

На правах рукописи



**Никитина Елена Владимировна**

**НАУЧНОЕ ОБОСНОВАНИЕ ПОЛУЧЕНИЯ  
НОВЫХ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ШТАММОВ  
МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ  
И ФЕРМЕНТНО МОДИФИЦИРОВАННЫХ КРАХМАЛОВ**

Специальность 4.3.5. Биотехнология продуктов питания  
и биологически активных веществ

**АВТОРЕФЕРАТ**  
диссертации на соискание ученой степени  
доктора технических наук

Екатеринбург – 2026

Диссертационная работа в Федеральном государственном  
бюджетном образовательном учреждении высшего образования  
«Казанский национальный исследовательский технологический университет»

**Научный консультант:** доктор биологических наук, профессор  
**Ежкова Галина Олеговна** (Россия),  
заведующий кафедрой технологии  
мясных и молочных продуктов  
ФГБОУ ВО «Казанский национальный  
исследовательский технологический университет»

**Официальные оппоненты:** доктор технических наук, доцент  
**Лодыгин Алексей Дмитриевич** (Россия),  
заведующий кафедрой прикладной биотехнологии  
факультета пищевой инженерии и биотехнологий  
имени академика А. Г. Храмцова  
ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный  
университет»

доктор технических наук  
**Агаркова Евгения Юрьевна** (Россия),  
старший научный сотрудник лаборатории  
технологий молочных продуктов  
ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский  
институт молочной промышленности»

доктор технических наук, доцент  
**Чернопольская Наталья Леонидовна** (Россия),  
профессор кафедры продуктов питания  
и пищевой биотехнологии  
ФГБОУ ВО «Омский государственный аграрный  
университет имени П. А. Столыпина»

**Ведущая организация:** Всероссийский научно-исследовательский институт  
маслоделия и сыроделия – филиал ФГБНУ  
«Федеральный научный центр пищевых систем  
им. В. М. Горбатова» Российской академии наук

Защита диссертации состоится 29 мая 2026 г. в 10:00 на заседании  
диссертационного совета 24.2.425.03, созданного на базе ФГБОУ ВО «Уральский  
государственный экономический университет», по адресу: 620144, г. Екатеринбург,  
ул. 8 Марта/Народной Воли, 62/45, ФГБОУ ВО «Уральский государственный  
экономический университет», зал диссертационных советов (ауд. 150).

Отзывы на автореферат, заверенные гербовой печатью, просим направлять  
по адресу: 620144, г. Екатеринбург, ГСП-985, ул. 8 Марта/Народной Воли, 62/45,  
ФГБОУ ВО «Уральский государственный экономический университет», ученому  
секретарю диссертационного совета 24.2.425.03.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО  
«Уральский государственный экономический университет». Автореферат размещен  
на официальном сайте ВАК при Минобрнауки России: <https://vak.gisnauka.ru>  
и на сайте ФГБОУ ВО «Уральский государственный экономический университет»:  
<http://science.usue.ru>.

Автореферат разослан « \_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2026 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,  
кандидат сельскохозяйственных наук, доцент

 Л. А. Донскова

## Общая характеристика работы

**Актуальность темы исследования.** В соответствии с распоряжением Правительства РФ от 29 июня 2016 г. № 1364-р стратегической целью в области пищевых технологий определено укрепление здоровья, увеличение продолжительности и повышение качества жизни населения, что предполагает расширение спектра продуктов и придание им новых функциональных свойств без утраты качества. Рост популярности функциональных продуктов обусловлен старением населения, стремлением к здоровому образу жизни и ростом затрат на здравоохранение.

Мониторинг питания населения России показывает несоответствие реального рациона принципам сбалансированного питания, включая дефицит животных белков, растительных жиров и микронутриентов, что снижает устойчивость организма к неблагоприятным факторам. Это требует разработки новых научно обоснованных технологий создания функциональных продуктов. Концепция здорового питания учитывает качественные и количественные параметры взаимодействия пищевых веществ в организме.

Пищевые продукты с функциональными свойствами выступают средством профилактики неинфекционных заболеваний. Расширение ассортимента функциональных продуктов – часть государственной стратегии здравоохранения. Переработка молочного сырья является приоритетным направлением: рост рынка функциональных молочных продуктов достигает 25–30 % в год, тогда как по всей отрасли – всего 7–10 %.

Кисломолочные продукты (КМП) пользуются стабильной популярностью у потребителей, заботящихся о здоровом и сбалансированном питании. Их полезные свойства определяются молочнокислыми бактериями (МКБ), включая незаквасочные, которые действуют как природные пробиотики. В условиях политики импортозамещения особую актуальность приобретает использование в заквасках российских штаммов. Привлечение новых источников бактериальных культур открывает возможности для выделения штаммов с широким разнообразием генетических и физиологических признаков.

Актуальность исследования в этой области обусловлена растущей потребностью в разработке функциональных пищевых продуктов на основе отечественных штаммов МКБ. Их применение позволяет осуществлять мягкую коррекцию кишечной микробиоты, что является ключевым фактором в улучшении усвоения нутриентов, подавлении патогенов, модуляции иммунного ответа и снижении рисков метаболических нарушений.

Особый научный и практический интерес представляет выделение новых штаммов МКБ из локальных природных источников, обладающих выраженными пробиотическими и технологическими свойствами. Такие штаммы являются активными продуцентами биологически ценных соединений: органических кислот, антимикробных веществ и ферментов.

Для усиления пробиотического эффекта перспективным направлением является синергическое сочетание МКБ с пребиотиками, в частности резистентными крахмалами. Их ферментная модификация и включение в рецептуры кисломолочных продуктов позволяют создавать продукты с заданными функциональными свойствами и разрабатывать экологичные биотехнологии.

**Степень разработанности.** Значительный вклад в разработку КМП с пробиотическими штаммами молочнокислых бактерий внесли российские ученые Л. А. Остроумов, В. Ф. Семенихина, Н. Б. Гаврилова, А. Ю. Просеков, И. А. Евдокимов, А. Д. Лодыгин, Е. Ю. Агаркова, И. С. Миленьева, Н. Л. Чернопольская, И. С. Хамагаева, Е. И. Решетник, А. В. Гудков, Г. Д. Перфильев, Н. П. Сорокина, О. В. Козлова, О. Н. Мусина, И. В. Бояринева, а также зарубежные – М. Y. Sreenivasa, I. Shirmin и др. Их работы способствовали росту интереса к селекции новых штаммов с улучшенными свойствами и применению пробиотиков в составе заквасок для ферментации пищевых продуктов. Значительный вклад в расширение применения и модификации крахмалов внесли Н. Д. Лукин, Л. А. Вассерман, А. А. Творогова, И. Ю. Потороко, З. М. Бородина, а также L. Kaur, A. S. Yadav, T. Feng, Z. Luo, E. García-García, Z. Pietrasik. Их исследования позволили использовать крахмал не только как загуститель, но и как функциональный компонент в рецептурах, включая продукты с пониженной жирностью.

**Научная концепция** диссертационной работы заключается в научном обосновании и практической апробации методологического подхода к получению новых штаммов молочнокислых бактерий и ферментно модифицированных крахмалов и их практическом использовании как про- и пребиотиков в технологии обезжиренных кисломолочных продуктов с подтвержденным медико-биологическим эффектом.

**Целью работы** является научное обоснование получения новых пробиотических штаммов молочнокислых бактерий локальной селекции и ферментно модифицированных крахмалов с повышенной резистентностью, разработка технологии обезжиренных кисломолочных продуктов с заданными функционально-технологическими свойствами.

Для реализации указанной цели поставлены следующие **задачи**:

1) провести выделение и идентификацию новых штаммов молочнокислых бактерий из локальных природных источников, изучить их пробиотический потенциал и метаболические особенности;

2) изучить влияние новых штаммов МКБ на ферментацию обезжиренного молока и оценить перспективу их использования в технологии обезжиренных кисломолочных продуктов;

3) оценить химические, микроструктурные и антиоксидантные свойства экзополисахаридов (ЭПС), синтезируемых новыми штаммами в процессе сквашивания обезжиренного молока;

4) провести медико-биологическое исследование *in vivo* эффективности кисломолочных продуктов, полученных с использованием монокультур МКБ, оценить влияние на метаболические маркеры и кишечный микробиом млекопитающих;

5) оценить влияние новых пробиотических штаммов МКБ на физико-химические, структурно-механические, микробиологические и антиоксидантные характеристики обезжиренных йогуртов;

6) разработать композицию закваски для обезжиренного йогурта с включением штамма *Lactiplantibacillus plantarum* AG10 для улучшения его физико-химических, технологических, структурно-механических и антиоксидантных свойств;

7) обосновать применение ферментно модифицированных картофельных крахмалов (ФМК) в технологии обезжиренных КМП:

– провести комплексное исследование ФМК, полученных с использованием бактериальных амилаз, определить изменение их резистентности и комплекса свойств;

– разработать технологические подходы к применению ФМК как корректора текстуры и усилителя функциональных свойств, апробировать технологию, провести медико-биологическую оценку продуктов с их добавлением;

8) обосновать совместное использование *L. plantarum* AG10 и ФМК с повышенной резистентностью в технологии обезжиренных кисломолочных продуктов и подтвердить улучшение их функциональных свойств;

9) разработать комплекты технической документации и провести производственную апробацию использования новых пробиотических штаммов и ФМК в технологии обезжиренных йогуртов на предприятиях различной формы собственности.

**Личное участие автора.** Диссертационная работа представляет собой обобщение и результат аналитических исследований, выполненных автором лично и при его непосредственном участии в качестве руководителя научных проектов бакалавров, магистров и аспирантов в период с 2005 по 2024 г. Автор принимала участие на всех этапах выполнения диссертации: обоснование научного направления, актуальности, формулировка цели, гипотезы и научной концепции, постановка задач, планирование и проведение экспериментов, обработка и анализ данных, математическое моделирование, практическое применение результатов, разработка нормативной документации и ее промышленная апробация, внедрение результатов в образовательный процесс.

Исследования проводились в рамках научных проектов и грантов: государственная программа № 01200305357 «Разработка научно-практических основ технологии производства и переработки сырья растительного и животного происхождения для получения конкурентоспособных продуктов питания»; грант Президента РФ МК-1540.2005.4 (2005–2006); РФФИ Комфи 17-00-00456 (2017–2019); РФФИ 20-016-00025 (2020–2022); РФФИ 22-26-20022 (2022–2023); РФФИ 22-16-00040 (2022–2024); грант № 117/2024-ПД Академии наук Республики Татарстан (2024–2025), предоставленный молодым кандидатам наук (постдокторантам) для выполнения научных исследований и защиты докторской диссертации.

**Научная новизна.** Диссертационная работа содержит элементы научной новизны в рамках п. 12, 14, 15, 19, 24 и 25 паспорта научной специальности 4.3.5. Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ.

Из природных источников выделены и подробно охарактеризованы шесть новых штаммов МКБ: *Lactiplantibacillus plantarum* (4 штамма), *Limosilactobacillus fermentum* (1 штамм) и *Lacticaseibacillus rhamnosus* (1 штамм), обладающих уникальным сочетанием пробиотических свойств: повышенная устойчивость в условиях моделирования желудочно-кишечного тракта, гидрофобность, холестерин-ассимилирующая активность и расширенный

спектр антимикробного действия, способность к синтезу экзополисахаридов, что обосновывает их потенциал для функциональных КМП (п. 12 паспорта научной специальности 4.3.5).

Впервые исследованы закономерности изменения многофакторного комплекса показателей (химических, структурно-механических, биохимических, антиоксидантных, микробиологических) обезжиренного молока, ферментируемого выделенными пробиотическими штаммами МКБ, подтверждена их исключительная способность сохранять жизнеспособность при длительном хранении, активно синтезировать ЭПС и продуцировать уникальный комплекс биоактивных соединений, повышающих антиоксидантную активность (АОА) КМП (п. 15 паспорта научной специальности 4.3.5).

Проведено детальное структурно-химическое исследование ЭПС, синтезируемых новыми пробиотическими культурами при ферментации молока. Определен специфический моносахаридный профиль: у большинства штаммов доминируют глюкоза и галактоза в уникальных пропорциях, а штамм *L. fermentum* AG8 характеризуется ЭПС с исключительным содержанием фруктозы, галактуроновой и глюкуроновой кислот, что коррелирует с уникальными микроструктурными и антиоксидантными свойствами (п. 25 паспорта научной специальности 4.3.5).

Научно обосновано применение новых штаммов в разработке функциональных КМП с доказанной способностью улучшать метаболический статус, модулировать кишечную микробиоту и иммунную регуляцию. В моделях с млекопитающими продемонстрирована корреляция между изменениями микробиоценоза (увеличение бутират-синтезирующих представителей семейств *Ruminococcaceae* и *Lachnospiraceae*, снижение бактерий рода *Staphylococcus*) и улучшением гематологических (повышение гемоглобина, снижение лимфоцитов и гранулоцитов) и биохимических показателей (снижение триглицеридов, холестерина, глюкозы, уменьшение печеночного окислительного повреждения) (п. 24 паспорта научной специальности 4.3.5).

Впервые разработана и экспериментально подтверждена оптимальная заквасочная композиция для пробиотического йогурта, включающая новый штамм *L. plantarum* AG10 в пропорции 30% в сочетании с традиционной йогуртовой закваской (70%), что обеспечивает десятикратное повышение жизнеспособности микроорганизмов при хранении до 21 сут, увеличение АОА продукта на 10% и существенное повышение вязкостных характеристик продукта на 400 мПа/с, подтверждая ее промышленный потенциал и инновационность (п. 14 паспорта научной специальности 4.3.5).

Впервые количественно охарактеризованы физико-химические, микроструктурные и термогравиметрические закономерности ферментативной модификации картофельного крахмала бактериальными амилазами, определены оптимальные условия (продолжительность 1 ч, активность амилазы 0,415 U/г), позволяющие получить крахмал с повышенной термической и ферментативной резистентностью. Определены оптимальные ФМК для применения в технологии обезжиренных КМП, позволяющие достичь максимального улучшения потребительских свойств йогурта, повышения жизнеспособности и функциональных возможностей микробиоты в продукте за

счет пребиотического эффекта. В моделях *in vivo* впервые подтверждены многоаспектные положительные эффекты йогуртов с ФМК: повышение эффективности усвоения кормов, подавление воспалительных маркеров (уменьшение лейкоцитов и лимфоцитов), выраженная регуляция липидного обмена (снижение триглицеридов и холестерина) и снижение печеночного окислительного стресса (п. 19 паспорта научной специальности 4.3.5).

Научно обосновано и апробировано новое технологическое решение производства обезжиренного йогурта со стабилизированной структурой, включающее инновационный этап ферментной модификации картофельного крахмала малыми дозами бактериальных амилаз непосредственно в молочной смеси. Выявлены закономерности формирования комплекса показателей качества обезжиренных КМП, позволяющие контролировать и существенно улучшать органолептические свойства (консистенция, вкус) и структурно-механические характеристики (вязкость, твердость, эластичность, упругость) (п. 25 паспорта научной специальности 4.3.5).

Экспериментально подтверждена высокая эффективность совместного применения пробиотического штамма *L. plantarum* AG10 и ФМК в технологии обезжиренного пробиотического йогурта, что открывает перспективы создания КМП с улучшенными технологическими и функциональными свойствами (п. 25 паспорта научной специальности 4.3.5).

**Теоретическая и практическая значимость работы.** *Теоретическая значимость* заключается в применении научно обоснованного методологического подхода к использованию новых пробиотических штаммов молочнокислых бактерий локальной селекции в качестве заквасочных культур в технологии кисломолочных продуктов. Установлен ряд механизмов положительного влияния МКБ на метаболический статус млекопитающих в составе ферментированного молока через коррекцию микробиома кишечника.

*Практическая значимость* заключается в модификация производственных заквасок для йогурта с введением в их состав нового пробиотического штамма *Lactiplantibacillus plantarum* AG10. Разработана композиция закваски для пробиотического йогурта и усовершенствована принципиальная схема получения кисломолочных продуктов со стабилизированной структурой, высокими структурно-механическими показателями и повышенными функциональными свойствами. На основании аналитических исследований предложена схема ферментной модификации крахмала в условиях усовершенствованной технологии изготовления обезжиренных кисломолочных продуктов с повышенной функциональностью. С помощью математического моделирования и регрессионного анализа выявлены оптимальные условия модификации картофельного крахмала непосредственно в молочной смеси, позволяющие обеспечить обезжиренному КМП высокие потребительские качества.

В условиях предприятия ООО «Комос Групп» (Казанский молочный комбинат, г. Казань), перерабатывающего предприятия ИП Шишканова А. Р. (г. Казань) апробированы технологические решения, выпущены опытные партии обезжиренных кисломолочных продуктов.

Разработаны рецептуры обезжиренных КМП с разным спектром функционального действия, основу заквасок КМП составили йогуртовый культуры и новые пробиотические штаммы МКБ. Штамм *L. plantarum* AG10 принят на национальное патентное депонирование во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов НИЦ «Курчатовский институт» под номером В-14328. Разработана и утверждена техническая документация (на кисломолочные продукты с функциональными свойствами: «Пробио\_йогурт» ТИ и ТУ 10.51.52-002-02069639-2025, «Иммуно\_йогурт» ТИ и ТУ 10.51.52-003-02069639-2025, «Биоферм\_йогурт» ТИ и ТУ 10.51.52-004-02069639-2025).

Результаты исследований используются в учебном процессе на кафедре технологии мясных и молочных продуктов ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет» при подготовке студентов бакалавриата и магистратуры по направлению подготовки 19.03.03 и 19.04.03 «Продукты питания животного происхождения», 19.03.04 и 19.04.04 «Технология продукции и организация общественного питания», а также при организации научно-исследовательской и практической работы аспирантов по направлению подготовки 4.3.3 «Пищевые системы».

**Методология и методы исследования.** Методология диссертационной работы основывалась на теоретическом исследовании трудов отечественных и зарубежных ученых по направлению «пробиотики, крахмалы и функциональное питание». Использована методология, интегрирующая подходы к обоснованию и разработке кисломолочных продуктов с доказанной медико-биологической эффективностью, за счет использования новых пробиотических штаммов МКБ локальной селекции, и ферментно модифицированных крахмалов как пребиотиков. Исследования базировались на основе систематизации и анализа современной научно-технической информации, на применении инструментальных стандартных и специальных методов анализа МКБ, ФМК, готовых КМП с их включением, на последующей обработке результатов исследований, в том числе методами математического моделирования статистики.

**Положения, выносимые на защиту:**

- селекционные исследования новых штаммов молочнокислых бактерий в качестве пробиотиков и оценки их биотехнологического потенциала для производства функциональных кисломолочных продуктов;
- углеводный состав, микроструктура и функциональные свойства экзополисахаридов, синтезируемых новыми штаммами при ферментации обезжиренного молока;
- результаты исследований *in vitro* и *in vivo* комплекса свойств обезжиренных КМП, полученных сквашиванием как монокультурами новых штаммов, так и на основе йогуртовой закваски с добавлением исследуемых штаммов;
- результаты исследований картофельных крахмалов, прошедших ферментную модификацию бактериальными амилазами, совокупность результатов экспериментальных исследований влияния ФМК на потребительские показатели обезжиренных КМП;

– технологическое решение производства обезжиренных КМП со стабилизированной структурой на основе ферментной модификации полисахарида в условиях технологической линии КМП;

– результаты по разработке пробиотического йогурта со стабилизатором, изготовленного по разработанному технологическому решению, с включением нового штамма *L. plantarum* AG10, и оценка функциональных свойств КМП *in vivo*.

**Степень достоверности и апробация результатов.** Достоверность данных оценивалась и подтверждалась многократными повторностями исследований, математической обработкой с использованием современного программного обеспечения. Материалы диссертации опубликованы в сборниках научных работ, доложены и обсуждены на всероссийских, международных конференциях: п. Светлый Яр, (2014), Курск (2018, 2018, 2019, 2020, 2022, 2024), Улан-Удэ (2018), Благовещенск (2018), Индонезия (2019, 2021, 2022), Казань (2019, 2021, 2023, 2025), Рязань (2019), Ульяновск (2022), Уфа (2023), Душанбе (2023), Иркутск (2023), Санкт-Петербург (2024), Нижний Новгород (2024).

**Публикации.** По результатам диссертации опубликовано 52 научных работы, в том числе 2 монографии, 29 статей в изданиях, рекомендованных ВАК (К1, К2), из них 3 статьи в журналах, входящих в «Белый список»; 18 статей в журналах, индексируемых в международных базах и системах цитирования Scopus, Web of Science, в том числе 13 статей в журналах, входящих в «Белый список», из них 9 статей из категории Q1-Q2; получено 2 свидетельства о регистрации базы данных ЭВМ и 1 патент.

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа состоит из введения, аналитического обзора литературы, экспериментальной части, включающей раздел с описанием материалов и методов и четыре раздела с описанием результатов, заключения, списка литературы и семи приложений. Работа изложена на 355 страницах, содержит 57 таблицы, 124 рисунка, 456 источников отечественных и зарубежных авторов.

## Основное содержание работы

**Глава 1. Аналитический обзор литературы.** Представлен анализ литературы, проанализировано состояние исследований молочнокислых бактерий, пробиотических бактерий в мире и России. Обоснована необходимость расширения ассортимента кисломолочных продуктов с пробиотическими свойствами. Показана необходимость селекции на территории России локальных пробиотических штаммов МКБ. Представлен анализ состояния мировых работ в области безопасной модификации крахмалов и использовании их в КМП.

**Глава 2. Методология, материалы и методы исследований.** Рассмотрены методология и организация выполнения научных исследований, охарактеризованы объекты и основные методы исследований. Общая схема проведения исследований представлена на рисунке 1.

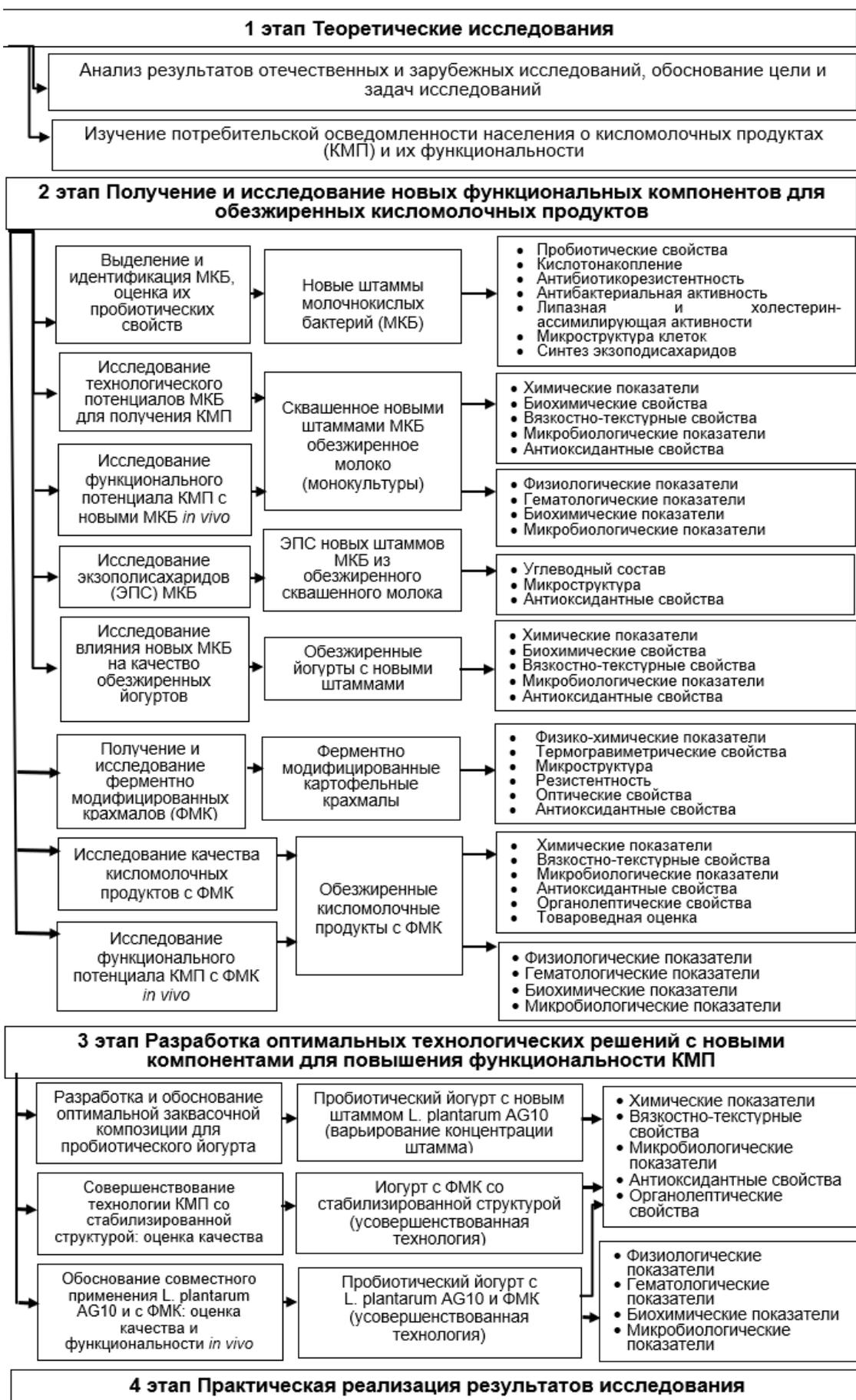


Рисунок 1 – Структурно-методологическая схема исследований

Объекты исследований: 1) штаммы молочнокислых бактерий собственной селекции: *Lactiplantibacillus plantarum* AG1, *Limosilactobacillus fermentum* AG8, *Lactiplantibacillus plantarum* AG9, *Lactiplantibacillus plantarum* AG10, *Lactiplantibacillus plantarum* AG15, *Lacticaseibacillus rhamnosus* AG16; 2) сквашенное обезжиренное молоко, полученное с использованием этих штаммов; 3) ЭПС, синтезируемые новыми штаммами МКБ при ферментации обезжиренного молока; 4) обезжиренные йогурты, изготовленные на основе йогуртовой закваски (*L. bulgaricus*, *S. thermophilus*) и с новыми штаммами *L. fermentum* AG8, *L. plantarum* AG9, *L. plantarum* AG10; 5) обезжиренные йогурты с добавлением *L. plantarum* AG10 в разном соотношении (10; 20 и 30% от общей массы закваски); 6) ФМК, полученные с использованием препаратов Амилосубтилин и амилазы *B. licheniformis*; 7) обезжиренные КМП, изготовленные с использованием ФМК; 8) пробиотические обезжиренные йогурты (Пробио\_йогурт), изготовленные с добавлением *L. plantarum* AG10, и ФМК (усовершенствованная технология). Теоретические и экспериментальные исследования выполнены в соответствии с научной концепцией, поставленными задачами на кафедре технологии мясных и молочных продуктов КНИТУ.

При выполнении экспериментальной части работы использовали физико-химические, микробиологические, молекулярно-генетические, органолептические, спектрофотометрические, микроскопические, структурно-механические, биохимические методы. Для работы с животными получено разрешение Локального этического комитета ФГАОУ ВО «КФУ» (протокол №38 от 04.10.2022), на базе которого проводили исследования. Для математической обработки использовали методы статистического и регрессионного анализа с применением программ Microsoft Excel, GraphPad Prism8, Statistica 12.

**Глава 3. Изучение потребительской осведомленности населения о КМП и формулировка научной концепции исследования.** Результаты социологического опроса потребителей о КМП свидетельствует о низкой осведомленности людей о пробиотических свойствах КМП, предпочтении напитков со средним содержанием жира (2,5–4,5%), низкой потребительской грамотности в отношении восприятия упаковки и информации для покупателей. Несоответствие желания людей покупать функциональные продукты с ассортиментом массмаркета ставит перед пищевой отраслью задачу разработки обезжиренных КМП с пробиотическими свойствами и высокими потребительскими качествами, а также доказанной функциональностью для здоровья человека. Это послужило предпосылкой для разработки обезжиренных пробиотических КМП за счет использования в составе закваски пробиотических штаммов МКБ локальной селекции.

**Глава 4. Научное обоснование применения новых пробиотических культур МКБ в технологии КМП функционального назначения.** На первом этапе экспериментальных исследований проведена селекция МКБ из силоса по признаку высокой продукции органических кислот и повышенным антимикробным свойствам. Из 17 изолятов было отобрано шесть наиболее перспективных, по 16S РНК определены их виды: *Lactiplantibacillus plantarum* AG1, *Limosilactobacillus fermentum* AG8, *Lactiplantibacillus plantarum* AG9, *Lactiplantibacillus plantarum* AG10, *Lactiplantibacillus plantarum* AG15,

*Lacticaseibacillus rhamnosus* AG16. Штаммы показали высокий потенциал накопления органических кислот: в условиях 2% глюкозы лидером был штамм AG10, снижавший рН за 24 ч более чем на 3,5 ед.; при снижении концентрации в 10 раз лидером стал штамм AG1 (таблица 1). Исследование антимикробной активности в отношении ряда условно-патогенных бактерий показало превосходство выделенных штаммов над известным пробиотиком *L. plantarum* 8РА3 (таблица 2).

Таблица 1 – Потенциал подкисления питательной среды МРС новыми выделенными штаммами МКБ из силоса

Штамм	ΔрН	
	Глюкоза 2 %	Глюкоза 0,2 %
AG1	3,41±0,35*	2,51±0,34*
AG8	3,21±0,24*	2,02±0,53*
AG9	3,42±0,31*	2,21±0,46*
AG10	3,63±0,56*	1,81±0,27*
AG15	3,31±0,23*	2,21±0,38*
AG16	3,23±0,11*	2,22±0,62*
<i>L. plantarum</i> 8РА3	2,34±0,15	1,21±0,25

Таблица 2 – Антимикробная активность штаммов МКБ

Штамм	Ингибирование роста, мм				
	<i>E. coli</i> MG1655 (К-12)	<i>K. pneumoniae</i> (клинический)	<i>P. aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>B. cereus</i> (клинический)	<i>S. aureus</i> subsp. <i>aureus</i> ATCC 29213
<i>L. plantarum</i> AG1	8,5±2,1	10,0±2,8*	13,0±2,8*	5,5±2,1	9,0±1,4
<i>L. fermentum</i> AG8	8,5±2,1	9,5±0,7	13,0±2,8*	6,5±0,7*	9,5±0,7*
<i>L. plantarum</i> AG9	8,5±2,1	8,5±2,1	8,0±2,8	6,0±0,3	7,5±2,1
<i>L. plantarum</i> AG10	8,0±1,4	11,0±1,4*	11,0±1,4*	6,0±1,4	9,5±0,7*
<i>L. plantarum</i> AG15	10,0±0,2*	11,5±0,7*	12,5±3,5*	6,5±0,7*	9,0±0,2
<i>L. rhamnosus</i> AG16	9,0±1,4*	13,0±0,2*	12,5±3,5*	7,0±0,2*	9,5±2,1*
<i>L. plantarum</i> 8РА3	7,5±1,6	7,9±0,6	9,1±0,4	5,0±0,5	8,0±1,3

Определены пробиотические свойства штаммов (рисунок 2).

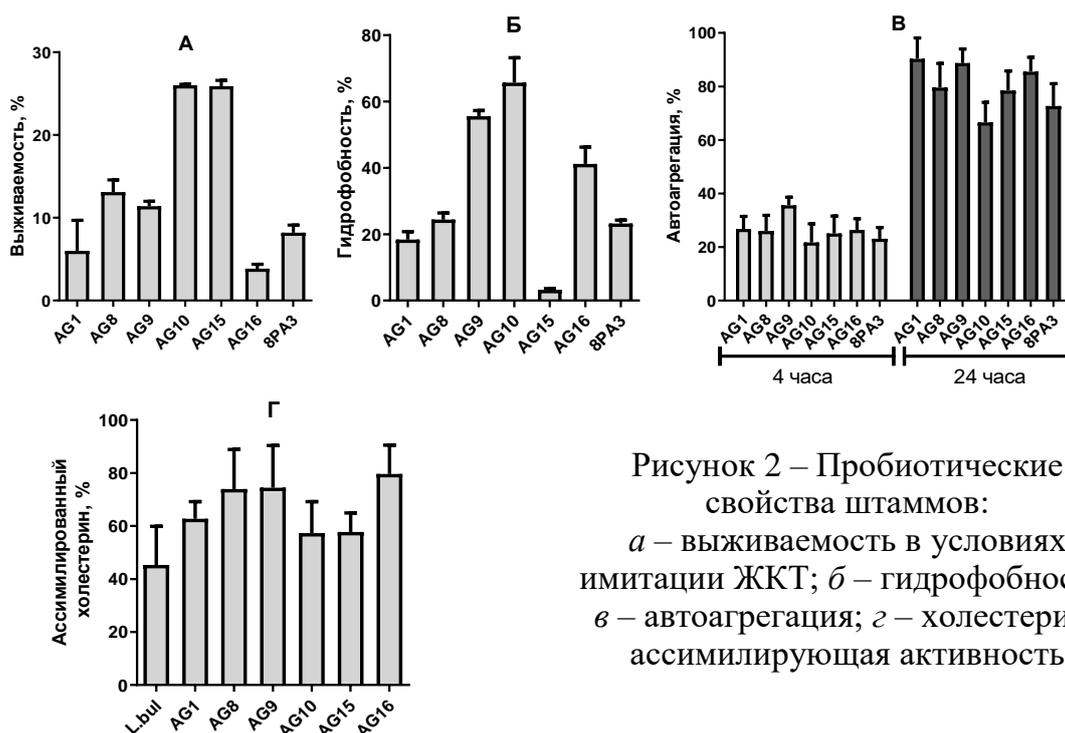


Рисунок 2 – Пробиотические свойства штаммов:  
 а – выживаемость в условиях имитации ЖКТ; б – гидрофобность; в – автоагрегация; г – холестерин-ассимилирующая активность

Клетки AG8, AG9, AG10 и AG15 продемонстрировали значительную устойчивость в условиях имитации ЖКТ по сравнению с *L. plantarum* 8РАЗ. Оценена гидрофобность и автоагрегация клеток МКБ. Штаммы способны активно ассимилировать холестерин, особенно *L. plantarum* AG9, *L. fermentum* AG8 и *L. rhamnosus* AG16. Клетки МКБ проявляли липолитическую активность, наибольшая экзогенная липаза выявлена у *L. bulgaricus*, *L. plantarum* AG10 и *L. plantarum* AG15.

Выявлено, что штаммы были чувствительны к ампицилину, хлорамфениколу, клиндамицину, тетрациклину. Штаммы обладали высокой устойчивостью к действию условий ЖКТ (кислотоустойчивостью, устойчивостью к желчным солям), сильной гидрофобностью, хорошей способностью к автоагрегации, продуцировали высокий уровень кислот, экзополисахаридов и перекиси водорода ( $H_2O_2$ ), способны усваивать лактозу.

Электронная микроскопия выявила отличия в ультратонком строении клеток штаммов AG8 и AG9 от коммерческого штамма *L. bulgaricus* (рисунок 3). Клетки AG8 и AG9 – короткие ровные палочки, в 5 раз меньше, чем *L. bulgaricus*, визуализируются ЭПС в виде тяжей и плотных мелких гранул, отмечено плотное прилегание экзосоединений к клетке. Около клеток *L. bulgaricus* визуализируется рыхлое органическое вещество. Наличие внеклеточных образований позволило предположить наличие у выделенных штаммов способности к синтезу ЭПС, которые стали в дальнейшем объектами пристального внимания.



Рисунок 3 – ТЭМ-микрофотографии различных клеток молочнокислых бактерий после роста в течение 48 ч на МРС (штрих – 2 мкм):

а – *L. bulgaricus*; б – *L. fermentum* AG8; в – *L. plantarum* AG9

Выявлена способность штаммов снижать уровень холестерина, липидов *in vitro*. Кумулятивная оценка позволила выявить лидеров по пробиотическим свойствам (таблица 3), наибольшую сумму баллов набрали штаммы AG8, AG9 и AG10. На основе полученных результатов их можно рекомендовать для использования в качестве коммерческих пробиотиков.

На следующем этапе оценили технологический потенциал штаммов для ферментации молока. Штаммы способны за 8 ч сквашивать молоко, но скорость сквашивания уступает промышленному штамму *L. bulgaricus* (показатели pH и титруемой кислотности).

Таблица 3 – Расчет кумулятивного пробиотического эффекта МКБ

Показатель		AG1	AG8	AG9	AG10	AG15	AG16
рН (глюкоза 2 %)		1	1	1	1	1	1
рН (глюкоза 0,2 %)		1	1	1	1	1	1
Пероксидаза		1	1	1	1	1	0
Антимикробная активность	<i>E. coli</i>	1	1	1	1	1	1
	<i>K. pneumoniae</i>	1	1	1	1	1	1
	<i>P. aeruginosa</i>	1	1	0	1	1	1
	<i>B. cereus</i>	1	1	1	1	1	1
	<i>S. aureus</i>	1	1	0	1	1	1
Выживаемость (ЖКТ)		0	1	1	1	1	0
Гидрофобность		0	1	1	1	0	1
Автоагрегация (4 ч)		1	1	1	0	1	1
Автоагрегация (24 ч)		1	1	1	0	1	1
Липаза клеток		0	0	0	0	0	0
Экзогенная липаза		0	1	1	1	0	1
Ассимиляция холестерина		1	1	1	1	1	1
Протеаза		1	0	0	1	0	1
Синтез ЭПС (глюкоза)		0	0	1	0	0	0
Синтез ЭПС (лактоза)		0	1	1	1	0	0
<b>Сумма</b>		<b>12</b>	<b>15</b>	<b>14</b>	<b>14</b>	<b>12</b>	<b>13</b>
Примечание – Показатель получал 1 балл, если его значение было выше, чем у штамма сравнения.							

При хранении в сквашенном молоке с новыми штаммами накапливалось меньше кислот. Штаммы практически не влияют на количество углеводов и белков. Численность исследуемых штаммов в сквашенном молоке была на уровне  $10^9$  КОЕ/г, что на порядок выше, чем у *L. bulgaricus* (рисунок 4, а). Выявлено, что новые штаммы интенсивно накапливают ЭПС в сквашенном молоке.

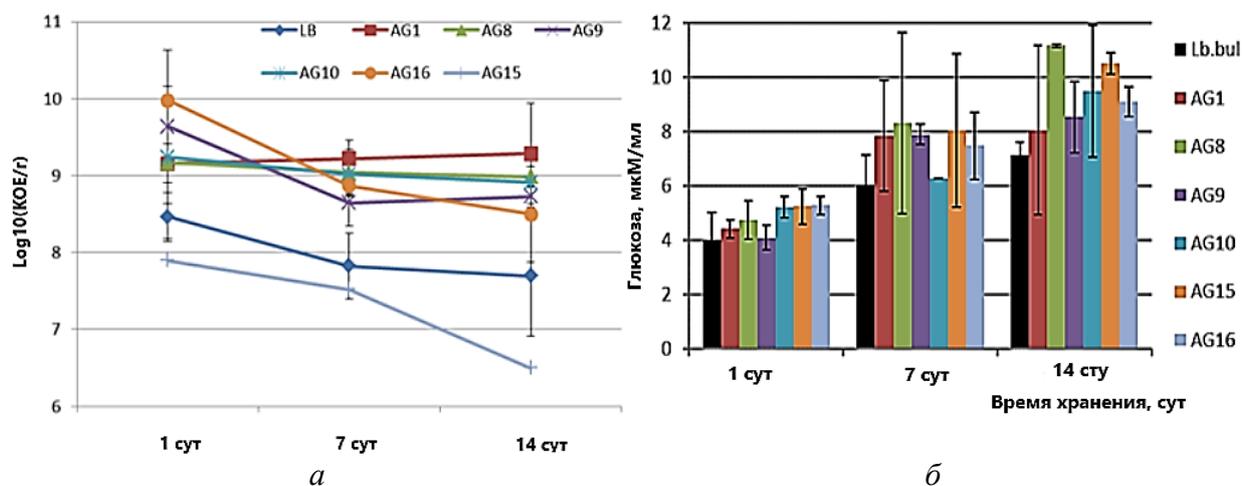


Рисунок 4 – Изменение количества МКБ (а) и ЭПС (б) в процессе хранения сквашенного обезжиренного молока

Кисломолочный сгусток в варианте AG1 и AG10 имел наименьшее значение синерезиса, наибольшие значения ВУС и вязкости. Кисломолочный матрикс штамма AG10 характеризуется как мягкий, эластичный, липкий и достаточно упругий (таблица 4). Сгусток AG15 слишком твердый, неэластичный, что неприемлемо для КМП.

Таблица 4 – Структурные, вязкостные и структурно-механические свойства сквашенного обезжиренного молока

Штамм	Синерезис, %		Вязкость, мПа/с		Твердость, Г		Эластичность, ед.	
	1 сут	14 сут	1 сут	14 сут	1 сут	14 сут	1 сут	14 сут
<i>L. bulgaricus</i>	21,42±6,40	22,66±9,36	1 180±255	1 160±226	32,6	32,5	0,496	0,537
AG1	7,37±6,35	13,15±7,45	3 400±849	2 980±1 216	33,0	32,5	0,505	0,532
AG8	11,62±7,23	15,21±6,20	1 770±269	1 590±99	31,5	33,1	0,662	0,549
AG9	10,88±0,79	14,43±7,34	1 770±467	1 820±481	32,1	33,3	0,595	0,542
AG10	6,70±5,68	11,80±5,61	2 360±226	2 620±820	30,2	32,3	0,705	0,584
AG15	20,54±10,13	27,32±3,20	940±764	570±552	35,5	37,8	0,325	0,245
AG16	14,86±4,15	17,16±9,54	1 260±264	1 710±99	32,4	32,8	0,468	0,565

СЭМ-микроскопия выявила структурные различия кисломолочных гелей. *L. bulgaricus* образует мелкозернистую малосвязанную белковая сеть с пустотами и хорошо видимыми клетками. На поверхности клеток визуализировались пленки, наиболее вероятно это ЭПС (рисунок 5, а).

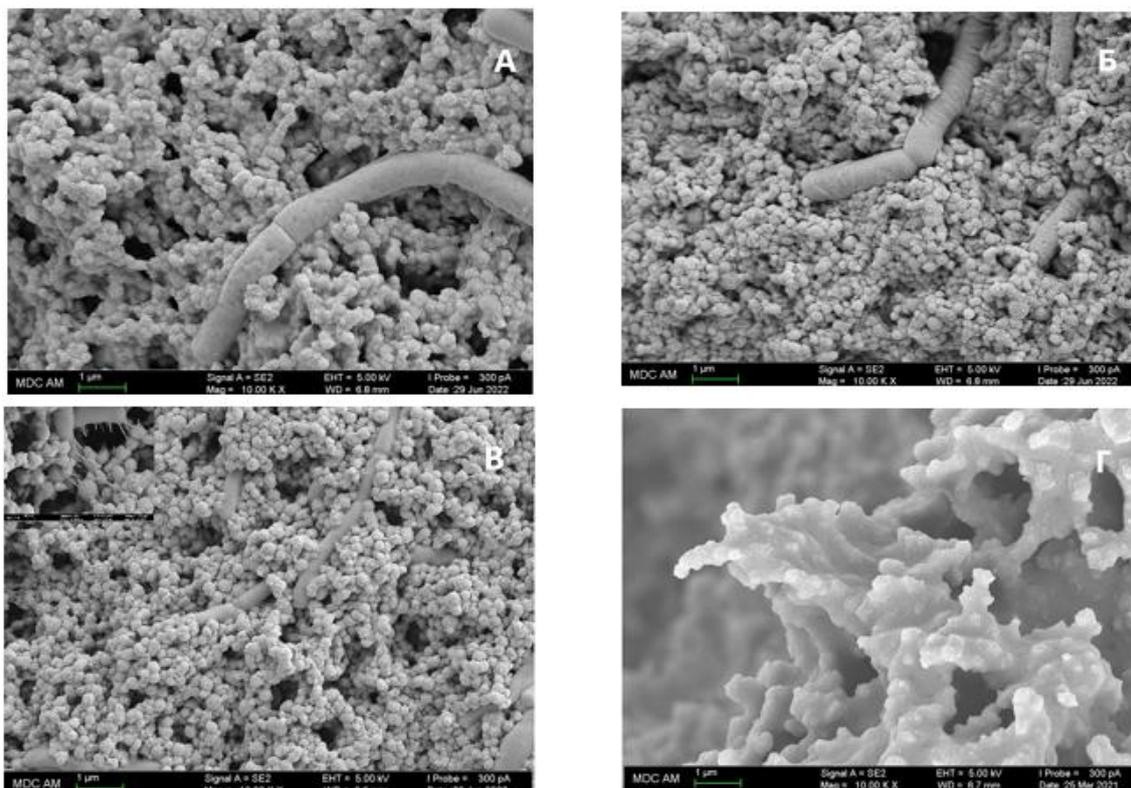


Рисунок 5 – Микрофотографии молочных сгустков: а – *L. bulgaricus*; б – *L. fermentum* AG8; в – *L. plantarum* AG9; г – *L. plantarum* AG10

Сквашенное молоко с *L. fermentum* AG8 (рисунок 5, б) имело плотную структуру с частично погруженными клетками, поры незначительные. Клетки *L. plantarum* AG9 (рисунок 5, в) были погружены в белковую матрицу и имели типичные внеклеточные образования (тяжи на клетках), позволяющие клеткам образовывать конгломераты с молочными белками. Структура молочного геля с *L. plantarum* AG10 (рисунок 5, г) включала пленки между белковыми компонентами, что привело к потере четких границ и более монолитной структуре, клетки полностью погружены в матрикс геля. Таким образом, сквашенное новыми штаммами молоко по сравнению с контрольным вариантом *L. bulgaricus*, имеет более монолитную мелкозернистую белковую матрицу с меньшими порами, что обуславливает выявленное повышение вязкости и снижение синерезиса. Большая погруженность клеток МКБ в казеиновый матрикс обеспечивает их повышенную выживаемость при хранении.

Антиоксидантный потенциал оценивали по двум показателям – восстановительной и радикал-связывающей активности (РСА); проводили анализ разных фракций КМП. Наибольшую восстановительную активность проявил продукт с *L. plantarum* AG15, AG9; при хранении наибольшую активность сохранили продукты с AG9 и AG10. Радикал-связывающая активность продукта была в пределах 60–70% сразу после сквашивания (рисунок 6), наибольшая – у образцов *L. plantarum* AG9 и *L. fermentum* AG15 через 7 сут хранения.

У всех КМП с исследуемыми штаммами выявлена антибактериальная активность в отношении *E. coli*, *S. aureus*, однако активность уменьшалась через 14 сут хранения продукта, за исключением штамма *L. plantarum* AG9. В процессе хранения происходят метаболические реакции, обуславливающие изменения пробиотических свойств сквашенного молока.

В плане синтеза МКБ биологически активных веществ особенно интересны низкомолекулярные белковые компоненты и ЭПС.

В безбелковом экстракте (ББЭ) сквашенного молока с AG8 и AG10 было наибольшее количество фенольных соединений, обладающих антиоксидантными свойствами (рисунок 7). Анализ пептидов как продуктов гидролиза белков показал, что штамм *L. plantarum* AG1 накапливает наибольшее их количество, что свидетельствует о повышенной протеолитической активности штамма.

У ББЭ образцов AG10 и AG1 выявлен высокий антиоксидантный потенциал: высокая восстановительная, радикал-, гидроксил- и супероксидрадикал-связывающая активности (рисунок 8).

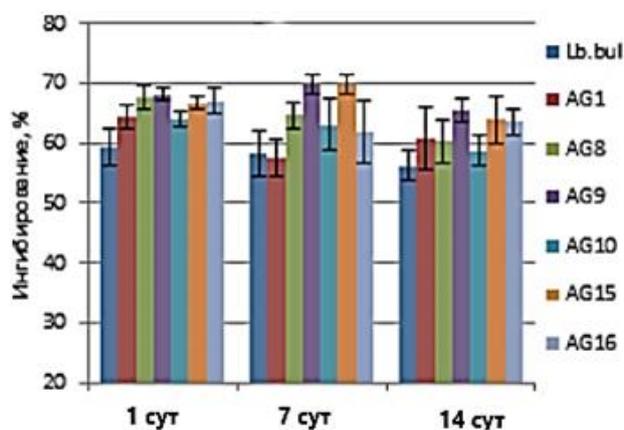


Рисунок 6 – Радикал-связывающая активность сквашенного молока

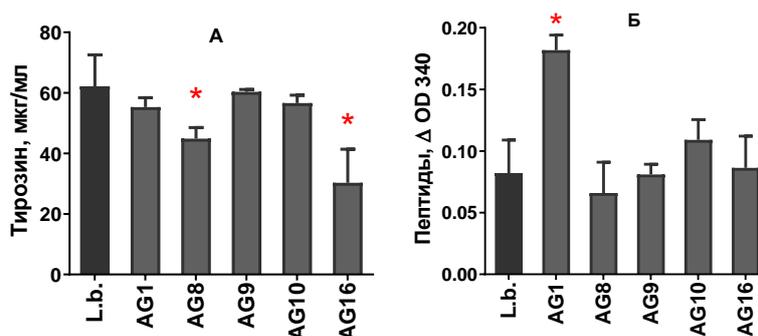


Рисунок 7 – Химический состав ББЭ обезжиренного молока, ферментированного различными штаммами МКБ

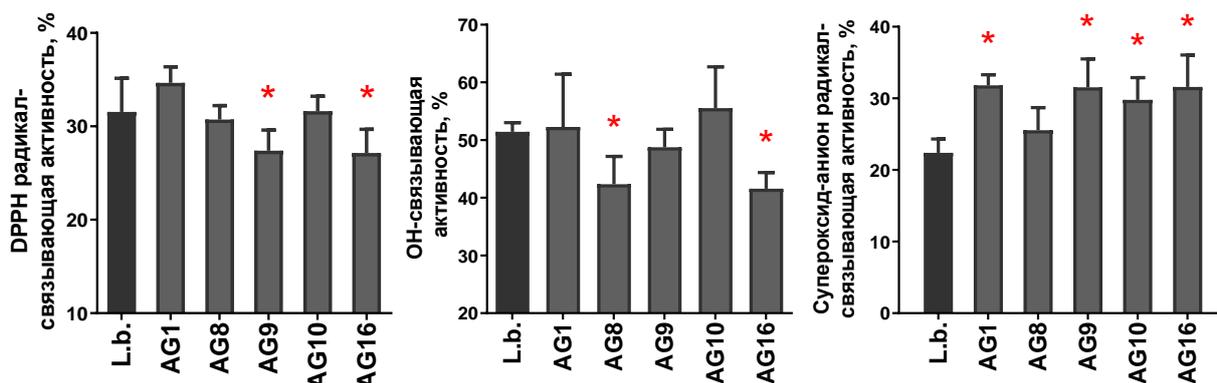


Рисунок 8 – Антиоксидантные свойства безбелкового экстракта обезжиренного молока, ферментированного различными штаммами МКБ

Выявленные различия между антиоксидантными свойствами в ББЭ могут быть результатом количественных и качественных вариаций ЭПС, которые также являются частью экстракта. На этом этапе оценены выход ЭПС, углеводный состав и АОО. В пяти из шести штаммов в ЭПС преобладали галактоза и глюкоза, но с разным соотношением, и присутствовали другие моносахариды в составе. ЭПС AG16 содержат глюкозу, галактозу и значительную долю ксилозы (рисунок 9).

ЭПС *L. fermentum* AG8 были представлены на 70% фруктозой, обогащены галактуроновой и глюкуроновой кислотами. ЭПС *L. bulgaricus* имели неровную мелкопористую губчатую структуру с пустотами в сечении, относительно гладкую поверхность. ЭПС AG1 имели относительно гладкую структуру из плотно упакованных нитей, плотно приклеенных друг к другу. ЭПС AG8 имели губчатоподобные структуры с рыхлым веществом и относительно мелкими порами. ЭПС AG9 имели губчатые мелкозернистые участки, без слоистости, периодически встречаются участки в виде гранулярно упакованных нитей. Микроструктура ЭПС AG10 подобна минерально-зернистой губке, но нитевидные участки и слоистость не наблюдались. ЭПС AG16 имели нитевидную структуру; нити собраны в отсеки, которые покрыты слоем аморфного гладкого вещества. Трехмерная сетчато-губчатая структура ЭПС штаммов AG8, AG9 и AG10 более плотно взаимодействует с белками молока, что будет способствовать повышению вязкости, улучшению консистенции и способности удерживать сыворотку.

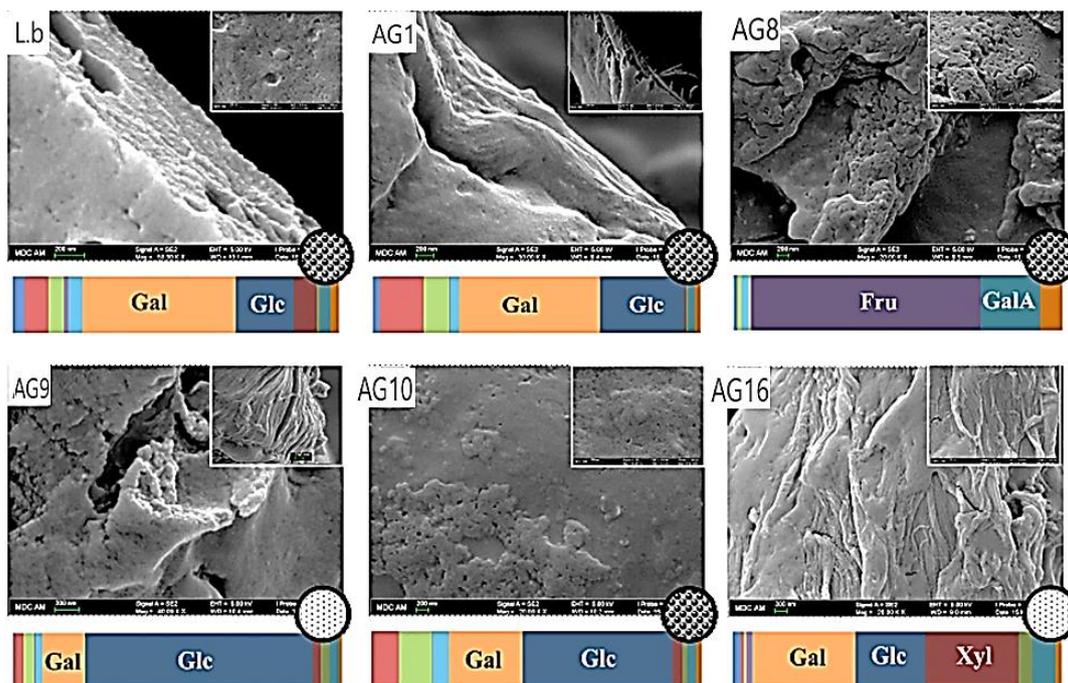


Рисунок 9 – Сканирующая электронная микроскопия и соотношение моносахаридов ЭПС МКБ

Охарактеризована АОА ЭПС. При самой высокой концентрации (5 мг/мл) наибольшей РСА обладали ЭПС штамма AG16. Гидроксильные радикалы при концентрации 5 мг/мл наиболее активно связывали ЭПС штаммов AG1, 9, 10 и 16 (ингибирование выше 60%), супероксидный радикал наиболее активно связывали ЭПС штамма AG1 (рисунок 10).

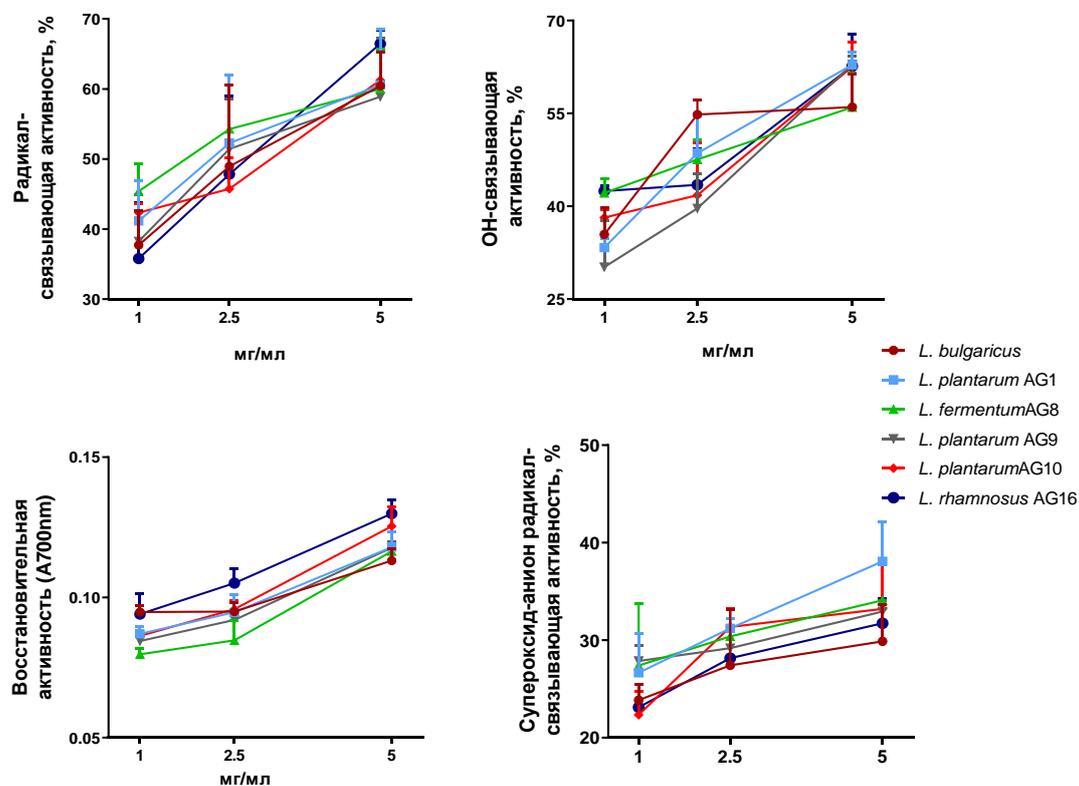


Рисунок 10 – Антиоксидантные свойства ЭПС

Восстановительная активность была самой высокой у ЭПС штаммов AG10 и AG16. Свойства ЭПС каждого их штаммов проявляются специфически, что, вероятно, связано с особенностями структуры и состава.

На первом этапе экспериментальных исследований проведена селекция, дана пробиотическая характеристика, комплексная оценка потенциала новых штаммов *L. plantarum* AG1, AG9, AG10, *L. fermentum* AG8 и *L. rhamnosus* AG16 при ферментации обезжиренного молока. По расчетам кумулятивного показателя наивысший суммарный балл через 14 сут хранения получили образцы, сквашенные штаммами AG9 и AG10; кроме того, одинаковый балл получили образцы с AG8 и AG16 (таблица 5). Штаммы AG10 и AG9 выделяются способностью создавать стабильный высококачественный молочный сгусток с отличной текстурой. По пробиотическим свойствам штамм AG8 превосходит AG16, поэтому для дальнейшей работы по введению в состав йогуртовой закваски были выбраны штаммы AG8, 9 и 10.

Таблица 5 – Кумулятивные показатели качества сквашенного обезжиренного молока

Группа свойств	Показатель	Коэффициент весомости	Условие, балл*	AG1	AG8	AG9	AG10	AG15	AG16
Химические	Белки, %	0,4	Больше LB – 1	1	1	1	1	0	0
	Белки в сыворотке, %		Больше LB – 1	0	0	0	0	0	0
	Лактоза, %		Меньше LB – 1	0	1	1	1	1	1
	Глюкоза, ммол/л		Меньше LB – 1	1	1	1	1	1	1
	Соли, %		Больше LB – 1	0	0	0	1	0	0
	Плотность, кг/м		Больше LB – 1	1	0	1	0	1	0
	Сухие вещества, %		Больше LB – 1	1	0	0	0	0	0
Жир, %	Меньше LB – 1	1	1	1	1	1	1	1	
Структурно-механические, текстурные	Синерезис, %	0,4	Меньше LB – 1	1	1	1	1	0	1
	ВУС, %		Больше LB – 1	0	0	1	1	0	1
	Вязкость, мПа/с		Больше LB – 1	1	1	1	1	0	1
	Твердость		Больше LB – 1	0	1	1	1	-1	1
	Эластичность		Больше LB – 1	0	1	1	1	0	1
Упругость	Больше LB – 1	1	1	1	1	-1	1		
Анти-оксидантные	ВА	0,1	Больше LB – 1	1	1	1	1	1	1
	РСА, %		Больше LB – 1	1	1	1	1	1	1
Кол-во ЭПС	ЭПС, мг/мл	0,1	Больше LB – 1	1	1	1	1	1	
Итого				3,5	3,9	4,7	4,7	1,1	3,9
Примечание – * Для сравнения использовали показатели образца сквашенного <i>L. bulgaricus</i> (LB).									

Для установления пробиотического потенциала *in vivo* сквашенное молоко в течение 6 недель включали в рацион питания крыс линии Вистар возрастом 4–6 недель. Выявлено, что сквашенное молоко улучшило эффектив-

ность усвоения корма, особенно в группе с AG10. По гематологическим показателям в варианте AG10 наблюдали снижение доли лимфоцитов с повышением доли гранулоцитов и суммы нейтрофилов, моноцитов, эозинофилов, базофилов (таблица 6) как индикатора умеренного стимулирования иммунитета. Показано достоверное увеличение уровня гемоглобина в вариантах AG9, AG10 по сравнению с контролем.

Таблица 6 – Некоторые гематологические показатели крыс через 42 сут эксперимента

Показатель	NR (контроль)	NR + LB	NR + AG8	NR + AG9	NR + AG10
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	$7,77 \pm 2,02$	$11,3 \pm 5,53$	$9,85 \pm 3,89$	$5,68 \pm 4,77$	$8,64 \pm 4,90$
Лимфоциты, $10^9/\text{л}$	$6,05 \pm 1,84$	$7,91 \pm 4,18$	$7,30 \pm 2,31$	$5,51 \pm 3,42$	$5,08 \pm 4,16$
Сумма нейтрофилов, моноцитов, эозинофилов, базофилов, $10^9/\text{л}$	$0,34 \pm 0,33$	$0,94 \pm 0,78$	$0,94 \pm 0,40$	$0,34 \pm 0,32$	$1,02 \pm 0,69$
Гранулоциты, $10^9/\text{л}$	$1,26 \pm 0,62$	$2,45 \pm 1,15$	$2,99 \pm 0,80$	$1,63 \pm 0,97$	$2,05 \pm 0,84$
Гемоглобин, г/л	$110 \pm 17$	$111 \pm 27$	$129 \pm 33$	$125 \pm 19$	$139 \pm 15$
Тромбоциты, $10^9/\text{л}$	$396 \pm 97$	$499 \pm 117$	$326 \pm 133$	$505 \pm 243$	$399 \pm 89$

Систематическое потребление молока, сквашенного новыми штаммами, достоверно снижает уровень холестерина и триглицеридов в крови (рисунок 11). Выявленная *in vitro* АОА на уровне продукта проявилась и на уровне животных *in vivo*.

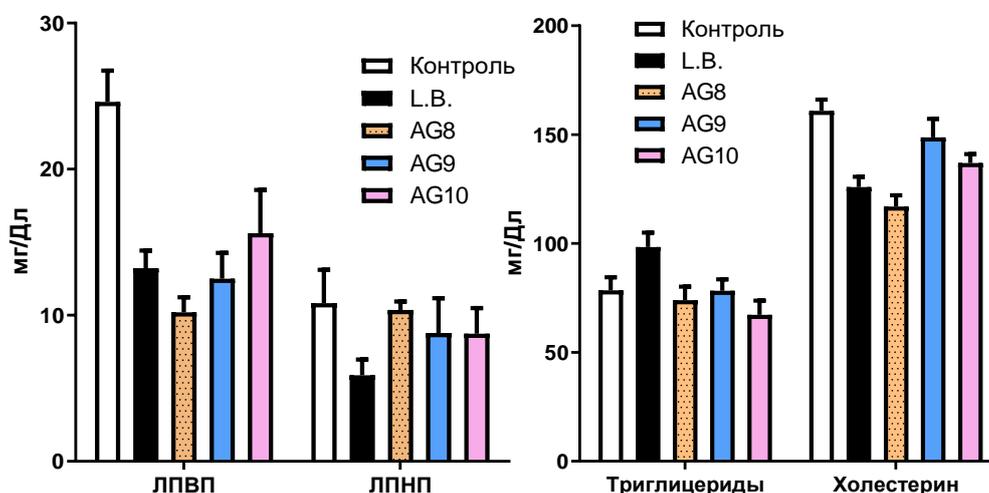


Рисунок 11 – Влияние на липидные компоненты в крови крыс

При регулярном потреблении КМП с новыми штаммами показано снижение степени окисленности печени по перекисному и тиобарбитуровому числу, дополнительно выявлено снижение глюкозы.

Механизмы положительного влияния МКБ в том числе лежат в плоскости изменения микробиома кишечника. Анализ по филумам показал уменьшение процентного содержания *Firmicutes* в вариантах *L. bulgaricus*, *L. fermentum* AG8 с увеличением доли *Bacteroides* (рисунок 12).

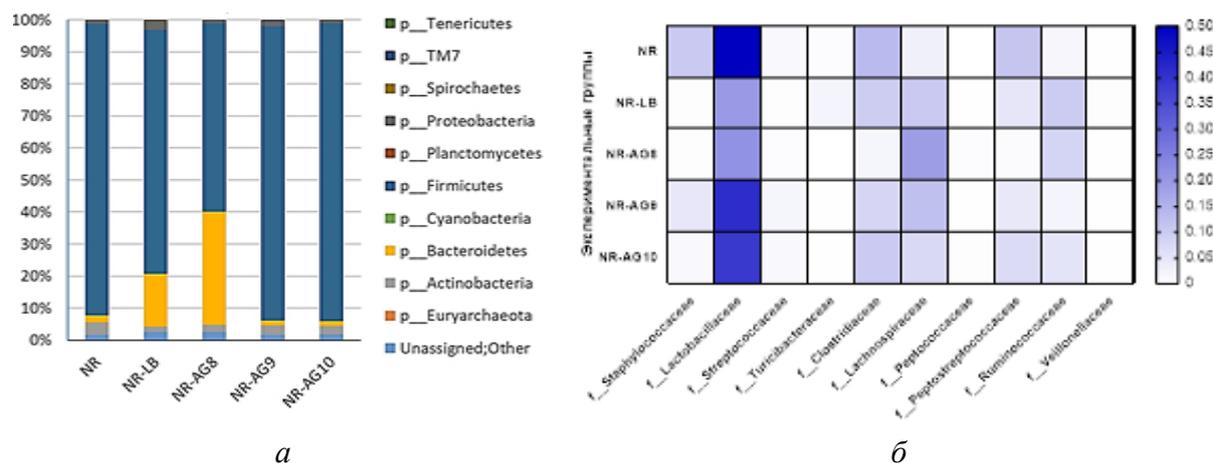


Рисунок 12 – Изменение микробиома по филумам (а) и семействам (б) кишечника крыс при потреблении молока, ферментированного разными штаммами

На уровне семейств выявлено достоверное снижение уровня *Staphylococcaceae*, *Clostridiaceae*, *Peptostreptococcaceae* разной интенсивности и повышение доли *Lachnospiraceae* и *Ruminococcaceae*, *Peptococcaceae*. Повышение доли *Ruminococcaceae* и *Lachnospiraceae*, которые являются бутират-продуцирующими бактериями и обладают противовоспалительными свойствами, является положительным эффектом в сдвиге в составе микробиома. Анализ корреляций (рисунок 13) между изменениями биома кишечника и физиолого-биохимическими показателями животных показал увеличение доли *Rothia*, *Lachnospiraceae* и *Ruminococcus*, что положительно коррелирует с уровнем лимфоцитов.

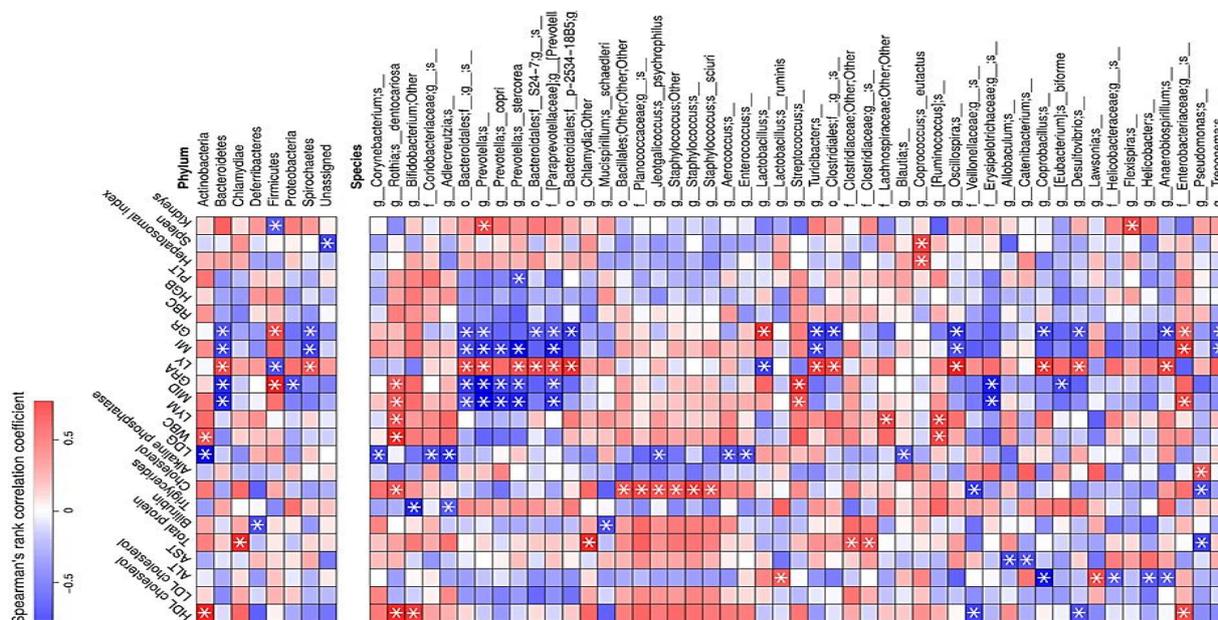


Рисунок 13 – Тепловая карта корреляционных зависимостей между составом биома кишечника и физиолого-биохимическими показателями крыс

Снижение количества *Staphylococcus* свидетельствует о реализации ранее установленных антимикробных свойств МКБ через пищевой продукт.

Установлено, что снижение уровня холестерина коррелирует со снижением стафилококков.

Селекционированные МКБ имеют пробиотические свойства, проявляющиеся в условиях *in vitro* и *in vivo*, способны улучшать функциональное состояние млекопитающих. Получены объективные данные о положительной роли обезжиренного КМП с новыми пробиотическими штаммами, их способности влиять на липидный обмен, иммунный статус, микробиом, антиоксидантную защиту.

На следующем этапе предположено, что штаммы МКБ в составе заквасок могут оказывать синергический эффект и использоваться для создания функциональных КМП. Выделенные штаммы интродуцировали в состав йогуртовой закваски, что позволило оценить взаимовлияние используемых культур бактерий. Внесение новых штаммов МКБ не привело к существенному сдвигу показателей титруемой кислотности, что свидетельствует о ведущей роли термофильного стрептококка и болгарской палочки в кислотообразовании йогуртов. В присутствии новых штаммов значительно усилился синтез ЭПС, особенно при добавлении AG9 и AG10 (рисунок 14). Применение новых штаммов не привело к сдвигу по количеству белков (не менее 3,2% ГОСТ 31981-2013) и углеводов. Протеолитическая активность в йогуртах со штаммами AG8 и AG9 статистически не отличается от контроля. В варианте с AG10 наблюдалось снижение активности накопления пептидов на всем протяжении срока хранения.

В процессе хранения в присутствии новых штаммов в безбелковом экстракте более активно накапливались фенольные соединения (в том числе ароматические аминокислоты), тогда как в продукте этот параметр уменьшался. Такая закономерность свидетельствует об умеренном протеолизе белков и образовании низкомолекулярных продуктов метаболизма.

Структурно-механические свойства йогуртов при введении новых штаммов изменялись: в частности, продукт с высокой вязкостью и низким уровнем синерезиса был получен при использовании AG10 (рисунок 15); в процессе хранения наблюдали нарастание вязкости, что коррелирует с накоплением ЭПС. Добавление штамма AG8 негативно сказалось на этих показателях. Использование AG9 и AG10 приводило к формированию текстуры йогурта с большей твердостью и большим коэффициентом разрушаемости, при этом показатель эластичности у этих образцов был сравним с контрольным йогуртом.

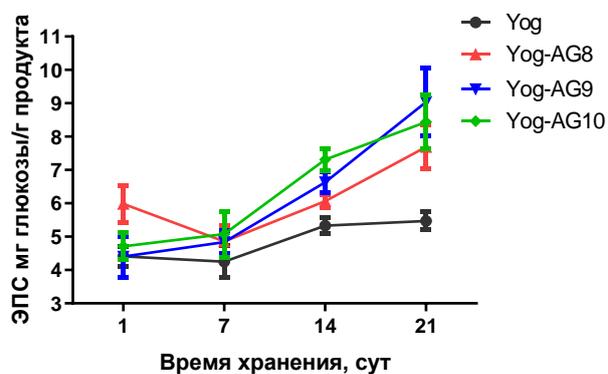


Рисунок 14 – Влияние пробиотических штаммов на накопление ЭПС в йогуртах в процессе хранения

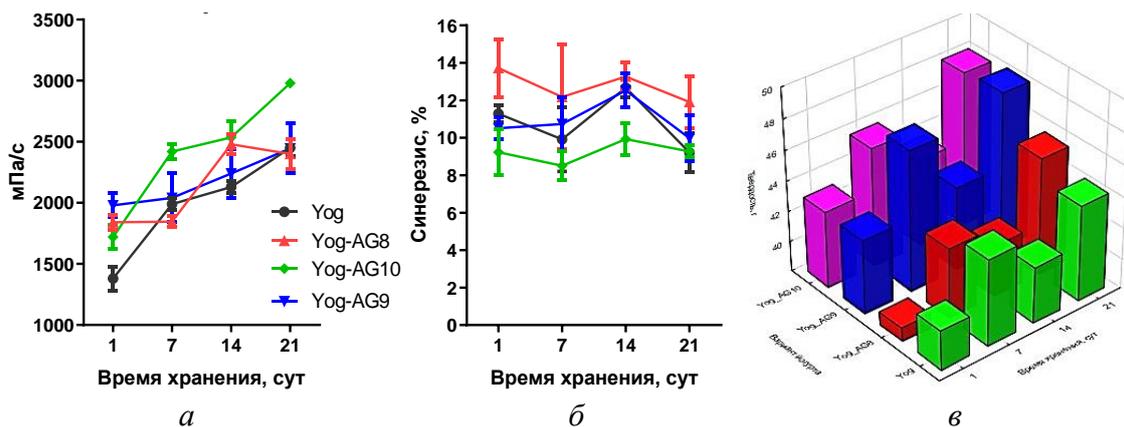


Рисунок 15 – Изменение структурно-механических и текстурных свойств: *а* – вязкость; *б* – синерезис; *в* – твердость

Таким образом, текстурный профиль – это динамически изменяющийся комплекс параметров, обусловленный формированием и разрушением связей между гетерогенной структурой молочных компонентов, синтезом *de novo* полимеров микробного происхождения и включением их в общую структуру белкового матрикса. Выявлено, что ЭПС в составе йогурта способны внести существенный вклад в радикал-связывающую активность (рисунок 16), особенно на поздних стадиях хранения. Интегральная антиоксидантная активность всего йогурта была наибольшей через 14 сут хранения в присутствии новых штаммов.

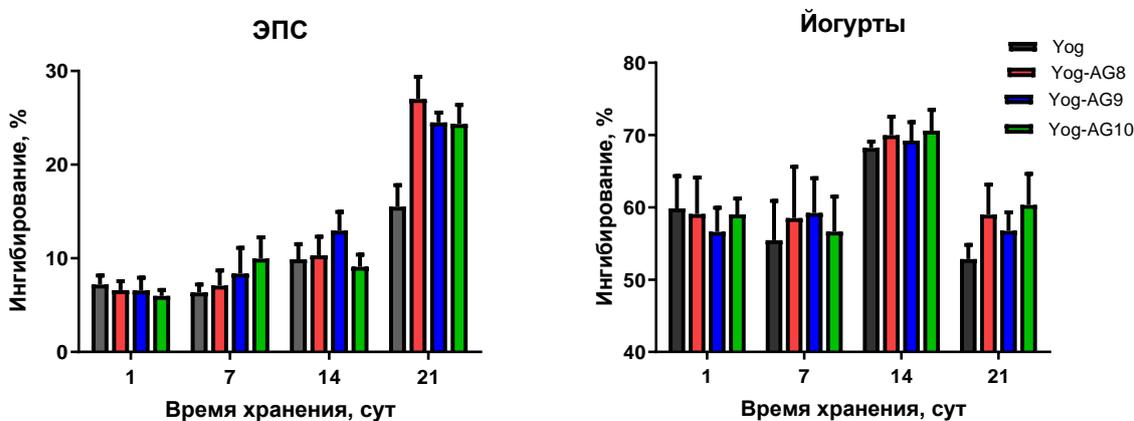


Рисунок 16 – Антиоксидантные свойства йогуртов с пробиотическими штаммами

Расчет корреляционных коэффициентов между химическими и антиоксидантными свойствами выявил ряд закономерностей: высокая корреляция выявлена между радикал-связывающей, восстановительной активностью и количеством ЭПС и фенольных соединений; отрицательная корреляция – между количеством свободной глюкозы и показателями титруемой кислотности и ЭПС. Набор этих показателей отражает активные процессы, связанные с гидролизом белка МКБ, метаболизмом пептидов и углеводов.

Первичный скрининговый анализ новых штаммов AG8, 9 и 10 показал наибольшую перспективность применения штамма *L. plantarum* AG10 в составе закваски для обезжиренного йогурта. В дальнейшем было использо-

вано сочетание закваски в соотношении на 10; 20 и 30% от общей части йогуртовой закваски. С точки зрения кислотообразования в молоке при использовании *L. plantarum* AG10 в составе йогуртовой закваски наблюдали снижение кислотообразования, но не ниже нормируемого уровня (70 °Т). Введение нового штамма AG10 в состав йогуртовой закваски замедляет кислотонакопление при хранении, но активно накапливаются ЭПС. Синергизм в части синтеза ЭПС йогуртовой закваски и штамма *L. plantarum* AG10 независимо от количества последнего является предпосылкой для возможности коррекции структурно-механических показателей обезжиренного КМП.

Показано, что наибольшей вязкостью обладал КМП с добавлением 30% *L. plantarum* AG10: такая рецептура закваски позволяет получить йогурт с наименьшим значением синерезиса и наибольшей ВУС (рисунок 17). При тестировании динамического размера частиц на Zetasizer через 21 сут хранения выявили различия в распределении размера частиц кисломолочного геля.

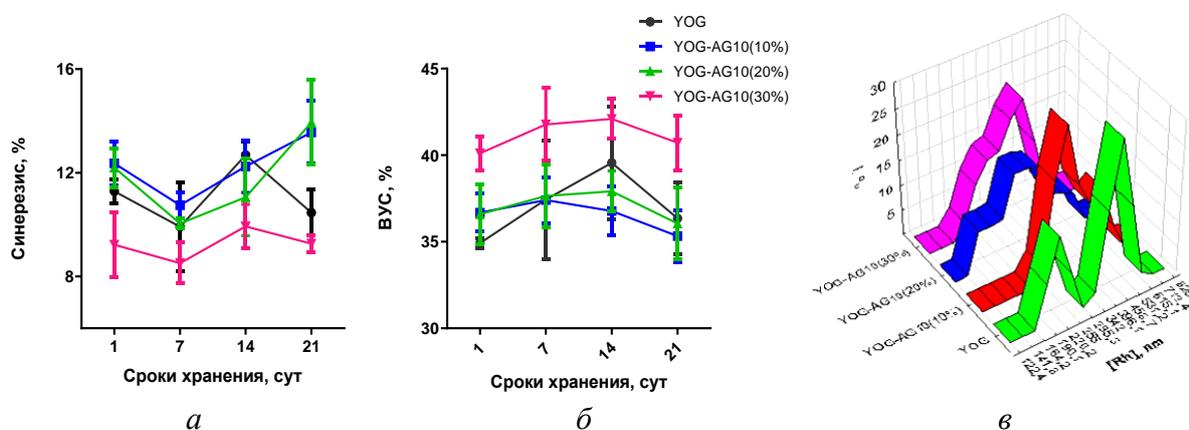


Рисунок 17 – Влияние количества *L. plantarum* AG10 на структурно-механические свойства пробиотического йогурта: а – синерезис; б – ВУС; в – размер частиц

У йогурта наблюдалось бимодальное распределение частиц геля, отсутствие однородности; в случае йогуртов с AG10 бимодальности нет, формируется сгусток, в котором присутствует фракция с размытым максимумом 255–342 нм, что свидетельствует об однородности частиц продукта.

По органолептическим показателям респонденты отметили улучшение вкуса и консистенции продукта при добавлении *L. plantarum* AG10 (таблица 7), йогурт с 30% AG10 получил максимальную оценку. Выявлена наибольшая сохранность жизнеспособных МКБ в варианте 30% AG10, что особенно важно с точки зрения пробиотических и функциональных свойств.

На данном этапе определено оптимальное соотношение классических йогуртовых МКБ и *L. plantarum* AG10 в рецептуре закваски; использование 30% штамма *L. plantarum* AG10 от общей массы закваски уменьшает синерезис и увеличивает водоудерживающую способность, вязкость, антиоксидантные свойства, приводит к улучшению вкусовых качеств йогурта. Эта композиция закваски является перспективной с точки зрения получения продукта с высокими потребительскими свойствами.

Таблица 7 – Влияние количества *L. plantarum* AG10 на органолептические свойства йогурта

Образец	Период хранения, сут	Органолептическая оценка, балл				Сумма средних (0–24)
		Внешний вид (0–1)	Вкус (0–10)	Запах (0–3)	Консистенция (0–10)	
Йогурт	1	1±0	7,1±0,1	3±0	7,2±0,5	18,3
	21	1±0	7,3±0,3	3±0	6,4±0,3	17,7
Йогурт + AG10 (10%)	1	1±0	7,5±0,3	3±0	8,2±0,3	19,7
	21	1±0	8,2±0,1	3±0	7,1±0,1	19,3
Йогурт + AG10 (20%)	1	1±0	8,3±0,2	3±0	8,4±0,1	20,7
	21	1±0	8,4±0,2	3±0	8,3±0,2	20,7
Йогурт + AG10 (30%)	1	1±0	9,2±0,3	3±0	9,2±0,2	22,5
	21	1±0	9,3±0,1	3±0	9,1±0,3	22,4

**Глава 5. Научное обоснование применения картофельного крахмала, модифицированного бактериальными ферментными препаратами амилолитического ряда, в молочной промышленности.** На данном этапе работы изучена применимость ФМК в технологии кисломолочных напитков, установили их роль как пребиотика. Картофельных крахмал доступен на российском рынке, поэтому он стал моделью в исследованиях.

В качестве ферментных препаратов для модификации выбраны два бактериальных амилазных препарата: применяемый в животноводстве Амилосубтилин™ и амилаза *Bacillus licheniformis*. Проведена модификация крахмала ферментами по схеме (рисунок 18). Варьировали активность ферментного препарата и время воздействия. Анализ особенностей полученных крахмалов показал, что даже в минимальных дозах изменялись физико-химические, технологические свойства крахмалов (таблица 8).

Изменение соотношения амилозы и амилопектина приводит к снижению вязкости, температуры желатинизации, причем температура желатинизации была ниже в образцах BL. Снижение этого показателя упрощает введение ФМК в пищевой продукт.

Электронной сканирующей микроскопией показано, что характер повреждений, полученных под действием амилосубтилина и амилазы *B. licheniformis*, неодинаков (рисунок 19), обусловлен различиями в действии лидирующей амилазы и минорных ферментных активностей (глюкоамилаз, пуллулаз).

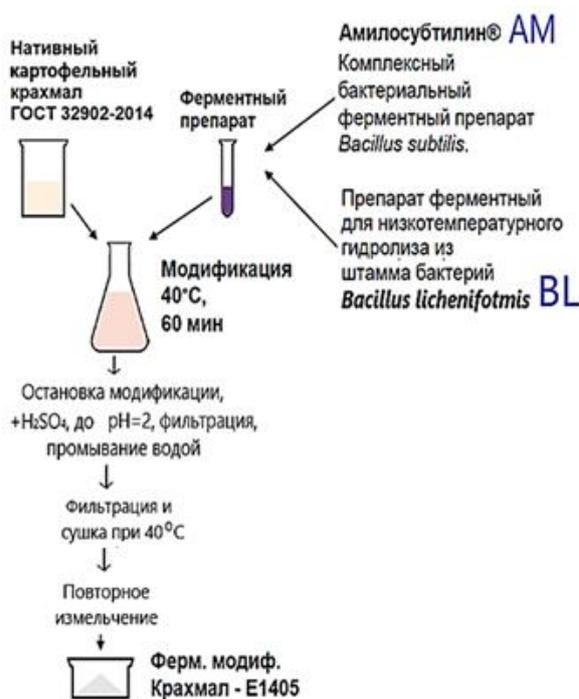


Рисунок 18 – Схема ферментной модификации крахмала

Таблица 8 – Физико-химические свойства нативного крахмалов и ФМК

Образец крахмала	Амилоза, %	Амилопектин, %	Вязкость, Т	Температура желатинизации, °С	ВСС, г воды/ г крахмала
Нативный	24,99	75,01	28,03	69,0	1,37
AM-0.05	13,09	86,91	4,58	61,5	2,14
AM-0.1	7,83	92,17	3,44	57,9	2,27
AM-0.5	14,80	85,20	3,96	59,8	2,18
AM-1	13,00	87,00	4,55	54,7	2,05
BL-0.05	25,87	74,13	4,24	59,0	2,08
BL-0.1	27,70	72,30	4,11	55,0	2,15
BL-0.5	25,35	74,65	5,22	56,7	1,97
BL-1	18,99	81,01	4,69	57,6	1,68

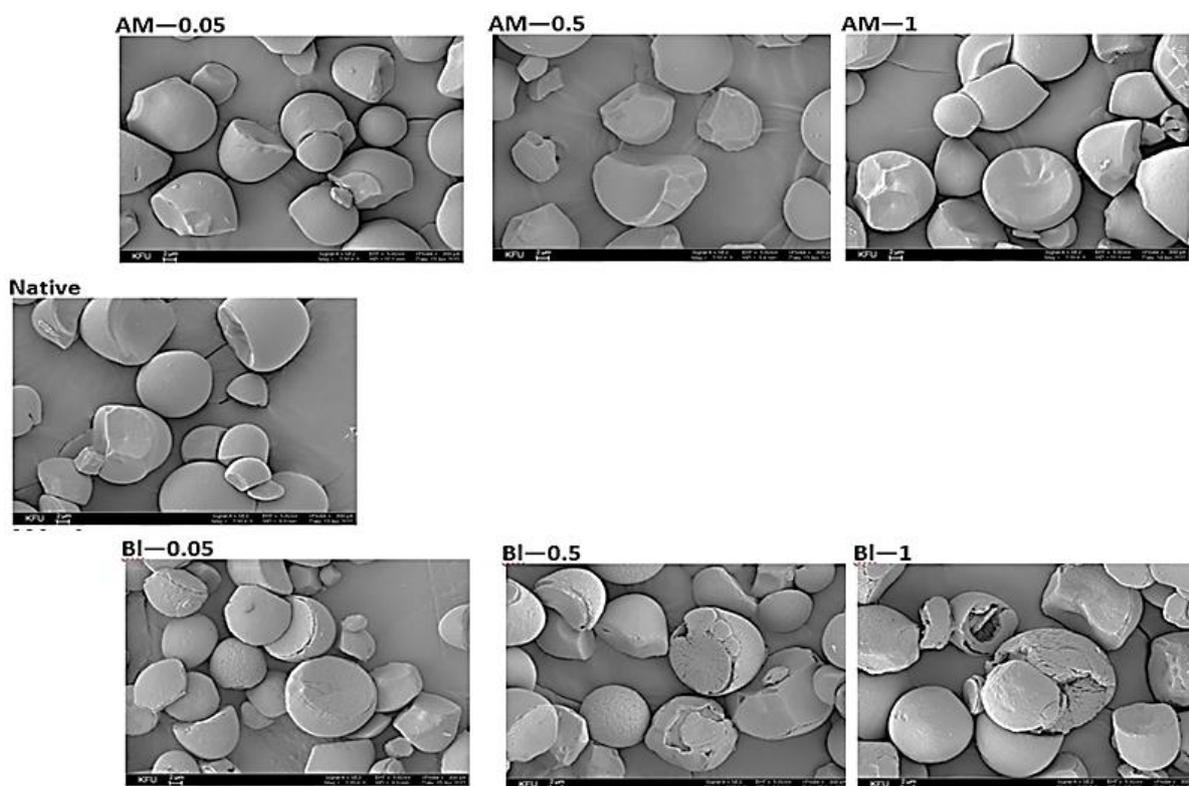


Рисунок 19 – СЭМ-фотографии некоторых крахмалов

Термогравиметрический анализ показал более компактный поток энергии у ФМК, что свидетельствует о формировании химической однородности в результате модификации (рисунок 20). Исследование размеров частиц показало исчезновение бимодальности у образцов AM-0.1 и BL-0.1, увеличение концентрации и времени обработки, что привело к формированию крахмалов с более однородными по размерам гранулами, что согласуется с данными термогравиметрии.

Исследования крахмала как компонента не только структурно-корректирующего, но и способного внести вклад в функциональность продукта, очень важны.

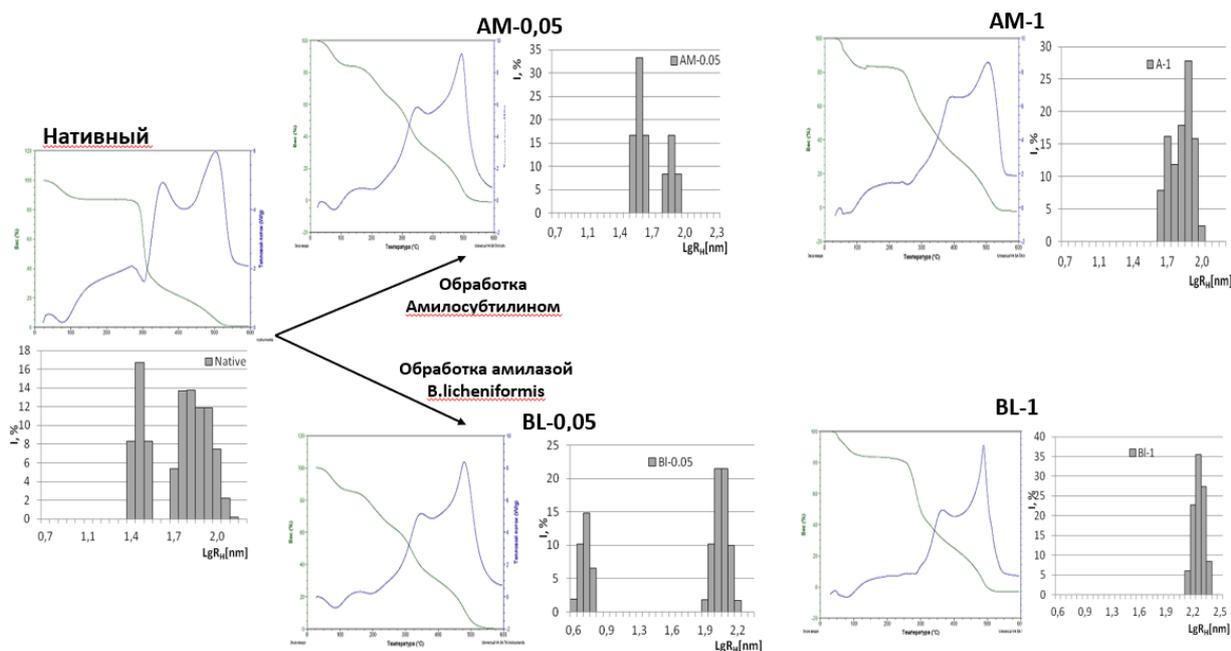


Рисунок 20 – Изменение термогравиметрических свойств и размеров гранул ФМК

Способность связывать свободные радикалы у ФМК была выше, чем у нативного крахмала. В последнее время внимание исследователей направлено на изучение резистентности крахмалов. Выявлено, что обработка крахмала ферментами в малых дозах приводит к значительному увеличению устойчивости к альфа-амилазе, в модельной системе в процессе гидролиза выделяется меньше глюкозы. Полученные результаты определяют перспективы применения ФМК в производстве КМП функционального назначения, где крахмалы будут выполнять роль не только стабилизаторов-структурообразователей, но и своеобразных пищевых волокон-пребиотиков.

На следующем этапе использовали ФМК в рецептуре йогурта (концентрация белка не менее 3,2%). Применение ФМК стимулировало развитие МКБ, увеличился синтез молочной кислоты, титруемая кислотность была на уровне контроля или выше. Крахмалы VL сдерживали постзакислительные процессы при 28-дневном хранении. ФМК способствовали сохранению жизнеспособности МКБ: в образцах с ФМК численность МКБ была на порядок больше в конце срока хранения, чем в контроле (рисунок 21). Выявлено стимулирующее действие ФМК на синтез ЭПС, их количество было в 2–4 раза больше, чем в контроле и варианте с нативным крахмалом (рисунок 22). Физико-химические показатели йогуртов на конец срока хранения были в пределах регламентируемых показателей.

Использование ФМК позволяло повысить вязкость и ВУС йогуртов по сравнению с вариантом с нативным крахмалом. Эта разница достигает достоверных значений в случае использования VL-крахмалов. Использование ФМК, особенно VL-модификации, позволило существенно снизить синерезис обезжиренных йогуртов. СЭМ-микроскопия показала, что использование ФМК вместо нативного крахмала приводит к исчезновению крупных крахмальных зерен в йогуртах (рисунок 23). Отмечено погружение в матрикс клеток МКБ и формирование более однородной, гладкой структуры КМП.

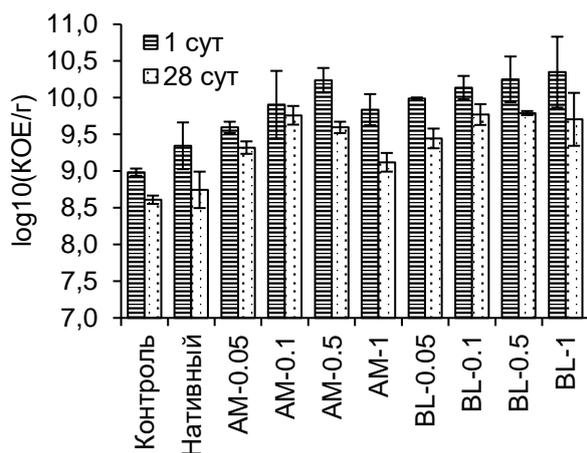


Рисунок 21 – Численность МКБ в йогуртах с ФМК

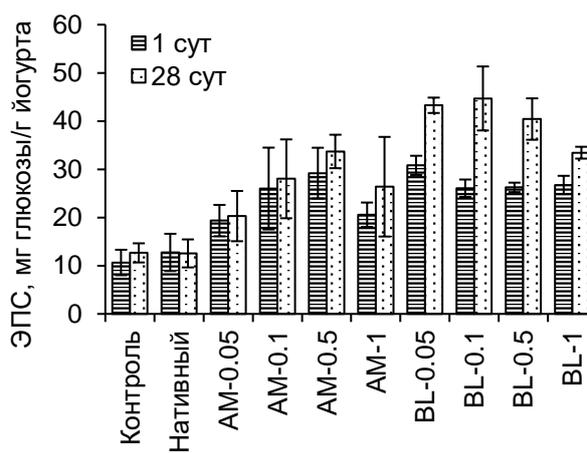


Рисунок 22 – Суммарное количество крахмальных и бактериальных полисахаридов

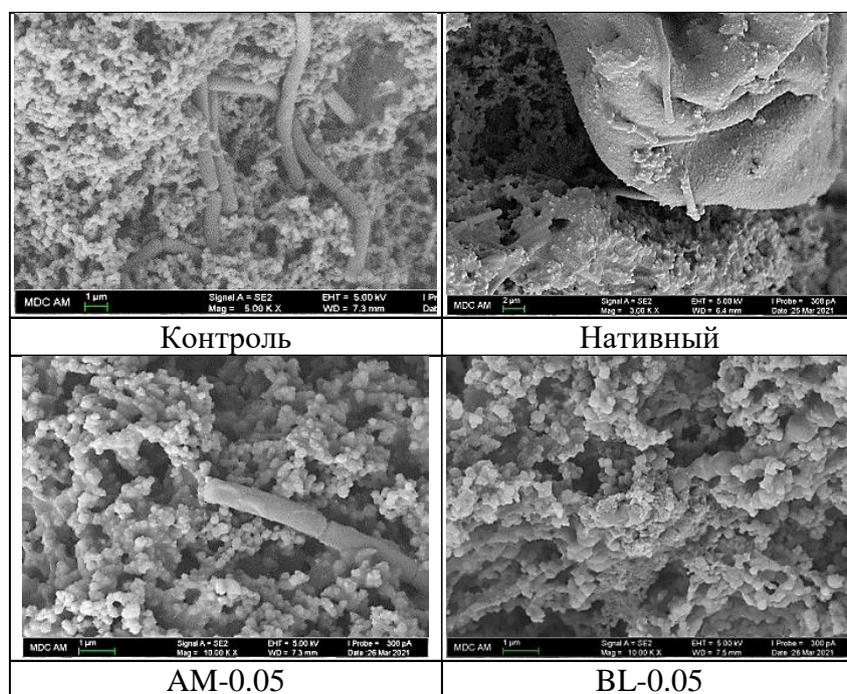


Рисунок 23 – СЭМ-фотографии йогуртов с крахмалами

Проведена товароведная оценка, учитывающая не только общепринятые показатели ГОСТ 31981-2013, но и другие показатели: вязкость, сумму полисахаридов, синерезис. В результате выявлено, что наибольшую оценку получил йогурт с крахмалом BL-0.05.

Для удешевления процесса получения обезжиренных КМП со стабильной текстурой была усовершенствована технологическая схема получения КМП термостатным способом с дополнительной стадией ферментной обработки крахмального сырья в молочной смеси (рисунок 24).

С помощью многофакторного эксперимента установлены оптимальные условия модификации крахмала, получены йогурты с разными вариантами ферментной модификации.

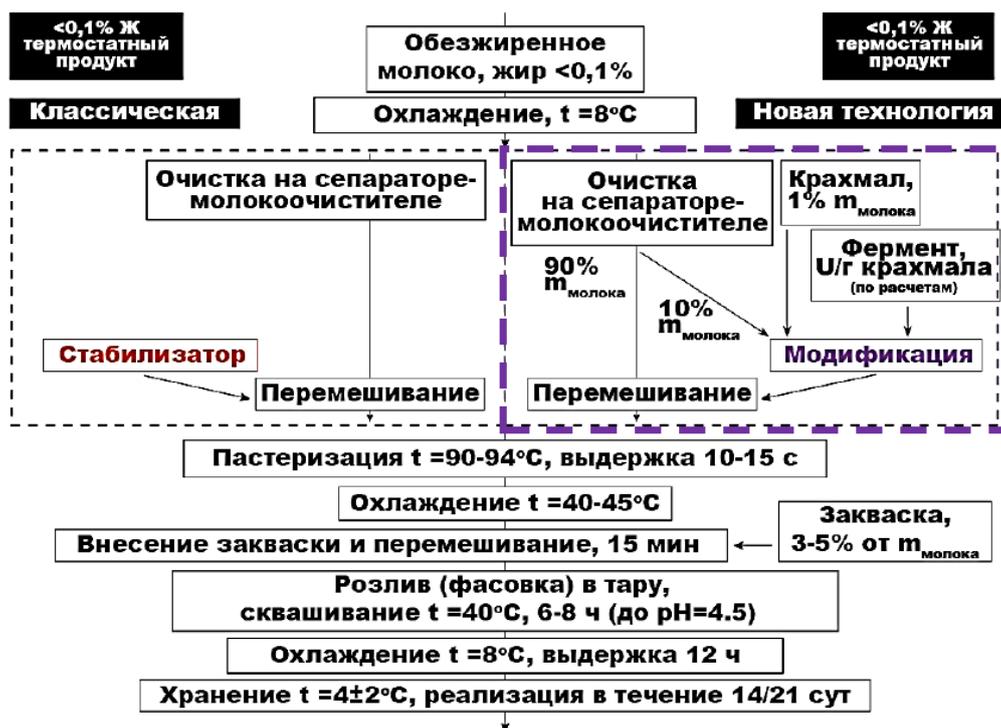


Рисунок 24 – Схема получения стабилизированного йогурта по усовершенствованной технологии

Получены поверхностные отклики более чем по 10 параметрам в продуктах, установлены формулы зависимостей параметров йогуртов от факторов (таблица 9).

Таблица 9 – Формулы зависимостей для ряда параметров

Параметр	Уравнение регрессии	Ограничения
Твердость ( $X_{ТВ}$ )	$35,27 + 0,022x_1 + 4,72x_2 - 0,0004x_1x_1 + 0,061x_1x_2 - 18,54x_2x_2$	$32 \leq X_{ТВ} \leq 36,0$
Эластичность ( $X_{Э}$ )	$0,55 - 0,003x_1 - 0,98x_2 + 4,83E-5x_1x_1 - 0,002x_1x_2 + 2,19x_2x_2$	$0,38 \leq X_{Э} \leq 0,54$
Вязкость ( $X_{В}$ )	$2060,21 + 20,15x_1 + 5446,47x_2 - 0,18x_1x_1 - 33,40x_1x_2 - 8901,60x_2x_2$	$2075 \leq X_{В} \leq 3230$
Синерезис ( $X_{С}$ )	$17,95 - 0,24x_1 - 48,01x_2 + 2,70E-3x_1x_1 + 0,10x_1x_2 + 65,14x_2x_2$	$6 \leq X_{С} \leq 17$

Регрессионный анализ позволил выявить оптимальные условия модификации для картофельного крахмала: время 33 мин, доза 0,316 ед/г крахмала. По усовершенствованной технологии были выработаны обезжиренные йогурты со стабилизированной структурой, проведено их хранение в течение 28 сут. Характер колебания уровня кислотности свидетельствует о положительном влиянии ФМК на сохранность МКБ йогурта, выявлено снижение постзакислительных процессов. Низкий уровень глюкозы при закладке продукта на хранение свидетельствует об интенсификации метаболических процессов в вариантах с крахмалами. Присутствие крахмалов не интенсифицирует протеолитические процессы, не наблюдается повышенного накопления

пептидов. Йогурт с VL-крахмалом показал улучшение структуры, через 28 сут в этом варианте синерезис был ниже, а вязкость и ВУС выше, чем в контроле. Это согласуется с ранее полученными результатами в части классической технологии модификации крахмала. Антиоксидантные свойства йогуртов с VL-крахмалами были выше на всем протяжении срока хранения.

Для доказательства роли ФМК в формировании добавленной функциональности проведены тесты *in vivo* на половозрелых крысах. Выявлено, что регулярное потребление йогурта с разными ФМК позволяет существенно снизить уровень триглицеридов (на 17%), холестерина (на 15–20%) и общих липидов (на 34%), улучшается белковый обмен через снижение креатинина (на 17–29%) и повышение альбумина (на 26%). Независимо от присутствия крахмала йогурты при регулярном потреблении способны снижать уровень глюкозы в крови (на 11–13%). Йогурты с крахмалами VL и AM эффективнее подавляли развитие кишечной палочки и стафилококка в толстом кишечнике, что, возможно, связано с протекторной ролью крахмалов в отношении МКБ в составе йогурта.

**Глава 6. Научно-практическое обоснование совместного применения пробиотического штамма *Lactiplantibacillus plantarum* AG10 и ФМК в технологии КМП.** С учетом всех функциональных эффектов, выявленных на стадиях разработки пробиотического йогурта и йогурта с включением стабилизатора, осуществлено соединение этих подходов. Для выпуска йогурта с добавленной функциональностью были применены перспективный штамм *L. plantarum* AG10 и модификация крахмала в молочной смеси по приведенной выше схеме.

В йогуртах с AG10 и ФМК наблюдалось нормальное накопление молочной кислоты; при хранении в этих вариантах накопление кислотности на 10°Т меньше по сравнению с классическим йогуртом. Совместное применение AG10 и ФМК позволило сохранить наибольшую численность МКБ через 21 сут хранения (более 10<sup>9</sup> КОЕ/г) (рисунок 25). Выбранный подход позволил многократно стимулировать синтез ЭПС в йогуртах (рисунок 26).

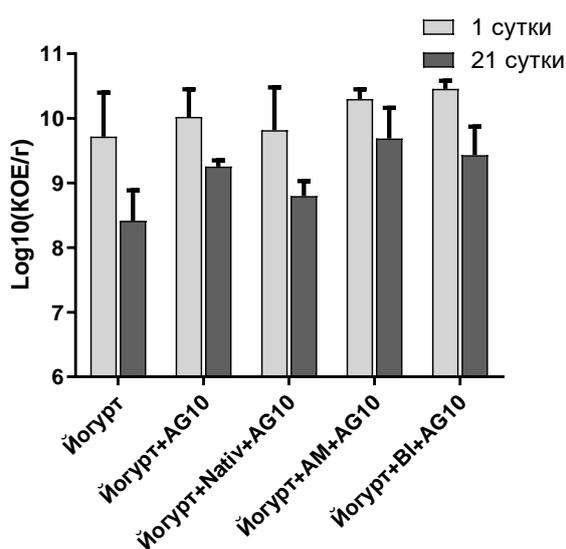


Рисунок 25 – Численность МКБ в йогуртах

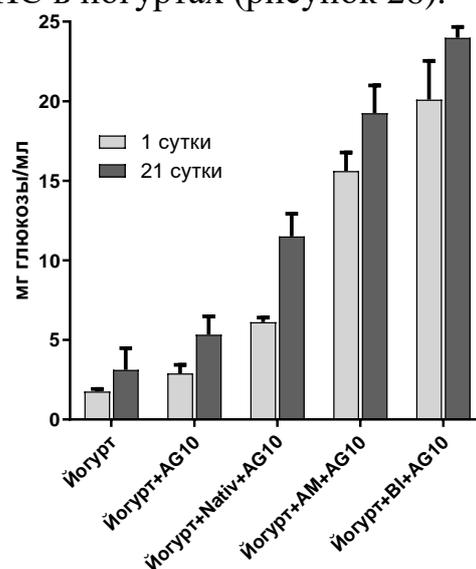


Рисунок 26 – Сумма экзополисахаридов в йогуртах

Применение нового штамма AG10 в совокупности со стабилизатором по предлагаемой технологии значительно улучшило структуру: в частности, снизился синерезис в 2 раза, повысилась вязкость (рисунок 27).

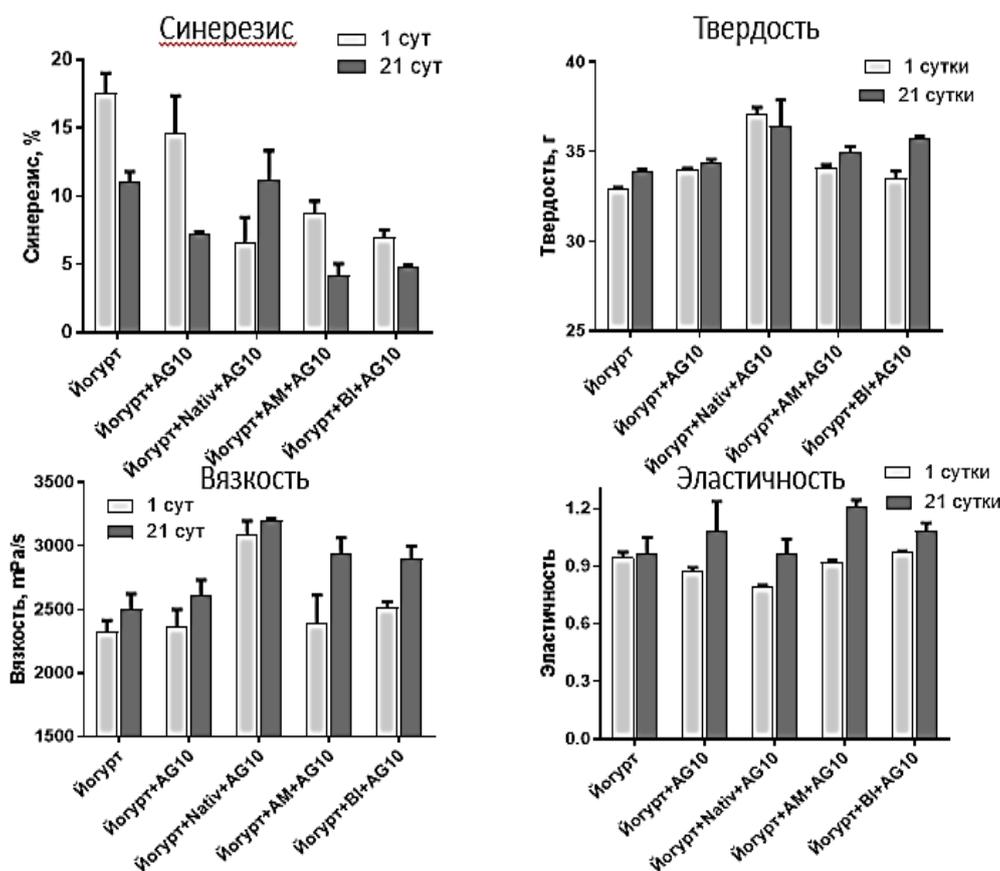


Рисунок 27 – Структурно-механические показатели качества обезжиренных йогуртов с *L. plantarum* AG10 и ФМК (усовершенствованная технология)

Удалось получить пробиотический йогурт одновременно с текстурой менее твердой, чем у нативного крахмала, но более эластичной по сравнению со всеми другими вариантами. Сочетание твердости и эластичности положительно повлияло на органолептическую оценку. Применение ФМК и AG10 позволило получить пробиотический йогурт с нежной кремообразной консистенцией, приятным сливочным вкусом без излишней кислотности (рисунок 28). Йогурт с BL-крахмалом получил самые высокие оценки.

Примененный подход позволил повысить антиоксидантную активность йогуртов: общую РСА на 25% и гидрок-

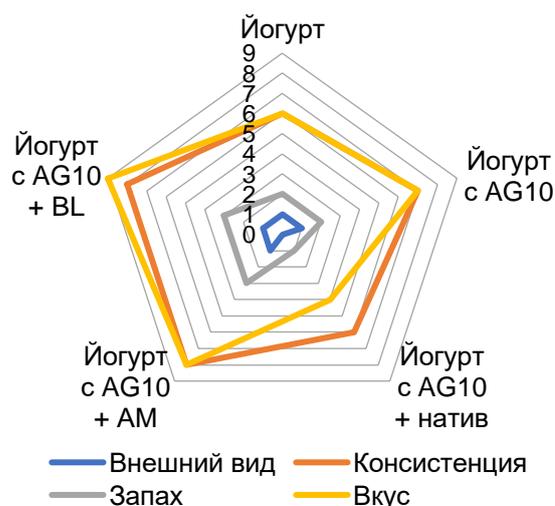


Рисунок 28 – Профилограмма органолептических показателей йогуртов в конце срока хранения (21 сут)

силрадикал-связывающую на 10%. Совместное применение пробиотического штамма AG10 и модификации крахмала амилазой *B. licheniformis* (BL-образец) привело к наибольшему синергическому эффекту для АОА. Выявлена обратная корреляция уровня глюкозы, лактозы от титруемой кислотности, что закономерно, поскольку углеводы используются в качестве ростового субстрата. Положительно коррелируют когезия и клейкость, которые при хранении приобретают связь с уровнем ЭПС. Результаты работы позволяют рекомендовать внедрение комбинации *L. plantarum* AG10 и ФМК в производство обезжиренных КМП для улучшения их функциональных, структурно-механических и потребительских характеристик.

Оценка влияния йогурта с пробиотическим штаммом *L. plantarum* AG10 и крахмалом на общие физиологические ответы половозрелых крыс линии Вистар показала, что пробиойогурт-BL способствует более эффективному потреблению кормов, при этом замедляя набор массы тела (таблица 10).

Таблица 10 – Функциональные показатели крыс при потреблении пробиотических йогуртов, в том числе с ФМК BL-0.05, показатели через 42 сут эксперимента

Показатель	Контроль	Пробиойогурт	Пробиойогурт+BL-0.05
Эффективность потребления корма	104	127	126
Абсолютный прирост, г	31,6±6,2	25,6±7,8	26,6±5,8

Введение стабилизатора усиливает функциональное воздействие пробиойогуртов на липидный обмен, снижая холестерин на 24%, триглицериды на 40%, липопротеиды разной плотности на 16% и общие липиды на 16% (рисунок 29); выявлено статистически значимое снижение перекисного и тиобарбитурового числа печени крыс, обусловленное АОА пробиойогурта-BL.

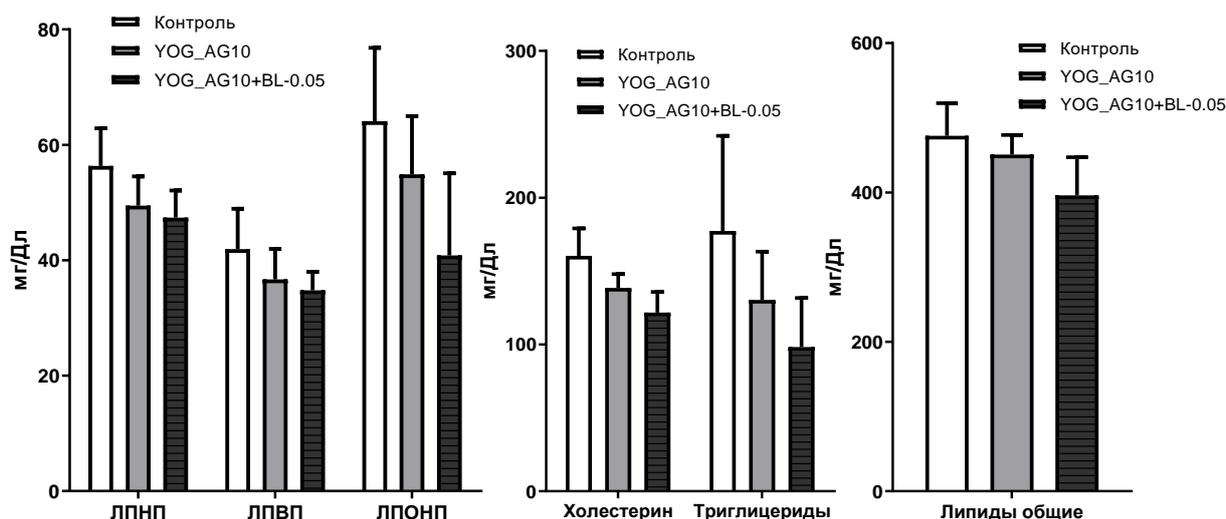


Рисунок 29 – Показатели липидного обмена крыс при введении в рацион пробиотических йогуртов, в том числе с ФМК BL-0.05, через 42 сут эксперимента

ПКА показал (рисунок 30), что группы «пробиойогурт» и «контроль» не имеют точек пересечения, тогда как группа «пробиойогурт с ФМК» имеет незначительные перекрытия с контролем и пробиойогуртом. Комплекс-

ный анализ подтвердил, что продукт обладает улучшенными технологическими и органолептическими характеристиками.

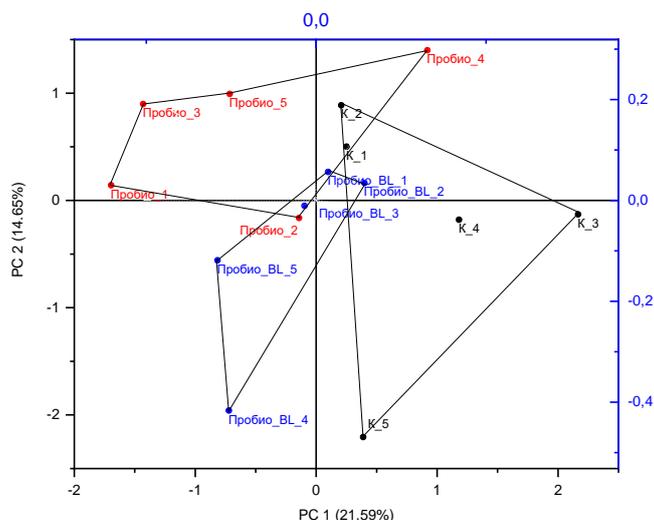


Рисунок 30 – Принципиальный компонентный анализ показателей крыс

Разработанная технология универсальна, легко адаптируется к использованию различных заквасок, что делает ее применимой для широкого ассортимента обезжиренных и низкожирных КМП.

Расчетана себестоимость йогурта по новой технологии, удорожание составило 0,95%, тогда как йогурты с коммерческим модифицированным крахмалом дороже на 4,8% (таблица 11).

Таблица 11 – Расчет себестоимости обезжиренного йогурта, изготовленного по разной технологии

Статья расходов	Сумма, р.		
	Йогурт 0,1 % (контроль)	Йогурт 0,1 % + E1442*	Йогурт 0,1 % + технология (E1405)**
Стоимость 1 м <sup>3</sup> молока-сырья	34 180,00	34 180,00	34 180,00
Стоимость 1 м <sup>3</sup> крахмала	–	1 650,00	325,00
Стоимость 1 м <sup>3</sup> фермента	–	–	1,32
Стоимость 1 т лиофилизированной закваски «Йогурт»	201,94	201,94	201,94
Итоговая себестоимость 1 т готового продукта	34 381,94	36 031,94	34 708,26
Удорожание в сравнении с контролем	–	4,80	0,95
Примечание * Картофельный химически модифицированный крахмал. ** Картофельный нативный крахмал.			

В производственных условиях для реализации усовершенствованной технологии предполагается использование дополнительной емкости, в кото-

рой проводится модификация крахмала в молочной смеси с последующим соединением смеси с общим объемом молока и последующей гомогенизацией, пастеризацией в рамках общепринятого регламента (рисунок 29). Были разработаны техническая документация на три продукта: «Пробио\_йогурт» ТИ и ТУ 10.51.52.-002-02069639-2025, «Иммуно\_йогурт» ТИ и ТУ 10.51.52-003-02069639-2025, «Биоферм\_йогурт» ТИ и ТУ 10.51.52-004-02069639-2025.

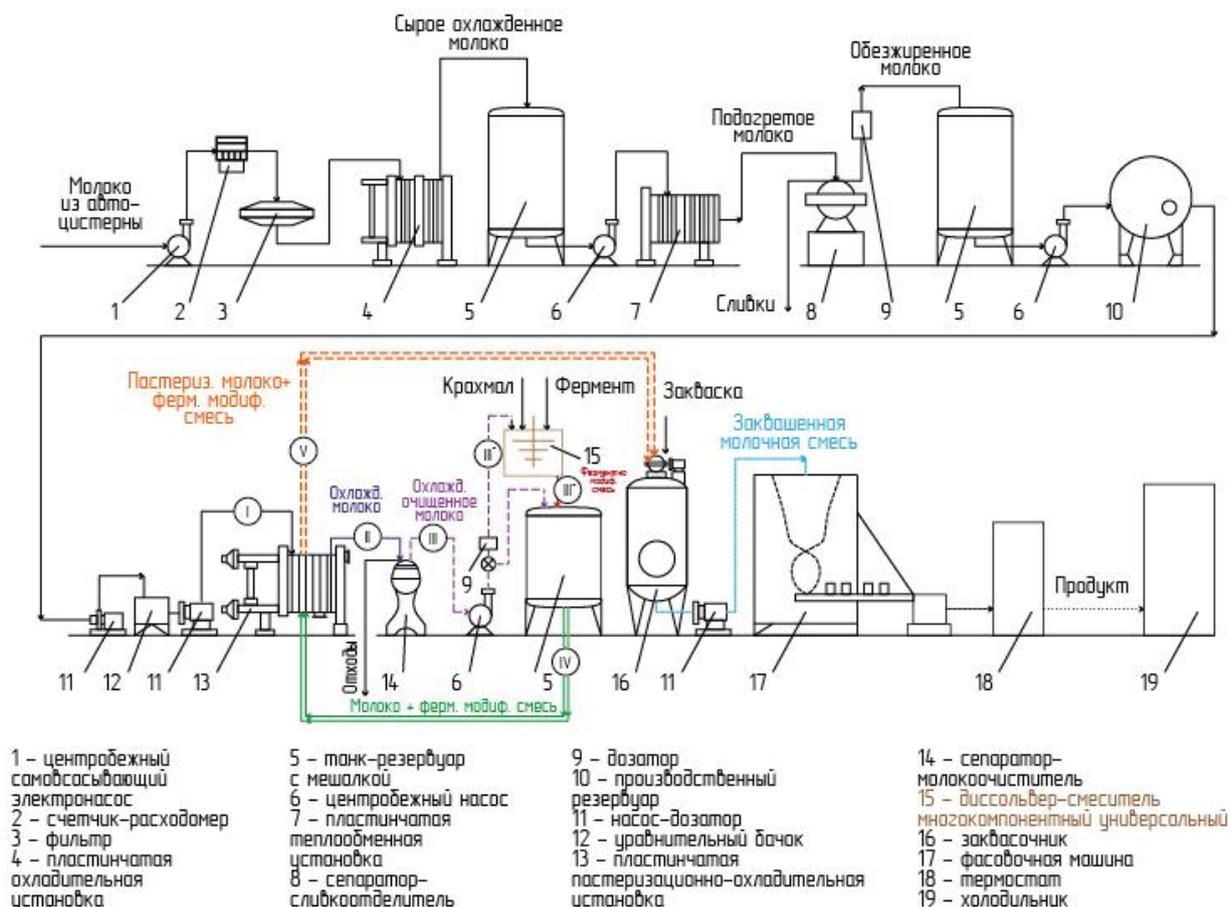


Рисунок 31 – Аппаратурная схема производства кисломолочного продукта с *L. plantarum* AG10 и ФМК BL-0.05 по усовершенствованной технологии

## Заключение

1. На основе аргументированного скрининга из природных источников Татарстана определены перспективные штаммы МКБ – *Lactiplantibacillus plantarum* AG1, AG9, AG10, AG15, *Limosilactobacillus fermentum* AG8 и *Lacti-caseibacillus rhamnosus* AG16, с высокими пробиотическими свойствами – устойчивость к желчи и кислотам, антагонистическая активность против условно-патогенных бактерий; кислотообразующая, липолитическая и холестерин-ассимилирующая активность (наибольшая у AG9, AG8 и AG16), что делает их перспективными для технологии функциональных КМП.

2. Комплексная оценка выявила закономерности изменения молочного сырья под воздействием новых МКБ: а) новые МКБ ферментируют обезжиренное молоко за 8 ч с меньшей скоростью подкисления, чем промышленный *L. bulgaricus*, при этом предотвращая закисление при хранении; б) штаммы

(кроме AG1) обладают умеренной протеолитической активностью, повышая биодоступность белков; AG15 и AG16 снижают остаточный жир до 0,14–0,16%; в) AG10 улучшает текстуру, создавая вязкий эластичный гель; г) AG9, AG10 и AG15 усиливают АОА; д) ферментированное AG9 и AG16 молоко активно подавляет патогены (*E. coli*, *S. aureus*). Все штаммы имеют высокую жизнеспособность ( $10^9$  КОЕ/г) в течение 14 сут хранения, что указывает на их высокий потенциал для функциональных КМП.

3. Новые штаммы при сквашивании молока синтезируют ЭПС с уникальным химическим составом, микроструктурой и набором АОА. Показаны различия в углеводном составе: основными углеводами ЭПС у штаммов AG1, AG9, AG10 и AG16 выступают глюкоза и галактоза в разных соотношениях, у штамма AG8 – фруктоза. Выявлены высокая радикал-, гидроксилрадикал-, супероксидрадикал-связывающая активность; различия в АОА обуславливаются микроструктурными и химическими особенностями ЭПС.

4. В доклинических исследованиях молока, ферментированного монокультурами AG8, AG9 и AG10, подтвержден функциональный потенциал КМП. В крови лабораторных животных повышается на 20% гемоглобин, снижаются на 10–15% лимфоциты, на 7–27% холестерин, на 27% перекисное число и на 13–23% малоновый альдегид как маркеры окислительного стресса печени. КМП как носители пробиотических МКБ существенно влияют на микробиоту кишечника, способствуя росту бутират-синтезирующих представителей семейств *Ruminococcaceae* и *Lachnospiraceae*, снижению бактерий рода *Staphylococcus*. Выявлены штамм-специфические эффекты: AG8 улучшает состояние печени, проявляя АОА, подавляет условно-патогенную микробиоту; AG9 снижает уровень глюкозы в крови, обогащает разнообразие микробиома; AG10 повышает эффективность усвоения кормов, иммунной ответа и общее богатство микробиома кишечника.

5. Выявлено, что пробиотические штаммы AG8, AG9 и AG10 как сокультуры при производстве обезжиренного йогурта повышают качество и функциональность продукта, не нарушая процессов ферментации; отсутствует антагонизм между пробиотическими культурами и заквасочными культурами *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*. Пробиотические йогурты отличаются повышенной вязкостью, прочностью, упругостью, эластичностью и ВУС, что создает органолептические ощущения, сравнимые с полножирным йогуртом. Повышенный в 1,5–2 раза синтез ЭПС усиливает в 2 раза их АОА. Присутствие новых штаммов в йогурте увеличивает в 1,4–1,6 раза накопление низкомолекулярных биоактивных пептидов, повышает их АОА на 5–7%.

6. Научно обосновано содержание штамма *L. plantarum* AG10 в составе закваски для производства йогурта – 30%, что обеспечивает оптимальные технологические, антиоксидантные и потребительские параметры КМП при хранении: замедляет кислотонакопление на 10 °С, увеличивает синтез ЭПС в 2 раза, увеличивает на 10–20% АОА, улучшает структурно-механические (вязкость, синерезис) и органолептические свойства (консистенция и вкус), повышает на 1–2 порядка выживаемость МКБ, продлевает срок хранения до 21 сут без использования стабилизатора.

7. Установлено, что применение ФМК целесообразно в технологии КМП для обеспечения функциональных и приемлемых органолептических свойств.

7.1. Исследование ФМК, модифицированных бактериальными амилазами, выявило закономерности, обусловленные видом фермента и временем обработки: изменяется соотношение амилозы и амилопектина, уменьшается вязкость в 15 раз по сравнению с нативным крахмалом, повышается растворимость (до 16,13%), повышается водосвязывающая (до 2,27 г/г) и эмульгирующая (до 9,67 г/г) способность. На микроструктурном уровне показаны фрагментация гранул, образование мелких частиц с неровными краями, увеличение дисперсности. Обработка крахмалов ферментами в низкой дозе повышает их устойчивость к  $\alpha$ -амилазе на 30–50%, увеличивает АОА на 20–40%.

7.2. Использование ФМК в технологии обезжиренных КМП стабилизирует титруемую кислотность, повышает жизнеспособность МКБ при хранении. ВЛ-крахмалы снижают синерезис и повышают ВУС, обеспечивают густую гладкую консистенцию, насыщенный вкус и стабильный цвет продукта, формируют однородную микроструктуру, увеличивают АОА КМП. Предложена схема интеграция ферментной модификации крахмала непосредственно в молочную смесь. Математическим моделированием определены оптимизированные параметры обработки (30–35 мин, 0,30–0,33 U/г), обеспечивающие наилучшую структурно-механическую стабильность КМП, повышение вязкости в 1,4–1,7 раза и АОА на 10–15%. В экспериментах *in vivo* КМП с ФМК улучшает в 1,1–1,2 раза усвояемость кормов, снижает выраженность воспалительных процессов (уровень лейкоцитов, лимфоцитов ниже в 1,5–2 раза), уровень холестерина (на 15–20%) триглицеридов (на 17%), глюкозы (на 11–13%), креатинина (на 17–29%), количество условно-патогенных бактерий (*E. coli* на 80%, стафилококков на 70%) в кишечнике.

8. Установлено, что совместное применение *L. plantarum* AG10 и ФМК в технологии йогурта снижает нарастание кислотности на 10°Т при хранении, улучшает структурно-механические показатели (синерезис, вязкость, упругость, эластичность), увеличивает уровень бактериальных ЭПС в 4–5 раз, повышает на один порядок выживаемость МКБ, на 25% радикал-связывающую и на 10% гидроксилрадикал-связывающую активность, улучшает органолептические свойства (консистенцию, вкус). Медико-биологически подтверждена функциональность пробиотического йогурта: при регулярном потреблении на 25% повышается эффективность усвоения кормов, снижается на 24% холестерин, на 40% триглицериды, на 16% ЛПНП и ЛПВП.

9. Разработаны комплекты технической документации на КМП с функциональными свойствами: «Пробио\_йогурт» ТИ и ТУ10.51.52.-002-02069639-2025, «Иммуно\_йогурт» ТИ и ТУ 10.51.52-003-02069639-2025, «Биоферм\_йогурт» ТИ и ТУ 10.51.52-004-02069639-2025. Штамм *L. plantarum* AG10 прошел национальное патентное депонирование во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов НИЦ «Курчатовский институт» под номером В-14328. Проведена промышленная апробация, показавшая высокие технологические и потребительские характеристики КМП.

## Список работ, опубликованных автором по теме диссертации

### Монографии

1. Габдукаева, Л.З. Научно-практические аспекты использования биомодифицированных крахмалов в технологии мясных продуктов / Л.З.Габдукаева, **Е. В. Никитина**, О.А.Решетник. – Казань: КНИТУ, 2015. – 139 с. – ISBN 978-5-7882-1806-9.
2. **Никитина, Е. В.** Биотехнологические методы коррекции качества обезжиренных и маложирных кисломолочных продуктов / Е.В.Никитина, А.И.Вафина, Г.О.Ежкова. – Казань: КНИТУ, 2019. – 124 с. – ISBN 978-5-7882-2761-0.

### Публикации в журналах из списка ВАК К1, К2

3. **Никитина, Е. В.** Модифицированные крахмалы в мясоперерабатывающей промышленности и их биобезопасность / Е.В.Никитина, В.Я.Пономарев, О.А.Решетник // Естественные и технические науки. – 2006. – №1. – С.295–299. (К2)
4. **Никитина, Е. В.** Влияние нитрита натрия на химико-технологические и генотоксические свойства модифицированных картофельных крахмалов при термообработке / Е.В.Никитина, Л.З.Габдукаева // Вестник Казанского технологического университета. – 2011. – №19. – С.154–160. (К2)
5. **Никитина, Е. В.** Влияние нитрита натрия на генотоксичность модифицированных картофельных крахмалов при термообработке / Е.В.Никитина // Вестник Казанского технологического университета. – 2011. – №18. – С.125–129. (К2)
6. **Никитина, Е. В.** Сравнительная характеристика физико-химических и морфологических свойств модифицированных картофельных крахмалов / Е.В.Никитина, Л.З.Габдукаева // Вестник Казанского технологического университета. – 2012. – Т.15, №11. – С.228–230. (К2)
7. **Никитина, Е. В.** Сравнительный анализ устойчивости модифицированных картофельных крахмалов / Е.В.Никитина, Л.З.Габдукаева // Вестник Казанского технологического университета. – 2012. – Т.15, №11. – С.220–223. (К2)
8. Габдукаева, Л.З. Поликомпонентные пищевые продукты с функциональными свойствами / Л.З.Габдукаева, **Е. В. Никитина** // Вестник Казанского технологического университета. – 2013. – Т.16, №10. – С.211–212. (К2)
9. **Никитина, Е. В.** Биотехнологические аспекты применения амилолитических ферментов в пищевой промышленности / Е.В.Никитина, О.А.Решетник, Р.А.Губайдуллин // Вестник Казанского технологического университета. – 2013. – Т.16, №13. – С.148–153. (К2)
10. **Никитина, Е. В.** Влияние обработки альфа или бета амилазами на технологические и морфологические свойства картофельного крахмала / Е.В.Никитина, Л.З.Габдукаева, Р.А.Губайдуллин // Вестник Казанского технологического университета. – 2013. – Т.16, №14. – С.148–150. (К2)
11. **Никитина, Е. В.** Сравнительный анализ устойчивости ферментированных картофельных крахмалов, полученных с помощью мультиферментных препаратов / Е.В.Никитина, Р.А.Губайдуллин // Вестник Казанского технологического университета. – 2013. – Т.16, №20. – С.157–159. (К2)
12. Габдукаева, Л.З. Резистентные крахмалы как функциональный ингредиент при производстве продуктов питания / Л.З.Габдукаева, **Е. В. Никитина**,

О. А. Решетник // Вестник Казанского технологического университета. – 2014. – Т. 17, № 23. – С. 253–255. (K2)

13. **Никитина, Е. В.** Влияние мультиферментной обработки на микроструктурные и технологические свойства картофельного крахмала / Е. В. Никитина, Р. А. Губайдуллин, М. И. Зелди // Вестник Казанского технологического университета. – 2014. – Т. 17, № 20. – С. 188–191. (K2)

14. **Никитина, Е. В.** Изменения физико-химических и биологических свойств картофельных крахмалов после обработки мультиферментными препаратами / Е. В. Никитина, Р. А. Губайдуллин, Л. З. Габдукаева, М. И. Зелди // Вестник Казанского технологического университета. – 2014. – Т. 17, № 9. – С. 186–189. (K2)

15. **Никитина, Е. В.** Бактериальные источники амилолитических ферментов: характеристика и нетрадиционное применение / Е. В. Никитина // Вестник Технологического университета. – 2015. – Т. 18, № 19. – С. 245–248. (K2)

16. **Nikitina, E. V.** The effect of enzyme modified starches on the quality and biosafety of meat products / E. V. Nikitina, L. Z. Gabdukaeva, M. S. Egkova // Вестник Технологического университета. – 2015. – Т. 18, № 16. – С. 265–269. (K2)

17. **Никитина, Е. В.** Скрининг новых молочнокислых бактерий для дальнейшего использования в производстве маложирного йогурта / Е. В. Никитина, А. И. Вафина, А. Р. Каюмов // Вестник Технологического университета. – 2016. – Т. 19, № 22. – С. 172–175. (K2)

18. **Никитина, Е. В.** Изменения микроструктуры картофельного крахмала при модификации бактериальной амилазой *Bacillus subtilis* в зависимости от концентрации фермента / Е. В. Никитина // Вестник Технологического университета. – 2016. – Т. 19, № 7. – С. 133–136. (K2)

19. **Никитина, Е. В.** Влияние новых штаммов молочнокислых бактерий на качество обезжиренного сквашенного молока / Е. В. Никитина, А. И. Вафина // Вестник Технологического университета. – 2017. – Т. 20, № 7. – С. 164–166. (K2)

20. Цыганов, М. С. Влияние нагревания на гистологические свойства тапиоковых крахмалов, модифицированных разными амилолитическими бактериальными препаратами / М. С. Цыганов, **Е. В. Никитина** // Вестник Технологического университета. – 2017. – Т. 20, № 20. – С. 123–127. (K2)

21. **Никитина, Е. В.** Физико-химические свойства модифицированных амилосубтилином тапиоковых крахмалов / Е. В. Никитина, М. С. Цыганов // Вестник Технологического университета. – 2017. – Т. 20, № 2. – С. 156–158. (K2)

22. **Никитина, Е. В.** Свойства кукурузных крахмалов, модифицированных мультиферментными препаратами Амилосубтилином и *Bacillus licheniformis* / Е. В. Никитина, Т. А. Юртаева, О. О. Гамула // XXI век: итоги прошлого и проблемы настоящего плюс. – 2018. – Т. 7, № 4(44). – С. 210–214. (K2)

23. **Никитина, Е. В.** Частично гидролизированный бактериальной амилазой кукурузный крахмал как эффективный корректор товарных качеств обезжиренного йогурта / Е. В. Никитина // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. – 2019. – Т. 7, № 4. – С. 13–21. (K1)

24. **Никитина, Е. В.** Химические свойства и органолептические характеристики обезжиренного йогурта с добавлением ферментно модифицированных крахмалов / Е. В. Никитина, Т. А. Юртаева, О. О. Гамула // XXI век: итоги прошлого и проблемы настоящего плюс. – 2019. – Т. 8, № 4(48). – С. 147–152. (K2)

25. Петрова, Т. А. Влияние обезжиренного кисломолочного напитка, полученного при сбраживании штаммами *Lactobacillus fermentum* AG8 и *Lactobacillus plantarum* AG9, на продуктивные показатели крыс / Т. А. Петрова, **Е. В. Никитина**,

А. О. Синельникова [и др.] // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н. Э. Баумана. – 2020. – Т. 244, № 4. – С. 144–147. (K1)

26. **Никитина, Е. В.** Влияние *Lactobacillus plantarum* AG10 на текстурные характеристики обезжиренного сквашенного молока / Е. В. Никитина, А. И. Вафина, Т. А. Петрова // Пищевая промышленность. – 2020. – № 11. – С. 24–27. (K1, Белый список)

27. Юнусов, Э. Ш. Оценка перспективы использования незаквасочного штамма *Lactiplantibacillus plantarum* AG15 в технологиях ферментированных молочных продуктов / Э. Ш. Юнусов, В. Я. Пономарев, **Е. В. Никитина** // Индустрия питания. – 2022. – Т. 7, № 3. – С. 5–17. (K2)

28. Цыганов, М. С. Оптимизация ферментной модификации крахмала для коррекции текстуры обезжиренного кисломолочного продукта / М. С. Цыганов, **Е. В. Никитина** // Индустрия питания. – 2024. – Т. 9, № 1. – С. 60–72. (K2)

29. Гаврилова, Е. А. Эффект пробиотических лактобактерий на микробиоту кишечника и морфолого-физиологические показатели перепелов / Е. А. Гаврилова, О. С. Карасева, **Е. В. Никитина** [и др.] // Микробиология. – 2024. – Т. 93, № 4. – С. 487–496. (K2, Белый список)

30. **Никитина, Е. В.** Исследование возможности применения пробиотического штамма *L. plantarum* в технологии полутвердого сыра / Е. В. Никитина, Н. М. Астахов, Э. Ш. Юнусов // Вестник КрасГАУ. – 2025. – № 8 (221). – С. 274–286. (K1, Белый список)

31. **Никитина, Е. В.** Оценка перспективы использования незаквасочных пробиотических молочнокислых бактерий в технологии высокожирных продуктов / Е. В. Никитина, Н. М. Астахов, Т. А. Петрова // Агропромышленные технологии Центральной России. – 2025. – № 1 (35). – С. 70–78. (K2)

### Публикации в журналах, индексируемых в Scopus и WoS

32. Vafina, A. Physicochemical and morphological characterization of potato starch modified by bacterial amylases for food industry applications / A. Vafina, G. Egkova, **E. Nikitina** [et al.] // Journal of chemistry. – 2018. – Vol. 2018. – Art. 1627540. (Q2, Белый список)

33. Gavrilova, E. Newly isolated lactic acid bacteria from silage targeting biofilms of foodborne pathogens during milk fermentation / E. Gavrilova, E. Anisimova, **E. Nikitina** [et al.] // BMC Microbiology. – 2019. – Vol. 19, № 1. – Art. 248. (Q2, Белый список)

34. **Nikitina, E.** Acidity dynamic in low-fat yogurt with the addition of potato starch modified by bacterial amylases / E. Nikitina, R. A. Riyanto // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. – 2019. – Vol. 383. – Art. 012018.

35. **Nikitina, E.** Potato starch as a component increasing the antioxidant potential of yogurt / E. Nikitina // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. – 2021. – Vol. 715, № 1. – Art. 012072.

36. Pavlova, A. Whole genome sequence data of *Lactobacillus fermentum* AG8, the producer of antibacterial peptides // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. – 2021. – Vol. 715, № 1. – Art. 012071.

37. **Nikitina, E. V.** Physico-chemical and antioxidant properties of skimmed varenets (slavic baked milk yogurt) mixed with enzyme-modified potato starches / E. V. Nikitina, T. A. Yurtaeva, M. S. Tsyganov, G. O. Ezhkova // Current research in nutrition and food science. – 2021. – Vol. 9, № 1. – P. 88–99. (Q3, Белый список)

38. Karaseva, O.S. Antagonistic activity of newly isolated *Lactobacillus* strains against *Morganella morganii* / O.S. Karaseva, Yu.S. Yudina, **E. V. Nikitina** [et al.] // *Opera medica et physiologica*. – 2022. – Vol. 9, №3. – P. 62–76. (*Q4, Белый список*)
39. **Nikitina, E.** Textural and functional properties of skimmed and whole milk fermented by novel *Lactiplantibacillus plantarum* AG10 strain isolated from silage / E. Nikitina, T. Petrova, A. Vafina [et al.] // *Fermentation*. – 2022. – Vol. 8, №6. – Art. 290. (*Q2, Белый список*)
40. Tsyganov, M.S. Cassava starch as an effective texture corrector of fat-free dairy products based on symbiotic starter culture / M.S. Tsyganov, G.O. Ezhkova, **E. V. Nikitina**, M.A. Kharitonova // *International journal of food science*. – 2022. – Vol. 2022. – Art. 1087043. (*Q2, Белый список*)
41. **Nikitina, E.** Potential use of *Lactiplantibacillus plantarum* strains for fermentation of fat milk / E. Nikitina // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. – 2022. – Vol. 978, №1 – Art. 012047.
42. Sungatullina, A. Effect of flaxseed mucilage on the probiotic, antioxidant, and structural-mechanical properties of the different *Lactobacillus* cells / A. Sungatullina, T. Petrova, **E. Nikitina** [et al.] // *Fermentation*. – 2023. – Vol. 9, №5. – Art. 486. (*Q2, Белый список*)
43. **Nikitina, E.** The profile of exopolysaccharides produced by various *Lactobacillus* species from silage during not-fat milk fermentation / E. Nikitina, T. Petrova, A. Sungatullina [et al.] // *Fermentation*. – 2023. – Vol. 9, №2. – Art. 197. (*Q2, Белый список*)
44. Gavrilova, E. Repression of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* by *Lactiplantibacillus plantarum* strain AG10 in *Drosophila melanogaster* in vivo model / E. Gavrilova, V. Kostenko, **E. Nikitina** [et al.] // *Microorganisms*. – 2023. – Vol. 11, №5. – Art. 1297. (*Q2, Белый список*)
45. Sungatullina, A. Investigation on fermented milk quality after the addition of flaxseed mucilage and the use of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Lactiplantibacillus plantarum* AG9 / A. Sungatullina, T. Petrova, **E. Nikitina** // *Frontiers in bioscience – Elite*. – 2024. – Vol. 16, №2. – Art. 11. (*Q3, Белый список*)
46. Khrundin, D.V. Chemical, textural and antioxidant properties of oat-fermented beverages with different starter lactic acid bacteria and pectin / D.V. Khrundin, **E. V. Nikitina** // *BioTech*. – 2024. – Vol. 13, №4. – Art. 38. (*Q2, Белый список*)
47. Mikshina, P. Influence of flaxseed mucilage on the formation, composition, and properties of exopolysaccharides produced by different strains of lactic acid bacteria / P. Mikshina, M. Kharina, E. Nikitina [et al.] // *International journal of biological macromolecules*. – 2024. – Vol. 281. – Art. 136092. (*Q1, Белый список*)
48. **Nikitina, E.** Effect of carbon source on the synthesis and antioxidant properties of exopolysaccharides of lactic acid bacteria / E. Nikitina // *BIO Web of Conferences*. – 2025. – Vol. 181. – Art. 02021.
49. **Nikitina, E.** Effect of sour creams fermented by *Limosilactobacillus fermentum* AG8 and *Lactiplantibacillus plantarum* AG9 on mice / E. Nikitina // *Current research in nutrition and food science*. – 2025. – Vol. 13, №2. – P. 702–714. (*Q3, Белый список*)

### Объекты интеллектуальной собственности

50. Свидетельство о гос. регистрации базы данных №2024621740 Рос. Федерация. Морфофункциональное состояние органов пищеварения перепелов при применении в кормлении синбиотика на основе штаммов лактобацилл и агромине-

ралов: № 2024621316: заявл. 08.04.2024: опубл. 19.04.2024 / В. О. Ежков, А. М. Ежкова, **Е. В. Никитина** [и др.].

51. Свидетельство о гос. регистрации базы данных № 2024622165 Рос. Федерация. Структурно-функциональное состояние органов пищеварения перепелов при воздействии пробиотиков на основе штаммов лактобацилл: № 2024621753: заявл. 06.05.2024: опубл. 21.05.2024 / В. О. Ежков, А. М. Ежкова, **Е. В. Никитина** [и др.].

52. Патент № 2849616 Рос. Федерация. Штамм *Lactiplantibacillus plantarum* S10 ВКПМ В-14328 для силосования корма и производства кормовых добавок: № 2025108594: заявл. 07.04.2025: опубл. 28.10.2025 / Е. А. Гаврилова, Д. Р. Ярулина, **Е. В. Никитина** [и др.].

### Список сокращений и условных обозначений

- АОА – антиоксидантная активность
- ВУС – влагоудерживающая способность
- КМП – кисломолочный продукт
- ЛПВП – липопротеин высокой плотности
- ЛПНП – липопротеин низкой плотности
- МКБ – молочнокислые бактерии
- СЭМ – сканирующая электронная микроскопия
- РСА – радикал-связывающая активность
- РКА – принципиальный компонентный анализ
- ЭПС – экзополисахариды

Подписано в печать 27.02.2026.

Формат 60 × 84 1/16. Гарнитура Таймс. Бумага офсетная. Печать плоская.

Уч.-изд. л. 2,0. Тираж 150 экз. Заказ

Отпечатано с готового оригинал-макета в подразделении оперативной полиграфии  
Уральского государственного экономического университета  
620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта/Народной Воли, 62/45