ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-3-584-592
УДК 637.146.1

Оригинальная статья
http://fptt.ru

Развитие молочнокислых микроорганизмов при ферментировании субстрата с повышенной концентрацией углеводов

В. В. Кондратенко, Н. Е. Посокина*, А. Ю. Колоколова, А. И. Захарова

Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования, Видное, Россия

Поступила в редакцию: 18.04.2021
Принята после рецензирования: 26.05.2021
Принята в печать: 15.07.2021

**e-mail: Labtech45@yandex.ru*

© В. В. Кондратенко, Н. Е. Посокина, А. Ю. Колоколова, А. И. Захарова, 2021

Аннотация.
Введение. Создание благоприятных условий для развития молочнокислых микроорганизмов является одним из решающих факторов в получении ферментированных продуктов высокого качества. Цикл их жизни напрямую зависит от количества и состава углеводов, находящихся в растительной ткани. Поскольку значимая часть углеводов расходуется на этапе инициирования процесса ферментации, то возникает необходимость в дополнительном обогащении. Цель исследования – изучить динамику развития молочнокислых микроорганизмов при ферментации растительного субстрата с модифицированным углеводным составом.
Объекты и методы исследования. Модельная среда на базе белокочанной капусты сорта «Парус», ферментированная штаммами молочнокислых микроорганизмов: на первом этапе ферментации – *Leuconostoc mesenteroides*, на втором этапе – *Lactobacillus casei* ВКМ 536, *Lactobacillus plantarum* ВКМ В-578, *Lactobacillus brevis* ВКМ В-1309 и их парными консорциумами. Исходное растительное сырье подвергали измельчению и удалению нативной микрофлоры для развития целевых молочнокислых микроорганизмов, затем инокулировали *L. mesenteroides*. После прохождения первого этапа ферментирования вносили целевые молочнокислые микроорганизмы с одновременной корректировкой углеводного состава субстрата.
Результаты и их обсуждение. Разработка режимов управляемой двухступенчатой микробной трансформации растительного сырья с использованием модифицирования углеводного состава субстрата предполагает выбор оптимального состава консорциума и установление оптимальной продолжительности ферментирования на основном этапе микробной обработки сырья. В результате данного исследования установлено, что при ферментировании растительного субстрата консорциумом (*L. casei* + *L. plantarum*) с увеличенной углеводной составляющей выраженность уменьшения концентрации в течение всего исследованного периода достаточно мала. В период от 5 до 30 дней уменьшение концентрации микроорганизмов не превысило одного порядка, что при начальной концентрации в 8 порядков является малозначимым.
Выводы. Обогащение углеводами растительного субстрата позволяет поддерживать концентрацию молочнокислых микроорганизмов на уровне, сравнимом с концентрацией на момент инокуляции. Экспериментально установлена малая вариативность концентраций микроорганизмов как в монокультурах, так и в их парных консорциумах в течение всего основного этапа ферментирования модельной среды с измененной углеводной составляющей. К концу основного этапа ферментирования концентрации микроорганизмов не опускаются ниже 10^7 КОЕ/г, что позволяет рассматривать получаемую в итоге систему «микрофлора – субстрат» как обладающую пробиотическими свойствами.

Ключевые слова. Ферментирование, белокочанная капуста, микроорганизмы, консорциумы, среда, сахара

Финансирование. Работа выполнена на базе Всероссийского научно-исследовательского института технологии консервирования (ВНИИТеК) в рамках НИР 0585-2019-000913-С03 «Развить биотехнологические основы трансформации растительной ткани и ее биополимерных комплексов для разработки технологий управляемого ферментирования и производства некрахмальных гидроколлоидов», а также в рамках выполнения государственного задания ВНИИТеК по теме FNEN-2019-00015.

Для цитирования: Развитие молочнокислых микроорганизмов при ферментировании субстрата с повышенной концентрацией углеводов / В. В. Кондратенко [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2021. Т. 51. № 3. С. 584–592. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-3-584-592.

Original article
Available online at http://fptt.ru/eng

Development of Lactic acid Microorganisms during Fermentation of Substrate with an Increased Concentration of Carbohydrates

Vladimir V. Kondratenko, Natalia E. Posokina*, Anastasiay Yu. Kolokolova, Anna I. Zakharova

All-Russian Research Institute of Canning Technology, Vidnoe, Russia

Received: April 18, 2021

Accepted in revised form: May 26, 2021
Accepted for publication: July 15, 2021

**e-mail: Labtech45@yandex.ru*

© V.V. Kondratenko, N.E. Posokina, A.Yu. Kolokolova, A.I. Zakharova, 2021

Abstract.
Introduction. Creating favorable conditions for the development of lactic acid microorganisms is one of the main factors in obtaining high-quality fermented products. The cycle of their life directly depends on the amount and composition of carbohydrates in plant tissue. Since a significant part of carbohydrates is consumed at the initial stage of fermentation process, additional fortification is needed. The research objective was to study the development rate of lactic acid microorganisms during the fermentation of plant substrate with a modified carbohydrate composition.
Study objects and methods. The research featured model medium based on white cabbage of the Parus variety. The medium was fermented with different strains of lactic acid microorganisms: at the first stage of fermentation – *Leuconostoc mesenteroides*, at the second stage – *Lactobacillus casei* VKM 536, *Lactobacillus plantarum* VKM B-578, *Lactobacillus brevis* VKM B-1309, and their paired consortia. The initial plant material was subjected to grinding and removal of native microflora for the development of target lactic acid microorganisms, then inoculated with *L. mesenteroides*. The target lactic acid microorganisms were introduced after the first stage of fermentation with simultaneous adjustment of the carbohydrate composition.
Results and discussion. The technology included modes of controlled two-stage microbial transformation of plant raw materials using modification of the carbohydrate composition of the substrate. A number of experiments made it possible to select the optimal composition of the consortium and establish the optimal fermentation time at the main stage of microbial processing. When the plant substrate was fermented by the consortium of *L. casei* + *L. plantarum* with an increased carbohydrate component, the decrease in the concentration was quite small: after 5–30 days, the decrease in the concentration of microorganisms did not exceed one order of magnitude, which was insignificant at an initial concentration of eight orders of magnitude. In other consortia, the decrease in the concentration of microorganisms was more pronounced.
Conclusion. The fortification of the vegetable substrate with carbohydrates made it possible to maintain the concentration of lactic acid microorganisms at a level comparable to the concentration at the time of inoculation. The concentrations of microorganisms varied slightly in both monocultures and their paired consortia during the entire main fermentation stage of the model medium with a modified carbohydrate component. By the end of the main fermentation stage, the concentration of microorganisms did not fall below 10^7 CFU/g. Therefore, the resulting system "microflora – substrate" proved to have probiotic properties. The study can be used to develop new technological modes of controlled step-by-step fermentation of plant raw materials in order to improve the quality indicators of the final product.

Keywords. Fermentation, white cabbage, microorganisms, consortia, medium, sugars

Funding. The research was conducted on the premises of All-Russian Research Institute of Canning Technology (VNIITeK) within research project No. 0585-2019-000913-C03 "Improving the biotechnological bases for plant tissue and its biopolymer complexes transformation to develop the technologies for controlled fermentation and production of non-starch hydrocolloids", as well as part of state assignment for the VNIITeK (topic FNEN-2019-00015).

For citation: Kondratenko VV, Posokina NE, Kolokolova AYu, Zakharova AI. Development of Lactic acid Microorganisms during Fermentation of Substrate with an Increased Concentration of Carbohydrates. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(3):584–592. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-3-584-592.

Введение

Овощи и фрукты имеют собственную микрофлору, состав которой зависит от особенностей растительной матрицы, а также от географического происхождения растительного сырья. Такая микрофлора включает в себя дрожжи (родов *Saccharomyces*, *Pichia*, *Candida*, *Torulaspora*), грибы (*Rhizopus* spp.), аэробные (*Bacillus* spp. и *Acetobacter* spp.) и анаэробные микроорганизмы (молочнокислые бактерии), которые отвечают за спонтанное (самопроизвольное) брожение сырых овощей и фруктов, способствуя их сохранению и стабильности [1–3].

При благоприятных условиях ферментирование овощей и фруктов происходит за счет молочнокислых бактерий с участием или без участия дрожжей и *Bacillus* spp. Молочнокислые бактерии являются продуцентами молочной кислоты и представляют собой неподвижные, неспорообразующие организмы. Увеличивая кислотность ферментируемой среды, они предотвращают развитие патогенных микроорганизмов. При этом, наряду с кислотами, они продуцируют ряд антагонистических комплексов, таких как бактериоцины и противогрибковые вещества [3–5]. Молочнокислые бактерии вносят

свой вклад в развитие вкуса и аромата, текстуры и срока годности ферментированных продуктов благодаря широкому спектру соединений, биосинтезируемых в процессе ферментирования, таких как органические кислоты, перекись водорода, антимикробные и ароматические соединения, экзополисахариды и т. д.

В своей работе X. Yang и др. исследовали динамику микробного сообщества и изменения метаболома при самопроизвольном ферментировании квашеной капусты из разных хозяйств Северного Китая [3]. В работе приведены результаты корреляции между микробиотой и летучими соединениями, которые в перспективе могут быть использованы для дальнейшего совершенствования процесса ферментирования и производства высококачественной квашеной капусты.

В молочнокислом ферментировании овощей основная роль принадлежит микроорганизмам следующих родов: *Lactobacillus*, *Weissella*, *Enterococcus*, *Pediococcus* и *Leuconostoc*. Из их числа самым распространенным и метаболически универсальным видом является *Lactobacillus plantarum*. Он достаточно легко приспосабливается к различным условиям обитания и, в зависимости от условий, может быть как гомоферментативным, так и гетероферментативным микроорганизмом. Его штаммы продуцируют специфические антибиотические вещества, которые угнетают развитие микроорганизмов порчи таких как, например, бактерии группы кишечных палочек и маслянокислые бактерии. Благодаря своим уникальным свойствам *L. plantarum* широко используют в процессах ферментирования, в том числе овощей и овощных соков [6, 7].

В научных статьях [8–14] представлены результаты исследований антибактериальной активности и функциональных свойств различных штаммов молочнокислых бактерий, выделенных из овощей и фруктов.

В работе W. Zhao и др. исследованы 139 штаммов молочнокислых бактерий, выделенных из традиционных румынских ферментированных овощей, на способность продуцировать экзополисахариды (ЭПС) и их антагонистическую активность против набора из девяти молочнокислых штаммов, трех штаммов *Bacillus* spp. и четырех грамотрицательных бактерий [8]. 85 из испытанных штаммов показали переменную антимикробную активность против *Listeria monocytogenes* ATCC 1911, 35 штаммов показали ограниченную зону ингибирования против *Escherichia coli* ATCC25922 и 26 штаммов – против *Salmonella enterica* ATCC 14024. Ни один из данных штаммов не показал противомикробную активность в отношении золотистого стафилококка ATCC 25923. Несколько штаммов проявляли антибактериальную активность в отношении более чем одного индикаторного штамма. Например, *L. plantarum* 307, *Lactobacillus brevis* 308 и *L. plantarum/pentosus* 358 были активны против пяти используемых индикаторных штаммов, в то время как другие 23 молочнокислых штамма были активны против трех индикаторных штаммов. В работе отмечается, что молочнокислые бактерии, выделенные из румынских ферментированных овощей, можно рассматривать в качестве важных источников штаммов молочнокислых бактерий с функциональными свойствами, такими как производство экзополисахаридов (ЭПС) или бактериоцинов. Два штамма молочнокислых бактерий, продуцирующих высокие количества высокомолекулярных ЭПС, могут быть использованы для контроля реологических свойств ферментированных продуктов. Проявляющие антибактериальную активность штаммы могут быть использованы в пробиотическом комплексе или для увеличения срока хранения некоторых видов пищевых ферментированных продуктов.

В исследовании Monika и др. представлены результаты выделения, идентификации и характеристики молочнокислых бактерий, полученных из традиционных соленых огурцов Химачал-Прадеша (Индия) [9]. В традиционных соленых огурцах было обнаружено шесть различных штаммов молочнокислых бактерий, большинство из которых показали зону ингибирования патогенных микроорганизмов, восприимчивость к антибиотикам, выработку экзополисахаридов и активность таких полезных ферментов, как бета-галактозидаза, фитаза, бета-глюкозидаза, протеаза и амилаза. Таким образом, полученные штаммы обладают большим потенциалом для использования в качестве пробиотиков. Результаты исследования индийских ферментированных продуктов представлены также в статье [10], авторы которой установили ряд штаммов молочнокислых бактерий из ферментированных пищевых продуктов западной части Индии. Выделенные штаммы *L. plantarum* 86, *Weissella cibaria* 142 & 92 и *P. parvulus* AI1 показали значительный пробиотический потенциал, высокую толерантность к низкому pH и солям желчи.

В своей работе X. Yang с соавторами исследовал около 30 ферментированных молочных и растительных продуктов, производимых в Аргентине [11]. Выделенные 64 изолята были идентифицированы как штаммы молочнокислых бактерий и были подвергнуты скринингу на предмет соответствующих технологических свойств для производства ферментированных пищевых продуктов. Большинство штаммов проявляли умеренную или хорошую подкисляемость (> 0,04 ед. pH/ч) и протеолитическую способность (свободные аминокислоты > 1 ммоль/л), продуцировали диацетил и/или ацетоин и были устойчивы к 4 % NaCl. Основываясь на данных по

кислотности и осмотолерантности, были отобраны шесть штаммов. Их идентифицировали с помощью секвенирования 16S рДНК (97–100 % идентичности): *Lactobacillus rhamnosus* CR L 2159 и CRL2164, *L. plantarum* CRL2161 и CRL2162, *Weissella viridescens* CRL2160 и *Weissella paramesenteroides* CRL2163. Далее были изучены свойства этих штаммов для оценки возможности использования в производстве маринованных огурцов. При начальном pH 4,5 и 7 % NaCl *L. plantarum* CRL2162 и *L. rhamnosus* CRL2164 показали наилучшие результаты с высокой ингибирующей активностью в отношении *E. coli* и *Listeria innocua*. Среди отобранных штаммов не было явного антагонизма, который бы исключал их использование в смешанных культурах. Свойства отобранных образцов свидетельствуют об их потенциале в качестве заквасочных культур для получения стандартизированных ферментированных овощных продуктов высокого качества.

В исследовании J.-H. Ye и др. изучалось влияние ферментирования молочнокислыми бактериями на химический профиль автоклавированного пюре брокколи с использованием 7 молочнокислых изолятов брокколи (обозначенных как F1–F5, BF1 и BF2) [13]. Общие концентрации глюкозинолатов (глюкойберин, прогоитрин и глюкорафанин) и 10 основных фенолов увеличились с уровня следа и 289 мкг общего фенола/г сухого веса (DW) соответственно в автоклавированном пюре брокколи до 55–359 мкг/г DW и от 903 до ~3105 мкг/г DW соответственно в ферментированном пюре брокколи. После ферментирования пюре брокколи изолятами F1–F5 увеличилось содержание флоретиновой кислоты, а после ферментирования изолятами в BF1 и BF2 повысился уровень глюкорафанина. Авторы пришли к выводу, что молочнокислое ферментирование является перспективным способом повышения содержания глюкозинолатов и полифенольных соединений в брокколи.

Y. J. Oh с соавторами в своем исследовании проанализировал таксономический состав квашеной капусты, ферментированной при температуре 20–22 °C в течение 14-дневного периода ферментирования [15]. Таксономический состав этой квашеной капусты соответствовал таксономическому составу квашеной капусты, ферментированной в традиционном холодном температурном диапазоне. Это позволило авторам предположить, что ферментирование при 20–22 °C может быть жизнеспособным вариантом для получения квашеной капусты со структурой бактериального сообщества, которая соответствует квашеной капусте, полученной более традиционным «холодным» брожением. Это может представлять особый интерес для производителей, которые могли бы ускорить свой производственный процесс, не жертвуя таксономическим составом, лежащим в основе потребительского интереса к пробиотикам и ферментированным продуктам.

В работе M. Zabat и др. представлены результаты исследований по выбору и характеристике смешанных заквасок для молочнокислого брожения овощных смесей моркови, капусты, свеклы и лука [16].

Таким образом, фрукты и овощи представляют собой продукты высокой питательной и функциональной ценности с свойствами, способствующими укреплению здоровья [17]. Однако из-за короткого срока их хранения огромное количество выбрасывается как отходы, приводящие к большим экономическим потерям и накоплению органических отходов. Разработка ферментированных растительных продуктов питания и напитков представляет собой альтернативу их устойчивому использованию, а также превращает их в носителей потенциальных пробиотиков, представляющих ценность для потребителей, страдающих аллергией на молочные белки или непереносимостью лактозы. Использование контролируемого производственного процесса с использованием полезных автохтонных микроорганизмов вместо традиционно применяемого спонтанного брожения рекомендуется для получения продуктов с желательными питательными и функциональными, сенсорными и технологическими свойствами. Таким образом, фрукты и овощи могут быть преобразованы в ферментированные продукты со специфическими свойствами, направленными на улучшение конкретных патологий или здоровья человека в целом.

Помимо повышения функциональных свойств и пользы для здоровья ферментированных фруктовых или овощных продуктов, чрезвычайно важно, чтобы отбор новых автохтонных микроорганизмов был направлен на улучшение органолептического качества ферментированного продукта и его приемлемости для потребителей. Эти аспекты могут быть удовлетворены путем отбора микроорганизмов, продуцирующих ключевые ароматические соединения и экзополисахариды для улучшения вкуса, консистенции и общей привлекательности конечного продукта. Эти исследования должны быть дополнены обширным изучением параметров процесса ферментирования для разработки коммерчески жизнеспособного ферментированного растительного продукта для рынка функциональных пищевых продуктов. Кроме того, подтверждение предлагаемых санитарных требований к выбранным автохтонным микроорганизмам и ферментированным растительным продуктам является еще одной важной целью, достигаемой для повышения коммерческой привлекательности ферментированных продуктов.

В этой связи является актуальным проведение исследований, направленных на разработку технологических режимов управляемого ступенчатого ферментирования растительного сырья для обеспечения гарантированных качественных показателей конечного продукта.

Целью проводимых работ стало изучение динамики развития парных консорциумов молочнокислых микроорганизмов в субстрате с углеводной корректировкой как одного из основных этапов разработки технологии «управляемой» ферментации растительного сырья.

Объекты и методы исследования

В работе использованы следующие штаммы микроорганизмов:

– *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* 37Y, номер в коллекции ВКПМ В-8818. Происхождение штамма: ATCC 8293, DSM 20343, CCM 1803, NCDO 523, NCIB 8023. Условия культивирования – среда MRS, температура 30 °С. Культурально-морфологические признаки: клетки – овальные кокки, колонии – мелкие, белого цвета и округлой формы. Штамм предоставлен Всероссийской коллекцией промышленных микроорганизмов ФГУП ГосНИИГенетика;

– *Lactobacillus brevis* В-1309. Культурально-морфологические особенности штамма: мелкие палочки с закругленными концами, размер 0,7–1,0×2,0–4,0 мкм. Грамположительные, неспорообразующие, гетерофакультативный анаэроб. Сбраживает лактозу, глюкозу, фруктозу и другие сахара;

– *Lactobacillus plantarum* 578/26. Грамположительные, неспорообразующие, аэротолерантные. Сбраживают фруктозу, глюкозу, лактозу и другие сахара, обладают способностью к синтезу бактериоцинов;

– *Lactobacillus casei* 536/17.

Штаммы предоставлены ФГБНУ «ФИЦ питания, биотехнологии и безопасности пищи».

Подготовку культур проводили следующим образом: культуры, находящиеся на хранении, пересевали в жидкую питательную среду MRS, термостатировали при температуре 30 °С в течение 72 ч и определяли начальный титр суспензии микроорганизмов.

Стерильную модельную среду с модифицированным углеводным составом на основе белокочанной капусты сорта «Парус» (урожай 2020 г., ФГБНУ «Федеральный научный центр овощеводства») готовили в соответствии с [18].

Процесс микробного ферментирования осуществляли в два последовательных этапа, описанных в [18–20].

Концентрацию микроорганизмов в модельной среде в контрольные моменты культивирования проводили по традиционной методике посевом в агаризованную питательную среду разведений отобранного образца. Посевы инкубировали при температуре 30 °С в течение 72/120 ч с последующим подсчетом общего количества всех видимых колоний.

Статистический анализ. Математическая обработка данных включала отсев статистических выбросов, нахождение функциональных зависимостей, адекватно описывающих поведение системы в процессе ферментирования. Сравнительный анализ зависимостей проводили в Microsoft Excel и SYSTAT TableCurve 2D. Все эксперименты проводили в 3-х проворностях.

Результаты и их обсуждение

Разработка режимов управляемой двухступенчатой микробной трансформации растительного сырья с использованием модифицирования углеводного состава субстрата предполагает выбор оптимального состава консорциума и установление оптимальной продолжительности ферментирования на основном этапе микробной обработки сырья.

Для выбора оптимального состава консорциума определяли динамики концентрации микроорганизмов в процессе ферментирования.

Анализ экспериментальных данных показал, что функциональные зависимости, наиболее адекватно аппроксимирующие экспериментальные данные по кинетике развития микрофлоры на основном этапе ферментирования, имеют вид:

– *Lactobacillus casei*:

$$lgN = lg\left(10^6 \cdot \exp\left(a + b\cdot(\tau+3)^{0.5} + c\cdot\exp\left(-(\tau+3)\right)\right)\right); \quad (1)$$

– *Lactobacillus brevis*:

$$lgN = lg\left(\frac{10^6}{a + b\cdot(\tau+3)}\right); \quad (2)$$

– *Lactobacillus plantarum*:

$$lgN = lg\left(10^6 \cdot \left(\frac{a + c\cdot(\tau+3) + e\cdot(\tau+3)^2}{1 + b\cdot(\tau+3) + d\cdot(\tau+3)^2 + f\cdot(\tau+3)^3}\right)^2\right); \quad (3)$$

– *L. brevis* + *L. casei*:

$$lgN = lg\left(10^6 \cdot \left(a + b\cdot(\tau+3)^{0.5}\right)^2\right); \quad (4)$$

– *L. brevis* + *L. plantarum*:

$$lgN = \frac{1}{a + b\cdot(\tau+3)^{1.5}}; \quad (5)$$

– *L. casei* + *L. plantarum*:

$$lgN = lg\left(\frac{10^6}{a + b\cdot(\tau+3)^{0.5} + c\cdot\exp\left(-(\tau+3)\right)}\right) \quad (6)$$

где N – концентрация микроорганизмов, КОЕ/г; τ – продолжительность ферментирования, дней; a – константа; b, c, d, e и f – коэффициенты.

Характеристики аппроксимирующих функций для каждого варианта исследований представлены в таблице 1.

Начало отсчета продолжительности основного этапа ферментирования соответствовало моменту внесения инокулята целевых культур

Таблица 1. Константы и коэффициенты функций, аппроксимирующих кинетику развития микрофлоры

Table 1. Constants and coefficients of functions approximating the kinetics of microflora development

Монокультуры микроорганизмов и их консорциумы	Константа и коэффициенты					
	a	*b*	*c*	*d*	*e*	*f*
Монокультуры						
Lactobacillus casei	5,8323	–0,4006	–0,8174	–	–	–
Lactobacillus brevis	$1{,}1561\times10^{-2}$	$1{,}0584\times10^{-3}$	–	–	–	–
Lactobacillus plantarum	12,2474	–0,1364	–8,6013	$4{,}0590\times10^{-2}$	1,7147	$5{,}2406\times10^{-3}$
Консорциумы						
L. brevis + *L. casei*	11,1985	–0,9842	–	–	–	–
L. brevis + *L. plantarum*	0,1208	$1{,}0460\times10^{-4}$	–	–	–	–
L. casei + *L. plantarum*	$-1{,}1955\times10^{-2}$	$8{,}4462\times10^{-3}$	$2{,}0243\times10^{-2}$	–	–	–

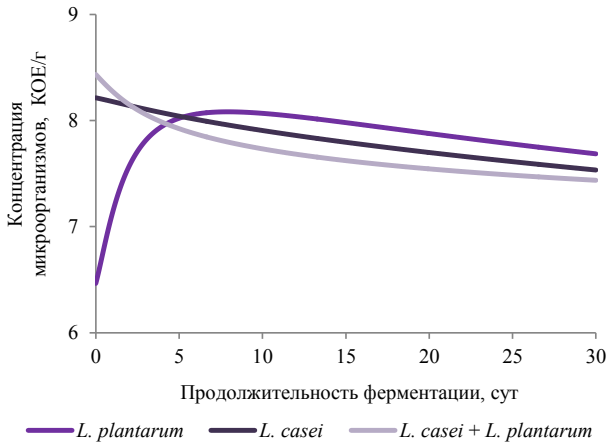

Рисунок 1. Кинетики концентраций монокультур *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei* и консорциума *L. casei* + *L. plantarum* в процессе ферментирования

Figure 1. Kinetics of the concentrations of monocultures of *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus casei*, and the consortium of *L. casei* + *L. plantarum* during fermentation

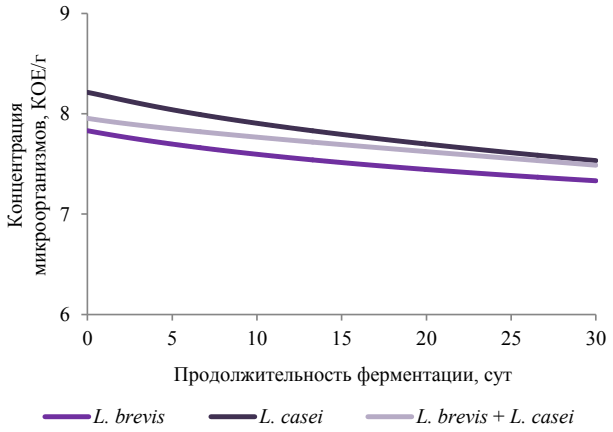

Рисунок 2. Кинетики концентраций монокультур *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei* и консорциума *L. brevis* + *L. casei* в процессе ферментирования

Figure 2. Kinetics of the concentrations of monocultures of *Lactobacillus brevis*, *Lactobacillus casei*, and the consortium of *L. brevis* + *L. casei* during fermentation

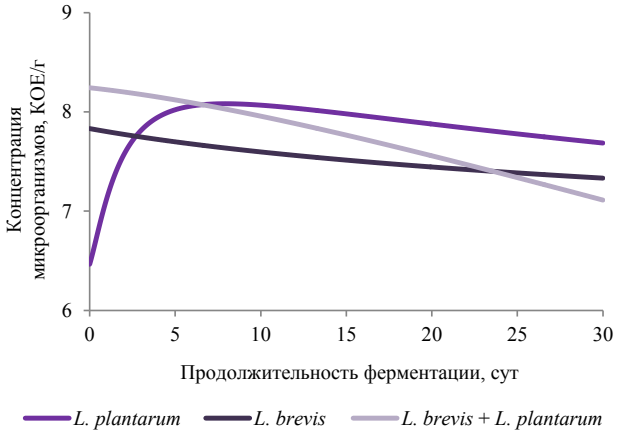

Рисунок 3. Кинетики концентраций монокультур *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis* и консорциума *L. brevis* + *L. plantarum* в процессе ферментирования

Figure 3. Kinetics of the concentrations of monocultures of *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus brevis*, and the consortium of *L. brevis* + *L. plantarum* during fermentation

рода *Lactobacillus* в субстрат, прошедший этап предварительного ферментирования культурой *Leuconostoc mesenteroides*.

На рисунках 1–3 приведены кинетики концентраций монокультур молочнокислых микроорганизмов и их парных консорциумов в процессе ферментирования, описываемые функциями (1)-(6).

В варианте с консорциумом *L. casei* + *L. plantarum* и соответствующими монокультурами вначале основного этапа ферментирования – в течение первых 5–7 дней – имело место нарастание концентрации *L. plantarum*. Для монокультуры *L. casei* и консорциума отмечали устойчивое уменьшение концентрации. После 5 дней процесса общий вид кинетики как для монокультур, так и для консорциума совпадает. Однако выраженность уменьшения концентрации в течение всего исследованного периода основного этапа ферментирования достаточно мала: в период от 5 до 30 дней уменьшение концентрации

микроорганизмов не превысило одного порядка, что при начальной концентрации в 8 порядков является малозначимым.

Близкий вид кинетики концентрации микроорганизмов в процессе ферментирования имел место в отношении монокультуры *L. brevis*, а также консорциумов *L. brevis* + *L. casei* и *L. brevis* + *L. plantarum* (рис. 2 и 3). В силу нелинейности данных кинетик и некоторой их «вогнутости» общей их особенностью является фактическая стабилизация в пределах, близких к погрешности микробиологических анализов.

К концу исследованного периода ферментирования (30 дней) концентрации данных монокультур и консорциумов остаются на уровне, превышающем 10^7 КОЕ/г. Это позволяет относить получаемую в результате ферментирования систему «субстрат – микрофлора» к пробиотикам.

Таким образом, сравнительный анализ результатов экспериментальных данных с аналогичными, полученными в [18, 19], показывает необходимость углеводной корректировки при ферментации белокочанной капусты.

Выводы

Экспериментально установлена малая вариативность концентраций микроорганизмов как в монокультурах, так и в их парных консорциумах на протяжении основного этапа ферментирования модельной среды с измененной углеводной составляющей. Установлено, что к концу основного этапа ферментирования концентрации микроорганизмов не снижается менее чем 10^7 КОЕ/г. Это позволяет рассматривать систему «микрофлора – субстрат» как обладающую пробиотическими свойствами.

Критерии авторства

Авторы в равной степени участвовали в подготовке и написании статьи.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

All the authors contributed equally to the study and bear equal responsibility for information published in this article.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

Список литературы

1. Spontaneously fermented traditional beverages as a source of bioactive compounds: an overview / R. B. Cuvas-Limon [et al.] // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2020. P. 1–23. https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1791050.

2. Spontaneously fermented curly kale juice: Microbiological quality, nutritional composition, antioxidant, and antimicrobial properties / J. Szutowska [et al.] // Journal of Food Science. 2020. Vol. 85. № 4. P. 1248–1255. https://doi.org/10.1111/1750-3841.15080.

3. Microbial community dynamics and metabolome changes during spontaneous fermentation of northeast sauerkraut from different households / X. Yang [et al.] // Frontiers in Microbiology. 2020. Vol. 11. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01878.

4. Biologically active and health promoting food components of nuts, oilseeds, fruits, vegetables, cereals, and legumes / T. G. Albuquerque [et al.] // Chemical Analysis of Food. Techniques and Applications / editor Y. Pico. Academic Press, 2020. P. 609–656. https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813266-1.00014-0.

5. Szutowska J. Functional properties of lactic acid bacteria in fermented fruit and vegetable juices: a systematic literature review // European Food Research and Technology. 2020. Vol. 246. № 3. P. 357–372. https://doi.org/10.1007/s00217-019-03425-7.

6. Behera S. S., Ray R. C., Zdolec N. *Lactobacillus plantarum* with functional properties: An approach to increase safety and shelf-life of fermented foods // BioMed Research International. 2018. Vol. 2018. https://doi.org/10.1155/2018/9361614.

7. Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond / M. L. Marco [et al.] // Current Opinion in Biotechnology. 2017. Vol. 44. P. 94–102. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.11.010.

8. Probiotics database: a potential source of fermented foods / W. Zhao [et al.] // International Journal of Food Properties. 2019. Vol. 22. № 1. P. 197–216. https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1579737.

9. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from traditional pickles of Himachal Pradesh, India / Monika [et al.] // Journal of Food Science and Technology. 2017. Vol. 54. № 7. P. 1945–1952. https://doi.org/10.1007/s13197-017-2629-1.

10. Sáez G. D., Flomenbaum L., Zárate G. Lactic acid bacteria from argentinean foods: Isolation and characterization for their potential use as vegetable starters // Food Technology and Biotechnology. 2018. Vol. 56. № 3. P. 398–410. https://doi.org/10.17113/ftb.56.03.18.5631.

11. Effect of salt concentration on quality of northeast sauerkraut fermented by *Leuconostoc mesenteroides* and *Lactobacillus plantarum* salt effects on northeast sauerkraut fermentation / X. Yang [et al.] // Food Bioscience. 2019. Vol. 30. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100421.

12. *Lactobacillus plantarum* survival during the osmotic dehydration and storage of probiotic cut apple / K. Emser [et al.] // Journal of Functional Foods. 2017. Vol. 38. P. 519–528. https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.09.021.

13. Fermentation-based biotransformation of glucosinolates, phenolics and sugars in retorted broccoli puree by lactic acid bacteria / J.-H. Ye [et al.] // Food Chemistry. 2019. Vol. 286. P. 616–623. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.02.030.

14. An overview of plant-autochthonous microorganisms and fermented vegetable foods / S. Torres [et al.] // Food Science and Human Wellness. 2020. Vol. 9. № 2. P. 112–123. https://doi.org/10.1016/j.fshw.2020.02.006.

15. *Lactobacillus plantarum* PMO 08 as a probiotic starter culture for plant-based fermented beverages / Y. J. Oh [et al.] // Molecules. 2020. Vol. 25. № 21. https://doi.org/10.3390/molecules25215056.

16. Microbial community analysis of sauerkraut fermentation reveals a stable and rapidly established community / M. Zabat [et al.] // Foods. 2018. Vol. 7. № 5. https://doi.org/10.3390/foods7050077.

17. Кузнецова О. А., Дыдыкин А. С., Асланова М. А. Приоритетные научные направления в области питания населения // Мясная индустрия. 2018. № 7. С. 8–12.

18. Исследование динамики развития молочнокислых микроорганизмов при двухстадийном процессе ферментирования капусты белокочанной сорта Парус / В. В. Кондратенко [и др.] // Овощи России. 2019. Т. 49. № 5. С. 88–93. https://doi.org/10.18619/2072-9146-2019-5-88-93.

19. О коррекции углеводного состава сырья для микробной трансформации консорциумами микроорганизмов / В. В. Кондратенко [и др.] // Техника и технология пищевых производств. 2020. Т. 50. № 4. С. 749–762. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-4-749-762.

20. Семенова Ж. А., Посокина Н. Е., Терешонок В. И. Влияние углеводной корректировки сырья на рост молочнокислых микроорганизмов в процессе направленного ферментирования овощей // Овощи России. 2020. № 6. С. 99–103. https://doi.org/10.18619/2072-9146-2020-6-99-103.

References

1. Cuvas-Limon RB, Nobre C, Cruz M, Rodriguez-Jasso RM, Ruiz HA, Loredo-Trevino A, et al. Spontaneously fermented traditional beverages as a source of bioactive compounds: an overview. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2020;1–23. https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1791050.

2. Szutowska J, Rybicka I, Pawlak-Lemanska K, Gwiazdowska D. Spontaneously fermented curly kale juice: Microbiological quality, nutritional composition, antioxidant, and antimicrobial properties. Journal of Food Science. 2020;85(4):1248–1255. https://doi.org/10.1111/1750-3841.15080.

3. Yang X, Hu W, Xiu Z, Jiang A, Yang X, Saren G, et al. Microbial community dynamics and metabolome changes during spontaneous fermentation of northeast sauerkraut from different households. Frontiers in Microbiology. 2020;11. https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01878.

4. Albuquerque TG, Nunes MA, Bessada SMF, Costa HS, Oliveira MBPP. Biologically active and health promoting food components of nuts, oilseeds, fruits, vegetables, cereals, and legumes. In: Pico Y, editor. Chemical Analysis of Food. Techniques and Applications. Academic Press; 2020. pp. 609–656. https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813266-1.00014-0.

5. Szutowska J. Functional properties of lactic acid bacteria in fermented fruit and vegetable juices: a systematic literature review. European Food Research and Technology. 2020;246(3):357–372. https://doi.org/10.1007/s00217-019-03425-7.

6. Behera SS, Ray RC, Zdolec N. *Lactobacillus plantarum* with functional properties: An approach to increase safety and shelf-life of fermented foods. BioMed Research International. 2018;2018. https://doi.org/10.1155/2018/9361614.

7. Marco ML, Heeney D, Binda S, Cifelli CJ, Cotter PD, Foligne B, et al. Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. Current Opinion in Biotechnology. 2017;44:94–102. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2016.11.010.

8. Zhao W, Liu Y, Latta M, Ma W, Wu Z, Chen P. Probiotics database: a potential source of fermented foods. International Journal of Food Properties. 2019;22(1):197–216. https://doi.org/10.1080/10942912.2019.1579737.

9. Monika, Savitri, Kumar V, Kumari A, Angmo K, Bhalla TC. Isolation and characterization of lactic acid bacteria from traditional pickles of Himachal Pradesh, India. Journal of Food Science and Technology. 2017;54(7):1945–1952. https://doi.org/10.1007/s13197-017-2629-1.

10. Sáez GD, Flomenbaum L, Zárate G. Lactic acid bacteria from argentinean foods: Isolation and characterization for their potential use as vegetable starters. Food Technology and Biotechnology. 2018;56(3):398–410. https://doi.org/10.17113/ftb.56.03.18.5631.

11. Yang X, Hu W, Jiang A, Xiu Z, Ji Y, Guan Y, et al. Effect of salt concentration on quality of northeast sauerkraut fermented by *Leuconostoc mesenteroides* and *Lactobacillus plantarum* salt effects on northeast sauerkraut fermentation. Food Bioscience. 2019;30. https://doi.org/10.1016/j.fbio.2019.100421.

12. Emser K, Barbosa J, Teixeira P, Bernardo de Morais AMM. *Lactobacillus plantarum* survival during the osmotic dehydration and storage of probiotic cut apple. Journal of Functional Foods. 2017;38:519–528. https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.09.021.

13. Ye J-H, Huang L-Y, Terefe NS, Augustin MA. Fermentation-based biotransformation of glucosinolates, phenolics and sugars in retorted broccoli puree by lactic acid bacteria. Food Chemistry. 2019;286:616–623. https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.02.030.

14. Torres S, Veron H, Contreras L, Isla MI. An overview of plant-autochthonous microorganisms and fermented vegetable foods. Food Science and Human Wellness. 2020;9(2):112–123. https://doi.org/10.1016/j.fshw.2020.02.006.

15. Oh YJ, Kim TS, Moon HW, Lee SY, Lee SY, Ji GE, et al. *Lactobacillus plantarum* PMO 08 as a probiotic starter culture for plant-based fermented beverages. Molecules. 2020;25(21). https://doi.org/10.3390/molecules25215056.

16. Zabat M, Sano WH, Wurster JI, Cabral DJ, Belenky P. Microbial community analysis of sauerkraut fermentation reveals a stable and rapidly established community. Foods. 2018;7(5). https://doi.org/10.3390/foods7050077.

17. Kuznetsova OA, Dydykin AS, Aslanova MA. High priority scientific research in the field of population nutrition. Meat Industry. 2018;(7):8–12. (In Russ.).

18. Kondratenko VV, Posokina NE, Semenova JA, Tereshonok VI. Study of the dynamics of the development of lactic acid microorganisms in the two-stage process of fermenting cabbage varieties “Pams”. Vegetable Crops of Russia. 2019;49(5):88–93. (In Russ.). https://doi.org/10.18619/2072-9146-2019-5-88-93.

19. Kondratenko VV, Posokina NE, Lyalina OYu, Kolokolova AYu, Glazkov SV. Correction of the carbohydrate composition of raw materials for microbial transformation based on microbial consortia. Food Processing: Techniques and Technology. 2020;50(4):749–762. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2020-4-749-762.

20. Semenova JA, Posokina NE, Tereshonok VI. Influence of carbohydrate correction of raw materials on the growth of lactic acid microorganisms in the process of directed fermentation of vegetables. Vegetable Crops of Russia. 2020;(6):99–103. (In Russ.). https://doi.org/10.18619/2072-9146-2020-6-99-103.