

О.В. Басюл, Г.В. Ямборко, О.С. Багаєва, В.О. Іваниця

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова,
вул. Дворянська, 2, Одеса, 65082, Україна, sparklesea@mail.ru

ФЕРМЕНТАЦІЯ ГЛИВИ ЗВИЧАЙНОЇ БАКТЕРІЯМИ РОДУ *LACTOBACILLUS*

*Виділені штами лактобактерій з ферментованих субстратів та ідентифіковані на основі тинкторіальних, морфологічних та біохімічних властивостей. Проведено заквашування гливи звичайної з використанням штамів лактобактерій: *Lactobacillus casei* ОНУ-TC1, *L. plantarum* ОНУ-KK1, *L. acidophilus* ОНУ-OL4 та *L. acidophilus* ОНУ-OL18. Встановлено вплив лактобактерій на склад речовин, біохімічні, мікробіологічні властивості та покращення органолептичних властивостей ферментованої гливи у порівнянні з самоквасною. Штами лактобактерій *L. plantarum* ОНУ-KK1 та *L. acidophilus* ОНУ-OL18 рекомендовано для заквашування гливи та створення нового функціонального продукту харчування.*

К л ю ч о в і с л о в а: лактобактерії, глива звичайна, ферментація.

Вибір бактерій роду *Lactobacillus* як заквашувальних культур у виробництві ферментованих продуктів дієтичного та лікувального харчування закономірний і обумовлений особливим значенням лактобактерій у мікроекології організму людини. Являючи собою частину нормальної мікробіоти, лактобактерії не викликають патологічних процесів і перешкоджають розмноженню умовно-патогенних мікроорганізмів [8]. Одним із перспективних напрямів вирішення проблеми оздоровлення населення є підвищення засвоюваності ферментованих лактобактеріями продуктів [6]. До таких продуктів відносяться і квашені гриби.

Харчова цінність та хімічний склад квашених грибів відрізняються від сировини, що використовується, зниженим вмістом або повною відсутністю цукрів та підвищеними фізіологічною й органолептичною цінностями за рахунок новоутворення молочної кислоти, смакових та ароматичних речовин. Вітамінна цінність квашених грибів залишається майже без змін, оскільки кисле середовище, що утворюється, сприяє їх збереженню [4, 6].

Таким чином, завдяки процесам, що відбуваються за квашення грибів, покращується засвоюваність готової продукції, тому її можна використовувати до їжі без додаткової теплової обробки. Поєднання корисних властивостей гливи з імуномодельовальними властивостями лактобактерій є перспективним напрямком конструювання нових видів функціональної їжі.

Метою роботи було виявлення здатності бактерій роду *Lactobacillus* ферментувати гливу звичайну, а також вивчення впливу лактобактерій на якість кінцевого продукту.

Матеріали і методи

У роботі були використані штами бактерій роду *Lactobacillus*: *L. casei* ОНУ-ТС1 (виділений з сиру) і *L. plantarum* ОНУ-КК1 (виділений з кислої капусти), та *L. acidophilus* ОНУ-ОЛ4 і *L. acidophilus* ОНУ-ОЛ18 (виділені з ферментованих молочних продуктів).

Ізольовані штами лактобактерій ідентифікували з огляду на морфолого-культуральні, фізіолого-біохімічні, тинкторіальні властивості.

Ідентифіковані штами бактерій роду *Lactobacillus* використовували як стартерні культури при квашенні гливи звичайної.

Підготовлені гриби вміщували у стерильні скляні банки на 500 мл, пересипаючи сіллю кожен шар грибів.

У роботі використовували контрольний варіант (без внесення бактеріальної закваски) та чотири дослідні варіанти, у які додавали штами *L. casei* ОНУ-ТС1, *L. plantarum* ОНУ-КК1, *L. acidophilus* ОНУ-ОЛ4 та *L. acidophilus* ОНУ-ОЛ18.

Робочі заквашувальні культури були підготовлені шляхом внесення до MRS-бульону штамів *L. casei* ОНУ-ТС1, *L. plantarum* ОНУ-КК1, *L. acidophilus* ОНУ-ОЛ4 і *L. acidophilus* ОНУ-ОЛ18, у кількості 5 % та вирощування при температурі 37 °С, протягом доби. Концентрація клітин досліджуваних штамів була визначена шляхом вимірювання значень оптичної щільності за 600 нм ($ОШ_{600}$) та нанесення на агарові пластини розведених суспензій [7].

До грибів додавали бактеріальну закваску у кількості 5 мл бактеріальної суспензії, що складала $5 \cdot 10^{11}$ КУО/мл. У розсолі були отримані концентрації клітин 10^9 КУО/мл.

Після внесення бактеріальної закваски банки накривали бавовняною тканиною, ставили гніт. Зразки зберігали при кімнатній температурі (близько 20 °С) протягом 3 діб, після чого гриби зберігали при температурі 4 °С протягом 3 тижнів.

Мікробіологічне та біохімічне дослідження проводили одразу після внесення закваски та після експозиції. У ферментованих грибах визначали методом Коха наявність мезофільно аеробних та факультативно анаеробних мікроорганізмів (МАФАНМ), БГКП, *Staphylococcus aureus*, бактерій роду *Salmonella*, дріжджів, молочнокислих бактерій. Крім цього, у грибах визначали вологість — шляхом висушування наважки до сталої маси при температурі 130 °С, вміст сухих речовин — рефрактометричним методом за щільністю у пікнометрі [2], білкових речовин — методом Лоурі у модифікації Хартрі [9], вуглеводів — методом рідинної хроматографії; глікогену (після вилучення трихлороцтовою кислотою та гідролізу) — методом Бертрана, кислотність, що титрується — методом об'ємного титрування; рН — потенціометричним методом [2].

Мікроскопічне дослідження розсолу та поверхні грибів проводили за допомогою світлової мікроскопії.

Дегустація готового продукту була проведена з огляду на органолептичні властивості готової продукції. Якість ферментованих грибів оцінювали за 10-ти бальною шкалою (смак і запах — по 3 бали; консистенція і зовнішній вигляд — по 2 бали).

Статистичну обробку одержаних результатів проводили за допомогою метода варіаційної статистики [3].

Результати та їх обговорення

Штами лактобактерій *L. casei* ОНУ-ТС1, *L. plantarum* ОНУ-КК1, *L. acidophilus* ОНУ-ОЛ4 та *L. acidophilus* ОНУ-ОЛ18 використані у квашенні грибів виду *Pleurotus ostreatus*.



На початку ферментації, показники вмісту (%) сухих речовин, вуглеводів та білків були однаковими для усіх зразків та становили: $11,49 \pm 0,02$; $13,52 \pm 0,01$; $14,76 \pm 0,01$, відповідно.

Після тритижневої експозиції грибів вивчено зміни у складі речовин ферментованих грибів, проведені їх мікробіологічні та біохімічні дослідження. У складі речовин ферментованих грибів виявили тенденцію до збільшення кількості сухих речовин у дослідних зразках (ферментованих лактобактеріями) більшою мірою, ніж у самоквасних гливах, які були використані як контроль (табл. 1).

У ферментованих лактобактеріями грибах відзначено зменшення кількості вуглеводів, які витрачаються на бродіння, та накопичення органічних кислот.

У грибах, заквашених лактобактеріями, підвищилася кислотність, що титрується, за рахунок накопичення молочної кислоти та відповідно зменшилося значення рН (табл. 2). Відомо, що згідно з нормативною документацією, значення рН квашених грибів не повинно бути вищим за 3,9 [1]. Таким чином, контрольний варіант за значенням рН не відповідав нормативній документації.

Таблиця 1

Вміст білків і вуглеводів у ферментованих грибах *Pleurotus ostreatus*

Table 1

The proteins and carbohydrates compound of fermented mushrooms
Pleurotus ostreatus

Штам	Сухі речовини, %	Білки, %	Вуглеводи, %
<i>L. casei</i> ОНУ-ТС1	$11,96 \pm 0,02$	$12,94 \pm 0,01$	$11,84 \pm 0,01$
<i>L. plantarum</i> ОНУ-КК1	$11,68 \pm 0,02$	$12,88 \pm 0,01$	$12,43 \pm 0,01$
<i>L. acidophilus</i> ОНУ-ОЛ4	$11,72 \pm 0,02$	$12,90 \pm 0,01$	$12,42 \pm 0,01$
<i>L. acidophilus</i> ОНУ- ОЛ18	$11,70 \pm 0,02$	$12,89 \pm 0,01$	$12,44 \pm 0,01$
Контроль	$11,57 \pm 0,02$	$11,06 \pm 0,01$	$14,29 \pm 0,01$

Критерієм безпечності ферментованих грибів є відсутність патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів. Для знищення збудників псування й токсиноутворювальних патогенних мікроорганізмів гриби були піддані комбінованій дії органічних кислот, з яких домінує молочна, кухонної солі та термічної обробки [5].

Кількість мезофільно аеробних та факультативно анаеробних мікроорганізмів у грибах перед ферментацією була у межах норми. Після експозиції кількість МАФАНМ у дослідних варіантах знизилася, а у контрольному варіанті перевищила норму. Кількість молочнокислих бактерій одразу після внесення закваски становила $1,1 \cdot 10^9$ КУО/г у дослідних варіантах, у контрольному варіанті кількість МКБ була на сім порядків нижчою. Після закінчення строку ферментації, у дослідних варіантах МКБ зберегли життєздатність, на відміну від контрольного варіанту (табл. 2).

Таблиця 2

Біохімічні та мікробіологічні показники ферментованих грибів *Pleurotus ostreatus*

Table 2

The biochemical and microbiological indicators of fermented mushrooms *Pleurotus ostreatus*

Варіант	Кислотність, що титрується, Т°		рН		МАФАнМ, КУО/г		МКБ, КУО/г	
	до	після	до	після	до	після	до	після
	експозиції		експозиції		експозиції		експозиції	
Глива + <i>L. casei</i> ОНУ-ТС1	64 ± 0,01	74 ± 0,01	4,8 ± 0,01	3,8 ± 0,01	1,2 x 10 ² ±0,03	0,5 x 10 ² ±0,03	1,1 x 10 ⁹ ±0,01	1,8 x 10 ⁶ ±0,01
Глива + <i>L. plantarum</i> ОНУ-КК1	64 ± 0,01	79 ± 0,01	4,8 ± 0,01	3,8 ± 0,01	1,2 x 10 ² ±0,03	0,4 x 10 ² ±0,03	1,1 x 10 ⁹ ±0,01	1,4 x 10 ⁶ ±0,01
Глива + <i>L. acidophilus</i> ОНУ-ОЛ4	64 ± 0,01	72 ± 0,01	4,8 ± 0,01	3,8 ± 0,01	1,2 x 10 ² ±0,03	0,6 x 10 ² ±0,03	1,1 x 10 ⁹ ±0,01	1,3 x 10 ⁶ ±0,01
Глива + <i>L. acidophilus</i> ОНУ-ОЛ18	64 ± 0,01	76 ± 0,01	4,8 ± 0,01	3,8 ± 0,01	1,2 x 10 ² ±0,03	0,5 x 10 ² ±0,03	1,1 x 10 ⁹ ±0,01	1,4 x 10 ⁶ ±0,01
Контроль (самоквасна глива)	62 ± 0,01	64 ± 0,01	4,8 ± 0,01	4,0 ± 0,01	1,2 x 10 ² ±0,03	2,0 x 10 ⁵ ±0,03	0,2 x 10 ² ±0,01	відсутні



БГКП, бактерії роду *Salmonella*, золотистий стафілокок (*S. aureus*) були відсутні у всіх зразках як на початку, так і в кінці експозиції.

Після завершення ферментації, як і на її початку, у дослідних варіантах були відсутні дріжджі. При цьому, у контрольному зразку після експозиції з'явилися дріжджі, кількість яких перевищувала норму [1] і становила $1,6 \cdot 10^3 \pm 0,01$ КУО/г.

Дані щодо зміни складу основних речовин ферментованих грибів, а також щодо мікробіологічних та біохімічних показників, відповідні до результатів дегустаційної оцінки наведені у табл. 3.

У ході бактеріологічного дослідження зразків грибів виявлено домінування лактобактерій у ферментованих ними грибах, і відсутність лактобактерій та наявність дріжджів у контрольному варіанті.

Дев'ять з п'ятнадцяти представників дегустаційної комісії поставили максимальну оцінку дослідним зразкам грибів, які були заквашені штамами *L. plantarum* ОНУ-КК1 та *L. acidophilus* ОНУ-ОЛ18.

Таким чином, гливи, заквашені лактобактеріями, за мікробіологічними та біохімічними показниками, відповідали вимогам нормативної документації, на відміну від самоквасних грибів, а також характеризувалися кращими органолептичними властивостями. Використання лактобактерій для квашення гливи робить цей процес більш прогнозованим. Досліджувані штами лактобактерій *L. plantarum* ОНУ-КК1 та *L. acidophilus* ОНУ-ОЛ18 рекомендовані для розробки промислової технології заквашування гливи та створення нового функціонального продукту харчування.

Таблиця 3

Дегустаційні показники ферментованих грибів *Pleurotus ostreatus*

Table 3

The tasting indicators of fermented mushrooms *Pleurotus ostreatus*

Варіант	Смак, запах	Зовнішній вигляд	Консистенція	Сума балів
Глива + <i>L. casei</i> ОНУ-ТС1	смак кисло-молочний, відчувається підвищена кислотність, запах грибний, кисло-молочний	характерний для квашених грибів	пружна, щільна	9
Глива + <i>L. plantarum</i> ОНУ-КК1	смак кисло-молочний, запах кисло-молочний без домішок	характерний для квашених грибів	пружна, хрустка, щільна	10
Глива + <i>L. acidophilus</i> ОНУ-ОЛ4	смак кисло-молочний, відчувається підвищена кислотність, запах кисло-молочний	характерний для квашених грибів	пружна, м'яка, щільна	9
Глива + <i>L. acidophilus</i> ОНУ-ОЛ18	смак кисло-молочний, запах кисло-молочний без домішок	характерний для квашених грибів	пружна, хрустка, щільна	10
Самоквасна глива (контроль)	запах і смак різкі, з гіркотою	колір темніший	м'яка	7



ЛІТЕРАТУРА

1. *Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы СанПиН 2.3.2.1078 — 01.* — М.: ИНФРА — М, 2002. — 216 с.
2. *Ермаков А. И., Арасимович В. В., Ярош Н. П.* Методы биохимического исследования растений. Под ред. Ермакова А. И. — Л.: Агропромиздат, 1987. — С. 430, 38-40.
3. *Зайдель А. Н.* Погрешности измерений физических величин. — Л.: Наука, 1985. — 112 с.
4. *Карташова Л. В., Николаева М. А., Печникова Е. Н.* Товароведение продовольственных товаров. — М.: Издат. Дом Деловая литература, 2004. — 664с.
5. *Квасников Е. И., Нестеренко О. А.* Молочнокислые бактерии и пути их использования. — М.: Наука, 1975. — С. 85-341.
6. *Матюхина З. П., Королькова Э. П.* Квашенные (соленые) овощи и грибы // Товароведение пищевых продуктов. — М., 2000. — С. 91-94.
7. *Шендеров В. А.* Медицинская микробная экология и функциональное питание. — М., 1998. — 263 с.
8. *Bernardeau M., Guguen M., Jean Paul Vernoux.* Beneficial lactobacilli in food and feed: long-term use, biodiversity and proposals for specific and realistic safety assessments // FEMS Microbiology Review. — 2006. — V. 30. — P. 487-513.
9. *Hartee E. E.* Determination of protein by modification Lowry method that gives a linear photometric response // Anal. Biochem. — 1972. — V. 48. — № 1. — P. 422-455.

Е.В. Басюл, А.В. Ямборко, О.С. Багаева, В.А. Иваниця

Одесский национальный университет имени И. И. Мечникова,
ул. Дворянская, 2, Одесса, 65082, Украина, sparklesea@mail.ru

ФЕРМЕНТАЦИЯ ВЕШЕНКИ ОБЫКНОВЕННОЙ БАКТЕРИЯМИ РОДА *LACTOBACILLUS*

Реферат

Из ферментированных субстратов выделены штаммы лактобактерий и идентифицированы на основе тинкториальных, морфологических и биохимических свойств. Проведено заквашивание вешенки обыкновенной с использованием штаммов лактобактерий: *Lactobacillus casei* ОНУ-ТС1, *L. plantarum* ОНУ-КК1, *L. acidophilus* ОНУ-ОЛ4, и *L. acidophilus* ОНУ-ОЛ18. Показано влияние лактобактерий на состав веществ, биохимические, микробиологические и органолептические показатели ферментированных грибов. Отмечено улучшение органолептических свойств ферментированной лактобактериями вешенки, по сравнению с самоквашеной. Штаммы лактобактерий *L. plantarum* ОНУ-КК1 и *L. acidophilus* ОНУ-ОЛ18 рекомендованы для заквашивания вешенки и создания нового функционального продукта питания.

К л ю ч е в ы е с л о в а: лактобактерии, вешенка обыкновенная, ферментация.



H.V. Basyul, G.V. Yamborko, O.S. Bahaeva, V.O. Ivanytsya

Odesa National Mechnykov University, Dvoryanska str., 2,
Odesa, 65082, Ukraine, sparklesea@mail.ru

PLEUROTUS OSTREATUS FERMENTATION BY BACTERIA OF THE GENUS *LACTOBACILLUS*

Summary

The lactobacilli strains were selected from fermented substrates and identified on the tinctorial, morphological and biochemical properties basis. The *Pleurotus ostreatus* fermentation, using such lactobacilli strains as *Lactobacillus casei* ONU-TC1, *L. plantarum* ONU-KK1, *L. ONU-OL4 acidophilus* and *L. acidophilus* ONU-0L18 has been led. The lactobacilli influence on substances composition, biochemical, microbiological and organoleptic parameters of fermented mushrooms was shown. The organoleptic properties improvement of *P. ostreatus* fermented by lactobacilli was noted in comparison with auto-fermented mushrooms. *L. plantarum* ONU-KK1 and *L. acidophilus* ONU-18 lactobacilli strains are recommended for *Pleurotus* fermentation and for new functional food product creation.

K e y w o r d s: lactobacilli, *Pleurotus ostreatus*, fermentation.

