

УДК 635.1/.7:581.192.7

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА НАПРАВЛЕННОГО ФЕРМЕНТИРОВАНИЯ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ШТАММОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ С ЦЕЛЬЮ ПОЛУЧЕНИЯ ОВОЩНОЙ ПРОДУКЦИИ СТАБИЛЬНОГО КАЧЕСТВА

Кондратенко В.В.¹ – к.т.н., зам. директора по научной работе

Лялина О.Ю.¹ – старший научный сотрудник, аспирант

Посокина Н.Е.¹ – к.т.н., зав. лабораторией технологии консервирования

Терешонок В.И.² – кандидат с.-х. наук, с.н.с. лабораторно-аналитического центра

¹Федеральное Государственное Бюджетное Научное Учреждение

«Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования» (ФГБНУ «ВНИИТЭК»)

142703, Россия, Московская обл., г. Видное, ул. Школьная, д.78

www.vniitek.ru, e-mail: vniikoplto@yandex.ru

²ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт селекции и

семеноводства овощных культур» (ФГБНУ ВНИИССОК)

143080, Россия, Московская обл., Одинцовский р-н, п. ВНИИССОК, ул. Селекционная, д.14

E-mail: vniissok@mail.ru

Ферментирование является одним из самых популярных и известных способов сохранения овощей и фруктов от порчи. Этот способ относится к микробиологическим методам консервирования, который основан на превращении сахаров, содержащихся в овощах и фруктах, в молочную кислоту под действием молочнокислых бактерий, изначально находящихся на поверхности перерабатываемого сырья. Задачей исследований являлось изучение процесса направленного ферментирования капусты белокочанной сорта Слава, с использованием штаммов молочнокислых микроорганизмов и их консорциумов с учётом степени их взаимного влияния. В качестве штаммов молочнокислых микроорганизмов нами были выбраны следующие: *Lactobacillus casei* ВКМ 536, *Lactobacillus plantarum* ВКМ В-578. Для получения сравнительных результатов все эксперименты проводили на модельных средах. Впервые изучена динамика изменения качественных показателей в процессе направленного ферментирования с использованием штаммов лактокультур, в том числе и их консорциумов. Разработаны математические модели, адекватно описывающие степень деструкции глюкозы и фруктозы в процессе ферментации. Исходное сырьё подвергали гомогенизации и стерилизации с целью создания оптимальных условий для развития целевой микрофлоры и определения степени деструкции фруктозы и глюкозы различными штаммами микроорганизмов. Разработаны математические модели, адекватно описывающие степень деструкции фруктозы и глюкозы в процессе обработки. Установлено, что использование консорциума молочнокислых микроорганизмов (*L.plantarum*+*L.casei*) для данной культуральной среды нецелесообразно. Добавление фруктозы в количестве 0,5% от массы модельной среды позволяет значительно интенсифицировать процесс ферментирования капусты белокочанной.

Ключевые слова: направленное ферментирование, капуста белокочанная, штаммы молочнокислых микроорганизмов и их консорциумы, модельная среда, деструкция глюкозы и фруктозы, математическая обработка данных.

Введение

Ферментация (соленье, квашение и мочение) является одним из старейших способов консервирования пищевых продуктов, наряду с тепловой обработкой, копчением и сушкой на солнце. В настоящее время ферментирование является

одним из самых популярных и известных способов сохранения овощей и фруктов от порчи [1]. Этот способ относится к микробиологическим методам консервирования, который основан на превращениях сахаров, содержащихся в овощах и фруктах, в молочную кислоту под действием

молочнокислых бактерий, изначально находящихся на поверхности перерабатываемого сырья. Молочная кислота, образующаяся в процессе ферментации, подавляет жизнедеятельность микроорганизмов, вызывающих порчу продукта. Благодаря молочнокислому брожению, ферментированные овощи

и фрукты приобретают характерный вкус, аромат и стабильность при хранении [2]. Качество готовой продукции в большой мере зависит от качества исходного сырья. Так, низкое содержание сахаров делает невозможным комфортное «размножение» молочнокислых микроорганизмов и, как следствие, накопление в продукте достаточного количества органических кислот, гарантирующих требуемый уровень кислотности [3]. С целью интенсификации процессов ферментирования и для получения готового продукта хорошего качества (с хорошим вкусом, ароматом и структурой) традиционно рекомендуется применение чистых или смешанных культур молочнокислых бактерий или стартерных активаторов при соблюдении оптимальных условий процесса [4]. Это позволяет направленно использовать биохимическую активность микроорганизмов для быстрого и максимального накопления обладающей консервирующим действием молочной кислоты и исключить развитие нежелательной микрофлоры [3].

Цели и задачи

Целью наших исследований является изучение процессов направленного ферментирования овощей с использованием консорциумов микроорганизмов с учётом степени их взаимного влияния. В процессе исследований на примере отдельного сорта капусты белокачанной впервые изучена динамика изменения качественных показателей в процессе направленного ферментирования с использованием штаммов лактокультур, в том числе и их консорциумов. Получены экспериментальные данные по интенсивности сбраживания моно- и ди-сахаров (глюкоза, фруктоза), содержащихся в исходном сырье и накоплению молочной кислоты. Изучены количественные изменения лактобацилл в процессе направленного ферментирования. Впервые эксперименты поставлены на модельных средах.

Материалы и методы

В работе использованы стандартные и новейшие методики исследований. Модельная среда представляла собой предварительно вымытую, нашинкованную, гомогенизированную биомассу капусты белокачанной с добавленной в нее поваренной солью в количестве 1,5%, расфасованную в стеклянные банки с винтовой укупоркой и стерилизованную в течение 20 минут при противодавлении 1 бар, затем охлажденную до комнатной температуры [5].

В качестве живых культур использовали штаммы молочнокислых микроорганизмов рода *Lactobacillus casei* и *plantarum* – и их парные консорциумы. В отдельные образцы модельных сред дополнительно вносили глюкозу или фруктозу в количестве 0,5%. Активную фазу ферментирования осуществляли в течение 3-х суток при температуре +23...25°C, затем образцы выдерживали при температуре -1...+4°C. Отбор проб проводили в трех образцах с двумя повторностями для каждого образца по истечении 1-2-3-10-30-60-90 суток ферментирования. Количество молочнокислых микроорганизмов определяли по ГОСТ 10444.11-2013 «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета количества мезофильных молочнокислых микроорганизмов» [5].

Исследование динамики изменения содержания сахаров проводили методом ВЭЖХ на жидкостном хроматографе с рефрактометрическим детектором Perkin Elmer Series 200, колонка – Agilent Zorbax Carbohydrate 4,6 x 250 мм, подвижная фаза – «ацетонитрил:вода» 75:25, скорость потока 1 см³/мин в изократическом режиме. Идентификацию глюкозы, фруктозы и сахарозы проводили по абсолютному времени удерживания в образцах, сравнением со временем удерживания в градуировочных растворах. Расчёт концентрации – методом внешнего стандарта [6].

Математическую обработку полученных данных по деструкции глюкозы и фруктозы в процессе направленной ферментации проводили с помощью Microsoft Excel и SYSTAT TableCurve 2D.

Результаты

Проведя математическую обработку полученных данных по деструкции глюкозы и фруктозы в процессе направленной ферментации, мы установили, что изменение концентрации углеводов описывается уравнением:

$$y_{1s} = a_{1s} \cdot (1 - \exp(-b_{1s} \cdot x)), \quad (1)$$

где x – продолжительность ферментации, сут.;

a_{1s} , b_{1s} – расчетные коэффициенты для каждой культуры.

При этом скорость сбраживания является производной от (1) и описывается следующим уравнением:

$$y'_{1s} = a_{1s} \cdot b_{1s} \cdot \exp(-b_{1s} \cdot x), \quad (2)$$

где x – продолжительность ферментации, сут.;

a_{1s} , b_{1s} – расчетные коэффициенты для каждой культуры.

Зависимость нарастания количества молочнокислых микроорганизмов от времени ферментации описывается уравнением

$$y_{1k} = \exp\left(\frac{a_{1k} + c_{1k} \cdot x + e_{1k} \cdot x^2}{1 + b_{1k} \cdot x + d_{1k} \cdot x^2}\right), \quad (3)$$

где x – продолжительность ферментации, сут.;

a , b , c , d – расчетные коэффициенты для каждой культуры.

Таким образом, рассчитав скорость сбраживания для каждой культуры (2) и зависимость нарастания количества молочнокислых микроорганизмов от времени (3) мы можем рассчитать удельную скорость ферментации для каждого молочнокислого микроорганизма.

Удельная скорость ферментации является отношением скорости сбраживания углеводов к нарастанию количества молочнокислых микроорганизмов и описывается уравнением:

(4)

$$V_{уд1} = \frac{y'_{1s}}{y_{1k}} = \frac{a_{1s} \cdot b_{1s} \cdot \exp(-b_{1s} \cdot x)}{\exp\left(\frac{a_{1k} + c_{1k} \cdot (x + f_{1k}) + e_{1k} \cdot (x + f_{1k})^2}{1 + b_{1k} \cdot (x + f_{1k}) + d_{1k} \cdot (x + f_{1k})^2}\right)}$$

где x – продолжительность ферментации, сут;

a, b, c, d, f – коэффициенты для каждой культуры.

Поскольку целью нашего исследования было изучение взаимного влияния молочнокислых микроорганизмов в консорциуме в данной культуральной среде, нам необходимо определить степень их взаимодействия.

Для того, чтобы рассчитать взаимное влияние микроорганизмов в консорциуме, рассчитываем аддитивную скорость сбраживания, которая описывается уравнением:

(5)

$$V_{уд аддет} = \frac{y'_{1s} + y'_{2s}}{y_{1k} + y_{2k}} = \frac{a_{1s} \cdot b_{1s} \cdot \exp(-b_{1s} \cdot x) + a_{2s} \cdot b_{2s} \cdot \exp(-b_{2s} \cdot x)}{\exp\left(\frac{a_{1k} + c_{1k} \cdot x + e_{1k} \cdot x^2}{1 + b_{1k} \cdot x + d_{1k} \cdot x^2}\right) + \exp\left(\frac{a_{2k} + c_{2k} \cdot x + e_{2k} \cdot x^2}{1 + b_{2k} \cdot x + d_{2k} \cdot x^2}\right)} \quad (5)$$

где x – продолжительность ферментации, сут;

a, b, c, d – коэффициенты для каждой культуры.

На рисунке 1 представлены зависимости удельной скорости сбраживания от продолжительности ферментации. Для удобства восприятия данных удельная скорость сбраживания представлена в виде десятичного логарифма.

На левой части рисунка представлены зависимости удельной скорости сбраживания глюкозы молочнокислыми микроорганизмами; на правой части рисунка – фруктозы этими же микроорганизмами. Оценивая полученные данные по деградации глюкозы, мы можем сделать вывод о том, что в процессе ферментации белокочанной капусты основную роль играет *L. plantarum*. И в случае консорциума с *L. casei* последний выступает в качестве ингибитора процесса ферментации и не дает первой культуре в достаточной мере раскрыть свой

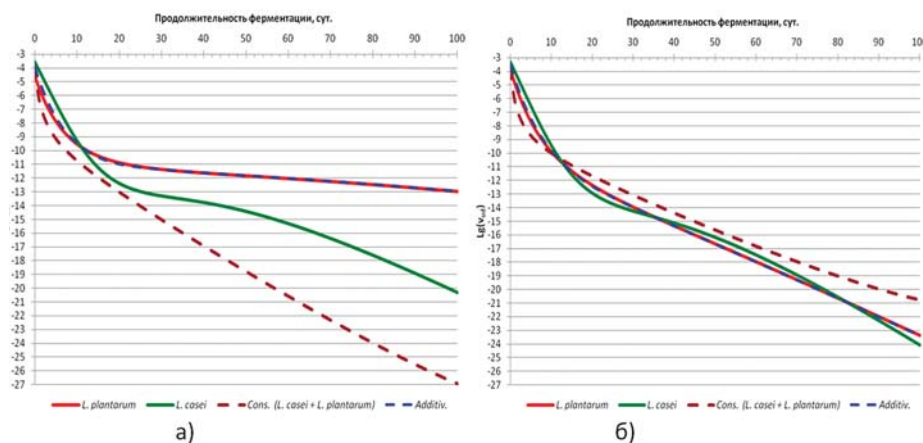


Рис. 1. Зависимость скорости сбраживания глюкозы (а) и фруктозы (б) от продолжительности ферментации

потенциал. Активная фаза сбраживания глюкозы длится ~ 20 суток, затем идет плавное затухание процесса.

По данным деградации фруктозы мы можем сделать аналогичный вывод, с той лишь разницей, что после активной фазы сбраживания, длящейся ~до 10-12 суток, процесс постепенно замедляется, но, при этом скорость сбраживания фруктозы значительно превышает скорость сбраживания глюкозы.

Отношение удельной скорости сбраживания к аддитивной рассчитываем по формуле:

(6)

$$k = \lg \left(\frac{V_{удk}}{V_{уд адд}} \right),$$

где $V_{удk}$ – удельная скорость сбраживания консорциума

$V_{уд адд}$ – аддитивная скорость сбраживания

По характеру отношения удельной скорости сбраживания углеводов данного вида консорциумом микроорганизмов к удельной скорости сбраживания, рассчитанной из учёта аддитивного взаимодействия отдельных участников консорциума друг с другом, имеется возможность определить характер взаимодействия молочнокислых микроорганизмов разных видов в консорциуме при совместном культивировании. Для практического применения этот показатель удобнее представить в виде \lg . При этом, положительные значения будут соответствовать синергизму; отрицательные – антагонизму; близкие к 0 – аддитивному взаимодействию, т.е. соседству без взаимного влияния.

По данным сбраживания глюкозы (а), представленным на рис.2, можно сделать вывод об антагонизме процесса, причем с ~3 по ~12 сутки ферментации можно наблюдать некото-

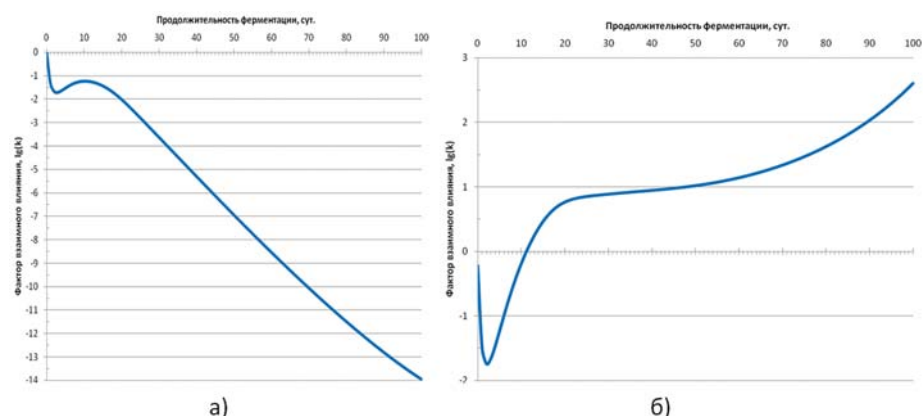


Рис.2. Фактор взаимного влияния молочнокислых микроорганизмов в консорциуме при сбраживании глюкозы (а) и фруктозы (б)

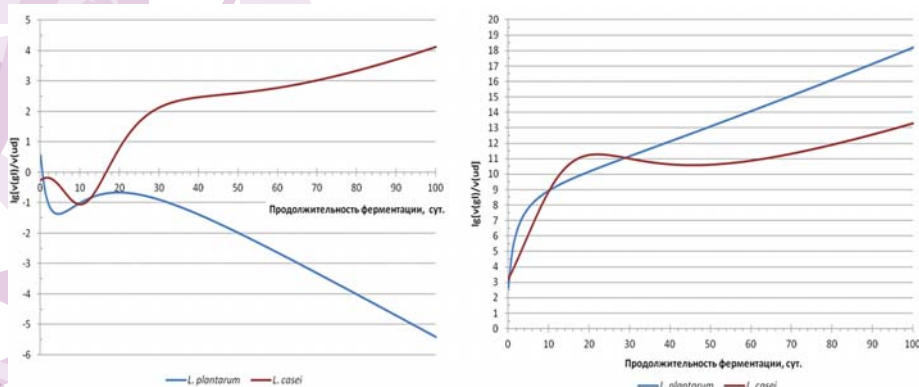


Рис. 3. Влияние изменения углеводного состава культуральной среды на процесс ферментации; а – добавление 0,5% глюкозы; б – добавление 0,5% фруктозы

Литература

1. Hutkins R.W. Microbiology and technology of fermented foods. IFT Press Blackwell Publishing, 2006. - 473 p.
2. Farnworth E.R. Handbook of fermented functional foods. CRC Press, 2008. - 581 p.
3. Настольная книга производителя и переработчика плодоовощной продукции. Под редакцией Н.К. Синха, И.Г.

Хью. Перевод с англ. яз. – СПб.: Профессия, 2014. – С. 467-485.

4. Leroy F., De Vuyst L. 2004. Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. Trends in Food Science and Technology 15:67-78.
5. Посокина Н.Е., Лялина О.Ю., Тырина Е.С./Управляемое ферментирование как фактор формирования стабильного качества отдельных видов овощной продукции

рую попытку приблизиться к положительным значениям, но после ~12 суток процесс уходит в «глубокий» антагонизм.

В случае сбраживания фруктозы (б) мы наблюдаем несколько иную картину: в начале ферментирования – антагонизм между членами процесса, но после ~12 суток ферментации – синергизм процесса, увеличивающийся по мере продолжения времени сбраживания.

В рамках данных исследований, нами была предпринята попытка изменения состава культуральной среды с целью выявления зависимости влияния увеличенной углеводной составляющей на интенсивность процесса. С этой целью в модельные среды было добавлено 0,5% (по массе) глюкозы или 0,5% (по массе) фруктозы. Рассчитав отношение скорости сбраживания углеводов к удельной скорости сбраживания мы получили зависимости, представленные на рис.3.

Из данных, представленных на рис.3 (а) видно, что добавление глюкозы негативно сказывается на основном участнике процесса – *L.plantarum*, в то время как ингибитор процесса получает мощную «поддержку». Внесение 0,5% фруктозы, наоборот, положительно сказывается и на развитие *L.casei*, и, что самое главное, на развитие *L.plantarum*.

Выводы

В процессе исследований выяснилась неоднозначная роль отдельных видов микроорганизмов в составе консорциумов. Так, в случае использования консорциума молочнокислых микроорганизмов (*L.plantarum* + *L.casei*) в процессе



ферментирования основную роль играл *L. plantarum*. В то же время, *L. casei* проявил себя как ингибитор процесса. Следовательно, использование данного консорциума микроорганизмов для данной культуральной среды нецелесообразно. Для отдельных консорциумов были выявлены периоды антагонизма и синергизма в процессе совместного культивирования, что позволило приблизиться к пониманию мультикультурального ферментирования и выявить закономерности, позволяющие эффек-

тивно управлять процессом. Кроме того, добавление фруктозы в количестве 0,5% от массы модельной среды позволяет значительно интенсифицировать процесс ферментирования капусты белокочанной. Исследование количества молочнокислых микроорганизмов в модельных средах в процессе хранения ферментированных образцов показало эффективность использования консорциумов для осуществления полностью контролируемого процесса и получения продукции высокого качества.



THE STUDY OF DIRECTED FERMENTATION PROCESS USING STRAINS OF LACTIC ACID BACTERIA FOR OBTAINING VEGETABLE PRODUCTS OF STABLE QUALITY

Kondratenko V.V.¹, Lyalina O.Yu.¹,
Posokina N.E.¹, Tereshonok V.I.²

¹ Federal State Budgetary Scientific Research Institution
«All-Russian Research Institute of Canning Technology»
142703, Russia, Moscow region, Vidnoe, Shkolnaya Street, 78
www.vniitek.ru, e-mail: vniokpltok@yandex.ru

² Federal State Budgetary Scientific Research Institution
«All-Russian Scientific Research Institute of vegetable breeding and seed production»
143080, Russia, Moscow region, Odintsovo district, p. VNISSOK, Selectionnaya street, 14
E-mail: vniissok@mail.ru

Summary

The objective of the research was to study the process of directed fermentation of white head cabbage variety 'Slava', using strains of lactic acid bacteria and their consortium with the degree of their mutual influence. As strains of lactic acid bacteria, we have chosen the following: VCR 536 *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum* VKM V-578. To obtain comparable results, all experiments were performed on model mediums. For the first time we studied the dynamics of changes in quality indicators at the process of directed fermentation using strains of lactic acid bacteria (LAB) including their consortiums. The mathematical model developed adequately describes the degree of destruction of glucose and fructose in the fermentation process. The raw material was undergone to homogenization and sterilization with the aim to create optimal conditions for the development of the target microorganisms and to detect the degree of destruction of fructose and glucose by different strains of microorganisms. The mathematical model developed adequately described the degree of destruction of fructose and glucose in the treatment process. The use of a consortium of lactic acid bacteria (*L. plantarum*+*L. casei*) to this culture medium is shown to be impractical. The addition of fructose in quantity 0.5% to weight of the model medium enabled to intensify significantly the process of white cabbage fermentation.

Key words: directed white cabbage fermentation, the strains of lactic acid bacteria (LAB) and their consortiums, model medium, destruction of glucose and fructose, mathematical data processing.

[Электронный ресурс] // Научное обеспечение инновационных технологий производства и хранения сельскохозяйственной и пищевой продукции: сб. матер. III Всерос. научн.-практ. конф. молодых ученых и аспирантов (4-25 апреля 2016 г., г. Краснодар) – С. 1.-530. URL: http://vniit-ti.ru/conf/conf2016/sbornik_conf_2016.pdf.

6. Лялина О.Ю., Глазков С.В., Тырина Е.С., Посокина Н.Е./ Исследование процессов деструкции фруктозы в процес-

се направленного ферментирования овощей с использованием штаммов молочнокислых микроорганизмов // Повышение качества, безопасности и конкурентоспособности продукции агропромышленного комплекса в современных условиях: Сборник научных трудов IX Международной конференции молодых ученых и специалистов, 22 октября 2015 г. – М.: ФГБНУ ВНИИПБиВП, 2015. – С.191-195.