

ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА НАПРАВЛЕННОГО ФЕРМЕНТИРОВАНИЯ БЕЛОКОЧАННОЙ КАПУСТЫ С ЦЕЛЬЮ ПОВЫШЕНИЯ КАЧЕСТВА ГОТОВОЙ ПРОДУКЦИИ

Посокина Н.Е., канд.техн.наук, Лялина О.Ю., Шишлова Е.С., Захарова А.И.

Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования – филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН (ВНИИТеК – филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, г. Видное, Московская обл.)

Аннотация. Задачей наших исследований являлось изучение процесса направленного ферментирования белокочанной капусты сорта «Слава», с использованием штаммов молочнокислых микроорганизмов и их консорциума с целью интенсификации процесса и повышения качества конечного продукта. Разработаны математические модели, адекватно описывающие степень деструкции фруктозы и глюкозы в процессе ферментации. Установлено, что использование консорциума молочнокислых микроорганизмов (*L.plantarum*+*L.casei*) для данной культуральной среды нецелесообразно, однако добавление фруктозы в количестве 0,5% от массы модельной среды позволяет значительно интенсифицировать процесс ферментирования белокочанной капусты.

Одним из эффективных биотехнологических способов переработки плодовоовощного сырья является направленное ферментирование посредством культивирования нативной или заданной (искусственно вносимой) микрофлоры с целью достижения конечной продукцией заданных кондиций. Наиболее распространёнными видами микроорганизмов, используемыми для ферментации, являются молочнокислые бактерии. Однако использование нативной (дикой) микрофлоры имеет ряд недостатков, одним из которых является непредсказуемость и, как следствие, плохая управляемость процессом, что неприемлемо для крупномасштабного производства [1].

Однако, использование целевых искусственно вносимых монокультур не всегда позволяет достичь требуемой интенсивности производства, а также негативно сказывается на органолептических показателях конечного продукта. Одним из решений данной проблемы является использование консорциумов молочнокислых микроорганизмов, включающих два и более конкурирующих целевых вида микроорганизмов. Использование таких консорциумов позволяет снизить риск инфицирования среды бактериофагами, а так же увеличить интенсивность технологического процесса и улучшить качество готовой продукции [1].

Целью наших исследований являлось изучение процесса направленного ферментирования белокочанной капусты с использованием штаммов молочнокислых микроорганизмов и их консорциума с учётом степени их взаимного влияния. В процессе исследований впервые изучена динамика изменения качественных показателей в процессе направленного ферментирования белокочанной капусты сорта «Слава». Получены экспериментальные данные по интен-

сивности 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.

Модельная среда представляла собой предварительно вымытую, нашинкованную, гомогенизированную биомассу белокочанной капусты, 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 [2].

В качестве живых культур использовали штаммы молочнокислых микроорганизмов рода *Lactobacillus - casei u plantarum* – и их парный консорциум. В отдельные образцы модельных сред дополнительно вносили глюкозу или фруктозу в количестве 0,5%. Активную фазу ферментирования осуществляли в течение 3-х сут при температуре +23+25⁰С, затем образцы выдерживали при температуре -1+4⁰ С. Отбор проб проводили в трех образцах с двумя повторностями для каждого образца по истечении 1-2-3-10-30-60-90 суток ферментирования [2]. Количество молочнокислых микроорганизмов определяли по [3].

Исследование динамики изменения содержания сахаров проводили методом ВЭЖХ на жидкостном хроматографе с рефрактометрическим детектором Perkin Elmer Series 200, колонка – Agilent Zorbax Carbohydrate 4,6×250 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 [4].

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

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:

$$V_{уд1} = \frac{y'_{1s}}{y_{1k}} = \frac{a_{1s} \cdot b_{1s} \cdot \exp(-b_{1s} \cdot x)}{\exp\left(\frac{a_{1k} + c_{1k} \cdot (x + f_{1k}) + e_{1k} \cdot (x + f_{1k})^2}{1 + b_{1k} \cdot (x + f_{1k}) + d_{1k} \cdot (x + f_{1k})^2}\right)} \quad (4)$$

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:

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

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

По данным деструкции 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.

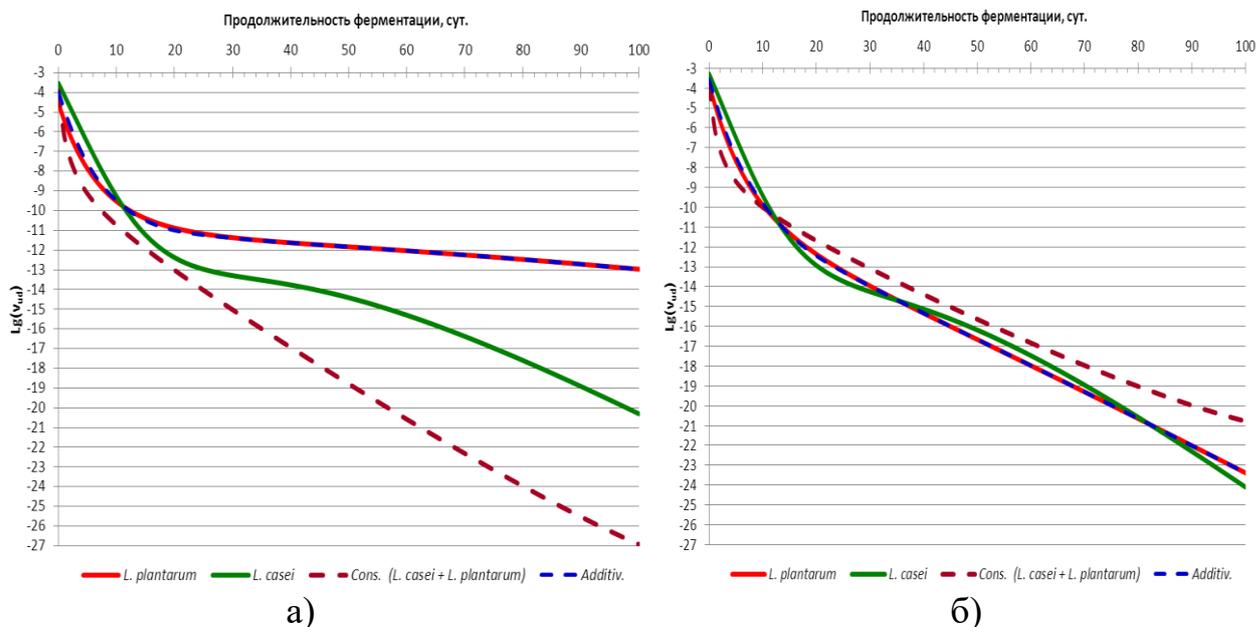


Рисунок 1. Зависимость скорости сбраживания глюкозы (а) и фруктозы (б) от продолжительности ферментации

Отношение удельной скорости сбраживания к аддитивной рассчитываем по формуле:

$$k = \lg \left(\frac{Vud_k}{Vud_{add}} \right), \quad (6)$$

где Vud_k – удельная скорость сбраживания консорциума

Vud_{add} – 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.

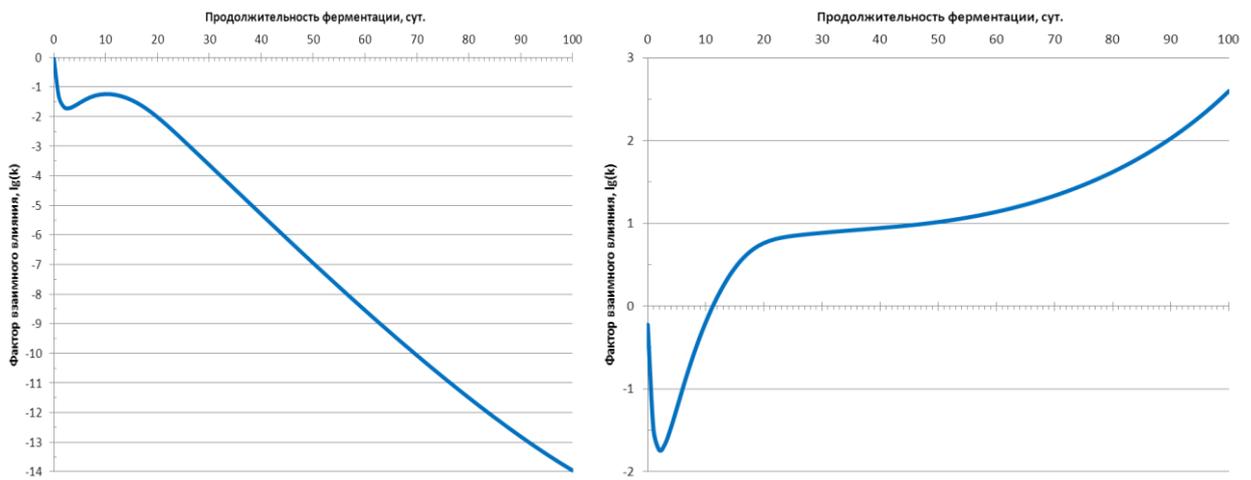


Рисунок 2. Фактор взаимного влияния молочнокислых микроорганизмов в консорциуме при сбраживании глюкозы (а) и фруктозы (б)

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

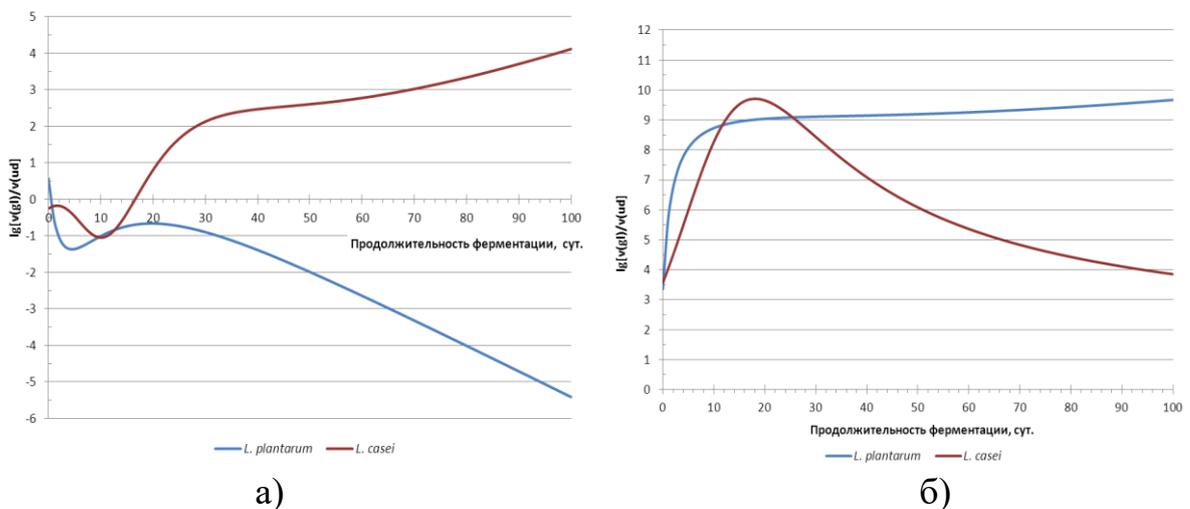


Рисунок 3. Влияние изменения углеводного состава культуральной среды на процесс ферментации при добавлении 0,5% глюкозы (а) и добавление 0,5% фруктозы(б)

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, положительным образом сказывается и на развитие *L.casei*, и, что самое главное, на развитие *L.plantarum*.

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. Добавление фруктозы к штаммам молочнокислых микроорганизмов *L.casei* и *L.plantarum* в количестве 0,5% от массы модельной среды позволяет значительно интенсифицировать процесс ферментирования белокочанной капусты.

Литература

1. Настольная книга производителя и переработчика плодоовощной продукции /под редакцией Н.К. Синха, И.Г. Хью; пер. с англ. яз. – СПб.: Профессия, 2014.- С. 467-485.
2. Грачева А.Ю., Лялина О.Ю., Посокина Н.Е., Тырина Е.С. Направленное ферментирование как фактор формирования стабильного качества отдельных видов овощной продукции // Практические и теоретические аспекты комплексной переработки продовольственного сырья и создания конкурентоспособных продуктов питания - основа обеспечения импортозамещения и продовольственной безопасности России: Сборник научных трудов 19 Международной научно-практической конференции, посвященной памяти В.М. Горбатова, 8-9 декабря 2016. - М.: ФГБНУ ВНИИМП им. В.М. Горбатова, 2016. – С.105-108.
3. ГОСТ 10444.11-2013 «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета количества мезофильных молочнокислых микроорганизмов».
4. Лялина О.Ю., Глазков С.В., Тырина Е.С., Посокина Н.Е. Исследование процессов деструкции фруктозы в процессе 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.