1.2).

Таблица 1.2

Физико-химические и микробиологические показатели молока

Показатель	Норма для молока		
	экстра	высшего сорта	первого сорта
Массовая доля, %, не менее:			
жира	3,0	2,8	–
белка	3,0	2,8	–
Массовая доля сухого обезжиренного молочного остатка (СОМО), %, не менее	8,5	8,2	–
Кислотность, °Т	16–18	16–18	16–18
Группа чистоты по эталону, не ниже	I	I	I
Температура замерзания, °С, не выше	–0,520	–	–
Плотность, кг/дм ³ , не менее	1,028	1,027	1,027
Термоустойчивость (группа по алкогольной пробе), не ниже	II	–	–
КМАФАнМ, КОЕ/см ³ , не более	1 · 10 ⁵	3 · 10 ⁵	5 · 10 ⁵
Общее количество микроорганизмов (бактериальная обсемененность методом пробы на редуктазу), КОЕ/см ³ , не более	–	3 · 10 ⁵	5 · 10 ⁵
Число соматических клеток, кл/см ³ , не более	3 · 10 ⁵	4 · 10 ⁵	5 · 10 ⁵
Патогенные микроорганизмы, в том числе сальмонеллы, в 25 см ³	Не допускаются		

Сорт молока определяется по основным параметрам, разделенным на три группы:

– первая группа – органолептические показатели (внешний вид, консистенция, вкус, запах и цвет);

– вторая группа – физико-химические показатели (массовая доля жира, белка и сухих обезжиренных веществ, кислотность, группа чистоты, температура замерзания, плотность, термоустойчивость по алкогольной пробе, температура молока при отгрузке и приемке);

– третья группа – санитарно-гигиенические показатели (количество соматических клеток, количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ), общее количество микроорганизмов, наличие патогенных микроорганизмов, в том числе сальмонелл).

1.2. Тепловая обработка молока и молочных продуктов. Оценка эффективности тепловой обработки

1.2.1. Виды тепловой обработки

Молоко, поступившее на молокоперерабатывающее предприятие, обязательно подвергается тепловой обработке. В зависимости от целей, которые необходимо достигнуть, и применяемых условий обработки (температура, продолжительность) различают несколько видов тепловой обработки.

Термизация – процесс обработки сырого молока или молочной продукции при температуре от 60 до 68°C с выдержкой до 30 с. При термизации подавляется развитие микробиоты, но сохраняется активность щелочной фосфатазы молока. Используют термизацию для повышения стойкости сырого молока при хранении, обработки молока с повышенной бактериальной обсемененностью, предназначенного для созревания в сыроделии, повышения термостойкости при производстве молочных консервов.

Пастеризация – тепловая обработка молока или молочной продукции при температуре от 63 до 100°C. Основная цель пастеризации заключается в уничтожении патогенных микроорганизмов (туберкулезной палочки, бактерий группы кишечной палочки и др.) и инактивации ферментов, что продлевает сроки хранения молока и молочных продуктов. При пастеризации погибает до 99,9% вегетативных форм микроорганизмов и продукт на определенный срок приобретает относительную стойкость. Выбор температуры и продолжительности тепловой обработки зависит от бактериальной обсемененности исходного молока и желаемого срока хранения продукта. Вкусовые качества молока практически не меняются.

Ультрапастеризация – процесс кратковременной высокотемпературной обработки в потоке в замкнутой системе. Молоко нагревается до температуры 135–140°C, выдерживается 2–4 с, охлаждается и направляется на розлив с асептическим упаковыванием. Американский институт пищевой промышленности в 1989 г. назвал ультрапастеризацию «самым важным изобретением в пищевой промышленности за последние 50 лет». Она позволяет максимально сохранить вкусовые свойства свежего молока, большое количество витаминов и микроэлементов, структуру белков. Срок годности ультрапастеризованного молока составляет около полугода.

Стерилизация – обработка молока при температуре выше 100°C с целью уничтожения всех вегетативных и споровых форм микроорганизмов, инактивации ферментов, обеспечения длительного хранения в условиях исключения вторичного обсеменения. Продолжительная высокотемпературная обработка влияет на вкусовые качества, состав и структуру компонентов молока. Казеин выдерживает нагревание до температуры 140°C в течение 10–20 мин, более длительное воздействие приводит к гидролизу пептидных связей. Сывороточные белки менее термостойки, они подвергаются денатурации, образуют комплексы с ионами кальция, агрегируют, выпадают в осадок. Лактоза может изомеризоваться в лактулозу, вступать в реакцию меланоидинообразования. Часть триглицеридов гидролизуется, высвобождаются летучие жирные кислоты (муравьиная, уксусная, пропионовая, масляная, каприновая, каприловая), которые в небольшом количестве (до 30 мг/кг) придают приятный вкус и запах, например, сливочному маслу, а в большем количестве ухудшают его свойства. Длительная стерилизация приводит к разрушению витаминов: А, В₁, В₂ – на 25–59%, С и В₁₂ – на 100%.

Ультравысокотемпературную обработку молока проводят при температуре $(102 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ без выдержки при изготовлении кисломолочных напитков.

Термовакuumную обработку молока (дезодорация) используют для удаления газов, летучих компонентов, придающих нежелательные привкусы и запахи.

Тепловой обработке могут подвергаться и готовые молочные продукты.

1.2.2. Биохимический контроль эффективности пастеризации молока и молочных продуктов

В молоке содержится около 125 ферментов различного происхождения, около 60 из них выделены и охарактеризованы.

В зависимости от происхождения различают ферменты нативные (истинные), которые синтезируются непосредственно в секреторных клетках молочной железы или поступают в молоко из крови животного, и ферменты, продуцируемые микробиотой молока (эндо- и экзоферменты).

Ферменты по-разному локализованы в молоке: одни из них находятся в свободном состоянии (около 25), другие связаны

с мицеллами казеина, реже – с сывороточными белками (около 20), некоторые входят в состав оболочек жировых шариков (около 36).

Содержание ферментов в молоке имеет практическое значение. Так, окислительно-восстановительные (дегидрогеназы, оксидазы, каталаза, лактопероксидаза, оксигеназы и др.) и гидролитические (гликолитические, липазы, протеазы) ферменты вызывают изменения компонентов молока при производстве и хранении молочных продуктов, пероксидаза является одним из факторов антибактериальной системы молока. Некоторые окислительно-восстановительные ферменты (редуктаза, фосфатаза, пероксидаза) используются для оценки санитарно-гигиенического состояния сырого молока или эффективности его пастеризации.

В результате тепловой обработки происходит инактивация ферментов в зависимости от их термолабильности. По сохраненной активности ферментов оценивают эффективность пастеризации молока.

Так, фермент фосфатаза, относящийся к эстеразам и расщепляющий эфиры фосфорной кислоты, инактивируется при температуре пастеризации не ниже 63°C с выдержкой 30 мин.

В свежесвыдоенном молоке обнаружены щелочная и кислая фосфатазы. Нативная щелочная фосфатаза секретируется клетками молочной железы либо попадает в молоко из крови животного. Кроме того, при развитии в молоке микроорганизмов может накапливаться бактериальная фосфатаза. Метод определения щелочной фосфатазы основан на гидролизе динатриевой соли фенолфосфорной кислоты. Выделившийся при гидролизе свободный фенол в присутствии окислителя дает розовое окрашивание с 4-аминоантипирином.

Согласно второму методу гидролизу фосфатазой подвергается фенолфталеинфосфат натрия. Освобождающийся при гидролизе фенолфталеин в щелочной среде дает розовое окрашивание.

Фермент пероксидаза, являющийся оксидоредуктазой, более термоустойчив. Он инактивируется при температуре пастеризации 75°C с выдержкой 10 мин, при 80°C с выдержкой 20–30 с или 85°C без выдержки.

Определение пероксидазы основано на разложении под действием этого фермента пероксида водорода. Освобождающийся активный кислород окисляет йодистый калий, восстановленный йод образует с крахмалом соединения синего цвета.

1.2.3. Микробиологический контроль эффективности тепловой обработки молока и молочных продуктов

Пастеризацию считают эффективной при отсутствии бактерий группы кишечной палочки в 10 см^3 молока и общем количестве бактерий до 10^4 в 1 см^3 молока.

Эффективность стерилизации оценивают по способности микроорганизмов, выдержавших стерилизацию, размножаться при оптимальных условиях в стерилизованном молоке и изменять его органолептические и физико-химические свойства. Отбирают упаковки со стерилизованным продуктом и выдерживают при температуре $36\text{--}38^\circ\text{C}$ в течение 3 сут для молока и 5 сут для сливок. Считается, что молоко отвечает требованиям промышленной стерильности, если его кислотность увеличилась не более чем на 2°T , в микроскопическом препарате отсутствуют клетки бактерий, а общее их количество не превышает 10 клеток на 1 см^3 .

1.3. Термоустойчивость молока

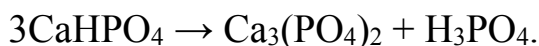
1.3.1. Изменения компонентов молока при тепловой обработке

Денатурация *сывороточных белков* начинается при сравнительно низких температурах нагревания молока (62°C). Степень денатурации белков (со снижением их растворимости) зависит от температуры и продолжительности ее воздействия на молоко. Из сывороточных белков наиболее чувствительны к нагреванию иммуноглобулины, сывороточный альбумин и β -лактоглобулин. α -Лактальбумин – термостабильный белок. Он полностью теряет растворимость при нагревании молока до 96°C и выдерживании при этой температуре в течение 30 мин. Вследствие тепловой денатурации сывороточных белков и освобождения сульфгидрильных групп молоко приобретает специфический вкус «кипяченого молока» или привкус пастеризации.

Казеин, по сравнению с сывороточными белками, более термоустойчив. Он не коагулирует при нагревании свежего молока до $130\text{--}150^\circ\text{C}$. Однако тепловая обработка при высоких температурах изменяет состав и структуру казеинового комплекса. От комплекса отщепляются органические фосфор и кальций, изменяется

соотношение фракций. С повышением температуры пастеризации увеличиваются диаметр частиц казеина и вязкость молока. Изменение состава и структуры казеиновых мицелл влияет на скорость получения сычужного сгустка. Продолжительность свертывания молока сычужным ферментом после тепловой обработки (при 85°C и выше) увеличивается в несколько раз по сравнению с продолжительностью свертывания сырого молока (стерилизованное молоко практически утрачивает способность к сычужному свертыванию). Тепловая обработка влияет на структурно-механические свойства кислотного и сычужного сгустков – прочность и интенсивность отделения сыворотки. С повышением температуры пастеризации прочность сгустков увеличивается, а процесс отделения сыворотки замедляется.

При тепловой обработке молока изменяется его *солевой состав*. Эти изменения часто имеют необратимый характер. В первую очередь нарушается соотношение форм солей кальция в плазме молока. В процессе нагревания гидрофосфат кальция, находящийся в виде истинного раствора, переходит в плохо растворимый фосфат кальция:



Образовавшийся фосфат кальция агрегирует и в виде коллоида осаждается на казеиновых мицеллах. Часть его выпадает на поверхности нагревательных аппаратов, образуя вместе с денатурированными сывороточными белками так называемый молочный камень. Таким образом, после пастеризации в молоке снижается количество растворимых солей кальция, что приводит к ухудшению способности молока к сычужному свертыванию. Поэтому перед сычужным свертыванием в пастеризованное молоко вносят для восстановления солевого баланса растворимые соли кальция в виде хлорида кальция (CaCl_2).

В процессе длительной высокотемпературной пастеризации молока, и особенно при стерилизации, *лактоза* взаимодействует с белками и свободными аминокислотами – происходит реакция Майяра, или реакция меланоидинообразования. Вследствие образования меланоидинов изменяются цвет и вкус молока. Интенсивность окраски молока зависит от температуры и продолжительности нагревания. Она может усиливаться при хранении молока. Стерилизация молока также вызывает распад лактозы с образованием

углекислого газа и кислот – муравьиной, молочной, уксусной и др. При этом кислотность молока увеличивается на 2–3°Т.

Молочный жир – наиболее устойчивый к тепловому воздействию компонент молока. При пастеризации глицериды молочного жира химически почти не изменяются. При тепловой обработке молока изменениям подвергаются оболочки жировых шариков. Даже при низких температурах пастеризации (63°С) происходит переход белков и фосфолипидов с поверхности жировых шариков в плазму молока. При стерилизации молока осуществляется денатурация оболочечных белков и разрушение части оболочек жировых шариков, в результате некоторые жировые шарики сливаются и наблюдается вытапливание жира. Для повышения устойчивости жировой эмульсии в технологическую схему производства молочных продуктов обычно включают процесс гомогенизации.

Тепловая обработка молока вызывает в той или иной степени снижение содержания **витаминов**, причем потери жирорастворимых витаминов меньше потерь водорастворимых. Потери витаминов зависят от температуры нагревания и продолжительности выдержки. При хранении пастеризованного молока наблюдается дальнейшее уменьшение содержания витаминов. Наиболее устойчив при хранении витамин В₂, менее устойчивы С, В₁, А, В₁₂. Наибольшим изменениям подвержен витамин С. Он быстро разрушается при хранении пастеризованного охлажденного молока. Так, потери его на вторые сутки хранения составляют 45, на третьи – 75%.

При тепловой обработке инактивируется большая часть **ферментов**. Наиболее чувствительны к нагреванию амилаза, щелочная фосфатаза, каталаза и нативная липаза. Так, щелочная фосфатаза разрушается полностью при длительной и кратковременной пастеризации. Сравнительно устойчивы к нагреванию кислая фосфатаза, ксантиноксидаза, бактериальные липазы, плазмин и пероксидаза. Они теряют свою активность при нагревании молока до температуры выше 80–85°С.

1.3.2. Определение термоустойчивости молока

Пригодность молока к термообработке, выбор режимов тепловой обработки определяются термоустойчивостью молока – способностью выдерживать воздействие высоких температур без признаков коагуляции белков. Термоустойчивость обусловлена составом и свойствами молока, которые зависят от периода

лактации, сезона, породы, возраста животных, их физиологического состояния, технологических особенностей получения молока.

Чем ниже степень дисперсности казеина (больше размер казеиновых мицелл), тем менее термостойко молоко. В свою очередь на степень дисперсности казеина влияет ряд факторов: кислотность, солевой состав молока, соотношение казеина и сывороточных белков и др.

При увеличении кислотности снижается отрицательный заряд на поверхности казеиновых мицелл, уменьшается их гидратация, часть солей кальция переходит из коллоидного в ионно-молекулярное состояние. Эти условия способствуют агрегации белковых частиц, снижению степени дисперсности. Чем выше температура термообработки молока, тем более выражены эти явления.

Солевое равновесие молока, в частности соотношение сумм катионов кальция и магния и анионов цитрата и фосфата, также влияет на термоустойчивость молока. Коагуляция казеина наблюдается, если равновесие сдвигается и в сторону избытка катионов, и в сторону избытка анионов.

В свежесвыдоенном молоке белки образуют устойчивую коллоидную систему. При нагревании молока термолабильные сывороточные белки денатурируют и адсорбируются на поверхности частиц казеина. Чем выше содержание сывороточных белков, тем более вероятно агрегирование отягощенных казеиновых мицелл и выпадение их в осадок. Высокое (более 0,9%) содержание сывороточных белков в молозиве, молоке, полученном в конце периода лактации, молоке коров, больных маститом.

Методы определения термоустойчивости молока основаны либо на оценке способности белков к коагуляции (алкогольная и тепловая пробы), либо на установлении концентрации ионов кальция в молоке.

Отнесение молока к определенной группе термоустойчивости по алкогольной пробе заключается в установлении объемной доли этилового спирта, при которой в результате дегидратации и частичной денатурации белков наблюдается их коагуляция (появление хлопьев). При приемке к сорту экстра относят молоко, выдерживающее алкогольную пробу с 75%-ным раствором этанола (не ниже II группы), стандартным считается молоко, в котором не наблюдалось образование хлопьев белка при смешивании с раствором этанола концентрацией 72% об. (не ниже III группы).

Для определения тепловой пробы используют прибор «Термол-1», в котором момент коагуляции белков выявляют по скачкообразному повышению сопротивления прохождению молока в суженном участке, через который легко проходит несвернувшееся молоко. В зависимости от температуры, до которой можно нагреть молоко без признаков коагуляции белков, и продолжительности выдержки при этой температуре молоко относят к определенной группе термоустойчивости. На стерилизацию можно направлять молоко I группы (выдерживает 140°C не менее 2 мин) и II (от 120 до 130°C не менее 2 мин).

Концентрацию ионов кальция определяют потенциометрическим методом. Если она меньше 9,5 мг%, молоко имеет высокую термоустойчивость, в нетермоустойчивом молоке содержание ионов кальция превышает 10,5 мг%.

1.4. Изменение состава и свойств молока при сквашивании

В производстве молочных продуктов применяют закваски на основе следующих родов и видов молочнокислых бактерий: вид *Lactococcus lactis*, род *Lactobacillus*, вид *Streptococcus thermophilus*, род *Leuconostoc*. Молочнокислые лактококки способны образовывать в среде 0,8–1,0% молочной кислоты, мезофильные молочнокислые палочки – около 1,5%, термофильные – около 2,0–2,5%. При сквашивании молока молочная кислота постепенно нейтрализует отрицательно заряженные группы на поверхности казеиновых мицелл, переводит кальций в растворимое состояние. По мере нарастания кислотности и снижения дзета-потенциала казеиновых мицелл наблюдается их агрегирование и формирование единой пространственной сетки молочного сгустка.

Кроме основных кислотообразователей, в состав заквасок могут входить пропионовокислые бактерии, бифидобактерии, уксуснокислые бактерии, дрожжеподобные и плесневые грибы, обеспечивающие определенные структурно-механические свойства получаемых сгустков и органолептические показатели продуктов.

Основной продукт молочнокислого брожения – молочная кислота – характеризуется слабовыраженным вкусом и ароматом, придает кисломолочным продуктам приятный кисловатый вкус.

В большей степени на вкус и аромат влияют побочные и вторичные продукты молочнокислого брожения (углекислый газ, уксусная кислота, этиловый спирт, пропионовая кислота, диацетил, ацетоин, ацетальдегид, 2,3-бутиленгликоль), продукты протеолиза (пептиды, аминокислоты, серосодержащие соединения) и липолиза (жирные кислоты). Они имеют и большое физиологическое значение, так как способствуют выделению пищеварительных соков и обеспечивают хорошую усвояемость продукта человеком. С другой стороны, избыток тех или иных продуктов метаболизма микроорганизмов может привести к возникновению пороков вкуса и запаха кисломолочных продуктов.

Углекислый газ придает кисломолочным продуктам кисловатый вкус, а мелкие пузырьки газа делают консистенцию продукта нежной. Присутствие этанола в небольших концентрациях дает легкий освежающий эффект, а углекислый газ вместе с этанолом (в составе, например, кефира) обуславливают острый, своеобразный узнаваемый вкус.

Уксусная кислота придает продукту острый, иногда дрожжевой и щиплющий вкус и запах, пропионовая – слегка сладковатый (пряный) вкус, масляная кислота в небольших количествах – острый перечно-пикантный вкус и аромат, но неприятный прогорклый вкус и запах при больших концентрациях.

Среди карбонильных соединений важное место занимают ацетальдегид, диацетил и ацетоин. От их содержания и количественного соотношения во многом зависят специфические вкус и запах кисломолочных продуктов, кисломолочного масла и сыра. Диацетил (2,3-бутандион) образуется одновременно с ацетоином (3-гидрокси-2-бутанон) и 2,3-бутиленгликолем, последние могут быть образованы также в результате восстановления диацетила. Восстановление диацетила в ацетоин необратимо, тогда как последующее восстановление ацетоина в 2,3-бутиленгликоль является обратимой реакцией. Исходным соединением для образования диацетила и ацетоина являются пировиноградная кислота, если она образуется в избытке при молочнокислом брожении, и лимонная кислота, расщепление которой также происходит через пировиноградную кислоту.

Образование диацетила интенсифицируется при pH 4,3–5,5, температуре 18–25°C, наличии лимонной кислоты и кислорода, повышении содержания в молоке сухих веществ. При режимах тепловой обработки молока, способствующих высвобождению SH-групп,

снижается окислительно-восстановительный потенциал и уменьшается содержание диацетила.

Диацетил имеет специфический кисломолочный аромат (жирный запах сливочного масла и сметаны), но грубый, терпкий – при больших его концентрациях. Ацетоин имеет маслянисто-сливочный запах, 2,3-бутиленгликоль запаха не имеет, а ацетальдегид – вещество, придающее острый, иногда резкий и вяжущий вкус и аромат продукту и подавляющее нежелательную микрофлору кишечника.

Антибиотики, продуцируемые молочнокислыми бактериями, – ацидофилин, лактоцидин, лактолин и другие – также способствуют нормализации микрофлоры кишечника.

1.5. Свертывание молока сычужным ферментом

Наиболее важный процесс при изготовлении сыра – свертывание молока сычужным ферментом. От скорости образования, структурно-механических и синергетических свойств сычужного сгустка зависят консистенция, внешний вид и другие показатели сыра.

Сычужное свертывание молока проходит две стадии: ферментативную и коагуляционную. На первой стадии под действием сычужного фермента (химозина) происходит разрыв чувствительной к нему пептидной связи фенилаланин-метионин в полипептидной цепи χ -казеина. В результате этого χ -казеин распадается на нерастворимый (чувствительный к ионам кальция) пара- χ -казеин и растворимые гликомакропептиды.

Гликомакропептиды χ -казеина имеют высокий отрицательный заряд и обладают сильными гидрофильными свойствами. При их отщеплении от χ -казеина снижается электрический заряд на поверхности казеиновых мицелл (с постепенным приближением к изоэлектрическому состоянию), частично теряется гидратная оболочка, в результате чего снижается устойчивость казеиновых мицелл, и они коагулируют, т. е. наступает вторая стадия.

Механизм второй стадии сычужного свертывания окончательно не установлен. Известно, что коагуляция белков наступает лишь после расщепления 80–90% χ -казеина, находящегося на поверхности мицелл. Далее дестабилизированные казеиновые

(точнее, параказеиновые) частицы сначала образуют агрегаты и цепочки. При достижении «критических» размеров цепочки соединяются между собой продольными и поперечными связями и образуют сплошную пространственную сетку, в петлях (ячейках) которой заключена дисперсионная среда.

Однако характер связей, возникающих при агрегировании дестабилизированных мицелл, до конца не выяснен. По мнению ученых, это могут быть силы гидрофобного взаимодействия неполярных групп пара- χ -казеина (а также α - и β -казеина), кальциевые мостики, образующиеся в результате присоединения ионов кальция к серинфосфатным группам α - и β -казеина двух или более сблизившихся параказеиновых мицелл. Подтверждением роли кальциевых мостиков является тот факт, что при пониженном содержании кальция молоко свертывается медленно, и получается дряблый, трудно поддающийся дальнейшей обработке сгусток (или он вообще не образуется). Оптимальным содержанием кальция в молоке считается 125–130 мг%.

На процесс сычужного свертывания и качество образующихся сгустков влияют состав и свойства молока, режим пастеризации, активность и состав бактериальной закваски и сычужного фермента, температура свертывания, доза хлорида кальция и т. д.

В образовании сычужного сгустка, кроме казеина, участвуют денатурированные сывороточные белки и жировые шарики. Являясь более крупными частицами, они выступают центрами коагуляции казеина, вокруг которых начинает формироваться пространственная сетка. Поэтому добавление к молоку сывороточных белков ускоряет сычужное свертывание белков молока. Однако сывороточные белки замедляют синерезис сгустка, поэтому необходимо применять меры, усиливающие обсушку сырного зерна.

Для характеристики сычужной свертываемости молока используют два показателя: *сычужно-бродильную пробу* – способность сырого молока свертываться под действием сычужного фермента и микроорганизмов сырого молока; *сычужную пробу* – способность молока, подвергнутого предварительной тепловой обработке (пастеризации), свертываться под действием сычужного фермента. По характеру образовавшегося сгустка оценивают пригодность молока для производства сыра.

1.6. Обработка сычужного сгустка

Сырная масса перед созреванием должна содержать оптимальное количество влаги, иметь определенные рН и структурно-механические свойства (связность, твердость и т. д.). Эти показатели зависят от интенсивности прохождения физико-химических и биохимических процессов во время обработки сгустка, формования, прессования, посолки сыра.

Важной операцией при изготовлении сыра является обработка сгустка. Цель ее состоит в том, чтобы удалить из сгустка избыток сыворотки и оставить такое ее количество, которое необходимо для дальнейшего течения биохимических процессов и получения сыра определенного типа и качества. Изменяя содержание сыворотки в сырном зерне, регулируют микробиологические процессы при созревании сыра. Чем больше удаляется сыворотки и с ней молочного сахара, тем медленнее протекают эти процессы, и наоборот. Каждый вид сыра должен содержать оптимальное количество сыворотки в сырной массе.

На скорость и степень выделения сыворотки влияют следующие факторы: состав молока, пастеризация, кислотность и др.

Состав молока, а именно количество в молоке жира и растворимых солей кальция, по-разному влияет на содержание влаги в сырной массе. Мелкие жировые шарики не препятствуют выделению из сгустка сыворотки, легко выходят из него и представляют собой основную массу потерь жира при производстве сыра. Крупные жировые шарики могут закупоривать капилляры и задерживать отделение сыворотки. Следовательно, чем жирнее молоко, тем хуже его сгусток выделяет влагу. Растворимые соли кальция (до определенного предела) способствуют получению плотного сгустка и быстрому выделению из него сыворотки. При недостатке в молоке солей кальция образуется дряблый сгусток, из которого плохо удаляется влага.

Пастеризация молока изменяет физико-химические свойства белков и солей (денатурируют сывороточные белки, повышается гидрофильность казеина и т. д.). Поэтому сгусток, полученный из пастеризованного молока, при прочих равных условиях обезживается медленнее сгустка из сырого молока.

Кислотность молока и сырной массы является решающим фактором, влияющим на выделение сыворотки из сырной массы. Молочнокислый процесс, начавшийся в исходном молоке, активно продолжается во время свертывания и обработки сырной массы.

При этом количество молочнокислых бактерий в сырном зерне значительно выше, чем в сыворотке. Накопившаяся в сырном зерне молочная кислота снижает электрический заряд белков и тем самым уменьшает их гидрофильные свойства. Белки легко отдают влагу (дегидратируют) и сгусток интенсивно обезвоживается, поэтому сгусток, полученный из зрелого молока, легче отдает сыворотку, чем сгусток из свежего молока. Однако молоко с излишне высокой кислотностью образует сгусток, быстро выделяющий сыворотку, что приводит к сильному обезвоживанию сырной массы. Следовательно, для получения сырной массы нормальной влажности необходимо иметь молоко оптимальной зрелости (кислотности).

Удаление сыворотки из сгустка регулируют специальными приемами. К ним относятся изменение температуры сырной массы и кислотности сыворотки, а также механические воздействия (разрезание сгустка, вымешивание сырного зерна). Для каждого вида сыра установлены определенный размер сырных зерен, интенсивность и продолжительность вымешивания.

1.7. Лабораторная работа. Оценка качества молока по физико-химическим и микробиологическим показателям



Цель работы: освоение методов анализа молока по физико-химическим и микробиологическим показателям.

⚠ Предупреждение. Отбор проб для микробиологических анализов проводят перед отбором проб для физико-химических и органолептических анализов. Пробы для микробиологических анализов отбирают в стерильную посуду с помощью стерильных приспособлений. Перед отбором проб жидкие продукты необходимо тщательно перемешивать.

1.7.1. Установление массовой доли жира и белка, сухого обезжиренного остатка, плотности

Установление массовой доли жира и белка, сухого обезжиренного остатка, плотности осуществляют с использованием анализатора качества молока «Лактан 1-4». Принцип действия анализатора основан на измерении скорости и степени затухания ультразвуковых

колебаний при прохождении их в молоке при двух различных температурах.

Анализатор состоит из следующих функциональных блоков: источник питания, микропроцессорный блок, насос, измерительная кювета и устройство индикации. Источник питания выдает необходимые напряжения для работы других функциональных блоков. Микропроцессорный блок управляет скоростью насоса, работой измерительной кюветы, проводит измерения, выполняет расчет по заданному алгоритму, выдает результаты измерения на устройство индикации. Насос производит заполнение кюветы молоком и слив молока из кюветы. Измерительная кювета осуществляет изменение и поддержание температуры молока с заданной точностью согласно алгоритму, выдает импульсы для расчета скорости и степени затухания ультразвуковых колебаний при прохождении их в молоке на микропроцессорный блок. Устройство индикации выводит на индикатор результаты измерения.

На лицевой панели анализатора находятся кнопка управления START, жидкокристаллический дисплей, пробозаборник с пластиковым стаканчиком. На задней панели анализатора расположены сетевой разъем, сетевой выключатель, разъем для компьютера, перистальтический насос.



Материалы и приборы: исследуемое молоко, мерные цилиндры, стаканы химические, термометры, анализатор качества молока «Лактан 1-4», набор ареометров, термостат.



Проведение анализа. При наличии слоя отстоявшихся сливок молоко нагревают до температуры $(40 \pm 2)^\circ\text{C}$ и тщательно перемешивают путем переливания из сосуда в сосуд (не менее 3 раз), затем пробу охлаждают до температуры $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$ и переливают в стаканчик, рабочий объем анализируемой пробы молока – 25 см^3 .

После включения анализатор начнет процедуру прогрева (занимает 10 мин), по окончании прогрева он покажет основной рабочий экран. Для начала измерения необходимо стаканчик с пробой подставить под пробозаборник и зафиксировать, нажать клавишу START. Данные первой пробы будут некорректными, так как в анализаторе остались капли воды после промывки, которые разбавили молоко. В процессе проведения измерения на дисплей выводится P, затем W, после будет отображен результат измерения.

По окончании работы необходимо произвести полную промывку, поскольку остатки молока в измерительном тракте могут привести к поломке анализатора.

Альтернативным методом измерения плотности является ареометрический метод. Определение плотности молока проводят при температуре $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$.

Для определения плотности молока ареометрическим методом в цилиндр по стенке наливают $170\text{--}200\text{ см}^3$ хорошо размешанного молока, после чего ставят цилиндр на ровное место. Чистый сухой ареометр медленно погружают в цилиндр с молоком до деления 1,030 и оставляют в покое на 1–2 мин. Ареометр не должен прикасаться к стенке цилиндра. Отсчет делают с точностью до половины наименьшего деления шкалы.

Если температура молока во время отсчета 20°C , то фактическая плотность его соответствует отсчитанному показателю.

При температуре выше или ниже 20°C вводят поправку: на каждый градус отклонения от 20°C берут поправку 0,2 градуса ареометра. Под градусом ареометра понимают второй и третий знаки после запятой в показателе плотности, выраженной в г/см^3 .

Например: показание термометра 16°C , а показание ареометра $1,029\text{ г/см}^3$, т. е. 29 градусов ареометра. Температурная разница составляет $20 - 16 = 4^\circ\text{C}$. Температурная поправка: $0,2 \cdot 4 = 0,8$ градуса ареометра. Плотность молока: $29 - 0,8 = 28,2$, или $1,0282\text{ г/см}^3$.

1.7.2. Определение кислотности молока

Титруемая кислотность выражается в градусах Тернера ($^\circ\text{T}$), под которыми понимают объем 0,1 н. раствора гидроксида натрия (калия), необходимый для нейтрализации по фенолфталеину кислых соединений, содержащихся в 100 см^3 молока.



Материалы, приборы и реактивы: исследуемое молоко, колбы конические емкостью 100 см^3 , пипетки, бюретки, капельницы, 0,1 н. раствор гидроксида натрия, 1%-ный спиртовой раствор фенолфталеина, 2,5%-ный раствор сернокислого кобальта.



Проведение анализа. Для определения титруемой кислотности в коническую колбу емкостью 100 см^3 отмеряют пипеткой 10 см^3 исследуемого молока и 20 см^3 дистиллированной воды. Воду прибавляют для того, чтобы отчетливее уловить розовый оттенок при титровании. В смесь добавляют 3 капли 1%-ного спиртового

раствора фенолфталеина и размешивают, титруют 0,1 н. раствором гидроксида натрия до появления слабо-розового окрашивания, соответствующего контрольному эталону окраски, не исчезающего в течение минуты (контрольный эталон готовят так: добавляют к 10 см³ молока 20 см³ воды и 1 см³ 2,5%-ного раствора сернокислого кобальта).

Для выражения кислотности молока в условных градусах количество щелочи, пошедшее на титрование в сантиметрах кубических, умножают на 10, т. е. делают пересчет на 100 см³ молока.

1.7.3. Определение микробиологической чистоты молока

Бактерии, попавшие в молоко, в процессе своего развития выделяют продукты жизнедеятельности, в частности окислительно-восстановительные ферменты – редуктазы (дегидратазы). В только что выдоенном молоке этот фермент отсутствует, поэтому проба на редуктазу является косвенным показателем бактериальной обсемененности непастеризованного молока.

Для проведения данного анализа используются две сходные методики – проба с метиленовым голубым и проба с резазурином. В обоих случаях реакция основана на восстановлении красителей редуктазами, выделяемыми в молоко микроорганизмами.

По продолжительности обесцвечивания определяют ориентировочное количество бактерий в сыром молоке.



Материалы и приборы: исследуемое молоко, конические колбы вместимостью 50, 250 см³, мерные колбы вместимостью 200 см³, стерильные пробирки, стерильные пипетки, водяной термостат (редуктазник).



Приготовление реактивов. *Приготовление рабочего раствора метиленового голубого.* В коническую колбу вместимостью 50 см³ отвешивают (4 ± 1) г метиленового голубого, пипеткой вносят 10 см³ 95%-ного этанола и хорошо перемешивают. Метиленовый голубой должен частично остаться в нерастворенном состоянии. Раствор оставляют в покое в течение не менее 2 ч при температуре 18–20°C, после чего его фильтруют через бумажный фильтр.

Для приготовления рабочего раствора в коническую колбу вместимостью 250 см³ пипеткой вносят 5 см³ профильтрованного

раствора и 195 см³ дистиллированной воды комнатной температуры. Содержимое колбы тщательно перемешивают. Раствор хранят в хорошо закрытой склянке.

Приготовление рабочего раствора резазурино-натриевой соли. В мерную колбу вместимостью 200 см³ вносят (0,100 ± 0,001) г резазурино-натриевой соли и растворяют в небольшом количестве прокипяченной и охлажденной до температуры (25 ± 2)°С дистиллированной воды. Смесь тщательно перемешивают, затем доводят водой до метки.

Срок хранения основного раствора резазурино-натриевой соли при температуре от 4°С до 10°С не более 30 сут.

Рабочий раствор резазурино-натриевой соли готовят разбавлением основного раствора прокипяченной и охлажденной до температуры (25 ± 2)°С дистиллированной водой в соотношении 1,0 : 2,5. Массовая доля резазурина в рабочем растворе составляет 0,014%.

Срок хранения рабочего раствора резазурина при температуре (4 ± 2)°С не более 3 сут.

Основной и рабочий растворы хранят в темных склянках, в защищенном от света месте.



Проведение анализа. Для проведения пробы с метиленовым голубым в стерильные пробирки наливают по 1 см³ рабочего раствора метиленового голубого и по 20 см³ исследуемого молока, закрывают пробками и смешивают путем медленного трехкратного переворачивания пробирок. Пробирки помещают в водяной термостат с температурой воды 36–38°С. Вода в термостате после погружения пробирок с молоком должна доходить до уровня жидкости в пробирке или быть немного выше.

Момент погружения пробирок в редуктазник считают началом анализа.

Наблюдение за изменением окраски ведут через 20 мин, 2 ч, 5,5 ч после начала анализа. Окончанием анализа считают момент обесцвечивания окраски молока, при этом остающийся небольшой кольцеобразный окрашенный слой сверху (около 1 см) или небольшая окрашенная часть внизу пробирки в расчет не принимаются. Появление окрашивания молока в этих пробирках при встряхивании не учитывают.

В зависимости от времени обесцвечивания молоко относят к одному из четырех классов в соответствии с табл. 1.3.

Таблица 1.3

Оценка микробиологической чистоты молока на основании пробы по редуктазе

Класс	Продолжительность обесцвечивания, ч		Окраска молока		Ориентировочное количество бактерий в 1 см ³ молока
	проба с метиленовым голубым	проба с резазурином	проба с метиленовым голубым	проба с резазурином	
Высший	Не используется	1,5	Не используется	Серо-сиреневая или сине-стальная	Не более 300 тыс.
I (хорошее)	Более 5,5	1,0	Отсутствие окраски	Сиреневая или синефиолетовая	Не более 500 тыс.
II (удовлетворительное)	2,0–5,5	1,0	То же	Сиреневая с розовым оттенком	Не более 4 млн
III (плохое)	0,3–2,0	1,0	–/–	Бледно-розовая или белая	Не более 20 млн
IV (очень плохое)	Менее 0,3	Менее 0,3	–/–	Белая	Более 20 млн

Методика проведения пробы с резазурином отличается незначительно: для проведения анализа объем пробы молока составляет 10 см³, рабочего раствора резазурина – 1 см³. Пробирки с молоком и резазурином на протяжении анализа должны быть защищены от прямых солнечных лучей, показания снимают через 20 мин и через 1 ч, не встряхивая и не переворачивая пробирки. После снятия показаний через 20 мин пробирки с обесцвеченным молоком удаляют из водяной бани. Появление окрашивания молока в этих пробирках при встряхивании не учитывают. Оставшиеся пробирки однократно переворачивают и оставляют в водяном термостате до конца анализа. Результат анализа оценивают в соответствии с табл. 1.3.

1.7.4. Определение количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ)

Метод основан на подсчете колоний мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, вырастающих на твердой питательной среде КМАФАнМ при температуре $(30 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 72 ч.



Материалы и приборы: исследуемое молоко, мерные колбы вместимостью 1000 см^3 , флаконы для стерилизации среды, стерильные чашки Петри, стерильные пробирки, стерильные пипетки, счетчики бактерий.



Приготовление реактивов. *Приготовление питательной среды КМАФАнМ.* В колбу вместимостью 1000 см^3 помещают регламентированное инструкцией производителя количество сухой питательной среды для определения мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, добавляют 1000 см^3 дистиллированной воды и тщательно перемешивают. Смесь нагревают до полного растворения среды. При наличии осадка фильтруют и устанавливают значение рН, которое должно составлять 6,8–7,2. Среду разливают в пробирки или колбы и стерилизуют при температуре 120°C в течение 15 мин.



Проведение анализа. Для определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов выбирают те разведения, при посевах которых на чашках вырастает от 15 до 300 колоний. С учетом наиболее вероятного микробного обсеменения при анализе сырого молока готовят разведения 10^3 – 10^5 , пастеризованного молока – 10^1 – 10^3 , ультрапастеризованное молоко без асептического розлива высевают без разведения или разводят в 10 раз.

В стерильные чашки Петри вносят по 1 см^3 каждого разведения и заливают 14 см^3 расплавленной и охлажденной до температуры 40 – 45°C питательной средой для определения КМАФАнМ. Сразу после заливки среды содержимое чашки Петри тщательно перемешивают путем легкого вращательного покачивания для равномерного распределения посевного материала. После застывания среды чашки Петри переворачивают крышками вниз и ставят в таком виде в термостат при температуре 30°C на 72 ч.

Количество выросших колоний подсчитывают на каждой чашке, поместив ее вверх дном на темном фоне, пользуясь лупой с увеличением в 4–10 раз или применяя счетчики. При большом количестве однотипных колоний и равномерном их распределении допускается дно чашки Петри разделить на четыре и более одинаковых сектора, подсчитать количество колоний на двух-трех секторах (но не менее чем на $1/3$ поверхности чашки), найти среднеарифметическое значение количества колоний и умножить на общее количество секторов всей чашки.

По каждой чашке с учетом разведения вычисляют количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в 1 см^3 продукта. За окончательный результат анализа принимают среднеарифметическое, полученное по всем чашкам.

1.7.5. Определение эффективности пастеризации молока пробой на фосфатазу по реакции с фенолфталеинфосфатом натрия

Метод основан на гидролизе фенолфталеинфосфата натрия фосфатазой, содержащейся в сыром молоке. Освобождающийся при гидролизе фенолфталеин в щелочной среде дает розовое окрашивание.



Материалы и приборы: исследуемое молоко, сливки, кисло-молочные напитки, мерные колбы вместимостью 100, 500 см^3 , мерные цилиндры, стерильные пробирки, стерильные пипетки, водяная баня, термометры.



Приготовление реактивов. Приготовление аммиачной буферной смеси ($\text{pH } 9,8$). В мерную колбу вместимостью 500 см^3 отвешивают $(10,0 \pm 0,1)$ г хлорида аммония и вносят цилиндром 50 см^3 концентрированного раствора аммиака (25%-ный раствор плотностью $(907 \pm 3) \text{ кг/м}^3$). Содержимое колбы растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды и устанавливают температуру раствора $(20 \pm 1)^\circ\text{C}$. Содержимое колбы доливают до метки дистиллированной водой той же температуры и тщательно перемешивают.

Приготовление раствора фенолфталеинфосфата натрия с массовой долей 0,1%. В мерную колбу вместимостью 100 см^3 вносят $(0,1000 \pm 0,0002)$ г порошкообразного фенолфталеинфосфата натрия, растворяют его в небольшом количестве аммиачной буферной смеси, аккуратно перемешивая, затем объем раствора доводят аммиачной буферной смесью до метки, перемешивают. Раствор

хранят при температуре $(20 \pm 5)^\circ\text{C}$ в склянке из темного стекла не более 3 мес. Раствор, имеющий розовую окраску, непригоден для определения фосфатазы.



Проведение анализа. В пробирку вместимостью 10 см^3 вносят 2 см^3 исследуемого молока и 1 см^3 $0,1\%$ -ного раствора фенолфталеинфосфата натрия. Пробирку закрывают пробкой, содержимое перемешивают, после чего пробирку помещают в водяную баню с температурой $40\text{--}45^\circ\text{C}$ и наблюдают за изменением окраски через 10 мин и 1 ч. Уровень воды в бане должен быть выше уровня жидкости в пробирке.

Если через 10 мин окраска содержимого пробирки не изменилась, значит молоко подвергалось пастеризации при температуре не ниже 63°C .

При появлении окраски от светло-розовой до ярко-розовой можно сделать заключение, что молоко подвергалось пастеризации при температуре ниже 63°C или было смешано с непастеризованным молоком.

Чувствительность метода позволяет обнаружить добавление не менее 2% непастеризованного молока.

Пробой на фосфатазу можно анализировать не только молоко, но и другие молочные продукты.

Если анализу подвергают сливки, то в пробирку вносят по 2 см^3 сливок и дистиллированной воды, далее аналогично анализу молока.

Если наличие фосфатазы обнаруживают в кисломолочных напитках (кефир, простокваша, кумыс, йогурт, ряженка и др.), то берут по 2 см^3 кисломолочного напитка и дистиллированной воды и вносят 2 см^3 $0,1\%$ -ного раствора фенолфталеинфосфата натрия, далее аналогично анализу молока.


1.7.6. Определение эффективности пастеризации молока пробой на пероксидазу

Определение пероксидазы основано на разложении под действием этого фермента пероксида водорода. Освобождающийся активный кислород окисляет йодистый калий, восстановленный йод образует с крахмалом соединения синего цвета.



Материалы и приборы: исследуемые молоко, сливки, кисломолочные напитки, пахта, сыворотка, сметана, масло, творог, химические стаканы вместимостью 200 см^3 , мерные колбы

вместимостью 250 см³, конические колбы вместимостью 250 см³, мерные цилиндры, стерильные пробирки, стерильные пипетки, бюретки, капельницы, термометры.

 **Приготовление реактивов.** *Приготовление раствора йодистокалиевого крахмала.* В химическом стакане из термостойкого стекла вместимостью 200 см³ смешивают (3 ± 1) г крахмала с небольшим количеством холодной воды до получения однородной массы. К разведенному крахмалу приливают при непрерывном перемешивании стеклянной палочкой 100 см³ дистиллированной воды с температурой (98 ± 2)°С. В охлажденный до комнатной температуры раствор вносят (3,0 ± 0,1) г йодида калия и перемешивают до полного растворения кристаллов.

Раствор йодистокалиевого крахмала нестойкий, его хранят не более 2 сут в склянке из темного стекла в прохладном месте.

Приготовление раствора пероксида водорода с массовой долей 0,5%. Раствор массовой долей 0,5% готовят из концентрированного, предварительно определив концентрацию имеющегося пероксида водорода. Для этого в мерную колбу вместимостью 250 см³ вносят (3,5 ± 0,5) г концентрированного раствора пероксида, содержимое колбы доводят до метки прокипяченной и охлажденной до температуры (20 ± 1)°С дистиллированной водой и тщательно перемешивают.

Затем берут две конические колбы вместимостью 250 см³, в одну из них вносят 10 см³ приготовленного раствора пероксида водорода (опытная проба), в другую – 10 см³ дистиллированной воды (контрольная проба), в обе колбы добавляют по 50 см³ дистиллированной воды и по 10 см³ разбавленной (1 : 4) серной кислоты. Содержимое колб титруют раствором перманганата калия концентрацией 0,1 моль/дм³ до розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин.

Массовую долю пероксида водорода X , %, вычисляют по формуле

$$X = \frac{(V_1 - V_2) \cdot 0,0017 \cdot T}{m} \cdot 100,$$

где V_1 – объем раствора перманганата калия, пошедший на титрование в контрольной пробе, см³;

V_2 – объем раствора перманганата калия, пошедший на титрование в опытной пробе, см³;

0,0017 – масса пероксида водорода, соответствующая 1 см³ раствора перманганата калия с эквивалентной концентрацией 0,1 моль/дм³, г;

T – титр раствора перманганата калия;

m – масса пероксида водорода, соответствующая 10 см³ его раствора, взятого на титрование, г ($m = 0,14$ г).

Объем концентрированного раствора пероксида водорода V_3 , см³, необходимый для приготовления 100 см³ раствора с массовой долей 0,5%, рассчитывают по формуле

$$V_3 = \frac{100 \cdot 0,5}{X},$$

где 100 – объем концентрированного раствора с массовой долей X , см³;

0,5 – массовая доля пероксида водорода в рабочем растворе, %;

X – массовая доля пероксида водорода в концентрированном растворе, %.

Необходимый объем дистиллированной воды V_4 , см³, для получения 100 см³ раствора пероксида водорода с массовой долей 0,5% рассчитывают по формуле

$$V_4 = 100 - V_3.$$

Раствор пероксида водорода быстро разлагается, поэтому его готовят в небольшом количестве и хранят в склянке из темного стекла в прохладном месте.



Проведение анализа. В пробирку вместимостью 10 см³ вносят 5 см³ исследуемого молока, 5 капель раствора йодистокалиевого крахмала и 5 капель 0,5%-ного раствора пероксида водорода. Содержимое пробирки перемешивают после добавления каждого реактива. Через 2 мин анализируют окрашивание содержимого пробирки.

Если окрашивание молока в пробирке не изменилось, т. е. фермент пероксидаза в молоке отсутствует, то молоко подверглось пастеризации при температуре не ниже 80°C.

Появление в пробирке сине-фиолетового окрашивания свидетельствует о наличии пероксидазы. В этом случае можно сделать заключение, что молоко подверглось пастеризации при температуре ниже 80°C или было смешано с непастеризованным молоком.

Появление окрашивания в пробирке более чем через 2 мин после добавления реактивов не указывает на отсутствие пастеризации, так как может быть вызвано разложением реактивов.

Чувствительность метода позволяет обнаружить добавление не менее 5% непастеризованного молока.

Исследованию на пероксидазу можно подвергать не только молоко, но и другие молочные продукты.

Анализ на пероксидазу кисломолочных напитков (кефир, простокваша, кумыс, йогурт, ряженка и др.), пахты и сыворотки выполняют также, как анализ молока.

При проведении анализа сливок, сметаны, масла или творога в пробирку вносят по 2–3 см³ или 2–3 г продукта и 2–3 см³ дистиллированной воды, далее аналогично анализу молока.

1.7.7. Определение термоустойчивости молока по алкогольной пробе (модифицированный метод К. К. Горбатовой и П. И. Гуньковой)

Термоустойчивость по алкогольной пробе определяют, смешивая равные объемы исследуемого молока и этилового спирта нужной объемной доли. Если в анализируемой смеси не появились хлопья белка, считается, что молоко выдержало алкогольную пробу и его относят к определенной группе термоустойчивости (табл. 1.4).

Таблица 1.4

Группы термоустойчивости молока по алкольной пробе

Объемные доли этилового спирта, %	80	75	72	70	68
Термоустойчивость молока, группа	I	II	III	IV	V

В модифицированном методе К. К. Горбатовой и П. И. Гуньковой используют этиловый спирт объемной долей 78%, термоустойчивость оценивают в зависимости от объема данного спирта, необходимого для коагуляции белков молока.



Материалы и приборы: исследуемое молоко, конические колбы вместимостью 50 см³, пробирки, пипетки, бюретки, капельницы, секундомер.



Приготовление реактивов. *Приготовление раствора этанола объемной долей 78%.* Для получения 1000 см³ раствора этанола объемной долей 78% (с учетом сжатия раствора в процессе приготовления) необходимо смешать 812 см³ этанола объемной долей 96% и 209 см³ дистиллированной воды. Температура этанола и воды должна составлять 20°C.



Проведение анализа. В коническую колбу вместимостью 50 см³ пипеткой вносят 2 см³ исследуемого молока и медленно, при непрерывном несильном перемешивании добавляют из бюретки раствор этанола объемной долей 78% до начала видимой коагуляции белков. За окончательный результат принимают среднее значение двух параллельных определений расхода этанола, по которому оценивают термоустойчивость молока (табл. 1.5).

Таблица 1.5

**Шкала оценки термоустойчивости молока по модифицированной
алкогольной пробе**

Качество молока	Объем раствора этанола объемной долей 78%, необходимый для коагуляции белков молока, см ³
Хорошее (высокая термоустойчивость)	Более 2
Удовлетворительное (средняя термоустойчивость)	1,5–2,0
Плохое (нетермоустойчивое)	Менее 1,5

Если на коагуляцию расходуется более 1,5 см³ раствора этанола объемной долей 78%, молоко можно использовать при производстве продуктов детского питания, стерилизованного молока и молочных консервов.

1.8. Лабораторная работа. Получение и анализ кисломолочного сгустка



Цель работы: освоение технологии получения и анализа кисломолочного сгустка.

Заквашивание молока проводят за 24 ч до начала занятия, на котором будет анализироваться кисломолочный сгусток.

1.8.1. Получение кисломолочного сгустка

По заданию преподавателя сквашивание молока проводят закваской промышленного изготовления, коллекционной культурой молочнокислых бактерий или готовым кисломолочным продуктом (простокваша, кефир, йогурт, ацидофилин или др.).



Материалы и приборы: исследуемое молоко, закваски промышленного изготовления, кисломолочные продукты, стерильные стаканы вместимостью 200 см³, стерильные пипетки, термостат.



Получение кисломолочного сгустка. В стерильный стакан вместимостью 200 см³ в асептических условиях помещают 150 см³ пастеризованного молока и производят засев молочнокислыми микроорганизмами:

– при использовании закваски промышленного изготовления количество закваски и условия сквашивания принимают в соответствии с рекомендациями производителя;

– коллекционную культуру переносят из пробирки в стакан с молоком при помощи бактериологической петли, тщательно перемешивают и помещают в термостат с температурой, оптимальной для данного вида микроорганизмов;

– готовый кисломолочный продукт вносят в количестве 1,5–3,0 см³, тщательно перемешивают и помещают в термостат, предварительно обсудив с преподавателем температуру сквашивания.

Посевы инкубируют в течение 24 ч, контролируя процесс сквашивания путем наблюдения через определенные промежутки времени.

1.8.2. Анализ кисломолочного сгустка

Анализ кисломолочного сгустка проводят по органолептическим показателям (п. 1.8.2.1), кислотности (п. 1.7.2), степени синерезиса (п. 1.8.2.2) и содержанию молочнокислых бактерий (п. 1.8.2.3).

! Предупреждение. Отбор проб для микробиологического анализа проводят перед отбором проб для физико-химического анализа, совмещая его с определением органолептических показателей. Пробы для микробиологического анализа отбирают в стерильную посуду с помощью стерильных приспособлений.

Пробы жидких кисломолочных продуктов, предназначенные для определения физико-химических показателей, доводят до температуры $20 \pm 2^\circ\text{C}$.

1.8.2.1. Органолептическая оценка. Данная оценка включает определение цвета, вкуса, запаха и консистенции кисломолочного сгустка.

Цвет должен быть молочно-белый, слегка кремовый, равномерный по всей массе.

При определении вкуса и запаха кисломолочных напитков обращают внимание на чистоту кисломолочного вкуса и аромата, отсутствие посторонних привкусов, отмечают, насколько явно выражен кислый вкус.

При оценке консистенции обращают внимание на степень однородности (цельности), густоты и вязкости, наличие следов газообразования. Наблюдают за изломом сгустка после нарушения его шпателем: глянцевитый, устойчивый, тягучий. Продукты с жидкой консистенцией оценивают по тому, как стекает в стакан сгусток после встряхивания. Обращают внимание на наличие выделяющейся сыворотки. На поверхности продуктов из негомогенизированного молока имеется отстой жира. Для большинства кисломолочных сгустков консистенция отмечается как однородная, вязкая, в меру густая, с нарушенным или ненарушенным сгустком; для кисломолочных продуктов, в закваску которых входят дрожжи, допускается газообразование в виде отдельных глазков; допускается отделение сыворотки для простокваши – не более 3% по объему, для кефира – не более 2%.

1.8.2.2. Степень синерезиса. *Синерезис* – самопроизвольное сжатие сгустка и выделение из него влаги. Степень синерезиса зависит от вида продукта и способа его производства. Метод определения степени синерезиса основан на измерении количества сыворотки, выделившейся за 1 ч свободного фильтрования через бумажный фильтр.



Материалы и приборы: кисломолочный сгусток, мерные цилиндры, воронки, фильтры бумажные.



Проведение анализа. В цилиндр на 100 см³ опускают воронку с сухим складчатым бумажным фильтром и осторожно переносят на фильтр 100 см³ кисломолочного сгустка. Отмечают время с момента попадания в цилиндр первой капли сыворотки. Далее количество сыворотки в цилиндре измеряют через каждые 15 мин. Результаты заносятся в таблицу с указанием времени оценки показателя и его значения. Степень синерезиса выражают в процентах объема выделившейся сыворотки от объема сгустка.

1.8.2.3. Определение содержания молочнокислых бактерий посевом на или в твердые питательные среды и подсчетом КОЕ. Метод предназначен для определения молочнокислых бактерий в ферментированных молочных продуктах и основан на

способности микроорганизмов расти на агаризованных селективных питательных средах при высеве определенного их количества и (или) их разведений, культивировании посевов при оптимальных условиях, учете полученных результатов и при необходимости определении морфологических и биохимических свойств обнаруженных микроорганизмов и их подсчете.

В табл. 1.6 приведены питательные среды, которые используют для определения конкретных групп молочнокислых бактерий.

Таблица 1.6

Питательные среды для конкретных групп молочнокислых бактерий

Группа молочнокислых бактерий	Вид питательной среды
Лактококки и термофильный молочнокислый стрептококк	Агаризованное гидролизованное молоко Агаризованный гидролизанный бульон Среда на основе гидролизата белков молока для лактококков и термофильного стрептококка Среда М 17
Молочнокислые палочки	Подкисленная среда MRS Среда на основе гидролизата белков молока для молочнокислых палочек
<i>L. casei</i> или <i>L. Rhamnosus</i> в смешанной культуре с молочнокислыми палочками	Среда для определения вида <i>L. casei</i>



Материалы и приборы: исследуемый кисломолочный сгусток, колбы вместимостью 1000 см³ с пробками, воронки, конические колбы, мерные колбы, стерильные пробирки, стерильные пипетки, чашки Петри, рН метр, термостат, автоклав.



Приготовление питательных сред и реактивов. *Приготовление гидролизованного молока.* Натуральное или восстановленное обезжиренное молоко кипятят, охлаждают до температуры (45 ± 1)°С и устанавливают активную кислотность рН (7,6–7,8). К 1000 см³ молока добавляют (0,5–1,0) г порошка панкреатина и 5 см³ хлороформа. Колбу со смесью закрывают корковой пробкой и выдерживают в термостате при температуре 40°С в течение (18–24) ч. В течение первых (3–5) ч молоко несколько раз перемешивают (пробку после встряхивания приоткрывают для удаления паров хлороформа). Через (18–24) ч колбу вынимают

из термостата, гидролизованное молоко фильтруют через бумажный фильтр, разводят дистиллированной водой в соотношении 1:1, устанавливают активную кислотность рН (7,0–7,2) и стерилизуют при температуре $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение (15 ± 1) мин.

Гидролизованное молоко допускается хранить при температуре $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 30 дней.

Приготовление гидролизованного бульона. Состав: сухой гидролизат белков молока – 31 г; сухой дрожжевой автолизат – 2,5 г; фосфат калия двузамещенный – 1,5 г; дистиллированная вода – 1000 см³.

Все компоненты вносят в колбу, перемешивают и нагревают до полного растворения. Смесь охлаждают и устанавливают рН $(7,3 \pm 0,1)$ при температуре 25°C . Готовый гидролизованный бульон разливают в пробирки или колбы и стерилизуют при температуре $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение (15 ± 1) мин.

При использовании готового гидролизованного бульона (35 ± 1) г сухой среды вносят в 1000 см³ холодной воды. Смесь тщательно перемешивают, кипятят (3–5) мин, не допуская пригорания. При наличии осадка фильтруют через ватно-марлевый фильтр. В полученной среде проверяют активную кислотность и корректируют рН до $(7,3 \pm 0,1)$. При необходимости среду вновь подогревают, разливают в колбы или пробирки, закрывают ватными пробками и стерилизуют при температуре $(121 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение (15 ± 1) мин.

Гидролизованный бульон допускается хранить при температуре $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 30 дней.

Приготовление агаризованного гидролизованного молока или гидролизованного бульона. К 1000 см³ гидролизованного молока или гидролизованного бульона добавляют 15 г агара. Смесь нагревают до полного расплавления агара, фильтруют через вату и разливают в пробирки или колбы. Смесь стерилизуют при температуре $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение (10 ± 1) мин.

Агаризованные среды допускается хранить при температуре $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 30 дней.

Приготовление среды для определения лактококков и термофильных стрептококков. Состав: сухой гидролизат белков молока – 31,5 г; сухой дрожжевой автолизат – 5,0 г; фосфат калия двузамещенный – 1,5 г; агар – 12 г; дистиллированная вода – 1000 см³.

Все компоненты вносят в колбу, перемешивают и нагревают до полного растворения. Смесь охлаждают и устанавливают рН $(7,3 \pm 0,1)$ при температуре 25°C . Готовую среду разливают

в пробирки или колбы и стерилизуют при температуре $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение (15 ± 1) мин.

При использовании готовой питательной среды (50 ± 1) г сухой среды вносят в (1000 ± 50) см³ холодной воды. Смесь тщательно перемешивают, кипятят 3–5 мин, не допуская пригорания. При наличии осадка фильтруют через ватно-марлевый фильтр. В полученной среде проверяют активную кислотность и корректируют рН до $(7,3 \pm 0,1)$. При необходимости среду вновь подогревают, разливают в колбы или пробирки, закрывают ватными пробками и стерилизуют при температуре $(121 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение (15 ± 1) мин. Готовая среда прозрачная и имеет желтовато-коричневый цвет.

Рабочую среду допускается хранить при температуре $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 30 дней.

Приготовление среды M 17 для определения лактококков и термофильного стрептококка. Состав основной среды: пептон 1 – 2,5 г; пептон 2 – 2,5 г; пептон 3 (перевар сои) – 5,0 г; дрожжевой экстракт – 2,5 г; мясной экстракт – 5 г; глицерофосфат – 19 г; сернокислый магний – 0,25 г; аскорбиновая кислота – 0,5 г; агар – (9–18) г; дистиллированная вода – 950 см³.

Все компоненты основной среды вносят в колбу, перемешивают и нагревают до полного растворения. Смесь охлаждают и устанавливают рН таким образом, чтобы после стерилизации рН составил $(7,2 \pm 0,2)$ при температуре 25°C . Готовую среду разливают по 95 см³ в колбы вместимостью 250 см³ и стерилизуют при температуре $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение (15 ± 1) мин.

При использовании готовой питательной среды 55 г питательной среды вносят в колбу, добавляют 950 см³ дистиллированной воды и нагревают при перемешивании до полного растворения. Смесь охлаждают до температуры $(50 \pm 2)^\circ\text{C}$ и устанавливают рН таким образом, чтобы после стерилизации рН составил $(7,2 \pm 0,2)$. Готовую среду разливают по 95 см³ в колбы вместимостью 250 см³ и стерилизуют при температуре $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение (15 ± 1) мин.

Перед использованием 95 см³ основной среды расплавляют на водяной бане и охлаждают до температуры $(48–56)^\circ\text{C}$. Раствор лактозы (5 см³) подогревают до температуры $(48–56)^\circ\text{C}$, добавляют его к основной среде и перемешивают.

Приготовление подкисленной среды MRS для молочнокислых палочек. Состав: пептон – 10 г; мясной экстракт – 10 г; дрожжевой экстракт – 5 г; глюкоза – 20 г; твин 80 – 1 см³; фосфат калия

однозамещенный – 2 г; ацетат натрия тригидрат – 5 г; диаммоний цитрат – 2 г; сернокислый магний – 0,2 г; сернокислый марганец – 0,05 г; агар – 15 г; дистиллированная вода – 1000 см³.

Все компоненты (кроме твин 80) вносят в колбу, перемешивают, нагревают до полного растворения. Добавляют 1 см³ твин 80. Охлаждают и устанавливают рН таким образом, чтобы после стерилизации рН составил $(5,4 \pm 0,2)$ при температуре 25°C. Готовую среду разливают в пробирки или колбы и стерилизуют при температуре $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение (15 ± 1) мин.

При использовании готовой питательной среды 60 г сухой питательной среды вносят в колбу, добавляют 1000 см³ дистиллированной воды и нагревают при перемешивании до полного растворения. Добавляют 1 см³ твин 80. Смесь охлаждают до температуры $(50 \pm 2)^\circ\text{C}$ и устанавливают рН таким образом, чтобы после стерилизации рН составил $(5,4 \pm 0,2)$. Готовую среду разливают в пробирки или колбы и стерилизуют при температуре $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение (15 ± 1) мин.

Приготовление среды для определения молочнокислых палочек. Состав: сухой гидролизат белков молока – 24 г; дрожжевой экстракт – 7 г; глюкоза – 15 г; твин 80 – 1 см³; фосфат калия однозамещенный – 1 г; ацетат натрия тригидрат – 5 г; диаммоний цитрат – 2 г; сернокислый магний – 0,2 г; сернокислый марганец – 0,05 г; агар – 15 г; дистиллированная вода – 1000 см³.

Все компоненты (кроме твин 80) вносят в колбу, перемешивают, нагревают до полного растворения. Добавляют 1 см³ твин 80. Охлаждают и корректируют рН до $(7,3 \pm 0,1)$ таким образом, чтобы после стерилизации рН составил $(6,3 \pm 0,2)$ при температуре 25°C. Готовую среду разливают в пробирки или колбы и стерилизуют при температуре $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение (15 ± 1) мин.

При использовании готовой питательной среды (69 ± 1) г сухой питательной среды вносят в колбу, добавляют 1000 см³ дистиллированной воды и нагревают при перемешивании до полного растворения. Добавляют 1 см³ твин 80. Смесь охлаждают до температуры $(50 \pm 2)^\circ\text{C}$ и корректируют рН до $(7,3 \pm 0,1)$ таким образом, чтобы после стерилизации рН составил $(6,3 \pm 0,2)$. Готовую среду разливают в пробирки или колбы и стерилизуют при температуре $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение (15 ± 1) мин.

*Приготовление среды для определения вида *L. casei* (*L. casei* subsp. *casei* или *L. casei* subsp. *rhamnosus*).* Состав: триптон –

10 г; дрожжевой экстракт – 5 г; твин 80 – 1 г; натрия фосфат двузамещенный – 2,6 г; ацетат натрия тригидрат – 5 г; аммония цитрат двузамещенный – 2 г; сернокислый магний – 0,2 г; сернокислый марганец – 0,05 г; агар – 13 г; дистиллированная вода – 8800 см³.

Все компоненты вносят в колбу, перемешивают и нагревают до полного растворения. Смесь охлаждают и устанавливают рН таким образом, чтобы после стерилизации рН составил $(6,9 \pm 0,1)$ при температуре 25°C. Готовую среду разливают по 90 см³ в колбы вместимостью 250 см³ и стерилизуют при температуре $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение (15 ± 1) мин.

При использовании готовой питательной среды 36,73 г питательной среды вносят в колбу, добавляют 880 см³ дистиллированной воды и нагревают при перемешивании до полного растворения. Смесь охлаждают до температуры $(50 \pm 2)^\circ\text{C}$ и устанавливают рН таким образом, чтобы после стерилизации рН составил $(6,9 \pm 0,1)$. Среду разливают по 90 см³ в колбы вместимостью 250 см³ и стерилизуют при температуре $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение (15 ± 1) мин.

Питательную среду допускается хранить в темном месте при температуре $(4 \pm 2)^\circ\text{C}$ в течение 30 дней. Перед использованием среду расплавляют на водяной бане и вносят в нее 10 см³ 20%-ного раствора мальтозы.

Приготовление раствора лактозы. Для приготовления 10%-ного раствора лактозы 10 г лактозы вносят в мерную колбу вместимостью 100 см³, доводят объем до метки дистиллированной водой, растворяют, разливают в пробирки по 5 см³ и стерилизуют при температуре $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 15 мин.

Приготовление раствора мальтозы. Для приготовления 20%-ного раствора мальтозы 20 г мальтозы вносят в мерную колбу вместимостью 100 см³, доводят объем до метки дистиллированной водой, растворяют, разливают в пробирки по 10 см³ и стерилизуют при температуре $(121 \pm 1)^\circ\text{C}$ в течение 15 мин.

Посев и инкубирование. Делают ряд разведений до 10^{-10} . Для подсчета выбирают те разведения, при посеве которых на чашках Петри вырастает от 15 до 300 колоний.

Определение количества лактококков и термофильных молочнокислых стрептококков. Для определения количества лактококков и термофильных молочнокислых стрептококков посев проводят в агаризованные питательные среды в соответствии с табл. 1.6.

В стерильные чашки Петри вносят по 1 см³ каждого разведения (ориентировочно от 10⁻⁴ до 10⁻⁸), заливают 12–15 см³ расплавленной среды, остуженной до 42–45°C. Быстро перемешивают содержимое чашки круговыми движениями и оставляют до застывания среды.

Чашки с посевами инкубируют в течение 72 ч при температуре:
– (30 ± 1)°C – для подсчета мезофильных молочнокислых бактерий;

– (37 ± 1)°C – для подсчета термофильных молочнокислых бактерий;

– (37 ± 1)°C – для совместного подсчета мезофильных и термофильных молочнокислых бактерий.

Определение количества молочнокислых палочек. Для определения количества молочнокислых палочек (кроме *L. casei* или *L. rhamnosus*) посев проводят в агаризованные питательные среды в соответствии с табл. 1.6.

В стерильные чашки Петри вносят по 1 см³ каждого разведения (ориентировочно от 10⁻⁴ до 10⁻⁸), заливают 12–15 см³ расплавленной среды, остуженной до 42–45°C. Быстро перемешивают содержимое чашки круговыми движениями и оставляют до застывания среды.

Чашки с посевами инкубируют в течение 72 ч при температуре:

– (30 ± 1)°C – для подсчета мезофильных молочнокислых бактерий;

– (37 ± 1)°C – для подсчета термофильных молочнокислых бактерий;

– (37 ± 1)°C – для совместного подсчета мезофильных и термофильных молочнокислых бактерий.

*Определение количества *L. casei* (*L. casei* subsp. *casei* или *L. casei* subsp. *rhamnosus*) в смешанных культурах с молочнокислыми палочками.* Для определения количества *L. casei* (*L. Casei* subsp. *casei* или *L. casei* subsp. *rhamnosus*) в смешанных культурах с молочнокислыми палочками посев проводят в агаризованные питательные среды в соответствии с табл. 1.6.

В стерильные чашки Петри вносят по 12–15 см³ расплавленной среды, дожидаются застывания среды, а затем подсушивают ее в термостате в течение 30 мин. В чашки на поверхность среды наносят по 1 см³ каждого разведения продукта (ориентировочно от 10⁻³ до 10⁻⁷) и тщательно растирают шпателем. Чашки Петри переворачивают дном вверх и термостатируют при температуре (30 ± 1)°C в течение (72 ± 3) ч.

Обработка результатов. По окончании инкубирования подсчитывают количество характерных колоний на чашке Петри:

– *L. delbruecki subsp. bulgaricus* образует чечевицеобразные с четко очерченными краями колонии диаметром 1–3 мм на подкисленной среде MRS;

– *S. thermophilus* образует чечевицеобразные колонии диаметром 1–2 мм на среде М 17;

– лактококки образуют на поверхности питательной среды мелкие колонии диаметром до 1 мм, круглые, светлые; глубинные колонии – чечевицеобразные;

– *L. casei* или *L. rhamnosus* образуют мелкие круглые колонии на поверхности плотных питательных сред и вогнутые, иногда с выростами глубинные колонии.

Если колонии имеют гетерогенный вид, делают микроскопические препараты нескольких колоний и подтверждают их принадлежность к конкретному виду в соответствии с табл. 1.7.

Таблица 1.7

**Ориентировочный состав микрофлоры кисломолочных продуктов
в микропрепаратах**

Наименование продуктов	Ориентировочный состав микрофлоры	Характеристика микропрепарата
Творог, творожные продукты, сметана	Лактококки или лактококки и термофильные молочнокислые стрептококки	Кокки, диплококки, короткие цепочки кокков, длинные цепочки кокков в виде бус
Простокваша	Лактококки и (или) термофильные молочнокислые стрептококки	Кокки, диплококки, короткие цепочки кокков и (или) длинные цепочки кокков в виде бус
«Мечниковская» простокваша, йогурт	Термофильные молочнокислые стрептококки и палочки	Кокки, диплококки, длинные цепочки кокков в виде бус, палочки одиночные, в парах, цепочки палочек
Ряженка	Термофильные молочнокислые стрептококки или молочнокислые стрептококки и болгарская палочка	Кокки, диплококки, длинные цепочки кокков в виде бус, крупные палочки одиночные, в парах, цепочках
Варенец	Термофильные молочнокислые стрептококки	Кокки, диплококки, длинные цепочки кокков в виде бус
Кумыс, кумысный продукт	Болгарская и ацидофильная молочнокислые палочки, дрожжи	Крупные палочки одиночные, в парах, в цепочках, единичные дрожжи

Окончание табл. 1.7

Наименование продуктов	Ориентировочный состав микрофлоры	Характеристика микропрепарата
Айран	Термофильные молочнокислые стрептококки, болгарская молочнокислая палочка, дрожжи	Кокки, диплококки, длинные цепочки в виде бус, крупные палочки с закругленными концами одиночные, в парах, цепочки, единичные дрожжи не в каждом поле зрения
Кефир	Лактококки, молочнокислые палочки, дрожжи	Кокки, диплококки, короткие цепочки кокков, прямые палочки одиночные, в парах, в цепочках, единичные дрожжи не в каждом поле зрения
Ацидофилин	Ацидофильная молочнокислая палочка, лактококки и дрожжи	Крупные прямые палочки одиночные и в парах, короткие цепочки палочек, кокки, диплококки, короткие цепочки кокков, возможно наличие дрожжей
Йогурт	Термофильные молочнокислые стрептококки, болгарская молочнокислая палочка	Кокки, диплококки, длинные цепочки в виде бус, крупные палочки с закругленными концами одиночные, в парах, в цепочках
Продукты, обогащенные бифидобактериями	Основная микрофлора продукта (лактококки и / или термофильный стрептококк, и / или молочнокислые палочки, и / или дрожжи и т. д.) и бифидобактерии	Картина микропрепарата соответствует основной микрофлоре продукта: кокки, диплококки, короткие цепочки кокков и / или длинные цепочки в виде бус, и / или прямые палочки одиночные, в парах, в цепочках, и / или единичные дрожжи не в каждом поле зрения и т. д. Кроме того, в поле зрения должны встречаться единичные палочки неправильной формы (изогнутые, булавовидные, V-образной формы) одиночные, парные, в коротких цепочках и скоплениях

Количество микроорганизмов каждого вида N , КОЕ/г, определяют по формуле

$$N = \frac{C}{(n_1 + 0,1 \cdot n_2) \cdot d},$$

где N – количество микроорганизмов данного вида в пробе, КОЕ/г;

C – сумма колоний, подсчитанных на чашках;

n_1 – количество чашек, соответствующих определяемому микроорганизму, подсчитанных в самом низком разведении;

n_2 – количество чашек, соответствующих определяемому микроорганизму, подсчитанных в самом высоком разведении;

d – число, соответствующее значению разведения для данного вида микроорганизмов, для которого был произведен первый подсчет.

Пример:

а) если в 10^{-5} разведении на двух чашках 295 и 245 колоний *L. bulgaricus*, а в 10^{-6} разведении 33 и 40 колоний этих микроорганизмов, то

$$N = \frac{295 + 245 + 33 + 40}{(2 + 0,1 \cdot 2) \cdot 10^{-5}} = 278,6 \cdot 10^5;$$

б) если в 10^{-5} разведении на двух чашках 280 и 240 колоний *S. thermophilus* и в 10^{-6} разведении 30 и 38 колоний этих микроорганизмов, то

$$N = \frac{280 + 240 + 30 + 38}{(2 + 0,1 \cdot 2) \cdot 10^{-5}} = 267,3 \cdot 10^5;$$

в) общее количество молочнокислых бактерий

$$N = N_1 + N_2 = 278,6 \cdot 10^5 + 267,3 \cdot 10^5 = 545,9 \cdot 10^5 = 5,5 \cdot 10^7 \text{ КОЕ/см}^3.$$

1.9. Лабораторная работа. Получение и анализ сычужного сгустка. Постановка сырного зерна



Цель работы: освоение технологии получения и анализа сычужного сгустка. Знакомство с методами постановки сырного зерна.

⚠ Предупреждение. Метод оценки сыропригодности выбирают в зависимости от имеющегося молока (сырое или прошедшее термическую обработку).

1.9.1. Оценка сыропригодности молока

В сыроделии качество молока и его пригодность для производства сыра определяют по характеру образовавшегося сгустка (сычужно-бродильная проба) и продолжительности свертывания (сычужная проба).



Материалы и приборы: исследуемое молоко, сычужный фермент (молокосвертывающий препарат), конические колбы вместимостью 250 см³, пробирки, пипетки, термостат.



Приготовление реактивов. Приготовление раствора контрольного образца сычужного фермента (КО СФ). 1 г контрольного образца сычужного фермента с активностью 100 тыс. ед. растворяют в 100 см³ дистиллированной воды при температуре (30 ± 1)°С, перемешивают и выдерживают до проведения анализа не менее 15 мин. Срок хранения раствора при температуре от 4 до 10°С не более 2 сут.

1.9.1.1. Сычужно-бродильная проба. Метод основан на способности сырого молока свертываться под действием сычужного фермента и микроорганизмов сырого молока. По характеру образовавшегося сгустка оценивают качество сырого молока на его пригодность для производства сыра.



Проведение анализа. В широкую пробирку наливают 30 см³ сырого молока и вносят 1 см³ раствора контрольного образца сычужного фермента, хорошо перемешивают и помещают в термостат при температуре (38 ± 1)°С. Через 12 ч проводят визуальную оценку характера образовавшегося сгустка, по результатам которой сырое молоко относят к одному из трех классов (табл. 1.8).

Таблица 1.8

Оценка качества сырого молока по характеру сычужного сгустка

Класс молока	Качество молока	Характеристика сгустка
I	Хорошее	Сгусток с гладкой поверхностью, упругий на ощупь, без глазков на продольном разрезе, плавает в прозрачной сыворотке, которая не тянется
II	Удовлетворительное	Сгусток мягкий на ощупь, с единичными глазками (1–10), разорван, но не вспучен
III	Неудовлетворительное	Сгусток с многочисленными глазками, губчатый, мягкий на ощупь, вспучен, всплыл вверх или вместо сгустка образовалась хлопьевидная масса

Сырое молоко хорошего и удовлетворительного качества (I и II класс соответственно) считается пригодным для производства сыра, молоко III класса качества – не годится.

1.9.1.2. Сычужная проба. Метод основан на способности молока, подвергнутого предварительной температурной обработке (пастеризации), свертываться под действием сычужного фермента. По характеру образовавшегося сгустка оценивают пригодность молока для производства сыра.



Проведение анализа. В две широкие пробирки наливают по 30 см³ молока и доводят до температуры $(38 \pm 1)^\circ\text{C}$ в термостате. Затем в одну пробирку вносят 0,5 см³, а в другую 1,0 см³ раствора контрольного образца сычужного фермента, хорошо перемешивают и помещают в термостат при температуре $(38 \pm 1)^\circ\text{C}$.

Через 1 ч проводят оценку пастеризованного молока на свертываемость. Сначала осматривают сгусток, поворачивая каждую пробирку на 180° . При хорошем или удовлетворительном качестве сгустка он не должен выпадать из пробирки. Затем осторожно с помощью шпателя отодвигают сгусток от стенки пробирки, переносят его в чашку Петри и характеризуют сгусток в соответствии с табл. 1.9.

Таблица 1.9

Оценка пастеризованного молока на свертываемость

Добавленный объем раствора КО СФ, см ³	Характеристика сгустка	Оценка молока по свертываемости	Класс молока
0,5 1,0	Сгусток с гладкой поверхностью, упругий на ощупь, без глазков	Хорошее	I
0,5	Сгусток с гладкой поверхностью, мягкий на ощупь, без глазков		
1,0	То же	Удовлетворительное	II
0,5 1,0	Сгусток с неровной поверхностью, мягкий на ощупь, вспучен, с наличием глазков, дряблый или хлопьевидный	Неудовлетворительное	III

Молоко с хорошей и удовлетворительной оценкой по свертываемости (I и II класса соответственно) считается пригодным для производства сыра, молоко с неудовлетворительной оценкой (III класс) – не годится.

1.9.2. Получение сычужного сгустка и постановка сырного зерна

При пастеризации молока часть солей кальция переходит из растворимого в нерастворимое состояние. Данный процесс сопровождается ухудшением сычужной свертываемости молока и получением более дряблого, непрочного сгустка. Для устранения этих недостатков в молоко добавляют раствор хлористого кальция из расчета 10–40 г безводной соли на 100 кг молока. Закваску молочнокислых микроорганизмов и молокосвертывающий фермент вносят в соответствии с рекомендациями производителей.



Материалы и приборы: исследуемое молоко, сычужный фермент (молокосвертывающий препарат), закваски для сыра, 0,1 н. раствор гидроксида натрия, 1%-ный спиртовой раствор фенолфталеина, 2,5%-ный раствор сернокислого кобальта, стерильные стаканы вместимостью 200 см³, пробирки, пипетки, колбы конические емкостью 100 см³, бюретки, капельницы, мерные цилиндры, чашки Петри, термостат, рН-метр.



Приготовление реактивов. *Приготовление раствора хлористого кальция.* Для приготовления раствора хлористого кальция используют воду с температурой $(85 \pm 5)^\circ\text{C}$ из расчета 1,5 дм³ на 1 кг соли. Перед употреблением раствору дают отстояться, после чего он должен быть прозрачным и бесцветным.

Использовать хлористый кальций в виде сухой соли или свежеприготовленного неотстоявшегося раствора запрещается. Раствор хлористого кальция необходимо готовить не менее чем за сутки до использования. Хранят готовый раствор в закрытой стеклянной, керамической или из нержавеющей стали посуде. Сухую соль хлористого кальция ввиду ее большой влагопоглощающей способности хранят в герметически закрытой таре.

1.9.2.1. Сычужное свертывание молока. Прежде чем приступить к получению сычужного сгустка, изучают условия сычужного свертывания молока, обработки сгустка и постановки зерна, вымешивания и второго нагревания сырного зерна в зависимости от вида получаемого сыра (мягкий либо твердый) (п. 1.9.2.2–1.9.2.5). Знакомятся с информацией производителей о составе, дозировке, условиях применения заквасок и молокосвертывающих ферментов.

На основании полученных сведений в зависимости от указанного преподавателем вида сыра обосновывают условия его получения:

- степень зрелости, способность к сычужному свертыванию, жирность молока;
- оптимальную температуру свертывания молока;
- количество раствора хлористого кальция (ввиду малого объема молока допускается использовать разбавленный раствор хлористого кальция, приготовленный из 40%-ного);
- количество вносимого молокосвертывающего препарата;
- количество вносимой закваски и ее состав (мезофильные или термофильные молочнокислые бактерии);
- продолжительность свертывания молока;
- необходимую степень обезвоживания сгустка;
- наличие (отсутствие) второго нагревания;
- кислотность сырной массы и сыворотки;
- размер зерна.

После обсуждения с преподавателем приступают к сычужному свертыванию молока.

В стерильный стакан вместимостью 200 см³ в асептических условиях помещают 150 см³ молока, подогревают его до температуры свертывания, вносят рассчитанные количества раствора хлористого кальция, молокосвертывающего препарата, закваски. Тщательно перемешивают, помещают стакан в термостат с температурой, оптимальной для данного вида сыра, и наблюдают за консистенцией заквашенного молока.

Отмечают время от момента внесения молокосвертывающего препарата до образования первых хлопьев, после чего выдерживают молоко еще столько же и устанавливают готовность сгустка общепринятым способом.

При установлении готовности сгустка его аккуратно переносят из стакана в чашку Петри и приступают к обработке сгустка и постановке зерна. Разрезку сгустка (размер кубиков, продолжительность разрезки) выполняют с учетом вида получаемого сыра.

Удаляемую сыворотку собирают в мерный цилиндр, фиксируют ее объем, определяют кислотность (п. 1.7.2). Для формируемого зерна отмечают размер, упругость, прочность, клейкость.

Для проведения второго нагревания в сырное зерно вносят прокипяченную и охлажденную до температуры 50–60°C воду. Количеством вносимой воды устанавливают температуру второго нагревания в зависимости от вида получаемого сыра.

Для обезвоживания зерна после второго нагревания (обсушки) проводят его вымешивание. Удаляемую сыворотку собирают отдельной порцией, снова замеряя ее объем и определяя кислотность (п. 1.7.2). Субъективным способом оценивают готовность зерна к формованию.

Рассчитывают влажность зерна по суммарному количеству удаленной до и после второго нагревания (с учетом объема внесенной воды) сыворотки. Сравнивают кислотность сыворотки до и после второго нагревания.

Делают заключение о соответствии условий обработки сгустка и постановки зерна требованиям для получаемого вида сыра.

1.9.2.2. Условия сычужного свертывания молока. Оптимальная кислотность молока для действия сычужного фермента соответствует рН 6,0–6,3.

Температура сычужного свертывания молока. Оптимальная температура действия сычужного фермента – 40–41°C. Однако в сыроделии эту температуру не применяют, потому что она выше оптимальной температуры развития лактококков (28–35°C). Кроме того, при температуре 40–41°C сгусток быстро образуется и уплотняется, имеет высокую прочность, вследствие чего затрудняется его механическая обработка.

В сыроделии обычно применяют температуру свертывания молока в пределах от 28 до 36°C. Для твердых сычужных сыров температура свертывания – 32–36°C, для мягких температуру свертывания снижают до 28–30°C с целью увеличения продолжительности свертывания и получения более мягкого сгустка.

Для одного и того же вида сыра свертывание проводят при более высоких температурах, если молоко имеет низкую кислотность, недостаточную зрелость и высокую жирность и, наоборот, температуру свертывания понижают при повышении кислотности, высокой степени зрелости и пониженной жирности молока. Кроме того, для сыров с большей массовой долей влаги целесообразно свертывать молоко при низких температурах, а для сыров с меньшей массовой долей влаги – при высоких.

Для молока с повышенной способностью к свертыванию сычужным ферментом температуру свертывания снижают в пределах, допустимых для данного вида сыра. И наоборот, использование молока с пониженной свертывающей способностью требует повышения

температуры, что в свою очередь позволяет регулировать структурно-механические свойства сгустка. В первом случае происходит некоторое снижение, а во втором – повышение прочностных свойств сгустка.

Количество молокосвертывающего препарата. Необходимое для свертывания молока количество молокосвертывающего препарата должно быть минимальным, но обеспечивать начало образования сгустка в течение 14–18 мин после внесения.

Если используется молоко с пониженной способностью к свертыванию, то нужно увеличить в допустимых пределах дозу хлористого кальция и бактериальной закваски, повысить температуру свертывания, но увеличивать дозу молокосвертывающего препарата при этом не рекомендуется.

Внесение молокосвертывающего препарата и закваски. Молокосвертывающий препарат вносят в молоко в виде раствора, приготовленного за 20–25 мин до использования по рекомендации производителя. Количество закваски также вносят по рекомендации производителя.

После внесения молокосвертывающего препарата и закваски молоко тщательно перемешивают в течение 1–4 мин и затем оставляют в покое до образования однородного сгустка.

Продолжительность свертывания молока молокосвертывающим ферментом. Продолжительность устанавливается в зависимости от вида сыра и составляет от 25 до 80 мин. Для твердых сыров, вырабатываемых из молока низкой зрелости, продолжительность свертывания 25–35 мин, для сыров пониженной жирности – 30–40 мин. Для мягких сыров, вырабатываемых из молока высокой степени зрелости, с целью активизации молочнокислого брожения время свертывания увеличивают до 60–90 мин.

В первые 5–15 мин после внесения молокосвертывающего препарата изменений молока, видимых невооруженным глазом, не происходит. Затем вязкость молока быстро повышается, что свидетельствует об изменении состояния белка, белковые частицы начинают укрупняться, образуя мелкие хлопья. Затем появляется очень нежный сгусток, в дальнейшем происходит его упрочнение.

Готовность сгустка. Готовность определяют общепринятым способом на излом. Шпателем разрезают сгусток, затем плоской частью шпателя вдоль разреза приподнимают сгусток и по расколу судят о его свойствах. Если сгусток дает раскол с нерасплывающимися,

острыми краями, без образования хлопьев белка и с хорошо выделяющейся прозрачной сывороткой светло-зеленого цвета, то он готов к разрезке. Неровный излом с мелкими кусочками сгустка и мутная беловатая сыворотка указывают на недостаточную прочность сгустка.

Слишком нежный и слишком прочный сгусток одинаково непригодны для дальнейшей обработки. В первом случае происходит значительный отход белка и жира в сыворотку и, следовательно, снижается выход продукта. Образование слишком прочного сгустка затрудняет постановку зерна, требует применения повышенных скоростей вращения режущего инструмента, что также приводит к получению неоднородного и излишне мелкого зерна и пыли.

Определение окончания свертывания – очень важный момент, и для точности устанавливают момент образования первых хлопьев, т. е. вычисляют, сколько минут прошло с момента внесения сычужного фермента до образования первых хлопьев, а затем это время умножают на 2.

Например: от момента внесения молокосвертывающего препарата до образования первых хлопьев прошло 12 мин, следовательно, надо еще прибавить 12 мин до окончания свертывания. Таким образом, общая продолжительность свертывания – 24 мин. Если разрезать сгусток раньше окончания свертывания, то получится грубая резиновая консистенция сыра, а при затянутом свертывании – уменьшится выход сыра.

1.9.2.3. Обработка сгустка и постановка зерна. Цель обработки сгустка – удаление не связанной с белками влаги (сыворотки) с растворенными в ней составными частями молока. От количества воды в сырной массе зависит развитие микробиологических и биохимических процессов при созревании сыра. Чем больше сыворотки выделится из сырной массы, тем меньше в ней останется молочного сахара и других веществ, являющихся питательной средой для микроорганизмов, тем более медленно протекают микробиологические и биохимические процессы при созревании сыра и тем меньше образуется молочной кислоты. Молочная кислота играет важную роль в регулировании микробиологических процессов и образовании хороших консистенции и вкуса сыра.

Если массовая доля воды в сгустке составляет в среднем 87,5%, то в свежей сырной массе должно содержаться оптимальное для каждого вида сыра количество влаги. Так, массовая доля влаги

в свежей сырной массе твердых сыров после прессования должна составлять от 38 до 47%, мягких после самопрессования – от 47 до 65%, а для отдельных видов мягких сыров – от 70 до 80%. Допустимы незначительные отклонения в содержании влаги. При резком изменении содержания влаги может измениться процесс созревания, что повлияет на видовые особенности и качество сыра.

Для удаления избыточного количества влаги из сгустка служат следующие технологические операции: разрезка сгустка, постановка зерна, вымешивание зерна, тепловая обработка сырного зерна (второе нагревание), обсушка зерна.

По мере старения происходит сжатие сгустка. В результате из него через поры начинает выделяться сыворотка. Это явление, называемое синерезисом, объясняется тем, что силы притяжения между мицеллами параказеина при формировании сгустка продолжают действовать и после образования структурной сетки.

Сгусток разрезают специальными режущими устройствами с вертикально расположенными режущими элементами сначала вдоль, а затем поперек. В результате получают столбики квадратного сечения со сторонами 7–10 мм в зависимости от вида сыра. Затем сгусток разрезают режущим устройством с горизонтально расположенными режущими элементами и получают кубики с размером ребра от 8 до 12 мм. Разрезка сгустка длится 10–15 мин со скоростью, соответствующей прочности сгустка. Нежный сгусток режут медленно, чтобы не образовалась сырная пыль, более плотный сгусток режут быстрее, чтобы не допустить преждевременного уплотнения.

Чем мельче зерно, тем больше общая суммарная поверхность для синерезиса, тем быстрее происходит обезвоживание сырного зерна, и наоборот, чем крупнее зерно, тем медленнее оно обезвоживается. Поэтому для каждой группы сыров получают зерно определенной величины – проводят постановку зерна. Так, при выработке швейцарского сыра в результате постановки получают зерно размером 2–3 мм, при выработке голландского сыра – 5–6 мм, а для мягких сыров – 20–30 мм.

Для постановки зерна разрезанный сгусток осторожно перемешивают, а затем приступают к постановке зерна. Для получения зерна одинаковой величины следует учитывать свойства сгустка. Нежный сгусток сначала дробят медленно, а затем по мере

уплотнения зерна дробление ускоряют с таким расчетом, чтобы закончить постановку до полного закрепления зерна, когда оно уже больше не дробится. Прочный сгусток надо дробить быстрее, но без резких движений, способствующих образованию сырной пыли.

После постановки зерна (когда получится слегка закрепившееся зерно и выделится достаточное количество сыворотки) вымешивание прекращают и удаляют 30% сыворотки. В начале обработки избегают продолжительных остановок, так как сырная масса очень нежная и осевшее зерно склеивается, образуя комки. По мере обработки зерна клейкость его уменьшается и можно делать непродолжительные остановки.

1.9.2.4. Вымешивание зерна. После постановки зерна продолжают вымешивание в целях его дальнейшей обсушки.

В процессе вымешивания выделяется сыворотка, уменьшается объем зерна, оно становится круглым. В конце вымешивания зерно характеризуется упругостью, достаточной прочностью и потерей первоначальной клейкости.

Продолжительность вымешивания зависит от кислотности сырной массы, величины зерна, температуры, при которой вымешивают зерно. При повышенной кислотности массы зерно обсушивается быстрее и продолжительность вымешивания сокращается. Продолжительность вымешивания сырной массы пониженной кислотности возрастает. Этим объясняется увеличение продолжительности обработки при переработке свежесывороточного молока (без предварительного созревания).

При одинаковых условиях мелкое зерно обсыхает быстрее крупного. В связи с этим продолжительность вымешивания мелкого зерна сокращают по сравнению с крупным.

На продолжительность вымешивания влияет температура, при которой вымешивают зерно. Температура сырной массы при вымешивании определяется температурой свертывания молока. При более высокой температуре ускоряется обсушка зерна и сокращается продолжительность вымешивания. Если необходимо ускорить обсушку сырной массы, молоко свертывают при более высокой температуре, допустимой для того или иного вида сыра.

Продолжительность вымешивания зерна до второго нагревания при выработке голландского сыра составляет от 15 до 25 мин, при выработке швейцарского сыра – 40–70 мин.

1.9.2.5. Второе нагревание сырного зерна. Тепловую обработку, или второе нагревание, проводят для ускорения обезвоживания сырного зерна. В производстве твердых сыров для обезвоживания сырной массы недостаточно только увеличить поверхность сгустка путем его дробления. Синерезис сгустка, т. е. его сжатие и выделение сыворотки, можно усилить повышением температуры, поэтому в сыроделии применяют второе нагревание. Чем выше температура второго нагревания, тем лучше обсыхает сырное зерно.

Температуру второго нагревания устанавливают с таким расчетом, чтобы она была благоприятной для развития микрофлоры закваски, используемой для данного вида сыра. Если закваска для сыра включает мезофильные молочнокислые бактерии, то температуру второго нагревания устанавливают от 38 до 42°C, и эти сыры составляют группу сыров с низкой температурой второго нагревания (голландский, костромской, ярославский и т. д.).

Для других сыров закваска состоит из термофильных молочнокислых бактерий, поэтому температуру второго нагревания устанавливают от 48 до 58°C и сыры относят к группе сыров с высокой температурой нагревания (швейцарский, советский, украинский и др.). Мягкие сыры вырабатывают без второго нагревания.

Перед вторым нагреванием удаляют от 20 до 30% сыворотки (от массы перерабатываемого молока).

Второе нагревание проводят путем косвенного нагрева смеси сырного зерна и сыворотки, направляя теплоноситель (пар или горячую воду) в межстенное пространство аппарата выработки сырного зерна. При нагревании сырного зерна повышается его клейкость и легко образуются комки, поэтому в процессе второго нагревания сырную массу постоянно перемешивают, не допуская образования комков, которые обсыхают значительно медленнее, чем зерно, в результате чего масса обсушивается неравномерно.

Второе нагревание, как правило, проводят со скоростью от 0,5 до 2,0°C за 1 мин. При выработке сыров с низкой температурой второго нагревания продолжительность его составляет от 10 до 20 мин, а для сыров с высокой температурой второго нагревания – от 25 до 40 мин и более.

При замедленном развитии молочнокислого процесса второе нагревание проводят в две стадии: на первой стадии температуру устанавливают $(38 \pm 1)^\circ\text{C}$, на второй (в конце обработки сырного зерна) повышают до установленной для каждого вида сыря.

Для регулирования молочнокислого брожения нагревание проводят путем добавления предварительно пастеризованной и охлажденной до 50–60°C питьевой воды. Добавление 5% воды от массы молока снижает кислотность примерно на 1°Т. Количество вносимой в сырную массу воды зависит от кислотности сыворотки и составляет от 5 до 20% массы перерабатываемого молока. В результате снижаются кислотность сыворотки и содержание молочного сахара в отпрессованном сыре. Показателем нормального разбавления сыворотки водой является обеспечение минимального для каждого вида сыра рН, которое достигается к моменту полного сбраживания молочного сахара в сыре на 2–5-й день после его выработки.

В начале второго нагревания сыворотку разбавляют, разбрызгивая горячую воду. В отдельных случаях добавление горячей воды может оказаться достаточным для достижения требуемой температуры второго нагревания.

Для регулирования влажности сырной массы используют частичную посолку в зерне. Посолка из расчета 200–300 г хлорида натрия на 100 кг молока при выработке сыров типа голландского и 500–700 г при выработке российского сыра способствует усилению гидрофильных свойств белков сыра, увеличению количества связанной влаги, повышению массовой доли влаги в сыре на 2–3% и удержанию ее на следующих стадиях производства в сравнении с сыром, выработанным без частичной посолки. Частичная посолка благоприятно сказывается на консистенции сыра. Кроме того, при частичной посолке сыра в зерне продолжительность следующей посолки в рассоле сокращается на 0,5–1 сут в зависимости от вида сыра и дозы хлорида натрия.

Частичную посолку сырной массы в зерне проводят во время второго нагревания или сразу после его окончания, а для некоторых видов сыров – после обсушки сырного зерна. Для посолки используют раствор соли, массовая доля хлорида натрия в котором должна быть не более 20%. Просаливание сырной массы продолжается от 15 до 20 мин.

При замедленном обезвоживании сырного зерна частичную посолку сырной массы в зерне не выполняют.

Однако нагревания недостаточно для выделения необходимого количества сыворотки из сырного зерна, поэтому после нагревания его вымешивают определенное время.

Вымешивание зерна после второго нагревания называется обсушкой. В производстве сыров типа голландского обсушка продолжается 15–30 мин, типа швейцарского, советского – 40–60 мин. Продолжительность обсушки зерна зависит от многих факторов. Так, в производстве твердых сыров требуется больше выделить влаги из сырной массы и, следовательно, необходима более длительная обсушка зерна, чем при выработке мягких сыров. Если сыр вырабатывают из пастеризованного молока, то зерно в этом случае обсушивается дольше зерна, полученного из сырого молока.

При выработке сыра из более жирного молока на обсушку зерна затрачивается больше времени, чем при переработке менее жирного. Крупное зерно обсыхает медленнее мелкого. На продолжительность обсушки влияет кислотность сырного зерна: с повышением кислотности ускоряется процесс его обсушки.

В процессе обработки сгустка контролируют течение молочно-кислого процесса периодическим определением титруемой кислотности сыворотки. Ее определяют после разрезки сгустка, перед вторым нагреванием и в конце обработки. Интенсивность кислотообразования зависит от вида сыра. Так, для сыров группы голландского кислотность изменяется от 12,5–13,0°Т после разрезки до 14–15°Т в конце обработки; для российского – от 13–14°Т после разрезки до 16–17°Т в конце обработки; для мягких сыров – до 20–22°Т в конце обработки.

Степень обезвоживания сгустка и уровень молочнокислого процесса позволяют регулировать содержание молочного сахара и степень минерализации сгустка. Под действием молочной кислоты, образующейся при сбраживании лактозы, происходит деминерализация сгустка с переходом в сыворотку коллоидного кальция, что положительно влияет на процесс созревания сыра и формирование его консистенции.

Таким образом, окончание обработки сырного зерна определяется содержанием в нем влаги и кислотностью сыворотки.

По мере вымешивания из сырного зерна удаляется излишняя сыворотка, зерно обсыхает, сжимается, приобретает более округлую форму. В процессе удаления влаги клейкость зерна уменьшается. Важным моментом в технологии сыра является правильное установление окончания обсушки зерна. При преждевременном окончании обсушки в сырной массе остается излишнее количество

влаги, а сыр получается слишком мягким, легко деформирующимся и предрасположенным к вспучиванию. При пересушивании зерна оно может полностью потерять клейкость, и из него будет трудно сформировать головки сыра. Из такого зерна получается слишком твердый, медленно созревающий, иногда с трещинами сыр.

Существуют субъективный и объективный способы определения готовности зерна к формованию.

Субъективным способом готовность зерна к формованию определяют следующим образом: небольшое количество зерна сжимают в руке и проверяют его клейкость и упругость. Достаточно обсушенное зерно при сжатии склеивается, при легком встряхивании комков рассыпается, а при растирании между ладонями зерна разъединяются. Для объективной оценки готовности сырного зерна к формованию создан прибор – тестер ВНИИМС. В основу прибора положен принцип измерения усилия, возникающего при разрезке сырного зерна струнным индентором.



2. АНАЛИЗ КАЧЕСТВА ЯЧМЕНЯ И ПИВОВАРЕННОГО СОЛОДА, ПОЛУЧЕНИЕ ПИВОВАРЕННОГО СОЛОДА

Основным сырьем в производстве пива является ячменный солод, который представляет собой искусственно пророщенный и высушенный ячмень.

В задачи солодоращения входят растворение (цитолиз) клеточных стенок эндосперма зерна и накопление ферментов гидролитического действия, в первую очередь амилолитических и протеолитических, при минимизации потерь сухих веществ на дыхание зерна. Эффективность этих биохимических процессов определяет при затирании в производстве пива степень биоконверсии крахмала в растворимые углеводы, сбраживаемые дрожжами (достигает 70–80%), и протеолиза конструктивного и резервного белка (степень конверсии 45–50%), а в конечном итоге – степень перехода сухих веществ солода в затор (экстрактивность солода должна составлять не менее 76%).

Качество солода зависит от химического состава и технологических свойств ячменя, определяемых сортом, агротехнологией возделывания, климатическими условиями, а также от технологии солодоращения.

2.1. Структура, химический состав и технологические свойства зерна ячменя

2.1.1. Структура зерна ячменя

Зерно ячменя представляет собой зерновку, состоящую из эндосперма и зародыша, защищенную оболочками.

Важной структурной единицей ячменя является эндосперм (мучнистое тело), который состоит из клеток с крахмальными зёрнами разного размера – от крупных (20–30 мкм) до мелких (1–5 мкм). Количественное содержание в эндосперме мелких зёрен крахмала приближается к 90%, в то время как их масса составляет лишь 10%. Стенки клеток в эндосперме состоят в основном из глюканов.

Зародыш является живой частью зерна, без которой оно не будет прорастать, и находится у его основания. Он состоит из зачатков будущих органов растения: почки первичного стебля и корешков, из которых в дальнейшем развиваются солодовые ростки, и щитка, отделяющего зародыш от эндосперма. Клетки щитка, находящиеся около эндосперма, узкоцилиндрические, они образуют столбчатый всасывающий эпителий, при помощи которого щиток передает питательные вещества из эндосперма зародышу. Масса зародыша ячменя колеблется от 2,8 до 5,0% от массы ячменного зерна.

Эндосперм покрыт алейроновым слоем. Он состоит из многочисленных клеток, богатых белками, при солодоращении именно здесь синтезируются ферменты и клетки слоя разрушаются. Основные компоненты клеточных стенок алейронового слоя – пентозаны (70%) и глюканы (30%).

Оболочка зерновки состоит из семи клеточных слоев, которые объединяются в мякинную, плодовую и семенную оболочки. Мякинная оболочка зрелого зерна охватывает его со всех сторон и состоит из нескольких слоев отмерших клеток. Эта оболочка очень прочная, предохраняет зерно от механических повреждений, потому что в состав ее входят целлюлоза, кремниевая кислота и полифенолы. Масса мякинной оболочки у ячменя составляет от 7 до 14% от массы зерна, у пивоваренного ячменя содержание мякинной оболочки не превышает 9%.

Под мякинной оболочкой находятся сросшиеся плодовая и семенная оболочки, которые состоят из нескольких рядов нежных клеток.

2.1.2. Химический состав зерна ячменя

Сухое вещество ячменя представлено в основном органическими веществами, содержание которых достигает 85% от общей массы зерна. Сведения о составе пивоваренного ячменя приведены в табл. 2.1.

Таблица 2.1

Химический состав ячменя

Вещества, входящие в состав злака	Количество, г/100 г сухих веществ
Углеводы	
В том числе:	
крахмал	50,0–70,0
целлюлоза	4,0–6,0

Окончание табл. 2.1

Вещества, входящие в состав злака	Количество, г/100 г сухих веществ
Углеводы	
В том числе:	
гемицеллюлоза	4,0–5,0
пентозаны	5,0–10,0
моно-, ди- и трисахариды	1,0–2,0
гуммиобразные вещества	0,6–1,4
Белки	8,0–16,0
Липиды	2,0–5,0
Фенольные соединения	0,1–0,3
Минеральные вещества	2,0–3,0

Влажность зерна ячменя может колебаться от 8 до 20%. В целях сохранения жизнеспособности зерна содержание влаги в ячмене не должно быть ниже 10%.

2.1.2.1. Углеводы зерна ячменя. Углеводы представлены в основном моно- и полисахаридами.

Пентозы представлены D-ксилозой (древесный сахар) и L-арабинозой, которые находятся в зерне в свободном состоянии, а также являются мономерными единицами гуммивеществ и гемицеллюлоз. Гексозы представлены D-глюкозой, D-фруктозой, D-галактозой и D-маннозой. Галактоза и манноза также являются структурными единицами гуммивеществ и гемицеллюлозы. При окислении моносахаридов только по месту первичной спиртовой группы с образованием карбоксила образуются уроновые кислоты, они входят в состав пектиновых веществ (в зерне ячменя не обнаружены) и некоторых слизей.

К полисахаридам, которые обнаруживаются в ячмене, относятся крахмал, целлюлоза, гемицеллюлоза, гуммивещества, пентозаны. Крахмал в зерне ячменя является запасным полисахаридом и откладывается внутри клеток, все остальные – структурные.

Крахмал зерна ячменя неоднороден и состоит из двух фракций – амилозы (20–40%) и амилопектина (60–80%).

Амилоза состоит из 60–2000 остатков D-глюкопиранозы, связанных в линейную последовательность α -1,4-гликозидными связями. Макромолекула амилозы имеет спиральную структуру, в которой на каждый виток спирали приходится шесть моносахаридных звеньев.

Амилопектин в отличие от амилозы имеет разветвленное строение, количество гликозидных остатков от 6 000 до 40 000. В цепи молекулы амилопектина D-глюкопиранозные остатки связаны α -1,4-гликозидными связями, а в точках разветвления – α -1,6-гликозидными связями, доля α -1,6-связей в амилопектине составляет 4–5% от суммы α -1,4-связей. Молекула амилопектина крахмала ячменя разветвляется через каждые 18–24 гликозидных остатка, а внешние цепочки состоят из 13–15 гликозидных остатков.

Спиральная структура амилозы и неветвящихся участков амилопектина объясняет реакцию амилозы с йодом, которая изменяется в зависимости от числа гликозидных остатков в молекуле (табл. 2.2).

Таблица 2.2

Зависимость йодного окрашивания от длины цепи молекул амилозы и амилопектина

Количество гликозидных остатков в цепи	Число спиральных колец в цепи	Цвет раствора амилозы с йодом
Более 45	8	Синий
От 40 до 45	7	Фиолетовый
От 36 до 40	6	Фиолетово-пурпурный
От 31 до 36	5	Коричнево-красный

Целлюлоза (клетчатка) состоит из D-глюкопиранозы, молекулы которой соединены β -1,4-гликозидными связями. Этот полисахарид нерастворим в воде, трудно поддается действию многих реагентов, в том числе и ферментов.

Гемицеллюлоза и гумми вещества, которые входят в состав клеточных стенок эндосперма, имеют схожее строение (состоят на 80–90% из β -глюкана и на 10–20% из пентозанов), но отличаются молекулярной массой и растворимостью в горячей воде. Гемицеллюлозы растворяются в разбавленных щелочах, а гумми вещества имеют меньшую массу и растворяются в горячей воде. В состав гемицеллюлозы входят в основном полиурониды, структурными единицами этих полисахаридов являются остатки галактуроновой кислоты и ксилозы либо арабинозы.

Пентозаны представлены полисахаридами, состоящими из пятиуглеродных моносахаридов, соединенных β -1,4-связями. В составе боковых цепочек этих полисахаридов могут присутствовать ксилоза, арабиноза и уроновые кислоты. Пентозаны клеточных стенок эндосперма и алейронового слоя содержат феруловую кислоту.

2.1.2.2. Белки зерна ячменя. Среди белков важное значение имеют альбумины, глобулины, проламины, глютелины.

Альбумины – водорастворимые белки, определяющие ферментативную активность зародыша, их содержание в белке ячменя составляет 4–11%. Они коагулируют при температуре около 52°C и величине рН 4,6–5,8.

Глобулины – солерастворимые белки. В пивоварении уделяют внимание β -глобулину, в состав которого входит сера. Этот белок из-за низкого значения изоэлектрической точки (рН 4,9) полностью не осаждается при кипячении.

Проламины представляют собой резервные белки, растворимые в 50–90%-ном этиловом спирте. На их долю в белке ячменя приходится 35–40%. Эта фракция отвечает за стекловидность ячменя.

Глютелины – белки, содержащиеся в клеточных стенках, они локализируются в алейроновом слое и переходят в дробину в практически неизменном виде, растворяются в разбавленных растворах щелочей. Их доля в белке ячменя достигает 30%. Некоторые фракции данных белков являются гидрофобными и способны адсорбировать липиды.

В состав сложных белков входят нуклеопротеиды (при гидролизе образуют пуриновые и пиримидиновые основания, сахар и фосфорную кислоту), гликопротеиды (белки, связанные с углеводородной группой ковалентной связью).

2.1.2.3. Липиды зерна ячменя. Липиды составляют до 5% от сухого веса зерна ячменя: более 50% из них – триглицериды (нейтральные жиры), от 10 до 20% – фосфолипиды и менее 10% – гликолипиды. Они содержатся в основном в алейроновом слое (6–12% от сухих веществ алейронового слоя) и зародыше (10–40% от сухих веществ зародыша). Эндосперм практически лишен липидов – они составляют менее 2% от массы эндосперма.

Кроме липидов, ячмень в среднем содержит до 1,7% от сухих веществ жирных кислот, большая часть которых представлена ненасыщенными жирными кислотами.

2.1.2.4. Фенольные соединения зерна ячменя. Данные соединения находятся в основном в алейроновом слое и в мякнинной оболочке, представлены мономерными (фенольные, оксикоричные, феруловая кислоты, кумарины, флавоноиды, катехины и др.)

и полимерными (дубильные вещества, танины, лигнины и др.) соединениями. Содержание этой группы веществ колеблется от 0,1 до 0,3% и зависит от сорта, климатических условий, а также степени зрелости.

2.1.3. Технологические свойства зерна ячменя

Уменьшение влажности ниже 10% может привести к необратимым процессам свертывания белков клеточной протоплазмы, что также отрицательно отразится на прорастании зерна. Дыхание ячменя при хранении в большей степени зависит от влажности, чем от температуры: повышение влажности на 2% ведет к увеличению потерь зерна при хранении в 80 раз. Это объясняется тем, что к обычным потерям сухих веществ зерна добавляются потери из-за активизации жизнедеятельности зерна, а также микроорганизмов и вредителей, что приводит к самосогреванию зерна и его порче. В результате зерно, имеющее влажность 16%, может храниться без изменения своих качественных характеристик не более 4–5 мес.; при влажности 12–13% – до следующего урожая; сухое, обеззараженное, очищенное и охлажденное зерно 2–3 года (в силосах) и 4–5 лет (на складе). В общем случае каждый процент воды уменьшает выход экстракта в среднем на 0,76%. Кроме того, транспортирование, хранение и переработка сухого зерна обходятся значительно дешевле, чем те же расходы для влажного зерна.

Целлюлоза в составе мякинной оболочки практически не изменяется при солодоращении, используется при фильтровании суслу как фильтрующий слой и целиком остается в пивной дробине. Кремниевая кислота придает твердость этой оболочке, полифенолы – горечь, а липиды ухудшают стабильность пива при хранении.

Семенная оболочка полупроницаема, она хорошо пропускает воду, но задерживает растворенные в воде вещества. Это свойство семенной оболочки позволяет обрабатывать зерно водой с различными химическими веществами, которые не проникают в зерно и не повреждают зародыш. В семенной оболочке содержится много фенольных соединений, которые снижают коллоидную стойкость пива.

Крахмал не растворяется в воде и не имеет вкуса. Декстрины, мальтотриоза, мальтоза и глюкоза, которые образуются в результате гидролиза крахмала, растворимы в воде и имеют сладкий вкус.

С технологической точки зрения важно, что амилоза не образует клейстер, а в теплой воде образует золь. Амилопектин в холодной воде медленно поглощает ее, при температуре воды 50°C

наблюдаются набухание зерен и при 70–72°C – разрушение зерен крахмала, образование коллоидного раствора и клейстеризация крахмала.

В мелких зернах ячменя больше удельная доля амилозы в составе крахмала, содержится больше белка, клетчатки, минеральных веществ (фосфатов и солей кремниевой кислоты) и липидов, поэтому они хуже клейстеризуются и осаживаются.

Существует тесная прямая корреляция между количеством растворимых фракций белка в зерне ячменя и экстрактивностью сусла, а также между содержанием белка, протеолитической и амилолитической активностью. Отрицательная корреляция обнаружена между содержанием запасных белков и экстрактивностью. Альбумины и глобулины могут стать причиной коллоидного помутнения пива при его хранении.

Между феруловой кислотой в составе оболочек зерна ячменя и белками образуются эфирные связи, последующий гидролиз такого белково-полисахаридного комплекса затруднен.

Состав жирных кислот липидов ячменя важен с точки зрения их влияния на пенообразование. Установлено, что на пенообразование отрицательно влияют высокомолекулярные ненасыщенные жирные кислоты, они могут являться причиной «старения пива», изменяя его химический состав во время длительного хранения. С другой стороны, именно эти кислоты необходимы дрожжам для построения клеточных мембран, т. е. для роста и размножения клеток.

Фенольные соединения зерна ячменя оказывают влияние на процесс солодоращения и качество пива: при солодоращении являются ингибиторами прорастания ячменя, в пивоварении отрицательно влияют на вкус, цветность и коллоидную стабильность пива. Благодаря своей высокой восстановительной способности эти вещества снижают стабильность вкуса во время хранения пива, но положительно влияют на его пеностойкость.

2.1.4. Показатели, характеризующие доброкачественность и химический состав ячменя

О доброкачественности ячменя позволяют судить органолептические характеристики (запах, цвет и внешний вид), содержание мелких зерен и примесей, зараженность зерна вредителями. Химический состав ячменя характеризуют влажность (содержание сухих веществ), мучнистость, содержание белка, пленчатость, кислотность.

Запах, цвет и внешний вид оцениваются органолептически. Содержание мелких зерен, примесей и зараженность зерна вредителями определяются путем просеивания зерна через систему сит с регламентированным размером ячеек и позволяет оценить долю сырья, которое перейдет в отходы (сплав зерна) при подготовке зерна ячменя к переработке; чрезмерная зараженность вредителями дает основания признать ячмень непригодным к переработке.

Мучнистость ячменя характеризует состояние эндосперма и устанавливается путем просмотра зерен в проходящем свете при помощи диафаноскопа. Зерна могут быть мучнистыми, стекловидными либо полустекловидными. Стекловидный ячмень содержит повышенное количество белка, при содержании белка более 12% зерно характеризуется как «трудноразрыхляемое». Это связано с тем, что распад межклеточного белкового пространства, окружающего крахмальные зерна, у высокобелковых ячменей при его проращивании меньше, так как белок более прочно связан с клеточными стенками, поэтому такое зерно трудно перерабатывается и дает солод пониженного качества.

Пленчатость зерна ячменя характеризует долю оболочек в общей массе зерна, практически негидролизующую при солодоращении, и потому – не участвующую в повышении экстрактивности суслу.

Кислотность здорового ячменя колеблется в пределах 1,8–2,5°; повышенная кислотность указывает на протекание биохимических процессов в зерне.

2.1.5. Показатели, характеризующие технологические свойства ячменя

Для оценки технологических качеств зерна ячменя, кроме описанных выше показателей его химического состава, важны масса 1000 зерен, крупность, способность к проращению, водочувствительность, экстрактивность.

Масса 1000 зерен пивоваренных ячменей колеблется в пределах 37–48 г. Ячмени, имеющие массу 1000 зерен до 40 г, считаются легкими, до 44 г – средними, более 45 г – тяжелыми.

Крупность ячменя определяют аналогично содержанию сорных примесей (описано выше) с использованием трех сит.

Тяжелые и крупные зерна ячменя более экстрактивные из-за высокой удельной массы основного компонента – крахмала.

Способность к прорастанию (процент проросших зерен) определяются путем проращивания навески ячменя с подсчетом всех проросших зерен и позволят оценить степень пригодности к солодоращению. Доля проросших зерен через трое суток характеризует энергию прорастания, через пять суток – способность к прорастанию. Для ячменя первого класса этот показатель должен составить не менее 95%, для ячменя второго класса – не менее 90%.

Водочувствительность характеризует снижение способности к прорастанию даже при небольшом избытке воды. Водочувствительность чаще проявляется для ячменя, выращенного во влажных климатических условиях, и выражается разницей между количеством проросших зерен при оптимальных и избыточных количествах воды. Если разница менее 25%, то ячмень маловодочувствительный, при 26–45% – водочувствительный, при разнице более 45% – у зерна значительная водочувствительность и требуется строгое соблюдение специальной технологии замачивания.

Экстрактивность – количество веществ, которые могут раствориться и при затирании перейти в сусло. Для определения экстрактивности применяют методы, основанные на использовании ферментативного гидролиза для перевода нерастворимых в воде веществ ячменя в растворимое состояние. В качестве источника ферментов в наиболее распространенных методах используют солодовую вытяжку. В основном экстрактивность зерна обусловлена содержанием крахмала, некрахмальных полисахаридов и белковых веществ. В пивоваренном ячмене содержание крахмала составляет 56–70%, а экстрактивность – 73–82%, у хороших ячменей экстрактивность – 76–82%. Чем выше экстрактивность, тем меньше расход зерна на производство пива.

2.2. Процессы, протекающие при замачивании и проращивании ячменя

2.2.1. Замачивание зерна ячменя

При хранении влажность ячменя обычно бывает 13–15% и не должна превышать 17%. При такой влажности биохимические процессы в зерне сведены до минимума. Для пробуждения зерна к жизнедеятельности одним из главных условий является увлажнение

(например, путем замачивания зерна в воде), которое обеспечит переход в растворенное состояние питательных веществ, перемещение их к зародышу и таким образом активизацию процессов жизнедеятельности и связанных с ними физиологических, физических, ферментативных изменений. Зерно замачивают таким образом, чтобы влага в достаточном количестве поступала в его составные части – эндосперм и зародыш.

Ячмень после очистки и сортирования содержит мелкую пыль, легковесные примеси и микроорганизмы, поэтому при выборе режима замачивания предусматривают предварительную мойку водой и дезинфекцию ячменя.

При замачивании объем зерна увеличивается на 35–40%, изменяются его физические свойства: твердое и хрупкое зерно после замачивания становится мягким и эластичным вследствие набухания веществ коллоидной дисперсности, из оболочек зерна экстрагируются соли, дубильные и другие вещества, оболочки становятся более проницаемыми. При замачивании в воду переходят сахара, пентозаны, азотистые и минеральные вещества, всего теряется около 1% сухих веществ зерна.

Скорость поглощения воды ячменем зависит от его сорта (химического состава), климатических условий выращивания зерна, температуры и солевого состава замочной воды. Мучнистые зерна поглощают влагу быстрее, чем стекловидные. Зерна меньшего размера достигают необходимой степени замачивания быстрее, чем зерна больших размеров, поэтому для получения равномерно замоченного ячменя необходимо использовать однородное по составу и размеру зерно. Исходное содержание влаги в зерне не влияет на продолжительность замачивания. Продолжительность замачивания зерна, выращенного в жарком климате, меньше, чем выращенного в умеренно теплом и влажном.

Чем выше температура, тем быстрее проникает вода в зерно, что объясняется увеличением броуновского движения молекул и снижением вязкости воды, однако при этом увеличивается также скорость метаболизма микробиоты на поверхности зерна и снижается растворимость кислорода, необходимого для зародыша.

В мягкой воде ячмень замачивается быстрее, чем в жесткой, поэтому для замачивания зерна используют воду жесткостью до 3,5 ммоль/дм³.

2.2.2. Ферменты ячменя и ячменного солода

В процессе замачивания в зерне происходит активирование и глубокая перестройка всего комплекса ферментов (цитолитических, протеолитических, амилолитических), что приводит к уменьшению содержания нерастворимых соединений из-за их гидролиза. Увеличение количества продуктов гидролиза активирует биохимические процессы в зародыше, прежде всего дыхание зерна, возрастают потери сухих веществ, часть низкомолекулярных продуктов гидролиза используется для роста зародыша. Внешне проращивание зерна сопровождается появлением на зародышевой части зерна корешков. Одновременно с этим начинает развиваться стебелек, который прорывает семенную оболочку и, постепенно увеличиваясь, располагается между семенной и мякинной оболочками.

Технология солодоращения должна направляться так, чтобы при росте зародыша синтезировались преимущественно ферменты, обеспечивающие требуемые для пивоварения превращения веществ в эндосперме.

С точки зрения технологии солодоращения и пивоварения представляют интерес ферменты солода, относящиеся к классам гидролаз и оксидоредуктаз. Гидролазы расщепляют гликозидные (гемицеллюлазы, целлюлазы, амилазы, глюканазы), пептидные (протеазы, пептидазы) и эфирные (липазы) связи путем присоединения радикалов воды. Оксидоредуктазы (каталаза, пероксидаза, полифенолоксидаза, липоксигеназа) катализируют отделение или присоединение водорода.

2.2.2.1. Ферменты цитолитического действия. Объектом действия *ферментов цитолитического действия* (гемицеллюлаз, целлюлаз, глюканаз) являются вещества клеточных стенок эндосперма. Крахмал содержится в клетках в виде зерен, окруженных гемицеллюлозными мембранами, которые склеены белками. В результате успешного цитолиза образовавшиеся в солоде амилазы и протеиназы при затирании сырья диффундируют через проницаемый для ферментов каркас из остатков клеточных стенок в содержимое эндосперма, гидролизуют крахмал и белок.

Эндо- β -глюканазы освобождают крахмал клеток для действия амилаз, также они освобождают белки и гидролизуют другие гемицеллюлазы, что увеличивает выход экстрактивных

веществ, снижает вязкость и улучшает фильтруемость охмеленного сусла и пива.

Цитолиз оказывает влияние на дробление солода, фильтрование сусла, выход экстракта, длительность осахаривания, интенсивность брожения, частично на пенообразующие свойства, а также на его вкус.

2.2.2.2. Ферменты амилолитического действия. Основная роль при солодоращении принадлежит продуктам гидролиза крахмала, так как они являются субстратом для дыхания и источником энергии для синтеза ферментов.

К группе амилолитических ферментов относятся α - и β -амилаза, глюкоамилаза, изоамилаза, пуллуланаза.

α -Амилаза расщепляет α -1,4-глюкозидные связи амилозы преимущественно на декстрины с низкой молекулярной массой, в связи с этим происходит быстрое изменение цвета йодного раствора. После достижения степени гидролиза амилозы 20–45% скорость ферментативного расщепления снижается, α -амилаза расщепляет низкомолекулярные декстрины и в реакционной смеси повышается содержание мальтотриозы, мальтозы и глюкозы.

β -Амилаза действует в цепной реакции с α -амилазой, отщепляя постепенно мальтозу от нередуцирующего конца цепи, но не может обойти α -1,6-глюкозидные связи в молекулах амилопектина, гидролиз крахмала останавливается на двух или трех единицах глюкозы перед разветвлением, образуются предельные декстрины. Этот фермент, в отличие от α -амилазы, начинает действовать только после клейстеризации крахмала. Амилоза полностью гидролизуется β -амилазой до мальтозы, продуктами гидролиза амилопектина будут мальтоза и декстрины практически в равных количествах.

Предельная декстриназа и пуллуланаза гидролизуют α -1,6-глюкозидные связи – места ветвления амилопектина, в результате увеличивается содержание мальтозы и мальтотриозы. Активность амилолитических ферментов достигает максимума к середине процесса проращивания, поэтому гидролиз крахмала при солодоращении происходит незначительно.

От степени амилολиза зависит фильтрование сусла, выход экстракта, отделение взвесей, брожение, осветление и фильтруемость пива и его стойкость.

2.2.2.3. Ферменты протеолитического действия. С технологической точки зрения протеазы и пептидазы имеют значение для обогащения суслу растворимыми азотистыми веществами (аминокислотами и пептидами), необходимыми для питания дрожжей в ходе главного брожения, поэтому влияют и на прирост дрожжей, и косвенно на органолептические свойства пива, способствуют хорошей фильтруемости, улучшению коллоидной стойкости и формированию вкусовых и пенистых свойств пива.

При переработке больших количеств несоложенного зерна необходимо вносить соответствующие препараты протеолитических ферментов, которые в несоложенном зерне имеют низкую активность.

2.2.2.4. Ферменты липолитического действия. Липазная активность выявляется в основном в зародыше ячменя (2/3 активности), а также в его алейроновом слое. В результате действия липазы в процессе приготовления суслу значительно уменьшается доля триглицеридов (до 30%) по сравнению с зерном и увеличивается содержание высокомолекулярных свободных жирных кислот, склонных к ферментативному и радикальному окислению. Часть жирных кислот в дальнейшем участвует в обмене веществ – синтезе корешка и ростка, другая же часть подвергается дальнейшему расщеплению липоксигеназами, содержащимися в листке и корешке. Активность липазы в пивоваренном солоде в зависимости от температуры сушки составляет 81–98% от активности фермента в солоде после проращивания.

2.2.2.5. Оксидоредуктазы. Липоксигеназа, каталаза, пероксидаза и полифенолоксидаза относятся к ферментам класса оксидоредуктаз. Липоксигеназа окисляет ненасыщенные жирные кислоты в соответствующие гидропероксиды. Максимальная активность этого фермента достигается на 3–4-й день солодоращения. Образовавшиеся при этом продукты расщепления ответственны за появление огуречного запаха в зеленом солоде. Липоксигеназная активность, наблюдающаяся в листке и корешке, продолжает повышаться при подвяливание зеленого солода (первый этап сушки). Однако во время протекания второго этапа сушки (отсушки) при 80–85°C липоксигеназная активность падает до уровня активности в ячмене. Повышение температуры сушки солода выше 85°C приводит к значительной инактивации фермента, поэтому активность липоксигеназы в темном солоде приближается к нулю.

2.2.3. Проращивание ячменя

В прорастающем зерне разрушение клеточной стенки начинается возле зародыша и далее распространяется от щитка. В начале проращивания β -глюканаза выделяется эпителием щитка, позднее она синтезируется под воздействием активатора – гибберелловой кислоты (синтезируется в зерне до 50 мкг/кг). Максимальная активность β -глюканаз достигается на пятый день проращивания. Сначала разрушение клеточных стенок наблюдается в области алейронового слоя. Разрушение целлюлозы и гуммиивеществ идет тем быстрее, чем выше активность ферментов, гидролизующих другие некрахмалистые полисахариды. Ни один из цитолитических ферментов в отдельности, каким бы эффективным ни было его действие, не позволяет достичь эффективного гидролиза некрахмалистых полисахаридов.

При солодоращении активность протеаз и пептидаз в наибольшей степени возрастает в первые трое суток, при сушке солода и в процессе затирания их активность значительно снижается и в готовом солоде находится на таком же низком уровне, как и в начале прорастания ячменя. Протеолитические ферменты различаются не только по способности гидролизовать белковые и полипептидные субстраты, но также и по отношению к рН среды, кислороду, к активаторам и ингибиторам. Состав белковых фракций ячменя при проращивании существенно меняется, в готовом солоде степень распада белков находится в пределах 38–42% растворимых белков. Условия для проявления активности протеолитических ферментов солода в дальнейшем технологическом процессе создаются при затирании зернопродуктов.

α -Амилаза активируется только при проращивании ячменя, накопление ее активно происходит до четвертого дня ращения зерна, а затем ее содержание медленно возрастает до своего максимума в конце проращивания. β -Амилаза содержится в непроросшем ячмене в достаточном количестве, и по мере прорастания ячменя ее активность резко увеличивается, максимальная активность проявляется на 4–5-е сут проращивания. Значительная часть образовавшихся в результате действия амилаз сахаров перемещается к зародышу и участвует в дыхательном метаболизме, сопровождающемся синтезом АТФ и промежуточных продуктов, необходимых для построения новых клеток.

Дыхание и жизнедеятельность зародыша при соложении зерна обуславливают потерю сухого вещества ячменя.

Добавляя в замочную воду химические соединения, обладающие активирующим действием, в начальной стадии солодоращения можно наблюдать изменения в ходе процесса, приведенные в табл. 2.3.

Таблица 2.3

**Влияние физического воздействия и химических агентов
на процесс солодоращения**

Фактор, воздействующий на зерно ячменя	Результат
Вид физического воздействия	
Высокочастотные колебания (800 кГц)	Увеличивает энергию прорастания
Электромагнитное поле (20–80 мГц)	Стимулирует рост зародыша и ускоряет ферментативные процессы
Электрическое поле (12,8 кВ)	Интенсифицирует накопление ферментов
Ультразвук	Сокращает процесс солодоращения
γ-Лучи	Угнетает дыхание зерна, тормозит развитие микроорганизмов, контаминирующих зерно
Химический агент	
Гибберелловая кислота и бромид калия	Сокращает процесс солодоращения до четырех суток
Молочная кислота и диаммонийфосфат	Интенсифицирует процесс солодоращения, снижает потери сухих веществ на дыхание и образование ростков
Щелочной раствор	Повышается скорость проникновения воды в зерно; фенольные вещества полнее экстрагируются из оболочек ячменя, что приводит к повышению коллоидной стойкости пива

Из всех перечисленных способов интенсификации процесса солодоращения наиболее эффективны способы с применением биологически активных веществ (в частности, гибберелловой кислоты).

2.2.4. Показатели, характеризующие процесс солодоращения

Для характеристики эффективности протекания процесса замачивания оценивают кинетику водопоглощения и определяют конечную влажность ячменя.

Кинетика водопоглощения ячменя описывается кривыми зависимости степени замачивания (влажности) от времени. Скорость водопоглощения в определенный момент времени определяется как тангенс угла наклона касательной к кривой кинетики водопоглощения в этот момент времени. Конечную влажность ячменя определяют органолептически (визуально, путем разлома влажного зерна) и лабораторным методом (с помощью сетчатого стакана). При получении светлого солода стремятся к тому, чтобы конечная влажность ячменя была 42–45%, темного солода – 45–47%.

Для характеристики эффективности протекания процесса проращивания оценивают органолептические показатели свежепросоженного солода, определяют его влажность, долю непроросших зерен, степень растворения.

О правильно прошедших биохимических процессах в зерне свидетельствует огуречный аромат. Затхлый запах является признаком плохой мойки и дезинфекции зерна, а также неправильного ведения проращивания. Кислый и фруктовый запах свидетельствует о протекании анаэробного дыхания, вызванного недостаточно частой сменой замочной воды, и диоксида углерода, подавляющего проращивание зерна.

Нормально проросший солод должен иметь сильно курчавые корешки длиной в 1,5–2,0 раза больше длины зерна. Вялые корешки являются признаком ненормального протекания биохимических процессов, плохого растворения составных веществ эндосперма и слабой ферментативной активности.

В основе метода для установления степени растворения солода лежит определение автолитической активности. Навеску солода освобождают от ростков, измельчают и смешивают в тигле с аликвотой воды. Тигель помещают в водяную баню на 15 мин, после достижения равномерной клейстеризации объем содержимого тигля разбавляют водой в три раза и фильтруют через складчатый бумажный фильтр, в фильтрате определяют количество сухих веществ. Хорошо растворенным считается солод, имеющий степень растворения 43–46% на воздушно-сухое вещество или 70–75% на сухое вещество.

2.2.5. Показатели, характеризующие качество сухого ячменного солода

Качество готового сухого ячменного солода оценивают по широкому перечню органолептических, механических, физических, химических, физиологических и биохимических показателей.

Для оценки качества солода используют такие органолептические характеристики, как внешний вид (форма и размер зерна, развитие зародышевого листка), цвет, запах и вкус, хрупкость зерен при раскусывании.

Запах солода – сладковатый, свежий. Вкус солода – приятно сладковатый, без постороннего привкуса. Зерно при раскусывании должно быть хрупким; эндосперм – белым и рассыпчатым; цвет оболочки – равномерным, светло-желтым, не допускаются зеленые и темные тона, обусловленные плесенью. Серая окраска появляется при большом содержании ионов железа в замочной воде. Темная окраска кончиков свидетельствует о том, что для солодоращения был использован влажный ячмень. Хорошо растворенное, рыхлое солодовое зерно сохраняет форму и свой размер и при переработке ячменя.

Из физико-механических показателей определяются массовая доля крупных и мелких зерен ячменя, зерновой и сорной примеси, масса 1000 зерен, фриабильность (процентное содержание рыхлых мучнистых зерен солода).

Мучнистость служит критерием оценки растворения солода, в частности его эндосперма. Для оценки мучнистости используется проба на укус, а также продольный разрез зерна. Эти методы не могут достоверно охарактеризовать показатель мучнистости из-за их субъективности и малого количества исследуемого образца. Более надежные результаты получают с помощью фриабилметра, принцип действия которого основан на механическом разделении пробы солода на мягкие и твердые частицы. Фриабильность солода высокого качества должна превышать 85%.

Стекловидность солода связана с недостаточной проращаемостью и гомогенностью зерен ячменя, неправильным ведением технологии солодоращения, особенно сушки солода. Для солода высокого качества количество стекловидных зерен не должно превышать 2–3%. Увеличение доли стекловидных зерен приводит к повышению разницы в массовых долях экстракта тонкого и грубого помола.

Это отрицательно сказывается на выходе экстракта, фильтровании и осветлении сусла, на брожении, дображивании и осветлении готового пива. Мучнистость и стекловидность зерна можно определить путем просвечивания в диафаноскопе, при этом стекловидные зерна прозрачны, мучнистые – непрозрачны.

Показателем гомогенности зерна служит выравненность солодов (сортировка, рассев). Показатель оценивается как доля зерен готового солода, имеющая крупность более 2,5 мм. При гетерогенности (неоднородности) солода наблюдаются затруднения при дроблении и затирании, происходит снижение выхода экстракта. Солод высокого качества с выравненной крупностью имеет не менее 85% зерен, оставшихся на сите с отверстиями 2,8 и 2,5 мм.

С помощью физико-химических методов непосредственно в солоде изучают содержание массовой доли влаги, белка, экстракта в сухом веществе тонкого помола, разницу в массовых долях экстрактов тонкого и грубого помолов.

Влажность солода влияет на процесс его дробления и затирания. При дроблении как пересушенного, так и влажного солода возникает целый ряд проблем. В частности, при дроблении солода с низкой влажностью увеличивается доля муки в помоле, в том числе и за счет фракции шелухи. В результате наряду с увеличением выхода экстракта наблюдается снижение скорости фильтрации суслу, повышение его цветности и ухудшение вкуса пива. При дроблении влажного солода, напротив, уменьшается доля муки и мелкой крупки в помоле, улучшается процесс фильтрования затора, но снижается выход экстракта, увеличивается содержание β -глюканов и несмотря на достаточное содержание в помоле фракции «шелуха» может ухудшаться фильтруемость пива. Обычно этот показатель в отлежавшемся солоде составляет 4,5–5,0%. Во время транспортировки влажность солода может увеличиться, но она не должна превышать 6%.

Массовая доля экстракта в сухом веществе солода тонкого помола (экстрактивность солода) выражается суммой экстрактивных веществ, которые при затирании стандартным настойным способом переходят в раствор.

Выход экстракта является одним из главных экономических и теххимических показателей при оценке качества солода. Он зависит от сортовых особенностей ячменя, в частности от содержания в нем белка, пленчатости, района возделывания и климатических

условий. Наряду с этим также имеет значение режим солодоращения, который обуславливает цитолитическую, протеолитическую и амилитическую активность ферментов в солоде, а следовательно, и степень его растворения.

Время фильтрации служит критерием оценки фильтруемости сусла. Если первые фракции сусла проходят через фильтр быстро и процесс заканчивается в течение часа, фильтрация считается нормальным. Сусло из хорошо растворенного солода, как правило, прозрачное с блеском. Мутное медленно фильтрующееся сусло характерно для плохо растворенных солодов с низкой активностью амилаз.

При затирации оценивают продолжительность осахаривания и диастатическую силу, а в конгрессном сусле определяют цвет, кислотность (либо pH конгрессного сусла), прозрачность сусла и содержание в нем растворимого белка, вязкость. По цветности конгрессного сусла оценивают качество солода с точки зрения использования его для получения светлого пива. Вязкость конгрессного сусла позволяет оценить, насколько хорошо гидролизованы гумми вещества и гемицеллюлоза.

Время осахаривания зависит от растворения солода и активности амилитических ферментов (α - и β -амилазы).

Разность массовых долей экстрактов тонкого и грубого помола характеризует степень растворения стенок крахмальных зерен эндосперма. Этот показатель представляет собой разность массовой доли экстракта, полученного при затирации затора, состоящего из 90% муки тонкого помола, и экстракта, полученного при затирации затора, содержащего только 25% муки.

На основании данных по содержанию аминного азота в сусле и солоде рассчитывают степень растворения белка в солоде в результате протеолиза (индекс Кольбаха), для солода хорошего качества этот показатель составляет 36–42%. Близкий смысл имеет число Хартона (процентное содержание растворенного в результате протеолиза при 45°C белка, оцененное по содержанию в сусле аминного азота), также оценивают содержание α -аминного азота (количество свободных аминокислот).

Для оценки глубины протекания биохимических процессов при солодоращении используют в основном перечисленные выше показатели.

Цитолиз оценивается с помощью показателей мучнистости, фриабильности, разности массовых долей экстрактов тонкого

и грубого помола, вязкости суслу и содержания в нем β -глюкана, развития зародышевого ростка.

Степень протеолиза оценивается по массовой доле белка в солоде, числу Кольбаха и Хартонга, концентрации растворимого и α -аминного азота в конгрессном сусле, цветности конгрессного суслу до и после кипячения.

Глубина амилолиза контролируется пробой с йодом на полноту осахаривания, дополнительно изучают диастатическую силу, экстрактивность солода при температуре 65 и 80°C, конечную степень сбраживания суслу и йодное число лабораторной дробины. Прямым показателем активности амилаз является диастатическая сила и продолжительность осахаривания.

2.3. Лабораторная работа. Оценка качества ячменя по органолептическим и физико-химическим показателям



Цель работы: освоение методов установления качества ячменя для получения пивоваренного солода.

Объектом исследования являются образцы ячменя, выращенного в разных условиях и потому различающегося по качеству. Предмет исследования – установление доброкачественности и оценка технологических свойств образцов ячменя. Комплексный анализ показателей качества ячменя позволяет выбрать образец с лучшими характеристиками для получения пивоваренного солода и использовать его для выполнения следующей лабораторной работы (п. 2.4).

2.3.1. Оценка органолептических показателей ячменя

Оценку органолептических показателей ячменя осуществляют по запаху, цвету и внешнему виду.



Материалы и приборы: исследуемый ячмень, чашка Петри, водяная баня, чистый лист белой бумаги, лабораторная мельница, технические весы с допустимой погрешностью взвешивания $\pm 0,01$ г, банка с крышкой вместимостью 500 см³, колба коническая со шлифом вместимостью 100 см³, фарфоровая чашка вместимостью 200–250 см³, сито из металлической сетки, шпатель, суховоздушный термостат (40°C).



Проведение анализа. Пробы зерна, имеющего температуру ниже комнатной, выдерживают в помещении до достижения зерном комнатной температуры. При влажности зерна более 17% пробу подсушивают до влажности 14,5–15,0%.

Запах определяют в целом или размолотом зерне. Из средней пробы отбирают навеску зерна массой около 100 г, помещают в чашку и определяют его запах. Допускается небольшое количество ячменя взять на ладонь и согреть дыханием или теплом руки. Запах должен быть чистым, свойственным нормальному зерну ячменя (запах свежей соломы), посторонние запахи (затхлый, солодовый, плесневелый, гнилостный) не допускаются.

При ощущении в зерне навески слабо выраженного постороннего запаха, не свойственного нормальному зерну, его прогревают путем пропаривания на сите над сосудом с кипящей водой в течение 2–3 мин либо выдерживания в течение 30 мин при температуре 35–40°C в плотно закрытой колбе, также допускается размолоть зерно для усиления этого запаха. После пропаривания зерно помещают на чистый лист бумаги и определяют наличие постороннего запаха. В случае выдерживания в закрытой колбе наличие постороннего запаха можно определить с помощью периодического открытия ее на короткое время.

Цвет зерна определяют визуально при дневном рассеянном свете или освещении люминесцентными лампами, сравнивая с описанием этого признака в стандартах на исследуемую культуру путем сравнения с эталонами.

Зерна хорошего пивоваренного ячменя должны быть круглыми, ровными по размеру, блестящими. Светло-желтый или желтый цвет свидетельствует о зрелости ячменя и правильной его уборке. Допускается серовато-желтый цвет и более темный оттенок желтого цвета. Серо-матовый цвет нежелателен, так как он может быть результатом развития плесени. Не допускается наличие зерен с темными кончиками, свидетельствующими о плохой уборке или хранении. Зеленый и слишком светлый цвет являются признаком незрелости ячменя.

На ощупь ячмень должен быть сухим и обладать хорошей сыпучестью. Если зерна прилипают к рукам, то их влажность повышена. Состояние ячменя – здоровый, не греющийся.

2.3.2. Установление влажности ячменя

Влажность зерна определяют путем обезвоживания навески измельченного воздушно-сухого зерна в сушильном шкафу до постоянной массы. Убыль массы навески в результате высушивания, отнесенная к исходной массе навески, используется для расчета массовой доли влаги.

Норма влажности зерна ячменя – не более 15,0% для зерна первого класса и не более 15,5% – для зерна второго класса. Зерно ячменя считают сухим при влажности не более 14,5%, средней сухости – при влажности 14,6–16,0%, влажным – при влажности 16,1–17,5% и сырым – при влажности 17,6% и более.



Материалы и приборы: исследуемый ячмень, сушильный шкаф (105 или 130°C), лабораторная мельница, бюкс, эксикатор, технические весы.



Проведение анализа. Перед началом испытаний зерно тщательно перемешивают, встряхивая сосуд в разных направлениях и плоскостях.

Для определения влажности ячменя из среднего образца отбирают 20 г зерен и измельчают на лабораторной мельнице. Измельченное зерно примерно по 5 г помещают в высушенные, охлажденные и взвешенные бюксы, затем бюксы с открытыми крышками помещают в предварительно нагретый сушильный шкаф, в котором высушивают при температуре 105 или 130°C в течение 3 ч или 40 мин соответственно. Бюксы с высушенным материалом вынимают из шкафа, закрывают крышками и охлаждают в эксикаторе. Для поглощения влаги в эксикатор ставят прокаленный хлорид кальция или концентрированную серную кислоту. Через 20 мин бюксы с образцами вынимают из эксикатора и взвешивают.

Массовую долю влаги в ячмене $w_{\text{яч}}$, %, вычисляют по формуле

$$w_{\text{яч}} = \frac{m_{\text{возд.-сух.ячм}} - m_{\text{сух.ячм}}}{m_{\text{возд.-сух.ячм}}} \cdot 100,$$

где $m_{\text{возд.-сух.ячм}}$ – масса навески размолотого воздушно-сухого ячменя, г;

$m_{\text{сух.ячм}}$ – масса навески размолотого ячменя после высушивания, г.

2.3.3. Установление крупности ячменя, содержания мелких зерен, зерновой и сорной примеси, зараженности вредителями

Содержание примесей в ячмене определяют с использованием трех сит: верхнего и среднего сит с продолговатыми отверстиями размером соответственно 2,5×20 мм для определения крупности и 2,2×20 мм – для определения мелких зерен и зерновой примеси и нижнего с круглыми отверстиями диаметром 1,5 мм для выделения сорной примеси.

К основному зерну относят все зерна ячменя, по характеру повреждений не принадлежащие к сорной и зерновой примесям. К крупным зернам ячменя относят все зерна ячменя на сите с продолговатыми отверстиями размером 2,5×20 мм. К мелким – зерна ячменя, проходящие через сито с продолговатыми отверстиями размером 2,2×20 мм.

Зерновой примесью считаются зерна ячменя:

- битые и изъеденные, независимо от характера и размера повреждений, давленные, с нарушенной оболочкой и открытым эндоспермом;
- незрелые: сильно недоразвитые – щуплые, а также зеленые, деформирующиеся при надавливании шпателем;
- проросшие – с вышедшим наружу корешком или ростком;
- поврежденные самосогреванием или сушкой, с измененным цветом оболочки и эндоспермом от кремового до светло-коричневого цвета.

К зерновой примеси относят также зерна пшеницы, полбы, ржи и овса целые и поврежденные, не отнесенные по характеру повреждений к сорной примеси.

К сорной примеси принадлежит весь проход, полученный при просеивании через сито с отверстиями диаметром 1,5 мм, а также из остатка на сите с отверстиями диаметром 1,5 мм:

- минеральная примесь (галька, комочки земли, камешки, шлак и др.);
- органическая примесь (солома, части стержней колоса, ости, пленки и др.);
- семена дикорастущих растений;
- семена культурных растений, не отнесенные к зерновой примеси;

– испорченные зерна ячменя, пшеницы, полбы, ржи и овса: загнившие, заплесневевшие, поджаренные, обуглившиеся – все с испорченным эндоспермом от коричневого до черного цвета, с полностью выеденным эндоспермом, а также со светлым, но рыхлым, легко рассыпающимся эндоспермом;

– вредная примесь (головня, спорынья и др.).

Наиболее опасными вредителями зерна являются клещи и долгоносики.

В табл. 2.4 приведены требования к ячменю, поставляемому для пивоварения, в зависимости от класса качества.

Таблица 2.4

Требования к содержанию фракций зерна и зерновых примесей в ячмене для получения пивоваренного солода

Наименование показателя	Норма для класса	
	первого	второго
Сорная примесь, %, не более	1,0	2,0
Зерновая примесь, %, не более	2,0	5,0
Мелкие зерна, %, не более	5,0	7,0
Крупность, %, не менее	85,0	60,0
Зараженность вредителями	Не допускается, кроме зараженности клещом не выше I степени (не более 20 клещей на 1 кг зерна)	

Зерно ячменя признают чистым при содержании сорной и зерновой примесей не более 2,0%, средней чистоты – при содержании сорной и зерновой примесей 2,1–4,0% и 2,1–5,0% соответственно, сорным – при содержании сорной и зерновой примесей более 4,1% и 5,1% соответственно.



Материалы и приборы: исследуемый ячмень, сита с продолговатыми ячейками размером 2,5×20 мм, 2,2×20 мм и круглыми ячейками размером 1,5 мм, технические весы, стеклянная доска, пинцет, кисть.



Проведение анализа. Навеску зерна массой 50 г помещают на верхнее сито системы из трех сит, собранных последовательно, просеивают в течение 3 мин при 110–120 движениях в мин. Навеска зерна разделяется на фракции (остаток на ситах и проход на поддоне под нижним ситом). Сходы со всех сит последовательно

высыпают на стеклянную доску и вручную с помощью пинцета и кисти разделяют их на фракции. Каждую фракцию зерна и примесей взвешивают отдельно и вычисляют их количество в процентах от массы навески зерна ячменя, взятого на анализ.

Зараженность зерна вредителями устанавливают путем просеивания среднего образца в течение 3 мин через сито с круглыми отверстиями: при определении зараженности клещом диаметр отверстий должен быть 1,5 мм, а при определении зараженности долгоносиком – 2,5 мм. Степень зараженности показывает количество живых вредителей в 1 кг зерна.

2.3.4. Установление массы 1000 зерен ячменя

Масса 1000 зерен пивоваренного ячменя колеблется в пределах 37–48 г. Ячмень, имеющий массу 1000 зерен до 40 г, считается легким, до 44 г – средним, более 45 г – тяжелым. Тяжелый ячмень более экстрактивный из-за высокой удельной массы основного компонента – крахмала.



Материалы и приборы: исследуемый ячмень, чистый белый лист бумаги, технические весы с допускаемой погрешностью взвешивания $\pm 0,01$ г, шпатель или пинцет.



Проведение анализа. Из средней пробы отбирают навеску ячменя массой 40 г. Половинки зерен и посторонние примеси удаляют и массу их вычитают из отобранной навески. Затем находят массу чистых зерен ячменя m_1 , их подвергают подсчету.

Расчет массы 1000 зерен на воздушно-сухое вещество M_1 , г/1000 зерен, проводят по формуле

$$M_1 = \frac{m_1 \cdot 1000}{n_1},$$

где m_1 – масса целых зерен ячменя, г;

n_1 – число целых зерен ячменя в навеске, шт.

Массу 1000 зерен (M_1) пересчитывают на сухое вещество (X_1) по следующей формуле:

$$X_1 = M_1 \cdot \frac{100 - w}{100},$$

где w – влажность ячменя, %.

2.3.5. Установление водочувствительности ячменя

Определение водочувствительности заключается в выявлении числа проросших зерен ячменя при замачивании в различных объемах жидкости.



Материалы и приборы: исследуемый ячмень, фильтровальная бумага, дистиллированная вода, чашки Петри.



Проведение анализа. Из ячменя отбирают две пробы по 100 здоровых зерен. В две чашки Петри укладывают 2–3 слоя фильтровальной бумаги, плотно приглаживают, смачивают соответственно 4 и 8 см³ дистиллированной воды, раскладывают по 100 зерен ячменя бороздкой вверх так, чтобы каждое зерно хорошо соприкасалось со смоченной бумагой. Сверху зерно прикрывают листами фильтровальной бумаги того же размера. Чашки закрывают и выдерживают в темном месте 72 ч при температуре 18–20°C. Через каждые 24 ч проросшие зерна подсчитывают и удаляют из образца.

Степень водочувствительности характеризуется разностью проросших зерен с 4 и 8 см³ воды, выраженной в процентах.

2.4. Лабораторная работа. Получение ячменного солода и оценка его качества



Цель работы: ознакомление с технологией солодоращения и биохимическими процессами, протекающими при солодоращении, освоение методов установления качества ячменного солода.

Для получения ячменного солода все бригады берут одинаковое количество зерен ячменя, отобранных по качеству в п. 2.3. Замачивание и проращивание ячменя выполняются внеаудиторно за 3–7 сут до лабораторной работы.

2.4.1. Получение ячменного солода



Материалы и приборы: зерна ячменя, технические весы, раствор хлоргексидина, широкая пластиковая емкость, медицинская марля, ложка или палочка.



Ход работ. Для получения ячменного солода навеску воздушно-сухих зерен ячменя 150 г с известной влажностью $w_{\text{яч}}$, %

(по п. 2.3.2), нужно замочить в широкой пластиковой емкости в водопроводной воде с добавлением раствора хлоргексидина при комнатной температуре. Через 24 ч слить воду из пластиковой емкости, накрыть зерна ячменя влажной марлей, сложенной в четыре слоя, и проращивать в течение 3–5 сут. Каждые 12 ч проращиваемое зерно ворошат, проверяют влажность марли, при необходимости ее смачивают водой.

После появления корешков, длина которых сопоставима с длиной зерна, готовый влажный солод взвешивают на технических весах ($M_{\text{вл. сол. 1}}$, г), оценивают количество непроросших зерен (п. 2.4.2) и влажность солода практическим методом (п. 2.4.3.1) и лабораторным методом (п. 2.4.3.2), рассчитывают потери массы сухих веществ на дыхание при замачивании и проращивании (п. 2.4.4).

Влажный свежепророщенный солод снова взвешивают на технических весах ($M_{\text{вл. сол. 2}}$, г) и направляют на сушку (п. 2.4.5).

2.4.2. Установление количества непроросших зерен солода

Для определения количества непроросших зерен из средней пробы отвешивают на весах 25 г солода и пинцетом откладывают отдельно проросшие и непроросшие зерна. Подсчитывают отдельно количество зерен в каждой фракции, а затем выражают количество их в процентах по отношению к сумме всех зерен.

2.4.3. Установление влажности солода

Влажность готового солода может оцениваться органолептически работниками солодовни (практический метод) и путем высушивания с установлением потери массы (лабораторный метод).

2.4.3.1. Установление влажности солода практическим методом. Используют для оценки степени замачивания, основываясь на физиологических признаках и внешнем виде зерна с применением осязания:

- при сдавливании кончиков зерна между пальцами оно не должно колоть, должно сжиматься, оболочка при этом слегка отходит от мучнистого тела;
- зерно перегибается, не разламываясь через ноготь, причем оболочка должна легко отделяться;

– при разрезании тупым ножом зерно должно раздаваться в ширину. Если полного замачивания не достигли, зерно расщепляется на две части;

– разрезанное зерно должно оставлять на дереве меловую черту;

– зерно должно гладко разделяться в направлении бороздки, поверхность раздела должна быть равномерно смочена вплоть до маленького островка посередине;

– при сжимании зерна пальцами по длинной оси должно слышаться характерное потрескивание;

– зерно должно поддаваться расщеплению его вкось ногтем.

Если зерно замочено нормально, в поперечном срезе посередине его должно быть белое пятно, если недомочено – весь срез будет белым, если перемочено – весь срез темный.

24.3.2. Установление влажности солода лабораторным методом. Определение влажности свежепророщенного солода $w_{\text{вл. сол}}$, %, полученного в п. 2.4.1, и влажности сухого солода $w_{\text{сух. сол}}$, %, полученного в п. 2.4.4, ведут аналогично установлению влажности зерна ячменя (см. п. 2.3.2).

2.4.4. Расчет потерь массы сухих веществ на дыхание при замачивании и проращивании

Массу сухих веществ в составе воздушно-сухих зерен ячменя, взятых на получение солода $M_{\text{СВвозд.-сух. ячм}}$, г, рассчитывают по формуле

$$M_{\text{СВвозд.-сух. ячм}} = 150 \cdot (1 - 0,01 \cdot w_{\text{ячм}}).$$

Массу сухих веществ в составе влажного свежепророщенного солода $M_{\text{СВвл. сол}}$, г, рассчитывают по формуле

$$M_{\text{СВвл. сол}} = M_{\text{вл. сол1}} \cdot (1 - 0,01 \cdot w_{\text{вл. сол}}).$$

Потери сухих веществ ячменя при солодоращении $\Delta M_{\text{СВсолодоращ}}$, %, рассчитывают по формуле

$$\Delta M_{\text{СВсолодоращ}} = \frac{M_{\text{СВвозд.-сух. ячм}} - M_{\text{СВсух. сол1}}}{M_{\text{СВвозд.-сух. ячм}}} \cdot 100.$$

2.4.5. Сушка ячменного солода

Полученный в п. 2.4.1 влажный солод переносят в сушильный шкаф в широкой емкости и высушивают при температуре 50°C.

Сухой солод взвешивают ($M_{\text{сух. сол}}$, г), помещают в полиэтиленовый пакет и используют для установления его качества по органолептическим показателям (п. 2.4.6), влажности, определяемой лабораторным методом (п. 2.4.3.2), экстрактивности солода (п. 2.4.7) и времени осахаривания (п. 2.4.8), амилолитической активности солода по методу Виндиша – Кольбаха (п. 2.4.9), рассчитывают потери массы сухих веществ на дыхание при сушке (п. 2.4.10).

2.4.6. Установление органолептических показателей сухого солода

В табл. 2.5 приведены требования к основным органолептическим показателям пивоваренного солода.

Таблица 2.5

Требования к основным органолептическим показателям пивоваренного солода

Наименование показателя	Характеристика для солода
Внешний вид	Однородная зерновая масса, не содержащая плесневелых зерен и зерновых вредителей
Цвет	От светло-желтого до желтого, не допускаются зеленоватые и темные тона
Вкус	Солодовый, сладковатый. Не допускаются посторонние привкусы
Запах	Солодовый, более выраженный у ячменного темного солода. Не допускаются посторонние запахи: плесени, кислый, затхлый и другие, не свойственные продукту

Внешний вид зерна оценивают визуально. Оболочка солодовых зерен должна быть блестящей, как у исходного ячменя. Ростки необходимо полностью удалить, чтобы зерно по своей форме и размеру напоминало форму переработанного ячменя. Такое состояние свидетельствует о хорошей разрыхленности солода. Хорошо растворенное, рыхлое солодовое зерно сохраняет форму и свой размер и при переработке ячменя. Сморщенное зерно меньшего объема, по сравнению с исходным ячменем, указывает на неправильное ведение процесса сушки: такой солод (жесткий или стекловидный) дает пониженный выход экстрактивных веществ.

Определение цвета, запаха и вкуса всех типов солода выполняется аналогично таковому для зерна ячменя. Цвет оболочки должен быть равномерным, светло-желтым или желтым. Наличие зеленоватых или темных тонов указывает на развитие грибной микробиоты на поверхности солода при его проращивании. Серая окраска появляется при большом содержании ионов железа в замочной воде. Темная окраска кончиков свидетельствует о том, что для солодоращения был использован влажный ячмень.

Для определения вкуса из тщательно перемешанного образца выделяют около 100 г зерна, очищают от сорной примеси, размалывают на лабораторной мельнице, выделяют навеску около 50 г и смешивают со 100 см³ питьевой воды. Затем полученную суспензию выливают в сосуд со 100 см³ воды, нагретой до кипения, перемешивают и закрывают стеклянной крышкой. Смесь охлаждают до 30–40°С и определяют ее вкус.

Запах и вкус должны соответствовать типу солода. Вкус солода должен быть приятно сладковатым, без постороннего привкуса. У светлого солода запах и вкус хлебный до слабого солодового, у темного – с выраженным солодовым сладким вкусом; в обоих случаях вкус должен быть чистым, приятным. Кисловатый и горький вкус не допускается. Кислый, плесневелый и другие посторонние запахи также недопустимы.

Зерно при раскусывании должно быть хрупким, эндосперм – белым и рассыпчатым.

2.4.7. Установление экстрактивности сухого солода

Экстрактивность солода выражается суммой экстрактивных веществ, которые при затирании стандартным настойным способом переходят в раствор (сусло). При определении в лаборатории эти показатели выше, чем получаемые в производственных условиях, потому что при лабораторном затирании используются тонкий помол (90% муки), дистиллированная вода и заторные стаканы, в которых процесс затирания отличается от процессов, проходящих в промышленном заторном аппарате.

Экстрактивность солода, определяемая при температуре 65°С, характеризует активность β -амилазы, оптимальная величина этого показателя составляет 98,7%. Величина ниже стандартной указывает на слабую активность ферментов и недостаточное растворение

эндосперма, следствием использования такого солода будет недостаточное сбраживание суслу в бродильном отделении и неудовлетворительное осветление в лагерном подвале. Величина экстрактивности выше 98,7% свидетельствует о хорошем растворении эндосперма, превышающая значение 99,5% характеризует перерасстворение солода и большие потери на процессы дыхания при солодоращении.

Экстрактивность солода, определяемая при 80°C, характеризует разжижающую способность солода (активность α -амилазы). Стандартной считают величину экстрактивности, равную 93,7%. Солод с низким значением экстрактивности, определяемой при 80°C, плохо осаживается, это ведет к преждевременному осаждению дрожжей при брожении. Величина экстрактивности выше 96,0% указывает на недостаточную отсушку солода.

Сущность метода определения экстрактивности солода заключается в переводе в раствор экстрактивных веществ солода под действием его собственных ферментов при условиях, близких к оптимальным, с последующим отделением раствора и определением концентрации сухих веществ в нем пикнометрическим методом либо с использованием ареометра.

Пикнометр представляет собой небольшой стеклянный сосуд с горлышком и крышкой-колпачком, в верхней части прибора находится метка. Определение плотности жидкостей пикнометром основано на измерении отношения массы определенного объема исследуемого вещества к массе дистиллированной воды, взятой в таком же объеме, при этом температура вещества должна совпадать с температурой воды. В результате измерения получают плотность жидкости относительно плотности воды (обычно – при +20°C) и обозначают эту величину как d_{20}^{20} , где цифра сверху относится к исследуемому веществу, а снизу – к температуре воды.

Несмотря на то, что ареометрический метод менее трудоемкий, он не позволяет получить такие же точные результаты, какие дает пикнометрический метод. К тому же пикнометр дает возможность исследовать сравнительно малое количество анализируемой пробы (1–20 см³). Для применения ареометра потребуется не менее 0,2 дм³ исследуемой жидкости.

Экстрактивность выражают в процентах на сухое вещество солода. Для светлого солода нормальная экстрактивность составляет 79–82%, для темного солода – 75–78% к массе сухих веществ.



Материалы и приборы: исследуемый сухой солод, дистиллированная вода, фарфоровая или металлическая ложка, лабораторный стакан объемом 1000 см³, технические весы с пределами допускаемой абсолютной погрешности $\pm 0,01$ г, мельница лабораторная, отрегулированная для получения тонкого помола солода, термометр жидкостной стеклянный с диапазоном измерения 0–100°C и ценой деления 1°C с абсолютной погрешностью $\pm 1^\circ\text{C}$, заторный аппарат (альтернативно – водяная баня, ультратермостат, магнитная мешалка с подогревом поверхности), ареометр, весы аналитические с пределами допускаемой абсолютной погрешности $\pm 0,5$ мг, сито лабораторное с металлической сеткой, большая воронка, стекло часовое или стеклянная крышка для воронки, цилиндр на 250 см³, пикнометр объемом 50 см³, воронка для пикнометра, мешалка стеклянная, бумага фильтровальная, коническая колба на 500 или 750 см³, вода дистиллированная.



Проведение анализа. От средней пробы сухого солода в сухой лабораторный стакан отбирают фарфоровой или металлической ложкой 55,0 г солода, вручную очищают от сорной примеси и размалывают на лабораторной мельнице, отрегулированной для тонкого помола.

В предварительно взвешенный заторный стакан на технических весах с точностью до $\pm 0,01$ г отвешивают 50 г измельченного солода (степень помола – не менее 85% муки) и заливают 200 см³ дистиллированной воды, нагретой до 47°C, размешивают, избегая разбрызгивания. Стакан закрывают крышкой и помещают в заторный аппарат на водяную баню, вода в которой предварительно нагрета до 45°C. При этой температуре смесь выдерживают 30 мин, перемешивая ее.

Температуру затора повышают до 70°C с интенсивностью нагрева 1°C в мин. В момент достижения в заторе температуры 70°C в стакан вливают 100 см³ дистиллированной воды, нагретой до 70°C, смывая со стенок стакана приставшие частицы солода. При этой температуре затор осахаривается при периодическом перемешивании в течение 1 ч, затем его охлаждают до комнатной температуры за 10–15 мин.

Заторный стакан насухо вытирают снаружи, на технических весах содержимое стакана доводят водой до 450 г, затор хорошо перемешивают и фильтруют через складчатый фильтр в сухую колбу так, чтобы фильтрат был совершенно прозрачным. Воронка для

фильтрации должна вмещать все содержимое заторного стакана, а во избежание испарения воды воронку следует прикрыть стеклянной крышкой. Фильтрацию продолжают до момента образования трещин в осадке дробины на фильтре, но не более 2 ч.

В фильтрате с помощью пикнометра (альтернативно – с помощью ареометра) определяют относительную плотность.

Перед установлением относительной плотности фильтрата затора пикнометрическим методом пикнометр следует тщательно промыть хромовой смесью, а затем дистиллированной водой, высушить до постоянной массы в сушильном шкафу при 105°C и взвесить на аналитических весах. Дистиллированную воду с температурой 20°C наливают в пустой пикнометр до метки, расположенной на его горлышке, и определяют массу пикнометра вместе с водой. После этого воду выливают, а пикнометр высушивают до постоянной массы и наливают исследуемое вещество до метки на горлышке. Исследуемую жидкость необходимо хорошо перемешать до однородного состояния. Наличие осадка и пленки на поверхности недопустимо. Жидкость надо наливать медленно, чтобы в ней не образовались пузырьки воздуха. Если испытуемое вещество осталось на крышке или поверхности прибора, его аккуратно убирают ваткой, поскольку даже незначительное количество вещества может исказить результаты. Температура исследуемой жидкости должна быть такой же, как и при заполнении дистиллированной водой. Пикнометр с содержимым взвешивают.

Относительная плотность фильтрата затора d_{20}^{20} , г/см³, определяется по формуле

$$d_{20}^{20} = \frac{m_{\text{ф}} - m}{m_{\text{дв}} - m},$$

где $m_{\text{ф}}$ – масса пикнометра с фильтратом, г;

m – масса пустого чистого сухого пикнометра, г;

$m_{\text{дв}}$ – масса пикнометра с дистиллированной водой, г.

Для получения точных результатов надо провести два параллельных испытания, а затем высчитать среднее арифметическое. Важно, чтобы результаты двух параллельных исследований отличались не более чем на 0,05 г/см³.

Для установления плотности фильтрата с использованием ареометра исследуемый фильтрат должен иметь температуру +20°C. Его надо налить в чистый цилиндр емкостью не менее 200 см³,

поставить цилиндр на ровное место и осторожно поместить в жидкость ареометр с пределами измерения 1,000–1,060 г/см³. Прибор должен располагаться в центре цилиндра и не касаться его дна и стенок. Через 1–2 мин после погружения следует провести отсчет по делениям шкалы прибора по нижнему мениску с точностью до половины наименьшего деления шкалы. Для расчета относительной плотности фильтрата затора d_{20}^{20} , г/см³, полученное значение делят на 0,997 – плотность дистиллированной воды при +20°С, г/см³.

По табл. 2.6 находят массовую долю экстрактивных веществ в лабораторном сусле, соответствующую определенной относительной плотности.

Таблица 2.6

**Соотношение между относительной плотностью жидкости d_{20}^{20}
и массовой долей экстрактивных веществ**

d_{20}^{20}	Экстрактив- ность, % масс.	d_{20}^{20}	Экстрактив- ность, % масс.	d_{20}^{20}	Экстрактив- ность, % масс.
1,01550	3,951	1,02750	6,943	1,04300	10,716
1,01560	3,977	1,02800	7,066	1,04350	10,836
1,01570	4,002	1,02850	7,189	1,04400	10,956
1,01580	4,027	1,02900	7,312	1,04405	10,968
1,01590	4,052	1,02950	7,435	1,04410	10,980
1,01600	4,077	1,03000	7,558	1,04415	10,992
1,01610	4,102	1,03050	7,681	1,04420	11,004
1,01620	4,128	1,03100	7,803	1,04426	11,016
1,01630	4,153	1,03150	7,926	1,04430	11,027
1,01650	4,203	1,03200	8,048	1,04435	11,039
1,01700	4,329	1,03250	8,171	1,04440	11,051
1,01750	4,454	1,03300	8,293	1,04445	11,063
1,01800	4,580	1,03350	8,415	1,04450	11,075
1,01850	4,705	1,03400	8,537	1,04500	11,195
1,01900	4,830	1,03450	8,659	1,04550	11,315
1,01950	4,955	1,03500	8,781	1,04600	11,435
1,02000	5,080	1,03550	8,902	1,04650	11,554
1,02050	5,205	1,03600	9,024	1,04700	11,673
1,02100	5,330	1,03650	9,145	1,04750	11,792
1,02150	5,455	1,03700	9,267	1,04800	11,912

Окончание табл. 2.6

d_{20}^{20}	Экстрактив- ность, % масс.	d_{20}^{20}	Экстрактив- ность, % масс.	d_{20}^{20}	Экстрактив- ность, % масс.
1,02200	5,580	1,03750	9,388	1,04850	12,031
1,02250	5,704	1,03800	9,509	1,04900	12,150
1,02300	5,828	1,03850	9,631	1,04950	12,263
1,02350	5,952	1,03900	9,751	1,05000	12,387
1,02400	6,077	1,03950	9,873	1,05100	12,624
1,02450	6,200	1,04000	9,993	1,05200	12,861
1,02500	6,325	1,04050	10,114	1,05300	13,098
1,02550	6,449	1,04100	10,234	1,05400	13,333
1,02600	6,572	1,04150	10,355	1,05500	13,569
1,02650	6,696	1,04200	10,475	1,05600	13,804
1,02700	6,819	1,04250	10,596	1,05700	14,039

Рассчитывают экстрактивность солода на воздушно-сухое ве-
щество E , %:

$$E = \frac{e \cdot (800 + w_{\text{сух. сол}})}{100 - e},$$

где e – массовая доля экстракта в сусле, %;

$w_{\text{сух. сол}}$ – массовая доля влаги в сухом солоде, %.

Массовую долю экстракта в сухом веществе солода E_1 , %, вы-
числяют по формуле

$$E_1 = \frac{E \cdot 100}{100 - w_{\text{сух. сол}}}.$$

2.4.8. Установление продолжительности осахаривания сухого солода

Метод определения продолжительности осахаривания основан
на способности крахмала давать интенсивное синее окрашивание
с йодом. В результате ферментативного гидролиза крахмала в рас-
творе накапливаются сахара и декстрины. По мере уменьшения мо-
лекулярной массы декстринов изменяется интенсивность окраски

от фиолетово-синего до светло-желтого цвета самого раствора йода. Продолжительность осахаривания выражается временем (минуты), которое требуется для полного осахаривания затора при 70°C.



Материалы и приборы: затор, получаемый из исследуемого сухого солода (п. 2.4.7), предметное стекло, стеклянная палочка, фильтровальная бумага, дистиллированная вода, раствор йода кристаллического х. ч. молярной концентрацией 0,1 моль/дм³ либо йод кристаллический х. ч., йодид калия, колба мерная объемом 100 см³, колба коническая объемом 100 см³.



Приготовление реактивов. Приготовление раствора йода. Кристаллический йод (0,25 г) и йодида калия (0,80 г) переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³, растворяют в дистиллированной воде, объем раствора доводят до метки. Альтернативно можно использовать смесь 20 см³ 0,1 н. раствора йода с 80 см³ дистиллированной воды.



Проведение анализа. По достижении в лабораторном заторе 70°C стеклянной палочкой отбирают из затора каплю суслу и помещают ее на предметное стекло. Рядом с каплей суслу помещают каплю раствора йода и, наклоняя пластинку, смешивают обе капли. В месте их соединения определяют цвет смеси.

Берут пробы суслу и анализ повторяют каждые 5 мин до тех пор, пока не установится чисто желтая окраска. Для контроля удобно на той же пластине смешать каплю дистиллированной воды с каплей йода.

Продолжительность осахаривания для светлого солода должна быть 10–20 мин, для темного – 30–35 мин.

2.4.9. Установление амилолитической активности сухого солода

Сущность метода определения амилолитической активности (диастатической силы) солода по методу Виндиша – Кольбаха заключается в том, что солодовой вытяжкой анализируемого солода осахаривают 2%-ный раствор крахмала при рН 4,3 и образовавшуюся при этом мальтозу определяют йодометрически. Амилолитическую активность солода выражают в граммах мальтозы, образовавшейся из растворимого крахмала под действием ферментов 100 г солода, г/100г (единицах Виндиша – Кольбаха, ед. WK).

Хороший светлый солод, полученный из ярового ячменя, должен иметь активность более 220 ед. WK, из озимого ячменя – 350 ед. WK, темный – 150–170 ед. WK. Высокая активность амилолитических ферментов особенно важна при переработке зерновых несоложенных материалов (ячменя, риса, кукурузы).



Материалы, посуда, приборы и реактивы: исследуемый сухой солод, дистиллированная вода, фильтровальная бумага, мерная колба объемом 1 дм³, 200 см³, пипетки, бюретка для титрования объемом 25 см³, 0,1 н. раствора йода, 0,1 н. раствор тиосульфата натрия, 1 н. раствор гидроксида натрия, 1 н. раствор серной кислоты, ацетатного буферного раствора с рН 4,3.



Приготовление реактивов. Приготовление солодовой вытяжки. Сухой солод (20 г) тщательно растирают в ступке и помещают в стакан с 450 см³ дистиллированной воды, при помешивании экстрагируют в течение 1 ч на водяной бане при 40°C, охлаждают содержимое до комнатной температуры, доводят массу до 520 г и фильтруют через складчатый фильтр в сухую колбу.

Приготовление забуференного раствора крахмала. Крахмал (20 г) тщательно взбалтывают с 50 см³ холодной воды и полученную суспензию вливают тонкой струей при непрерывном размешивании в 800 см³ кипящей воды. Раствор кипятят в течение 5 мин, затем охлаждают до 20°C при непрерывном размешивании, чтобы на поверхности не образовалась пленка. Раствор переливают в мерную колбу объемом 1 дм³, добавляют 25 см³ ацетатного буферного раствора с рН 4,3 и объем раствора доводят до метки.



Проведение анализа. В мерную колбу на 200 см³ пипеткой отмеряют 100 см³ забуференного раствора крахмала и колбу выдерживают на водяной бане при 20°C 20 мин. В мерную колбу вносят 5 см³ солодовой вытяжки, перемешивают, выдерживают на водяной бане при 20°C 30 мин для гидролиза крахмала амилазами солода, после чего процесс осахаривания прерывают добавлением 3 см³ 1 н. раствора NaOH. Дистиллированной водой доводят объем смеси до метки и тщательно перемешивают.

Для определения содержания образовавшейся мальтозы 50 см³ осахаренного раствора крахмала помещают в коническую колбу на 250 см³, к раствору из бюретки приливают 25 см³ 0,1 н. раствора йода, 3 см³ 1 н. раствора гидроксида натрия, перемешивают, выдерживают 5 мин при комнатной температуре, добавляют

4,5 см³ 1 н. раствора серной кислоты и избыток йода титруют 0,1 н. раствором тиосульфата натрия. Индикатором в данном случае служит неосахаренный крахмал, содержащийся в растворе.

Количество йода, пошедшего на окисление мальтозы, должно находиться в пределах 5–15 см³. Если в реакции связывается более 15 см³ йода, то опыт следует повторить с вытяжкой, приготовленной из 10 г солода и 500 см³ воды. Если же количество связанного йода составляет менее 5 см³, то для приготовления вытяжки необходимо взять 40 г солода.

Общее количество йода идет не только на окисление образовавшейся мальтозы, но также связывается веществами солодовой вытяжки и крахмалом. Поэтому необходимо ввести поправки на солодовую вытяжку и на раствор крахмала.

Для определения **поправки на солодовую вытяжку** к 12,5 см³ солодовой вытяжки в конической колбе на 200–250 см³ приливают 37,5 см³ воды (общий объем должен быть 50 см³, как в основном опыте), прибавляют из бюретки 25 см³ 0,1 н. раствора йода и затем поступают, как в основном опыте. В связи с тем, что в основном опыте 50 см³ реакционной смеси содержат 1,25 см³ солодовой вытяжки, при расчетах берут десятую часть найденной величины.

Для определения **поправки на раствор крахмала** 25 см³ забуференного раствора крахмала смешивают в колбе с 10 см³ 0,1 н. раствора йода, прибавляют 3 см³ 1 н. раствора NaOH, выдерживают 5 мин, подкисляют 4,5 см³ 1 н. раствора серной кислоты и титруют 0,1 н. раствором тиосульфата натрия.

Расчет амилолитической активности (диастатической силы) солода, определенной по методу Виндиша – Кольбаха DC, г/100 г (ед. WK), производят по формуле

$$DC = a - \left(\frac{b}{10} + c \right) \cdot K \cdot 17,1,$$

где a – количество йода в составе его 0,1 н. раствора, связанного в основном опыте, см³;

b – количество йода в составе его 0,1 н. раствора, связанного солодовой вытяжкой (поправка на солодовую вытяжку), см³;

c – количество йода в составе его 0,1 н. раствора, связанного раствором крахмала (поправка на раствор крахмала), см³;

K – коэффициент, учитывающий разбавление солодовой вытяжки в опыте (при использовании 10 г солода $K = 4$, при 20 г $K = 2$, при 40 г $K = 1$);

17,1 – масса мальтозы, эквивалентная 1 см³ 0,1 н. раствора йода, мг.

Амилолитическая активность светлого солода должна быть не ниже 150 ед. WK, у средних по качеству солодов – 150–200 ед. WK, у хороших – 200–250 ед. WK, у солодов хорошего качества – выше 250 ед. WK.

2.4.10. Расчет потерь массы сухих веществ на дыхание при сушке

Массу сухих веществ в составе сухого солода $M_{\text{СВсух. сол}}$, Г, рассчитывают по формуле

$$M_{\text{СВсух. сол}} = M_{\text{сух. сол}} \cdot (1 - 0,01 \cdot w_{\text{сух. сол}}).$$

Потери сухих веществ ячменя при сушке $\Delta M_{\text{СВсушка}}$, %, рассчитывают по формуле

$$\Delta M_{\text{СВсушка}} = \frac{M_{\text{СВвл. сол2}} - M_{\text{СВсух. сол}}}{M_{\text{СВвл. сол}}} \cdot 100.$$



3. АНАЛИЗ КАЧЕСТВА ХЛЕБОПЕКАРНЫХ ДРОЖЖЕЙ

В производстве хлебобулочных изделий из пшеничной и ржаной муки для сбраживания углеводов муки и разрыхления теста, а впоследствии – создания пористой структуры мякиша хлеба применяют хлебопекарные дрожжи, представляющие собой технически чистую культуру дрожжеподобных грибов *Saccharomyces cerevisiae*. Хлебопекарные дрожжи выпускаются в прессованном и сухом виде, а также в виде дрожжевого молока.

Для быстрого брожения в тесте хлебопекарные дрожжи должны обладать гликолитической активностью, обеспечивающей подъемную силу, способностью быстро адаптироваться к изменению субстрата, способностью расти и синтезировать ферменты и коферменты в анаэробных условиях.

3.1. Характеристика хлебопекарных дрожжей

Хлебопекарные дрожжи относятся к аскомицетовым (сумчатым) грибам, класс *Hemiascomycetes*, порядок *Saccharomycetales*, семейство *Saccharomycetaceae*, род *Saccharomyces*, вид *Saccharomyces cerevisiae*. Их клетки неподвижные, крупные, размером 5–6×10–14 мкм, по форме округлые, овальные, яйцевидные или слегка удлинённые. При микроскопировании в дрожжевой клетке можно различить оболочку, протоплазму, вакуоль, а если применить специальные методы окраски, – ядро и включения жира и гликогена, гранулы волютина.

В молодых дрожжевых клетках жира обычно нет, в зрелых он содержится лишь в немногих клетках в виде мелких капель, а в старых – в виде крупных.

Гликоген – запасной полисахарид дрожжей, накапливающийся при их культивировании на средах, богатых сахаром, поэтому по содержанию гликогена судят об упитанности дрожжей. Если гликогена в дрожжах мало – это свидетельство того, что они длительное время находились без питательного субстрата и имеют

низкую бродильную активность. В молодых клетках гликогена мало, в зрелых – до 40%. Гликоген окрашивается йодом в фиолетово-коричневый цвет.

Гранулы волютина (запасного полифосфата в соединении с простыми белками и рибонуклеиновой кислотой) скапливаются в вакуолях в виде коллоидного раствора или могут быть локализованы в цитоплазме при активных процессах обмена в клетке, окрашиваются метиленовым синим в красный цвет. В большом количестве волютин накапливается в клетках дрожжей перед размножением (почкованием или спорами).

При почковании на клетке появляется небольшой бугорок – почка. По мере роста дочерней клетки перетяжка, соединяющая ее с материнской клеткой, сужается. Примерно через 2 ч молодая клетка полностью отделяется от старой, оставив на месте своего образования отчетливый рубец. Одна материнская клетка может отпочковать 8–10 клеток. Почки располагаются по продольной оси клетки, обычно по одной. В неблагоприятных условиях образуется несколько почек, так как молодые клетки не отделяются от старой.

Способность к спорообразованию у дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* ослаблена. Спорообразование можно индуцировать, помещая дрожжи в условия голодания. Споры дрожжей более приспособлены к вредным воздействиям окружающей среды, чем вегетативные клетки (например, они устойчивы к температуре 70°C), но гораздо менее стойки, чем споры мицелиальных грибов и эндоспоры бактерий.

На сусло-агаре клетки *Saccharomyces cerevisiae* формируют колонии круглой формы диаметром 0,5–1,0 см с выпуклым центром и ровными краями желтовато-белого цвета. По характеру поверхности описано два типа колоний *Saccharomyces cerevisiae*: гладкие, маслянистые и складчато-шероховатые, бугристые. Считают, что культуры дрожжей, имеющие колонии второго типа, отличаются пониженной бродильной активностью.

3.1.1. Химический состав клеток хлебопекарных дрожжей

Прессованные хлебопекарные дрожжи содержат 25–28% сухих веществ и 72–75% воды. Вода с растворенными в ней химическими и органическими веществами проникает в клетки, и все важные жизненные реакции протекают в водном растворе. Свободная вода участвует в процессах обмена веществ, связанная удерживается

белковыми молекулами при помощи водородных связей и таким образом является частью структуры протоплазмы дрожжевой клетки.

Сухие вещества дрожжей представлены в основном белками, углеводами, липидами, нуклеиновыми кислотами и минеральными веществами. Соотношение белков и углеводов зависит от расы и направленного его изменения в процессе культивирования.

Дрожжи содержат 37–50% сырого белка в пересчете на сухие вещества. Азотсодержащие вещества дрожжей представляют собой белковые вещества (60–65%), нуклеиновые кислоты (23–27%), амиды и пептоны (5–12%). Соотношение аминокислот в разных белках различно.

В дрожжах содержится 35–44% углеводов к массе сухих дрожжей. Они входят в состав протоплазмы и оболочки клеток. Полисахариды представлены в основном гликогеном и маннаном, есть небольшие количества хитина.

Гликоген состоит из остатков глюкозы, соединенных 1,4- и 1,6- α -гликозидными связями. Гликоген дрожжей состоит из различных фракций, отличающихся растворимостью в щелочах и кислотах: некоторые из них (фракция, растворимая в уксусной кислоте) являются запасными веществами клетки, другие (щелочная фракция и фракция, растворимая в хлорной кислоте) – структурными элементами клетки.

Маннан составляет 30% от общего числа углеводов, входит в состав клеточной оболочки и не является запасным энергетическим веществом.

В дрожжах содержится дисахарид трегалоза (два остатка D-глюкозы связаны α -1,1-гликозидной связью), он является источником энергии в клетке.

Липиды дрожжей являются смесью истинных жиров (ацилглицеридов жирных кислот) с фосфолипидами (лецитин, кафалин) и стеролами (эргостерол). Жирные кислоты в основном насыщенные: олеиновая, линоленовая, пальмитиновая и стеариновая. В состав дрожжей входит также эргостерин (провитамин D).

Минеральные вещества дрожжей составляют около 6–10% общей массы сухого вещества дрожжей. Состав золы колеблется в зависимости от условий культивирования.

Зола дрожжей состоит примерно наполовину из фосфора (количество фосфат-ионов у сахаромикетов 3,2–4,4%). Фосфор входит в состав молекул нуклеиновых кислот, фосфолипидов и коферментов типа аденозинфосфата и тиамина, играет роль в процессах

окислительного и субстратного фосфорилирования углеводов, особенно важен для молодых растущих клеток.

Сера (0,17–0,20%) входит в состав аминокислот (цистеин, цистин, метионин и глутатион) и витаминов (биотин, аневрин).

Калия в золе значительно больше (1,5–1,6%), чем натрия, кальция и марганца. Он необходим дрожжевой клетке не только как питательный элемент, но и как стимулятор ее размножения.

Содержание кальция в пекарских дрожжах составляет 0,01–0,15%.

Железо (0,01–0,04%) в дрожжевой клетке входит в состав цитохромов, цитохромоксидазы, пероксидазы, каталазы и других ферментов, участвующих в процессе дыхания.

Магний, содержащийся в дрожжах, активизирует действие многих фосфатаз и энолазы. Ионы магния влияют на сохранение активности ферментов при нагревании. Магний и марганец ускоряют потребление дрожжами глюкозы, причем влияние магния тем активнее, чем ниже концентрация глюкозы в среде. Процессы брожения и гликолиза регулируются изменением концентрации ионов магния в результате присоединения его к органическим веществам.

Кобальт стимулирует размножение дрожжей, повышает содержание в клетках азотистых веществ небелковой природы, синтез витаминов.

Дрожжи богаты витаминами (тиамином, рибофлавином, пантотеновой, никотиновой и фолиевой кислотой, эргостерином и др.).

3.1.2. Биохимические превращения углеводов в клетках хлебопекарных дрожжей

Saccharomyces cerevisiae – факультативные анаэробы. В среде, лишенной кислорода, они размножаются медленно, но быстро сбраживают сахара с образованием этанола и диоксида углерода и выделением небольшого количества тепла в ходе спиртового брожения – этот процесс является основным при брожении теста в хлебопечении. В присутствии кислорода дрожжи ассимилируют углеводы с выделением большого количества энергии. Выделяющаяся энергия используется дрожжами на синтез клеточного вещества и поддержание обменных процессов, поэтому в условиях аэрации происходит интенсивное накопление биомассы дрожжей. Теоретический выход дрожжей из 100 г сахарозы мелассы составляет 52 г.

При высоком содержании углеводов наблюдается ингибирование ферментов дыхания и активация ферментной системы

спиртового брожения (эффект Крэбтри), даже в присутствии кислорода воздуха. Поэтому подкормку дрожжей предпочтительно производить небольшим количеством сахара. При недостаточном добавлении мелассы дрожжи используют собственные резервы, что уменьшает не только выход, но и качество дрожжей: заметно уменьшается подъемная сила и стойкость дрожжей.

При размножении дрожжей в аэробных условиях частично протекает спиртовое брожение, этанол (около 5% от количества перерабатываемого сахара) при аэрации уносится с воздухом, поэтому практический выход сухого вещества дрожжей из сахара мелассы составляет 40–43 г/100 г.

Условия культивирования биомассы *Saccharomyces cerevisiae* на дрожжевых заводах способствуют образованию в дрожжах активных инвертазного (гидролиз сахарозы до моносахаридов) и зимазного (преобразование глюкозы в углекислый газ в условиях ограничения доступа кислорода воздуха) комплекса ферментов. Аэрация культуральной жидкости и отсутствие в ней мальтозы приводят к низкой мальтазной активности хлебопекарных дрожжей. К индукции биосинтеза мальтаз приводит внесение в культуральную среду кукурузной патоки, содержащей много мальтозы.

В связи с тем, что жизнедеятельность хлебопекарных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, используемых в полуфабрикатах для разрыхления, резко отличается от их метаболизма при культивировании с целью накопления биомассы, анаэробная активность в начале брожения проявляется недостаточно. Дрожжевые клетки должны «переключаться» с дыхательного на бродильный образ жизнедеятельности, при этом изменяется их внутренняя структура и уменьшается потребление кислорода на дыхание.

3.2. Влияние условий культивирования на накопление биомассы хлебопекарных дрожжей

На жизнедеятельность (скорость размножения и выход биомассы) клеток *Saccharomyces cerevisiae* оказывают значительное влияние следующие факторы внешней среды: состав питательной среды, концентрация осмотически действующих веществ, температура, рН, режим культивирования.

3.2.1. Состав питательной среды

Состав питательной среды определяется элементарным и компонентным составом клетки, который в свою очередь зависит от физиологического состояния клетки и условий культивирования. При выращивании хлебопекарных дрожжей готовят питательную среду, обеспечивающую растущие клетки как компонентами, входящими в состав дрожжевых клеток (углеродом, азотом, фосфором, калием, магнием, микроэлементами), так и веществами, которые способствуют их быстрому росту и размножению (витаминами и аминокислотами).

Из источников углерода дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* сбраживают и усваивают глюкозу, галактозу, сахарозу, мальтозу, частично рафинозу и простые декстрины солодового сусла, не сбраживают и не усваивают лактозу, пентозы, крахмал, целлюлозу и гемицеллюлозы. В аэробных условиях они используют глюкозу, фруктозу, сахарозу, мальтозу, частично рафинозу, очень медленно используют галактозу. Способность к использованию других сахаров и органических кислот варьирует. Органические кислоты меласс и глицерин ассимилируются дрожжами в присутствии моно- и диацилглицеридов. Полисахариды и протеины не усваиваются, так как отсутствуют ферменты, гидролитического действия.

Хлебопекарные дрожжи ассимилируют восстановленные формы азота (сернокислый аммоний, многие аминокислоты, мочевины), нитраты не ассимилируются. Источники фосфора вносят в виде фосфорной кислоты или ортофосфата. В среды добавляют соли марганца, из микроэлементов вносят цинк.

Биотин, инозит, парааминобензойная кислота, аневрин, пиридоксин, никотиновая и аминокислоты являются факторами, стимулирующими рост и размножение дрожжевых клеток. Источником биотина может быть кукурузный экстракт или автолизат дрожжей. Аспарагиновая кислота отчасти может заменить биотин, а L-аспарагиновая кислота вместе с олеиновой полностью заменяют его. Рекомендуется вносить пантотеновую кислоту, инозит и тиамин.

Рост дрожжей тормозится в присутствии некоторых неорганических кислот (сернистой, азотистой и фтористой), тяжелых металлов (мышьяк, серебро, медь), формалина и дезинфицирующих веществ. Обычно дозы веществ, тормозящие бродильную силу дрожжей, значительно выше тех доз, которые задерживают почкование клеток.

3.2.2. Концентрация осмотически действующих веществ среды

Скорость роста дрожжей обусловлена осмотическим давлением водорастворимых веществ среды и концентрацией сухих веществ в цитозоле дрожжей. Осмотическое давление внешней среды должно быть ниже, чем осмотическое давление внутри клетки, что способствует усвоению питательных веществ растущей дрожжевой клеткой. Количество сухих веществ в клетке будет тем больше, чем выше концентрация сухих веществ в среде. Концентрация сухих растворимых веществ в цитозоле дрожжей хлебопекарных рас составляет 3–6%.

На начальных стадиях стремятся получить дрожжи физиологически активные, способные к быстрому размножению и сбраживанию углеводов, поэтому их культивируют в малоразбавленных средах (кратность разбавления мелассы 5–7) при слабой аэрации. В этих условиях часть сахара неизбежно тратится на образование этанола. На конечных стадиях стараются получить как можно больший выход дрожжей, поэтому их выращивают в более разбавленных мелассных средах (кратность разбавления 20–30) при интенсивной аэрации. Переработка более разбавленной мелассы экономически невыгодна, а качество дрожжей, выращенных в таких средах, понижается.

Содержание сахара в среде должно точно соответствовать скорости размножения дрожжей. С этой целью питательную среду вводят в дрожжерастильный аппарат не одновременно, а по мере использования ее дрожжами. При соблюдении этого условия получают максимальный выход дрожжей.

3.2.3. Температура

Оптимальная температура развития хлебопекарных дрожжей 30°C, некоторые культуры выдерживают температуру до 35°C, но стойкость дрожжей при хранении снижается, возрастает вероятность развития в питательной среде посторонних микроорганизмов. При повышении температуры до 36°C удельная скорость роста сахаромицетов резко понижается и практически прекращается при 40°C, наблюдается автолиз клеток, несхаромицеты при этом продолжают расти. При 55–60°C в жидкой среде дрожжи отмирают. Понижение температуры ниже 25°C замедляет процесс развития дрожжей.

Наилучшая подъемная сила хлебопекарных дрожжей достигается при температуре культивирования 30°C, более высокую бродильную активность имеют дрожжи, выращенные при 17–22°C.

Повышение температуры культивирования приводит к снижению содержания влаги в биомассе и поэтому – массы дрожжевых клеток, в результате выход дрожжей меньше ожидаемого. Повышение температуры также приводит к увеличению скорости химических и биохимических реакций, поэтому увеличивается расход питательных веществ на брожение и резко ухудшается качество продукции вследствие интенсивного размножения посторонних дрожжей и бактериальной микробиоты. Инфицирующая микробиота потребляет субстрат, предназначенный для сахаромецетов, и снижает их выход.

Минимальная температура для развития дрожжей составляет 5°C. Низкие температуры приостанавливают их жизнедеятельность, наступает состояние анабиоза с последующим восстановлением нормальных функций при благоприятных условиях.

3.2.4. Водородный показатель

Оптимальное значение рН питательной среды для размножения дрожжей 4,5–5,5. В этих условиях высока активность ферментных систем, быстро протекают процессы синтеза белков, витаминов, высокая скорость роста дрожжевых клеток. В первые часы размножения дрожжей рН рекомендуется поддерживать на уровне 4,5–4,6, а к концу процесса постепенно повышать до 5,0–5,5, что обеспечивает высокий выход и хорошую подъемную силу дрожжей. Жизнеспособность дрожжей сохраняются в пределах рН 2,5–6,5.

В период быстрого прироста биомассы и использования аммонийного азота рН резко понижается, в результате уменьшается накопление дрожжевой массы. В случае подкисления среды ниже 4,0 вместо сульфата аммония вводят аммиачный раствор, также рН корректируют подкислением раствора мелассы.

Подщелачивание среды в процессе роста дрожжей обусловлено выделением ионов аммония, которое наблюдается при недостатке питательных веществ и наступлении процессов автолиза, в частности, протеолиза. В этом случае скорость подачи раствора

мелассы и растворов солей регулируют в соответствии со скоростью роста и размножения дрожжей. При подщелачивании среды иногда нарушается фосфорное питание дрожжей. Фосфорно-кальциевые соли переходят в нерастворимые трикальциевые фосфаты, способствующие пенообразованию.

3.2.5. Аэрация воды

Аэрация в процессе культивирования решает задачи снабжения клеток кислородом, удаления образующегося углекислого газа, быстрой доставки к клеткам добавляемых питательных веществ, поддержания клеток во взвешенном состоянии. Расход кислорода среды происходит тем быстрее, чем больше в ней дрожжевых клеток. Большая потребность в кислороде молодых клеток связана с формированием безазотистых веществ клетки, на что требуется больше кислорода, чем на формирование белков.

Уровень аэрации $100\text{--}175 \text{ м}^3/(\text{м}^3\cdot\text{ч})$. На практике не удается ввести в сусло более $2 \text{ г O}_2/(\text{дм}^3\cdot\text{ч})$, это ограничивает возможность переработки более концентрированных питательных сред. Подача воздуха в аппарат должна находиться в соответствии с подачей сахара и ожидаемой скоростью размножения дрожжей. Предельная концентрация растворимого кислорода в воде при 30°C равна $6\text{--}8 \text{ мг/л}$, при прекращении аэрации этот кислород поглощается дрожжами при их концентрации в среде 50 г/л в течение 10 с .

Коэффициент использования воздуха тем выше, чем выше столб жидкости в аппарате, меньше диаметр пузырьков воздуха, выше турбулентность среды, ниже температура среды.

3.2.6. Режим культивирования

При выращивании дрожжей применяют способы культивирования, различающиеся режимом подачи питательных веществ, воздуха и длительностью процесса.

Используют периодический (бесприточный), периодический с подпиткой (воздушно-приточный) и непрерывный (воздушно-проточный) способы культивирования. Посевной материал получают периодическим способом, а товарные дрожжи – в две стадии: сначала в периодических условиях (накопительная культура), а затем в периодическом с подпиткой и непрерывном режимах.

Главной задачей при получении посевного материала и накопительной культуры является увеличение количества биомассы при сохранении чистоты культуры, поэтому использование периодического режима культивирования является необходимой мерой для обеспечения условий асептики.

Дополнительное внесение в процессе культивирования клеток дрожжей источников углерода и азота (культивирование с подпиткой) позволяет получить культуральную жидкость с большой концентрацией клеток, причем их физиологическое состояние и активность биохимических процессов выше, чем в периодическом процессе.

Воздушно-проточный способ характеризуется культивированием дрожжей с постоянной подачей воздуха и одновременным притоком питательной среды в дрожжерастильный аппарат и оттоком культуральной жидкости с биомассой дрожжей в отборочный аппарат, в котором происходит дозревание дрожжей в условиях небольшой аэрации без дополнительного питания. При этом в дрожжерастильном аппарате клетки хлебопекарных дрожжей находятся в фазе логарифмического роста, наблюдается синхронное отпочковывание дочерних клеток с коэффициентом часового прироста 1,08–1,25, устанавливается постоянное соотношение клеток по величине и ферментативной активности. Количество крупных клеток составляет 20%, средних 55% и мелких – не более 25–30%. Отборочный период может длиться довольно долго при непрерывном обеспечении дрожжевых клеток питательными и ростовыми веществами, а также кислородом в достаточном количестве и непрерывном отборе из основного дрожжерастильного аппарата прирастающей биомассы. Временное ограничение накладывается только увеличением содержания посторонней микробиоты. В отборочный аппарат не подаются компоненты питания, там дрожжевые клетки используют оставшиеся питательные вещества и завершают процесс почкования и роста, культура переходит к фазе замедления роста, метаболические процессы затухают, поэтому такие клетки более стабильны при хранении. Длительное пребывание дрожжей в бражке сопровождается усилением протеолитической активности ферментов клетки, при этом ухудшаются подъемная сила и стойкость дрожжей.

На дрожжевых заводах задача оптимизации производства (получение максимального выхода активной биомассы дрожжей) решается по-разному.

При выращивании дрожжей по схеме ВНИИХП мелас-сное сусло и растворы солей подают равномерно, соответственно ожидаемому почасовому накоплению дрожжей. Уровень жидкости и содержание дрожжей должны оставаться постоянными. Падение накопления, как и увеличение скорости отбираемой массы, приводит к вымыванию основной массы дрожжей. В таких случаях проверяют и регулируют подачу питания и воды, режим аэрации, вводят в генератор ростовые вещества, временно уменьшают отток в отборочный чан и в качестве крайней меры добавляют засевные дрожжи в основной аппарат.

В схеме Узловского завода главный экономический показатель, положенный в основу, – максимальный выход дрожжей с единицы сырья. Для этого применяют программы почасовой подачи воздуха, источника углерода и питательных солей, регулирования температуры и рН. Используются большие засевы – 30–35% к массе мелассы, а размножение сдерживают понижением температуры и уменьшением подачи кислорода в составе воздуха – для максимального использования дрожжами питательных веществ среды.

Большая эффективность использования кислорода воздуха решается за счет большой высоты столба жидкости в дрожжерастильном аппарате (устанавливаются аппараты высотой 11 м, весь полезный объем заполняется в начале процесса) и уменьшения температуры культивирования.

В схеме Эркен-Шахарского завода маточных дрожжей чистой культуры готовят ровно столько, чтобы обеспечить засев непосредственно в товарном аппарате. Их хранят в виде дрожжевого молока при температуре 2°C, перед засевом в товарный аппарат маточные дрожжи подвергают жесткой обработке при рН 1,8–2,0 в течение 30 мин.

Эркен-Шахарская схема накопления посевного материала отличается также высокими добавками азота и фосфора, на последующих стадиях дозировка уменьшается. В составе культуры в 10 раз больше трегалозы и в 15 раз больше сумма углеводов, чем в дрожжах других заводов, что обуславливает более высокую стойкость чистых культур.

При разных режимах выращивания чистой культуры они обладают различным биохимическим составом, бродильной и дыхательной стойкостью, скоростью роста (см. табл. 3.1).

Таблица 3.1

**Показатели качества дрожжей чистой культуры,
выращенных по различным схемам**

Показатель	Схема выращивания		
	ВНИИХП	Узлов- ская	Эркен-Ша- харская
Мальтазная активность, мин	116	160	95
Подъемная сила (по шарикку), мин	37	42	35
Стойкость при температуре 35°C, ч	147	74	150
Бродильная активность, см ³ /(г СВ·ч)	132	137	78

Лучшей из трех признана схема Эркен-Шахарского дрожжевого завода.

3.3. Характеристика товарных хлебопекарных дрожжей

Хлебопекарные прессованные дрожжи (ГОСТ 171-2015) выпускают в виде прямоугольных брусков с содержанием влаги 72–75% и массой 50–1000 г для розничной торговой сети и 200–1000 г для промышленной переработки и общественного питания. Брикет свежих прессованных дрожжей плотный, легко ломающийся, беловато-желтоватого цвета, иногда с серым оттенком, со специфическим запахом и вкусом без кислоты и горечи.

В 1 г прессованных дрожжей содержится 8–12 млрд живых клеток дрожжей, дозировка 0,5–4,0% по влажной массе к массе муки. Срок годности хлебопекарных прессованных дрожжей 12 сут со дня выработки, допускаются более длительные сроки годности при проведении соответствующих видов исследования, в зависимости от ассортимента продукции, применяемых технологий и сырья.

Сушеные хлебопекарные дрожжи (ГОСТ 28483-2015) получают путем обезвоживания биомассы прессованных хлебопекарных дрожжей в виде сыпучей массы светло-желтого или светло-коричневого цвета. Форма (вермишель, гранулы, мелкие зерна, кусочки, порошок или крупобразная) и размер (от долей до десятка миллиметров) сушеных дрожжей разнообразны и определяются характеристиками гранулятора и сушилки. Для получения сушеных дрожжей допускается использование эмульгаторов, антиокислителей и улучшителей качества, разрешенных к применению в пищевой промышленности. Сушеные дрожжи предназначены для использования

при приготовлении хлеба в тех случаях, когда доставка их на предприятие, сохранение прессованных дрожжей или приготовление жидких дрожжей невозможно: в длительных экспедициях, многомесячных рейсах, войсковых полевых пекарнях, на малых производствах с нестабильным, часто меняющимся ассортиментом. Рекомендуемая дозировка – 10 г сушеных дрожжей на 1 кг муки.

В зависимости от физико-химических показателей сушеные дрожжи подразделяют на две категории: активные и инстантные.

Активные сушеные хлебопекарные дрожжи имеют остаточную влажность (не более 10% для первого сорта и не более 8% для дрожжей высшего сорта), могут вноситься непосредственно в муку при замесе: для дрожжей первого сорта с активацией, для дрожжей высшего сорта с активацией и без активации. Активация сушеных дрожжей может осуществляться двумя путями:

– выдерживание в теплой воде или молоке при 38–40°C в течение 10–15 мин;

– выдерживание в теплой воде при температуре не выше 43°C в течение 30 мин, затем добавление 100 г муки и 25 г сахара. Смесь тщательно перемешивают и дают постоять 2 ч при 35°C, далее замешивают тесто, добавляя 0,5 дм³ теплой воды и 1 кг муки.

Инстантные (быстродействующие) дрожжи имеют остаточную влажность не более 6% и не нуждаются в растворении и активации – их смешивают с мукой в сухом виде. В сравнении с активными дрожжами при получении инстантных формируются гранулы меньшего размера, что снижает время сушки и ускоряет растворение сухих гранул в тесте. Сушка осуществляется в горячем воздушном потоке без повреждения клеточных мембран.

Срок годности сушеных дрожжей высшего сорта без вакуумной упаковки – 12 мес. со дня выработки, первого сорта – 5 мес. со дня выработки. Срок годности инстантных и активных сушеных дрожжей высшего сорта, упакованных в вакуумную упаковку, – 2 года со дня выработки. Допускаются более длительные сроки годности при проведении соответствующих видов исследования в зависимости от ассортимента продукции, применяемых технологий и сырья.

Дрожжевое молоко – полуфабрикат дрожжевого производства, получаемый в результате сгущения культуральной жидкости на сепараторах, вакуум-фильтрах или фильтрах-прессах. Оно представляет собой небродящую водяную суспензию жидкой консистенции

с концентрацией дрожжей 600–700 г/л по влажной массе дрожжей, при отстаивании слой дрожжевых клеток оседает на дно, цвет беловато-сероватый с желтоватым оттенком. Дрожжевое молоко отпускается близлежащим хлебозаводам в цистернах и не предназначено для длительного хранения, но дрожжевые клетки в этом жидком продукте находятся в биологически более активном состоянии, чем в прессованных дрожжах.

3.4. Контроль производства хлебопекарных дрожжей и готовой продукции

При производстве хлебопекарных дрожжей устанавливают качество мелассы по органолептическим показателям, ряду физико-химических показателей (массовая доля сухих веществ, сахарозы, суммы сбраживаемых сахаров, азота, калия, магния, кальция, цветности, летучих кислот, минеральных компонентов, рН), микробиологическим показателям (общее количество мезофильных, аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, общее количество мицелиальных грибов).

В процессе получения посевного материала и культивирования дрожжей в посевном материале и культуральной жидкости устанавливают содержание сухих веществ, температуру, рН, формольное число, микроскопирование с подсчетом почкующихся клеток, концентрацию дрожжей по абсолютно сухой биомассе. В культуральной жидкости дополнительно контролируют чистоту культуры и подъемную силу.

На стадиях сепарирования и прессования устанавливают наличие дрожжевых клеток в фугате и фильтрате, а также кислотность дрожжевого молока.

Для оценки санитарного состояния производства микроскопируют смывы с рук, оборудования и инвентаря для установления наличия дрожжевых клеток в поле зрения, делают высев этих смывов, а также воды для обнаружения присутствия бактерий группы кишечной палочки, методом прямого посева определяют общую обсемененность воды и воздуха.

Анализ качества товарных дрожжей на производстве осуществляют по органолептическим и физико-химическим показателям, а также по показателям безопасности, включая микробиологические

показатели. Характеристика требований по органолептическим показателям словесная.

К органолептическим показателям, определяемым при установлении качества прессованных дрожжей, относят цвет, консистенцию, запах, вкус. Физико-химические показатели их качества включают влажность, подъемную силу, осмоустойчивость, кислотность 100 г дрожжей в день выработки и на 12 сут хранения, стойкость, содержание общего азота и фосфора. Для оценки безопасности дрожжей устанавливают содержание радионуклидов и солей тяжелых металлов (Cu, Pb, Hg, Cd, As). Определение влажности хлебопекарных дрожжей можно проводить с применением арбитражного метода или одного из двух ускоренных способов с использованием специальных аппаратов – влагомера контактной сушки (по методу Чижовой) либо электронного анализатора влажности. Микробиологические показатели качества прессованных дрожжей включают установление присутствия бактерий группы кишечной палочки, бактерий рода *Salmonella*, а также *Staphylococcus aureus*.

Контроль качества сушеных хлебопекарных дрожжей производят по показателям тех же групп. Для сушеных хлебопекарных дрожжей в числе органолептических показателей оценивают внешний вид, цвет, запах, вкус, физико-химических – влажность и подъемную силу. Для оценки безопасности и установления микробиологических показателей используют тот же перечень показателей, что и для прессованных дрожжей.

Предусмотрено определение органолептическим способом таких показателей дрожжевого молока, как вкус, запах, цвет и консистенция. Концентрация дрожжей в 1 л дрожжевого молока в пересчете на дрожжи влажностью 75% должна быть не менее 450 г. Дрожжи, суспендированные в дрожжевом молоке, должны соответствовать требованиям ГОСТ 171-2015 по влажности и подъемной силе.

Влажность дрожжей определяет их стойкость при хранении.

Подъемная сила характеризует способность дрожжей разрыхлять тесто в результате выделения газообразного продукта спиртового брожения – углекислого газа. Подъемная сила дрожжей зависит от активности зимазного комплекса дрожжевых клеток, наличия сбраживаемых углеводов в тесте и реологических свойств теста, во многом определяемых составом муки и свойствами клейковины.

Осмоустойчивость – способность дрожжевых клеток не снижать бродильную активность в среде с повышенным осмотическим давлением (в тесте с добавлением соли, жира, сахара). Осмоустойчивые дрожжи более чувствительны к изменению температуры в процессе культивирования, стойки при хранении и пригодны для сушки, хорошо сбраживают тесто с повышенным содержанием растворимых сухих веществ.

Высокая кислотность свидетельствует о зараженности дрожжей кислотообразующими бактериями.

Показатель стойкости дрожжей характеризует их сохранность. На стойкость дрожжей оказывают влияние их влажность, присутствие посторонней микробиоты, химический состав дрожжей (с увеличением содержания белка и влажности стойкость дрожжей понижается).

Отметим, что ГОСТ 171-2015 и ГОСТ 28483-2015 не предусматривают определения ряда свойств прессованных и сушеных дрожжей, существенных в хлебопекарном отношении: содержания в прессованных дрожжах глутатиона, мальтазной и зимазной активности, чистоты культуры.

Глутатион представляет собой трипептид (глутамилцистеинилглицин), несущий отрицательный заряд и из-за малой молекулярной массы способный выходить за пределы клетки, в том числе – в результате автолиза белковых веществ и выхода продуктов их распада за пределы клеточных стенок при хранении дрожжей. При присоединении его к SH-группам белков их конформация изменяется, что повышает интенсивность протеолиза и в конечном может привести к изменениям свойств клейковины муки.

Зимазная, инвертазная и мальтазная активность – показатели ферментативной активности гликолитического комплекса дрожжей, имеют существенное значение при брожении теста. Зимазная активность – это скорость сбраживания глюкозы, инвертазная – сахарозы, мальтазная активность – скорость сбраживания мальтозы. Многие исследователи рассматривают инвертазную активность как один из вариантов зимазной.

При кратковременном сбраживании теста из муки наличие моно- и дисахаридов в муке оказывается достаточным, чтобы обеспечить подъем теста. Если содержание легко сбраживаемых сахаров в тесте меньше и процесс длится значительно дольше, чем до первого подъема теста, то после использования этих сахаров


дрожжевые клетки испытывают недостаток в углеводах, так как накопившуюся в тесте мальтозу они не могут усвоить.

Мальтазная и зимазная активность прессованных дрожжей колеблется в широких пределах в зависимости от ряда факторов. Высокая активность мальтазы не всегда соответствует высокой суммарной сбраживающей способности дрожжей, нет закономерной связи между величиной активности зимазного комплекса и мальтазой. В условиях низких положительных температур дрожжи сохраняют свои технологические свойства (мальтазную и зимазную активность, подъемную силу) в течение 10–12 сут, при более высокой температуре хранения потеря подъемной силы происходит быстрее.

Для оценки зимазной и мальтазной активностей используют различные методы. Применяемая в настоящее время на отечественных заводах методика определения ферментной активности дрожжей основана на учете времени, в течение которого суспензия дрожжей выделит заданное количество углекислого газа из соответствующего раствора сахара, объем газа измеряют по объему вытесненной им жидкости. В других методиках заложена оценка количества выделяющегося углекислого газа по избыточному давлению с использованием манометров, путем измерения его объема (волюмометрический, микрогазометрический способы), по уравнению спиртового брожения в зависимости от содержания в тесте этилового спирта, также применяют упрощенные методы (с медицинским шприцем и резиновым напальчником).

Прессованные хлебопекарные дрожжи должны быть технически чистой культурой, однако практически прессованные дрожжи, вырабатываемые большинством дрожжевых заводов, в большей или меньшей мере содержат также посторонние дрожжевые грибы (родов *Candida*, *Torulopsis* и др.), которые, хотя и увеличивают выход товарного продукта, но резко снижают бродильную активность прессованных дрожжей и их стойкость при хранении. Определение процентного содержания микроорганизмов с использованием плотных питательных сред проводят в случае резкого ухудшения подъемной силы и при снижении стойкости прессованных дрожжей. Устанавливают общее количество дрожжей и грибов, в том числе хлебопекарных дрожжей, дрожжей-контаминантов, относящихся и не относящихся к роду *Saccharomyces*, общее количество инфицирующих бактерий, в том числе кислотообразующих, слизиобразующих, гнилостных.

3.5. Лабораторная работа. Оценка качества прессованных и сушеных хлебопекарных дрожжей

 **Цель работы:** освоение методов установления качества прессованных и сушеных хлебопекарных дрожжей по физико-химическим, биохимическим и микробиологическим показателям.

Объектом исследования могут быть прессованные и сушеные товарные хлебопекарные дрожжи разных производителей. Перед оценкой качества сушеных хлебопекарных дрожжей их активируют (п. 3.3).

3.5.1. Установление органолептических показателей качества хлебопекарных дрожжей



Материалы: прессованные и сушеные дрожжи.



Проведение анализа. Консистенция для прессованных дрожжей, форма для сушеных дрожжей, цвет всех товарных форм дрожжей определяются органолептическим и визуальным контролем при рассеянном дневном освещении или при свете люминесцентных ламп. Запах и вкус прессованных и сушеных дрожжей определяется органолептическим контролем при температуре 20°C.

Консистенция прессованных дрожжей должна быть плотной, однородной. При разломе брусок прессованных дрожжей должен легко крошиться и ломаться, а не мазаться.

Сухие дрожжи могут иметь форму мелких зерен, кусочков или гранул, допускается содержание в них до 10% пылевидных частиц.

Цвет прессованных дрожжей должен быть равномерным, без пятен, светлым, допускается сероватый или кремоватый оттенок, темные пятна на поверхности бруска недопустимы. Цвет сухих дрожжей должен быть светло-желтый или светло-коричневый.

У хлебопекарных дрожжей характерный запах, слегка напоминающий фруктовый; запах плесени или другой посторонний запах свидетельствует о их некачественном состоянии.

Дрожжи должны иметь специфический вкус, свойственный прессованным или сушеным дрожжам, без постороннего привкуса.

3.5.2. Определение массовой доли влаги хлебопекарных дрожжей арбитражным методом

Массовую долю влаги в дрожжах определяют высушиванием их до постоянной массы.



Материалы и оборудование: прессованные дрожжи, бюкс, весы технические, весы аналитические, шпатель, нож или сетка с диаметром отверстий 2–3 мм, ступка фарфоровая и пестик, сушильный шкаф с температурой в рабочей зоне высушивания 105°C, тигельные щипцы, эксикатор, стаканчики для взвешивания (бюксы).



Проведение анализа. Пустые бюксы помещают в сушильный шкаф, предварительно нагретый до температуры 105°C, высушивают до постоянной массы и взвешивают.

Часть средней пробы прессованных дрожжей (не менее 10 г) измельчают ножом или сеткой, отбирают две анализируемые пробы по 1,5 г с погрешностью не более 0,01 г каждая в заранее высушенные и взвешенные металлические или стеклянные бюксы и сушат в сушильном шкафу в открытых бюксах при температуре 105°C до постоянной массы.

Первое взвешивание проводят после 4 ч высушивания, второе и последующие – с интервалом в 1 ч. Перед каждым взвешиванием бюксы закрывают крышками и переносят в эксикатор для охлаждения не менее чем на 20 мин и не более чем на 2 ч.

Постоянной считают массу, при достижении которой разница между двумя взвешиваниями не превышает 0,001 г.

Массовую долю влаги X , %, вычисляют по формуле

$$X = \frac{m - m_1}{m - m_2} \cdot 100,$$

где m – масса навески с бюксом до высушивания, г;

m_1 – масса навески с бюксом после высушивания, г;

m_2 – масса пустого сухого бюкса, г.

За окончательный результат анализа принимают среднеарифметическое результатов двух параллельных определений, допускаемое расхождение между которыми не должно превышать 0,5%.

Влажность прессованных дрожжей высшего сорта не должна превышать 73%, первого сорта – 75%. Влажность сушеных инстантных, сушеных активных высшего сорта и сушеных активных первого сорта не должна превышать 6, 8 и 10% соответственно.

3.5.3. Установление подъемной силы хлебопекарных дрожжей

Определение подъемной силы хлебопекарных дрожжей можно проводить арбитражным (по скорости подъема теста, замешенного по определенной рецептуре и помещенного в формочку установленных стандартом размеров, в термостате на определенную высоту) и ускоренным (по времени всплывания шарика из теста в стакане с водой, помещенном в термостат) методами. Чем быстрее дрожжи поднимают тесто (соответственно – чем меньше время им для этого требуется при одинаковом составе теста и дозе дрожжей), тем их качество выше.

3.5.3.1. Установление подъемной силы хлебопекарных дрожжей арбитражным методом



Оборудование и посуда: весы технические с точностью измерений 0,01 г, суховоздушный термостат с температурой 35°C, чашка эмалированная хозяйственная или тестомесильная машина лабораторная, металлическая форма для выпекания хлеба, представляющая собой в продольном и поперечном разрезе трапецию следующих внутренних размеров, мм: 143×92 – верхнее основание, 126×85 – нижнее основание, 85 – высота; секундомер, термометр с диапазоном температур от 0–50°C, ценой деления шкалы 1°C; цилиндры на 100 и 250 см³, фарфоровые чашки и пестики.



Материалы: мука пшеничная второго сорта с влажностью 14,5%, растительное масло, поваренная соль, прессованные хлебопекарные дрожжи.



Проведение анализа. В суховоздушный термостат с температурой 35°C помещают на 2 ч 280 г пшеничной муки, 160 см³ 2,5%-ного водного раствора поваренной соли (раствор готовят на воде из водопровода), чашку эмалированную хозяйственную и металлическую форму, смазанную растительным маслом.

От средней пробы дрожжей отбирают и на технических весах взвешивают 5 г прессованных дрожжей и переносят в фарфоровую чашку, затем приливают 15–20 см³ приготовленного раствора поваренной соли и перемешивают до исчезновения комочков.

Разведенные дрожжи переносят в эмалированную хозяйственную чашку или в тестомесильную машину.

Оставшимся раствором поваренной соли ополаскивают фарфоровую чашку и переносят его в эмалированную хозяйственную чашку, после чего туда же добавляют 280 г согретой пшеничной муки. Этот момент отмечают по песочным часам или секундомеру и в течение 5 мин интенсивно замешивают тесто. Затем тесту придают форму батона по размеру формочки и переносят в подготовленную (нагретую в термостате до 35°C и смазанную растительным маслом) металлическую форму. На длинные борта формы навешивают поперечную железную перекладину, входящую в форму на 1,5 см. Форму переносят в суховоздушный термостат на 35°C и фиксируют время. Как только тесто коснется нижнего края перекладины, вновь отмечают время.

Подъемная сила дрожжей характеризуется временем (в минутах), прошедшим с момента внесения теста в форму до момента прикосновения его к нижнему краю перекладины, т. е. подъемом теста до 70 мм. Прессованные дрожжи высшего сорта в день выработки должны иметь подъемную силу не более 50 мин, первого сорта – не более 60 мин.

Определение подъемной силы сушеных дрожжей проводят аналогично, отличие состоит в меньшей навеске дрожжей и в предварительной активации. Для этого 2,5 г сушеных дрожжей переносят в маленькую фарфоровую чашку, затем приливают 30 см³ питьевой воды, предварительно нагретой до температуры 43°C и помещают в суховоздушный термостат с температурой 35°C на 30 мин. К смеси добавляют 15 г пшеничной муки, перемешивают до исчезновения комочков. Дозировка воды, муки и соли та же, что и в методике для установления подъемной активности прессованных дрожжей, за вычетом уже внесенных ингредиентов (30 см³ воды и 15 г муки).

Сушеные инстантные дрожжи в день выработки должны иметь подъемную силу не более 35 мин, сушеные активные дрожжи высшего сорта – не более 45 мин, сушеные активные дрожжи первого сорта – не более 60 мин.

3.5.3.2. Установление подъемной силы хлебопекарных дрожжей ускоренным методом. Ускоренный метод применяют для внутрипроизводственного контроля жидких дрожжей, заквасок и полуфабрикатов теста. Быстротой подъема считают количество минут, прошедших со времени опускания шарика теста в воду до момента его всплывания. Всплывание происходит тем скорее, чем быстрее увеличивается объем теста. Плотность свежесмешанного

теста около $1,4 \text{ г/см}^3$. В процессе брожения она уменьшается за счет выделения и накопления углекислого газа. Когда плотность шарика станет меньше единицы, он всплывает.



Оборудование и посуда: весы технические с точностью измерений $0,01 \text{ г}$, суховоздушный термостат с температурой 35°C , стакан химический, шпатель или стеклянная палочка, пестик, пипетки стеклянные, термометр жидкостной стеклянный с диапазоном температур от $0-50^\circ\text{C}$ и ценой деления шкалы 1°C .



Материалы: мука пшеничная второго сорта с влажностью $14,5\%$, соль поваренная пищевая, хлебопекарные дрожжи.



Проведение анализа. От средней пробы прессованных дрожжей отбирают и на технических весах взвешивают $0,31 \text{ г}$ дрожжей, переносят в фарфоровую чашку, приливают $4,8 \text{ см}^3$ приготовленного $2,5\%$ -ного раствора поваренной соли, нагретого до 35°C , и тщательно перемешивают шпателем или пестиком. К полученному раствору добавляют $7,0 \text{ г}$ муки, замешивают тесто и придают ему форму шарика, который не должен прилипать к рукам. Шарик теста опускают в стакан с водой, нагретой до температуры 35°C , и помещают в термостат с той же температурой. Отмечают время погружения и всплытия шарика. Время подъема шарика теста нужно умножить на коэффициент $3,5$ для перевода в количество минут, определенное стандартным методом.

Подъемная сила дрожжей характеризуется временем, прошедшим с момента опускания шарика в воду до момента его всплытия. Время подъема шарика в минутах умножают на коэффициент $3,5$, полученный эмпирически, для определения подъемной силы.

У качественных прессованных дрожжей промежуток времени между опусканием шарика и его всплытием должен быть $8-10$ (до 20) мин. Если подъем шарика происходит после 24 мин, качество дрожжей признается неудовлетворительным.

3.5.4. Установление осмоустойчивости хлебопекарных дрожжей

Для оценки осмоустойчивости дрожжей применяется метод оценки подъемной силы в тесте без внесения поваренной соли и с добавлением соли по скорости всплывания шарика теста, о величине осмоустойчивости судят по разности этих показателей.



Материалы и оборудование: прессованные дрожжи, мука, 3,35%-ный раствор хлорида натрия, часы, термостат, термометр, стакан вместимостью 200 см³, фарфоровые чашки и пестики.



Проведение анализа. Для определения осмоустойчивости и подъемной силы ускоренным методом на технических весах берут две навески испытуемых дрожжей по 0,31 г каждая.

К первой навеске добавляют 4,8 мл водопроводной воды, нагретой до 35°C, тщательно размешивают с помощью шпателя или пестика в фарфоровой чашке либо ступке, добавляют муку 85%-ного помола от 6,5 до 7,5 г (в зависимости от ее влажности) и быстро замешивают тесто, придавая ему форму шарика, не прилипающего к рукам.

Ко второй навеске добавляют 4,8 см³ 3,35%-ного раствора поваренной соли, нагретого до 35°C, и далее поступают так же, как с первой навеской.

Шарики опускают в стакан или цилиндр с водой при температуре 35°C, засекают время и поддерживают эту температуру до всплытия шариков. Шарик, замешанный на воде без соли, всплывает быстрее.

Разница в подъемной силе дрожжей в зависимости от осмотического давления среды, выраженная в минутах, характеризует осмоустойчивость, которую рассматривают как косвенный показатель стойкости дрожжей.

Дрожжи считают осмоустойчивыми, если разность во времени подъема теста с солью и без нее составляет не более 10 мин, высокочувствительными – при разности более 20 мин. Дрожжи с осмоустойчивостью в пределах 10–15 мин стойки при хранении и вполне пригодны для сушки.

3.5.5. Установление кислотности хлебопекарных дрожжей

Кислотность устанавливают путем титрования навески дрожжей раствором щелочи.



Средства измерений, посуда: весы лабораторные технические, колба для титрования коническая объемом 250 см³, бюретка, стаканы лабораторные.



Материалы и реактивы: прессованные хлебопекарные дрожжи, 0,1 н. раствор гидроксида натрия, 1%-ный спиртовой раствор фенолфталеина, вода дистиллированная.



Проведение анализа. От средней пробы отбирают и взвешивают на технических весах 10 г дрожжей. Навеску переносят в сухую коническую колбу, добавляют 50 см³ дистиллированной воды, тщательно перемешивают, взбалтывая до получения однородной массы, и титруют 0,1 н. раствором гидроксида натрия в присутствии индикатора фенолфталеина (3–4 капли) до появления розового окрашивания.

Кислотность дрожжей в пересчете на уксусную кислоту H , мг на 100 г дрожжей, вычисляют по формуле

$$H = \frac{V \cdot 6 \cdot 100 \cdot K}{10},$$

где V – объем 0,1 н. раствора гидроксида натрия, израсходованный на титрование 10 г прессованных хлебопекарных дрожжей, см³;

6 – масса уксусной кислоты, соответствующая 1 см³ 0,1 н. раствора гидроксида натрия, мг;

K – поправочный коэффициент к титру 0,1 н. раствора гидроксида натрия.

Вычисление проводят с точностью до целого числа.

Кислотность прессованных дрожжей в день выпуска не должна превышать 55 и 90 мг/100 г для дрожжей высшего и первого сорта соответственно, а после 12 сут хранения или транспортировки при температуре от 0 до 4°С – не более 300 мг/100 г дрожжей. Кислотность сушеных дрожжей не регламентируется.

3.5.6. Определение стойкости прессованных хлебопекарных дрожжей

Метод определения стойкости прессованных дрожжей при хранении основан на выдерживании их в термостате до полного размягчения (разжижения) бруска, стойкость дрожжей выражается в единицах времени. Разработан, но не стандартизован альтернативный метод оценки стойкости дрожжей по изменению вязкости массы дрожжей с применением пенетрометра.



Материалы и оборудование: товарные хлебопекарные дрожжи в форме брикета массой 1,0 кг, суховоздушный термостат с температурой в рабочей камере 35°C.



Проведение анализа. Взятый из выборки в день выработки брикет дрожжей, предварительно охлажденный до 4°C, помещают в термостат при температуре (35 ± 2) °C и выдерживают до полного размягчения.

Время, прошедшее с момента помещения брикета дрожжей в термостат до размягчения, характеризует стойкость дрожжей и выражается в часах.

3.5.7. Установление зимазной и мальтазной активности хлебопекарных дрожжей

Зимазную и мальтазную активность определяют по скорости сбраживания дрожжами глюкозы и мальтозы соответственно. Количественным критерием активности этих ферментных комплексов служит время в минутах, необходимое для выделения 10 см³ углекислого газа при сбраживании 10 см³ 5%-ного раствора сахара дрожжами, взятыми в количестве 2,5% к объему среды, при 30°C.



Материалы и оборудование: прессованные и сушеные хлебопекарные дрожжи, суховоздушный термостат с температурой в рабочей камере 30°C, термометр с диапазоном измерения 0–50°C, весы технические, микрогазометрический прибор Елецкого (альтернативно – пробирка объемом 40 см³ с резиновым напальчником), мерный цилиндр, пипетки, стакан вместимостью 200 см³, фарфоровые чашки и пестики.

Микрогазометрический прибор Елецкого (схематическое изображение представлено на рис. 3.1) состоит из стаканчика 1 и манометрической крышки, соединяемых при помощи шлифованной поверхности. Внутренний диаметр стаканчика 50 мм, высота – 60 мм. Манометрическая крышка состоит из чашки 2 с внешним диаметром 50 мм и высотой 25 мм, а также измерительной трубки 3 высотой 250 мм и внутренним диаметром 8–10 мм. В манометрической крышке имеется изогнутая газоотводная трубка 4 с внутренним диаметром 3 мм, снабженная трехходовым краном 5, при помощи которого газоотводная труба соединяется как с внутренней камерой газомера – стаканчиком, так и с внешней средой.

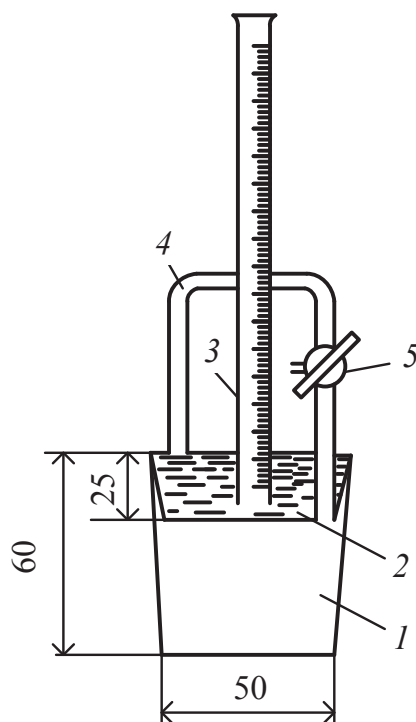


Рис. 3.1. Микрогазометрический прибор Елецкого:
1 – стаканчик; 2 – чашка; 3 – измерительная трубка;
4 – газотводная трубка; 5 – трехходовой краник

Перед началом работы в манометрическую крышку заливают насыщенный раствор поваренной соли, подкрашенный метиленовым синим. Раствор наливают до основания измерительной трубки, и этот уровень принимают за ноль, все шлифы смазывают вазелином. Измерительную трубку градуируют с точностью до 1 см³.



Материалы и реактивы: прессованные дрожжи, мука, 2,5%-ный раствор хлорида натрия, 10%-ный раствор мальтозы, 10%-ный раствор глюкозы (или сахарозы), водопроводная вода.



Проведение анализа. При проведении анализа с использованием микрогазометрического прибора Елецкого навеску прессованных дрожжей 0,25 г помещают в стаканчик прибора Елецкого, наливают 5 см³ водопроводной воды с температурой 30°C и тщательно перемешивают. К полученной суспензии дрожжей добавляют 5 см³ 10%-ного раствора одного из сахаров и быстро закрывают стаканчик манометрической крышкой.

В начале анализа трехходовой кран прибора Елецкого устанавливают в положение *a* (рис. 3.2, *a*) для выравнивания давления в стакане *1* с атмосферным. Для выравнивания давления внутри прибора

(в стакане 1 и чашке 2) с атмосферным кран переводят в положение б (рис. 3.2, б). Затем его ставят в положение в (рис. 3.2, в), герметизируя внутреннее пространство стакана 1 и газоотводной трубки 4, снабженной гидрозатвором. Прибор помещают в термостат при температуре 30°C. Засекают время и наблюдают за прибором, пока не выделится 10 см³ диоксида углерода и жидкость в измерительной трубке 3 не поднимется на соответствующую высоту.

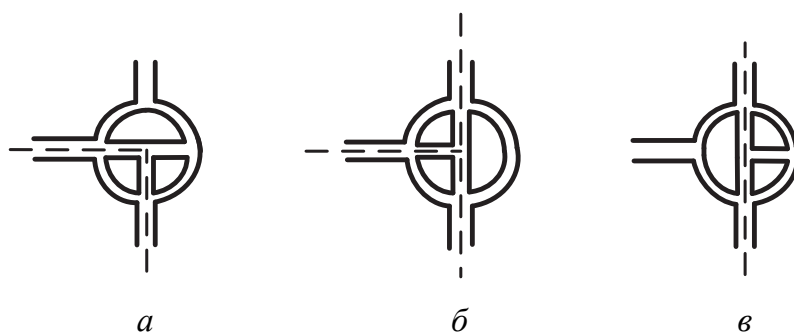


Рис. 2. Варианты положения трехходового крана микрогазометрического прибора Елецкого

После окончания анализа кран на газоотводной трубке 4 переводят в положение б, чтобы жидкость в измерительной трубке 3 опустилась, и разъединяют манометрическую крышку и стаканчик 1.

При проведении анализа с использованием пробирки объемом 40 см³ с резиновым напальчиком навеску прессованных дрожжей 0,25 г помещают в пробирку объемом 40 см³, наливают 5 см³ водопроводной воды с температурой 30°C и тщательно перемешивают. На резиновый напальчик наносят метку, соответствующую уровню 10 см³ налитой в него воды. К полученной суспензии дрожжей добавляют 5 см³ 10%-ного раствора одного из сахаров и быстро надевают на пробирку резиновый напальчик. Нанесенная метка должна совпадать с верхним краем пробирки. Внешнюю поверхность верхней части пробирки смачивают водой или смазывают вазелиновым маслом для хорошего прилегания напальчика. Свободный объем напальчика сдувают таким образом, чтобы его свободная часть была вровень с верхним краем пробирки.

Собранную таким образом закрытую пробирку с содержимым помещают в термостат при температуре 30°C. Засекают время и наблюдают, пока напальчик не будет полностью расплавлен (выделится 10 см³ диоксида углерода).

Зимазная активность качественных прессованных дрожжей должна составлять менее 60 мин, неудовлетворительного качества – 80 и более минут. Мальтазная активность качественных прессованных дрожжей должна составлять менее 110 мин, неудовлетворительного качества – 160 и более минут.

3.5.8. Микробиологический анализ качества хлебопекарных дрожжей

Микробиологический анализ хлебопекарных дрожжей включает определение морфологических характеристик дрожжевых клеток, количества мертвых клеток, способности дрожжей к размножению, физиологического состояния дрожжей и оценку их биологической чистоты путем микроскопирования фиксированного окрашенного препарата и высева разведений на элективные питательные среды.

Качество дрожжей оценивается по величине и однородности клеток, содержанию в них гликогена, способности клеток к размножению, процентному содержанию мертвых клеток, наличию в дрожжах посторонней микрофлоры. Для идентификации посторонней микрофлоры используют культуральные признаки, форму клеток и тип размножения.



Материалы и оборудование: прессованные дрожжи, музейные культуры дрожжей, предметные стекла, покровные стекла, микробиологические петли, чашки сливные, мостики, красители (раствор метиленового голубого или водный раствор основного фуксина), раствор Люголя, кусочек твердого мыла (либо этанол, либо 10%-ный раствор щелочи) для обезжиривания стекла, вода для смыва красителя, фильтровальная бумага, карандаш или маркер по стеклу, спиртовка, спички, микроскоп, иммерсионное масло, стерильная водопроводная вода или стерильный физиологический раствор для приготовления разведений, пробирки биологические, чашки Петри, пипетки, плитка, суховоздушный термостат.

Питательные среды для выявления определенных групп дрожжеподобных грибов: питательный или мясопептонный агар, сусло-агар, синтетическая среда с лизином, среда с ацетатом, сусло-агар с мелом и нистатином.

Синтетическая среда с лизином для выявления несовершенных дрожжей. На 1 л водопроводной воды берут, г/л: глюкоза – 50, сульфат магния – 1, дигидрофосфат калия – 2, лактат калия

в виде 50% раствора – 12 г, L(+) моногидрат лизина – 1, витаминный раствор (на 100 см³ стерильной дистиллированной воды добавляют (в граммах) инозитола – 2, пантотената кальция – 0,4, никотиамида – 0,5, хлоргидраттиамина – 0,1), агара – 20. рН среды составляет 5,0–5,2. Стерилизуют при 0,1 МПа в течение 15 мин.

Среда с ацетатом для обнаружения несовершенных дрожжей. На 1 л водопроводной воды берут, г/л: ацетат натрия – 10, хлорид аммония – 10, глюкоза – 5, жидкий дрожжевой автолизат – 3. Стерилизуют при давлении 0,05 МПа в течение 30 мин.

Сусло-агар с мелом и нистатином для обнаружения кислотогенных бактерий. Солодовое сусло установленной концентрации и рН уплотняют 2%-ным агаром, вносят мел в концентрации 3%, стерилизуют при 0,12 МПа в течение 30 мин. Нистатин в виде водно-спиртового раствора вносят в среду в концентрации 40–60 ед./см³ среды следующим образом: в стерильные чашки Петри вносят 1 см³ раствора нистатина, заливают расплавленный и остуженный до 43–45°С сусло-агар с мелом и хорошо перемешивают.

3.5.8.1. Оценка строения и формы дрожжевых клеток, количества мертвых клеток и способности дрожжей к размножению. Для установления морфологических характеристик хлебопекарных дрожжей, выявления и подсчета мертвых и активно размножающихся клеток готовят препарат «раздавленная капля» и микроскопируют его. На сухом обезжиренном предметном стекле смешивают каплю водопроводной воды и маленький кусочек пресованных дрожжей для получения негустой суспензии, затем на предметное стекло наносят небольшую каплю раствора метиленового голубого или фуксина. Покровное стекло ставят на ребро у края капли и постепенно опускают, стараясь, чтобы между стеклами не образовались пузырьки воздуха. Излишек жидкости удаляют фильтровальной бумагой. Приготовленный препарат исследуют под микроскопом через 3–5 мин после окраски при увеличении в 400–600 раз (объектив ×40), просматривают несколько полей зрения.

Дрожжи должны иметь форму и размеры, соответствующие применяемой расе. Клетки должны быть близки по размеру, с тонкой оболочкой, однородной или мелкозернистой цитоплазмой, небольшими вакуолями. Наличие большого количества морфологически измененных клеток в сочетании с пониженной бродительной активностью свидетельствует о дегенерации культуры. Оболочка

в виде утолщенного ободка, зернистая цитоплазма, крупные вакуоли и отсутствие почкующихся клеток характеризуют старую культуру.

Процентное содержание мертвых клеток определяют по отношению ко всем клеткам. Раствор метиленового голубого окрашивает мертвые клетки в синий цвет, раствор фуксина – в красный. В живых клетках наблюдается частичное окрашивание. Дрожжи хорошего качества содержат не более 5% мертвых клеток.

Способность дрожжей к размножению оценивают по числу почкующихся клеток. Активные дрожжи из культуральной жидкости содержат 40–70% клеток с почками.

3.5.8.2. Определение физиологического состояния дрожжей. Физиологическое состояние дрожжей определяют по их упитанности путем оценки содержания гликогена. При недостаточном питании гранулы гликогена исчезают. В нормальных упитанных клетках 70–75% клеток содержат гликоген. Меньшее количество клеток с гликогеном свидетельствует о старости культуры, недостаточном питании.

На сухом обезжиренном предметном стекле смешивают каплю водопроводной воды и маленький кусочек прессованных дрожжей для получения негустой суспензии, затем на предметное стекло наносят 2–3 капли 0,5%-ного раствора йода или раствора Люголя, накрывают покровным стеклом, излишки удаляют фильтровальной бумагой. При обработке клеток раствором Люголя цитоплазма дрожжей окрашивается в светло-желтый цвет, гранулы гликогена – в красно-бурый. Препарат рассматривают под микроскопом через 5–6 мин после окраски при увеличении в 400–600 раз (объектив $\times 40$). Просматривают несколько полей зрения, подсчитывая количество клеток с гликогеном и общее число клеток, рассчитывают процентное содержание клеток с гликогеном.

3.5.8.3. Определение биологической чистоты дрожжей путем микроскопирования. На обезжиренное предметное стекло в каплю стерильной водопроводной воды наносят исследуемый материал, равномерно распределяют его петлей на площадь 1–2 см² в виде тонкого ровного слоя. Препарат сушат при комнатной температуре или в теплом восходящем потоке воздуха без перегрева стекла, затем фиксируют термическим методом – для этого препарат мазком вверх три-четыре раза проносят через среднюю часть

пламени спиртовки. Окраску препарата проводят метиленовым голубым в течение 3–5 мин либо фуксином – 1–2 мин. По окончании окрашивания препарат промывают водой, высушивают на воздухе и микроскопируют при увеличении в 900–1500 раз (объектив $\times 90$ или $\times 100$).

В правильно приготовленном и окрашенном препарате поле зрения остается неокрашенным, окрашиваются только клетки микроорганизмов. При окраске метиленовым голубым на светло-голубом фоне видны окрашенные в синий цвет дрожжи и те формы бактерий, которые содержатся в исследуемом препарате. При использовании фуксина микроорганизмы окрашиваются в красный цвет. В двадцати полях зрения просматривают клетки и среди них отмечают клетки бактерий и «диких» дрожжей (не характерных для данного производства), подсчитывают их количество и общее количество всех клеток в поле зрения.

3.5.7.4. Определение биологической чистоты дрожжей путем высева разведений на селективные питательные среды. Определение численности и группового состава микроорганизмов проводят путем высева разведений прессованных дрожжей в стерильном физиологическом растворе на питательные среды. Численность микроорганизмов устанавливают поверхностным посевом разведений прессованных дрожжей на плотные питательные среды в чашках Петри.

Посевы проводят по схеме, представленной в табл. 3.2, и инкубируют при температуре 30°C 2–3 сут.

Таблица 3.2

Посев разведений прессованных хлебопекарных дрожжей на селективные среды для выявления определенных групп микроорганизмов

Группа микроорганизмов	Питательная среда, вид посева	Разведение
Общее количество дрожжей	Сусло-агар	10^{-7} – 10^{-8}
Дрожжи, не относящиеся к роду <i>Saccharomyces</i>	Синтетическая среда с лизином	10^{-6} – 10^{-8}
Дрожжи, относящиеся к роду <i>Saccharomyces</i>	Среда с ацетатом (перед посевом исследуемые пробы прогревают 20 мин при температуре 50°C)	10^{-6} – 10^{-8}
Общее количество бактерий	Питательный или мясо-пептонный агар	10^{-5} – 10^{-7}
Кислотообразующие бактерии	Сусло-агар с нистатином и мелом	10^{-5} – 10^{-7}

Выросшие колонии рассматривают невооруженным глазом и подсчитывают для расчета их количества на 1 г прессованных дрожжей, при необходимости рассматривают с помощью лупы или при малом увеличении микроскопа. Выбирают и описывают характерные для каждой группы выделяемых микроорганизмов хорошо изолированные колонии, указав все характерные морфологические и культуральные признаки роста (приведены в табл. 3.3).

Таблица 3.3

Признаки для составления описания колоний дрожжей

Критерий	Морфологический или культуральный признак колонии
Размер	Диаметр в миллиметрах (если колонии не превышают 1 мм, то они называются точечными)
Форма	Округлая, округлая с валиком по краю, неправильная, мицелиевидная, ризоидная, амёбовидная, складчатая, нитевидная, концентрическая, сложная
Цвет	Белый, желтый
Поверхность	Гладкая, складчатая, шероховатая, бугристая
Оптические	Прозрачная, полупрозрачная, непрозрачная, блестящая, матовая
Профиль	Плоский, слабовыпуклый, кратерообразный, каплевидный, конусовидный
Край	Ровный, извилистый, зубчатый, волнистый, нитчатый
Консистенция	Маслянистая, тестообразная, пленчатая, вязкая
Структура	Однородная, волокнистая, зернистая

Для проверки морфологической однородности клеток и подтверждения соответствия выделенной группе микроорганизмов из отобранных и описанных колоний готовят препараты фиксированных окрашенных клеток и исследуют их с использованием иммерсионной системы.

Для окраски берут любой краситель (фуксин или метиленовый голубой). Микрокартину зарисовывают.

Используя табл. 3.4 и 3.5, а также составленные описания колоний и результаты микроскопирования, предполагают принадлежность выявленных культур дрожжей к определенному виду и роду.

Таблица 3.4

**Строение и форма колоний хлебопекарных дрожжей
и дрожжей-контаминантов**

Наименование дрожжей	Характеристика колоний на плотной среде
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Кремовые или коричневато-кремовые колонии, пастообразные, обычно с ровной, гладкой поверхностью с блестящими или тусклыми секторами, край колоний цельный, иногда лопастный
<i>Saccharomyces pastorianum</i>	Бело-кремовые, гладкие или слабосморщенные, блестящие
<i>Brettanomyces sp.</i>	Белые или кремовые колонии, от выпуклых до слегка конусообразных, круглые с ровным краем
<i>Hansenula sp.</i>	Белые, гладкие, маслянистые, блестящие, цельные колонии или серые, матовые, морщинистые с зубчатыми краями
<i>Pichia sp.</i>	Желтоватые колонии, сморщенные или гладкие, блестящие
<i>Saccharomycopsis sp.</i>	Белые, крупные, с приподнятым центром, ровным краем, матовые колонии

Таблица 3.5

Форма клеток дрожжей и характер их скоплений

Наименование дрожжей	Форма клеток	Характер скоплений, особенности почкования
Хлебопекарные дрожжи		
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Сферическая, эллипсоидальная или удлиненная	Короткие цепочки, мелкие грозди
Контаминанты культуры хлебопекарных дрожжей: дрожжеподобные грибы, принадлежащие к роду <i>Saccharomyces</i>		
<i>Saccharomyces pastorianum</i>	Овальная, эллипсоидная, чаще удлиненная	Одиночные, парные или соединенные в короткие цепочки
<i>Saccharomyces turbidans</i>	Эллипсоидная и овальная	Соединенные в цепочки по 4–5 клеток
<i>Saccharomyces apiculata</i>	Лимоновидная с заострением на одном или двух полюсах	Одиночные, реже парные
<i>Saccharomyces validus</i>	Полиморфная, вытянутая, колбасовидная	Одиночные
<i>Saccharomyces exiguus</i>	Круглая или овальная	Одиночные или соединенные по две, образуют короткие цепочки, почкование многостороннее

Окончание табл. 3.5

Наименование дрожжей	Форма клеток	Характер скоплений, особенности почкования
<i>Saccharomyces ellipsoideus</i>	Овальная	Одиночные, образуют прямые цепочки, почка преимущественно на длинной стороне материнской клетки
Дрожжеподобные грибы, не принадлежащие к роду <i>Saccharomyces</i>		
<i>Schizosaccharomyces sp.</i>	Цилиндрическая	Одиночные
<i>Saccharomycodes sp.</i>	Лимоновидная	Одиночные
<i>Candida sp.</i>	Круглая или удлиненная, овальная или яйцевидная	Одиночные или парами, образуют короткие цепочки, могут образовывать псевдомицелий
<i>Torulopsis sp.</i>	Круглая, овальная, удлиненная, клетки мелкие	Могут образовывать псевдомицелий
<i>Rhodotorula sp.</i>	Круглая или удлиненная	Одиночные, парами, короткими цепочками или группами, почкование многостороннее
<i>Hansenula sp.</i>	Круглая, эллипсоидная, колбасовидная или булавовидная	Одиночные, парами или группами, почкование многостороннее
<i>Pichia sp.</i>	Круглая, овальная, палочковидная	Одиночные, парами, могут образовывать псевдомицелий, почкование многостороннее
<i>Saccharomycopsis sp.</i>	Овальная, цилиндрическая	Одиночные, парами или в цепочках, в жидких средах образуют мицелий, почкование на полюсах клетки и на широкой стороне

Общее количество дрожжей принимают за 100% и определяют процентное содержание посторонних видов дрожжей, грибов и бактерий. В доброкачественных прессованных дрожжах допускается присутствие кислотообразующих бактерий не более 15%, посторонних (диких) дрожжей – не более 30%.



4. АНАЛИЗ КАЧЕСТВА МУКИ, ПРИГОТОВЛЕНИЕ И АНАЛИЗ ТЕСТА

4.1. Характеристика муки для хлебопекарного производства

Хлебопекарная мука – порошкообразный продукт с различным гранулометрическим составом, получаемый путем измельчения (размола) зерна. Для хлебопекарного производства используют, как правило, пшеничную и ржаную муку, а также их смеси в различных соотношениях. Для улучшения качества теста в его состав вводят улучшители окислительно-восстановительных процессов (аскорбиновая кислота, броматы и иодаты, цистеин, тиосульфат натрия), поверхностно-активные вещества, ферментные препараты.

Хлебопекарная мука содержит крахмал, моно- и дисахариды, клетчатку, жир, белки, минеральные вещества, в малых количествах – пентозаны, а также ферменты (прежде всего амилалитические), витамины. Состав и свойства муки определяются видом зерна, зависят от партии зерна, способа помола, выхода и сорта муки. Так, содержание белка в пересчете на сухое вещество составляет 10–12% в пшеничной муке и 8–9% в ржаной. Углеводы составляют 69–72%, жиры – 1,0–1,5%.

При хранении муки важное значение имеет ее влажность, которая не должна превышать 15%. При большей влажности мука слеживается, подвергается излишним гидролитическим процессам, с другой стороны, низкое содержание влаги в муке (9–12%) приводит к быстрому прогорканию жира в ней.

Для белков пшеницы характерен дефицит треонина и лизина. Белки в муке представлены преимущественно глиадином и глютеином. Глиадиновая фракция представлена относительно низкомолекулярными белками (до 45 кДа), особенно бедными лизином. Глиадин содержит большое количество внутримолекулярных дисульфидных мостиков. Глютеин пшеницы состоит из компонентов с молекулярной массой от 50 до 3000 кДа. Глютеин построен

из большого количества различных полипептидных цепей, связанных между собой дисульфидными мостиками.

Белки пшеничной муки не являются полноценными, но играют огромную роль в изготовлении изделий из теста: при набухании в воде белки муки образуют связанную, упругую, эластичную массу, называемую клейковиной. Она определяет реологические свойства теста. Наибольшее влияние на реологические свойства теста оказывают высокомолекулярные фракции глютенина. Высокая эластичность клейковины обусловлена стремлением неразветвленной молекулы глиадина после растяжения вернуться в исходное состояние.

Для оценки реологических свойств пшеничной муки используют понятие «сырой клейковины» – клейковины, полученной при ее отмывании от крахмала и других веществ муки.

Реологические свойства теста зависят не только от количества клейковины, но и свойств белков, изменяющихся в зависимости от условий среды (например, кислотности и температуры теста), наличия и количества липидов в тесте. Избыточное количество липидов снижает силу клейковины, аналогичный эффект наблюдается при термоденатурации глютенина.

Для характеристики клейковины используют такие термины, как сильная или слабая клейковина. Сила клейковины не всегда является позитивным качеством. Чрезмерно сильная клейковина не даст возможности тесту подниматься, что приведет к получению жесткого хлеба. Более того, для некоторых мучных кондитерских изделий непригодна мука с сильной и даже иногда средней клейковиной. Если для дрожжевого и слоеного теста необходима сильная клейковина (содержание сырой клейковины должно быть более 36%), то для заварного, бисквитного теста содержание сырой клейковины должно быть от 28 до 35%, клейковина должна быть средней силы. Для песочного и сдобного теста клейковина должна быть слабой, поэтому часто в него добавляют крахмал.

Белки ржаной муки в тесте не образуют связанной клейковины, способны неограниченно набухать в воде, переходя в вязкий коллоидный раствор, что обуславливает существенные отличия в способах приготовления пшеничного и ржаного теста.

Мука содержит ферменты, прежде всего амилазы, протеазы, липоксигеназу. Протеазы при хранении муки (особенно во влажной муке) вызывают гидролиз белков, ослабляя клейковину. Амилаза

вызывает гидролиз крахмала. При этом в муке может быть как β -, так и α -амилаза. Присутствие α -амилазы в пшеничной муке, характерной для проросшего зерна, является дефектом, тогда как в ржаной муке этот фермент всегда в наличии. Липоксигеназа вызывает окисление липидов. Продукты окисления жирных кислот окисляют $-SH$ группы белка до дисульфидных ($-S-S-$) мостиков, что усиливает клейковину. Однако липоксигеназа влияет и на тиоловый обмен с белками клейковины, разрушая дисульфидные мостики. Таким образом, ферменты муки имеют существенное влияние на силу клейковины.

Крахмал, содержащийся в муке в наибольшем количестве, проявляет свои свойства при замесе теста, расстойке и выпечке. Крахмал ржаной муки клейстеризуется при более низкой температуре, чем пшеничный, он легче атакуется амилолитическими ферментами.

4.2. Показатели качества муки

Для установления соответствия качества выработанной муки нормам стандартов на мукомольных предприятиях производят лабораторный анализ средней пробы муки; определяют запах, вкус, цвет, хруст, влажность, зольность, крупность, количество и качество клейковины (в пшеничной муке), кислотность, зараженность вредителями, присутствие металломагнитных примесей. Технологически важными характеристиками муки являются свойство образовывать тесто с определенными физическими характеристиками по упругости, эластичности и пластичности, «сила муки», газообразующая способность.

Зараженность вредителями выявляют просеиванием 1 кг сортовой муки через проволочные сита, остатки на ситах анализируют на наличие жуков, куколок, личинок, клещей.

Содержание металломагнитных примесей определяют в 1 кг муки, рассыпанной тонким слоем (толщиной до 0,5 см) на гладкой поверхности, извлекая примесь подковообразным магнитом; допускается не более 3 мг металломагнитных примесей, размеры частиц не более 0,3 мг.

Зольность муки устанавливают, сжигая в муфельной печи две навески по 1,5–2,0 г. Озоление считают законченным, когда зольный остаток станет белого или слегка серого цвета. Зольность

вычисляют в процентах на сухое вещество как среднеарифметическое двух определений.

Крупность помола определяют, просеивая на лабораторном сееве навеску массой 100 г для обойной муки и 50 г для сортовой на установленных стандартом ситах. Остаток на верхнем сите характеризует наличие в муке крупных частиц, а проход на нижнем – мелких частиц.

В муке, размещаемой на длительное хранение, определяют **кислотность** по болтушке. Кислотность выражают в градусах, показывающих, какой объем 0,1 н. раствора гидроксида натрия требуется для нейтрализации кислоты в 100 г муки.

Количество клейковины оценивается путем определения массовой доли сырой клейковины после отмывания ее из теста, замешанного из муки и воды при определенных условиях.

Качество клейковины характеризуется цветом (светлая, серая, темная) и упругими свойствами (растяжимостью, эластичностью). **Растяжимость клейковины** – способность растягиваться в длину без разрыва. **Эластичность клейковины** – способность восстанавливать первоначальные размеры после растяжения. **Упругость клейковины** – сопротивление действию нагрузки сжатия.

Сила муки определяется в основном качеством и количеством клейковины. Согласно этой характеристике ориентировочно различают муку сильную (высокое содержание клейковины), среднюю (среднее и ниже среднего содержание клейковины) и слабую (низкое содержание клейковины). Хлеб высокого качества получают из средней по силе муки.

Более точно определение хлебопекарной силы пшеничной муки проводят по **седиментационному осадку**. В основу метода определения положена способность белковых веществ муки набухать в слабых растворах молочной или уксусной кислот и образовывать осадок, величина которого характеризует количество белковых веществ.

Газообразующая способность характеризует хлебопекарные свойства муки. Она зависит от содержания в муке собственных сахаров и скорости накопления их в результате гидролиза крахмала под действием амилолитических ферментов муки и дрожжей. Этот показатель весьма важен, так как от него зависит непрерывное питание дрожжей, вызывающих брожение и разрыхление теста.

Для определения газообразующей способности муки готовят тесто из 100 г муки, 60 см³ воды и 10 г прессованных дрожжей, далее тесто помещают в термостат при температуре 30°C на 5 ч для брожения, регистрируя объем выделившегося углекислого газа, который и будет соответствовать газообразующей способности муки. Нормальная газообразующая способность пшеничной муки первого сорта за 5 ч брожения составляет 1300–1600 см³ углекислого газа.

Расчеты показывают, что для образования такого количества углекислого газа дрожжам необходимо сбродить не менее 6 г глюкозы. Примерно 1 г глюкозы дрожжи получают из собственных сахаров муки, а остальные 5 г образуются в результате амилолитического расщепления крахмала.

4.3. Микробиологический контроль зерна и муки для хлебопекарного производства

Микробиота крупы, муки, хлеба зависит от состава микроорганизмов перерабатываемого зерна, среди которых различают эпифитные и фитопатогенные. В 1 г доброкачественного зерна находятся 10³–10⁶ клеток микроорганизмов эпифитной микробиоты, около 90% из них составляют бактерии, 5–7% – споры плесневых грибов, небольшое количество дрожжей. Среди бактерий преобладает *Erwinia herbicola* – бесспорная, факультативно-анаэробная палочка. Доминирование этих бактерий считается показателем хорошего качества зерна. Встречаются микрококки, молочнокислые бактерии, спорообразующие аэробные палочки *Bacillus subtilis*. Среди плесневых грибов свежубранного зерна преобладают полевые плесени – родов *Alternaria*, *Cladosporium*, *Ascochyta*. По мере хранения полевые плесени отмирают, а доминирующими становятся роды *Penicillium* и *Aspergillus*.

Большинство бактерий и грибов, обитающих на зерне, относятся к мезофилам с оптимальной температурой 25–30°C. При понижении температуры до 10°C большинство мезофильных микроорганизмов прекращает активное развитие в зерновой массе. Результаты исследований образцов зерна из зернохранилища показали, что начальные стадии порчи зерна связаны с ксерофилами,

способными развиваться при пониженной влажности зерна. Затем развиваются мезофилы, более требовательные к влаге, а когда влажность зерна возрастает – преимущество получают представители родов *Aspergillus* (*Asp. candidus*, *Asp. ochraceus*, *Asp. flavus*) и *Penicillium*. По мере хранения зерна уменьшается количество *Erwinia herbicola*, хотя они остаются преобладающими.

Эффективные способы снижения обсемененности зерна нежелательной микрофлорой – сушка, условия недостатка кислорода (герметичное хранение и использование газовых сред), консервирование органическими кислотами.

К фитопатогенной группе относятся паразитические виды бактерий и грибов, живущих за счет растения. В период роста и созревания растений они вызывают заболевания: бактериозы (род *Pseudomonas*) и микозы (спорынью (*Claviceps purpurea*), головню (род *Ascomycetes*), фузариоз (род *Fusarium*)). Употребление в пищу хлеба из муки, содержащей возбудителей спорыньи, вызывает слабость, головокружение, судороги.

При попадании спор возбудителя головни на зерновую массу зерно приобретает неприятный запах селедочного рассола, мука имеет темный цвет, неприятный вкус, может вызвать расстройство функций кишечника. В зерне, пораженном фузариозом, накапливаются микотоксины, вызывающие у человека слабость, головные боли, рвоту, иногда расстройство зрения.

Для идентификации плесневых грибов используют среду Чапека.

В муке микроорганизмов меньше, поскольку большая их часть удаляется в процессе помола с оболочкой зерна. Чем ниже сорт муки, тем больше в нее попадает частиц зерна, тем больше содержание микроорганизмов. По сравнению с зерном мука – менее стойкий продукт, поскольку питательные вещества более доступны микроорганизмам, однако при соблюдении правильного режима хранения, а именно низкой влажности муки, развития микроорганизмов не наблюдается. При повышении относительной влажности воздуха первыми начинают развиваться плесени, мука приобретает затхлый запах, передающийся хлебу, снижаются ее хлебопекарные свойства. При увеличении содержания влаги в муке свыше 15% мука прокисает в результате активизации деятельности молочнокислых бактерий, сбраживающих сахара муки с образованием кислоты. При хранении муки влажностью более 20% происходит ее

самосогревание, сопровождающееся развитием микроорганизмов, вызывающих тягучую болезнь хлеба. Длительное хранение зерновых продуктов (2–3 г.) допустимо при температуре 15–20°C при содержании в них влаги, эквивалентной относительной влажности воздуха 65%. Предельная влажность воздуха (72–75%) обеспечивает кратковременное хранение зерновых продуктов в течение 3–4 мес.

Определение численности и группового состава микроорганизмов зерна осуществляют посевом разведений на питательные среды. Из средней пробы зерна отвешивают 10 г и смешивают с 90 см³ стерильной воды, тщательно встряхивают навеску в течение 5 мин – получают разведение 1 : 10. Далее готовят ряд разведений. Разведение 10⁻² используют для количественной оценки мицелиальных грибов, 10⁻³ и 10⁻⁴ – бактерий.

Для определения количества дрожжей и грибов посев делают на среду Сабуро (поверхностный посев), общего количества микроорганизмов – на МПА (поверхностный посев), гнилостных бактерий – на молочный агар с нистатином (глубинный посев). Засеянные чашки термостатируют при 25–30°C (для бактерий) и 22–25°C (для грибов) в течение 48 ч.

Для определения степени зараженности зерна плесневыми грибами в стерильную чашку Петри помещают слой стерильной фильтровальной бумаги, увлажняют ее стерильной водой и выкладывают на нее 8–10 зерен, взятых из средней части отобранной пробы. Чашку закрывают и помещают во влажную камеру, которую выдерживают в термостате при температуре 22–25°C, оптимальной для роста грибов. Через 48 ч отмечают рост плесеней на зернах и подсчитывают процент зараженных зерен.

При наличии регистрируемых органолептических изменений муки производится ее микробиологическое исследование с определением общей бактериальной обсемененности и количества спор бактерий рода *Bacillus*.

Для определения зараженности спорами бактерий рода *Bacillus* с апреля по октябрь применяют также метод лабораторных выпечек. Образцы выпеченного хлеба заворачивают во влажную бумагу и помещают в термостат при температуре 37°C с целью активизировать развитие спор, затем хлеб разрезают и проверяют на наличие тягучей болезни.

4.4. Показатели качества теста и хлеба

Готовность теста определяют органолептически. Выброженное тесто увеличивается в объеме в 1,5–2 раза, поверхность становится выпуклой, тесто приобретает специфический аромат. Брожение теста должно быть закончено до его опадания.

Недостаточно выброженное тесто отличается низким объемом, повышенной липкостью, отсутствием равномерной сетчатой структуры, не имеет ярко выраженного спиртового запаха. Кислотность такого теста не достигает нормы, в тесте остается много несброженных сахаров. Хлеб из этого теста пресный, на поверхности пузыри с тонкой подгоревшей корочкой. Мякиш сыропеклый (липкий, плохо разжевываемый, неэластичный), пористость неравномерная, толстенная.

Перебродившее тесто характеризуется повышенной кислотностью, небольшим содержанием несброженных сахаров. Хлеб из такого теста имеет бледную корку с трещинами, кислый вкус, пустоты и разрывы в мякише.

При надавливании на поверхности невыброженного теста следы от пальцев выравниваются быстро, у выброженного – медленно, у перебродившего – углубления остаются.

Для микробиологического контроля качества теста производят определение количества дрожжей, молочнокислых бактерий, их соотношение, активность молочнокислых бактерий, качественно и количественно оценивают постороннюю микробиоту.

Для определения количества дрожжей 1 г теста помещают в пробирку с 9 см³ воды, встряхивают и дают отстояться в течение 10–15 мин. Из верхнего слоя суспензии готовят препарат «раздавленная капля», в котором оценивают количество дрожжевых клеток, процентное содержание почкующихся дрожжей и содержащих гликоген, волютин. Подсчет производят в камерах Горяева. Количество дрожжевых клеток должно составлять $(90–120) \cdot 10^6$ в 1 см³.

Для установления количественного и качественного состава микробиоты дрожжевого теста 10 г его вносят в колбу с 90 см³ стерильной воды, тщательно размешивают и делают ряд разведений до 10^{-8} .

Для выявления определенных групп микроорганизмов делают посева в соответствии с табл. 4.1.

Таблица 4.1

**Условия посева разведений дрожжевого теста на элективные среды
для выявления определенных групп микроорганизмов**

Группа микроорганизмов	Питательная среда и метод посева	Разведения
Общее количество бактерий	Дрожжевой агар с 4% сахарозы и нистатином (поверхностный посев)	10^{-4} – 10^{-6}
Общее количество дрожжей и плесневых грибов	Сусло-агар (8% сухих веществ) (поверхностный посев)	10^{-5} – 10^{-7}
Несовершенные дрожжи	Синтетическая среда с лизином (поверхностный посев)	10^{-3} – 10^{-5}
Молочнокислые бактерии	Сусло-агар (12% СВ) с мелом и нистатином, среда МРС-4 с сорбиновой кислотой, среда 10 на солодовой основе (глубинный посев)	10^{-4} – 10^{-6}
Лейконостоки	Среда на дрожжевой основе (глубинный посев)	10^{-3} – 10^{-5}
Гнилостные бактерии	Молочный агар (глубинный посев)	10^{-2} – 10^{-4}
Спорообразующие бактерии	МПА, дрожжевой агар с 4% сахарозы и нистатином (высев из прогретых при 100°C в течение 5 мин проб, глубинный посев)	10^{-1} – 10^{-3}
Кишечная палочка	Среда Эндо (поверхностный посев)	10^{-1}
Палочка протей (<i>Proteus vulgaris</i>)	Скошенный мясопептонный агар (каплю из разведения вносят в конденсационную воду скошенного агара)	10^{-1}

Большинство посевов культивируют при температуре 25–30°C, за исключением посевов на кишечную палочку и палочку протей (37°C), продолжительность культивирования 48–72 ч. При необходимости для дифференциации микроорганизмов готовят фиксированные, окрашенные препараты бактерий либо «живые» препараты дрожжей или плесеней.

Основные показатели качества готового хлеба – влажность, кислотность и пористость. Эти три показателя не только определяют органолептические характеристики продукта, но и в значительной степени влияют на усвояемость изделия.

В среднем влажность ржаного и ржано-пшеничного хлеба должна быть в пределах от 45 до 51%, кислотность – от 9 до 12 градусов, а пористость – от 46 до 53%. Влажность пшеничного хлеба должна составлять от 35 до 48%, кислотность – от 2 до 6 градусов, а пористость – от 55 до 70%.

Для контроля готовой продукции определяют общее количество микроорганизмов в хлебе и выявляют внешнее загрязнение продукции бактериями группы кишечной палочки. Определение общего количества бактерий в хлебе делают посевом разведений продукта на мясопептонный бульон. Из мякиша пшеничного хлеба вырезают кусочек массой 1 г, помещают в колбу с 9 см³ стерильной водопроводной воды и энергично встряхивают 5 мин. Из полученной суспензии готовят далее разведения 10^{-2} – 10^{-10} . По 1 см³ каждого разведения высевают в пробирки с МПБ.

По помутнению среды судят о присутствии микроорганизмов. По последнему разведению, в котором обнаружен рост, определяют количество микроорганизмов в 1 г продукта. Из пробирки с наименьшим разведением продукта, в котором обнаружен рост микроорганизмов, готовят фиксированный, окрашенный препарат и исследуют в иммерсионной системе.

Обнаружение внешнего загрязнения хлеба (печенья и других сдобных изделий) кишечной палочкой проводят путем наложения стерильного трафарета на поверхность хлеба (либо другого продукта), протирания этой ограниченной поверхности ватным тампоном, смоченным в стерильной воде, и посева промывочной воды на среду Эндо поверхностным способом.

4.5. Влияние дозировки соли на свойства теста и качество получаемого хлеба

В тесте для большинства основных сортов хлеба и хлебобулочных изделий количество соли находится в пределах 1,25–1,50%. Соль добавляют в качестве вкусовой добавки, однако внесение ее в тесто влияет и на происходящие биохимические, коллоидные и микробиологические процессы, поэтому соль оказывает действие и на физические свойства теста, газообразование и кислотонакопление в нем, а следовательно, на прохождение теста через тесторазделочное оборудование и на форму, объем и окраску корки выпеченных

изделий. Соль оказывает существенное влияние на отдельные процессы, происходящие при приготовлении теста:

- при кислотности, обычной в тесте, опаре и других полуфабрикатах, добавление соли несколько снижает активность амилаз;

- добавление соли снижает атакуемость крахмала амилазами, повышает температуру его клейстеризации;

- на клейковинные белки муки в тесте соль в невысоких концентрациях (до 1,0–1,5% в жидкой фазе) действует в направлении повышения их гидратации и в связи с этим приводит к «ослаблению» клейковины по ее физическим свойствам. Более высокие концентрации соли вызывают уже дегидратацию и уплотнение клейковины и улучшение ее физических свойств («усиление» клейковины);

- протеолиз при добавках соли в тесто и опару тормозится;

- физические свойства теста, особенно к концу его брожения, при добавлении соли существенно улучшаются, хотя непосредственно после замеса тесто с добавками соли несколько «слабее» по консистенции;

- концентрация соли выше 1,0–1,5% снижает интенсивность размножения дрожжей, особенно в тесте, готовящемся на жидких дрожжах;

- спиртовое брожение, характеризующееся газообразованием в опарах и тесте, при добавлении соли замедляется и при высоких концентрациях (например, 5% и более к массе муки в тесте) практически прекращается;

- жизнедеятельность кислотообразующих бактерий при добавках соли тормозится, в связи с чем снижается и скорость кислотообразования;

- чем больше воды в водно-мучной смеси, тем менее интенсивно проявляется действие одного и того же количества внесенной соли на перечисленные процессы.

В тесте без соли брожение происходит значительно интенсивнее. За период брожения физические свойства теста без соли в результате более интенсивного протеолиза существенно ухудшаются, и оно становится более жидким по консистенции и липким. Такое тесто с трудом проходит через округлительные и закаточные машины, замазывая поверхности их рабочих органов, обладает пониженной газо- и формоудерживающей способностью. Ввиду того, что к моменту

выпечки в тесте остается недостаточное количество несброженных сахаров, корка изделия относительно слабо окрашена.

В тесте с повышенной дозировкой соли брожение происходит с меньшей интенсивностью. Физические свойства теста за период его брожения изменяются очень мало. Тесто к моменту пуска на разделку остается более «крепким» (густым) по консистенции, упругим и не липким. Такое тесто очень хорошо проходит через тесторазделочное оборудование. Расстойка идет значительно медленнее, причем тестовые заготовки очень мало расплываются. Подовые изделия получаются очень округлыми, возможно, с подрывами у боковой корки и более интенсивно окрашенной коркой. Последнее обусловлено тем, что в тесте к моменту посадки тестовой заготовки в печь остается больше несброженных сахаров, необходимых для образования меланоидинов, придающих корке окраску.


Пористость хлеба с увеличением концентрации соли уменьшается, весовой выход хлеба увеличивается, однако его объемный выход снижается.


С увеличением дозировки соли от 1,5 до 3,0% пористость хлеба уменьшается с 68,4 до 62,6% вследствие снижения интенсивности размножения дрожжей и спиртового брожения.

Весовой выход хлеба при увеличении концентрации соли увеличивается – это связано с тем, что в тесте без соли брожение происходит значительно интенсивнее. Такое тесто обладает пониженной газо- и формоудерживающей способностью, при расстойке тестовые заготовки быстро и сильно расплываются. Если весовой выход хлеба без соли составляет 135,5%, то при содержании соли 1,5% он возрастает до 138,7%, при содержании соли 3,0% – до 146%.


Объемный выход хлеба с внесением соли в концентрации 1,5% составляет 335%, что ниже по сравнению с образцом без соли (408%). При внесении соли в концентрации 3% объемный выход хлеба увеличивается до 460%. Это связано с тем, что соль в невысоких концентрациях действует в направлении повышения гидратации клейковинных белков и приводит к «ослаблению» клейковины по ее физическим свойствам. Более высокие концентрации соли вызывают уже дегидратацию и уплотнение клейковины и улучшение ее физических свойств («усиление клейковины»).

4.6. Лабораторная работа. Оценка качества муки, приготовление и анализ теста

 **Цель работы:** освоение методов анализа показателей муки, приобретение навыков приготовления и анализа теста.

 **Рекомендация.** Целесообразно начать выполнение лабораторной работы с приготовления теста, во время его брожения оценивать качество муки.

4.6.1. Оценка качества муки по органическим показателям, влажности, зольности, кислотности

 **Материалы и приборы:** образцы пшеничной и ржаной хлебопекарной муки, 0,1 н. раствор гидроксида натрия; 1%-ный спиртовой раствор фенолфталеина, колбы конические вместимостью 100 см³, мерные цилиндры, пипетки, бюретки, капельницы, аналитические весы, сушильный шкаф, муфельная печь,

Определение органолептических показателей муки. Запах образцов муки определяют органолептически, он должен быть слабовыраженный, приятный. Устанавливают присутствие несвойственных муке посторонних запахов (плесени, затхлости и др.).

Вкус и хруст определяют при разжевывании небольшой навески муки. Свежая мука должна иметь пресный вкус, без посторонних привкусов, не кислый, не горький. Сладковатый вкус указывает на то, что мука получена из проросшего, морозобойного или недозрелого зерна. Горький вкус может быть обусловлен присутствием горькополынного зерна или прогорканием муки. Стандартная мука не должна иметь хруста.

Цвет является показателем сорта муки и определяется органолептически путем сравнения с эталоном. Цвет муки определяют пигменты, переходящие в нее из зерна. Чем выше зольность, тем темнее цвет.

Определение влажности муки. Две навески муки массой по 5 г высушивают при температуре 130°C в течение 40 мин в сушильном шкафу. По разности масс до и после высушивания рассчитывают влажность в процентах как среднеарифметическое двух определений.

Определение зольности муки. Две навески муки массой по 1,5 сжигают в муфельной печи. Озоление считают законченным, когда зольный остаток станет белого или слегка серого цвета. Зольность вычисляют в процентах на сухое вещество как среднеарифметическое двух определений.

Определение кислотности муки. Навеску муки массой 5 г высыпают в сухую коническую колбу на 100 см³ и приливают 50 см³ дистиллированной воды. Взбалтывая содержимое колбы, добиваются получения равномерной смеси без комочков. В водно-мучную болтушку добавляют 3 капли 1%-ного спиртового раствора фенолфталеина, размешивают и титруют 0,1 н. раствором гидроксида натрия до появления устойчивого розового окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин.

Кислотность X , град., рассчитывают по формуле

$$X = \frac{100 \cdot V \cdot k}{10 \cdot m},$$

где V – объем 0,1 н. раствора едкого натра, пошедший на титрование, см³;

k – титр 0,1 н. раствора едкого натра по 0,1 н. раствору кислоты, $k = 1$;

m – масса муки, взятой на анализ, г.

Если болтушка имеет естественное интенсивное окрашивание, при титровании ее цвет постоянно сравнивают с начальным цветом дополнительно приготовленной такой же болтушки.

Испытание следует вести в двух параллельных навесках, вычисляя затем среднее арифметическое из двух определений. Расхождение между параллельными результатами не должно превышать 0,2 град.

Стандартное значение кислотности муки первого сорта не должно превышать 2 град.

4.6.2. Установление массовой доли и растяжимости сырой клейковины, седиментационного осадка



Материалы и приборы: образцы пшеничной и ржаной хлебопекарной муки, бромфеноловый синий, 6%-ный раствор уксусной кислоты, технические весы, фарфоровые чашки, шпатели, чашки Петри, мерные цилиндры на 100 см³ с притертой пробкой.

Определение массовой доли сырой клейковины. Навеску муки массой 25 г отвешивают на технических весах, помещают

в фарфоровую чашку и приливают 13 см³ водопроводной воды, имеющей температуру 16–20°C. Муку с водой перемешивают шпателем до получения теста, которое затем хорошо проминают руками. Частицы теста, прилипшие к чашке и шпателю, тщательно собирают (счищая их ножом) и присоединяют к куску теста. Скатав тесто в шарик, помещают его в чашку, прикрывают крышкой от чашки Петри и оставляют на 20 мин для того, чтобы частицы муки пропитались водой и белки, образующие клейковину, набухли.

Затем клейковину отмывают от крахмала и оболочек под слабой струей водопроводной воды над густым шелковым или капроновым ситом, разминая слегка тесто пальцами. Сначала отмывание ведут осторожно, не допуская, чтобы вместе с крахмалом и оболочками отрывались кусочки клейковины, после удаления большей части крахмала и оболочек – энергичнее. Случайно оторвавшиеся кусочки клейковины собирают и присоединяют к общей массе клейковины. Конец отмывания устанавливают по отсутствию крахмала в воде (почти прозрачная), стекающей при отжатии клейковины. Если клейковина не отмывается, в результатах анализа записывают «неотмываемая».

Закончив отмывание клейковины, ее отжимают между ладонями, которые периодически насухо вытирают полотенцем. При этом клейковину несколько раз выворачивают пальцами, каждый раз вытирая ладони полотенцем. Поступают так до тех пор, пока клейковина не станет слегка прилипать к рукам.

Клейковину взвешивают, еще раз промывают в течение 2–3 мин, вновь отжимают и опять взвешивают. Отмывку клейковины считают законченной при разнице в массе между двумя взвешиваниями не более 0,1 г. Количество сырой клейковины выражают в процентах к навеске муки массой 25 г. Оценивают содержание сырой клейковины как высокое при количестве сырой клейковины свыше 30,0%, среднее (26,0–29,9%), ниже среднего (20,0–25,9%), низкое (ниже 20,0%).

Определение растяжимости сырой клейковины. Для оценки качества клейковины по растяжимости из 4 г окончательно отмытой, отжатой и взвешенной сырой клейковины формируют шарик, помещают его на 15 мин в стакан с водой, имеющей температуру 18–20°C. Далее, вынув шарик клейковины из воды и отжав его, вручную постепенно растягивают над линейкой в жгут

до разрыва, замечая, на какую длину растянулась клейковина. По растяжимости клейковину подразделяют на имеющую короткую растяжимость (менее 10 см), среднюю (от 10 до 20 см), длинную (более 20 см).

Определение седиментационного осадка. В основу метода определения положена способность белковых веществ муки набухать в слабых растворах молочной или уксусной кислот и образовывать осадок, величина которого характеризует количество белковых веществ.

В мерный цилиндр на 100 см³ с притертой пробкой, градуированный с ценой деления 0,1 см³, вносят 3,2 г муки, отвешенной на технических весах. В цилиндр приливают 50 см³ дистиллированной воды, подкрашенной красителем бромфеноловым синим и включают секундомер.

Цилиндр закрывают пробкой и в течение 5 с встряхивают, резко перемещая в горизонтальном положении, до получения однородной суспензии. Цилиндр устанавливают в вертикальное положение и оставляют в покое на 55 с. Затем, вынув пробку, приливают 25 см³ 6%-ного раствора уксусной кислоты. Закрывают цилиндр и в течение 15 с переворачивают его 4 раза, придерживая пальцем пробку. Снова оставляют цилиндр в покое на 45 с (до 2 мин по секундомеру с начала определения). В течение 30 с плавно 18 раз переворачивают цилиндр. Оставляют в третий раз в покое точно на 5 мин и сразу производят визуальный отсчет объема седиментационного осадка с точностью до 0,1 см³.

Если небольшая часть осадка всплывает, его объем прибавляют к объему основного осадка. Установленный объем седиментационного осадка (кубический сантиметр) пересчитывают на влажность муки 14,5% по формуле

$$V_y = V_{y(\text{эксп})} \cdot \frac{100 - 14,5}{100 - w_m},$$

где $V_{y(\text{эксп})}$ – фактически измеренная величина седиментационного осадка, мл;

w_m – фактическая влажность исследуемой муки, %.

Для оценки хлебопекарной силы по величине седиментационного осадка рекомендуются следующие примерные нормативы (табл. 4.2).

Таблица 4.2

Категория муки в зависимости от объема седиментационного осадка при различной крупности помола

Категория муки	Проход через сито с ячейками диаметром	
	150 мкм	200 мкм
	Объем седиментационного осадка, см ³	
Очень сильная	> 60	> 45
Сильная	60–40	45–30
Средняя по силе	40–20	30–15
Слабая	< 20	< 15

В соответствии с установленной категорией муки сделать прогноз структурно-механических свойств теста и при необходимости принять меры для уменьшения или увеличения силы муки путем составления смеси.

4.6.3. Определение спорообразующих бактерий в муке



Материалы и приборы: образцы пшеничной и ржаной хлебопекарной муки, мясопептонный агар (МПА), аналитические весы, водяная баня, стерильные пипетки, чашки Петри, термостат.



Проведение анализа. Навеску муки массой 1 г хорошо размешивают с 9 см³ стерильной воды (разведение 1 : 10), нагревают на водяной бане 10 мин при температуре 90–95°С и готовят разведение 10⁻². Из полученного разведения по 1 см³ высевают глубинным способом в чашки Петри, используя МПА. Посевы инкубируют 2–3 сут при 25–30°С, затем подсчитывают колонии спорообразующих бактерий с учетом разведения. При содержании в 1 г до 200 спор бактерий мука считается нормальной, от 200 до 1000 – сомнительной, свыше 1000 спор – сильно обсемененной, опасной для производства и непригодной для употребления.

4.6.4. Приготовление и анализ теста



Материалы и приборы: образцы пшеничной и ржаной хлебопекарной муки, прессованные дрожжи, соль, раствор метиленового голубого (п. 1.7.3), стеклянные стаканы с делениями объемом 1000 см³, технические весы, термостат.

Приготовление теста. Исходные данные для приготовления теста:

- способ приготовления теста – безопасный;
- масса муки 150 г, влажность определяется по п. 4.6.1;
- количество прессованных дрожжей 2,0–2,5% от массы муки;
- количество поваренной соли 0–3,0% от массы муки (влажность соли принимается 4%);
- влажность теста 42–50%.

Вид (пшеничная, ржаная) и сорт муки (или использование их смеси), количество дрожжей и соли, влажность теста согласовываются с преподавателем.

По согласованным данным рассчитывается рецептура – количество компонентов теста – и проводится его замес в стеклянном стакане с делениями объемом 1000 см³. Фиксируется объем теста и стакан помещается в термостат при температуре 30°C на 2,5 ч. Через каждые 0,5 ч фиксируется занимаемый тестом объем, через 1,5 и 2,0 ч брожения проводятся обминки (перемешивание) теста.

Анализ и разделка теста. По окончании брожения органолептически оценивают запах, вкус и цвет теста и отбирают навески для определения влажности, кислотности (п. 4.6.1) теста и активности молочнокислых бактерий.

Из оставшегося теста формируют шар и выдерживают в течение 5–8 мин при температуре окружающей среды (предварительная расстойка). После этого куску теста придают заданную форму (батон, витушка, плетенка) и направляют тестовую заготовку на окончательную расстойку в термостат при температуре 30°C на 25–30 мин. В течение предварительной и окончательной расстойки наблюдают за изменением формы и объема заготовки.

Определение активности молочнокислых бактерий. Активность молочнокислых бактерий оценивают по продолжительности обесцвечивания метиленового голубого.

В стерильную пробирку наливают 1 см³ рабочего раствора метиленового голубого и 20 см³ смеси теста с водой (1 : 1), пробирку помещают в термостат при температуре 40°C. Время обесцвечивания окраски свидетельствует об активности молочнокислых бактерий: при высокой активности смесь обесцвечивается в течение 25 мин, при средней – в течение 35–50 мин, при низкой – свыше 50 мин.



ЛИТЕРАТУРА

1. Горбатова, К. К. Биохимия молока и молочных продуктов: учеб. / К. К. Горбатова, П. И. Гунькова; под общ. ред. К. К. Горбатовой. – 4-е изд., перераб. и доп. – СПб.: ГИОРД, 2010. – 336 с.
2. Технология молока и молочных продуктов / Г. Н. Крूसь [и др.]; под ред. А. М. Шалыгиной. – М.: Колосс, 2006. – 455 с.
3. Лях, В. Я. Справочник сыродела / В. Я. Лях, И. А. Шергина, Т. Н. Садовая. – СПб.: Профессия, 2011. – 680 с.
4. Охрименко, О. В. Лабораторный практикум по химии и физике молока / О. В. Охрименко, К. К. Горбатова, А. В. Охрименко. – СПб.: ГИОРД, 2005. – 265 с.
5. Карпеня, М. М. Технология производства молока и молочных продуктов / М. М. Карпеня, В. И. Шляхтунов, В. Н. Подрез. – Минск: Новое знание; М.: ИНФРА-М, 2014. – 410 с.
6. Голубева, Л. В. Практикум по технологии молока и молочных продуктов. Технология цельномолочных продуктов. – СПб.: Лань, 2012. – 384 с.
7. Сыроделие: технологические, биологические и физико-химические аспекты: учеб. для студентов высших учебных заведений / под ред. С. А. Гудкова. – М.: ДеЛи принт, 2003. – 800 с.
8. Шингарева, Т. И. Производство сыра: учеб. пособие / Т. И. Шингарева, Р. И. Раманаускас. – Минск: ИВЦ Минфина, 2008. – 384 с.
9. Сучкова, Е. П. Технология молока и молочных продуктов: учеб.-метод. пособие: в 4 ч. / Е. П. Сучкова. – СПб.: Университет ИТМО, 2015. – Ч. 4: Технология сыра. – 52 с.
10. Молоко и молочная продукция. Методы определения молочнокислых микроорганизмов: ГОСТ 33951-2016. – Введ. 06.09.2017 пост. Гос. комитета по стандартизации Респ. Беларусь № 72 непосредственно в качестве государственного стандарта Респ. Беларусь с 1 авг. 2018 г.; разработ.: ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» (ФГБНУ ВНИМИ). – Минск: Гос. комитет по стандартизации Респ. Беларусь, 2017. – 12 с.

11. Молоко и молочные продукты. Методы определения пастеризации: ГОСТ 3623-2015. – Введ. 26.10.2016 пост. Гос. комитета по стандартизации Респ. Беларусь № 83 непосредственно в качестве гос. стандарта Респ. Беларусь с 1 июня 2017 г.; разработ.: ГНУ «ВНИИ молочной промышленности» Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИМИ Россельхозакадемия). – Минск: Гос. комитет по стандартизации Респ. Беларусь, 2016. – 18 с.

12. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета количества мезофильных молочнокислых микроорганизмов: ГОСТ 10444.11-2013 (ISO 15214:1998). – Введ. 28.08.2015 пост. Гос. комитета по стандартизации Респ. Беларусь № 38 непосредственно в качестве гос. стандарта Респ. Беларусь с 1 авг. 2016 г.; разработ.: ГНУ ВНИИ консервной и овощесушильной промышленности Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИИКОП Россельхозакадемии). – Минск: Гос. комитет по стандартизации Респ. Беларусь, 2015. – 16 с.

13. Молоко и сливки. Метод определения термоустойчивости по алкогольной пробе: ГОСТ 25228-82. – Изд. с изм. № 1, утв. в нояб. 1987 г. (ИУС 2-88), сб. «Молоко и молочные продукты. Общие методы анализа», используется в качестве гос. стандарта Респ. Беларусь с 1 июля 1983 г.; разработ.: М-во мясной и молочной промышленности СССР. – Минск: Гос. комитет по стандартизации Респ. Беларусь, 1983. – 8 с.

14. Молоко и молочная продукция. Методы микробиологического анализа: ГОСТ 32901-2014. – Введ. 07.10.2015 пост. Гос. комитета по стандартизации Респ. Беларусь № 47 непосредственно в качестве гос. стандарта Респ. Беларусь с 1 сент. 2016 г.; разработ.: ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия Российской академии сельскохозяйственных наук (ГНУ ВНИИМС Россельхозакадемии). – Минск: Гос. комитет по стандартизации Респ. Беларусь, 2015. – 28 с.

15. Творог. Общие технические условия: СТБ 315-2017. – Введ. 20.03.2017 пост. Гос. комитета по стандартизации Респ. Беларусь № 19 непосредственно в качестве гос. стандарта Респ. Беларусь с 1 сент. 2017 г.; переизд. (февр. 2020 г.) с изм. № 1, утв. в нояб. 2018 г. (ИУ ТНПА № 10–2018); разработ.: РУП «Институт мясо-молочной промышленности», г. Минск. – Минск: Гос. комитет по стандартизации Респ. Беларусь, 2017. – 16 с.

16. Рожнов, Е. Д. Анализ солода: методические рекомендации по выполнению лабораторных и научно-исследовательских работ / Е. Д. Рожнов. – Бийск: Изд-во Алт. гос. техн. ун-та, 2015. – 22 с.

17. Меледина, Т. В. Биохимические процессы при производстве солода: учеб. пособие / Т. В. Меледина, И. П. Прохорчик, Л. И. Кузнецова. – СПб.: НИУ ИТМО: ИХиБТ, 2013. – 89 с.

18. Солод пивоваренный. Технические условия: ГОСТ 29294-2014. – Введ. 09.11.2015 пост. Гос. комитета по стандартизации Респ. Беларусь № 52 непосредственно в качестве гос. стандарта Респ. Беларусь с 1 окт. 2016 г.; разработ.: ГНУ ВНИИ пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности Россельхозакадемии. – Минск: Гос. комитет по стандартизации Респ. Беларусь, 2015. – 28 с.

19. Ячмень пивоваренный. Технические условия: ГОСТ 5060-86. – Введ. 17.12.1992 пост. Госстандарта Респ. Беларусь № 3 в качестве гос. стандарта Респ. Беларусь; переизд. (окт. 2010 г.) с изм. № 1, утв. в окт. 1992 г. (ИУС № 12-92), изм. № 2 ВУ, утв. в нояб. 2008 г. (ИУ ТНПА № 11-2008), поправками (ИУС РБ № 5-99, ИУ ТНПА № 9-2008); разработ.: М-во хлебопродуктов СССР. – Минск: Гос. комитет по стандартизации Респ. Беларусь, 1992. – 10 с.

20. Зерно. Методы определения запаха и цвета: ГОСТ 10967-2019. – Введ. 26.08.2019 пост. Гос. комитета по стандартизации Респ. Беларусь № 50 непосредственно в качестве гос. стандарта Респ. Беларусь с 1 апр. 2020 г.; разработ.: Филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем имени В. М. Горбатова» РАН (ВНИИТеК – филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем имени В. М. Горбатова» РАН). – Минск: Гос. комитет по стандартизации Респ. Беларусь, 2020. – 10 с.

21. Зерно. Метод определения влажности: ГОСТ 13586.5-2015. – Введ. 01.09.2016 пост. Гос. комитета по стандартизации Респ. Беларусь от 1 сент. 2016 г. № 68 непосредственно в качестве гос. стандарта Респ. Беларусь с 1 апр. 2017 г.; разработ.: ГНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт зерна и продуктов его переработки» Российской академии сельскохозяйственных наук. – Минск: Гос. комитет по стандартизации Респ. Беларусь, 2016. – 20 с.

22. Зерно зерновых и бобовых культур и семена масличных культур. Метод определения массы 1000 зерен или 1000 семян: ГОСТ 10842-89. – Введ. 17.12.1992 пост. Госстандарта Респ. Беларусь № 3; переизд. (март 2012 г.) с изм. № 1, утв. в февр. 1995 г.

(ИУС РБ № 4-95); разработ.: М-во хлебопродуктов СССР. – Минск: Гос. комитет по стандартизации Респ. Беларусь, 1995. – 8 с.

23. Скиба, Е. А. Технология производства дрожжей: учеб. пособие / Е. А. Скиба; Алт. гос. техн. ун-т, БТИ. – Бийск: Изд-во Алт. гос. техн. ун-та, 2010. – 121 с.

24. Дрожжи хлебопекарные прессованные. Технические условия: ГОСТ 171-2015: Межгосударственный стандарт. – Принят Евразийским советом по стандартизации, метрологии и сертификации по переписке (протокол 83-П от 28 декаб. 2015 г.); разработ.: РГП «Казахстанский институт стандартизации и сертификации». – Минск: Евразийский совет по стандартизации, метрологии и сертификации, 2015. – 23 с.

25. Дрожжи хлебопекарные сушеные. Технические условия: ГОСТ 28483-2015. – Введ. 20.03.2017 пост. Госстандарта Респ. Беларусь № 19 непосредственно в качестве гос. стандарта Респ. Беларусь с 1 сент. 2017 г.; разработ.: РГП «Казахстанский институт стандартизации и сертификации». – Минск: Гос. комитет по стандартизации Респ. Беларусь, 2017. – 17 с.

26. Андреев, А. Н. Контроль качества сырья хлебопекарного производства: учеб. пособие / А. Н. Андреев. – СПб.: СПбГУНиПТ, 2005. – 93 с.

27. Сергачева, Е. С. Анализ сырья для производства хлебобулочных и кондитерских изделий: учеб.-метод. пособие / Е. С. Сергачева, Е. В. Соболева. – СПб.: Университет ИТМО: ИХиБТ, 2015. – 100 с.

28. Технологические свойства прессованных дрожжей и методы их определения [Электронный ресурс] / Все о технологии хлебопродуктов. – Режим доступа: <http://hleb-produkt.ru/biohimiya-hleboperecheniya/120-tehnologicheskie-svoystva-pressovannyh-drozhzhey-i-metody-ih-opredeleniya.html>. – Дата доступа: 14.04.2021.

29. Еремина, И. А. Лабораторный практикум по микробиологии: учеб. пособие / И. А. Еремина, О. В. Кригер; Кемеровский технол. институт пищевой промышленности. – Кемерово, 2005. – 112 с.

30. Мука и отруби. Методы определения цвета, запаха, вкуса и хруста: ГОСТ 27558–87. – Введ. 17.12.1992 пост. Гос. комитета по стандартизации Респ. Беларусь № 3 непосредственно в качестве гос. стандарта Респ. Беларусь с 1 янв. 1989 г.; переизд. (апр. 2011 г.) с изм. № 1, утв. в окт. 1989 г.; разработ.: М-во хлебопродуктов СССР. – Минск: Гос. комитет по стандартизации Респ. Беларусь, 2011. – 8 с.



ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие	3
1. Анализ качества молока, получение и анализ кисломолочных продуктов.....	4
1.1. Показатели качества молока	4
1.2. Тепловая обработка молока и молочных продуктов. Оценка эффективности тепловой обработки	12
1.2.1. Виды тепловой обработки.....	12
1.2.2. Биохимический контроль эффективности пастеризации молока и молочных продуктов	13
1.2.3. Микробиологический контроль эффективности тепловой обработки молока и молочных продуктов	15
1.3. Термоустойчивость молока.....	15
1.3.1. Изменения компонентов молока при тепловой обработке.....	15
1.3.2. Определение термоустойчивости молока	17
1.4. Изменение состава и свойств молока при сквашивании	19
1.5. Свертывание молока сычужным ферментом	21
1.6. Обработка сычужного сгустка	23
1.7. Лабораторная работа. Оценка качества молока по физико-химическим и микробиологическим показателям...	24
1.7.1. Установление массовой доли жира и белка, сухого обезжиренного остатка, плотности	24
1.7.2. Определение кислотности молока.....	26
1.7.3. Определение микробиологической чистоты молока.....	27
1.7.4. Определение количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ).....	30

1.7.5. Определение эффективности пастеризации молока пробой на фосфатазу по реакции с фенолфталеинфосфатом натрия.....	31
1.7.6. Определение эффективности пастеризации молока пробой на пероксидазу	32
1.7.7. Определение термоустойчивости молока по алкогольной пробе (модифицированный метод К. К. Горбатовой и П. И. Гуньковой)	35
1.8. Лабораторная работа. Получение и анализ кисломолочного сгустка	36
1.8.1. Получение кисломолочного сгустка	36
1.8.2. Анализ кисломолочного сгустка.....	37
1.9. Лабораторная работа. Получение и анализ сычужного сгустка. Постановка сырного зерна	47
1.9.1. Оценка сыропригодности молока.....	47
1.9.2. Получение сычужного сгустка и постановка сырного зерна.....	50
2. Анализ качества ячменя и пивоваренного солода, получение пивоваренного солода	61
2.1. Структура, химический состав и технологические свойства зерна ячменя.....	61
2.1.1. Структура зерна ячменя	61
2.1.2. Химический состав зерна ячменя	62
2.1.3. Технологические свойства зерна ячменя	66
2.1.4. Показатели, характеризующие доброкачественность и химический состав ячменя	67
2.1.5. Показатели, характеризующие технологические свойства ячменя	68
2.2. Процессы, протекающие при замачивании и проращивании ячменя.....	69
2.2.1. Замачивание зерна ячменя.....	69
2.2.2. Ферменты ячменя и ячменного солода	71
2.2.3. Проращивание ячменя	74
2.2.4. Показатели, характеризующие процесс солодоращения	76

2.2.5. Показатели, характеризующие качество сухого ячменного солода	77
2.3. Лабораторная работа. Оценка качества ячменя по органолептическим и физико-химическим показателям	80
2.3.1. Оценка органолептических показателей ячменя.....	80
2.3.2. Установление влажности ячменя.....	82
2.3.3. Установление крупности ячменя, содержания мелких зерен, зерновой и сорной примеси, зараженности вредителями	83
2.3.4. Установление массы 1000 зерен ячменя.....	85
2.3.5. Установление водочувствительности ячменя	86
2.4. Лабораторная работа. Получение ячменного солода и оценка его качества.	86
2.4.1. Получение ячменного солода	86
2.4.2. Установление количества непроросших зерен солода	87
2.4.3. Установление влажности солода	87
2.4.4. Расчет потерь массы сухих веществ на дыхание при замачивании и проращивании	88
2.4.5. Сушка ячменного солода.....	89
2.4.6. Установление органолептических показателей сухого солода.....	89
2.4.7. Установление экстрактивности сухого солода.....	90
2.4.8. Установление продолжительности осахаривания сухого солода.....	95
2.4.9. Установление амилолитической активности сухого солода.....	96
2.4.10. Расчет потерь массы сухих веществ на дыхание при сушке.....	99
3. Анализ качества хлебопекарных дрожжей	100
3.1. Характеристика хлебопекарных дрожжей	100
3.1.1. Химический состав клеток хлебопекарных дрожжей	101
3.1.2. Биохимические превращения углеводов в клетках хлебопекарных дрожжей.....	103

3.2. Влияние условий культивирования на накопление биомассы хлебопекарных дрожжей.....	104
3.2.1. Состав питательной среды	105
3.2.2. Концентрация осмотически действующих веществ среды.....	106
3.2.3. Температура.....	106
3.2.4. Водородный показатель.....	107
3.2.5. Аэрация среды	108
3.2.6. Режим культивирования	108
3.3. Характеристика товарных хлебопекарных дрожжей.....	111
3.4. Контроль производства хлебопекарных дрожжей и готовой продукции	113
3.5. Лабораторная работа. Оценка качества прессованных и сушеных хлебопекарных дрожжей.....	117
3.5.1. Установление органолептических показателей качества хлебопекарных дрожжей	117
3.5.2. Определение массовой доли влаги хлебопекарных дрожжей арбитражным методом	118
3.5.3. Установление подъемной силы хлебопекарных дрожжей	119
3.5.4. Установление осмоустойчивости хлебопекарных дрожжей	121
3.5.5. Установление кислотности хлебопекарных дрожжей	122
3.5.6. Определение стойкости прессованных хлебопекарных дрожжей	123
3.5.7. Установление зимазной и мальтазной активности хлебопекарных дрожжей	124
3.5.8. Микробиологический анализ качества хлебопекарных дрожжей.....	127
4. Анализ качества муки, приготовление и анализ теста.....	134
4.1. Характеристика муки для хлебопекарного производства	134
4.2. Показатели качества муки	136

4.3. Микробиологический контроль зерна и муки для хлебопекарного производства	138
4.4. Показатели качества теста и хлеба	141
4.5. Влияние дозировки соли на свойства теста и качество получаемого хлеба.....	143
4.6. Лабораторная работа. Оценка качества муки, приготовление и анализ теста	146
4.6.1. Оценка качества муки по органолептическим показателям, влажности, зольности, кислотности	146
4.6.2. Установление массовой доли и растяжимости сырой клейковины, седиментационного осадка	147
4.6.3. Определение спорообразующих бактерий в муке....	150
4.6.4. Приготовление и анализ теста	150
Литература.....	152

Учебное издание

Маркевич Раиса Михайловна
Рымовская Мария Васильевна

БИОТЕХНОЛОГИЯ
В ПИЩЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВАХ
ЛАБОРАТОРНЫЙ ПРАКТИКУМ

Учебно-методической пособие

Редактор *Е. И. Гоман*
Компьютерная верстка *Д. С. Жих*
Дизайн обложки *П. П. Падалец*
Корректор *Е. И. Гоман*

Подписано в печать 14.10.2021. Формат 60×84¹/₁₆.
Бумага офсетная. Гарнитура Таймс. Печать ризографическая.
Усл. печ. л. 9,4. Уч.-изд. л. 9,7.
Тираж 90 экз. Заказ .

Издатель и полиграфическое исполнение:
УО «Белорусский государственный технологический университет».
Свидетельство о государственной регистрации издателя,
изготовителя, распространителя печатных изданий
№ 1/227 от 20.03.2014.
Ул. Свердлова, 13а, 220006, г. Минск.