

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ ИЗМЕНЕНИЯ МИКРОБИОМА ЗАКВАСОК В ПРОЦЕССЕ ВЕДЕНИЯ НА ИХ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Study of the effect of change in the microbiome of starters during management on their biotechnological properties

Локачук М. Н., старший научный сотрудник,
Савкина О. А., кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник,
Кузнецова Л. И., доктор технических наук, главный научный сотрудник,
Павловская Е. Н., старший научный сотрудник,
Санкт-Петербургский филиал ФГАНУ НИИ хлебопекарной промышленности

Аннотация

Статья посвящена исследованию влияния изменения микробиома густой ржаной закваски в процессе длительного ведения на физико-химические и микробиологические показатели качества закваски. Установлено, что при длительном ведении закваски стартовые культуры лактобацилл вытесняются и начинает доминировать вид *F.sanfranciscensis*. Показано, что такое изменение микробиома закваски приводит к существенному изменению ее свойств.

Ключевые слова: густая ржаная закваска, молочнокислые бактерии, дрожжи, микробиом.

Summary

The article is devoted to the study of the effect of the change in the microbiome of thick rye starter during long-term management on the physicochemical and microbiological indicators of the starter quality. It has been established that with long-term starter management, lactobacillus cultures are displaced and the species *F.sanfranciscensis* begins to dominate. It has been shown that such a change in the starter microbiome leads to a significant change in its properties.

Keywords: thick rye starter, lactic acid bacteria, yeast, microbiome.

Ведение. Хлебобулочные изделия признаны социально значимым и наиболее употребляемыми продуктами питания на зерновой основе. В России хлебобулочные изделия относятся к группе товаров первой необходимости, поэтому необходимо уделять большое внимание их качеству, безопасности и пищевой ценности.

Для производства хлебобулочных изделий из ржаной и смеси ржаной и пшеничной муки на хлебопекарных предприятиях страны применяют закваски, для выведения которых используют чистые культуры заквасочных микроорганизмов - молочнокислые бактерии (далее МКБ) и дрожжи [1,2,3,4]. Стабильность микробиоты закваски является важным фактором с технологической точки зрения, поскольку позволяет стандартизировать процесс выпечки и качество готовой продукции. Однако, стабильность экосистемы закваски зависит от многих факторов, таких как метаболические свойства штаммов, микробные взаимодействия, технологические и экологические параметры. В связи с активным внедрением в последние годы систем высокопроизводительного секвенирования для анализа природных микробиомов, стало возможным исследование сохраняемости стартовых культур микроорганизмов при длительном ведении заквасок.

Целью работы являлось изучение влияния изменения микробиома густой ржаной закваски в процессе ведения на ее биотехнологические свойства

Материалы и методы. В разводочном цикле для выведения закваски применяли чистые культуры молочнокислых бактерий *Lactocaseibacillus paracasei/casei* 5 (панее *L.brevis* 5), *Lactocaseibacillus paracasei/casei* 63 (панее *L.plantarum* 63), *Lactiplantibacillus plantarum* 78 (панее *L.brevis* 78) и дрожжей *S. milleri* Чернореченский из коллекции культур микроорганизмов «Молочнокислые бактерии и дрожжи для хлебопекарной промышленности» СПбФ ФГАНУ НИИХП [1,2,3]. В разводочном и производственном

циклах закваски вели в соответствии с параметрами, указанными в Сборнике современных технологий хлебобулочных изделий, 2008 г [1].

В процессе ведения закваски контролировали общепринятыми в хлебопекарной промышленности методами физико-химические (влажность, кислотность, увеличение объема, подъемную силу, содержание летучих кислот и спирта) и микробиологические показатели (содержание МКБ и дрожжей) [5,6].

Исследования микробиома заквасок проводили методом высокопроизводительного секвенирования на базе ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ ВНИИСХМ при поддержке фонда РФФИ (проект №19-016-00085 «Исследование видового разнообразия и симбиотических взаимодействий в микробиомах крахмало-белковых гидроколлоидных систем (хлебных заквасок)»).

Результаты исследования. Проведенные исследования показали, что в процессе длительного ведения густой ржаной закваски происходили значительные изменения биотехнологических показателей качества.

В разводочном цикле густая ржаная закваска имела характерные для этого вида заквасок физико-химические показатели (таблица). При органолептической оценке отмечен дрожжевой (спиртовой) запах, который был обусловлен высоким содержанием дрожжей в закваске (соотношение дрожжи:МКБ 1:15). В производственном цикле к 23-му освежению физико-химические и микробиологические показатели качества закваски значительно изменились. Так, количество спирта снизилось до 1,01% СВ, подъемная сила значительно ухудшилась до 25 минут, а титруемая кислотность закваски и содержание летучих кислот увеличились до 16,0 град и 29,4% соответственно, что привело к появлению выраженного заквасочного запаха. Такие изменения были обусловлены увеличением количества клеток МКБ и снижением содержания дрожжевых клеток в закваске (соотношение дрожжи: МКБ 1:52).

Таблица 1

**Изменение показателей качества густой ржаной закваски
в процессе длительного ведения**

Наименование показателей	Значение показателей качества закваски по фазам							
	разводочного цикла			производственного цикла				
	I	II	III	2	13	23	60	86
Титруемая кислотность, град	13,4	13,5	13,0	12,1	13,0	16,0	14,0	14,1
Подъемная сила, мин	25	15	15	15	14	25	22	18
Увеличение объема после брожения, % к начальному	125	113	100	57	71	70	67	64
Содержание летучих кислот, % к титруемой кислотности	9,0	7,4	8,1	9,5	10,0	29,4	37,5	27,7
Содержание спирта, % СВ	1,39	1,44	1,75	1,74	1,84	1,01	0,47	0,62
Содержание микроорганизмов, г ⁻¹ , 10 ⁶								
дрожжи	64	152	124	176	140	53	24	34
МКБ	2964	2211	1896	1851	1969	2741	3156	2206
Соотношение дрожжи:МКБ	1:46	1:15	1:15	1:11	1:14	1:52	1:132	1:65

Для установления причин изменения показателей качества закваски в производственном цикле были проведены исследования, направленные на изучение изменения микробиома закваски в процессе длительного ведения. Установлено, что в конце первой фазы разводочного цикла доминировали стартовые культуры МКБ - виды *Lacticaseibacillus paracasei/casei* и *Lactiplantibacillus plantarum* (суммарно 73%), что объясняется инокулированием водно-мучной питательной смеси большим количеством клеток лактобацилл ($6,4 \cdot 10^6$ КОЕ/г закваски), которое значительно превышало количество бактерий, внесенных вместе с мукой ($9,0 \cdot 10^4$ КОЕ/г закваски). Таким образом, внесение

чистых культур заквасочных микроорганизмов в водно-мучную питательную смесь способствует подавлению посторонней гнилостной микробиоты муки (бактерии порядков Enterobacterales и Pseudomonadaceae). В конце I фазы разводочного цикла доля бактерий порядка Enterobacterales составляла (26,3%), а уже в закваске 2 освежения производственного цикла снизилась до 3,5%. Несмотря на преобладание протеобактерий в муке, они не обнаруживаются в заквасках производственного цикла. Органические кислоты, продуцируемые молочнокислыми бактериями, оказывают неблагоприятное воздействие на протеобактерии, но позволяют развиваться различным штаммам или видам МКБ, которые являются кислотоустойчивыми. Кроме того, МКБ могут ингибировать развитие посторонних микроорганизмов за счет образования широкого круга антимикробных метаболитов и специфических противогрибковых соединений. Установлено, что к 23-му освежению производственного цикла происходило вытеснение стартовых культур заквасочных лактобацилл и преобладающим стал вид *Limosilactobacillus pontis* (95%). Однако, при дальнейшем ведении закваски к 60-му освежению производственного цикла доля вида *L.pontis* значительно снизилась (28%) и начал доминировать вид *Fructilactobacillus sanfranciscensis* (69%). В закваске 86 освежения производственного цикла обнаруживался только вид *F.sanfranciscensis* (97,6%). Молочнокислые бактерии вида *F.sanfranciscensis* и *L.pontis* не были обнаружены в муке ржаной обдирной, возможно, они содержались в крайне низком количестве и не были обнаружены используемым методом. Так же возможным источником могла являться «домашняя» микробиота пекарни: поверхности оборудования и инвентаря. Вид *F.sanfranciscensis*, вероятно, являлся основным бактериальным штаммом в хлебопекарной среде, и это приводило к замещению стартовых культур. Виды *F.sanfranciscensis* и *L.pontis* относятся к гетероферментативным видам, которые в результате брожения помимо молочной кислоты образуют уксусную кислоту, этанол и диоксид углерода. Поэтому при вытеснении стартовых культур, которые являются гомоферментативными [7], и замене их на гетероферментативные виды, происходит значительное увеличение содержания летучих кислот в закваске, и как следствие, появление более выраженного заквасочного запаха.

В процессе ведения закваски грибная микробиота была менее гетерогенна, чем бактериальная. Начиная с I фазы разводочного цикла и на протяжении всего периода ведения закваски доминировали заквасочные дрожжи *Kazachstania humilis*.

Выводы. Установлено, что при длительном ведении густой ржаной закваски происходит значительное изменение видового разнообразия лактобацилл, которое приводит к изменению показателей качества закваски. Поэтому рекомендуется выведение густой ржаной закваски по разводочному циклу с использованием стартовых культур заквасочных микроорганизмов при изменении биотехнологических показателей качества и смене партий сырья.

Библиографический список

1. Сборник современных технологий хлебобулочных изделий/ под общ. ред. А.П.Косована. - М.:Московская типография №2, 2008.-268 с.
2. Афанасьева, О. В. Микробиология хлебопекарного производства / О.В. Афанасьева; С. –Петер. Фил. Гос. НИИ хлебопекар. Пром-ти (СПб Ф ГосНИИХП). – СПб.: Береста, 2003. – 220 с.
3. Каталог культур микроорганизмов «Молочнокислые бактерии и дрожжи для хлебопекарной промышленности» из Коллекции Санкт-Петербургского филиала ГНУ ГОСНИИХП Россельхозакадемии / О.В. Афанасьева, Е.Н. Павловская, Л.И. Кузнецова. – М.: Россельхозакадемия, 2008. – 98 с/
4. Афанасьева, О. В. Микробиологический контроль хлебопекарного производства/ О.В. Афанасьева.-М.:Пищевая промышленность, 1976.- 143 с.
5. Пучкова, Л.И. Лабораторный практикум по технологии хлебопекарного производства: учеб. пособие для вузов /Л.И. Пучкова.- СПб.: ГИОРД, 2004. - 259 с.

6. Технохимический контроль хлебопекарного производства /К.Н. Чижова, Т.И. Шкваркина, Н.В. Запенина и др.– М.: Пищевая промышленность, 1975. – 479 с.
7. Zheng J. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae* / J. Zheng, S. Wittouck, E. Salvetti et al. // *Int J Syst Evol Microbiol.*- 2020.- №70.-P.2782-2858.