

ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ ДЕСТРУКЦИИ ГЛЮКОЗЫ ПРИ НАПРАВЛЕННОМ ФЕРМЕНТИРОВАНИИ ОГУРЦОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ШТАММОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ

THE STUDY OF DYNAMIC DESTRUCTION GLUCOSE AT THE DIRECTED FERMENTATION OF CUCUMBERS WITH USE OF LACTIC ACID BACTERIA

Кондратенко В.В., зам. директора по научной работе, кандидат техн. наук
Посокина Н.Е., зав. лаб. технологии консервирования, кандидат техн. наук
Лялина О.Ю., ведущий н.с.

Всероссийский научно-исследовательский
институт технологии консервирования –

филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения
«Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН
(ВНИИТЭК – филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН)
142703, Россия, Московская обл., г. Видное, ул. Школьная, 78
www.vniitek.ru, vnikopitok@yandex.ru

Kondratenko V.V., Deputy Director for Science,
Candidate of Technical Sciences (Ph.D.)

Posokina N.E., Head of the laboratory, Candidate of Technical Sciences (Ph.D.)
Lyalina O.Yu., Leading Researcher

Russian Research Institute of Canning Technology –
Branch of V.M. Gorbatov Federal Research Center
for Food Systems of RAS

(VNIITeK – Branch of Gorbatov Research Center for Food Systems)
78, Shkolnaya Street, Vidnoe, Moscow region, 142703, Russia
www.vniitek.ru, vnikopitok@yandex.ru

В статье представлены результаты работы по исследованию направленного ферментирования огурцов с использованием штаммов молочнокислых микроорганизмов (молочнокислых бактерий) с целью интенсификации процесса ферментирования и для получения готового продукта хорошего качества (с хорошим вкусом, ароматом и структурой), так как в промышленном масштабе заквасочные культуры практически не используются. Задачей наших исследований являлось изучение динамики деструкции глюкозы в процессе направленного ферментирования огурцов сорта Водoley с использованием молочнокислых бактерий и их подбор для проведения данной работы. В качестве штаммов молочнокислых микроорганизмов нами были выбраны следующие: *Lactobacillus casei* VKM 536, *Lactobacillus plantarum* VKM B-578, *Lactobacillus brevis* VKM B-1309. С целью создания оптимальных условий для развития целевой микрофлоры, определения степени деструкции глюкозы различными штаммами микроорганизмов и для получения сравнительных результатов все эксперименты проводили на модельных средах. В процессе исследований были разработаны математические модели, адекватно описывающие степень деструкции глюкозы в процессе ферментации огурцов. Математическую обработку данных по деструкции глюкозы в процессе направленной ферментации проводили с помощью Microsoft Excel и SYSTAT TableCurve 2D. Установлено, что по критерию интенсивности деструкции глюкозы при ферментировании огурцов сорта Водoley наиболее адекватным является использование исследованных штаммов молочнокислых микроорганизмов *L. brevis* и *L. plantarum*. Применение данных молочнокислых бактерий обеспечивает максимальную эффективность процесса (максимально приемлемая продолжительность 4,47 и 5,36 суток при достижении степени деструкции глюкозы более 99% от асимптотического значения). Использование *L. brevis* и *L. plantarum* позволяет достичь максимальной степени деструкции глюкозы, что указывает на потенциальную целесообразность применения данных видов молочнокислых бактерий.

Ключевые слова: огурцы, направленное ферментирование, модельная среда, штаммы молочнокислых микроорганизмов, молочнокислые бактерии, заквасочные культуры, динамика деструкции глюкозы, математическая обработка данных.

Для цитирования: Кондратенко В.В., Посокина Н.Е., Лялина О.Ю. ИССЛЕДОВАНИЕ ДИНАМИКИ ДЕКТРУКЦИИ ГЛЮКОЗЫ ПРИ НАПРАВЛЕННОМ ФЕРМЕНТИРОВАНИИ ОГУРЦОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ШТАММОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ. Овощи России. 2018; (4): 86-88. DOI:10.18619/2072-9146-2018-4-86-88

The article presents the results of the study of the directed fermentation of cucumbers using strains of lactic acid microorganisms (lactic acid bacteria) in order to intensify the fermentation process and to obtain a finished product of good quality (with good taste, aroma and structure), as on an industrial scale starter cultures are practically not used. The aim of our research was to study the dynamics of glucose degradation in the process of directed fermentation of cucumbers varieties "Vodoley" using lactic acid bacteria and their selection for this process. As strains of lactic acid microorganisms we selected the following: *Lactobacillus casei* VKM 536, *Lactobacillus plantarum* VKM B-578, *Lactobacillus brevis* VKM B-1309. In order to create optimal conditions for the development of the target microflora, to determine the degree of glucose destruction by various strains of microorganisms and to obtain comparative results, all experiments were carried out on model environment. During the research, mathematical models were developed that adequately describe the degree of glucose destruction during the fermentation of cucumbers. Mathematical processing of glucose degradation data in the direct fermentation process was carried out using Microsoft Excel and the SYSTAT TableCurve 2D. It was found that the criterion for the intensity of glucose destruction during the fermentation of cucumbers varieties "Vodoley" is the most adequate use of the investigated strains of lactic acid bacteria *L. brevis* and *L. plantarum*. The use of these lactic acid bacteria provides maximum process efficiency (the maximum acceptable duration is 4,47 and 5,36 days when the degree of glucose destruction is more than 99% of the asymptotic value). The use of *L. brevis* and *L. plantarum* allows to achieve the maximum degree of glucose destruction, which indicates the potential usefulness of these types of lactic acid bacteria.

Keywords: cucumbers, directed fermentation, model environment, strains of lactic acid microorganisms, lactic acid bacteria (LAB), starter cultures, the dynamics of destruction of fructose, mathematical data processing.

For citation: Kondratenko V.V., Posokina N.E., Lyalina O.Yu. THE STUDY OF DYNAMIC DESTRUCTION GLUCOSE AT THE DIRECTED FERMENTATION OF CUCUMBERS WITH USE OF LACTIC ACID BACTERIA. Vegetable crops of Russia. 2018;(4):86-88. (In Russ.) DOI:10.18619/2072-9146-2018-4-86-88

Введение

С помощью молочнокислого брожения консервируют самые разные овощи и фрукты. В зависимости от вида сырья технология производства, например, квашеной капусты и соленых огурцов отличаются. В большинстве случаев при промышленном производстве используют заквасочные культуры или процесс ферментации протекает естественным путем и является результатом жизнедеятельности природных микроорганизмов и условий среды (концентрации соли, значение pH и температуры рассола) [1]. Для ферментации огурцов готовят рассолы, концентрация соли зависит от размера плода (огурца), сорта, способности к размягчению при выдержке в рассоле и может варьировать от 1% до 10% [2], разновидности готового продукта (сильно соленые огурцы – содержание соли 8-10% и до 15% и малосоленые огурцы в укропном рассоле 3-5% соли с укропом и специями) [3].

Основным продуктом ферментации является молочная кислота, соль впитывает из огурцов влагу и сдерживает рост нежелательных микроорганизмов, причем огурцы служат субстратом для роста и размножения молочнокислых бактерий. В ходе ферментации необходимо поддерживать анаэробные условия, позволяющие нативным микроорганизмам размножаться и продуцировать достаточное количество молочной кислоты, предотвращая при этом рост нежелательных микроорганизмов [4].

Процесс производства соленых огурцов протекает при температуре 18...20°C с образованием молочной кислоты, CO₂, ряда летучих кислот, этанола и небольших количеств различных вкусоароматических соединений. После погружения огурцов в рассол и закрытия емкости в рассоле быстро размножаются микроорганизмы. Скорость ферментации зависит от концентрации соли в рассоле и его температуры. Как правило, чем меньше концентрация соли, тем больше видов бактерий размножаются в начале, тем быстрее продуцируется кислота и выше кислотность. Образовавшаяся молочная кислота затем частично метаболизируется плесневыми или окислительными дрожжами, растущими на поверхности рассола, благодаря чему незначительно повышается значение pH бродильной среды [5].

Контролируемая ферментация огурцов способствует устранению многочисленных причин порчи. При производстве соленых огурцов используют заквасочные культуры на основе *L. plantarum*, (отдельно или вместе с *Pediococcus cerevisiae*) [6]. Эта процедура направлена на исключение стадий начальной и вторичной ферментации (брожения). Контролируемая ферментация экономически более выгодна и позволяет быстрее получать однородный по качеству продукт за более короткий период времени [7]. Кроме того, при контролируемой ферментации снижается необходимость добавления соли в ходе хранения. В производстве соленых огурцов крепкого посола большую роль играют

молочнокислые бактерии сначала – *Pediococcus cerevisiae*, которые сменяются более кислотостойкими *L. plantarum* и *L. brevis*, а *L. mesenteroides* в производстве огурцов крепкого посола не так важны, но зато они активны в огурцах слабого посола [8].

Поскольку процесс ферментации (брожения) невозможен без участия в нем сахаров, которые под действием молочнокислых бактерий преобразуются в молочную кислоту, количество сахаров в исходном сырье играет важную роль. По степени деструкции сахаров, на примере глюкозы, мы можем сделать вывод о пригодности использования того или иного штамма молочнокислых микроорганизмов для использования в процессе направленного ферментирования огурцов и его эффективности.

Цели и задачи

Целью нашей научно-исследовательской работы являлся подбор штаммов молочнокислых микроорганизмов (молочнокислых бактерий) перспективных для производства качественной ферментированной овощной продукции в промышленных условиях на примере огурцов сорта Водолей.

Задача наших исследований состояла в изучении динамики деструкции сахаров, на примере глюкозы, в процессе направленного ферментирования огурцов с использованием штаммов молочнокислых микроорганизмов.

Материалы и методы

В качестве исходного сырья использовали плоды огурцов сорта Водолей. Активность процесса ферментации определяли по интенсивности деструкции глюкозы. Для получения сравнительных результатов все эксперименты проводили на модельных средах.

Модельные среды для исследований готовили следующим образом: свежие плоды огурцов тщательно мыли в проточной воде до удаления с их поверхности всех загрязнений. Влагу с поверхности

удаляли фильтровальной бумагой. Сырьё подвергали гомогенизации. Далее в полученную массу вносили 40% водного раствора NaCl концентрацией 7%. Полученные образцы дозировали в предварительно подготовленные стеклянные банки, с последующим герметичным укупчиванием и стерилизацией в течение 20 мин при 100°C для устранения посторонней микрофлоры. После охлаждения подготовленные образцы инокулировали штаммами *Lactobacillus casei* BKM 536, *Lactobacillus plantarum* BKM B-578 и *Lactobacillus brevis* BKM B-1309, по одному штамму в каждый образец. Титр штаммов микрофлоры в каждом из образцов на момент инокуляции составлял 1·10⁴ на 1 г.

Активную фазу ферментирования проводили в течение 3 сут. при температуре 23...25°C. Дальнейшее ферментирование проводили при температуре от -1°C до +4°C. Отбор проб проводили в течение 1, 2, 3, 10, 20, 30, 60, 90 суток ферментации.

Исследование динамики изменения содержания глюкозы проводили методом ВЭЖХ на жидкостном хроматографе с рефрактометрическим детектором Perkin Elmer Series 200, колонка – Agilent Zorbax Carbohydrate 4,6x250 мм, подвижная фаза – «ацетонитрил: вода» 75:25, скорость потока 1 см³/мин в изократическом режиме. Идентификацию глюкозы проводили по абсолютному времени удерживания в образцах, сравнением со временем удерживания в градуировочных растворах. Расчёт концентрации – методом внешнего стандарта.

Результаты

Анализ результатов нашей научно-исследовательской работы после проведенной математической обработки экспериментальных данных показал, что процесс деструкции глюкозы при ферментировании образцов модельных сред используемыми молочнокислыми бактериями во всех трёх случаях протекает по аналогичному сценарию, отличаясь лишь

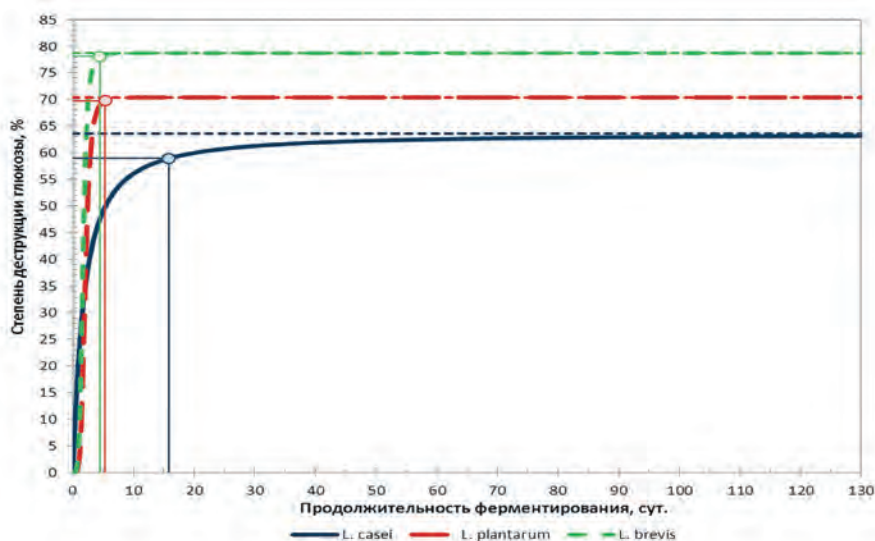


Рис. Зависимость степени деструкции глюкозы используемыми штаммами молочнокислых микроорганизмов от продолжительности ферментирования
Fig. Dependence of the degree of glucose destruction by the strains used lactic acid microorganisms from the duration of fermentation

интенсивностью (рисунок).

Вместе с тем каждая зависимость обладает чётким зонированием на период активной и малоактивной деструкции.

Математически все три зависимости могут быть представлены в следующей форме:

$$\omega = \frac{a}{1 + \left(\frac{\tau}{b}\right)^c} \quad (1)$$

где ω – степень деструкции глюкозы, %;
 τ – продолжительность ферментирования, сут.;

a , b и c – коэффициенты.

Показатели и характеристики разработанных математических моделей для всех используемых штаммов молочнокислых микроорганизмов представлены в таблице. Анализируя данные таблицы можно сделать вывод, что все найденные (разработанные) модели адекватны по критерию Фишера при $\alpha < 0,00005$ и имеют высокую сходимость с экспериментальными данными ($R^2 > 0,98$).

При оценке результатов моделирования можно сделать вывод, что все зависимости с увеличением продолжительности ферментирования стремятся к некоторому максимальному – асимптотическому – значению, которое может быть определено по формуле:

$$\omega_{\tau \rightarrow \infty} = \lim_{\tau \rightarrow \infty} \frac{a}{1 + \left(\frac{\tau}{b}\right)^c} = a \quad (2)$$

где $\omega_{\tau \rightarrow \infty} = a$, $a < c < 0$

Безусловно, при масштабировании изучаемых процессов до промышленного использования достижение асимптотических значений степени деструкции глюкозы лишено смысла. В большей степени эффективнее и правильнее будет определить максимально приемлемую продолжительность ферментации, при которой дальнейшее увеличение продолжительности на заданную величину $\Delta \tau$ приводит к приросту ω на некоторую величину d , определяемую по формуле [9]:

$$d = \frac{\omega(\tau + \Delta \tau) - \omega(\tau)}{\omega(\tau)} \cdot 100\% \quad (3)$$

В ходе исследований максимально приемлемую продолжительность процесса определяли при $d = 0,5\%$.

Значение показателя q показывает нам степень деструкции глюкозы при $\omega_{d \leq 0,5}$ и $\omega_{\tau \rightarrow \infty}$.

$$q = \frac{\omega_{d \leq 0,5}}{\omega_{\tau \rightarrow \infty}} \cdot 100 \quad (4)$$

Оценка полученных экспериментальных данных показывает, что по критерию интенсивности деструкции глюкозы в процессе ферментации огурцов сорта Водoley в наибольшей степени продуктивным является применение исследованных штаммов *L. brevis* и *L. plantarum*, которые обеспечивают максимальную эффективность процесса. Таким образом, при достижении степени деструкции

глюкозы более 99% от асимптотического значения максимально подходящая продолжительность составляет 4,47 и 5,36 суток.

Выводы

Результаты работы по исследованию динамики деструкции глюкозы при направленном ферментировании огурцов сорта Водoley с использованием различных штаммов молочнокислых микроорганизмов (*L. casei*, *L. plantarum* и *L. brevis*) показывает различные временные интервалы до достижения максимально приемлемых значений. Таким образом, для штамма *L. casei* этот период составил 15,86 суток, для *L. plantarum* – 5,36 суток, для *L. brevis* – 4,47 суток. Из этого следует, что применение штаммов *L. brevis* и *L. plantarum* позволяет добиться максимально оптимальной степени деструкции глюкозы в огурцах сорта Водoley за наименьший временной интервал. Это подтверждает эффективность применения данных видов молочнокислых микроорганизмов при направленном ферментировании огурцов используемого в ходе исследований сорта.

Таблица. Показатели и характеристики разработанных математических моделей
Table. Indicators and characteristics of the developed mathematical models

Показатели и характеристики математических моделей	Вид микроорганизмов		
	<i>L. casei</i>	<i>L. plantarum</i>	<i>L. brevis</i>
Коэффициенты: a b c	63,60212095 1,738976927 -1,1466036	70,3849443 2,043507688 -4,90368051	78,73599552 1,673576131 -4,91822472
Адекватность модели: $a \leq R^2$	0,00001 0,9967300166	0,00005 0,9986340212	0,00001 0,9908151267
Характеристики модели: $\omega_{\tau \rightarrow \infty}$, % $\tau_{d \leq 0,5}$, сут. $\omega_{d \leq 0,5}$, % q , %	63,6 15,86 58,93 92,66	70,38 5,36 69,77 99,13	78,74 4,47 78,11 99,2

Литература

- Breidt J.F., McFeeters R.F., Diaz-Muniz I. Fermented vegetables // Food microbiology: Fundamentals and Frontiers / Doyle M. P., Beuchat L.R. (eds). – 3rd ed. – Washington, D.C.: ASM Press, 2007. P.783.
- Daeschel M. A., Fleming H. P. Selection of lactic acid bacteria for use in vegetable fermentations // Food Microbiol., 1984, 1, p. 303-313.
- Guizani N., Mothershaw A. Fermentation as a method of food preservation // Handbook of Food Preservation / Rahman M. S. (ed.) - 2nd ed. - Boca Raton: CRC Press, 2007. P.215.
- 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.
- Kim M., Chun J. Bacterial community structure in kimchi, a Korean fermented vegetable food, as revealed by 16S rRNA gene analysis // Int. J. Food Microbiol., 2005, 103, p. 91-96.
- Jay J. M. Modern Food Microbiology. - 5th ed. - Maryland, NY: Chapman & Hall, 1998.
- Prescott S. C. Dunn C. G. Industrial Microbiology. — NY: McGraw Hill, 1959.
- Dennis C. Microbiology of fruits and vegetables // Essays in Agriculture and Food Microbiology / Norris R., Pettipfer G. L. (eds). - NY: John Wiley and Sons Ltd, 1987. P.227.
- Разработать систему научно-обоснованных параметров биотехнологической трансформации биополимеров углеводной природы вторичных продуктов свеклосахарного производства в функциональные биологически активные компоненты (0605-2014-0003). Раздел 9, подраздел 25 Программы ФАНО на 2013-2020 гг. / Отчёт о НИР. – Видное: ФГБНУ «ВНИИТЭК», 2014. – С.65.

References

- Breidt J.F., McFeeters R.F., Diaz-Muniz I. Fermented vegetables // Food microbiology: Fundamentals and Frontiers / Doyle M. P., Beuchat L.R. (eds). – 3rd ed. – Washington, D.C.: ASM Press, 2007. – P.783.
- Daeschel M. A., Fleming H. P. Selection of lactic acid bacteria for use in vegetable fermentations // Food Microbiol., 1984, 1, p. 303-313.
- Guizani N., Mothershaw A. Fermentation as a method of food preservation // Handbook of Food Preservation / Rahman M. S. (ed.) - 2nd ed. - Boca Raton: CRC Press, 2007. P.215.
- Handbook of the producer and processor of fruit and vegetable products. Edited by N.K. Sinha, I.G. Hugh. Translation from English. yaz. - SPb.: Profession, 2014. P.467-485.
- Kim M., Chun J. Bacterial community structure in kimchi, a Korean fermented vegetable food, as revealed by 16S rRNA gene analysis // Int. J. Food Microbiol., 2005, 103, p. 91-96.
- Jay J. M. Modern Food Microbiology. - 5th ed. - Maryland, NY: Chapman & Hall, 1998.
- Prescott S. C. Dunn C. G. Industrial Microbiology. — NY: McGraw Hill, 1959.
- Dennis C. Microbiology of fruits and vegetables // Essays in Agriculture and Food Microbiology / Norris R., Pettipfer G. L. (eds). - NY: John Wiley and Sons Ltd, 1987. P.227.
- To develop a system of scientifically grounded parameters of biotechnological transformation of biopolymers of the carbohydrate nature of secondary products of sugar beet production into functional biologically active components (0605-2014-0003). Section 9, subsection 25 of the FAO Program for 2013-2020. / Report on research. - Prominent: FGBNU "VNIITEK", 2014. P.65.