

БІОТЕХНОЛОГІЇ ТА БІОІНЖЕНЕРІЯ

DOI: 10.31319/2519-2884.38.2021.15

УДК 664.66.019

І.М. Корнієнко, к.т.н, доцент, irina.kornienko.1979@gmail.com

Національний авіаційний університет, м. Київ

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ АСКОРБІНОВОЇ КИСЛОТИ НА ТИТР МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ ТА ФЕРМЕНТАЦІЮ ТІСТА

В роботі вирішена актуальна наукова задача, яка полягає у визначенні оптимальної концентрації поліпшувача окислювальної дії — аскорбінової кислоти у складі рецептури функціонального хліба на заквасці. Мета роботи полягала у дослідженні інтенсивності протікання ферментаційних процесів під час дозрівання тіста, активність яких оцінювали за фізико-хімічними показниками. Використання сучасних біотехнологічних підходів в галузі хлібопечення дозволяють покращити якість готових виробів, скоротити тривалість технологічного циклу та підвищити функціональні властивості хліба.

Ключові слова: закваска; молочнокислі бактерії; аскорбінова кислота.

The actual scientific problem is solved in the work, which consists in determining the optimal concentration of the oxidizing action improver — ascorbic acid as a part of the recipe of functional sourdough bread. The aim of the work was to study the intensity of fermentation processes during the maturation of the dough, the activity of which was evaluated by physicochemical parameters. The use of modern biotechnological approaches in the field of baking allows to improve the quality of finished products, reduce the duration of the technological cycle and increase the functional properties of bread.

Key words: yeast; lactic acid bacteria; ascorbic acid.

Постановка проблеми

В останні роки в хлібопекарській практиці частіше почали використовувати харчові домішки різного принципу дії, необхідність використання яких зумовлена поширенням однофазних прискорених способів приготування тіста, нестабільною якістю борошна, різноманіттям функціональних властивостей сировини, розширенням асортименту виробів, а також пролонгацією терміну зберігання свіжості готових виробів.

Нажаль, до рецептури сучасних хлібобулочних виробів додаються речовини хімічного походження емульгатори, стабілізатори (E466, E412), вологоутримуючі агенти, окиснювачі, підсилювачі піднімальної сили тіста та підкислювачі у разі пришвидшеної технології бродіння, консерванти задля збільшення терміну реалізації готових виробів. Частіше за все, у якості розпушувачів задля збільшення пористості готових виробів та їх питомого об'єму використовують наступні хімічні компоненти — фосфат амонію (E342), карбонати кальцію (E170), фосфати кальцію (E341), які негативно впливають на ендоекологію людини при щоденному вживанні даного продукту [1—7].

За рахунок використаних хімічних поліпшувачів якості хлібобулочних виробів, а саме: фосфатів калію (E339), емульгаторів (E471, E472, E481, E482), пропіонової кислоти та пропіонату натрію (E280, E281), діацетату натрію (E262), діоксиду сірки (E220), сорбатів (E200-203), піросульфату натрію, перекису кальцію та бензоїлу, карбаміду, броматів калію та кальцію, каррагінану — під час випікання хліба утворюються сполуки, які відносяться до групи канцерогенних речовин (частіше, акриламід). Всі ці фактори викликають негативне ставлення лікарів щодо безпеки хліба та хлібобулочних виробів для організму людини хворої на діабет, алергії, порушення системи травлення та метаболізму в цілому [8,9]. Тому, актуальною проблемою сьогодення можна вважати підвищення безпеки та якості хлібобулочних виробів шляхом використання функціональних компонентів.

Аналіз останніх досліджень та публікацій

В практиці хлібопечення найпоширеніше застосування знайшли харчові домішки (поліпшувачі) наступних груп: речовини окислювальної та відновлювальної дії, ферментні препарати, ПАР, модифікований крохмаль, мінеральні солі, органічні кислоти, ароматичні та смакові домішки та консерванти. Частіше за все, виробники використовують поліпшувачі окислювальної дії — йодат калію, пероксид кальцію, персульфати, азодикарбонамід, перборати та перекис водню [7—9].

Автором [10] запропоновано у якості поліпшувача окислювальної дії використовувати екструдійовану композиційну суміш разом із аскорбіновою кислотою (у кількості 0,003 % відносно маси борошна) в практиці хлібопечення на дріжджах. Завдяки використанню даної композиції поліпшувачів вдалося скоротити час бродіння та покращити органолептичні показники хліба за формою та питомим об'ємом.

В роботі [11] запропоновано використовувати у якості поліпшувача хлібобулочних виробів фермент ліпокигеназу активністю 0,538 мкмоль/мг*хв у складі кабакового борошна. Завдяки використанню даного борошна у кількості 2,5 % від загальної маси, вдалося збільшити активність бродильних процесів у тісті за рахунок збільшення титру дріжджів, покращити реологічні властивості тіста, а саме — зміцнити клейковину, знизити пружність, зменшити час піднімальної сили тіста на 20 %, що дозволило скоротити технологічний процес дозрівання тіста.

Науковцями інститут холоду та біотехнологій доведено [12] збільшення питомого об'єму хліба завдяки введенню до рецептури у якості поліпшувача желатину у кількості 0,1—0,5 % відповідно до внесеної маси борошна, яке було використано під час замішування тіста. Цей показник збільшено на 4,6—6,5 % у порівнянні із контрольним зразком.

Звертаючи увагу на те, що більшість проведених наукових досліджень присвячено використанню поліпшувачів для дріжджового тіста, перспективним напрямком у біотехнології хлібопечення залишаються технології виробництва функціонального хліба на основі закваски з повним циклом ферментації, який відбувається за рахунок ферментів молочнокислих бактерій із додаванням безпечного поліпшувача окислювальної дії — аскорбінової кислоти. Додавання аскорбінової кислоти не призведе до вітамінізації готових виробів (при випіканні хлібобулочних виробів цей вітамін в малих концентраціях інактивується, якщо кількість його внесення не перевищуватиме 0,5 грамів на 1 кг борошна), але покращить ферментаційні процеси під час дозрівання тіста за рахунок інтенсифікації окислювально-відновлювальних процесів та гідролізу крохмалю, дозволить скоротити технологічний час приготування хліба без використання дріжджів та покращить органолептичні показники — пористість, формостійкість, питомий об'єм.

Формулювання мети дослідження

Мета роботи полягає у дослідженні впливу аскорбінової кислоти на титр молочнокислих бактерій тіста (лакто- та біфідобактерій), інтенсивність та глибину його ферментації, яку оцінено відповідно до показника окислювально-відновлювального потенціалу. Основним завданням даної роботи є встановлення оптимальної концентрації безпечного поліпшувача — аскорбінової кислоти, при якій дослідні зразки хліба відповідають встановленому стандарту ДСТУ-П-4588-2006 «Вироби хлібобулочні для спеціального дієтичного споживання».

Виклад основного матеріалу

Методологія проведення експерименту складалася із наступних стадій: приготування зразків тіста на основі закваски з підвищеним титром молочнокислих бактерій без додавання дріжджів (опарним методом); приготування наважок аскорбінової кислоти відповідно до маси борошна, кількість якого передбачено рецептурою; контроль зразків тіста на предмет визначення титру молочнокислих бактерій при різних концентраціях аскорбінової кислоти; вимірювання окислювально-відновлювального потенціалу (ОВП) і активної кислотності зразків тіста та хліба в залежності від концентрацій аскорбінової кислоти; визначення титрованої кислотності та органолептичної оцінки готових виробів на відповідність стандарту ДСТУ-П-4588-2006 «Вироби хлібобулочні для спеціального дієтичного споживання». Аскорбінову кислоту вносили у тісто у вигляді розчину разом із сіллю та цукром з урахуванням масової частки кожного компоненту відповідно до рецептури.

Запропоновано визначити оптимальну концентрацію аскорбінової кислоти в дослідних

зразках тіста шляхом визначення титру (кількості життєздатних клітин) молочнокислих бактерій по завершенню процесу ферментації тіста, який тривав 225 хв. шляхом посіву наважок зразків тіста методом розведень на елективні поживні середовища (лактоагар, біфідоагар). Час інкубації посівного матеріалу в термостатних умовах тривав 24 години при температурі 37°C.

На щільному елективному середовищі (лактоагар) кількість колоній визначали за стандартним, загальноприйнятим способом підрахунку на чашках Петрі. Титр біфідобактерій у напіврідкому елективному середовищі встановлювали шляхом виміру кількості життєздатних клітин на денситометрі. Контроль активної кислотності та окислювально-відновлювального потенціалу у дослідних зразках проводили за допомогою потенціометра (електронометру) типу рН-150МА. Титровану кислотність хліба визначали титруванням підготовлених зразків гідроксидом натрію в присутності індикатора - фенолфталеїну.

Запропоновано у якості поліпшувача використовувати аскорбінову кислоту, тому що вона є каталізатором окислювально-відновлювальних процесів, приймає активну участь в процесах переносу водню від окисленого субстрату до молекули кисню. При окисленні вона втрачає 2 атоми водню, при цьому трансформується в дегідроаскорбінову кислоту. Згідно наукових положень [13—15], аскорбінова кислота є регулятором ферментативних реакцій в клітині. Даний антиоксидант відноситься до поліфункціональних з'єднань, які володіють властивістю об'єднано окислюватися та відновлюватися. Завдяки даним особливостям, аскорбінова кислота приймає участь у багатьох важливих енергетичних процесах живої клітини, стимулює реакції метаболізму, котрі пов'язані із обміном нуклеїнових кислот та синтезом білка.

Окислювальні процеси за участю аскорбінової кислоти протікають в присутності кисню та ферментів борошна. Для оцінки повноти ферментації тіста в присутності аскорбінової кислоти проведено визначення ОВП тіста на початку (одразу після замісу тіста) та наприкінці його дозрівання (через 225 хв.), а також у випечених зразках хліба (табл.1).

Основними компонентами поживного середовища (при культивуванні молочнокислих бактерій) є:

- вуглеводи — це джерело енергії (моносахариди, дисахариди, олігосахариди);
- органічні кислоти (лимонна, яблунева, піровіноградна, фумарова), уроніві кислоти (глюкурінова, галактуринона), які синтезуються мікроорганізмами паралельно із утворенням CO₂, молочної та оцтової кислот;
- амінокислоти (глутамінова, аргінін, тирозин), які використовуються молочнокислими бактеріями у випадку відсутності джерела енергії (субстратів);
- азотисті компоненти, які вони не можуть самостійно синтезувати, тому у складі поживної суміші повинні бути присутніми поживні речовини, які містять складні органічні форми азоту (соєве та квасолеве борошно, гідролізати білків — м'яса, казеїну);
- вітаміни (пантатенова та ніотинова кислоти, піридоксин, біотин, фолієва та аскорбінова кислоти).

Враховуючи потреби молочнокислих бактерій та склад ферментаційного середовища (тіста) можна сказати, що воно містить основні складові, а саме: джерело енергії, яке представлено борошняною сумішшю із цільнозернового пшеничного, спельтового борошна; органічні кислоти, які синтезуються даними мікроорганізмами в результаті розщеплення субстрату (борошна); азотисті компоненти, які додані до тіста у вигляді соєвого борошна (3 %) та вітаміни — аскорбінову кислоту.

Щодо потреби молочнокислих бактерій у вище перерахованих вітамінах — необхідність їх внесення до ферментаційного середовища на пряму залежить від амінокислотного складу борошна, присутності жирних кислот (олеїнова, лінолеєва, ліноленова), що свідчить про необхідність врахування харчової цінності борошняної складової під час встановлення оптимальної концентрації вітамінів.

Щодо потреби молочнокислих бактерій у жирних кислотах — вони синтезуються під час бродіння тіста введеним консорціумом молочнокислих бактерій внаслідок окислювально-відновлювальних перетворень ліпідів борошна. Ферменти (ліпази) є важливими біокаталізаторами процесу гідролізу тригліцеридів (процес протікає в присутності молекулярного кисню) з утворенням гліцерину та вільних жирних кислот. Процеси окислення ненасичених жирних кислот відбуваються наступним чином: молекули кисню приєднуються до вільних вуглеводневих

радикалів, котрі утворилися під час відщеплення атому водню від вуглеводневого радикалу жирних кислот. При окисленні жирних кислот під дією кисню змінюється метиленова група: утворюються вільні перекисні радикали, при взаємодії із вуглеводневими радикалами інших молекул гліцерину утворюються більш стабільні речовини — гідропероксидази і виникають нові вільні радикали. Пероксидази та гідропероксидази приймають участь в руйнуванні каротиноїдних пігментів борошна, окисленні сульфгидрильних груп протейнази, глютатіона, залишків цистеїну в поліпептидних ланцюгах самого білку. ОВП реакції, які каталізуються ферментами пероксидазама та каталазама, пов'язані з окисленням ненасичених жирних кислот, які сприяють дії ліпоксигенази за рахунок порушення її інгібітору — перекису водню. Молочнокислі бактерії використовують вуглекислий газ для синтезу жирних кислот та білків [13—17].

Ліпіди борошна містять ненасичені жирні кислоти, які разом із ферментами борошна (ліпази та ліпоксигенази) здійснюють вплив на його структурні компоненти, котрі постійно змінюють властивості тіста та якість хліба.

Хід протікання мікробіологічних та біохімічних процесів під час дозрівання тіста (ферментації) напряму залежить від концентрації водневих іонів порівняно із сумарним вмістом кислотореагуючих продуктів. Під час ферментації тіста відбуваються суттєві зміни у білковій фракції, котрі залежать від наступних факторів: активності протеолітичних ферментів, активної та титрованої кислотності напівфабрикатів, ОВП, кількості виділеного мікроорганізмами глютатіона, який здатен у відновлювальній формі активізувати протейни борошна, особливостей компонентів рецептури тіста, які впливають на процес його протеолізу, параметрів технологічного процесу бродіння та концентрації поліпшувачів. Комплекс окислювально-відновлювальних реакцій протікає на різних стадіях технологічного процесу приготування хліба за участю різних ферментів, які містяться у борошні (протейндисульфідредуктази, глютатіонредуктази, ліпоксигенази, каталази, пероксидази, поліфенолоксидази, аскорбатоксидази, алкогольдегідрогенази). Виходячи із цього, в даній роботі запропоновано контролювати показники активної та титрованої кислотності, ОВП тіста та хліба, порівнюючи його із магазинними зразками хліба (табл. 1).

Як видно із представлених результатів досліджень (табл. 1), показник активної кислотності майже не змінюється при додаванні аскорбінової кислоти у більш високих концентраціях. Це пояснюється тим, що кількість її внесення до тіста незначна, тому аскорбінова кислота не впливатиме на зміну рН у бік кислого середовища. Порівнюючи результати активної кислотності по закінченню процесу ферментації із показниками перед початком, встановлено, що в процесі бродіння борошняної складової відмічається вплив аскорбінової кислоти, яка сприяє інтенсифікації процесів бродіння (за рахунок інтенсивності протікання окислювально-відновлювальних реакцій), що підтверджено зміною рН у бік кислого середовища (активна кислотність змінюється з 4,39 до 3,54).

Цей факт пояснюється інтенсивним розвитком бродильної мікрофлори (рис. 1) та кислотонакопиченням (особливо молочної кислоти). Внаслідок активізації бродильних процесів відбувається суттєві зміни відносно показника титрованої кислотності хліба, який збільшився порівняно із контрольним зразком, котрий виготовлено без додавання аскорбінової кислоти (ріст титрованої кислотності хліба відбувся при концентрації аскорбінової кислоти 0,06-0,2 г/кг з 6,0 до 7,0 градуси Тернера).

Оптимальною величиною рН для розвитку молочнокислих бактерій є 3,0—5,5. Внаслідок інтенсивного кислотонакопичення відбувається зниження росту молочнокислих бактерій. Найбільш кислотостійкими є гомоферментативні коки, а менш за все — гетероферментативні палички. При суттєвому зниженні рН розвиваються гомоферментативні палички, а гетероферментативні коки починають споживати органічні кислоти, не використовуючи цукри [3,16]. При більш високих значеннях рН представники молочнокислих бактерій використовують одночасно — органічні кислоти та фруктозу, а при наближенні рН до 4 — відбувається одночасне засвоєння органічної кислоти, фруктози та глюкози. Ось, чому необхідно підтримувати показник рН в зазначених межах та контролювати титровану кислотність тіста протягом його бродіння (ферментації). Якщо оптимальні значення цих показників не будуть підтримуватися протягом технологічного процесу — не буде відбуватися повне зброджування цукрів.

Таблиця 1. Результати експерименту

Вміст аскорбінової кислоти, г/кг борошна	Активна кислотність тіста перед початком ферментації (pH)	ОВП тіста перед початком ферментації, mV	Активна кислотність по закінченню ферментації (pH)	ОВП тіста по закінченню ферментації, mV	ОВП хліба, mV	Титрована кислотність хліба, градус Тернера	Активна кислотність хліба (pH)
0,02	5,9	32	4,65	-29	-31	6,0	4,60
0,04	5,9	31	4,63	-32	-35	6,0	4,58
0,06	5,98	30	4,60	-36	-39	6,1	4,56
0,08	5,98	29	4,56	-40	-46	6,2	4,53
0,1	5,98	29	4,52	-42	-49	6,4	4,50
0,12	5,98	29	4,52	-42	-50	6,4	4,50
0,14	5,97	28	4,51	-43	-50	6,4	4,50
0,16	5,97	28	4,51	-43	-50	6,4	4,49
0,18	5,97	28	4,51	-43	-50	6,4	4,49
0,2	5,97	28	4,51	-43	-50	6,5	4,49
Контрольний зразок (без додавання аскорбінової кислоти)	6,0	33	4,66	-27	-33	6,0	4,60
Зразки магазинного хліба:							
1	-	-	-	-	-16	4,5	5,0
2	-	-	-	-	-18	4,8	5,1
3	-	-	-	-	-20	4,8	5,1

Оптимальною величиною pH для розвитку молочнокислих бактерій є 3,0—5,5. Внаслідок інтенсивного кислотонакопичення відбувається зниження росту молочнокислих бактерій. Найбільш кислотостійкими є гомоферментативні коки, а менш за все — гетероферментативні палички. При суттєвому зниженні pH розвиваються гомоферментативні палички, а гетероферментативні коки починають споживати органічні кислоти, не використовуючи цукри [3,16]. При більш високих значеннях pH представники молочнокислих бактерій використовують одночасно — органічні кислоти та фруктозу, а при наближенні pH до 4 — відбувається одночасне засвоєння органічної кислоти, фруктози та глюкози. Ось, чому необхідно підтримувати показник pH в зазначених межах та контролювати титровану кислотність тіста протягом його бродіння (ферментації). Якщо оптимальні значення цих показників не будуть підтримуватися протягом технологічного процесу — не буде відбуватися повне зброджування цукрів.

Дослідниками підтверджено [13], що при концентрації водневих іонів нижче за 3, переставляють розвиватися гомоферментативні та гетероферментативні палички, які при більш високих значеннях pH (не нижче 3,5) краще засвоюють цукри та рідше споживають органічні кислоти. Аналізуючи результати досліджень, представлені в таблиці 1, видно, що показники активної кислотності (pH 4,66—4,51) та титрованої кислотності (6—6,5 градуси Тернера) не перевищують вказаний діапазон, що в повній мірі співвідноситься з вимогами до умов культивування молочнокислих бактерій.

Аналізуючи отримані результати досліджень, запропоновано у якості каталізатора окислювально-відновлювальних процесів, котрі протікають під час ферментації тіста, використовувати аскорбінову кислоту у кількості 0,1 та 0,12 г/кг борошна, що підтверджено експериментальними даними, наведеними в табл. 1.

ОВП є важливим показником оцінки протікання повноти бродіння тіста. ОВП визначається кількістю електронів, які можуть нейтралізувати вільні радикали в організмі людини. Якщо в середовищі багато вільних електронів, тоді ОВП має негативний заряд. Чим нижчий ОВП, тим більша кількість електронів та вищий енергетичний стан системи. Електрометр визначає рН та ОВП, який характеризує енергію водню та рівень його активності. Вивільнені електрони надають системі антиоксидантних властивостей, нейтралізують вільні радикали — причину захворюваності та старіння організму людини. Враховуючи те, що аскорбінова кислота володіє антиоксидантною дією, запропоновано контролювати саме цей показник в процесі ферментації борошняної складової тіста на початку бродіння та наприкінці його завершення (після 225 хв. годин ферментації). Аналізуючи отримані результати досліджень тіста та хліба на предмет визначення ОВП (табл. 1), встановили, що в результаті бродіння тіста та випікання тістових заготовок, відбувається зниження величини ОВП. Поступове зниження ОВП тіста в залежності від доданої наважки аскорбінової кислоти призводить до інтенсифікації процесу бродіння, і як наслідок, до зменшення часу ферментації (від 270 хв. до 225 хв.) порівняно із контрольним зразком. Чим нижчий ОВП, тим повніше протікає зброджування вуглеводів борошна та доданого цукру завдяки активізації аскорбіновою кислотою окислювально-відновлювальних процесів. Збільшена негативна величина ОВП (–27 мілівольт контрольний зразок, –42 мілівольт зразок із додаванням аскорбінової кислоти) свідчить про те, що тісто володіє активною відновлювальною властивістю. Чим більше негативний потенціал певної ОВП системи, тим більше її відновлювальні властивості та навпаки. Обмін енергією в клітинах молочнокислих бактерій відбувається за рахунок окислення або відновлення різних органічних з'єднань з поступовим виділенням енергії, яка необхідна для підтримки життєдіяльності мікроорганізмів. Перенос електронів під час окислювально-відновлювальних реакцій завжди протікає із виділенням енергії, яка накопичується в клітині в разі її життєдіяльності. Чим більше негативний показник ОВП — тим кращий обмін речовин в клітині.

Порівнюючи ОВП контрольного зразку тіста, який становить –27 мілівольт (без додавання аскорбінової кислоти) із зразками тіста, до яких було додано різні наважки даного антиоксиданту видно, що суттєве зниження ОВП (з –31 до –50) відбувається завдяки ферментаційним процесам, які активовані бродильною мікрофлорою тіста, яку отримано завдяки введенню чистих культур молочнокислих бактерій біопрепарату торгівельної марки «Віво», котрі внаслідок зброджування борошняної складової в значній мірі знижують показник ОВП. Також, впродовж випікання тістових заготовок відбувається поступове зниження ОВП (з –27 до –33 мілівольт для контрольного зразку та з –31 до –50 мілівольт при додаванні наважки аскорбінової кислоти у кількості 0,1 г/кг борошна). Це пояснюється тим, що внаслідок початкового підвищення температури відбувається активізація бродильної мікрофлори та окислювальних процесів, а також руйнування білків. Під час посиленого підвищення температури, також, вивільнюються вільні амінокислоти при розкладанні білків, формується смак та запах. За рахунок амінокислот та незаброджених цукрів відбувається реакція Майяра — утворення скоринки та кольору.

Порівнюючи показники ОВП магазинних (–16, –18, –20 мілівольт) та власних зразків хліба (–33, –50 мілівольт) на заквасці можливо стверджувати, що досліджені зразки магазинного хліба виготовлено за прискореною технологією бродіння (із додаванням розпушувачів, поліпшувачів хімічної природи), при якій не відбулося повне ферментативне розщеплення вуглеводів та крохмалю борошна за рахунок бродильної мікрофлори. Данні зразки магазинного хлібу відповідають стандарту ДСТУ за показниками пористості, титрованої кислотності та питомого об'єму завдяки доданим домішкам.

Аналізуючи результати досліджень (рис. 1) встановлено, що завдяки введенню аскорбінової кислоти відбувається суттєве збільшення біомаси молочнокислих бактерій порівняно із контролем. Але, найоптимальнішою кількістю даного антиоксиданту можна вважати 0,1–0,12 г/кг борошна. При збільшенні концентрації аскорбінової кислоти за вказаний діапазон не відбувається збільшення титру молочнокислих бактерій, а навпаки, він дещо знижується, але несуттєво. При рекомендованій кількості аскорбінової кислоти відмічається збільшення антилогарифму лактобактерій з 16,11 до 27,7 КУО/г, що відповідає титру $1 \cdot 10^7$ КУО/г та

$6 \cdot 10^{11}$ КУО/г та біфідобактерій з 13,82 до 25,22 кліт./г, що відповідає титру $1 \cdot 10^6$ кліт./г та $7,0 \cdot 10^{10}$ кліт./г порівняно із контрольним зразком. Цей факт пояснюється тим, що аскорбінова кислота стабілізує амілолітичні ферменти, що дозволяє ефективніше розщеплювати крохмаль, інтенсифікується гідроліз біополімерів, що призводить до пришвидшення процесу його утилізації і як наслідок — збільшення біомаси молочнокислих бактерій завдяки активації аскорбіновою кислотою ферментних систем борошна та утворення антиоксидантних речовин. Титр молочнокислих бактерій відноситься до одного із важливих оцінюючих факторів, від якого залежить інтенсивність дозрівання тіста, оскільки даний вид бактерій володіє протеолітичною та ліполітичною активністю, приймає участь у руйнуванні пептидів, перетворює яблуневу кислоту (через пірвіноградну) в молочну.

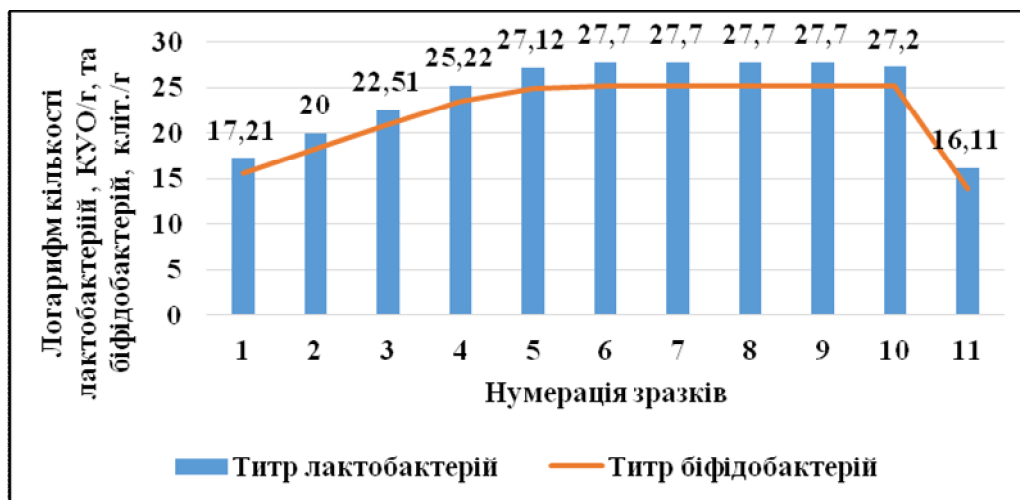


Рис. 1. Залежність титру молочнокислих бактерій (лакто- та біфідо-) від концентрації аскорбінової кислоти, г/кг борошняної суміші: 1-0,02; 2-0,04; 3-0,06; 4-0,08; 5-0,1; 6-0,12; 7-0,14; 8-0,16; 9-0,18; 10-0,2; 11-контроль (без додавання аскорбінової кислоти)

Згідно даних [13], при додаванні аскорбінової кислоти у кількості 1—2 г на 100 кг солоду відбувається підвищення концентрації редуруючих речовин від 74,4 до 78,9 % у суслі під час його зброджування дріжджами та амінного азоту від 23,8 до 27,2 мг/100 см³. Амілолітична активність сусла при додаванні 1—2 г/100 г аскорбінової кислоти збільшена від 162,8 до 180,2 од.активн./100 см³, а протеолітична — від 1,55 до 2,15 од.активн./100см³. Зросла кількість дріжджових клітин на другий день ферментації, а саме, збільшилася від 27 мл. клітин до 39 мл. клітини, що в повній мірі співвідноситься з представленими результатами досліджень щодо визначення кількості життєздатних клітин молочнокислих бактерій родів лакто- та біфідо у тісті (рис. 1).

Збільшення концентрації аскорбінової кислоти не призводить до пригнічення бродильної мікрофлори (рис. 1), але реологічні властивості змінюються не найкраще. Виходячи із цього, необхідним є визначення оптимальної кількості цього антиоксиданта задля отримання оптимальних структурно-механічних властивостей тіста. Інакше, збільшення концентрації аскорбінової кислоти у тісті сприятиме формуванню більш пружної структури із порушенням його в'язко-пластичних властивостей.

Збільшення титру молочнокислих бактерій [14] сприятиме утворенню антиоксидантних ферментних систем: НАД(ф)Н-оксидаза, НАДН-пероксидаза, Mn — вмісна супероксиддисмутаза, каталаза, тіоредоксинредуктаза, глутатіонпероксидаза, цитохром-d-оксидаза.

Важливу роль у протіканні окислювально-відновлювальних реакцій (ОВР) здійснюють процеси перетворення аскорбінової кислоти під дією ферментів аскорбатоксидази та дегідроаскорбатредуктази. Антиоксидант, який додавали у тісто, у якості поліпшувача його властивостей та якості хліба, підлягав послідовності дій цих ферментів, за рахунок чого аскорбінова кислота

переходила в дегідро-L-аскорбінову кислоту (в присутності кисню), яка володіє окислювальними властивостями. Фермент дегідроаскорбатредуктаза в присутності -SH — утримуючих компонентів білково-протеазного комплексу борошна в тісті відновлюється до дегідро-L-аскорбінової кислоти, в результаті чого виникає окислювальна інактивація протеїназами та активаторами глутатіону. Внаслідок таких процесів корегується та покращується структура білку. Незважаючи на те, що молочнокислі бактерії відносяться до факультативних анаеробів, науковцями [1,12,16,17] доведено в ході досліджень потребу у кисні. Відомо, що молочнокислі бактерії не мають повної електронно-транспортної системи, але все одно зберігають свою життєздатність в присутності кисню. Усі із 19 досліджених штамів мали можливість поглинати кисень, хоча при великих концентраціях цього окиснювача відбувалося зниження приросту біомаси на 20—40 %. Лактобактерії живуть в аеробних, анаеробних та мікроаеробних умовах. Встановлено, що повний анаеробіоз дещо знижує розвиток гетероферментативних паличок, ріст гомоферментативних паличок знижується на 10 %, і як наслідок — інтенсифікація бродіння знижується на 23 %. В разі відсутності кисню, аскорбінова кислота проявляє себе як відновлювальник, і тоді знижується вміст вуглекислого газу та сила тіста, і як наслідок — знижується питомий об'єм готових виробів. Якщо є бажання покращити якість хлібобулочних виробів необхідно, щоб хоч іноді потрапляв кисень (під час просіювання борошна, при замішуванні тіста), тому що в анаеробних умовах не відбудеться процес окислення аскорбінової кислоти до дегідро-L-аскорбінової кислоти, яка володіє потужною окислювальною дією.

Завдяки ферментам бродильної мікрофлори (ферментам цитоплазматичної мембрани) та борошняної суміші вивільняється енергія із цього субстрату в реакціях ступінчатого окислення, яке підсилюється аскорбіновою кислотою. В результаті бродіння в певних ОВР утворюються нестабільні молекули, фосфорна група яких містить вільну енергію. Ця група переноситься із аденозиндіфосфату (АДФ) до аденозинтрифосфату (АТФ) — субстратне фосфорилування. Окислювально-відновлювальні процеси, які протікають під час ферментації тіста, є внутрішньо молекулярними, тобто, одна частина молекули відновлюється, а друга — підлягає окисленню. Молочнокислі бактерії, на відміну від аеробних цитохроммістких, не мають цитохрому, які приймають участь у диханні, але вони здійснюють окислення деяких речовин завдяки вмісту флаваноїдних систем [1,17]. Виходячи із цього, є необхідність у подальшому досліджувати впливу аскорбінової кислоти на процеси ферментації тіста під час додаткового введення джерела енергії у вигляді препарату АТФ. При вивільненні енергії та розкладанні молекули АТФ утворюються фосфорні групи, які в свою чергу, взаємодіють із дегідро-L-аскорбіновою кислотою та пришвидшують процес її окислення. Процеси окислення у молочнокислих бактерій пов'язані із утворення перекису водню, який є сильним окиснювачем, внаслідок чого відбувається збільшення газоутворювальної здатності тіста та збільшення його пористості. Молочнокислі бактерії продовжують відновлювати перекис водню до води в присутності субстрату. Максимальна кількість перекису водню фіксується у логарифмічній фазі росту. Перекис водню також володіє бактерицидними властивостями. Перекис водню синтезується переважно лактобактеріями внаслідок дії цитозолей NADH (відновлення NAD, форми коферменту та оксидази $C_{21}H_{27}N_7O_{14}P_2$). В даному процесі перекис водню утворюється у кількості 0,8—1,8 мг/100 мл. Незважаючи на утворення перекису водню, молочнокислі бактерії мають можливість звільнитися від неї за рахунок NADH-пероксидази. Роль утвореної перекису водню в даному процесі важливе, тому що вона активізує LPS-систему завдяки активації метаболічної діяльності культур закваски. Тому, від швидкості накопичення або зменшення перекису водню можна оцінювати активність дії NADH-оксидази, NADH-пероксидази [1,17].

Висновки

Хлібопекарська галузь є однією із провідних галузей харчової промисловості України та інших країн світу. Основним напрямком в її розвитку вважається використання сучасних біотехнологічних засад, які надають можливість покращити якість готових виробів, скороти тривалість технологічного циклу та підвищити функціональні властивості хліба за рахунок введення специфічних компонентів до складу тіста та молочнокислих бактерій у якості бродильної мікрофлори.

Запропоновано у якості поліпшувача якості готових виробів використовувати антиоксидант — аскорбінову кислоту кількістю 0,1 г/кг борошна.

Завдяки введенню аскорбінової кислоти скоротився час ферментації тіста із 270 до 225 хв., покращилися структурно-механічні властивості (пористість, об'єм хліба), збільшилася швидкість та повнота протікання окислювально-відновлювальних реакцій, яка підтверджена показником ОВП, котрий відповідає максимально негативному значенню у порівнянні із магазинними зразками хліба та контролем. Експериментами встановлено, що ОВП власноруч виготовленого хліба, має великий негативний потенціал (–50 мілівольт у порівнянні із магазинним зразком хліба, який становить –20 мілівольт), що свідчить про належність готового продукту до відновлювальної системи, в якій процеси окислення пройшли у повній мірі. Хлібобулочні вироби з повним циклом ферментації краще засвоюються організмом людини, оскільки найбільша частина вуглеводів борошна є ферментованою молочнокислими бактеріями.

Експериментами доведено активацію бродильної мікрофлори тіста за рахунок доступності субстрату (борошна) внаслідок активації дегідро-L-аскорбіновою кислотою власних ферментів борошна. При цьому, титр лактобактерій збільшено до $6 \cdot 10^{11}$ КУО/г та біфідобактерій з $1 \cdot 10^6$ кліт./г до $7,0 \cdot 10^{10}$ кліт./г відповідно. Показники активної (рН 4,66—4,51) та титрованої кислотності (6,0—6,5 градуси Тернера) знаходяться в межах, які в повній мірі відповідають оптимальним умовам культивування молочнокислих бактерій, що свідчить про доцільність використання поліпшувача якості хлібобулочних виробів — аскорбінової кислоти наважкою 0,1 г/кг борошна.

Узагальнюючи функціональну роль ферментів борошна та бродильної мікрофлори, можна зробити висновок, що їх взаємодія супроводжується складним комплексом процесів, які зумовлюють модифікацію структурних компонентів сировини та напівфабрикатів на різних стадіях процесу, що дозволяє керувати процесом ферментації та формувати певні або відповідні фізико-хімічні, органолептичні показники якості готових виробів. Тому, збільшуючи концентрацію аскорбінової кислоти у випадку потреби вітамінізації хліба, необхідно контролювати такі технологічні параметри, як в'язкість тіста, розтягіння, газоутворення, питомий об'єм та формостійкість.

Список використаної літератури

1. Квасников Е.И., Нестеренко О.А. Молочнокислые бактерии и пути их использования. Учебное пособие. Москва: Наука, 1975. 384 с.
2. Банникова Л.А., Королева Н.С., Семехина В.Ф. Микробиологические основы молочного производства. Учебное пособие. Москва: Агропромиздат, 1987. 400 с.
3. Бурьян Н.И., Тюрина Л.В. Микробиология виноделия. Учебное пособие. М: Пищевая промышленность, 1979. 271 с.
4. Смолер В.І., Петрашенко Г.І. Гігієнічні аспекти біотехнології харчових продуктів. *Проблеми харчування*. Київ, 2012. № 1–2. С.50-56.
5. Смолер В.І. Токсичні ефекти харчових добавок. *Проблеми харчування*. Київ, 2005. № 1. С. 5–15.
6. Степанов И., Битц П., Азаров В. Исследования зерна с экстремальными показателями. Хлебопродукты. Москва, 2001. № 12. С.10–11.
7. Афанасьева, О.В. Биологическая хлебная закваска – путь к повышению конкурентоспособности хлебобулочных изделий с использованием ржаной муки. Хлебопечение России. Москва, 2009. № 6. С. 18–19.
8. Афанасьева, О.В. Микробиология хлебопекарного производства. Санктпетербург: Береста, 2003. 221 с.
9. Лаврушенко Л.Ф. Влияние пищевых добавок на окислительные процессы в митохондриях печени крыс. *Український біохімічний журнал*. Київ, 1989. № 2. С.136–139.

10. Занкин В.В., Курмарева Л.И., Матсаш Р. А. Эффективное применение уличителя и экстрадированной композиторной смеси в хлебопечении. *Инновационная техника и технология*. Пенза, 2015. № 4. С.49–53.
11. Андреев А.Н., Дмитриева Ю.В. Влияние гелеобразной способности желатина на удельный вес пшеничного хлеба. *Процессы и аппараты пищевой промышленности*. Санкт-Петербург, 2013. № 3. С.1–5.
12. Борисенко В.А., Маюрашкова Л.А., Борисенко Т.М. Совершенствование технологии пива с использованием аскорбиновой кислоты. *Пиво и напитки*: Москва, 2006. № 3. С.23–25.
13. Хорошева Е.В., Федосова О.А., Шлейкин А.Г. Применения аскорбиновой кислоты в хлебопечении. Актуальные проблемы биоинженерии. Санкт-петербург, 2003. С. 20–28.
14. Стационарная кинетика совместного окисления аскорбиновой кислоты и ферроцианида калия перекисью водорода в присутствии хрена. *Биоорганическая химия*, Москва, 1999. №1. Том 19. С. 70–73.
15. Бердишев Г.Д., Махотина О.А. Память воды и современная фитотерапия. *Физика сознания и жизни, космология и астрофизика*. Киев, 2004. № 1. С. 9–33.
16. Немцова З.С., Волкова Н.П., Терехова Н.С. Основы хлебопечения. Москва: Агропромиздат, 1986. 287 с.

INVESTIGATION OF THE INFLUENCE OF ASCORBIC ACID ON THE TITER OF LACTIC ACID BACTERIA AND TEST FERMENTATION

Korniienko I.

Abstract

The use of modern biotechnological approaches in the field of baking allows to improve the quality of finished products, reduce the duration of the technological cycle and increase the functional properties of bread. The aim of the study was to study the effect of ascorbic acid on the intensity of fermentation processes during dough maturation. The task of the work is to establish the optimal amount of improver — ascorbic acid, taking into account organoleptic, microbiological and structural-mechanical quality indicators. The intensity of microbiological and biochemical processes during dough maturation (fermentation) directly depends on the concentration of hydrogen ions compared to the total content of acid-reactive products, as well as redox potential, titrated acidity and titer of fermentation microflora. The introduction of ascorbic acid in the amount of 0.1—0.12 g/kg of flour, the fermentation time of the dough was reduced from 270 to 225 minutes, the speed and completeness of redox reactions (redox potential -50 mV) were increased. redox potential reactions catalyzed by the enzymes peroxidases and catalases are associated with the oxidation of unsaturated fatty acids, which promote the action of lipoxygenase by disrupting its inhibitor - hydrogen peroxide. Experiments have confirmed the activation of the fermenting microflora of the dough and the increase of its titer. Indicators of active (pH 4.66—4.51) and titrated acidity (6.0—6.5 degrees Turner) are within the limits that fully meet the optimal conditions for the cultivation of lactic acid bacteria, which indicates the correct selection of the amount of ascorbic acid and the composition of the nutritious flour mixture.

References

- [1] Kvasnykov E.Y., Nesterenko O.A. Molochnokyslye bakteryy u puty ykh yspolzovaniya. Uchebnoe posobyе. Moskva: Nauka, 1975. 384 p.
- [2] Bannykova L.A., Koroleva N.S., Semekhyina V.F. Mykrobiolohycheskye osnovy molochnoho proyzvodstva. Uchebnoe posobyе. Moskva: Ahropromyzdat, 1987. 400 p.
- [3] Burian N.Y., Tiuryina L.V. Mykrobiolohyia vynodelyia. Uchebnoe posobyе. M: Pyshevaia promyshlennost, 1979. 271 p.

- [4] Smoler V.I., Petrashenko H.I. Nihiienichni aspekty biotekhnolohii kharchovykh produktiv. Problemy kharchuvannia. Kyiv, 2012. № 1–2. P. 50–56.
- [5] Smoler V.I., Petrashenko H.I. Nihiienichni aspekty biotekhnolohii kharchovykh produktiv. Problemy kharchuvannia. Kyiv, 2012. № 1–2. P. 50–56.
- [6] Smoler V.I. Tokyschni efekty kharchovykh dobavok. Problemy kharchuvannia. Kyiv, 2005. № 1. P. 5–15.
- [7] Afanaseva O.V. Byolohycheskaia khlebnaia zakvaska – put k povyshenyiu konkurentosposobnosti khlebobulochnykh yzdelyi s yspolzovanyem rzhanoi muky. Khlebopechenye Rossyy. Moskva, 2009. № 6. P. 18–19.
- [8] Afanaseva O.V. Mykrobyolohyia khlebopekarnoho proyzvodstva. Sanktpeterburh: Beresta, 2003. 221 p.
- [9] Lavrushenko L.F. Vliyanye pyshchevnykh dobavok na okyslytelnye protsessy v mytokhondryiakh pecheny kuis. Ukrainskii biokhimichnyi zhurnal. Kyiv, 1989. № 2. P. 136–139.
- [10] Zankyn V.V., Kurmareva L.Y., Matsash R. A. Effektivnoe pryumenenye ulychytelia y ekstradyrovanoi kompozytornoi smesy v khlebopechenyy. Ynnovatsyonnaia tekhnolohyia. Penza, 2015. № 4. P. 49–53.
- [11] Andreev A.N., Dmytryeva Yu.V. Vliyanye heleobraznoi sposobnosti zhelatyna na udelnyi ves pshenychnoho khleba. Protsessy y apparaty pyshchevoi promyshlennosti. Sankt-Peterburh, 2013. № 3. P. 1–5.
- [12] Borysenko V.A., Maiurashkova L.A., Borysenko T.M.. Sovershenstvovanye tekhnolohyy pyva s yspolzovanyem askorbynovoi kysloty. Pyvo y napytky: Moskva, 2006. № 3. P. 23–25.
- [13] Khorosheva E.V., Fedosova O.A., Shleikyn A.H. Prymenenya askorbynovoi kysloty v khlebopechenyy. Aktualnye problemy byoynzheneryy. Sankt-peterburh, 2003. P. 20–28.
- [14] Statsyonarnaia kynetyka sovместnoho okysleniya askorbynovoi kysloty y ferrotsyanyda kalyia perekysiu vodoroda v prysutstvyi khrena. Byoorhanycheskaia khymyia, Moskva, 1999. № 1. Tom 19. P. 70–73.
- [15] Berdyshev H.D., Makhotyna O.A. Pamiat vodi y sovremennaia fytoterapyia. Fyzyka soznaniya y zhyzny, kosmolohyia y astrofyzyka. Kyev, 2004. № 1. P. 9–33.
- [16] Nemtsova Z.S., Volkova N.P., Terekhova N.S. Osnovy khlebopecheniya. Moskva: Ahropromyzdat, 1986. 287 p.