

ДОСЛІДЖЕННЯ ПРОБІОТИЧНОГО ПОКРИТТЯ ДЛЯ ХАРЧОВИХ ПРОДУКТІВ

К.Ю. Покойовець, Н.М. Грегірчак

Національний університет харчових технологій

У статті досліджено виживання молочнокислих бактерій заквасок у їстівних покриттях різного складу для хлібобулочних виробів.

Відзначено, що найбільша проблема при зберіганні хліба — це його мікробіологічне псування, а саме: черствіння та пліснявіння. Основна причина псування — розвиток мікроорганізмів. Вони можуть потрапити в хліб на будь-якій стадії технологічного процесу — в ході виробництва (руки, одяг персоналу та повітря виробничого приміщення), на стадіях упаковки, зберігання або реалізації, і призвести до погіршення його якості. Зростання і розвиток мікроорганізмів у хлібі залежать від багатьох чинників: їх виду та кількості; самого хліба і сировини, з якого він зроблений; наявності сприятливого середовища (води, температури, рівня рН, наявності кисню тощо) та інших факторів. Розвитку мікроорганізмів можна запобігти або уповільнити його шляхом контролю умов виробництва і зберігання, застосування антибіотиків, консервантів, бактеріоцинів рослинного походження. Одним із варіантів запобігання появи і розвитку несприятливої мікрофлори на поверхні хліба є використання біодеградабельної упаковки. Використання такого пакування, як їстівне покриття, яке, будучи додатково збагаченим активними речовинами з антибактеріальною і протигрибковою властивостями, дасть змогу забезпечити мікробіологічну стабільність хлібопекарських виробів.

Відзначено, що у покритті на основі альгінату натрію, молочної сироватки, гліцерину та пробіотичної закваски «Йогурт с ацидофільною паличкою іпровіт», до складу якої входять такі мікроорганізми: *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*, спостерігається найкраще виживання мікроорганізмів ($5,7 \cdot 10^7$ КУО/г на 86 год зберігання) серед досліджуваних зразків.

Ключові слова: хлібобулочні вироби, їстівні покриття, молочнокислі бактерії.

Постановка проблеми. В сучасному світі хліб без упаковки не відповідає вимогам покупців як за гігієнічними, так і за естетичними показниками. Тому важливим аспектом захисту хлібобулочних продуктів є упаковка. При виборі матеріалу упаковки слід урахувувати безліч факторів, але особливо важливим є його функціональність [1].

Сьогодні як упаковку використовують найрізноманітніші матеріали: папір, картон, целофан, полімерні і комбіновані матеріали тощо. Полімерні пакування — лідери на ринку, проте вони мають два суттєвих недоліки: по-перше, полімерні пакувальні вироби виготовляються з невідновлювальних природних ресурсів (нафти, вугілля, газу тощо); по-друге, довговічність пластику, яка до недавнього часу вважалася головною перевагою, сьогодні є істотним

недоліком. Утилізація полімерних пакувальних матеріалів критично погіршує екологічний стан довкілля [2].

Проблему можна вирішити завдяки використанню біополімерів для виробництва біорозкладаючої упаковки, яка забезпечить мікробіологічну стабільність хлібопекарського виробу та зупинить розвиток плісняви на поверхні виробів. З точки зору маркетингу використання біодеградабельних пакувальних матеріалів є досить привабливим. Оскільки сьогодні населення добре поінформоване про проблеми стану навколишнього середовища, багато споживачів позитивно налаштовані на біодеградабельні упаковки, що виготовляються з біоматеріалів.

Їстівні плівки серед різних типів біодеградабельних пакування є об'єктом нового напрямку досліджень і привертають увагу не тільки вчених і виробників, а й споживачів. Цей вид біодегратованих плівок має альтернативний природному механізм біорозкладання — під дією внутрішньоклітинних і неклітинних ферментів (ендо- і екзоензимів), що містяться в шлунку і кишківнику людини, полімерний матеріал піддається хімічним реакціям, результатом яких, в основному, є окиснення і гідроліз.

У харчовій промисловості особлива увага приділяється створенню принципово нових пакувальних матеріалів, нетоксичних, здатних забезпечити ефективний захист продукту від мікробних забруднень, впливу кисню повітря, запобігти усиханню продукту в період виготовлення і зберігання [3]. Їстівні покриття сьогодні являють собою тонкошарову структуру біополімерної композиції, яка наноситься на поверхню харчових продуктів шляхом занурення, розпилення або намазування і може споживатися разом з ним [4]. Їстівні покриття використовують також як ефективні носії біологічно активних речовин (вітамінів, антиоксидантів і пробіотиків) для харчових продуктів [5; 6].

Так, наприклад, включення антиоксидантів до складу харчових плівок збільшує строк придатності продукту, захищаючи його від окиснення і зміни кольору [4; 7]. Природні антиоксиданти, такі як лимонна та аскорбінова кислоти, були включені в їстівні покриття на основі метилцелюлози для контролювання киснепроникності і зменшення втрати вітаміну С в абрикосах під час зберігання. Встановлено, що покриття на основі карагінану або сироваткового протеїну з додаванням аскорбінової або лимонної кислоти ефективно підтримують колір яблука і продовжують строк зберігання [8]. Досліджено, що бананові скибочки, покриті хлоридом кальцію, аскорбіновою кислотою і цистеїном, запобігають втраті маси продукту. Наявність у плівках на основі хітозану Са, Zn, вітаміну Е забезпечує збереження свіжості фруктів і овочів [9]. Доведено, що додавання Са і вітаміну Е в їстівне покриття поліпшує поживну цінність моркви, свіжої та замороженої полуниці, малини. Розроблені їстівні харчові плівки на основі концентрованих ягідних соків (чорної і червоної смородини) збагачують продукт мінеральними речовинами і вітамінами А, С і групи В.

Цікавим є використання пробіотиків, живих мікроорганізмів, які в результаті їх щоденного споживання (10^6 — 10^9 КУО) справляють позитивний вплив на здоров'я людини. Так, у їстівні покриття на основі альгінату для свіжих фруктів додавали *Bifidobacterium lactis Bb-12* [7], *Lactobacillus sakei* вводили в

покриття з натрію казеїнату для контролю лістерій у культуральному середовищі і в свіжій яловичині [8].

Оброблення під час виробництва харчових продуктів може призвести до значних втрат життєздатності пробіотиків через нагрівання, механічні ушкодження або осмотичний стрес, викликаний ушкодженням клітини [9].

На жаль, висока температура під час виробництва хлібобулочних виробів призводить до значних втрат пробіотичних молочнокислих культур, якщо вносити їх до складу продукту. Одним із способів розв'язання цієї проблеми є нанесення їстівних покриттів, що містять пробіотичні мікроорганізми, на поверхню продукту.

Метою статті є дослідження виживання мікроорганізмів, які входять до складу пробіотичних заквасок у складі різних їстівних покриттів при зберіганні.

Матеріали і методи. Досліджували виживання молочнокислих бактерій з пробіотичними властивостями у різних видах їстівних покриттів (табл. 1).

Таблиця 1. Склад їстівних покриттів

№ п/п	Плівкоутворюючі компоненти	Пробіотична закваска	Мікроорганізми, що входять до складу закваски
1	Альгінат натрію, молочна сироватка (суха), гліцерин	Йогурт з ацидофільною паличкою Іпровіт	<i>Streptococcus salivarius subsp. thermophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i>
2	Модифікований крохмаль з високоамілозних сортів кукурудзи, желатин, гліцерин	Йогурт с ацидофільною паличкою Іпровіт	<i>Streptococcus salivarius subsp. thermophilus</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i>
3	Модифікований крохмаль з високоамілозних сортів кукурудзи, желатин і гліцерин	Симбілакт Vivo	<i>Acetobacter aceti</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium adolescentis</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium animalis</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactococcus lactis subsp. cremoris</i> , <i>Propionibacterium freudenreichii</i>
4	Модифікований крохмаль з високоамілозних сортів кукурудзи, желатин і гліцерин	Стрептосан Іпровіт	<i>Enterococcus faecium ma</i> <i>Streptococcus salivarius subsp. thermophiles</i>

Для виготовлення *покриття № 1* використовували пробіотичну закваску «Йогурт с ацидофільною паличкою Іпровіт», альгінат натрію, молочну сироватку (суху), як пластифікатор використовували гліцерин.

Їстівне покриття отримували шляхом змішування альгінату натрію, молочної сироватки, води та гліцерину з подальшим нагріванням суміші при 80—85°C протягом 25 хв для того, щоб забезпечити повне розчинення та гідратацію. Потім розчин охолоджували до 30°C та додавали пробіотичну закваску «Йогурт с ацидофільною паличкою Іпровіт», яку попередньо розчиняли протягом 1—1,5 год в 10 мл прокип'яченого та охолодженого до 25°C молока.

Покриття № 2 отримували в результаті змішування таких компонентів: модифікований крохмаль з високоамілозних сортів кукурудзи, желатин, як пластифікатор використовували гліцерин (99%) та додавали пробіотичну закваску «Йогурт с ацидофільною паличкою Іпровіт». Суміш крохмалю, води, желатину та гліцерину нагрівали при 80—85°C протягом 30 хв, потім охолоджували та додавали пробіотик (за схемою, яка описана при приготування покриття № 1).

До складу покриття № 3 входить пробіотична закваска «Симбілакт Vivo» (виробник ООО «ВИВО-АКТИВ, Україна). Також додавали модифікований крохмаль з високоамілозних сортів кукурудзи, желатин і гліцерин (99%). Покриття отримували за схемою, описаною при приготуванні покриття № 2.

Для виготовлення покриття № 4 використовували модифікований крохмаль з високоамілозних сортів кукурудзи, желатин, гліцерин (99%) і пробіотичну закваску «Стрептосан Іпровіт».

Для дослідження впливу їстівного покриття на якість хлібобулочних виробів була використана рецептура і технологія хліба «Матнакаш» за ГОСТ 27842-88 «Хліб з пшеничного борошна». Готові покриття виливали на тефлонову поверхню та зберігали при кімнатній температурі. 2 г покриття змішували з 18 мл фосфатно-буферного розчину (рН = 7) і перемішували протягом 1 год за допомогою магнітної мішалки для забезпечення достатнього розчинення покриття.

Кількість молочнокислих бактерій визначали висівом на середовище MRS. Культивування проводили за температури 37°C протягом 5 діб. Посів здійснювали через 3 год після приготування плівки, 48 год, 86 год зберігання [9; 10].

Результати і обговорення. Їстівні покриття сьогодні є перспективним напрямом у технології пакування, адже такі покриття дають змогу знизити втрати і забезпечити якість та безпеку харчових продуктів у процесі транспортування, зберігання і реалізації. Вчені звертають увагу на створення захисних покриттів, які не тільки подовжують терміни зберігання, а й збагачують продукт біологічно активними речовинами. Проте вивчення їстівних покриттів мікробіологічні показники практично не проводилося. Як правило, перевіряли тільки фізико-хімічні та органолептичні показники [11].

Тому ми перевіряли виживання молочнокислих бактерій, які входили до складу пробіотичних заквасок у різних покриттях (табл. 2).

Таблиця 2. Виживання молочнокислих бактерій у покриттях при зберіганні

Зразок покриття	Закваска	Кількість молочнокислих бактерій*, КУО/г		
		3 год	48 год	86 год
1	2	3	4	5
Контроль (покриття без закваски)	—	<10	<10	<10
№ 1 — на основі альгінату натрію та молочної сироватки	Йогурт с ацидофільною паличкою Іпровіт	$7,5 \cdot 10^8$	$4,1 \cdot 10^8$	$5,7 \cdot 10^7$

1	2	3	4	5
№ 2 — на основі крохмалю та желатину	Йогурт с ацидофільною паличкою Іпровіт	$6 \cdot 10^8$	$1,2 \cdot 10^6$	$2,3 \cdot 10^5$
№ 3 — на основі крохмалю та желатину	Симбілакт Vivo	$3,1 \cdot 10^6$	$4,7 \cdot 10^5$	$1,3 \cdot 10^4$
№ 4 — на основі крохмалю та желатину	Стрептосан Іпровіт	$4,9 \cdot 10^7$	$6,8 \cdot 10^6$	$2,1 \cdot 10^5$

Примітка. * Стат. рівень значимості $p \leq 0,05$. Дослід проводили в двох повторностях і розраховувати середнє значення.

Початкова кількість мікроорганізмів у заквасках складає $1 \cdot 10^9$ КУО/г. Аналіз свіжоприготовлених покриттів показав, що найкраще виживання молочнокислих бактерій спостерігається як у покритті з альгінатом натрію, так і в покритті на основі крохмалю з комбінацією культур *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus*.

Через 48 год зберігання кількість клітин у покриттях зменшується на порядок, на відміну від покриття № 1, де їх кількість залишається на майже такому самому рівні.

Відмічено, що і через 86 год зберігання найвищий ступінь виживання молочнокислих бактерій також спостерігається у покритті на основі альгінату натрію. Кількість мікроорганізмів зменшилася всього на два порядки, якщо порівняти з початковою кількістю бактерій у сухій заквасці, тоді як в інших зразках їх кількість зменшилася на 4—5 порядків.

За результатами дослідження відмічено, що найнижчий рівень виживання молочнокислих бактерій у покриттях № 3 та № 4. Такі результати можна пояснити тим, що до складу пробіотичних заквасок, які додавали до розчину покриття, в основному входили біфідобактерії, які є строгими анаеробами, а отже, погано виживали у покритті. За результатами мікроскопіювання на 86 год зберігання їх зовсім не було виявлено. Тому пробіотичні закваски, у складі яких є мікроорганізми, не доцільно використовувати у їстівних покриттях. Оскільки найвищий ступінь виживання молочнокислих бактерій спостерігається у покриттях № 1 та № 2, то можна зробити висновок, що найкраще використовувати у складі їстівних покриттів відповідні штами лактобактерій і стрептобактерій.

Порівнявши різні плівкоутворюючі розчини, можна стверджувати, що найкращою матрицею для молочнокислих бактерій є покриття на основі альгінату натрію, сухої молочної сироватки та гліцерину. Суха молочна сироватка містить у своєму складі невелику кількість легкозасвоюваних жирів, вітамін А, органічні кислоти, вітамін В₂, вітамін РР, вітамін Н, фосфор, залізо, йод, калій, кобальт. А ще вона слугує додатковим компонентом захисного середовища для лактобактерій.

Альгінат натрію володіє високими плівкоутворюючими властивостями через його унікальні колоїдні властивості, легко виводиться з організму людини і не споживається мікроорганізмами, на відмінно від крохмалю, який споживається деякими молочнокислими бактеріями, що впливати на цілісність покриття [11].

Схожі результати отримали Altamirano-Fortoul та Rosell, які розробили технологічні рішення щодо збереження пробіотичних культур в хлібі з використанням їстівного покриття на основі крохмалю при нанесенні на хліб [12].

При цьому відмічено відносно високу кількість життєздатних лактобактерій *Lactobacillus rhamnosus* GG після процесу випікання ($2,4...3,05 \cdot 10^7$ КУО/г), а їх втрати склали лише $1,0...1,4$ КУО/г через 24 год зберігання при кімнатній температурі.

Проте у дослідженнях М.О. Кашнікової [13] було встановлено, що виживання бактерій роду *Lactobacillus casei* в харчовому покритті на основі гуміарабіку під час зберігання хліба збільшується. Так, у перший день зберігання їх кількість становила $6,52 \cdot 10^5$ КУО/г, а на 6 день — $8,98 \cdot 10^7$ КУО/г, що ставить під сумнів проведені дослідження, оскільки молочнокислі бактерії не можуть розвиватися у покритті.

Відомо, що плісняві гриби є мікрофлорою псування і потрапляють на хлібобулочні вироби після їх випікання, тобто є вторинною контамінуючою мікрофлорою. За гігієнічними нормативами вміст плісневих грибів у хлібі з терміном реалізації понад 48 год не допускається. Тому потрібно перевірити, як біодеградабельні покриття з молочнокислими бактеріями захищають хлібобулочні вироби від потрапляння та розвитку контамінуючої мікрофлори (табл. 3).

Таблиця 3. Наявність пліснявих грибів при зберіганні хліба

Зразок хліба	Кількість пліснявих грибів і дріжджів,* КУО/г		
	3 год	48 год	86 год
Контроль (без покриття)	<10	$1 \cdot 10^2$	$8,2 \cdot 10^2$
3 покриттям (без додавання закваски)	<10	<10	$1 \cdot 10^2$
3 покриттям № 1	<10	<10	<10
3 покриттям № 2	<10	<10	<10
3 покриттям № 3	<10	<10	$1 \cdot 10^2$
3 покриттям № 4	<10	<10	<10

Примітка. * Стат. рівень значимості $p \leq 0,05$. Дослід проводили в двох повторностях і розраховували середнє значення.

У досліджуваних зразках № 1, 2 та 4 грибів і дріжджів не було виявлено, на відміну від зразка № 3 та зразка з покриттям без додавання закваски. В контрольному зразку хліба без покриття гриби та дріжджі спостерігаються вже на 48 год. Тож їстівні покриття захищають хлібобулочні вироби від потрапляння та розвитку контамінуючої мікрофлори.

Висновки

Отже, їстівні покриття сьогодні є перспективним напрямом в технології пакування. Їстівна плівка здатна утримувати біологічно активні речовини (макро- і мікроелементи тощо) і, відповідно, збагачувати харчові продукти необхідними нутрієнтами у фізіологічно виправданих кількостях. Крім того, їстівні плівки застосовуються як інгібітори росту патогенів і мікробного псування харчових продуктів. Тому використання в хлібопеченні їстівних плівок

і покриттів — новий спосіб збереження чутливих до нагрівання біологічно активних компонентів, в т.ч. пробіотиків.

Отримані результати підтверджують, про можливість використання їстівних покриттів з пробіотичними мікроорганізмами для зберігання харчових продуктів. Відмічено, що у зразку № 1 (на основі альгінату натрію із закваскою «Йогурт с ацидофільною паличкою Іпровіт») спостерігається найкраща тенденція до виживання молочнокислих бактерій серед досліджуваних зразків покриттів.

Література

1. Чепель Н.В., Сильчук Т.А., Кашнікова М.О. Дослідження життєздатності пробіотичної культури *Lactobacillus casei* у житньому хлібі з харчовою плівкою. *Scientific Journal «ScienceRise»*. 2015. №8/2, т. 13.
2. Савицкая Т.А. Съедобные полимерные пленки и покрытия: история вопроса и современное состояние (обзор). *Полимерные материалы и технологии*. 2016. № 2, т. 2. С. 5—36.
3. Tharanathan R.N. Biodegradable films and composite coatings: past, present and future / R.N. Tharanathan. *Trends in Food Science & Technology* 14. 2003. P. 71—78.
4. Bourtoom, T. Edible films and coatings: characteristics and properties. *International Food Research Journal*. 2008. Vol. 15, No. 3. P. 237—248.
5. Kanmani, P., & Lim, S. T. Development and characterization of novel probiotic-residing pullulan/starch edible films. *Food Chemistr*. 2013. Vol. 141, No. 2. P. 1041—1049.
6. Lópezde Lacey, A.M., López-Caballero, M.E., Gómez-Estaca, J., Gómez- Guillén, M.C., & Montero, P. Functionality of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* incorporated to edible coatings and films. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 2012. No. 16. P. 277—282.
7. Bustos, P., & Bórquez, R. Influence of osmotic stress and encapsulating materials on the stability of autochthonous *Lactobacillus plantarum* after spray drying. *Drying Technology*. 2013. Vol. 31, No. 1. P. 57—66.
8. Tapia M S., Rojas-Graü M.A., Rodríguez F.J., Ramírez J., Carmona A., & Martín-Belloso, O. Alginate- and gellan-based edible films for probiotic coatings on fresh-cut fruits. *Journal of Food Science*. 2007. Vol. 72, No. 4. P. 190—196.
9. Gialamas, H., Zinoviadou, K. G., Biliaderis, C. G., & Koutsoumanis K.P. Development of a novel bioactive packaging based on their incorporation of *Lactobacillus casei* into sodium-caseinate films for controlling *Listeria monocytogenes* in foods. *Food Research International*. 2010. Vol. 43, No.10. P. 2402—2408.
10. Грегірчак Н.М. Мікробіологія харчових виробництв: Лаб. практикум, К.: НУХТ, 2009. 302 с.
11. Кишеня А.В. Їстівні плівки і покриття, їх роль в якості упаковки. *Науковий вісник ЛНУВМБТ імені С.З. Гюґицького*. 2016. № 1, т. 8. С. 32 — 38.
12. Altamirano-Fortoul, R., Rosell, C. Physicochemical changes in breads from bake off technologies during storage. *Food Science and Technology*. 2011. No. 44. P. 631— 636.
13. Кашнікова М.О., Сильчук Т.А. Дослідження життєздатності пробіотичної культури *Lactobacillus casei* у житньому хлібі з харчовою плівкою. *Scientific Journal «ScienceRise»*. 2015. № 8/2. С. 6—13.