

Научная статья

УДК 579.676; 664.696.9; 633.112.6

DOI: 10.17586/2310-1164-2024-17-3-26-35

Биотехнологический потенциал молочнокислых бактерий при ферментации растительной основы альтернативного напитка из полбы

А.А. Трофимов^{1*}, Е.А. Лавриненко¹, П.А. Шевякова¹, П.И. Гунькова¹, Е.В. Москвичева², Е.Ю. Фединашина²¹Университет ИТМО, Россия, Санкт-Петербург, *nutrof@vk.com²Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого, Россия, Санкт-Петербург

Аннотация. Исследовали свойства культуры *Lactobacillus acidophilus* БЗ-АВ, штаммов *Limosilactobacillus fermentum* В28, *Lactiplantibacillus plantarum* В4 и их смеси с целью отбора культур, обеспечивающих оптимальное течение биотехнологического процесса и получение ферментированного альтернативного напитка из полбы высокого качества. О сахаролитической активности бактерий судили по скорости изменения оптической плотности сред Гисса с растворимыми сахарами при длине волны 490 нм. Кислотообразующую активность культур определяли по динамике рН ферментируемой смеси. Количество бактериальных клеток подсчитывали методом Виноградского–Брида. Органолептические свойства гидролизата оценивали по предварительно разработанной пятибалльной шкале. Показано, что молочнокислым бактериям для эффективного развития требуются растворимые сахара. Гидролизат полбяной муки с содержанием мальтозы 23,66 г/дм³; глюкозы 9,90 г/дм³; альфа-аминного азота 85,48 мг/100 г обеспечивает их рост и может использоваться как растительная основа ферментированного напитка. Установлено, что при ферментации полбяного гидролизата *Lb. acidophilus* БЗ-АВ понижает уровень рН смеси до 4,5 ± 0,1 за 5 ч, *Lpb. plantarum* В4 и *Lilb. fermentum* В28 – за 6 и 8 ч соответственно, а смесь *Lpb. plantarum* В4 + *Lilb. fermentum* В28 в соотношении 1:1 – примерно за 5,5 ч. Число клеток всех культур в ферментированном гидролизате муки полбы достигало уровня 10⁹ кл./см³. Смешивание *Lpb. plantarum* В4 и *Lilb. fermentum* В28 в соотношении 1:1 привело к повышению скорости кислотообразования и увеличению количества клеток по сравнению с чистыми культурами соизмеримо с показателями *Lb. acidophilus* БЗ-АВ, а также к достижению наиболее высоких показателей вкуса и запаха ферментированного гидролизата. Установлено, что культуры *Lb. acidophilus* БЗ-АВ, *Lpb. plantarum* В4 и смесь *Lpb. plantarum* В4 + *Lilb. fermentum* В28 могут использоваться для ферментации растительной основы из полбы. Наиболее высокий биотехнологический потенциал имеет смесь *Lpb. plantarum* В4 + *Lilb. fermentum* В28.

Ключевые слова: пищевые биотехнологии; альтернативные ферментированные напитки; потенциал молочнокислых бактерий; растительная основа напитка; зерновые напитки; продукты из полбы

Original article

Biotechnological potential of lactic acid bacteria during fermentation of the plant base for an alternative emmer drink

Andrey A. Trofimov^{1*}, Ekaterina A. Lavrinenko¹, Polina A. Shevyakova¹, Polina I. Gunkova¹, Elena V. Moskvicheva², Ekaterina Y. Fedinishina²¹ITMO University, St. Petersburg, Russia, *nutrof@vk.com²Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University, Russia, St. Petersburg

Abstract. The properties of *Lactobacillus acidophilus* BZ-AB culture, strains of *Limosilactobacillus fermentum* B28, *Lactiplantibacillus plantarum* B4, and their mixtures were studied in order to select cultures ensuring the optimal biotechnological process and to obtain a fermented alternative drink from high-quality emmer. The saccharolytic activity of bacteria was assessed by the rate of the changes in the optical density of the Gis medium with soluble sugars at a wavelength of 490 nm. The acid-forming activity of the cultures was determined by the dynamics of the pH of the fermented mixture. The number of bacterial cells was calculated by the Vinogradsky–Brid method. The organoleptic properties of the hydrolysate were assessed on a pre-developed five-point scale. It has been shown that lactic acid bacteria require soluble sugars for effective development. Their growth is provided by emmer flour hydrolysate with a maltose content of 23.66 g/dm³, glucose content of 9.90 g/dm³, and alpha-amine nitrogen content of 85.48 mg/100 g ensures, and it can be used as a vegetable base of a fermented beverage. It was found that, during fermentation of emmer hydrolysate, *Lb. acidophilus* BZ-AB lowers the pH level of the mixture to 4.5 ± 0.1 for 5 hours, *Lpb. plantarum* B4 and *Lilb. fermentum* B28 – for 6 and 8 hours, accordingly, and a mixture of *Lpb. plantarum* B4 + *Lilb. fermentum* B28 in a ratio of 1:1 – for about 5.5 hours. The number of all the cultures in the fermented emmer flour hydrolysate reached the level of 10⁹ cell/cm³. Mixing *Lpb. plantarum* B4 and *Lilb. fermentum* B28 in a ratio of 1:1 leads to an increase in the rate of acid formation and an increase in the number of cells compared with pure cultures commensurate with the indicators

of *Lb. acidophilus* BZ-AB, as well as to achieve significantly higher scores of favour for fermented hydrolysate. It has been established that *Lb. acidophilus* BZ-AB, *Lpb. plantarum* B4, and the mixture of *Lpb. plantarum* B4 and *Lilb. fermentum* B28 can be used for the fermentation of the plant base from emmer. The mixture of *Lpb. plantarum* B4 and *Lilb. fermentum* B28 has the highest biotechnological potential.

Keywords: food biotechnology; alternative fermented beverages; potential of lactic acid bacteria; plant-based beverages; cereal beverages; emmer products

Введение

В современном мире наблюдается устойчивая тенденция к увеличению спроса на альтернативные продукты питания. Этому способствуют увеличение числа веганов и вегетарианцев, распространенность аллергии на животный белок и лактозу, стремление к здоровому образу жизни и обеспокоенность возможной экологической катастрофой. Одна из главных причин отказа многих людей от употребления молочной продукции – непереносимость лактозы. По данным аналитиков компании Viola, которые опросили 7,1 тыс. человек, с этим недугом сталкивались 46% участников [1].

По прогнозу Россельхозбанка, рынок альтернативных продуктов в России будет расти каждый год на 3–5% и к 2030 г. достигнет 200 тыс. тонн. В 2023 г. объем российского рынка альтернативных продуктов составил 180 тыс. тонн, причем 70% от него пришлось на молочные альтернативы: растительные аналоги молока и сыра. Несмотря на имеющийся достаточно широкий ассортимент растительных продуктов, альтернативных молочным, ферментированные напитки, подобные кисломолочным, на рынке практически не представлены.

Ферментация растительной основы молочнокислыми бактериями (МКБ) позволяет повысить функциональные и органолептические свойства продукта, увеличить срок его хранения. МКБ в процессе ферментации образуют витамины групп В и К, расщепляют белки до доступных простых азотистых соединений и свободных аминокислот, синтезируют необходимые человеку короткоцепочечные жирные кислоты и др. Под действием молочнокислых палочек рода *Lactobacillus* и др. фенолы растительного сырья трансформируются в наиболее активные формы, например, в агликоны [2–4]. Это обогащает готовый продукт и делает его легкоусвояемым. В результате своей жизнедеятельности многие виды МКБ продуцируют специфические вещества (диацетил, ацетальдегид и др.), улучшающие вкус и аромат продукта. Пробиотические МКБ, например *Lactobacillus acidophilus*, *Lactiplantibacillus plantarum* и др., кроме того, положительно влияют на здоровье, так как синтезируют лактоцины и другие биологически активные вещества, подавляющие рост сапрофитных гнилостных и патогенных микроорганизмов и способствующие перевариванию клетчатки, нормализации микрофлоры в толстом кишечнике [5]. Исследования подтверждают, что пробиотики ингибируют раковые клетки, имеют иммуномодулирующую активность и участвуют в регулировании нервной системы [6]. Употребление в пищу ферментированных продуктов способствует уменьшению холестерина в крови, профилактике рака, облегчению симптомов непереносимости лактозы, остеопороза и препятствует избыточному развитию жировой ткани [7].

Ферментация способствует понижению количества фитиновой кислоты, фитатов и других антипитательных факторов (или антинутриентов), содержащихся в растительном сырье. Антинутриенты препятствуют усвоению организмом основных питательных веществ. Фитиновая кислота и фитаты образуют нерастворимые комплексы с кальцием, цинком, железом, медью и марганцем, вследствие чего понижают биодоступность этих важнейших для человека минералов. Кроме того, фитиновая кислота и фитаты нарушают пищеварение, инактивируя в желудочно-кишечном тракте ферменты пепсин, трипсин и амилазу [8]. Молочнокислые бактерии синтезируют фитазу, которая осуществляет гидролиз фитатов и фитиновой кислоты, что не только нивелирует данные антинутриенты, но и увеличивает в продукте концентрацию растворимых минералов [9]. Так, ферментация зернового сырья культурами *Lactiplantibacillus plantarum*, *Limosilactobacillus fermentum*, *Lacticaseibacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus brevis* и их комбинациями привела к понижению в нем количества фитатов на 12–66% [10].

Таким образом, ферментированные растительные продукты, альтернативные кисломолочным, в сравнении с неферментированными, имеют наибольшую биологическую ценность, биодоступность и усвояемость, поэтому разработка их биотехнологий является актуальной.

Развитие культур МКБ изучено в основном при ферментации молочной основы, характер их роста в растительном сырье может существенно различаться. Находясь в растительных субстратах, молочнокислые бактерии могут демонстрировать неодинаковую скорость роста, сахаролитическую, протеолитическую, кислотообразующую активность, что неизбежно отразится на конечных продуктах метаболизма, ходе биотехнологического процесса и качестве ферментированного продукта.

Размножение молочнокислых бактерий и образование ими биологически активных веществ зависит от вида, химического состава и свойств растительной основы [3]. Среди растительного сырья для альтернативных ферментированных продуктов особую привлекательность имеют зерновые культуры. Злаки содержат пищевые волокна, уникальные жиры без холестерина, разнообразные витамины, минералы, флавоноиды, вследствие чего характеризуются высокими функциональными свойствами [11]. В производстве альтернативных продуктов из зерновых в настоящее время используются в основном овес и рис. Перспективным сырьем для ферментированных напитков является полба – высокобелковая культура, обладающая противодиабетической, гипохолестеринемической, антиоксидантной, а также антиканцерогенной активностью [12]. Сегодня данных о биотехнологическом потенциале культур МКБ (совокупности их свойств, необходимых для оптимального проведения биотехнологического процесса и получения продукта высокого качества) при ферментации растительных основ немного, а для полбяных основ они практически отсутствуют.

Цель работы – исследовать свойства пробиотических молочнокислых бактерий: сахаролитическую и кислотообразующую активность, динамику накопления клеток, органолептические показатели при ферментации растительной основы альтернативного кисломолочному напитка из полбы.

Объекты и методы исследования

В качестве объектов исследования изучали следующие материалы:

➤ гидролизат полбы, выработанный из муки с модулем крупности равным 1,16 и полученной из зерна полбы сорта «Руно» (выращено в Алтайском крае, Россия) с содержанием белков 15,40%, жиров 3,20%, углеводов (включая крахмал) 69,25%, крахмала 62,80%. Для гидролиза муки использовали ферментные препараты: амилалитический – АмилоЛюкс-АТС (Сиббиофарм, Россия), протеолитический – Distizym Protacid (Erbslöh, Германия) и гликолитический – Distizym AG-alpha (Erbslöh, Германия).

➤ культуры молочнокислых бактерий *Lactobacillus acidophilus* БЗ-АВ (*Lb. acidophilus*), *Limosilactobacillus fermentum* B28 (*Lilb. fermentum*), *Lactiplantibacillus plantarum* B4 (*Lpb. plantarum*) и смесь культур *Lilb. fermentum* B28 + *Lpb. plantarum* B4 в соотношении 1:1. Культура *Lactobacillus acidophilus* БЗ-АВ произведена на ООО «Барнаульская биофабрика», штаммы *Limosilactobacillus fermentum* B28 и *Lactiplantibacillus plantarum* B4 получены из Коллекции культур микроорганизмов «Молчнокислые бактерии и дрожжи для хлебопекарной промышленности» Санкт-Петербургского филиала НИИ Хлебопекарной промышленности. Данные виды бактерий являются общепризнанными пробиотиками, способными продуцировать кроме молочной другие короткоцепочечные жирные кислоты, γ -аминомасляную кислоту, лактоцины, экзо-полисахариды, витамины, вкусо-ароматические соединения, а также характеризуются высокими функциональными свойствами [5, 13–15].

Растительной основой ферментированного альтернативного напитка служил гидролизат полбы. Для обоснования углеводного состава гидролизата, необходимого для развития молочнокислых бактерий, первоначально определяли сахаролитическую активность бактериальных культур. С целью выявления способности бактерий к усвоению растворимых сахаров растительного сырья их засеивали в среды Гисса, которые содержали по одному из углеводов: мальтозу или глюкозу. При сбраживании бактериями сахаров в среде накапливаются органические кислоты и углекислый газ, в результате чего цвет среды изменяется с первоначального зеленого на желтый. В случае неспособности микроорганизмов к расщеплению сахара цвет среды остается первоначальным. Изменение окраски среды контролировали каждый час на спектрофотометре ПЭ-5400 («Экротхим», Санкт-Петербург) при длине волны 490 нм. О сахаролитической активности молочнокислых бактерий судили по степени изменения оптической плотности сред Гисса с сахарами в течение 12 ч (период активного роста бактерий).

Содержание белков в гидролизате определяли методом Кьельдаля по ГОСТ 10846–91. Экспериментально определенное количество общего азота умножали на коэффициент пересчета азота в белок, для полбы равный 5,7. Массовую долю жира находили методом Сокслета по ГОСТ 29033–91.

Количество альфа-аминного азота в гидролизате муки полбы устанавливали колориметрическим методом с нингидрином на спектрофотометре ПЭ-5400 («Экротим», Санкт-Петербург) при длине волны 570 нм.

Количество мальтозы и глюкозы в гидролизате полбяной муки определяли методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на хроматографе Shimadzu Prominence LC-20 (Shimadzu Europa GmbH, Германия) с рефрактометрическим детектором RID-20A.

Для ферментации полбяного гидролизата культуры МКБ вносили в него в количестве 5% (при смешивании двух культур – по 2,5% каждой культуры).

О кислотообразующей активности бактериальных культур судили по динамике pH ферментируемой растительной основы. В образцы полбяного гидролизата вносили экспоненциальные культуры в количестве 5%. Смесь перемешивали и термостатировали при температуре, оптимальной для каждой культуры (*Lb. acidophilus* – 37°C, *Lilb. fermentum* – 30°C, *Lpb. plantarum* – 30°C). Уровень pH контролировали на pH-метре «Эксперт-001» («Эконикс-Эксперт», Россия) через каждый час в течение первых 12 ч и через 24 ч.

Количество клеток в ферментируемом гидролизате определяли методом Виноградского–Брида. Для этого образец гидролизата разводили в физрастворе в соотношении 1:100. Затем 0,01 см³ полученного разведения равномерно наносили на предметное стекло в предварительно очерченный квадрат площадью 4 см² и готовили фиксированный окрашенный препарат. Препарат микроскопировали с иммерсионным объективом. Количество клеток МКБ подсчитывали в 25 полях зрения, смещая поле зрения по диагонали очерченного квадрата. За окончательный результат принимали среднее арифметическое от подсчитанного в полях зрения числа клеток [16].

Органолептическую оценку ферментированного гидролизата муки полбы осуществляла дегустационная комиссия из пяти человек по предварительно разработанной пятибалльной шкале (таблица 1).

Таблица 1. Шкала органолептической оценки ферментированного гидролизата муки полбы
Table 1. Organoleptic assessment scale of fermented emmer flour hydrolysate

Органолептический показатель	Характеристика показателя	Оценка, баллы
вкус	выраженный кисломолочный, с характерным привкусом полбы и другими приятными нотами, слегка сладковатый	5
	недостаточно выраженный кисломолочный, со слабовыраженным привкусом полбы, слегка сладковатый	4
	слабовыраженный кисломолочный, с невыраженным привкусом полбы, с доминированием кислого привкуса	3
	невыраженный кисломолочный, невыраженный привкус полбы, кислый, горький, затхлый, с наличием посторонних привкусов	2
запах	достаточно выраженный кисломолочный, со сливочно-ореховым оттенком и другими приятными нотами, слегка сладковатый	5
	недостаточно выраженный кисломолочный, слабовыраженный сливочно-ореховый оттенок, слегка сладковатый	4
	слабовыраженный кисломолочный, невыраженный сливочно-ореховый оттенок	3
	невыраженный кисломолочный, невыраженный сливочно-ореховый оттенок, кислый, затхлый, посторонний	2

Эксперименты проводили в трехкратной повторности. Достоверность результатов оценивали методами математической статистики при доверительном интервале 0,95. Статистический анализ полученных экспериментальных результатов проводили с применением Microsoft Excel (США).

Результаты и обсуждение

Молочнокислым бактериям для осуществления жизнедеятельности необходимы легкодоступные источники углерода (ди- и моносахара) и азота (аминокислоты). В зерне (и муке) полбы доминирующим углеводом является крахмал, а азот включен в молекулы белков, которые не доступны МКБ. Для обеспечения углеводного и азотистого питания микроорганизмов в качестве растительной основы ферментированного альтернативного напитка можно использовать гидролизат муки полбы с регулируемым содержанием растворимых соединений. С целью определения углеводного состава растительной основы напитка исследовали сахаролитическую активность культур МКБ. Результаты представлены на рисунке 1.

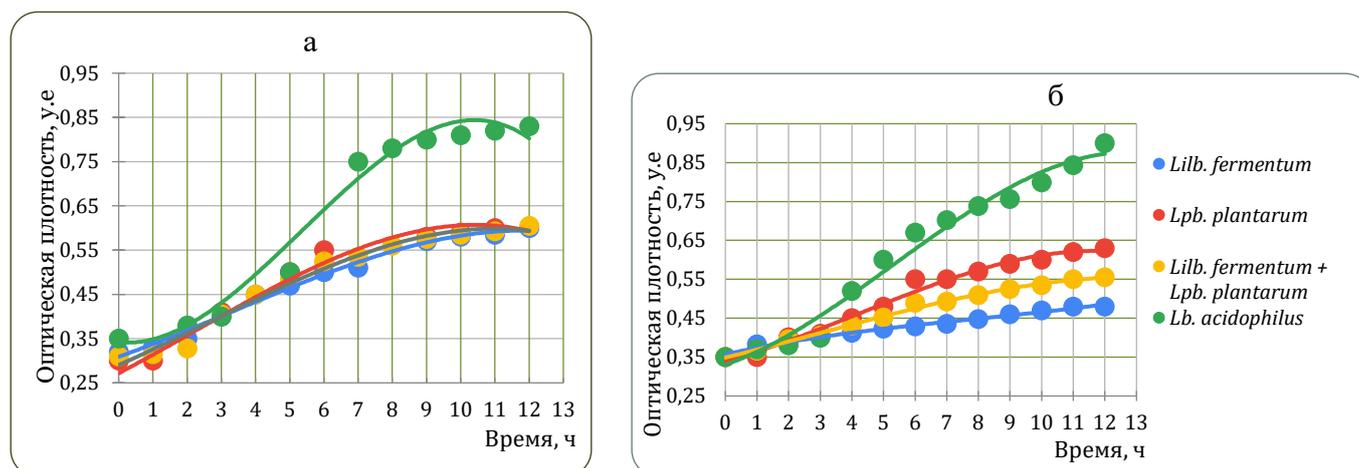


Рисунок 1 – Зависимость оптической плотности от времени сбраживания сахаров МКБ: а – мальтозы; б – глюкозы
 Figure 1. Dependency of optical density on the time of fermentation of sugars by lactic acid bacteria: a – maltose; b – glucose

Анализ результатов, представленных на рисунке 1 в виде графических зависимостей, показывает, что через 12 ч значение оптической плотности при сбраживании бактериями мальтозы составило для *Lpb. plantarum* 0,61 у.е.; *Lilb. fermentum* – 0,60 у.е.; смеси *Lilb. fermentum* + *Lpb. plantarum* – 0,61 у.е., *Lb. acidophilus* – 0,83 у.е., а при сбраживании глюкозы – 0,62; 0,48; 0,54; 0,90 у.е. соответственно. Таким образом, *Lpb. plantarum* усваивает мальтозу и глюкозу с примерно одинаковой активностью, *Lilb. fermentum* и смесь *Lilb. fermentum* + *Lpb. plantarum* быстрее сбраживают мальтозу, а *Lb. acidophilus* немного активнее утилизирует глюкозу. Из всех культур наибольшую активность сбраживания обоих сахаров показывает *Lb. acidophilus*. Мальтозу *Lilb. fermentum*, *Lpb. plantarum* и их смесь утилизируют приблизительно с одинаковой активностью (рисунок 1а). Глюкозу наименее активно расщепляет *Lilb. fermentum*. Смешивание *Lilb. fermentum* и *Lpb. plantarum* приводит к повышению активности усвоения этого сахара по сравнению с чистой культурой *Lilb. fermentum* и ее понижению в сравнении с чистой культурой *Lpb. plantarum* (рисунок 1б). Полученные путем математической обработки экспериментальных данных уравнения, описывающие зависимость оптической плотности среды Гисса от продолжительности сбраживания сахара ($D = f(\tau)$), представлены в таблице 2.

Таблица 2. Уравнения зависимости оптической плотности от времени сбраживания сахаров МКБ
 Table 2. Equations for the dependency of optical density on the fermentation time of sugars by lactic acid bacteria

Сахара \ Вид бактерий	Мальтоза	Глюкоза
<i>Lb. acidophilus</i>	$D = 0,342 - 8,23\tau + 0,0155\tau^2 - 0,00963\tau^3$	$D = 0,332 + 0,0278\tau + 0,055\tau^2 - 0,003593\tau^3$
<i>Lilb. fermentum</i>	$D = 0,309 + 0,0274\tau + 0,0149\tau^2 - 0,00112\tau^3$	$D = 0,357 + 0,0179\tau - 0,092\tau^2 + 0,00463\tau^3$
<i>Lpb. plantarum</i>	$D = 0,272 + 0,0408\tau + 0,0121\tau^2 - 0,00216\tau^3$	$D = 0,340 + 0,0217\tau + 0,0221\tau^2 - 0,0195\tau^3$
<i>Lilb. fermentum</i> + <i>Lpb. plantarum</i>	$D = 0,292 + 0,0341\tau + 0,0117\tau^2 - 0,00144\tau^3$	$D = 0,349 + 0,0198\tau + 0,606\tau^2 - 0,00676\tau^3$

Таким образом, результаты исследования показали, что для развития МКБ в растительной основе ферментированного напитка из муки полбы должны быть мальтоза и глюкоза. Их содержание

в зерне полбы крайне мало и составляет около 2 г/100 г [12]. Для образования в растительной основе необходимых для бактерий сахаров, а также свободных аминокислот был проведен гидролиз муки полбы амилолитическим, гликолитическим и протеолитическим ферментными препаратами. Результаты исследования химического состава гидролизата представлены в таблице 3.

Таблица 3. Химический состав полбяного гидролизата

Table 3. Chemical composition of emmer hydrolysate

Белки, %	Жиры, %	Альфа-аминный азот, мг/100 г	Мальтоза, г/дм ³	Глюкоза, г/дм ³
2,60 ±0,06	0,50 ±0,02	85,48 ±0,23	23,66 ±0,04	9,90 ±0,05

Полученный полбяной гидролизат включает необходимые для развития молочнокислых бактерий глюкозу, мальтозу, растворимый азот, а также ценные для человека белки и жиры в количестве, соизмеримом с кисломолочными напитками. Его возможно использовать в качестве растительной основы ферментированного альтернативного напитка и субстрата при оценке биотехнологического потенциала молочнокислых бактерий.

При сбраживании углеводов все МКБ образуют молочную кислоту. Некоторые их виды – облигатно гетероферментативные (*Lilb. fermentum* и др.) и факультативно-гетероферментативные (*Lpb. plantarum* и др.) – в ходе брожения продуцируют также короткоцепочечные жирные кислоты. Вследствие накопления органических кислот понижается рН ферментируемой смеси. Уровень рН 4,5 ± 0,1 и ниже обеспечивает хорошие органолептические показатели зернового напитка и подавляет развитие вредной микрофлоры в продукте и пищеварительном тракте человека [2, 17, 18]. Степень изменения рН смеси характеризует кислотообразующую активность бактерий, осуществляющих процесс ферментации. Высокая активность кислотообразования способствует уменьшению продолжительности биотехнологического процесса и, следовательно, повышению микробиологической безопасности продукта и рентабельности производства [18]. Динамика рН в процессе ферментации полбяного гидролизата молочнокислыми бактериями представлена на рисунке 2.

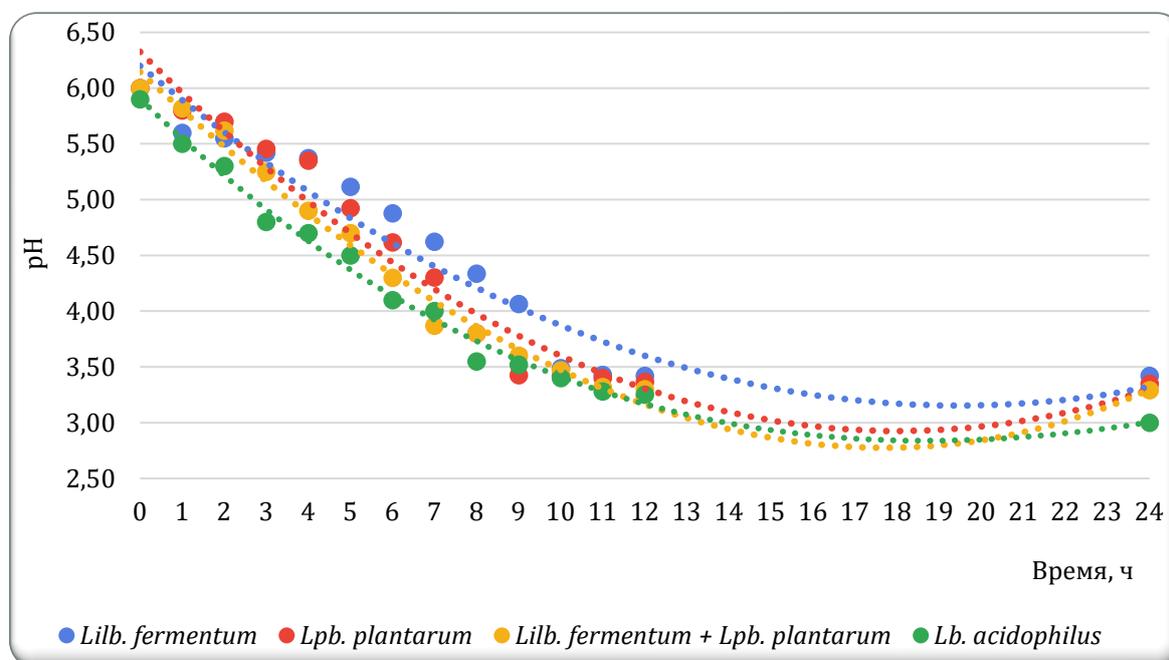


Рисунок 2 – Зависимость рН от времени ферментации полбяного гидролизата молочнокислыми бактериями
 Figure 2. Dependency of pH on the fermentation time of emmer hydrolyzate by lactic acid bacteria

Анализ полученных данных (рисунок 2) показывает, что наибольшей кислотообразующей активностью характеризуется чистая культура *Lb. acidophilus*, а наименьшей – *Lilb. fermentum*. Смесь культур *Lilb. fermentum* и *Lpb. plantarum* демонстрирует повышение кислотообразующей активности

по сравнению с чистыми культурами. При использовании всех культур pH ферментируемой смеси понизился до уровня $4,5 \pm 0,1$ в течение первых 8 ч ферментации. У *Lb. acidophilus* этот период равнялся 5 ч, у смеси *Lilb. fermentum* + *Lpb. plantarum* – около 5,5 ч, а для *Lpb. plantarum* и *Lilb. fermentum* он был достаточно продолжительным и составил около 6 и 8 ч соответственно.

В процессе ферментации гидролизата муки полбы происходит размножение микробных клеток, в результате чего их численность возрастает. Высокое количество клеток МКБ в ферментированном продукте обуславливает его пользу для здоровья, микробиологическую безопасность и уникальные органолептические свойства [19, 20]. Численность клеток заквасочной микрофлоры в ферментированных продуктах регламентируется: в России количество МКБ в кисломолочной продукции не должно превышать $1 \cdot 10^7$ КОЕ/см³(г)¹, а содержание пробиотических бактерий в обогащенной пищевой продукции – $1 \cdot 10^9$ КОЕ/см³(г)². Количество клеток МКБ в ферментируемом полбяном гидролизате определяли через 8 и 24 ч от начала культивирования (на исходе лог-фазы и в стационарной фазе развития). Результаты исследования представлены на рисунке 3.

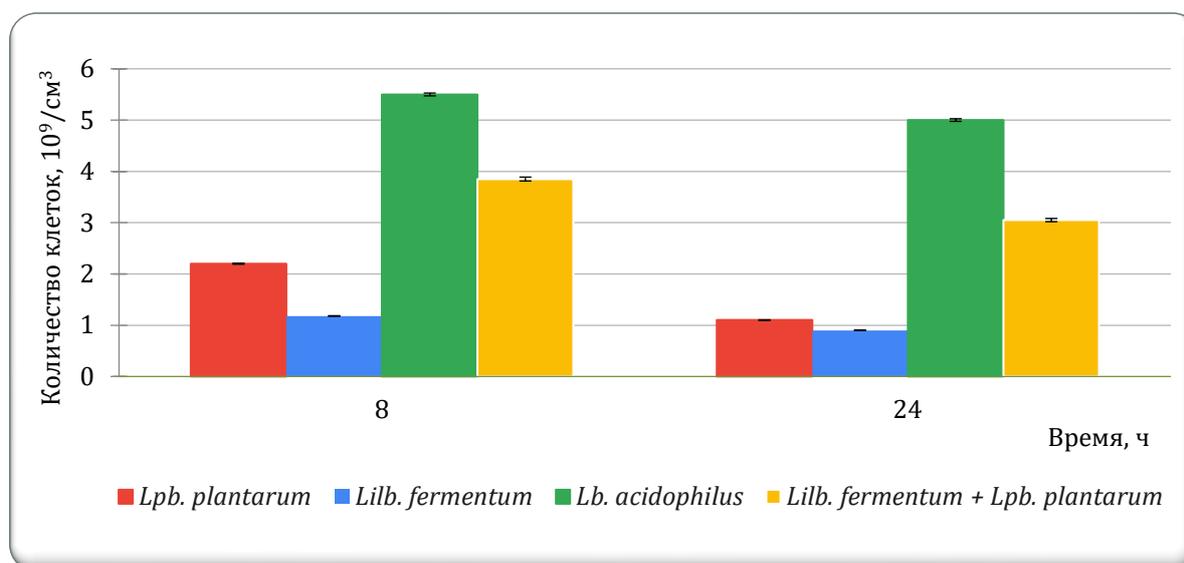


Рисунок 3 –Изменение количества клеток МКБ в процессе культивирования полбяного гидролизата в течение 24 ч

Figure 3. Changes in the number of lactic acid bacteria cells during the cultivation of emmer hydrolyzate for 24 h

Исследуемые культуры показали высокую интенсивность роста при ферментации полбяного гидролизата (рисунок 3). Содержание в гидролизате клеток всех культур достигало уровня 10^9 кл./см³. Наибольшее количество клеток в гидролизате муки полбы накапливалось при его ферментации культурой *Lb. acidophilus* ($5,5-5,0 \cdot 10^9$ кл./см³) и смесью культур *Lilb. fermentum* + *Lpb. plantarum* ($3,9-3,0 \cdot 10^9$ кл./см³). Накопление клеток чистых культур *Lilb. fermentum* и *Lpb. plantarum* было наименьшим и составило $1,2-0,9 \cdot 10^9$ и $2,2-1,1 \cdot 10^9$ кл./см³ соответственно. Снижение количества клеток всех видов через 24 ч относительно 8 ч от начала ферментации составило около 20% у *Lb. acidophilus* и смеси культур *Lilb. fermentum* + *Lpb. plantarum*, а у чистых культур *Lilb. fermentum* и *Lpb. plantarum* оно было около 50%.

Рост молочнокислых бактерий сопровождается накоплением в питательном субстрате (гидролизате муки полбы) их метаболитов, что оказывает значительное влияние на органолептический профиль ферментированного зернового напитка. Кислоты, диацетил, ацетальдегид и другие вещества, синтезируемые МКБ, во многом формируют вкус и запах готового напитка. Результаты оценки вкуса и запаха ферментируемого полбяного гидролизата в период нахождения бактериальных культур в логарифмической и стационарной фазах развития (через 8 и 24 ч от начала ферментации) представлены на профилограммах рисунка 4. Сходимость результатов экспертов при оценке всех органолептических показателей составила 100%.

¹ ТР ТС 033/2013 «О безопасности молока и молочной продукции»

² ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции»

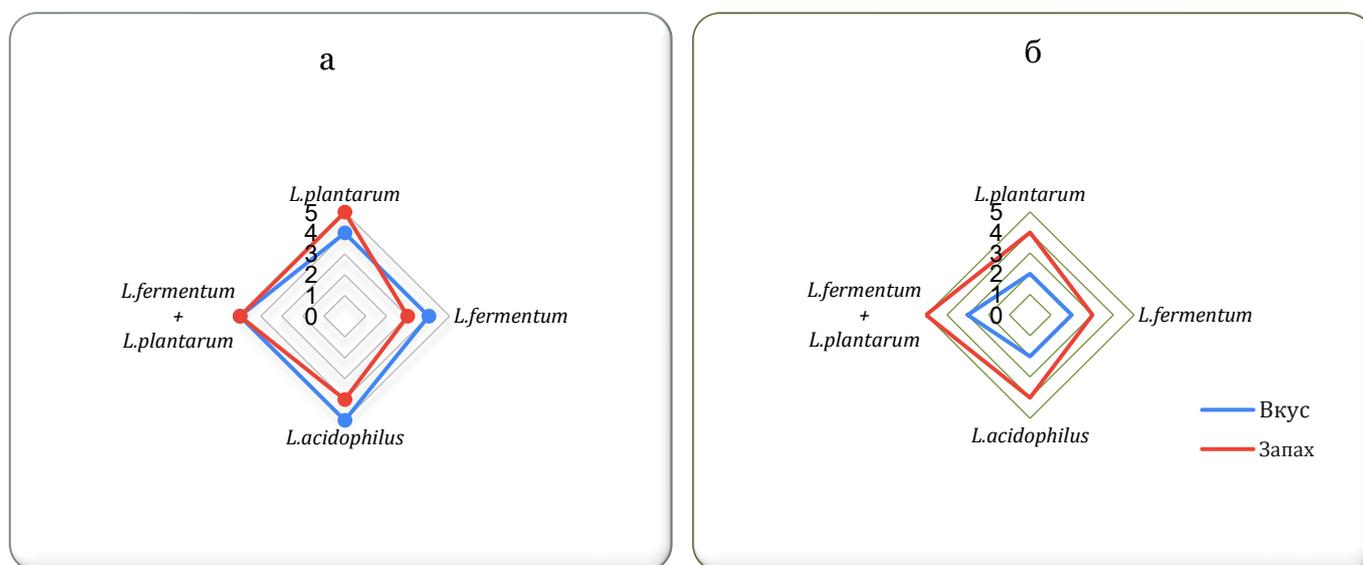


Рисунок 4 – Профилограммы органолептических показателей ферментированного полбяного гидролизата через а – 8 ч; б – 24 ч ферментации

Figure 4. Profilograms for organoleptic parameters of fermented emmer hydrolysate after a – 8 hours; б – 24 hours of fermentation

Анализ оценок экспертов, представленных на профилограммах рисунка 4, показывает, что после 8 ч ферментации наивысшими показателями вкуса и запаха характеризовались образцы, полученные со смесью *Lilb. fermentum* + *Lpb. plantarum*. Они характеризовались выраженным кисломолочным, слегка сладковатым вкусом и запахом с характерным орехово-сливочным оттенком полбы и легкими шоколадными нотами. Отличные оценки за вкус также получили образцы с *Lb. acidophilus*, а за запах – образцы с *Lpb. plantarum*. Понижение на балл оценки за вкус образцам с *Lilb. fermentum* и с *Lpb. plantarum* обусловлено недостаточно выраженным в них кисломолочным вкусом и слабовыраженным привкусом полбы. Запах образцов с *Lb. acidophilus* был недостаточно выраженным кисломолочным со слабовыраженным сливочно-ореховым оттенком, а образцов с *Lilb. fermentum* – слабовыраженным кисломолочным с невыраженным сливочно-ореховым оттенком полбы. В связи с этим оценки этого показателя им были понижены соответственно на 1 и на 2 балла (рисунок 4а).

У всех образцов, отобранных через 24 ч после начала ферментации, эксперты отметили доминирование кислого привкуса, а у образцов с чистыми культурами *Lb. acidophilus*, *Lpb. plantarum* и *Lilb. fermentum*, кроме того, и наличие посторонних неприятных привкусов. Таким образом вкус образцов со смесью *Lilb. fermentum* + *Lpb. plantarum* оценен тремя баллами, а образцы с *Lb. acidophilus*, *Lpb. plantarum* и *Lilb. fermentum* – как неудовлетворительный. Запах образцов, ферментируемых *Lb. acidophilus*, *Lilb. fermentum* и смесью *Lilb. fermentum* + *Lpb. plantarum* не изменился, а образцов с *Lpb. plantarum* стал недостаточно выраженным кисломолочным, и его оценка была понижена на балл (рисунок 4б).

Комплексный показатель качества образцов после 8 ч ферментации составил: при использовании *Lb. acidophilus* – 4,6; *Lilb. fermentum* – 3,6; *Lpb. plantarum* – 4,4; а при применении смеси *Lilb. fermentum* + *Lpb. plantarum* – 5,0. Данный показатель у образцов после 24 ч ферментации составил соответственно 2,8; 2,4; 2,8; 3,8. Наивысшим значением комплексного показателя качества характеризовались образцы, полученные со смесью *Lilb. fermentum* + *Lpb. Plantarum*, а наименьшим – образцы с *Lilb. fermentum*.

Заключение

Анализ результатов экспериментальных исследований показал следующее. Гидролизат муки полбы, выработанный с использованием амилолитического, гликолитического и протеолитического ферментных препаратов содержит доступные для молочнокислых бактерий *Lb. acidophilus* БЗ-АВ, *Lilb. fermentum* В28, *Lpb. plantarum* В4 источники питательных веществ и может служить растительной основой альтернативного ферментированного напитка.

Развитием в полбяном гидролизате наибольшей кислотообразующей активности среди исследуемых культур МКБ характеризовалась *Lb. acidophilus* БЗ-АВ, которая, вероятно, способствовала понижению рН ферментируемой смеси до уровня $4,5 \pm 0,1$ через 5 ч. Чистые культуры *Lpb. plantarum* В4 и *Lilb. fermentum* В28 проявили наименьшую активность кислотообразования, их применение позволило достичь значения рН $4,5 \pm 0,1$ за 6 и 8 ч соответственно. Смешивание *Lpb. plantarum* В4 и *Lilb. fermentum* В28 в соотношении 1:1 привело к повышению скорости кислотообразования по сравнению с чистыми культурами почти до показателя *Lb. acidophilus* БЗ-АВ. Количество клеток всех культур в ферментированном гидролизате муки полбы достигло уровня 10^9 кл./см³. У смеси *Lpb. plantarum* В4 + *Lilb. fermentum* В28 оно было более чем вдвое выше, чем у чистых культур ее составляющих.

Лучшими органолептическими показателями характеризовались образцы полбяного гидролизата, ферментированного смесью *Lpb. plantarum* В4 + *Lilb. fermentum* В28. После 8 ч ферментации они отличались выраженным кисло-молочным сладковатым вкусом и запахом с орехово-сливочным оттенком и шоколадными нотами. Худшие показатели имели все образцы с *Lilb. fermentum* В28. Увеличение продолжительности ферментации до 24 ч привело к понижению показателя вкуса всех образцов независимо от используемой культуры.

Таким образом, культуры *Lb. acidophilus* БЗ-АВ, *Lpb. plantarum* В4 и смесь *Lpb. plantarum* В4 + *Lilb. fermentum* В28 показали достаточно высокий биотехнологический потенциал для ферментации растительной основы альтернативного напитка из муки полбы. Наилучшие свойства в полбяном гидролизате проявила смесь *Lilb. fermentum* В28 + *Lpb. plantarum* В4.

Литература/References

1. Егорова Е.Ю. Немолочное молоко: обзор сырья и технологий // *Ползуновский вестник*. 2018. № 3. С. 25–34. DOI: 10.25712/ASTU.2072-8921.2018.03.005
Egorova E.Yu. Non-dairy milk: Review of raw materials and technologies. *Polzunovskiy vestnik*. 2018, no. 3, pp. 25–34. DOI: 10.25712/ASTU.2072-8921.2018.03.005. (In Russian).
2. Gupta S., Abu-Ghannam N. Probiotic fermentation of plant based products: possibilities and opportunities. *Crit Rev Food Sci Nutr*. 2012, V. 52, no. 2, pp. 183–199. DOI: 10.1080/10408398.2010.499779
3. Pimentel T.C., da Costa W.K.A., Barao C.E., Rosset M., Magnani M. Vegan probiotic products: A modern tendency or the newest challenge in functional foods. *Food Res Int*. 2021, V. 140, article 110033. DOI: 10.1016/j.foodres.2020.110033
4. Tangyu M., Muller J., Bolten C.J., Wittmann C. Fermentation of plant-based milk alternatives for improved flavour and nutritional value. *App Microbiol Biotechnol*. 2019, V. 103, Is. 23–24, pp. 9263–9275. DOI: 10.1007/s00253-019-10175-9
5. Vera-Santander V.E., Hernández-Figueroa R.H., Jiménez-Munguía M.T., Mani-López E., López-Malo A. Health benefits of consuming foods with bacterial probiotics, postbiotics, and their metabolites: A review. *Molecules*. 2023, V. 28, no. 3, article 1230. DOI: 10.3390/molecules28031230
6. Berkmen Y.M., Lande A. Chest roentgenography as a window to the diagnosis of Takayasu's arteritis. *Am J Roentgenol Radium Ther Nucl Med*. 1975, V. 125, no. 4, pp. 842–846. DOI: 10.2214/ajr.125.4.842
7. Şanlıer N., Gökçen B.B., Sezgin A.C. Health benefits of fermented foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2019, V. 59, no. 3, pp. 506–527. DOI: 10.1080/10408398.2017.1383355
8. Silva A.R.A., Silva M.M.N., Ribeiro B.D. Health issues and technological aspects of plant-based alternative milk. *Food Research International*. 2020, V. 131, article 108972. DOI: 10.1016/j.foodres.2019.108972
9. Ziarno M., Cichońska P. Lactic acid bacteria-fermentable cereal- and pseudocereal-based beverages. *Microorganisms*. 2021, V. 9, no. 12, article 2532. DOI: 10.1186/s43014-020-00026-w
10. Budhwar S., Sethi K., Chakraborty M. Efficacy of germination and probiotic fermentation on underutilized cereal and millet grains. *Food Production, Processing and Nutrition*. 2020, V. 2, Is. 1, article 12. DOI: 10.1186/s43014-020-00026-w
11. Fernandes C.G., Sonawane S. K., Arya S.S. Cereal based functional beverages: A review. *JMBFS*. 2018, V. 8, no. 3, pp. 914–919. DOI: 10.15414/jmbfs.2018-19.8.3.914-919
12. Гунькова П.И., Трофимов А.А., Бучилина А.С., Баракова Н.В., Ишевский А.Л., Максимюк Н.Н. Перспективность полбы как сырья для альтернативных напитков. *Аграрная наука*. 2024. Т. 382. № 5, С. 108–116. DOI: 10.32634/0869-8155-2024-382-5-108-116
Gunkova P.I., Trofimov A.A., Buchilina A.S., Barakova N.V., Ishevsky A.L., Maksimyuk N.N. The prospects of emmer as a raw material for alternative drinks. *Agrarian Science*. 2024, no. 5, pp. 108–116. DOI: 10.32634/0869-8155-2024-382-5-108-116. (In Russian)

13. Icer M.A., Özbay S., Ağagündüz D., Kelle B., Bartkiene E., Rocha J.M.F., Ozogul F. The impacts of acidophilic lactic acid bacteria on food and human health: A review of the current knowledge. *Foods*. 2023, V. 12, no. 15, article 2965. DOI: 10.3390/foods12152965
14. Loh T.C., Choe D.W., Foo H.L., Sazili A.Q., Bejo M.H. Effects of feeding different postbiotic metabolite combinations produced by *Lactobacillus plantarum* strains on egg quality and production performance, faecal parameters and plasma cholesterol in laying hens. *BMC Vet Res*. 2014, V. 10, article 149. DOI: 10.1186/1746-6148-10-149
15. De Oliveira Y., Cavalcante R.G.S., Neto M.P.C., Magnani M., Braga V.A., de Souza E.L., Alves J.L.B. Oral administration of *Lactobacillus fermentum* post-weaning improves the lipid profile and autonomic dysfunction in rat offspring exposed to maternal dyslipidemia. *Food Funct*. 2020, V. 11, no. 6, pp. 5581–5594. DOI: 10.1039/d0fo00514b
16. Красникова Л.В., Гунькова П.И. Общая и пищевая микробиология. Часть I. СПб.: Университет ИТМО, 2016. 134 с.
Krasnikova L.V., Gun'kova P.I. General and food microbiology. Part I. St. Petersburg, ITMO University Publ., 2016. 134 p. (In Russian)
17. Peyer L.C., Zannini E., Arendt E.K. Lactic acid bacteria as sensory biomodulators for fermented cereal-based beverages. *Trends in Food Science & Technology*. 2016, V. 54, pp. 17–25. DOI: 10.1016/j.tifs.2016.05.009
18. Ugral A., Akyol A. Can pseudocereals modulate microbiota by functioning as probiotics or prebiotics? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2022, V. 62, no. 7, pp. 1725–1739. DOI: 10.1080/10408398.2020.1846493
19. Vinderola G., Cotter P.D., Freitas M., Gueimonde M., Holscher H.D., Ruas-Madiedo P., Salminen S., Swanson K.S., Sanders M.E., Cifelli C.J. Fermented foods: a perspective on their role in delivering biotics. *Front Microbiol*. 2023, V. 14, article 1196239. DOI: 10.3389/fmicb.2023.1196239
20. Саубенова М.Г., Олейникова Е.А., Амангелды А.А. Биологическая ценность ферментированных продуктов // *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований*. 2019. № 8. С. 124–129. DOI: 10.17513/mjpf.12838
Saubenova M.G., Oleynikova E.A., Amangeldy A.A. Biological value of fermented foods. *International Journal of Applied and Fundamental Research*. 2019, no. 8, pp. 124–129. DOI: 10.17513/mjpf.12838. (In Russian)

Информация об авторах

Андрей Алексеевич Трофимов – аспирант факультета биотехнологий

Екатерина Андреевна Лавриненко – студентка факультета биотехнологий

Полина Алексеевна Шевякова – студентка факультета биотехнологий

Полина Исаевна Гунькова – канд. техн. наук, доцент научно-образовательного центра химического инжиниринга и биотехнологий

Елена Владимировна Москвичева – канд. техн. наук, доцент, доцент высшей школы биотехнологий и пищевых производств

Екатерина Юрьевна Фединишина – канд. техн. наук, доцент, доцент высшей школы биотехнологий и пищевых производств

Information about the authors

Andrey A. Trofimov, Postgraduate Student, Faculty of Biotechnologies

Ekaterina A. Lavrinenko, Student, Faculty of Biotechnologies

Polina A. Shevyakova Student, Faculty of Biotechnologies

Polina I. Gunkova, Ph. D. (Eng.), Associate Professor of the Scientific and Educational Center for Chemical Engineering and Biotechnologies

Elena V. Moskvicheva, Ph. D. (Eng.), Associate Professor, Associate Professor of the Higher School of Biotechnology and Food Production

Ekaterina Yu. Fedinishina, Ph. D. (Eng.), Associate Professor, Associate Professor of the Higher School of Biotechnology and Food Production

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов / The authors declare no conflicts of interests

Статья поступила в редакцию 06.08.2024

Одобрена после рецензирования 13.09.2024

Принята к публикации 16.09.2024

The article was submitted 06.08.2024

Approved after reviewing 13.09.2024

Accepted for publication 16.09.2024