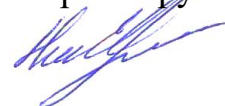


Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический
университет»

На правах рукописи



Никитина Елена Владимировна

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

Диссертация на соискание ученой степени
доктора технических наук

Специальность 4.3.5. Биотехнология продуктов питания
и биологически активных веществ

Научный консультант:
доктор биологических наук, профессор
Ежкова Галина Олеговна

Казань – 2026

Оглавление

Введение.....	6
1 Аналитический обзор литературы.....	16
1.1 Функциональные продукты на основе молочного сырья.....	18
1.1.1 Молочнокислые бактерии и их использование в технологии кисломолочных напитков	19
1.1.2 Заквасочные культуры, сокультуры и сложные ферментирующие консорциумы	21
1.2 Пробиотические молочнокислые бактерии: разнообразие, характеристика, эффекты	23
1.2.1 Лактобациллы как пробиотики.....	27
1.2.2 Пробиотические йогурты: специфика, свойства, эффекты	29
1.2.3 Механизмы реализации пробиотических свойств молочнокислых бактерий.....	31
1.3 Крахмал как потенциально функциональный компонент кисломолочных продуктов.....	36
1.3.1 Функционально значимые свойства крахмалов	36
1.3.2 Ферментная модификация крахмалов	38
1.3.3 Крахмалы как пищевые ингредиенты.....	41
1.3.4 Резистентные крахмалы: способы получения и характеристика.....	42
1.3.5 Применение крахмалов в технологии кисломолочных продуктов	44
Заключение по главе 1	47
2 Методология, материалы и методы исследований	49
2.1 Организация работы	49
2.2 Объекты исследования	51
2.3 Методы исследования.....	52
2.3.1 Методы выделения и идентификации молочнокислых бактерий	52
2.3.2 Методы исследования свойств молочнокислых бактерий	53

2.3.3 Методики выделения и анализа экзополисахаридов	55
2.4 Используемые крахмалы, ферменты и методики для модификации	56
2.5 Методы анализа крахмалов.....	57
2.6 Методики получения сквашенного молока и кисломолочных продуктов	58
2.7 Методы анализа кисломолочных продуктов	59
2.8 Методы анализа антиоксидантных свойств	62
2.9 Методы оценки ингибирования липазы и глюкозидазы	63
2.10 Методика тестирования кисломолочного продукта системе <i>in vivo</i>	63
2.11 Методы анализа микробиоты кишечника и биоинформативный анализ	65
2.12 Статистические методы анализа и обработки информации.....	67
3 Изучение потребительской осведомленности населения о кисломолочной продукции и формулировка научной концепции исследования.....	68
4 Научное обоснование применения новых пробиотических культур молочнокислых бактерий в технологии кисломолочных продуктов функционального назначения.....	76
4.1 Исследование пробиотического, технологического потенциала лактобацилл, выделенных на территории Республики Татарстан	76
4.1.1 Первичное выделение, идентификация и установление пробиотического потенциала новых штаммов лактобацилл	76
4.1.2 Оптимизация питательной среды для выращивания незаквасочных лактобактерий	87
4.2 Исследование технологического потенциала новых штаммов молочнокислых бактерий.....	93
4.2.1 Химические и микробиологические показатели сквашенного обезжиренного молока	93
4.2.2 Текстурные показатели сквашенного обезжиренного молока.....	98
4.2.3 Антиоксидантные и антимикробные свойства сквашенного обезжиренного молока	104
4.3 Исследование роли экзополисахаридов и небелковых компонентов ферментированного молока в формировании антиоксидантных свойств	108

4.4 Оценка функционально-пробиотического потенциала кисломолочных напитков, ферментированных лактобациллами из силоса, в условиях <i>in vivo</i>	124
4.5 Обоснование использования новых штаммов молочнокислых бактерий с пробиотическими свойствами в технологии обезжиренных йогуртов в качестве пробиотической сокультуры	141
4.6 Практическая разработка состава закваски пробиотического йогурта с включением штамма <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> AG10	155
5 Научное обоснование применения картофельного крахмала, модифицированного бактериальными ферментными препаратами амилолитического ряда, в молочной промышленности	169
5.1 Закономерности изменения свойств крахмалов под действием мультиферментных бактериальных препаратов.....	169
5.2 Научно-практическое обоснование применения картофельных крахмалов, модифицированных мультиферментными бактериальными препаратами, в технологии обезжиренных кисломолочных продуктов	191
5.2.1 Обоснование необходимости коррекции качества кисломолочных напитков с низким содержанием жира.....	192
5.2.2 Обоснование применения ферментно модифицированных крахмалов в технологии обезжиренных йогуртов	200
5.2.3 Научное обоснование применения ферментно модифицированных крахмалов в технологии обезжиренного варенца	220
5.2.4 Обоснование функциональных свойств обезжиренных кисломолочных продуктов с внесением ферментно модифицированного крахмала в системе <i>in vivo</i>	227
5.2.5 Совершенствование технологии обработки картофельного крахмала непосредственно в молочном сырье и последующая его апробация	235
5.2.6 Расчет товарной себестоимости продукта	248
Заключение по главе 5	249

6 Научно-практическое обоснование совместного применения пробиотического штамма <i>Lactiplantibacillus plantarum</i> AG10 и ферментно модифицированных крахмалов в технологии кисломолочных продуктов	251
6.1 Оценка качества кисломолочных продуктов	251
6.2 Исследование <i>in vivo</i> функциональных свойств кисломолочного продукта с <i>L. plantarum</i> AG10 и ферментно модифицированным картофельным крахмалом BL-0.05	267
Заключение по главе 6	276
Заключение	279
Список сокращений и условных обозначений	283
Список литературы	284
Приложение А Изменение количества молочной кислоты во времени при варьировании количества сахарозы и дрожжевого экстракта	336
Приложение Б Акты выработки	338
Приложение В Дополнительные графики значений отклика системы АПТ продукта по математической модели	344
Приложение Г Значения отклика для двухфакторного эксперимента и корреляция структурно-механических параметров	345
Приложение Д Свидетельства о государственной регистрации базы данных	347
Приложение Е Разработанная техническая документация	349
Приложение Ж Справка о депонировании	355

Введение

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 откры-

вает 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. Милентьева, 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 использо-

вать 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 тех-

нологии 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 харак-

теризуется ЭПС с исключительным содержанием фруктозы, галактурановой и глюкононовой 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 под-

тверждены 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-ме-

ханическими 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 (K1, K2), 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.

1 Аналитический обзор литературы

Согласно ГОСТ Р 52349-2005 продукты функционального питания определяются как специальный пищевой продукт, предназначенный для систематического употребления в составе пищевых рационов всеми возрастными группами здорового населения, обладающий научно обоснованными и подтвержденными свойствами, снижающий риск развития заболеваний, связанных с питанием, предотвращающий дефицит или восполняющий имеющийся в организме человека дефицит питательных веществ, сохраняющий и улучшающий здоровье за счет наличия в его составе функциональных пищевых ингредиентов.

Функциональные продукты питания состоят из соединений, которые являются биологически и физиологически активными, что обеспечивает пользу для здоровья помимо основных питательных возможностей [44; 67; 269; 355].

Компоненты таких продуктов, которые отвечают за их функциональность, обычно называют «биоактивными соединениями». Биоактивные соединения обладают способностью взаимодействовать с одним или несколькими компонентами живой ткани, оказывая широкий спектр потенциальных эффектов, и получены из растений, животных или других источников, таких как микроорганизмы, которые «в целом считаются безопасными» (Generally Recognized as Safe, GRAS) [380]. Такие функциональные ингредиенты представляют большой интерес благодаря своей разнообразной биологической и функциональной активности: антиоксидантной, противовоспалительной, антидиабетической, противораковой, противовирусной и противоопухолевой [15; 182]. К функциональным ингредиентам относят витамины и химические вещества, которые возникают в природе или в процессе переработки продуктов питания и способны оказывать полезное действие [346]. Спектр их достаточно широк, а научные перспективы их исследования в настоящее время далеко не исчерпаны. Эти соединения содержат химические вещества, встречающиеся в таких продуктах питания, как овощи, фрукты, зерновые, бобовые и орехи, кисломолочные продукты, в меньшей степени мясные и рыбные продукты.

Потребление полезных ингредиентов в составе функциональных продуктов питания привлекло огромное внимание исследователей из-за положительного влияния на здоровье представителей разных возрастных групп [14; 182; 380]. Однако статус функциональности продукта требует подтверждения, т. е. проведения всесторонних научных исследований. При этом даже при сегодняшнем уровне научных знаний имеется достаточно оснований в поддержку потребления богатых функциональными ингредиентами продуктов питания. Эпидемиологические данные показывают положительную связь между благополучием человека и потреблением продуктов, богатых антиоксидантными соединениями, такими как фенольные соединения, включая флавоноиды, лигнаны, танины, каротиноиды, инертными полисахаридами или пищевыми волокнами и т. д., которые могут снизить риск развития различных заболеваний, включая болезнь Альцгеймера, рак, сердечно-сосудистые болезни, катаракта, диабет и возрастные нарушения [230; 374; 387]. На свойства, присущие функциональным продуктам питания и ингредиентам, влияют условия хранения и обработки, в том числе температура, содержание кислорода, а также условия желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), такие как кислотность, ферментативная активность и присутствие других питательных веществ, что значительно ограничивает их активность и предполагаемую пользу [243; 374]. Поскольку биодоступность для потребителей имеет первостепенное значение, возникает необходимость в изучении биодоступности и биологических характеристик, влияющих на химическую структуру функциональных ингредиентов. Для сохранения эффективности таких продуктов эти компоненты должны обладать двумя обязательными свойствами:

- они должны быть жизнеспособным в своей структурной форме в продукте, т. е. системе доставки;
- они должны быть эффективными при попадании в организм человека, т. е. быть биологически доступны для функциональной мишени в организме [243; 374].

1.1 Функциональные продукты на основе молочного сырья

Молоко, которое часто называют «идеальной пищей», является важным источником питания для человека благодаря своей высокой питательной ценности [122; 305]. Рост численности населения и интерес к здоровому питанию усилили спрос на молочные продукты, одновременно повысив требования к их качеству и безопасности. Молоко содержит такие химические соединения, как углеводы, липиды, белки и второстепенные компоненты (витамины, минералы и др.), играющие важную роль в организме человека [203]. Молочные белки и некоторые химические соединения, такие как биоактивные пептиды, жирные кислоты, нуклеотиды и другие питательные вещества, привлекли большое внимание в молочной промышленности [186].

Как показано в работе Е. В. Ивановой и ее коллег, кисломолочные продукты производятся путем ферментации молока или сливок чистыми культурами молочнокислых бактерий с добавлением или без добавления дрожжей или уксуснокислых бактерий, в результате чего образуется относительно плотный, однородный сгусток с выраженным кисломолочным вкусом. Эти продукты также могут быть получены в результате смешанного процесса ферментации, включающего молочнокислое и спиртовое брожение [32].

Кисломолочные продукты имеют большое значение в питании человека благодаря своим лечебным и диетическим свойствам, приятному вкусу и легкости усвоения [32]. Таким образом, разнообразие и биологическая активность компонентов молока создают основу для разработки на их основе продуктов с оздоравливающим эффектом.

1.1.1 Молочнокислые бактерии и их использование в технологии кисломолочных напитков

Эффективность ферментации и качество кисломолочных напитков во многом зависят от состава используемой закваски. Молочнокислые бактерии (МКБ) образуют филогенетически сильно гетерогенную группу бактерий, обычно имеющую статус GRAS [282]. К настоящему моменту накоплено значительное количество знаний о МКБ, которые являются основой неповторимого вкуса и аромата КМП.

МКБ используются в КМП, таких как сыр, творог, йогурт и др. [267]. Деятельность МКБ, их способность формировать вкус и аромат продуктов в основном зависят от используемых для ферментации видов.

Йогурт – это один из самых популярных ферментированных молочных продуктов, потребление которого растет во всем мире [381]. Ключевыми видами для йогурта являются протосимбионты *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, штаммы которых подвергали промышленному отбору для оптимальной ферментации [284].

Выделяют термофильные, мезофильные и комбинированные КМП, различающиеся по температуре ферментации и составу микроорганизмов: для получения термофильных КМП (например, йогурта, мацуна) ферментация проводится при температуре 42–45 °С с получением молочной кислоты; мезофильные КМП (например, турах, пахта, виили, имер, скир) предполагают ферментацию при 20–30 °С с выделением молочной кислоты; кислое и алкогольное молоко (например, кефир, гиддуд) получают путем ферментации при 15–25 °С с образованием некоторого спирта в дополнение к оксипропионовой кислоте и двуокиси углерода [149] (таблица 1).

Таблица 1 – Национальные кисломолочные продукты с конкретными ассоциированными микроорганизмами [149]

Группа	Продукт	Происхождение молока (основной вид или в основном используется)	Тип заквасок	Некоторые сопутствующие микроорганизмы, участвующие в ферментации
Термофильные кисломолочные продукты	Айран	Коровье молоко	Традиционные и коммерческие	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> , <i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i>
	Мацун	Коровье молоко	Традиционные и коммерческие	<i>L. bulgaricus</i> , <i>S. thermophilus</i>
	Традиционный йогурт	Коровье молоко	Традиционные и коммерческие	<i>S. thermophilus</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. helveticus</i> , <i>L. fermentum</i> , <i>L. paracasei</i>
Мезофильные кисломолочные продукты	Культивированная пахта	Топленое молоко коров или коз	Традиционные и коммерческие	<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> , <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> biovar. <i>diacetylactis</i> (<i>Lc. diacetylactis</i>)
	Нуну	—	Традиционные и коммерческие	<i>L. fermentum</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. helveticus</i> , <i>Leuc. nostoc mesenteroides</i> (<i>Leuc. mesenteroides</i>)
	Скир	Обезжиренное овечье и коровье молоко	Традиционные	<i>S. thermophilus</i> , <i>L. bulgaricus</i>
	Виили	Коровье молоко	Повторное использование микроорганизмов из предыдущей партии	<i>L. lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> , <i>L. diacetylactis</i> , <i>Leuc. mesenteroides</i> subsp. <i>cremoris</i> , <i>Geotrichum candidum</i> , <i>Kluveromyces marxianus</i> , <i>Pichia fermentans</i>
	Имер	Обезжиренное коровье молоко	Традиционные	<i>L. lactis</i>
	Гиддуд	Молоко коровы, козы, овцы и смешанные молочные продукты	Повторное использование микроорганизмов из предыдущей партии	<i>S. thermophilus</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. casei</i> subsp. <i>casei</i> , <i>Leuc. mesenteroides</i> subsp. <i>mesenteroides</i>

Разнообразие традиционных национальных напитков велико: например, турецкий напиток из ферментированной молочной сыворотки, айран и самопроизвольно ферментированный йогуртоподобный продукт из Африки [117; 419]. В ай-

ране, наряду с термофильными стрептококками и болгарской палочкой, содержатся *L. helveticus*, *L. fermentum* и *L. paracasei*, дополнительные культуры позволяют быстро подкислять и проводить протеолиз [139]. Ацидофильное молоко является традиционным КМП, ферментированным *L. acidophilus* [176]. Шубат, или чал, – традиционное ферментированное молоко верблюда, которое образуется в результате действия *L. helveticus* и *S. thermophilus*, в результате получается напиток с гипотензивным эффектом [440]. Ферментируют также побочные продукты молокопереработки: например, пахту эффективно сквашивают посредством *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* (*L. lactis* subsp. *cremoris*) или *Lc. lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis* (*L. lactis diacetylactis*) [410].

Исходя из вышесказанного, подбор конкретных МКБ, в том числе с повышенными технологическими и пробиотическими свойствами, позволяет регулировать вкус, консистенцию и функциональные свойства кисломолочных продуктов широкого спектра.

1.1.2 Заквасочные культуры, сокультуры и сложные ферментирующие консорциумы

Обеспечение стабильности качества ферментированных продуктов требует точного управления заквасками и их метаболической активностью. Использование сложных сообществ с подобранными МКБ позволяет получить более контролируемую и предсказуемую ферментацию с точки зрения сенсорных особенностей, внешнего вида, физических и химических характеристик [97]. Современные заквасочные культуры включают как чистые, так и смешанные микробные сообщества. Их разнообразие определяет характеристики конечного продукта: кислотность, аромат, текстуру. Гомо- и гетероферментативные виды (например, *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*) участвуют в разных метаболических путях. Комплекс-

ные консорциумы могут включать также дрожжи и грибы, формируя пробиотические симбиозы (например, в кефире) [234].

В технологии КМП применяются как гомо-, так и гетероферментативные МКБ. К культурам, использующим гомоферментативный метаболический путь, относят некоторые виды *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus* и *Aerococcus genera*. Есть типичные гетероферментетики – *Leuconostoc*, *L. brevis*, *L. fermentum* и *L. reuteri*, которые сбраживают глюкозу до молочной кислоты, этанола/уксусной кислоты и углекислого газа в качестве конечных продуктов. Многие виды *Lactobacillus* считаются «факультативно» гетероферментативными, т. е. они продуцируют углекислый газ и другие побочные продукты только при определенных условиях или с конкретным субстратом [165; 236; 389].

Многие КМП производятся с использованием комбинированных заквасок МКБ и грибов, включающих в том числе дрожжи *Saccharomyces*, *Kluyveromyces*, *Zygosaccharomyces*, грибы *Aspergillus*, *Geotrichum*, рода *Penicillium* и *Rhizopus* [226], которые живут в симбиотической ассоциации с лактобактериями [360]. Примером такого продукта является кефир, напиток с функциональными элементами, в которых содержится более 50 видов МКБ и дрожжей [266]. Несколько интересных штаммов были выделены из кумыса и были охарактеризованы как потенциальный бактериоцин, продуцирующий пробиотики, с иммуномодулирующими свойствами. Эти и другие штаммы потенциально могут служить основой для разработки новых функциональных продуктов или использоваться в качестве терапевтических адъювантов для воспалительных заболеваний [359; 443; 446].

Совокупность представленных данных позволяет сделать вывод, что использование сложных заквасок с прогнозируемыми свойствами расширяет потенциал создания функциональных кисломолочных продуктов.

1.2 Пробиотические молочнокислые бактерии: разнообразие, характеристика, эффекты

Рост интереса к пробиотикам требует научно обоснованного подхода к их классификации, оценке безопасности и функциональной эффективности. Еще в начале XX в. И. И. Мечников предположил, что потребление живых микроорганизмов, присутствующих в йогурте и простокваше, увеличивает продолжительность жизни потребителя и укрепляет его здоровье за счет сокращения популяции вредных бактерий и (или) бактерий, производящих токсины в ЖКТ. С тех пор потребление пищевых продуктов или пищевых добавок, содержащих пробиотические микроорганизмы, значительно выросло [100; 200] и продолжает увеличиваться. За последние десятилетия лидеры в пищевой промышленности, используя эту идею, выпустили на рынок множество новых продуктов на основе пробиотических бактерий, которые входят в категорию функциональных продуктов питания, «здоровой» пищи, нутрицевтиков [200]. Расширение рынка пробиотиков потребовало от европейских органов по безопасности пищевых продуктов (EFSA) с 2009 г. ужесточить нормативные требования к пробиотикам в связи с недостатком исследований о преимуществах их влияния на здоровье человека, его микробное сообщество, включая жизнеспособность клеток и пробиотическую функцию [246]. Это усилило необходимость тщательных исследований в данной области.

Пробиотики описываются как «живые микроорганизмы, которые, будучи введены в подходящих пропорциях, приносят пользу здоровью хозяина» [369]. Пробиотик – это ингредиент функциональных продуктов питания, обладающих гораздо большими полезными свойствами, чем традиционные пищевые продукты. Неуклонно растет рынок различных заквасок, в том числе с пробиотиками [16]. Потребность в функциональных продуктах с пробиотиками стремительно растет в связи с повышением осведомленности населения о влиянии продуктов питания на здоровье. Большинство пробиотических продуктов питания относятся к категории функциональных продуктов. Согласно исследованиям, пробиотические про-

дукты питания составляют около 60–70 % от общего объема рынка функциональных продуктов питания [268; 323].

Согласно исследованию, *Lactobacillus*, *Bifidobacteria* и дрожжеподобные *Saccharomyces boulardii* являются наиболее часто используемыми видами пробиотиков, хотя могут использоваться и лактококки [45]. Поиск и изучение пробиотических МКБ ведется из разных источников [11; 84].

Действие пробиотических продуктов зависит от типа и количества используемых в продукте бактерий [418]. Интродукция пробиотических видов бактерий в кишечник является одним из предполагаемых способов, с помощью которых пробиотики укрепляют здоровье [15]. В таблице 2 показаны варианты действия пробиотиков на организм человека.

Таблица 2 – Функциональные и терапевтические эффекты некоторых видов пробиотических бактерий

Функция, действие	Штамм	Источник
Снижение уровня холестерина	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	[4; 327; 409]
Уменьшение воспалительных заболеваний кишечника и синдрома раздраженного кишечника	<i>Lactobacillus acidophilus</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i>	[115; 278; 454]
Снижение инфекций мочевыводящих путей	<i>Lactobacillus rhamnosus</i>	[174]
Противодиарейные эффекты	<i>Bacillus subtilis</i> , <i>Saccharomyces boulardii</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Lactiseibacillus casei</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i>	[87; 142; 157; 213; 242]
Противораковое и противоопухолевое действие	<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus acidophilus</i>	[114; 206; 239]
Противомикробная активность	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus rhamnosus</i>	[3; 13; 250; 361]
Снижение количества абдоминального жира	<i>Lactobacillus gasseri</i>	[251]
Иммуномодулирующее действие	<i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	[65; 270; 432; 438]

Чтобы называться пробиотиком, микроорганизм должен быть надлежащим образом охарактеризован и признан безопасным для использования по назначению. Необходимо, чтобы микроорганизм продемонстрировал способность приносить пользу здоровью человека хотя бы в одном клиническом исследовании. Он также должен быть жизнеспособным в требуемой дозе до конца срока годности продукта [143]. Общеизвестно, что на жизнеспособность пробиотиков может влиять целый ряд факторов, включая температуру, активность воды, уровень pH, составляющие самого продукта, уровень кислорода, материалы, используемые для упаковки, и продолжительность хранения [423].

Критериями выбора пробиотика для включения в состав пищевого продукта являются его человеческое или пищевое происхождение, безопасность для потребления человеком, сохранение желаемых свойств в конечном продукте, выживаемость при прохождении через ЖКТ, включая достаточную кислото- и желчеустойчивость, адгезия и время пребывания в продукте, адгезия к поверхности слизистой оболочки кишечника, а также доказанная польза для здоровья хозяина [12; 101; 253]. Например, для штамма *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007, включенного в состав козьего молока для изготовления греческого йогурта, в процессе *in vitro* переваривания выживаемость составила более 10^7 КОЕ/г, что позволяет рассматривать этот штамм как возможный пробиотик [175]. Кроме того, пробиотические МКБ должны обладать устойчивостью к ряду антибиотиков, особенно часто применяемых в терапии [9; 11].

Пробиотические бактерии бывают разных типов. В таблице 3 перечислены микроорганизмы, которые были включены в йогурт или ферментированные молочные продукты либо выделены из них и которые, как утверждается, обладают пробиотическими или потенциально пробиотическими свойствами.

Таблица 3 – Обладающие пробиотическими свойствами бактерии, включенные в йогурт или другие кисломолочные напитки либо выделенные из них

Вид бактерий	Источник
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i>	Во всех йогуртах
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> ssp. <i>lactis</i>	[395]
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	[328]
<i>Lactobacillus amylovorus</i>	[330]
<i>Lactobacillus crispatus</i>	[376]
<i>Lactobacillus gasseri</i>	[297]
<i>Lactobacillus helveticus</i>	[456]
<i>Lactobacillus jensenii</i>	[273]
<i>Lactobacillus johnsonii</i>	[376]
<i>Lactocaseibacillus casei</i>	[183]
<i>Lactocaseibacillus paracasei</i>	[277]
<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i>	[401]
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	[262]
<i>Lactiplantibacillus pentosus</i> (ранее <i>Lactobacillus pentosus</i>)	[125]
<i>Latilactobacillus sakei</i> (ранее <i>Lactobacillus sakei</i>)	[138]
<i>Latilactobacillus curvatus</i> (ранее <i>Lactobacillus curvatus</i>)	[232]
<i>Lentilactobacillus parafragarinis</i> (ранее <i>Lactobacillus parafragarinis</i>)	[112]
<i>Levilactobacillus brevis</i> (ранее <i>Lactobacillus brevis</i>)	[196]
<i>Ligilactobacillus salivarius</i> (ранее <i>Lactobacillus salivarius</i>)	[194]
<i>Limosilactobacillus fermentum</i> (ранее <i>Lactobacillus fermentum</i>)	[330]
<i>Limosilactobacillus mucosae</i> (ранее <i>Lactobacillus mucosae</i>)	[175]
<i>Limosilactobacillus reuteri</i> (ранее <i>Lactobacillus reuteri</i>)	[108]
<i>Loigolactobacillus coryniformis</i> (ранее <i>Lactobacillus coryniformis</i>)	[297]
<i>Weissella</i> (ранее <i>Lactobacillus</i>) <i>viridescens</i>	[395]
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Во всех йогуртах
<i>Streptococcus salivarius</i>	[197]
<i>Bifidobacterium bifidum</i> , <i>Bifidobacterium longum</i> , <i>Bifidobacterium infantis</i> , <i>Bifidobacterium adolescentis</i> , <i>Bifidobacterium breve</i>	[103]
<i>Bifidobacterium animalis</i> ssp. <i>lactis</i>	[334]
<i>Propionibacterium acidipropionici</i>	[428]
<i>Propionibacterium jensenii</i> , <i>Propionibacterium thoenii</i> (<i>jensenii</i>)	[192]
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	[275]
<i>Lactococcus lactis</i> ssp. <i>lactis</i> (ранее <i>Streptococcus lactis</i>)	[262]

Резюмируя, подчеркнем, что пробиотические штаммы являются ключевым элементом функционального питания, и их выбор требует строгой научной верификации и технологической оценки.

1.2.1 Лактобациллы как пробиотики

Лактобациллы играют важную роль в организме человека, обладая множеством терапевтических эффектов и возможностью применения в качестве полноценных заквасочных штаммов. Их эффективность как пробиотиков зависит от взаимодействия с другими штаммами и адаптации в организме человека. При этом разработчики кисломолочного продукта должны определиться, будут ли они использовать один или несколько штаммов пробиотика для получения потенциального синбиотика или для формирования потенциальных симбиотических отношений, аналогичных взаимоотношениям между *S. thermophilus* и *L. bulgaricus*, для получения потенциальной пользы для здоровья. Кроме того, важно учитывать взаимодействия между разными штаммами, чтобы не допустить снижения качества кисломолочного напитка с точки зрения товарных качеств.

Ведутся дискуссии, можно ли считать заквасочные культуры йогурта *S. thermophilus* и *L. bulgaricus* пробиотиками [321]. Они должны быть устойчивы к кислоте и желчи и выживать в ЖКТ. Некоторые данные подтверждают их выживание [193; 300]. Однако А. Мартинович и соавторы [298] указывают, что таксономические методы недостаточно точны для однозначного вывода. Тем не менее ряд авторов признает их пробиотиками [222; 348; 403].

Помимо них, в йогуртах встречается *L. acidophilus* NCFM [119; 371], обладающий антимикробной активностью, способностью к адгезии, перевариванию лактозы, снижению канцерогенной активности и улучшению иммунного ответа. Комбинация *L. acidophilus* LA-5 и *B. animalis* subsp. *lactis* BB-12 эффективна против *Helicobacter pylori* [426], при язвенном колите [272], после операций [207], у диабетиков [191; 412], при оксидативном стрессе [357]. Эта комбинация снижала уровень холестерина [162], вырабатывала лактацин В [402], конъюгированную линолевую кислоту [123] и ослабляла ожирение [332].

Некоторые лактобактерии в йогурте, например *Lacticaseibacillus casei* Zhang, стимулируют рост бифидобактерий [343], вероятно, за счет биосинтеза аминокис-

лот и выработки короткоцепочечных жирных кислот. В йогуртах с *L. casei* CGMCC1.5956 и *Levilactobacillus brevis* CGMCC1.5954 наблюдаются улучшение роста пробиотиков, текстуры и антиоксидантной активности [195; 196]. В исследовании А. Макфарланда [301] показано, что многоштаммовые пробиотики не всегда эффективнее одноштаммовых.

Lactobacillus helveticus применяется как дополнительная культура [456], ускоряет ферментацию, вырабатывает антигипертензивные пептиды, но может снижать сенсорные качества. Штамм CM4 в составе сквашенного молока способствует улучшению сна у пожилых [441]. Влияние пробиотиков распространяется и на психическое здоровье [35; 61].

Lacticaseibacillus casei DN-114001 (*L. casei* CNCM I-1518, Immunitas®), содержащийся в DanActive (Actimel), увеличивает количество *Bifidobacterium*, снижает *Clostridium* в кишечном содержимом, проявляет эффективность против атопического дерматита [18; 405], диареи [87] и инфекций [223]. Также он снижает тревожность у студентов [295] и может участвовать в профилактике нарушений липидного обмена [38].

Lacticaseibacillus paracasei Shirota, используемый в Yakult®, имеет статус GRAS [404] и оказывает влияние на когнитивные функции. У студентов он снижал стресс [259], а в эксперименте с мышами показано улучшение работы мозга и кишечника [161].

Lacticaseibacillus rhamnosus GG (ATCC 53103), один из наиболее изученных штаммов [339; 340; 255], эффективен против инфекций ЖКТ, диареи, синдрома раздраженного кишечника, воспалений и ОРВИ [153; 401].

Limosilactobacillus (ранее *Lactobacillus*) *reuteri* DSM 17938 (GRAS № 254) используется при педиатрических ЖКТ-расстройствах [88]. Он подавляет патогены, стимулирует моторику кишечника, повышает болевой порог и сокращает длительность диареи. Его применение снижает побочные эффекты антибиотиков при лечении *Helicobacter pylori* [5]. Используется в заквасках [75].

Lactiplantibacillus plantarum успешно применяется для производства йогуртов [276], выживает при ферментации и хранении [319], способен ингибировать

α -глюкозидазу и сохраняться в ЖКТ [310]. Добавление соевых олигосахаридов повышает его жизнеспособность и антигипергликемический потенциал.

Лактобациллы обладают широким спектром терапевтических свойств. Их комбинации усиливают положительное воздействие на здоровье, включая снижение воспаления, стресса, уменьшение симптомов колита, снижение холестерина и гипергликемии. Штаммы *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. rhamnosus* и др. эффективны в составе йогуртов и ферментированных продуктов, что делает их перспективными компонентами функциональных продуктов.

1.2.2 Пробиотические йогурты: специфика, свойства, эффекты

Влияние пробиотиков на сенсорные, текстурные и функциональные свойства йогурта требует детального анализа для оптимизации рецептур. Йогурт с пробиотиками – это обычный питьевой или термостатный йогурт, греческий, болгарский, балканский или замороженный йогурт, в состав закваски которого был введен пробиотический микроорганизм. Йогурт или другой пищевой продукт можно рассматривать как матрицу или носитель для удобной и вкусной доставки пробиотических бактерий в организм человека [68]. Кроме того, пищевой продукт, подверженный ферментации пробиотическими бактериями, можно рассматривать как источник метабитиков [96], т. е. продуктов метаболизма, благоприятно влияющих на здоровье человека через микрофлору кишечника [39; 46; 208].

Питьевой йогурт может содержать широкий спектр пробиотических штаммов, включая *L. reuteri* WHN1689 [159], *L. gasseri* [303], *L. rhamnosus* HN001 [140] или *L. plantarum* DSM 2020, *L. plantarum* DSM 20205 и *P. acidilactici* DSM 20238 [379], только *L. plantarum* [2; 98] или комбинацию пробиотиков (*Bifidobacterium lactis* Bb-12 и *Lactobacillus acidophilus* LA-5). О сложности выбора закваски для

пробиотических кисломолочных продуктов говорят специалисты в этой области [34; 80; 81].

Для усиления пробиотических свойств в состав продукта могут входить и пребиотики (растворимая кукурузная клетчатка, полидекстроза, инулин цикория) [47; 85; 90; 113]. Кроме того, могут присутствовать ингредиенты с антиоксидантными свойствами [17; 30; 31]. Это позволяет получить продукт не только с живыми пробиотиками, но и обогащенный по пребиотическим компонентами [95].

Несомненно, присутствие пробиотиков в составе КМП влияет на его свойства. В ряде исследований изучалось влияние включения пробиотиков на физико-химические и сенсорные свойства пробиотических йогуртов. Например, в йогурте из коровьего молока с йогуртовыми культурами в сочетании с пробиотиками (*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis* BB-12, *L. acidophilus* La-5 и *L. rhamnosus* GG) по сравнению с йогуртом только на йогуртовых заквасках время достижения pH 4,5 уменьшается, меньше выражен постокислительный процесс при хранении, но увеличивается начальная упругость [169], при этом нет влияния на синерезис, цвет и микроструктуру.

Добавление пробиотиков влияет на различные питательные и физические свойства продукта с добавлением отдельных пробиотиков (*L. acidophilus*, *L. casei*, *L. plantarum* и *B. bifidum*) и некоторых их комбинаций [8; 89; 136; 394]. Кроме того, использование комбинации пробиотиков приводит к улучшению текстуры и зачастую обладает лучшим пробиотическим потенциалом. Повышение вязкости в результате добавления пробиотиков объясняется увеличением общего содержания сухих веществ и повышением плотности структуры казеина, возникающей при синтезе экзополисахаридов в продукте [6; 231]. Сообщалось о более высокой вязкости пробиотического йогурта греческого типа из козьего молока по сравнению с контрольным йогуртом, что, вероятно, связано с увеличением содержания экзополисахаридов, вырабатываемых добавочной культурой – пробиотиком *Limosilactobacillus mucosae* [175].

Добавление пробиотиков в йогурт влияет и на органолептические свойства. В ряде исследований показано, что пробиотический йогурт по органолептическим

свойствам превосходит натуральный [50; 51; 235]. Пробиотический йогурт греческого типа из козьего молока получил лучшие оценки по цвету, вкусу, текстуре (через 28 сут) и общей приемлемости по сравнению с контрольным йогуртом [175].

Включение в рацион КМП с пробиотиками на ежедневной основе способствует иммунопрофилактике инфекционных заболеваний [64; 65]. В процессе ферментации и хранения в кисломолочном напитке скапливается ряд метаболитов, положительно влияющих на функциональные показатели человека [7; 66; 91]. Выявлено, что у млекопитающих, в частности крыс, введение в рацион кисломолочного напитка с пробиотическими штаммами *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9 вызывало снижение количества стафилококков в кале [63]. Антагонистические и антибактериальные свойства МКБ широко известны [64], и правильно подобранная комбинация закваски может быть особенно эффективна в реализации этих свойств [11; 76].

Пробиотические йогурты – эффективный и удобный способ доставки живых культур с доказанным положительным влиянием на здоровье [189]. Таким образом, пробиотические йогурты выступают как матрица доставки пробиотических микроорганизмов. Стратегия добавления пробиотиков изменяет физико-химические параметры, повышает вязкость, улучшает текстуру и усиливает антиоксидантные свойства. Комбинации штаммов (например, *B. lactis* и *L. acidophilus*) способствуют иммуномодуляции и улучшению показателей здоровья.

1.2.3 Механизмы реализации пробиотических свойств молочнокислых бактерий

Для эффективного применения пробиотиков необходимо понимать молекулярный механизм их действия для целенаправленной разработки продуктов с лечебно-профилактическими свойствами. МКБ синтезируют биоактивные соедине-

ния: биологически активные пептиды (БАП), γ -аминомасляную кислоту (ГАМК) и экзополисахариды (ЭПС). БАП обладают антимикробными, гипотензивными и противораковыми свойствами. ГАМК участвует в нейропротекции и регуляции метаболизма. ЭПС улучшают текстуру, ингибируют патогены и обладают антиоксидантной и иммуномодулирующей активностью.

Биологически активные пептиды. Молочные белки считаются основным источником ряда БАП, определенных как специфические фрагменты белка, которые оказывают положительное влияние на функции организма. Пептиды, полученные из молочного белка, могут функционировать как регуляторные вещества, их относят к классу экзорфинов или к формонам (пищевым гормонам) [217]. Эти соединения могут высвобождаться с помощью протеолитической системы МКБ во время ферментации молока или других субстратов [94; 199; 345].

Антагонистическая активность пептидов, продуцируемых молочнокислыми бактериями, может быть использована в пищевой отрасли, в том числе для создания продуктов функционального назначения [36]. Ведется активный поиск новых продуцентов и активно изучаются свойства бактериоцинов, на базе которых создаются новые антимикробные пептиды [241].

Во многих работах показано влияние роль молочных пептидов (как результат протеолиза под действием МКБ) на гипотензивные и ангиотензивные ферментные (АПФ) системы млекопитающих. Штаммы *L. casei*, *L. plantarum* и *L. rhamnosus* активно ингибировали ангиотензивные ферменты в системе *in vitro* [205]. Два пептида, продуцируемых штаммами *E. faecalis*, показали свою активность при пероральном введении крысам с гипертонической болезнью [353]. *L. paracasei* продуцировал БАП с АПФ-ингибирующей активностью при ферментации сыворотки казеина [181]. Пептиды с полезными для человека свойствами находят в разных продуктах молочнокислого брожения, в том числе в йогуртах с разными пробиотическими культурами: с *Lactobacillus helveticus* LH-B02 [214], *Lactobacillus delbrueckii* QS306 [434], *Lactobacillus acidophilus* NCDC-15 [390], *Lactiplantibacillus plantarum* [445].

Биологически активные пептиды также ингибируют ферменты углеводного обмена, глюкозидазу и амилазу [289]. Подобные эффекты описаны у штаммов *Limosilactobacillus fermentum* и *Lacticaseibacillus paracasei* [271], *Lactobacillus casei* [322], *Limosilactobacillus fermentum* AG8 и *Lactiplantibacillus plantarum* AG9 [398].

Гамма-аминомасляная кислота является непотеиновой аминокислотой, которая обладает физиологическими функциями [430]. ГАМК имеет небелковую структуру и обладает широким физиологическим значением для профилактики эпилепсии [137], диабета [104], астматических расстройств [202] и рака [392]. ГАМК, разрешенная в качестве пищевого ингредиента, продемонстрировала антигипертензивную и антидепрессивную активность [150; 435], а также играет важную роль в лечении неврологических расстройств [302; 324].

МКБ способны синтезировать ГАМК из L-глутамата, который в достаточном количестве содержится в казеине и высвобождается из него, посредством глутамат-декарбоксилазной активности. *L. buchneri* [163] синтезирует ГАМК, при этом культуральная жидкость частично или полностью защищала нейронные клетки от нейротоксикант-индуцированной гибели клеток, показывая его высокий потенциал для здоровья человека. У многих видов МКБ обнаружена способность синтезировать ГАМК: в частности, у *L. brevis* [102], *L. plantarum* [356; 422]. ГАМК также находят в йогуртах и других пищевых продуктах и пытаются увеличить ее синтез [158; 378; 437].

Экзополисахариды. По данным С. И. Артюховой и Е. В. Моторной [1], полисахариды проявляют такие лечебно-профилактические свойства, как противоязвенная активность, снижение содержания холестерина в крови, выступают в качестве активных антагонистов против раковых клеток, способствуют снижению давления при гипертонии. ЭПС, продуцируемые МКБ, ускоряют процесс ферментации молока, сокращая время образования сгустка, улучшают реологические свойства и текстуру молочных биопродуктов, а также стимулируют рост самих бактерий и синтез ими других функциональных метаболитов (аминокислот, летучих жирных кислот, витаминов). Большинство МКБ способны синтезировать ЭПС, особенно

виды *Fructilactobacillus*, *Lacticaseibacillus*, *Lactiplantibacillus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Lactilactobacillus*, *Lentilactobacillus*, *Leuconostoc*, *Limosilactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* и *Weissella* [124; 452]. Известно, что разные виды МКБ синтезируют ЭПС с различным углеводным составом, зарядом, длиной цепи и степенью разветвления [370].

ЭПС молочнокислых бактерий имеют антимикробную и антиоксидантную активность [144; 187; 315]. ЭПС проявляют противоопухолевую и иммуномодулирующую активность [354; 433]. Кроме того, ЭПС, продуцируемые *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus bulgaricus*, способны эффективно ингибировать активность α -амилазы и α -глюкозидазы [114], что еще больше расширяет сферы применения ЭПС МКБ в лечебно-профилактическом питании. Метаболиты МКБ обеспечивают ключевые функциональные эффекты, лежащие в основе действия пробиотиков и обогащенных продуктов, в том числе изготовленных из молочного сырья.

Завершая параграф 1.2, резюмируем, что обширный мировой опыт исследования и использования лактобацилл в технологии кисломолочных продуктов и их роли в формировании пробиотических свойств продуктов из молока, свидетельствуют об актуальности и востребованности проблематики поиска новых штаммов, отличающихся особенностями функционального характера и автохтонных для России, их характеристики и изучения возможности их дальнейшего применения в технологии кисломолочных напитков.

Анализ научных данных показывает, что молочнокислые бактерии представляют собой филогенетически разнородную, но технологически ценную группу микроорганизмов, обладающую статусом GRAS. Их ключевая роль в формировании органолептических свойств кисломолочных продуктов (вкуса, аромата, текстуры), а также в биосинтезе функциональных метаболитов (молочной кислоты, бактериоцинов, ЭПС) обосновывает необходимость расширения ассортимента на их основе. Научные и технологические предпосылки для расширения линейки продуктов обусловлены биоразнообразием МКБ – существованием множества штаммов (*Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc* и др.) с уникальными

ферментативными свойствами, что позволяет создавать продукты с новыми характеристиками. Наличие региональных традиций, особенностей климата, источников выделения позволяет выявлять штаммы МКБ, адаптированные к локальным условиям региона, что открывает перспективы разработки локализованных и нишевых товаров.

Акцентируя внимание на функциональных свойствах, еще раз подчеркнем способность МКБ продуцировать биологически активные соединения различной природы, что делает их перспективными для создания продуктов направленного действия (пробиотических, антимикробных, иммуномодулирующих).

С точки зрения практического применения особенно важна технологическая гибкость МКБ, заключающаяся в разнообразии температурных режимов ферментации (термофильное, мезофильное, холодное сквашивание), что позволяет варьировать текстуру и биохимический состав конечного продукта. Необходимость диверсификации спроса и рост популярности функционального питания требуют внедрения новых продуктов, каковыми могут стать кисломолочные напитки с разными штаммами МКБ. Важной частью является коммерциализация новых продуктов с улучшенными функциональными свойствами.

Таким образом, расширение ассортимента молочнокислых продуктов является научно обоснованным направлением, сочетающим инновации с традиционными знаниями. Это позволит не только удовлетворить растущий потребительский спрос, но и повысить пищевую и биологическую ценность реализуемой продукции, а также увеличить экономическую эффективность молочной отрасли.

1.3 Крахмал как потенциально функциональный компонент кисломолочных продуктов

1.3.1 Функционально значимые свойства крахмалов

Многие экономически важные культуры (картофель, кукуруза, рис, тапиока, пшеница и др.) содержат основное запасное вещество растительного происхождения – крахмал. Будучи наиболее распространенным резервным полисахаридом, он широко применяется в пищевой и промышленной сферах благодаря натуральности, низкой стоимости, биоразлагаемости и нетоксичности [185; 201].

Недостаточное понимание структурных характеристик крахмала ограничивает эффективность его применения. Крахмальные гранулы – это микрочастицы с кристаллическими и аморфными участками, включающие амилозу с α -1,4-гликозидными и амилопектин с α -1,6-гликозидными связями [168]. В растениях крахмал служит стабильным источником глюкозы во время прорастания [198]. Молекулы крахмала – это гомополимеры D-глюкозы, представленные в гранулах двумя структурами: амилозой и амилопектином, различающимися по размеру и разветвленности.

В зависимости от ботанического вида и генетики растения содержание амилозы в крахмале варьирует, обычно составляя 20–30 % [245]. Восковые крахмалы могут содержать от 0 % (восковая кукуруза) до 9 % (восковой ячмень) амилозы [244; 393]. Высокоамилозные крахмалы, полученные в результате мутаций гена амилозы, содержат 50–70 % амилозы в зависимости от вида [283].

Морфология гранул влияет на поведение крахмала в продуктах. Физико-химические свойства крахмала определяются размером гранул, их распределением, соотношением амилозы и амилопектина, а также концентрацией минералов [293].

От ботанического происхождения зависят размер и форма гранул: от сферических до овальных и многогранных [148].

Картофельный крахмал – один из самых востребованных загустителей и стабилизаторов в пищевой промышленности. Он широко применяется при производстве колбас, поскольку способен набухать при пастеризации при 70–72 °С, в отличие от других видов крахмала [77]. Для картофеля характерны значительные различия в структуре крахмальных гранул между сортами.

Исследования фракций картофельного крахмала разных сортов выявили закономерность: высокое содержание амилозы обнаруживается в крупноразмерных гранулах, наименьшее – в мелких [260]. Аналогичная зависимость наблюдается в показателях клейстеризации и вязкости.

Крахмал играет ключевую роль в качестве и питательной ценности продуктов благодаря способности к набуханию, желатинизации, загущению и желированию [180; 352]. Желатинизация включает растворение крахмальных молекул и разрушение гранул. Разные сорта картофеля обладают разными температурами желатинизации [386]. Активно исследуются условия желатинизации при высокой температуре и наличии воды [155; 277].

Физико-химические свойства крахмала, включая коэффициент пропускания света, содержание амилозы, набухаемость и водосвязывающую способность, тесно связаны со средним размером гранул [384; 455]. Взаимодействие крахмала с водой напрямую влияет на текстуру, вкус и питательные характеристики продуктов. При набухании из гранул выделяется амилоза, увеличивая вязкость [417]. Эти изменения важны для прогнозирования функциональности крахмала при переработке [279; 453].

Набухание крахмала повышает вязкость, что делает его эффективным загустителем [314]. При этом вязкость обусловлена не только растворенными молекулами, но и самими набухшими гранулами – в отличие от некрахмальных гидроколлоидов [296]. Увеличение набухаемости способствует росту объема и качества хлебобулочных изделий [109]. Гранулы с низкой температурой набухания особенно

важны для прочных гелей. Целостность гранул при нагревании критична для структуры геля [427]. Поэтому при разработке продуктов с крахмалом важно учитывать факторы, влияющие на набухание.

Таким образом, крахмал – универсальный и экологически безопасный ресурс, широко применяемый в промышленности. Структурные особенности крахмала определяют его поведение в технологических процессах. Соотношение амилозы и амилопектина, размер гранул, морфологические параметры важны для прогнозирования технологических свойств крахмала. Разработка продуктов требует выбора крахмала с нужными терморежимами, с учетом условий желатинизации. Уникальная способность гранул набухать делает крахмал универсальным компонентом для текстурирования продуктов. При проектировании рецептур важно учитывать термостабильность и гелеобразующую способность крахмала. По этим параметрам картофельный крахмал оптимален для продукции, подвергаемой щадящей термообработке.

1.3.2 Ферментная модификация крахмалов

Свойства природных крахмалов можно изменять методами, воздействующими на структуру полисахарида. В 2010–2020 гг. производство нативных и потребление модифицированных крахмалов в России выросли в 2,3 раза [79]. Российский рынок нуждается в более динамичном развитии производства модифицированных крахмалов [78]. Производство мальтодекстринов, модифицированных крахмалов и глюкозно-фруктозных сиропов постепенно отходит от кислотного гидролиза в пользу ферментативного. Эти ферменты составляют около 30 % от общего объема мирового производства ферментных препаратов. Многие относятся к семейству α -амилаз или 13-гликозилирующих гидролаз, отличающихся $(\beta/\alpha)_8$ -структурой и способностью формировать α -гликозидные связи [292]. Выделяют четыре основ-

ные группы ферментов, разрушающих крахмал: эндоамилазы; экзоамилазы; ферменты, действующие на α -1,6-связи; трансферазы.

Эндоамилазы, такие как α -амилаза (ЕС 3.2.1.1), расщепляют α -1,4-связи внутри цепей амилозы и амилопектина [335], образуя олигосахариды и α -декстрины. Экзоамилазы расщепляют связи с концов цепей: β -амилаза (ЕС 3.2.1.2) – α -1,4, амилоглюкозидаза (ЕС 3.2.1.3) и α -глюкозидаза (ЕС 3.2.1.20) – обе α -1,4 и α -1,6. Их продуктами являются глюкоза, мальтоза и декстрины.

Изоамилаза (ЕС 3.2.1.68) и пуллуланаза I типа (ЕС 3.2.1.41) разрушают α -1,6-связи в пуллулане и амилопектине [240]. Альфа-амилаза-пуллуланаза (группа II) может разрушать α -1,4 и α -1,6-связи, образуя мальтозу и мальтотриозу. Трансферазы (например, амиломальтаза ЕС 2.4.1.25, циклодекстрин-гликозилтрансфераза ЕС 2.4.1.19) переносят части молекул между донорами и акцепторами, формируя новые α -1,4 или α -1,6-связи. На эффективность гидролиза крахмала влияют соотношение амилозы и амилопектина, степень кристаллизации, вязкость суспензий и ретроградация. Эти параметры определяют оптимальные условия реакции, включая pH, температуру, соотношение фермента и субстрата, ингибирование и инактивацию ферментов.

Современные исследования сосредоточены на ферментативной модификации крахмалов для улучшения их технологических и функциональных свойств [40; 48]. Структура крахмала – ключевой фактор его превращения. Объектами исследования становятся крахмалы картофеля, сладкого картофеля [439], кукурузы [48; 291], саго [431], риса, раги [307] и ячменя [448].

Для биомодификации применяют α -амилазу и глюкоамилазу. Так, глюкоамилаза из *Rhizopus* при обработке картофельной муки снижает содержание высокомолекулярных углеводов [439]. У кукурузного крахмала, обработанного амилазами и пуллуланазой, размер гранул уменьшается до 2–4 мкм, что делает его пригодным для низкожирных продуктов, например майонеза [291].

Диетический резистентный крахмал из раги и риса получают с помощью ферментов: α -амилазы (слюна человека), β -амилазы (ячмень), амилоглюкозидазы

(*A. niger*) и пуллулаказы (*K. pneumoniae*) [307]. Раги-крахмал имеет большую молекулярную массу и степень кристаллизации.

Совместное использование α -амилазы и пуллулаказы при модификации рисового крахмала позволяет получить полисахариды с высокой резистентностью [347]. Саго-крахмал (24,9 % амилозы) с помощью пуллулаказы превращается в низкоразветвленные декстрины, аналогичные высокоамилозным [431].

Крахмалы ячменя с разным уровнем амилозы были частично гидролизованы α -амилазой (*B. licheniformis*) [448]. Высокоамилозный крахмал показал максимальный выход (79,9–86,6 %), нормальный – 61,1–76,1 %, безамилозный восковой – 44,2–64,5 %. Растворимость и разложение зависят от содержания амилозы. Частично гидролизованные образцы с высоким и нормальным содержанием амилозы формируют прочные гели (до 40 %), чего не наблюдается у безамилозного воскового крахмала.

Тапиоковый крахмал модифицировали мальтозогенерирующими амилазами из *B. subtilis* 168 и *B. stearothermophilus* [274; 421]. Это снизило молекулярную массу и содержание амилозы (с 18,9 % до 0,75 %), увеличив долю коротких цепей. Для гидролиза крахмала также использовались ферментные препараты BAN 480L (α -амилаза из *B. amyloliquefaciens*) и Dextrozyme E (смесь глюкоамилазы из модифицированного *A. niger* и пуллулаказы из *Bacillus*) [350].

Представленный анализ подтверждает высокую научную и прикладную значимость направления, связанного с ферментативной модификацией природных крахмалов. Растущий спрос на модифицированные крахмалы и биоразлагаемые углеводные материалы, а также переход от химических к ферментативным методам обработки делает данную область особенно актуальной. Широкий спектр ферментов (α -амилазы, глюкоамилазы, пуллулаказы и др.) с разной специфичностью позволяет целенаправленно управлять структурными и функциональными свойствами крахмала, улучшая его растворимость, желируемость, вязкость и устойчивость.

1.3.3 Крахмалы как пищевые ингредиенты

В современной пищевой промышленности используется целый ряд функциональных пищевых добавок, которые обладают высокой водосвязывающей способностью и придают конечному продукту желаемую текстуру и консистенцию [29; 43; 70]. Каждая пищевая добавка имеет определенные плюсы и минусы, знание которых поможет вам добиться наилучших результатов от использования добавок в конкретных технологических ситуациях [49].

Нативные и модифицированные крахмалы широко используются в пищевой промышленности для придания продукту необходимой вязкости и структуры [312; 363; 429], влияют на выход, вкус, текстура, сроки хранения и др. [49].

В отличие от нативных растительных крахмалов, считающихся пищевыми продуктами, модифицированные крахмалы относятся к пищевым добавкам. В эту группу пищевых добавок входят продукты фракционирования, деструкции и различных модификаций нативных растительных крахмалов, представляющих собой преимущественно смесь двух фракций гомоглюканов (полимеров глюкозы) линейного и разветвленного строения. Модифицированных крахмалов, допустимых к применению при производстве пищевых продуктов в Российской Федерации, согласно СанПиН 2.3.2.2401-08, насчитывается около 20 видов. Что касается действия на организм, то экспериментально было показано, что однократно и многократно обработанные крахмалы существенно не отличаются по биологическому действию на организм. Если эти вещества применяются в умеренных количествах, то они хорошо усваиваются и не оказывают отрицательного действия на организм. Однако если их содержание в пище превышает 10 %, то они вызывают диарею и расширение слепой кишки, что расценивается учеными как нормальная физиологическая реакция организма на потребление пищи с большим содержанием крахмала. В связи с этим было предложено ограничить потребление модифицированных крахмалов. Впоследствии, однако, Объединенный комитет экспертов

ФАО/ВОЗ по пищевым добавкам рекомендовал применять без ограничений лишь крахмалы, обработанные ферментами [27].

В современном мире существует тенденция к исключению из пищевого продукта несвойственных химических ингредиентов. На такую продукцию растет покупательский спрос, что стимулирует пищевую промышленность разрабатывать продукцию с меньшим количеством пищевых добавок [308] либо использовать более натуральные, которые воспринимаются покупателем положительно, – например, ферментную модификацию.

1.3.4 Резистентные крахмалы: способы получения и характеристика

Крахмалы в пищевых продуктах делятся на гликемические и резистентные. Гликемические крахмалы расщепляются в ЖКТ, причем по скорости переваривания их относят к быстро- и медленно перевариваемым [79].

Резистентным называют крахмал и продукты его деградации, не абсорбируемые в тонком кишечнике здоровых людей. В толстом кишечнике такой крахмал ферментируется бактериями с образованием короткоцепочечных жирных кислот, углекислоты, водорода и метана. По функциональности он сходен с пищевыми волокнами – оба типа улучшают состояние кишечника и увеличивают объем фекалий. Однако резистентные крахмалы стимулируют образование большего количества бутиратов, что может благоприятно сказываться на состоянии толстой и прямой кишки. Они также снижают уровень глюкозы в крови и гликемическую нагрузку, способствуют снижению веса и относятся к пребиотикам, так как служат субстратом для микрофлоры ЖКТ [233].

Резистентные крахмалы входят в состав традиционных продуктов и имеют долгую историю безопасного потребления. Однако современное потребление их невелико, что делает актуальным вопрос его увеличения без изменения пищевых при-

вычек [99]. Содержание резистентного крахмала в продуктах может увеличиваться в процессе обработки, включая термическое воздействие и механическое разрушение гранул. Так, доля RS1 снижается с разрушением зерна при размоле [132; 147], тогда как содержание RS3 повышается при охлаждении и хранении вследствие ретроградации амилозы, высвобождаемой из желатинизированных гранул.

Наибольшее применение в пищевой промышленности нашли резистентные крахмалы второго и третьего типов [41; 71], поскольку их структура сохраняется при пастеризации и кратковременной стерилизации, обеспечивая стабильность резистентных свойств. На перевариваемость крахмала влияют: соотношение амилозы и амилопектина, степень желатинизации, размер гранул, взаимодействие с белками, образование амилозо-липидных комплексов, а также уровень ретроградации [72]. Повышенное содержание амилозы способствует образованию резистентного крахмала после технологической обработки [190].

Наличие липидов в виде амилозо-липидных комплексов снижает ретроградацию амилозы и образование резистентного крахмала по сравнению с образцами, содержащими свободную амилозу. Эффект зависит от типа липида, а также от специфики бактериального ответа ЖКТ на свободную или связанную амилозу [171].

Резистентные и модифицированные крахмалы воздействуют на микрофлору кишечника [449]. Это влияние проявляется на различных уровнях, включая геномный, и способствует адаптации бактерий через синтез новых ферментов. Картофельный крахмал влияет на резидентные микроорганизмы кишечника [33]. Показано, что при концентрации 1 % он не вызывает ДНК-повреждений у штаммов *E. coli* (Wp, RecA-, PolA-, UvrA-), а крахмал с повышенным содержанием амилозы стимулирует их рост, что указывает на пребиотическую активность в низких концентрациях [99].

1.3.5 Применение крахмалов в технологии кисломолочных продуктов

Применение гидроколлоидов является важной частью пищевой промышленности [26; 37]. Потребительский интерес к продуктам с желательными органолептическими, текстурными и оздоровительными свойствами способствовал росту продаж крахмалистых соединений [62]. Полисахариды растительного происхождения широко применяются в технологии кисломолочных продуктов [42]. Основная проблема – флокуляция и осаждение белков, включая сывороточные и мицеллы казеина, при pH ниже 5 [173; 344]. Изoeлектрическая точка мицелл казеина – 4,6, сывороточных белков – почти 5,2, поэтому гидроколлоиды добавляют для стабилизации белков [164].

Производство и потребление нежирных йогуртов по данным анализа IMARC групп возросло: рынок низкокалорийного йогурта достиг 24,3 млрд долл. в 2016 г., прогноз на 2033 г. – 51,4 млрд долл. [288]. Однако удаление жира приводит к снижению вязкости, ухудшению текстуры и повышенному синерезису кисломолочного продукта [131].

Добавление гидроколлоидов повышает вязкость и снижает синерезис. Полисахариды взаимодействуют с мицеллами казеина, образуя трехмерные гелевые сети [290]. Исследования изучают влияние β -глюкана, инулина, трагаканта и желатина на синерезис [129; 130; 135; 385]. Разные полисахариды формируют особые органолептические характеристики в зависимости от концентрации, процесса и типа йогурта. Термостатные нежирные йогурты с желатином (0,5–1,5 %) обладают свойствами, схожими с полножирным. Однако каррагинан (0,01–0,08 %) и ксантан (0,005–0,015 %) могут вызывать неприятные ощущения во рту [317].

Качество текстуры и органолептики зависит от взаимодействия между белками и полисахаридами. При низкой концентрации и энтропии растворов они хорошо смешиваются, при сильном отталкивании происходит сегрегация [218]. Важны такие факторы, как молекулярная масса, концентрация, температура, pH, ионная сила и структура полисахаридов [351].

Крахмал – доступный загуститель, улучшающий вязкость, упругость, вкус и текстуру йогурта, снижая синерезис [129; 308]. Он особенно эффективен в продуктах с добавлением сахара, сиропов, а также в обезжиренных йогуртах [58; 318]. Кукурузный крахмал используется как загуститель и заменитель жира [121; 129]. Применяются также крахмалы кудзу [238], водяного ямса [329], тапиоки [92; 286], картофельный [118]. Благодаря доступности и простоте использования крахмал – один из самых распространенных загустителей [129].

Крахмальные загустители состоят из нерастворимых гранул, которые при нагревании (пастеризация, стерилизация) набухают и желатинизируются, увеличивая вязкость за счет объемного взаимодействия [211]. Йогурт с крахмалом – это система с мицеллами казеина и неповрежденными гранулами крахмала [134].

Однако нативные крахмалы имеют недостатки: низкая устойчивость к кислоте и высокая ретроградация [383]. Проблемы решаются модификацией: сшитые крахмалы более термостабильны и повышают прочность геля [134]; ацетилирование увеличивает вязкость и влагоудержание [167].

Исследуются различные типы крахмала и модификации в молочных системах с жирностью от 0,05 до 25 %, основное внимание уделяется текстурным и органолептическим характеристикам (питьевой и термостатный варианты) [106; 129; 146; 178; 220; 256; 261; 337; 444]. Используются закваски с пробиотиками *L. acidophilus* и *Bifidobacterium* [134; 237] и ЭПС-продуцирующие лактобактерии, повышающие вязкость [212].

Важно учитывать взаимодействие растительных и бактериальных полисахаридов. Молочнокислые бактерии (*Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*) синтезируют ЭПС в процессе ферментации. Стартеры формируют белковую сеть и повышают удержание сыворотки, влияя на вязкость [216].

Совместное присутствие ЭПС и крахмала влияет на микроструктуру геля, вероятно, из-за сегрегации в йогурте [326] и в смешанных растворах ЭПС с белками [415]. Многие авторы отмечают, что ЭПС или крахмал локализируются в порах белковой сети [216; 229]. При применении ферментно модифицированного тапиокового крахмала наблюдается стимуляция синтеза ЭПС и рост вязкости в обезжиренных продуктах [414].

В последние годы наблюдается значительный рост мирового потребления йогуртов. В 2024 г. доходы этого рынка достигнут отметки 181,3 млрд долл. США, а прогнозируемый ежегодный рост составит 6,95 % [447]. Синерезис остается технологической проблемой в этой области. Это явление может нарушить структуру, вкус и целостность йогуртов, что негативно сказывается на спросе [126]. Достижения в исследованиях полисахаридов имеют решающее значение для создания более надежных гелеобразующих систем, помогающих минимизировать сокращение мицеллярных структур казеина и тем самым уменьшить синерезис йогуртов. Синергетическое взаимодействие между полисахаридами, ферментативными культурами и другими элементами, такими как мицеллы казеина, способствует углубленному изучению того, как эта комбинация может привести к созданию более стабильных и питательных йогуртов [219; 425; 451]. Кроме того, срок хранения йогуртов с добавками значительно увеличивается. Стабильность, обеспечиваемая полисахаридами, даже в низких концентрациях, может укрепить структуру йогурта, уменьшить загрязнение микроорганизмами, и продлить период, в течение которого продукт остается пригодным для употребления человеком [116; 263; 364].

Последние исследования показывают другую сторону использования полисахаридов в качестве добавок, когда рассматривается их пребиотический эффект для благополучия микробиома кишечника. Например, пребиотическое действие полисахарида GLP (из *Ganoderma lucidum*) заключалось в увеличении микробного разнообразия и соотношения между *Bacteroidetes* и *Firmicutes*, а также обогащении комменсальных бактерий, таких как *Bacterioides ovatus* и *Bacterioides uniformis* [442]. Эти результаты свидетельствуют о том, что GLP может быть эффективно использован фекальной микробиотой человека для изменения микробного сообщества и метаболических функций, потенциально выступая в качестве нового пребиотика для укрепления здоровья человека.

Некоторые полисахариды были изучены как пищевые волокна или матрицы для иммобилизации различных биологических молекул [188; 299]. Кроме того, полисахариды могут быть использованы для инкапсуляции пробиотиков и биомолекул с фармацевтической значимости [358; 365]. Последние исследования указы-

вают на зарождающуюся тенденцию на рынке продуктов для диабетиков: снижение уровня глюкозы в крови за счет потребления продуктов, например йогуртов, которые одновременно полезны для здоровья и приносят пользу с точки зрения корректора текстуры [224; 382].

Таким образом, полисахариды, в частности ферментно модифицированные крахмалы, являются ингредиентами, признанными безопасными (GRAS), благодаря их биосовместимости и нетоксичности, что делает их привлекательными для множества вариантов биотехнологического применения. Они применяются в качестве загустителей в различных продуктах пищевой промышленности, особенно в молочных продуктах; однако только в последние годы были достигнуты значительные успехи в разработке рецептур йогуртов. Включение этих функциональных добавок в йогурты с помощью различных методов расширило научные знания о технологических, реологических и текстурных свойствах йогуртов, тем самым обеспечивая дополнительные преимущества для здоровья человека.

Заключение по главе 1

Анализ современных исследований в области функциональных кисломолочных продуктов демонстрирует значительный прогресс в использовании пробиотических молочнокислых бактерий для улучшения здоровья человека. Установлено, что пробиотики, в том числе относящиеся к группе *Lactobacillus*, обладают широким спектром терапевтических эффектов: от модуляции микробиоты кишечника до снижения риска сердечно-сосудистых, метаболических и воспалительных заболеваний. Кроме того, исследования показывают, что, с точки зрения технологических аспектов производства, на фоне заквасочных культур перспективно применение экзополисахаридов и ферментно модифицированных крахмалов, которые позволяют улучшить текстуру, стабильность и функциональные свойства продуктов.

В свете описанных перспектив ключевой проблемой остается расширение ассортимента функциональных кисломолочных напитков с усиленными пробиотическими свойствами. В этой области сохраняется ряд проблем, таких как ограниченное разнообразие штаммов (многие коммерческие продукты используют узкий набор пробиотиков, что снижает потенциал их синергетического действия), низкая выживаемость пробиотиков (устойчивость культур к условиям ЖКТ и их жизнеспособность в процессе хранения требуют оптимизации), недостаток исследований автохтонных штаммов МКБ (эти штаммы имеют огромный потенциал как местные микробные ресурсы, адаптированные к региональным условиям), сложности комбинирования с функциональными ингредиентами (например, взаимодействие пробиотиков с резистентными крахмалами или пребиотиками нуждается в дополнительном изучении для максимизации пользы), нормативные барьеры (строгие требования к подтверждению безопасности и эффективности пробиотиков замедляют внедрение инноваций).

В связи с установленными ограничениями возникает необходимость поиска и изучения новых штаммов МКБ с улучшенными пробиотическими характеристиками, включая кислотоустойчивость, адгезивность и способность синтезировать биоактивные метаболиты, а также интеграция симбиотических комбинаций (пробиотики + пребиотики + функциональные добавки) для усиления синергетических эффектов. Проведение доклинических исследований, в идеале – клинических исследований, обеспечит валидацию заявленных свойств продуктов и их соответствие международным стандартам.

Расширение ассортимента функциональных кисломолочных напитков с доказанной пользой для здоровья отвечает растущему потребительскому спросу на персонализированное питание и профилактику заболеваний. Реализация этих направлений позволит не только укрепить позиции таких продуктов на рынке, но и внести вклад в улучшение общественного здоровья через инновационные пищевые решения.

2 Методология, материалы и методы исследований

2.1 Организация работы

Теоретические и экспериментальные исследования выполнены в соответствии с научной концепцией, соответствуют цели и поставленным задачам. Исследования выполнены на базе кафедры технологии мясных и молочных продуктов ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет»), часть экспериментальных исследований проведена на базе Казанского (Приволжского) федерального университета. Общая схема проведения исследований представлена на рисунке 1.

Многолетний цикл исследований состоял из нескольких взаимосвязанных этапов.

На первом этапе проводили анализ современной зарубежной и отечественной научной литературы с определением актуальности работ в этой области; определяли потребность рынка в продуктах функционального назначения, осведомленность людей о таком типе продуктов. Полученные результаты стали основой для проведения экспериментальных и практических исследований.

На втором этапе проводили исследование и селекцию новых штаммов МКБ на основе их антибактериальных свойств, оценивали их пробиотический потенциал, а также технологические свойства в связи с перспективой использования в КМП. На этом же этапе проведена оценка функционального воздействия ферментированного новыми штаммами МКБ молока *in vivo*, дана медико-биологическая оценка физиологического состояния животных (лабораторных крыс) после шести недель эксперимента.

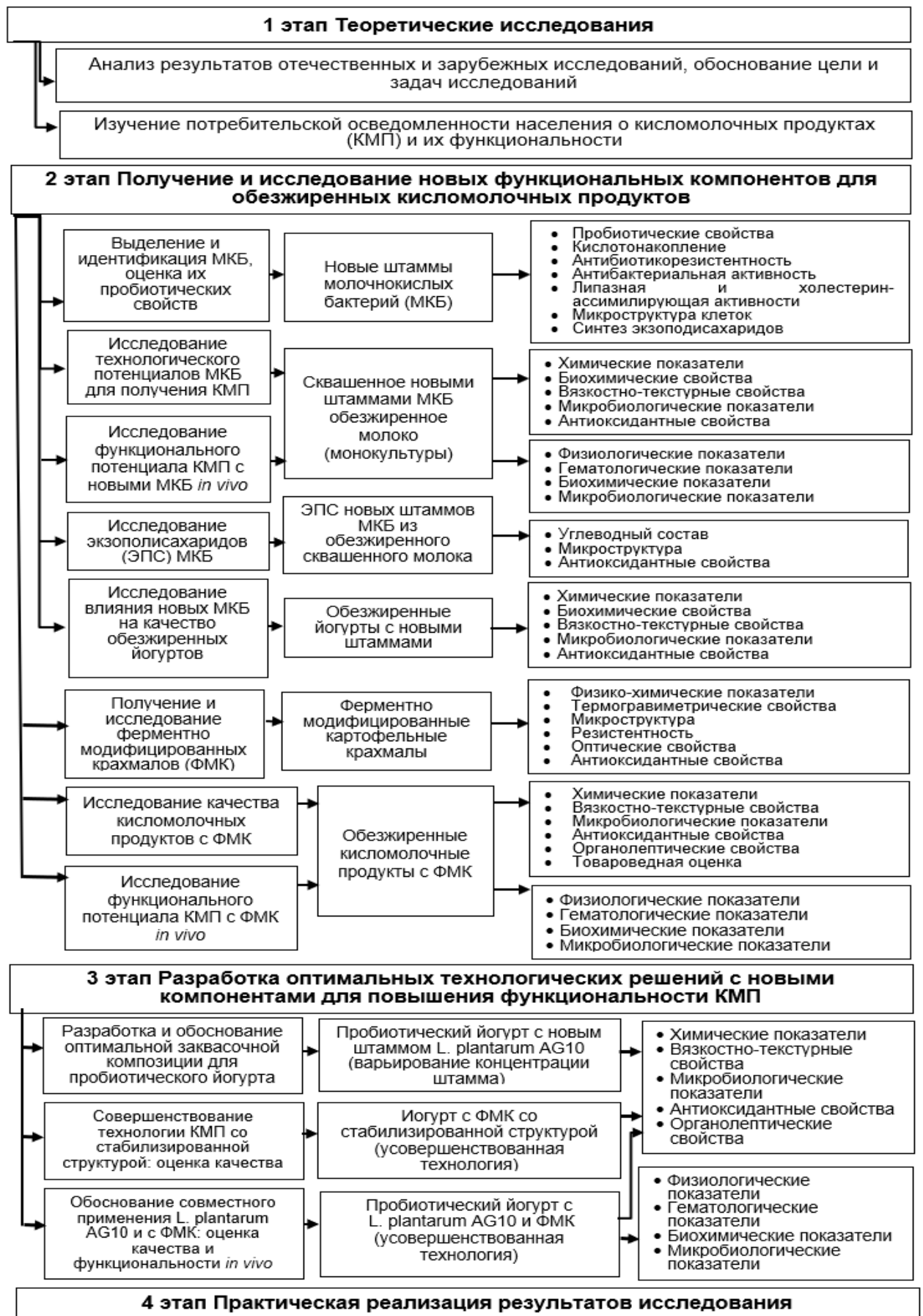


Рисунок 1 – Структурно-методологическая схема исследований

На этом же этапе получали картофельные крахмалы, модифицированные с помощью ферментных препаратов бактериального происхождения, с последующим изучением их свойств. Исследовали влияние вида и концентрации используемого фермента, времени обработки на комплекс физико-химических, структурных, оптических и антиоксидантных свойств.

Третий этап посвящен получению кисломолочных продуктов с изучаемыми ингредиентами по отдельности, проведена органолептическая, физико-химическая, антиоксидантная, микробиологическая оценка готовой продукции с последующей оценкой функциональных свойств этих продуктов в системе *in vivo*.

На четвертом этапе научно и экспериментально обоснована целесообразность совместного использования пробиотических молочнокислых бактерий с ферментно модифицированным крахмалом в технологии функциональных продуктов, разработана схема изготовления кисломолочного обезжиренного продукта с включением новых пробиотических штаммов и ФМК. Результаты исследований апробированы в производственном процессе путем разработки технической документации и выработки пилотных партий продуктов.

2.2 Объекты исследования

Объектами исследования на определенных этапах работы последовательно выступали:

– штаммы молочнокислых бактерий, выделенных на территории Республики Татарстан: *Lactiplantibacillus plantarum* AG1, *Limosilactobacillus fermentum* AG8, *Lactiplantibacillus plantarum* AG9, *Lactiplantibacillus plantarum* AG10, *Lactiplantibacillus plantarum* AG15, *Lacticaseibacillus rhamnosus* AG16;

– сквашенное обезжиренное молоко, для ферментации которого использовали селекционированные штаммы, как матрица для исследования технологического потенциала изучаемых МКБ;

- экзополисахариды МКБ, синтезируемые новыми штаммами при ферментировании обезжиренного молока;
- обезжиренные йогурты, изготовленные на основе классических заквасочных культур *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* и *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, с добавлением новых штаммов *Limosilactobacillus fermentum* AG8, *Lactiplantibacillus plantarum* AG9, *Lactiplantibacillus plantarum* AG10;
- обезжиренные йогурты с классическими культурами *L. bulgaricus* и *S. thermophilus* и штаммом *Lactiplantibacillus plantarum* AG10, процентное содержание которого варьировалось (10; 20 и 30 % к общей массе закваски);
- ферментно модифицированные картофельные крахмалы (ФМК), полученные с использованием бактериальных ферментных препаратов – амилосубтилина и амилазы *Bacillus licheniformis*;
- обезжиренные кисломолочные продукты (йогурт и варенец), изготовленные с использованием ФМК;
- пробиотические обезжиренные йогурты (пробиойогурт), изготовленные с использованием *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*, *L. plantarum* AG10 (30 % от массы закваски) и добавлением ФМК.

2.3 Методы исследования

2.3.1 Методы выделения и идентификации молочнокислых бактерий

Молочнокислые бактерии выделяли из травы пырея ползучего (*Elytrigia repens*) и силоса ООО «Заволжье» (д. Большое Русаково Кайбицкого района Республики Татарстан). Навеску исследуемого материала помещали в жидкую накопительную среду МРС и инкубировали 24 ч при температуре 37 °С, наблюдали рост

в виде белого осадка. Далее проводили рассев суспензии методом десятичных разведений для получения отдельных колоний. Инкубирование штаммов МКБ использовали среду МРС или агар (Himedia, Индия). Отбирали одиночные колонии, проводили первичный скрининг на кислотообразование и антимикробную активность.

Идентификацию МКБ проводили по фрагменту гена 16S рРНК идентифицируемых бактерий в Междисциплинарном ЦКП КФУ, процедура описана в статье [208]. Результаты секвенирования обрабатывали в программе SeqMan (Applied Biosystems). Поиск гомологичных нуклеотидных последовательностей генов 16S рРНК осуществляли с помощью программы BLAST (Basic Local Alignment Search Tool) в базе данных GeneBank Национального центра биотехнологической информации США.

2.3.2 Методы исследования свойств молочнокислых бактерий

В работе использовали *L. bulgaricus* (ООО «Лактосинтез», Россия). Для йогурта использовали закваску российского производства (ООО «Лактосинтез»), состоящую из *L. bulgaricus* и *S. thermophilus*, штамм *L. plantarum* 8РАЗ использовали в качестве референсного.

Методики анализа пробиотических свойств (выживаемость в модели ЖКТ, автоагрегация, гидрофобность), антибиотикорезистентности описаны ранее [208].

Количество молочной кислоты (титруемую кислотность) определяли по ГОСТ 3624-92. Для оценки количества молочной кислоты в процентах использовали 0,1 н. раствор NaOH по следующему уравнению:

$$\text{Молочная кислота (\%)} = \frac{10 \cdot V_{\text{NaOH}} \cdot 0,009 \cdot 0,1}{W} \cdot 100, \quad (1)$$

где 10 – коэффициент разбавления; V_{NaOH} – объем NaOH, использованный для нейтрализации молочной кислоты; 0,1 – нормальность NaOH; W – масса образца для титрования, г.

Определение активности липолитических ферментов МКБ проводили по методу, описанному ранее [38].

Для тестирования антибактериальной активности использовали музейные штаммы *E. coli*, *B. subtilis*, *S. typhimurium* кафедры микробиологии и генетики Казанского федерального университета, а также *E. coli* MG1655 (K-12), *K. pneumoniae* (клинический), *P. aeruginosa* ATCC 27853, *B. cereus* (клинический), *S. aureus* subsp. *aureus* ATCC 29213. Для идентификации антимикробных свойств МКБ использовали диффузионно-луночный метод.

Для выявления пероксидазы в растопленный стерильный МРС агар (50 мл) вносили 1 мл раствора 3,3',5,5'-тетраметилбензидина гидрохлорида (0,025 г в 500 мл ДМСО) и 1 мл пероксидазы (0,001 г растворили в 100 мкл стерильной деионизированной H_2O).

Способность ассимилировать холестерин в бульоне МРС определяли в соответствии с методом, описанным ранее [411]. Холестерин-ПЭГ 600 (Sigma-Aldrich, США) добавляли в бульон МРС в конечной концентрации 200 мкг/мл. 1 % (об/об.) инокулята каждой ночной пробиотической культуры добавляли к МРС холестерин-ПЭГ 600 и инкубировали при 37 °C в течение 24 ч.

Для анализа холестерина суспензии пробиотиков центрифугировали при 4000 об/мин в течение 10 мин при 4 °C и собирали супернатанты, содержащие неусвояемый холестерин. К 500 мл образцов добавляли 500 мл 33 % (масса/объем) КОН и 1 мл абсолютного этанола. Затем растворы встряхивали в течение 1 мин и инкубировали при 37 °C в течение 15 мин с последующим охлаждением до комнатной температуры. Для разделения фаз к растворам добавляли 1 мл деионизированной воды и 1,5 мл гексана и перемешивали на вортексе в течение 1 мин. Затем фазам давали возможность разделиться при комнатной температуре. Затем 500 мл гексанового слоя переносили в стеклянную трубку и растворитель выпаривали. После сушки добавляли 1 мл реагента *o*-фталевого альдегида с концентрацией

50 мг/дл, приготовленного в уксусной кислоте, и образцы перемешивали. После смешивания в каждую пробирку добавляли 250 мкл концентрированной H_2SO_4 и растворы встряхивали в течение 1 мин с последующей инкубацией в течение 20 мин при комнатной температуре. Оптическую плотность определяли при 570 нм на УФ-спектрофотометре СФ-2000 (Россия). Стандартная кривая зависимости поглощения от концентрации холестерина была построена с использованием концентраций холестерина: 0; 3,91; 7,81; 15,63; 31,25; 62,5; 125; 250 и 500 мкг/мл холестерина в МРС. Холестерин, ассимилированный пробиотическими штаммами, определяли по формуле:

$$\text{Холестерин (мкг/мл)} = [\text{Холестерин (мкг/мл)}]_{0 \text{ ч}} - [\text{Холестерин (мкг/мл)}]_{24 \text{ ч}}. \quad (2)$$

2.3.3 Методики выделения и анализа экзополисахаридов

Выделение и количественное определение ЭПС проводили в соответствии с методом, описанным ранее [319]. Метод основан на экстракции ЭПС из объекта исследования (питательная среда или сквашенное молоко) с помощью этилового спирта после предварительного осаждения белков.

Для количественного определения ЭПС использовали фенол-сернокислотный метод [319].

Молекулярную массу ЭПС анализировали методом эксклюзионной хроматографии на колонке OHpak SB-806M HQ ($8,0 \times 300$ мм) с защитной колонкой OHpak SB-G ($6,0 \times 50$ мм) (Shodex, США) [320].

Анализ моносахаридов проводили методом высокоэффективной анионообменной хроматографии (HPAEC, ICS-6000, Thermo, США) на колонке CarboPac PA-1 (4×250 мм, Thermo, США) с защитной колонкой с использованием встроенного амперометрического обнаружения [320].

Сканирующая электронная микроскопия (СЭМ) проведена с помощью само-эмиссионного сканирующего электронного микроскопа Merlin (Carl Zeiss, Германия) при ускоряющем напряжении 5 кВ, детекторе вторичных электронов [320]. Образцы фиксировали 2,5 % глутаровым альдегидом, затем обезвоживали этиловым спиртом, лиофилизировали, а затем проводили микрокопирование.

2.4 Используемые крахмалы, ферменты и методики для модификации

В качестве основы для модификации ферментами использовали картофельный нативный крахмал по ГОСТ Р 52791-2007. Ферментно модифицированные картофельные крахмалы получали с применением ферментов: промышленный амилосубтилин (ГЗх А – 1500 ед/г, ПО «Сиббиофарм», Россия), термостабильный ферментный препарат в виде свежей культуральной жидкости *Bacillus licheniformis* (α -амилазная активность при 40 °С – 250 U/мл).

Модификацию картофельного крахмала осуществляли вышеперечисленными ферментами по методике Й. Ма с соавторами [291]. Модификацию проводили в дистиллированной воде при pH 7 в течение 1–12 ч, при 40 °С; концентрация крахмала в реакционной смеси 30 г/100 мл.

Активность ферментных препаратов в реакционной смеси варьировали согласно таблице 33, реакцию проводили при 40 °С. Реакцию гидролиза останавливали добавлением до pH 2. Затем крахмал отделяли от жидкости фильтрованием и высушивали при 40 °С. Полученные крахмалы применяли для исследований.

2.5 Методы анализа крахмалов

Вязкость 1 % крахмального клейстера тестировали на капиллярном вискозиметре. Эмульгирующую активность тестировали по [258]. Исследование устойчивости крахмалов к кислотному и ферментному гидролизу, термостабильности описано в [56]. Для определения количества сахаров после гидролиза использовали антроновый метод. Оптическое микроскопирование описано в [52].

Методики определения амилозы (%), амилопектина (%), остаточных редуцирующих сахаров (г/г крахмала), белка (г/100 г крахмала), влажности (%) образцов крахмала, влагоадсорбирующей способности (г H₂O/г крахмала), водосорбирующего индекса (г твердого вещества/100 г крахмала), температуры желатинизации (°C) описаны ранее [416]. Анализ эмульгирующей способности описан в [331].

Размер крахмала изучали методом динамического рассеяния света с использованием Zetasizer Nano-ZS (Malvern, Великобритания) при температуре 25 °C.

Проводили термально-гравиметрический анализ (ТГА) и дифференциальный термальный анализ (ДТА). Кривые ТГА и ДТА регистрировали с помощью системы TG 60 (Shimadzu) при потоке воздуха 100 мл/мин⁻¹ и скорости нагрева 10 °C/мин.

Для определения термоустойчивости крахмалов крахмальные клейстеры (1 % растворы) подвергали обработке при 80; 100 и 150 °C в течение 30 мин. До термообработки и по окончании 30 мин определяли количество глюкозы в образцах.

Для определения устойчивости крахмалов к кислотному гидролизу использовали 10 мл 1 % крахмального клейстера с добавлением 1 мл концентрированной серной кислоты. Смесь инкубировали на кипящей водяной бане, через каждые 20 мин в течение 1 ч отбирали пробы для определения содержания глюкозы.

Исследование устойчивости крахмалов к ферментному гидролизу проводили с использованием α -амилазы и β -амилазы (Sigma, США), концентрация 0,1 мг/г крахмала. Инкубировали смеси при 37 °C в течение 1 ч. В течение этого времени отбирали пробы для измерения количества глюкозы.

2.6 Методики получения сквашенного молока и кисломолочных продуктов

МКБ подращивали в бульон МРС при 37 °С в течение 24 ч, а затем инокулировали в обезжиренное молоко для получения стартовой культуры. Прекультуры МКБ готовили путем инкубации при 40 °С в течение 16 ч в обезжиренном пастеризованном молоке и затем инокулировали (5 % об/об) в обезжиренное молоко. Ферментацию проводили при 40 °С в течение 8 ч, так как ферментацию молока обычно проводят для производства йогурта в промышленных условиях. После этого ферментированные образцы инкубировали при 4 °С в течение 16 ч для созревания, а затем хранили при (4 ± 2) °С. Оценивали физико-химические, текстурные, микробиологические и антиоксидантные свойства ферментированного молока в процессе хранения [319]. Аналогичным образом проводили подготовку культур для получения йогуртов, но с использованием заквасок «Лактосинтез», описанных ранее. Для получения йогурта с пробиотическими новыми штаммами проводили смешивание культур стартовых культур в определенном соотношении.

Йогурты с крахмалами. Крахмалы были добавлены в обезжиренное стерилизованное коровье молоко (0,05 % жирность) в концентрации 1 %. Смесь подвергали пастеризации на водяной бане при 95 °С в течении 30 мин, периодически перемешивали для равномерного распределения крахмала, после чего их остужали до 40 °С. Коммерческую лиофильно высушенную закваску для йогуртов («Лактосинтез») использовали для изготовления кисломолочных продуктов. Для получения активированной закваски сухую закваску вносили в обезжиренное молоко из расчета 1 г/100 мл, ферментировали при 37 °С в течение 16 ч, получали стартовую культуру. Стартовую культуру добавляли в молочные смеси с крахмалами из расчета 3 % к массе смеси. Для получения кисломолочного продукта молоко сквашивали при 40 °С в течение 8 ч, потом охлаждали готовый продукт при 4–5 °С в течение 20 ч для стабилизации. Затем образцы подвергали хранению при 4 °С и анализу.

Изготовление варенца. Крахмалы добавляли в молоко в концентрации 1 % и нагревали, затем топили при 98 °С в течение 3 ч для получения топленого молока,

смесь топленного молока и крахмала перемешивали для равномерного распределения крахмала [318]. Аналогичным образом нагревали контрольный образец без крахмала. Стартовая культура молочнокислых бактерий состояла из *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* и *Streptococcus thermophilus* (ООО «Лактосинтез»), ее предварительно активировали для получения закваски, культивировали на обезжиренном стерильном молоке при 37 °С в течение 16 ч. Закваску (5 %) в контрольное молоко или молочно-крахмальную смесь переносили после охлаждения молока до 40 °С. Инкубировали при 40 °С в течение 6–7 ч до достижения pH 4,5 и для стабилизации выдерживали при температуре 6 °С. Таким образом были получены варенцы с нативным картофельным крахмалом (Native/Нативный), варенцы с крахмалами, модифицированными амилосубтилином (АМ-0.05, АМ-0.1, АМ-0.5, АМ-1) и варенцы с крахмалами, модифицированными амилазой *B. licheniformis* (BL-0.05, BL-0.1, BL-0.5, BL-1). После стабилизации оценивали физико-химические, текстурные, физико-химические, сенсорные, антиоксидантные свойства каждого образца варенца.

Для изготовления йогурта и варенца были использованы крахмалы, описанные в параграфе 5.1; в таблице 33 описаны условия получения крахмалов, в том числе концентрации используемых ферментов, применяемых для модификации.

2.7 Методы анализа кисломолочных продуктов

Химический состав обезжиренного ферментированного молока исследовали в соответствии с методами, описанными ранее [58]. Определение pH образцов обезжиренного ферментированного молока осуществляли с помощью pH-метра Hanna HI 2216-02 (Hanna Instruments, США). Для определения общей титруемой кислотности 10 г ферментированного молока смешивали с 20 мл дистиллированной воды и титровали 0,1 М раствором NaOH до конечного значения pH 8,2, определяемого

по 1 % фенолфталеину в этаноле. Титруемую кислотность образцов ферментированного молока выражали в градусах Тернера ($^{\circ}\text{T}$) [52].

Количественный анализ белков, жира, сухого вещества и плотности в ферментированном молоке проводили на приборе Infra LUM® FT-12 (Lumex, Россия) с программным обеспечением и калибровочными данными, рекомендованными для продукта «йогурт».

Общие углеводы и соли в сыворотке определяли на приборе «Клевер-М» («Биомер», Россия) в надосадочной жидкости после центрифугирования КМП при $3000\times g$ в течение 15 мин.

Содержание глюкозы в молочной сыворотке определяли с помощью ГХ «Акку-Чек актив» (Roche, Германия).

Общие фенольные соединения определяли с использованием реактива Фолина – Чокальтеу. Результаты выражали в тирозиновых эквивалентах, мкг/мл [311], для чего строили калибровочную кривую.

Тиксотропные свойства измеряли в соответствии с методикой, описанной ранее [50]. Показатель вязкости измеряли ротационным вискозиметром (модель RV-DVIII, Китай), измерение КМП проводили в охлажденном состоянии при $8\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Синерезис и влагоудерживающую способность (ВУС) определяли в соответствии с методами, описанными ранее [98]. Стабильность структуры и тиксотропные свойства образцов [264], оценивали по коэффициенту потери вязкости и коэффициенту механической стабильности.

Анализ профиля текстуры проводили с помощью структурометра СТ-2 (Россия). Программа для анализа данных включала в себя два цикла погружения и поднятия цилиндра с тензодатчиком с глубиной погружения 15 мм, скоростью погружения 0,5 мм/с. Расчеты твердости, эластичности, адгезии, когезии, скорректированной когезии, липкости, упругости, тягучести, разжевываемости осуществляли по формулам, приведенным в таблице 4.

Таблица 4 – Параметры анализа профиля текстуры [413]

Параметр	Измерение
Твердость, г	$P_1 = F_{1 \max}$
Эластичность, доли ед.	A_2/A_1
Сила адгезии, г	$F_{1 \min}$
Адгезия, г·с	A_3
Когезия, доли ед.	B_1/A_1
Скорректированная когезия	$(B_1 - B_2) / (A_1 - A_2)$
Клейкость (липкость), г	$P_1 \times B_1 / A_1$
Упругость, мм	d_2
Тягучесть, мм	d_3
Разжевываемость, г·мм	$P_1 \times B_1 / A_1 \times d_2$

Антимикробную активность сквашенного молока определяли по методу, аналогичному для определения антибиотикорезистентности с дисками, однако в качестве антимикробного агента на поверхность чашки Петри с тест-культурой патогенных бактерий наносили 5 мкл ферментированного молока. После чего чашки культивировали при 37 °С 24 ч и фиксировали наличие зоны просветления (отсутствие роста патогенных бактерий).

Органолептический анализ. Образцы оценивали не менее 10 участников. Для оценки органолептических свойств использовали дифференциальную шкалу. Дефекты также фиксировали в случае обнаружения. Каждый участник получал 30 мл йогурта (при 12 °С) в стеклянном флаконе на 100 мл с крышкой.

Параметры цветности (L^* , a^* и b^*) образцов измеряли с помощью колориметра Chroma Meter (Китай). Разные значения представляют разные цвета: L^* – яркость (черный-белый) (0–100); a^* – зеленый-красный (–60...+60); b^* – синий-желтый (–60...+60). Образцы (50 мл) перемешивали и помещали в алюминиевый цилиндр (наружный диаметр 55 мм) с оптически плоской поверхностью перед измерением, а датчик устанавливали непосредственно сверху цилиндра для предотвращения воздействия окружающего света [58].

Санитарно-гигиеническую оценку йогуртов проводили в соответствии с ГОСТ 31747-2012, ГОСТ 30726-2001, ГОСТ ISO 6785-2015, ГОСТ 30347-2016, ГОСТ 33566 -2015.

2.8 Методы анализа антиоксидантных свойств

Безбелковый экстракт получали следующим образом: к 5 г сквашенного молока добавляли 5 мл 1 % раствора ТХУ и перемешивали. После 5 мин инкубации при 25 °С осадок удаляли центрифугированием в течение 15 мин при 10000×g. Супернатант использовали в качестве безбелкового экстракта для анализа [319].

Сыворотку получали следующим образом: пробирку с 20 г образца нагревали на кипящей водяной бане на 30 мин, охлаждали, образцы центрифугировали при 3000×g в течение 15 мин. Отделяли супернатант (сыворотку) и использовали для исследований.

Радикал-связывающую активность (ДФПГ-активность) анализировали согласно методу, описанному ранее [319], с использованием 2,2-дифенил-1-пикрил-гидразилом (0,12 mM в этаноле) Гидроксил-радикал-связывающую активность (ОН-связывающую активность) определяли в соответствии с процедурой, описанной ранее [320] с сульфатом железа, салициловой кислотой и перекисью водорода. Активность по связыванию ионов железа (Fe-связывающая активность) исследовали согласно методике, описанной ранее [320] с использованием феррозина. Восстановительную силу (FRAP) анализировали по методике, описанной ранее [318].

Анализ супероксид-анион-радикал-связывающей активности проводили по методике, описанной ранее [320], с использованием пирогаллола.

2.9 Методы оценки ингибирования липазы и глюкозидазы

Активность ингибирования липазы определяли по методу, описанному ранее [120]. Активность липазы измеряли с использованием *n*-нитрофенилбутирата (НФБ) в качестве субстрата. Активность ингибирования α -глюкозидазы *in vitro* определяли в соответствии с методом, описанным ранее [406]. Ингибирующее действие на α -глюкозидазу оценивали с использованием раствора субстрата *n*-нитрофенил- α -D-глюкопиранозида (*n*-НФГ).

2.10 Методика тестирования кисломолочного продукта системе *in vivo*

В эксперименте использовали белых крыс линии Вистар (самцы), массой 90–120 г (неполовозрелые особи), возрастом 6–8 недель, которых содержали в виварии НОЦ фармацевтики Казанского федерального университета (Казань, Россия). Получено разрешение Локального этического комитета ФГАОУ ВО «КФУ» (протокол № 38 от 04.10.2022). При тестировании йогуртов с крахмалами использовали половозрелых крыс линии Вистар возрастом 10–12 недель, массой 180–250 г.

Перед введением в эксперимент крысы находились на карантине в течение 12 сут. Животных содержали при температуре 20–24 °С в помещении с влажностью 60–65 % и циклом свет/темнота 12 ч, обеспечивали свободный доступ к стандартному корму и водопроводной воде. Для кормления использовали коммерческий сбалансированный корм для лабораторных крыс и мышей, находящихся под длительным экспериментом (DeltaFids, «БиоПро», Россия). Питательная ценность корма: энергия обмена – 2 500 ккал/кг, сырой белок – 19 %. Ингредиенты: двухкомпонентная зерновая смесь, высокобелковые компоненты (растительные и живот-

ные белки), растительное масло, аминокислоты, органические кислоты, витаминно-минеральный комплекс, пищевое волокно).

Для эксперимента по выявлению воздействия ферментированного молока с новыми штаммами молодые крысы были разделены по принципу сходности групп на группы по пять особей в каждой. Каждая группа получала следующие рационы (очищенная вода без ограничения):

- контроль: коммерческий корм для лабораторных крыс и мышей;
- AG8: коммерческий корм + молоко, ферментированное штаммом *L. fermentum* AG8 обезжиренное (2 г/животное);
- AG9: коммерческий корм + молоко, ферментированное штаммом *L. plantarum* AG9 обезжиренное (2 г/животное);
- AG10: коммерческий корм + молоко, ферментированное штаммом *L. plantarum* AG10 обезжиренное (2 г/животное).

Образцы ферментированного молока после стабилизации использовали для кормления животных в течение 5 сут, хранили при 4 °С. Каждые 5 сут готовили новые образцы ферментированного молока.

Через шесть недель (42 сут) образцы крови животных были собраны сразу после эвтаназии в одноразовые пробирки, содержащие разделительный гель, и центрифугированы при 3 500 об/мин в течение 10 мин. До анализа образцы хранились в холодильнике.

Селезенку, левую и правую почки (вместе), печень, сердце каждого животного взвешивали. Индекс массы органов определяли между соотношением массы тела и органами животного, выражали в процентах.

Аналогичным образом были проведены эксперименты по анализу пробиогурта и йогуртов с ФМК, но в эксперименте использовали половозрелых крыс возрастом 12–14 недель.

Анализ крови проводили на гематологическом анализаторе Abacus Junior 5 VET (Diatron Messtechnik GmbH, Австрия). Определение биохимических параметров общего холестерина и фракций: общего холестерина, липопротеина высокой плотности, липопротеина низкой плотности, триглицеридов, аланинаминотрансфе-

разы (АЛТ) и аспартатаминотрансферазы (АСТ), щелочной фосфатазы, лактатдегидрогеназы (ЛДГ), общего белка, альбумина, креатинина и билирубина проводили в ChemWell2902 (Awareness Technology, США) с использованием Spinreact S. A. (Испания) наборов или реагентов. Липопротеин очень низкой плотности (ЛПОНП) рассчитывали по формуле

$$\text{ЛПОНП} = \text{ОХ} - \text{ЛПВП} - \text{ЛПНП}, \quad (3)$$

где ОХ – общий холестерин; ЛПВП – липопротеин высокой плотности; ЛПНП – липопротеин низкой плотности.

Переокисное число определяли по методу, описанному ранее [368]. Метод основан на экстракции образца в смеси уксусной кислоты и хлороформа, с последующим фильтрованием и титрованием тиосульфатом натрия в присутствии раствора йодистого калия. Значение свободных жирных кислот определяли по методу, описанному ранее [362]. Метод основан на экстракции образца в хлороформе, фильтровании и титровании этанольного раствора гидроксида калия в присутствии фенолфталеина. Тиобарбитуровое число определяли методом, описанным ранее [377]. Метод основан на экстракции образца раствором ТХУ в фосфорной кислоте, фильтрации и последующей реакции тиобарбитуровой кислотой (3 г/л), и измерением при 532 нм с помощью спектрофотометра UV-VIS (СФ-2000, Россия). Значения тиобарбитурового числа рассчитывали по стандартной кривой и выражали в миллиграммах малональдегида на килограмм образца печени (мг МА/кг).

2.11 Методы анализа микробиоты кишечника и биоинформативный анализ

Тотальная ДНК была выделена из 200 мг кала крыс с использованием коммерческого набора ZymoBIOMICS DNA Miniprep Kit (Zymo Research, США) со-

гласно рекомендациям производителя. Для каждого образца были созданы библиотеки ампликонов, нацеленные на гипервариабельные области V3–V4 гена 16S рРНК, согласно протоколу 16S Metagenomic Sequencing Library Preparation (Illumina, США). ПЦР-амплификацию проводили с использованием праймеров 341F (5'-TCGTCGGCAGCGTCAGATGTGTATAAGAGAC-AGCCTACGGGNGGCWGCAG-3') и 805R (5'-GTCTCGTG-GGCTCGGAGATGTGTATAAGAGACAGGACTACNVGGGTATCTAATCC-3'). На второй стадии ПЦР к полученным ампликонам были присоединены двойные индексы. Далее библиотеки были нормализованы и объединены для секвенирования на MiSeq (Illumina, США) с использованием набора реагентов MiSeq Reagent Kit v3 (2 × 300 п. н.) (Illumina, США).

Секвенирование вариабельных областей V3-V4 гена 16S рРНК проводили на платформе Illumina MiSeq в режиме 2x300bp. Обработку и анализ чтений проводили с помощью программного обеспечения QIIME версии 1.9.1 (<http://qiime.org>) [152] в соответствии с протоколами. Парные чтения сначала объединяли, а затем обрабатывали для удаления данных низкого качества и химерных последовательностей. Шаг разрежения выполнялся для уменьшения неоднородности глубины секвенирования между образцами. Последовательности кластеризовали в оперативные таксономические единицы (OTU) на основе порога идентичности 97 % (стратегия выбора OTU на основе открытых ссылок), при этом использовали базу данных Greengenes версии 13.8. Для включения в окончательный список каждая OTU должна была содержать не менее двух последовательностей. Для характеристики полноты и равномерности бактериального сообщества рассчитывали индексы α -разнообразия с использованием метрик Чао, Шеннона и Симпсона. Сходство между микробными составами образцов оценивали по β -характеристикам разнообразия, которые оценивали с помощью взвешенных и невзвешенных мер UniFrac с последующей визуализацией неметрическим многомерным шкалированием (nMDS).

2.12 Статистические методы анализа и обработки информации

Все экспериментальные данные были получены в результате проведения как минимум трех параллельных опытов, результаты аналитических определений для каждой пробы – в двух-трех параллельных опытах. В таблицах и на рисунках приведены данные типичных опытов, каждое значение является средним из трех – пяти измерений.

Для математической обработки экспериментальных данных использовали методы статистического и регрессионного анализа с применением компьютера и пакета программ (GraphPad Prism, Microsoft Excel 2013, Statistica 12.0, OriginPro2012), проводили расчет средних арифметических показателей, стандартных отклонений. Графические зависимости на рисунках представлены после обработки экспериментальных данных по вышеуказанному методу. В программе рассчитывали средние значения, различия между ними для каждой обработки измеряли с помощью ANOVA. Для проведения принципиального компонентного анализа и построения древовидной диаграммы зависимостей использовали программы Statistica 12.0, OriginPro2012, в ряде случаев прибегали к расчетам программного обеспечения R-языка программирования.

3 Изучение потребительской осведомленности населения о кисломолочной продукции и формулировка научной концепции исследования

Питание – неотъемлемая часть жизни любого человека, оно является фактором, обеспечивающим основу здоровья, поэтому важно помнить о принципах сбалансированного питания, которое способствует нормальному функционированию организма человека, снижает риски развития многих неинфекционных, метаболических заболеваний, обеспечивает нормальный рост и развитие детей, повышает работоспособность, стрессоустойчивость и адаптогенность человека. По данным ВОЗ, неинфекционные заболевания – ожирение, сердечно-сосудистые заболевания, хронические респираторные заболевания, диабет, рак, заболевания печени и ЖКТ – являются самой массовой причиной смерти в мире [408]. Снижение рисков появления подобных заболеваний возможно в том числе за счет снижения доли жира в пищевом рационе и, как следствие, снижения калорийности.

Современные диетологи рекомендуют ограничить общее потребление жиров до менее 30 % калорий, а насыщенных жиров – до менее 10 % от общего потребления энергии для населения. Людям с повышенным уровнем холестерина, липопротеидов низкой плотности (ЛПНП), с сердечно-сосудистыми заболеваниями и другими метаболическими нарушениями рекомендуется ограничить потребление насыщенных жиров до менее 7 % калорий. Для достижения более здорового питания современные диетологи рекомендуются увеличить потребление фруктов, овощей и зерновых, а также изменить тип и количество потребляемых жиров [325].

Необходимо отметить, что тенденция последних лет свидетельствует о возрастающей доли людей, корректирующих свой рацион. Корректировка пищевого рациона может быть осуществлена через снижение количества животных жиров в продуктах питания, в том числе массового спроса. Однако далеко не все способны отказаться от любимых, но неполезных продуктов. В связи с этим необходимо

направить усилия на разработку продуктов питания с пониженным содержанием жира без явного ухудшения их органолептических, текстурных характеристик. В связи с этим было проведено изучение потребительских запросов на расширение ассортимента КМП с пониженным содержанием жира.

Основное количество животного жира среднестатистический россиянин получает с мясными и молочными продуктами. В среднем российском наборе продуктов они занимают около 20 %. С целью выявления потребительских предпочтений в отношении КМП проведен опрос среди жителей Республики Татарстан, преимущественно жителей г. Казани. В анкетах в основном содержались вопросы закрытого типа, которые предполагают наличие всех возможных вариантов ответов.

Традиционные кисломолочные продукты (кефир, катык, ряженка и др.) популярны в Европейской части России, в том числе Татарстане. Однако традиционность потребления не означает высокую осведомленность о составе, особенностях технологии изготовления того или иного напитка. Проведенный опрос охватил респондентов в основном средних лет (рисунок 2), большинство из них составили женщины. В основном люди потребляют кисломолочные напитки 1–3 раза в неделю, остальные от случая к случаю, не соблюдая регулярности.

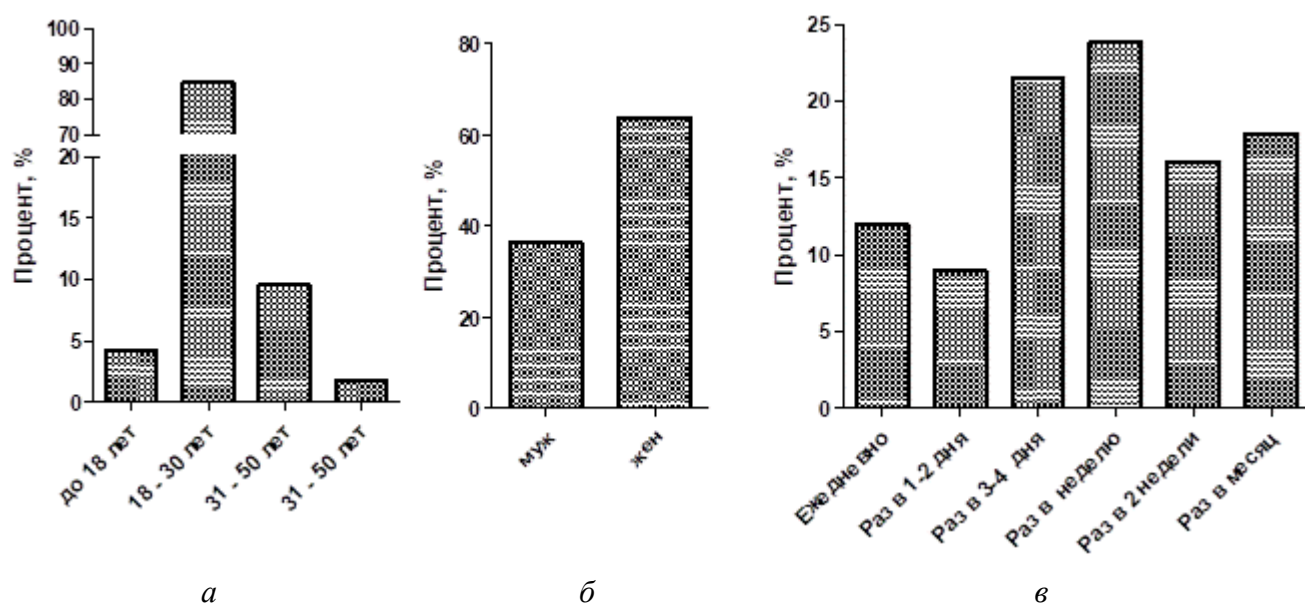


Рисунок 2 – Структура выборки респондентов по возрасту (а), полу (б) и частоте употребления КМП (в)

На вопрос «По каким параметрам респонденты выбирают КМП?» респонденты преимущественно ответили по показателю вкуса и натуральности (рисунок 3). Жирность продукта не является определяющей, однако при ответе на вопрос «Какой жирности в основном Вы покупаете КМП?» большинство выбрали вариант 2,5–4,5 %.

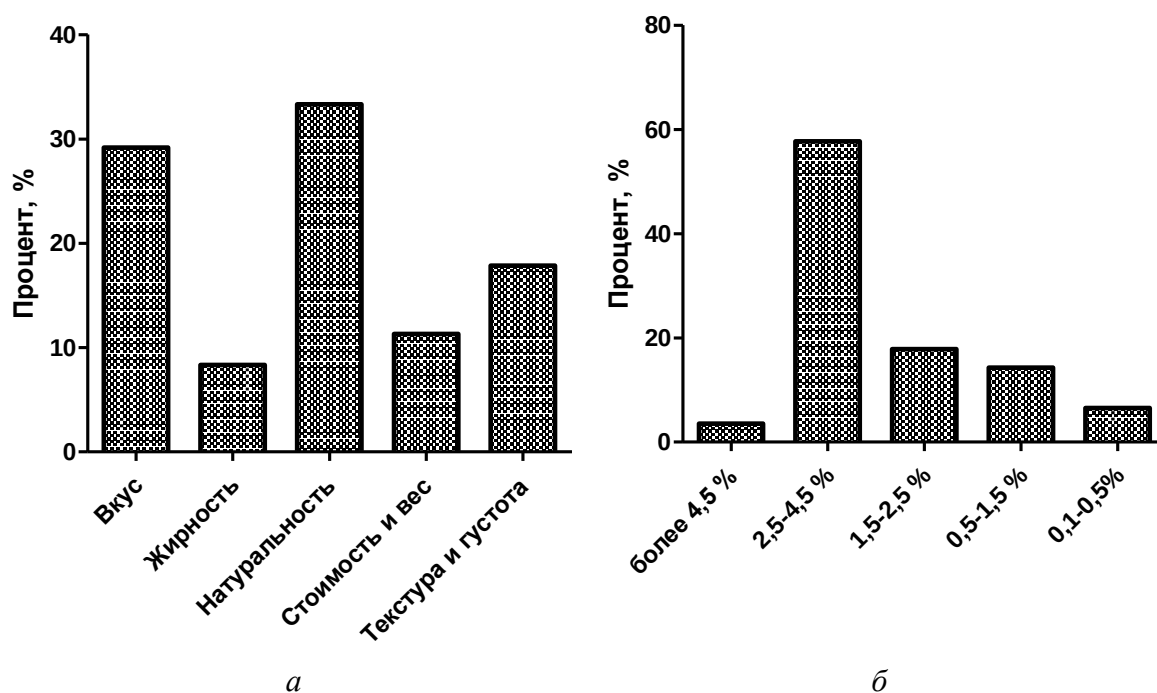


Рисунок 3 – Распределение ответов респондентов на вопросы о показателе, определяющем приоритетность покупки, (а) и показателе жирности при выборе КМП (б)

Такое противоречие, с одной стороны, может быть обусловлено ассортиментным рядом в магазинах, таких КМП большинство, но, с другой стороны, люди на интуитивном уровне связывают уровень жира со вкусом и натуральностью продукта.

Распределение респондентов по предпочтению термостатного или питьевого КМП было почти равным, с небольшим преимуществом питьевого. Надо отметить, что респонденты были склонны потреблять продукты с фруктово-ягодными наполнителями, что, возможно, связано с преимущественным опросом среди относительно молодых людей (рисунок 4).

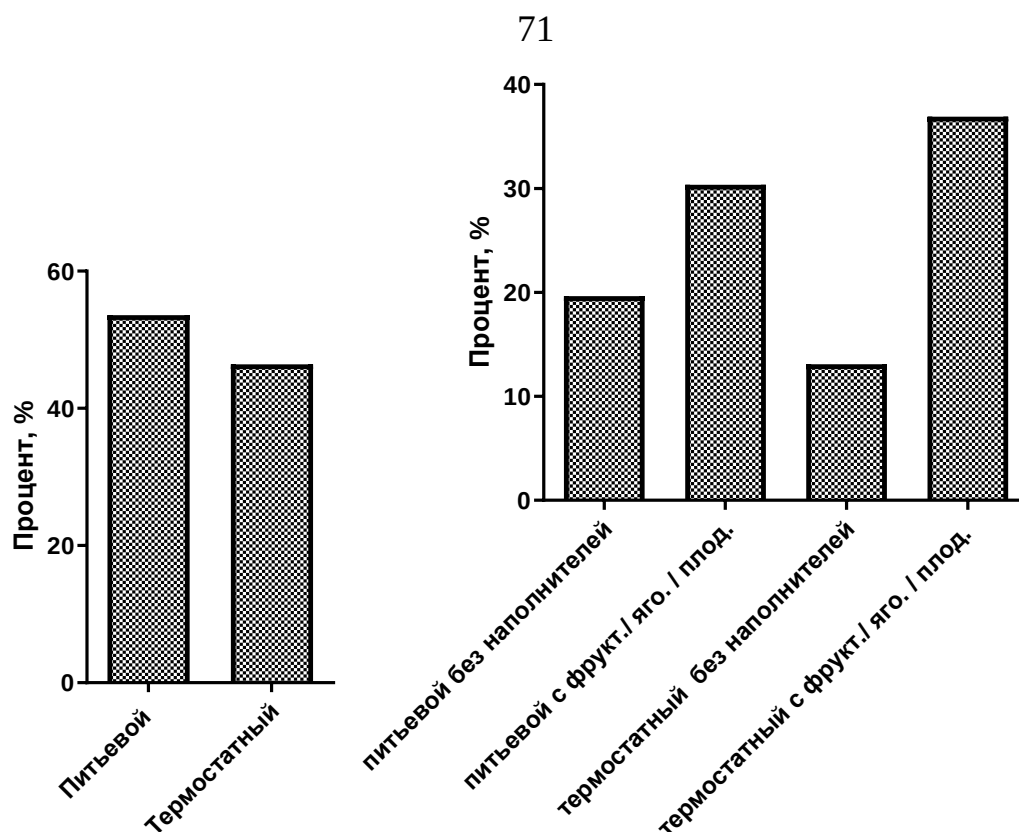


Рисунок 4 – Предпочтения респондентов в выборе разных видов КМП

Вопросы, касающиеся состава КМП, выявили неутешительную картину: чуть меньше половины опрошенных читают состав КМП (рисунок 5). Одновременно для более чем 60 % респондентов были важны наполнители; эти цифры противоречат друг другу. Возникает предположение, что основную информацию о наполнителях покупатель черпает из этикетки на лицевой стороне продукта, тогда как более подробная информация мелким шрифтом остается неизученной.

Наличие или отсутствие сладкого вкуса является важным, более 55 % опрошенных отмечают для себя наличие сахара или сахарозаменителя. Что касается белковых и жировых компонентов, то большинство респондентов отвергают возможность покупки КМП с повышенным содержанием белка и низким жира. В этой ситуации возникает предположение об отсутствии знаний у обывателей, затрагивающих вопросы функциональности молочного белка, его роли в формировании здоровья, конечно же, при отсутствии противопоказаний к его потреблению.

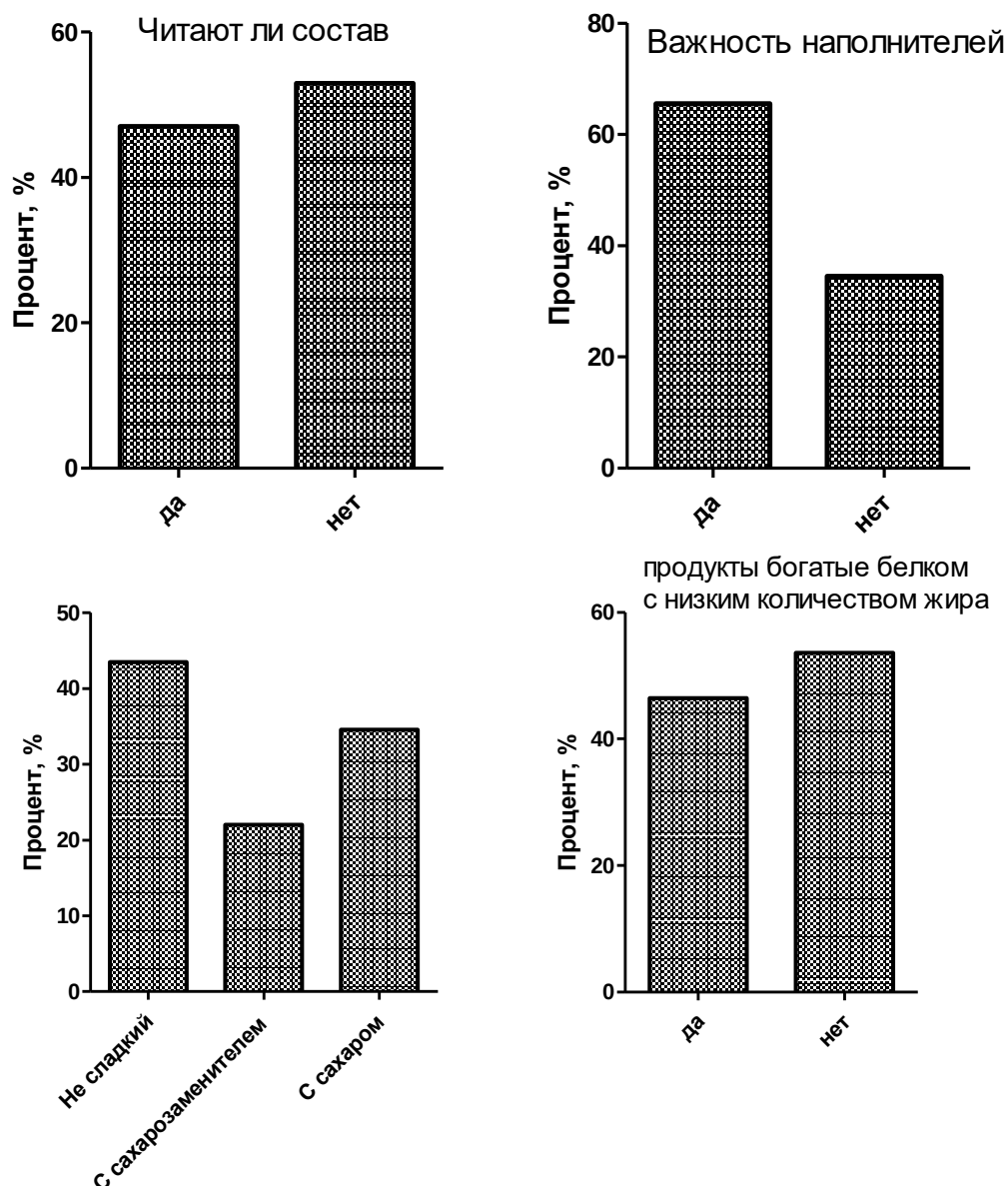


Рисунок 5 – Распределение ответов респондентов на вопросы: читают ли они состав, важны ли фруктово-ягодные наполнители, важно ли наличие сахара или сахарозаменителя, а также повышенное содержание белка и низкое – жира

Вопросы, призванные выявить уровень знаний о полезности КМП, показали высокую степень неосведомленности респондентов (рисунок 6). Респонденты не знают о непереносимости лактозы и возможности потреблять КМП при такой патологии. Только 55 % опрошенных ответили, что верно утверждение о полезности КМП в отношении функционирования ЖКТ, формировании микрофлоры кишечника и положительном влиянии на сердечно-сосудистую систему. Только 35 %

точно знали, что КМП положительно влияет на иммунную систему и рекомендованы для употребления после антибиотикотерапии.

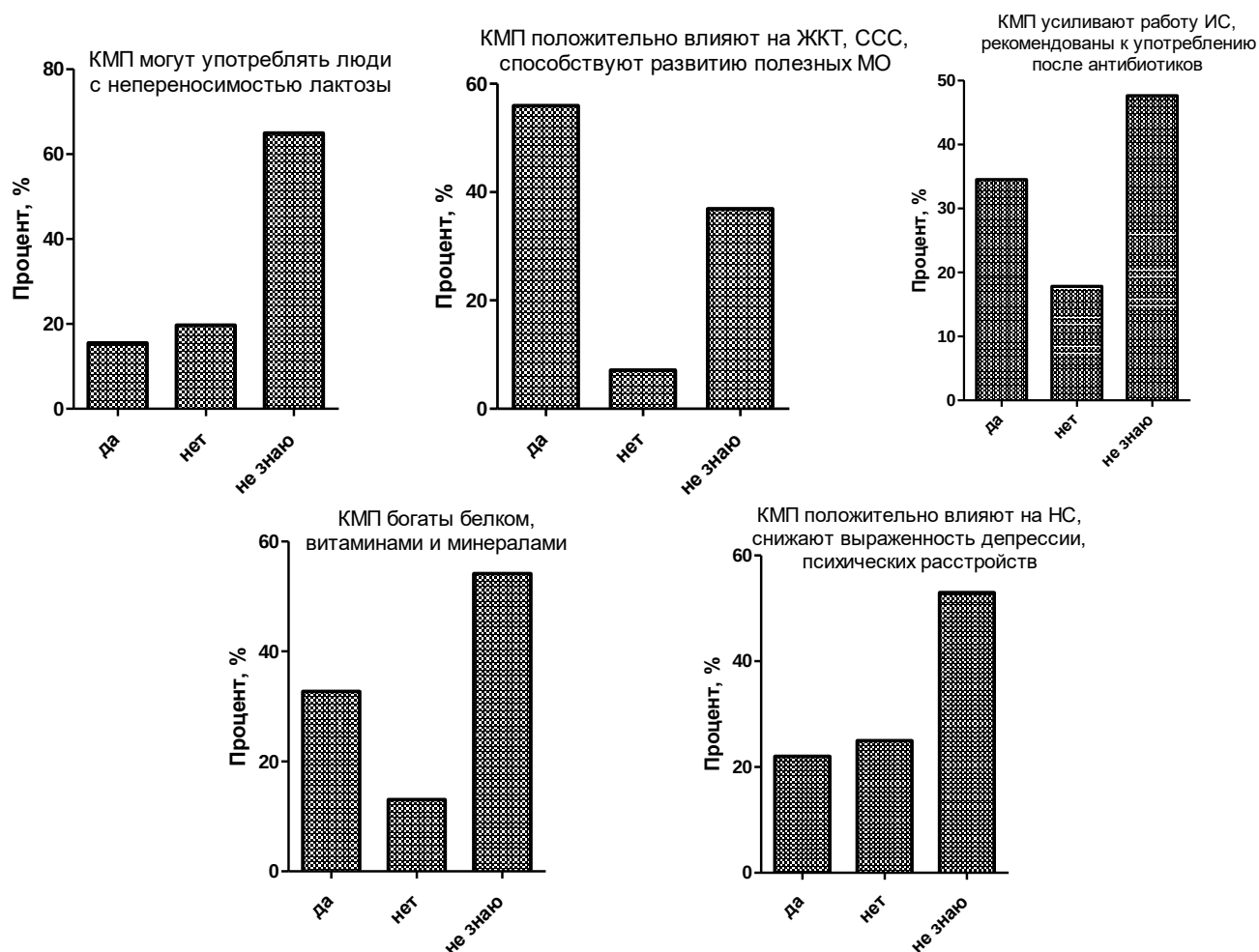


Рисунок 6 – Распределение ответов респондентов на вопрос, верно ли утверждение, что люди с лактазной недостаточностью могут потреблять КМП, а также на вопросы, связанные с функциональными свойствами КМП

Только 35 % опрошенных ответили, что верным является богатство КМП белками, минералами и витаминами. Еще меньше респондентов осведомлены о положительном влиянии КМП на нервную систему, что неудивительно, ведь этот аспект еще менее изучен и в научных исследованиях.

Подходя к вопросам о возможном применении загустителей в КМП, необходимо упомянуть, что люди чаще выбирают КМП по вкусу, причем для них немаловажны текстура и густота. Действительно, текстура – это фактор, во многом формирующий вкусовые ощущения во рту. Производители для достижения густой кон-

систенции используют загустители и стабилизаторы, в том числе в сладких КМП или с наполнителями. Опрос показал, что около 60 % покупателей не обращают внимания на такой класс добавок, как загустители, стабилизаторы и эмульгаторы (рисунок 7).

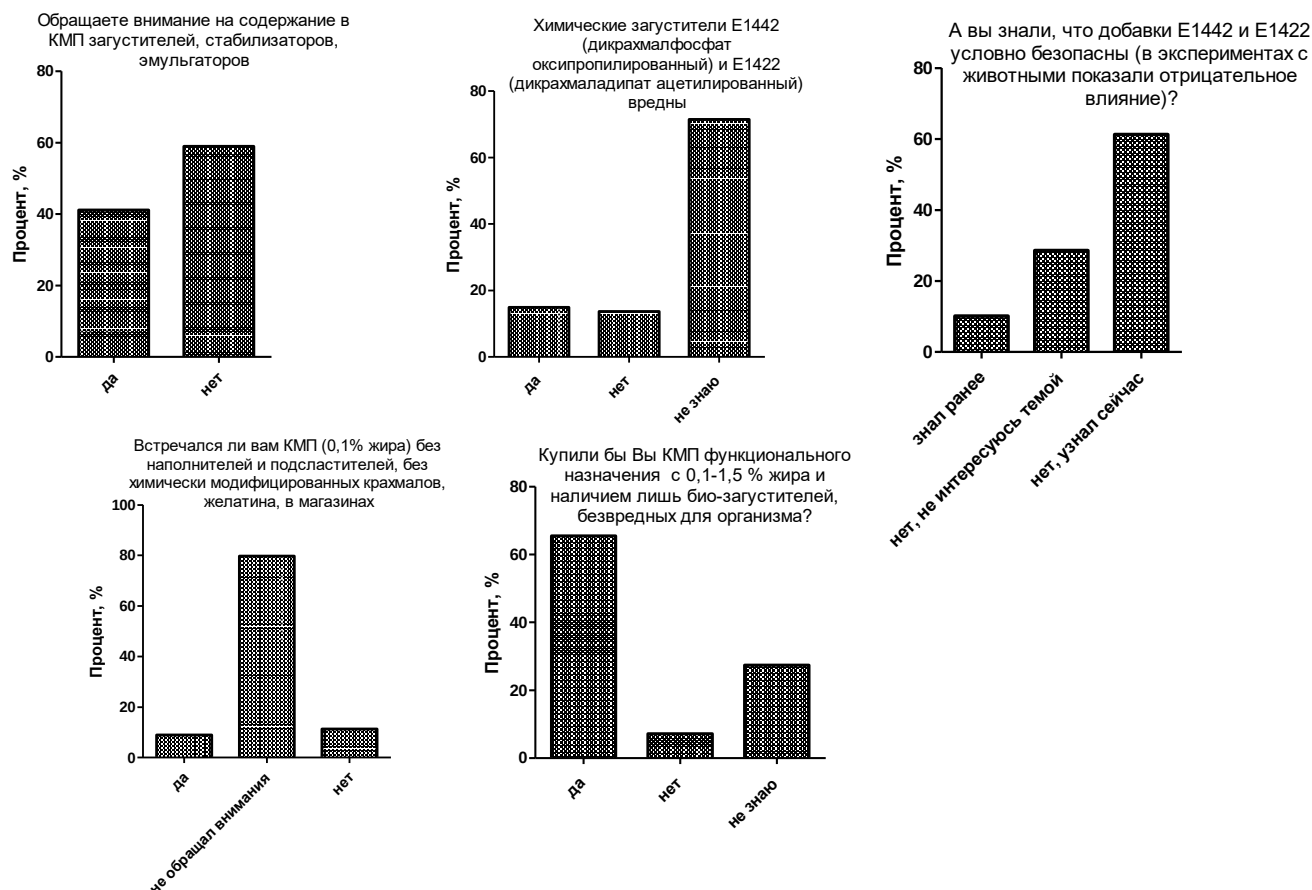


Рисунок 7 – Распределение ответов респондентов на вопросы о загустителях в кисломолочных продуктах

Подавляющее большинство респондентов не осведомлены о вредности некоторых химически модифицированных стабилизаторов, причем у 30 % нет желания узнавать о потенциальном вреде некоторых пищевых компонентов, используемых в КМП. Респонденты не стремятся выбирать КМП с низким содержанием жира и отсутствием комплекса загустителей. Однако вселяет надежду тот факт, что респонденты готовы покупать низкожирные продукты с безвредными биозагустителями, в том числе с функциональными свойствами.

Результаты социологического опроса потребителей о КМП фактически подводят нас к острой проблеме низкой осведомленности населения о полезных свойствах КМП, предпочтения напитков со средним содержанием жира (2,5–4,5 %), низкой покупательской грамотности в отношении восприятия упаковки и информации для покупателей. При этом у людей есть потребность к расширению ассортимента за счет увеличения линейки продуктов с функциональными свойствами.

Несоответствие желания покупать функциональные продукты и предлагаемого ассортимента в массмаркете, низкая степень осведомленности ставят перед нами задачу разработку низкожирных кисломолочных продуктов с пробиотическими свойствами и отличными потребительскими качествами, а также доказанной функциональностью для здоровья человека. Такая постановка вопроса послужила предпосылкой для разработки низкожирных пробиотических КМП за счет использования абсолютно безопасных штаммов молочнокислых бактерий локальной селекции с пробиотическими свойствами.

4 Научное обоснование применения новых пробиотических культур молочнокислых бактерий в технологии кисломолочных продуктов функционального назначения

4.1 Исследование пробиотического, технологического потенциала лактобацилл, выделенных на территории Республики Татарстан

4.1.1 Первичное выделение, идентификация и установление пробиотического потенциала новых штаммов лактобацилл

Естественными условиями обитания МКБ являются молоко, молочнокислые продукты, травянистые растения, продукты квашения (силос, квашеная капуста, другие овощи), кишечник млекопитающих и другие объекты. В настоящей работе была проведена селекция МКБ по признаку высокой продукции органических кислот и повышенным антимикробным свойствам. В качестве источника для выделения выбрали силос, выделение проводили по стандартной процедуре через накопительную культуру с последующим выделением на селективной питательной среде МРС. В результате было получено 17 изолятов, которые первично тестировали на антагонистические свойства по отношению к условно-патогенным бактериям.

Наибольшую антагонистическую активность против *E. coli*, *S. typhimurium* проявляли изоляты № 8, 9, 10, 16, к *B. subtilis* – изоляты 1, 8, 15 (таблица 5). Дальнейшие исследования продолжили только с изолятами 1, 8, 9, 10, 15, 16 выделенными из силоса.

Таблица 5 – Антагонистическая активность изолятов молочнокислых бактерий, выделенных из силоса

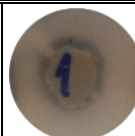
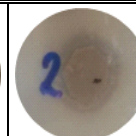
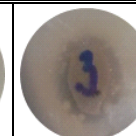
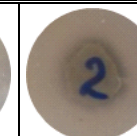
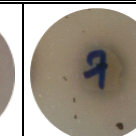
Номер изолята	Зона подавления роста ($m \pm M$), мм		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
1*	3,0 ± 0,22	2,0 ± 0,21	3,0 ± 0,34
2	2,1 ± 0,40	2,0 ± 0,43	1,3 ± 0,21
3	1,2 ± 0,45	1,3 ± 0,51	2,0 ± 0,33
4	2,1 ± 0,33	2,0 ± 0,32	1,3 ± 0,11
5	2,1 ± 0,41	2,0 ± 0,43	1,6 ± 0,32
6	1,9 ± 0,34	1,8 ± 0,32	1,0 ± 0,41
7	1,4 ± 0,15	1,5 ± 0,14	2,0 ± 0,21
8*	3,6 ± 0,33	3,3 ± 0,31	2,3 ± 0,12
9*	4,1 ± 0,29	4,0 ± 0,45	2,0 ± 0,21
10*	2,9 ± 0,25	2,8 ± 0,43	1,3 ± 0,13
11	2,1 ± 0,21	2,5 ± 0,31	1,3 ± 0,43
12	2,6 ± 0,32	2,3 ± 0,22	1,3 ± 0,31
13	2,0 ± 0,48	2,3 ± 0,42	1,3 ± 0,23
14	1,8 ± 0,37	1,7 ± 0,34	1,0 ± 0,42
15*	2,5 ± 0,21	1,7 ± 0,23	3,3 ± 0,11
16*	2,9 ± 0,32	2,2 ± 0,34	2,0 ± 0,32
17	1,6 ± 0,21	1,5 ± 0,31	2,3 ± 0,14
Примечание – * Изоляты, обладающие максимальной антагонистической активностью.			

Антагонистические свойства молочнокислых бактерий обусловлены продукцией органических кислот (молочной, уксусной), пероксида водорода и образованием субстанций, схожих с антибиотиками. По мнению ряда исследователей, именно образование указанных органических кислот из углеводов приводит к снижению рН среды и предотвращает развитие других микроорганизмов [86].

Известным инструментом антагонизма молочнокислых бактерий является их способность к продукции перекиси водорода. Анализ показал, что изоляты № 1, 8, 9 выделяют перекись водорода. Вероятно, этим объясняется высокая антагонистическая активность данных изолятов. Вокруг колоний исследуемых изолятов наблюдалось образование зоны растворения извести (таблица 6), что свидетельствует

о выделении кислот данными бактериями. Поскольку в условиях резкого закисления среды развитие большинства бактерий практически прекращается [210], данные изоляты могут быть перспективными для использования в промышленных процессах с использованием молочнокислого брожения.

Таблица 6 – Продуцирование органических кислот выделенными изолятами молочнокислых бактерий

Показатель	Номер изолята					
	1	8	9	10	15	16
Внешний вид зоны растворения извести						
Размер зоны растворения извести ($m \pm M$), мм	$2,6 \pm 0,21$	$2,3 \pm 0,14$	$2,0 \pm 0,21$	$1,5 \pm 0,34$	$1,3 \pm 0,21$	$1,1 \pm 0,11$

Для корректной работы с изолятами и перспективы дальнейшего депонирования штаммов они были идентифицированы по 16S РНК, геномы собраны. Результаты идентификации штаммов описаны в статье [208], по новой классификации штаммы называются: *Lactiplantibacillus plantarum* AG1, *Limosilactobacillus fermentum* AG8, *Lactiplantibacillus plantarum* AG9, *Lactiplantibacillus plantarum* AG10, *Lactiplantibacillus plantarum* AG15 и *Lacticaseibacillus rhamnosus* AG16.

Исследуемые штаммы показали отличный потенциал по накоплению органических кислот при использовании в качестве источника углерода глюкозы. В условиях высокой концентрации глюкозы лидером был штамм AG10, он снижал pH за 24 ч более чем на 3,5 ед. (таблица 7), при снижении концентрации в 10 раз лидером стал штамм AG1 [208].

Все исследуемые штаммы были более продуктивны по органическим кислотам, чем референсный пробиотический штамм *L. plantarum* 8РА3. Высокая продукция кислот делает эти штаммы перспективными в пищевой промышленности, в том числе для сквашивания молока.

Таблица 7 – Потенциал подкисления питательной среды МРС новыми штаммами молочнокислых бактерий, выделенными из силоса

Штамм	ΔpH	
	Глюкоза 2 %	Глюкоза 0,2 %
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> AG1	3,4 ± 0,35*	2,5 ± 0,34*
<i>Limosilactobacillus fermentum</i> AG8	3,2 ± 0,24*	2,0 ± 0,53*
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> AG9	3,4 ± 0,31*	2,2 ± 0,46*
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> AG10	3,6 ± 0,56*	1,8 ± 0,27*
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> AG15	3,3 ± 0,23*	2,2 ± 0,38*
<i>Lactocaseibacillus rhamnosus</i> AG16	3,2 ± 0,11*	2,2 ± 0,62*
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> 8PA3	2,3 ± 0,15	1,2 ± 0,25
Примечание – Суспензии МКБ (10⁷ КОЕ/мл) в бульоне МРС, инкубация продолжалась в течение 24 ч. ΔpH рассчитывали как разницу между начальным и конечным значением. * Статистически значимая разница с пробиотическим штаммом <i>L. plantarum</i> 8PA3 ($p < 0,05$).		

Выделенные штаммы проявили антимикробные свойства, особенно *Lactiplantibacillus plantarum* AG10, *Limosilactobacillus fermentum* AG8 (таблица 8).

Таблица 8 – Антимикробная активность штаммов молочнокислых бактерий, выделенных из силоса (тест диффузии агаровой капли)

Штамм	Ингибирование роста, мм				
	<i>Escherichia coli</i> MG1655 (K-12)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (клинический)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Bacillus cereus</i> (клинический)	<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> ATCC 29213
AG1	8,5 ± 2,1	10,0 ± 2,8*	13,0 ± 2,8*	5,5 ± 2,1	9,0 ± 1,4
AG8	8,5 ± 2,1	9,5 ± 0,7	13,0 ± 2,8*	6,5 ± 0,7*	9,5 ± 0,7*
AG9	8,5 ± 2,1	8,5 ± 2,1	8,0 ± 2,8	6,0 ± 0,3	7,5 ± 2,1
AG10	8,0 ± 1,4	11,0 ± 1,4*	11,0 ± 1,4*	6,0 ± 1,4	9,5 ± 0,7*
AG15	10,0 ± 0,2*	11,5 ± 0,7*	12,5 ± 3,5*	6,5 ± 0,7*	9,0 ± 0,2
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> 8PA3	7,5 ± 1,6	7,9 ± 0,6	9,1 ± 0,4	5,0 ± 0,5	8,0 ± 1,3
Примечание – * Статистически значимая разница с пробиотическим штаммом <i>L. plantarum</i> 8PA3 ($p < 0,05$).					

Определены пробиотические качества клеток новых штаммов, в частности, выживаемость в модельных условиях ЖКТ (рисунок 8, а), гидрофобность (рисунок 8, б) и автоагрегация (рисунок 8, в). Способность выживать в желудочных и кишечных условиях (низкий pH, присутствие желчи) важна для использования в пищевой промышленности, особенно для производства функциональных пробиотических продуктов. Толерантность изолятов исследовали, подвергая клетки воздействию условий, имитирующих желудочную среду (pH 2,0; 1 % желчи), в течение 2 ч. Изоляты AG8, AG9, AG10 и AG15 продемонстрировали значительную устойчивость со снижением роста в пределах 4–8 раз по сравнению с референсным *L. plantarum* 8PA3. Наиболее устойчивым оказался штамм AG10.

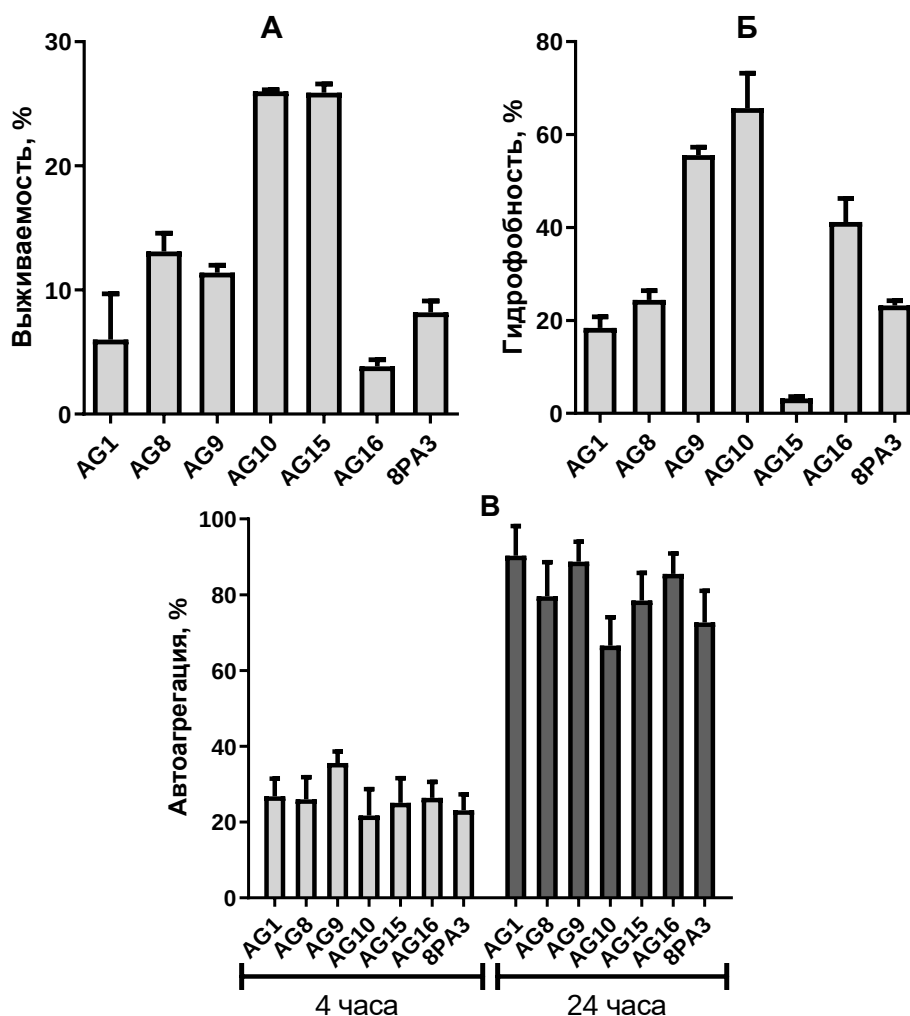


Рисунок 8 – Характеристика пробиотических свойств новых штаммов, выделенных из силоса

Ни один из штаммов не показал высокой гидрофобности по отношению к гексадекану, штаммы AG9, AG10 и AG16 продемонстрировали среднюю гидрофобность по сравнению с другими изолятами и референсными штаммами. Одинаковый процент автоагрегации в диапазоне от 21 % до 27 % наблюдался через 4 ч для всех изолятов, за исключением штамма AG9 (36 % автоагрегации). Через 24 ч низкий уровень автоагрегации был обнаружен у штаммов AG8, AG10 и AG15, в то время как у штаммов AG1, AG9 и AG16 наблюдалось около 90 % автоагрегации.

Анализ антибиотикоустойчивости показал, что большинство штаммов резистентны к амикацину, ципрофлоксацину, гентамицину, канамицину, стрептомицину и ванкомицину. Чувствительность была высокая к ампициллину, хлорамфениколу, клиндамицину, тетрациклину (таблица 9).

Таблица 9 – Антибиотикоустойчивость новых штаммов из силоса

Антибиотик	Концентрация на диске, мкг	Зона ингибирования роста, мм					
		AG1	AG8	AG9	AG10	AG15	AG16
Ампициллин	10	26 ^Ч	18 ^Ч	20 ^Ч	19 ^Ч	20 ^Ч	17 ^Ч
Амикацин	30	12 ^У	16 ^С	9 ^У	10 ^У	3 ^У	8 ^У
Хлорамфеникол	30	22 ^Ч	25 ^Ч	28 ^Ч	23 ^Ч	22 ^Ч	29 ^Ч
Ципрофлоксацин	5	0 ^У	0 ^У	0 ^У	0 ^У	0 ^У	9 ^У
Клиндамицин	2	16 ^Ч	15 ^Ч	33 ^Ч	18 ^Ч	28 ^Ч	24 ^Ч
Эритромицин	15	20 ^Ч	20 ^У	26 ^У	22 ^У	20 ^Ч	26 ^Ч
Гентамицин	10	10 ^У	11 ^У	10 ^У	9 ^У	0 ^У	13 ^Ч
Канамицин	30	0 ^У	0 ^У	6 ^У	0 ^У	0 ^У	5 ^У
Рифампицин	5	20 ^Ч	26 ^Ч	20 ^Ч	20 ^Ч	13 ^У	30 ^Ч
Стрептомицин	30	10 ^У	14 ^С	8 ^У	11 ^У	11 ^У	11 ^У
Тетрациклин	30	20 ^Ч	20 ^Ч	20 ^Ч	21 ^Ч	19 ^Ч	25 ^Ч
Ванкомицин	30	0 ^У	0 ^У	6 ^У	14 ^У	0 ^У	2 ^У
Примечание – Обозначения: ^Ч – чувствительные, ^С – средние, ^У – устойчивые.							

Клетки МКБ при выращивании на МРС проявляют липазную активность, причем наибольшая экзогенная липаза выявлена у *L. bulgaricus*, *Lactiplantibacillus plantarum* AG10 и *Lactiplantibacillus plantarum* AG15, именно у этих штаммов была

наименьшая холестерин-ассимилирующая активность (рисунок 9, а). Высокая липолитическая активность экзогенной липазы (в безбелковом экстракте) у штамма *L. rhamnosus* AG16.

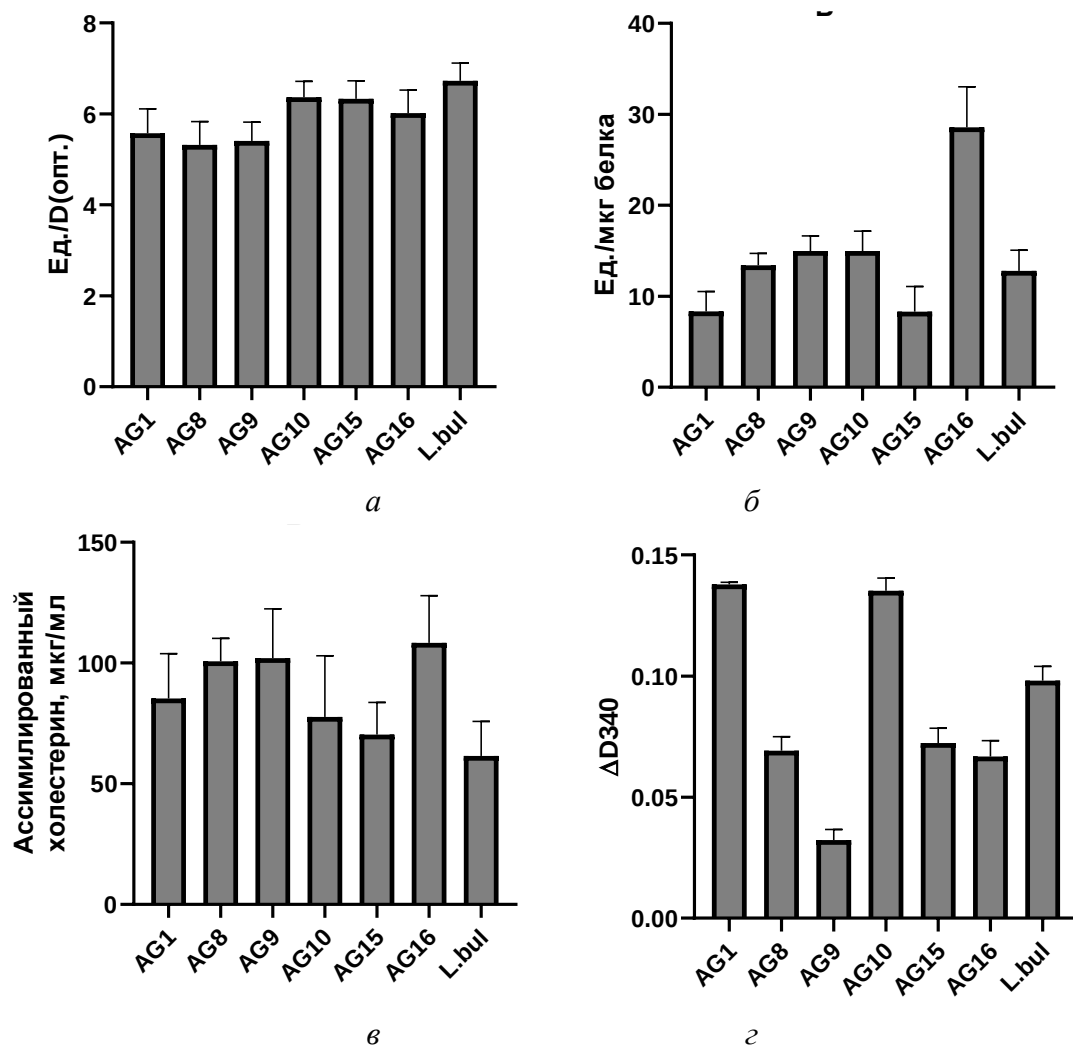


Рисунок 9 – Анализ активности новых штаммов молочнокислых бактерий:
а – липазная активность клеток; б – липазная активность бесклеточного экстракта;
в – холестерин-ассимилирующая активность; з – протеолитическая активность

Немаловажным с точки зрения перспективы использования МКБ в технологии функционального питания является их потенциальная способность ассимилировать холестерин. Среди выделенных штаммов высокие показатели ассимиляции холестерина вывалены у *L. plantarum* AG9, *L. fermentum* AG8 и *L. rhamnosus* AG16 (рисунок 9, в). Высокая протеолитическая активность выявлена у штаммов *L. plantarum* AG1 и *L. plantarum* AG10, низкая – у *L. plantarum* AG9.

В рамках исследований по выявлению особенностей в морфологии клеток выделенных штаммов с помощью тоннельной электронной микроскопии на примере штаммов *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9 выявлены различия в ультра-тонком строении от стартерного штамма *L. bulgaricus*.

В случае с *L. bulgaricus* клетки крупные со средней длиной клеток 9,95 мкм, визуализируется органическое вещество, предположительно ЭПС, достаточно плотно упакованное (рисунок 10, а). Клетки *L. fermentum* AG8 выглядят короткими ровными палочками в 5 раз меньше, чем болгарская палочка (средняя длина 1,12 мкм), визуализируются ЭПС, по структуре отличные, в виде тяжелой и плотных мелких гранул (рисунок 10, б), отмечено плотное прилегание экзосоединений к клетке. Клетки *L. plantarum* AG9 собраны достаточно плотно в группы, на поверхности видны ЭПС, плотно прилегающие к клеточной поверхности; возможно, именно ЭПС позволяет клеткам плотно конгломерировать друг с другом (рисунок 10, в). Средний размер 1,43 мкм, что чуть больше AG8, но значительно меньше *L. bulgaricus*. Как и с в случае с *L. fermentum* AG8, в клетках и на них наблюдаются небольшие электронно-плотные области, но их количество больше у *L. plantarum* AG9 и они более плотные.

Ранее нами измерялись адгезия и деформация этих клеток. В частности, клетки *L. bulgaricus* показали силу адгезии 3,34 nN, клетки *L. fermentum* AG8 – 0,472 nN, *L. plantarum* AG9 – 0,630 nN. Возможно снижение адгезионных свойств *L. bulgaricus*, т. е. способность создавать связи с внешними поверхностями, обусловлено снижением синтеза приклеточных образований, отмеченные нами [398]. Наличие внеклеточных образований позволило нам предположить наличие способности к синтезу ЭПС выделенными штаммами, которые в дальнейшем стали объектами пристального внимания.

Исходя из полученных данных была проанализирована способность накапливать ЭПС на основе стандартной среды МРС при варьировании источника углерода.



Рисунок 10 – ТЭМ-микрофотографии различных клеток молочнокислых бактерий после роста в течение 48 ч на MPC: а – *L. bulgaricus*; б – *L. fermentum* AG8; в – *L. plantarum* AG9 (штрих – 2 мкм)

Различные штаммы МКБ накапливали неодинаковое количество ЭПС при использовании различных источников углерода (рисунок 11). Наиболее высокий уровень синтеза наблюдался при культивировании на сахарозе – это особенно выражено у коммерческого штамма *L. bulgaricus* и штаммов, выделенных из силоса. Для *L. bulgaricus* установлена следующая убывающая последовательность эффективности субстратов: сахароза > лактоза > глюкоза > мальтоза > раффиноза.

Штаммы *L. plantarum* AG1, AG10 и *L. fermentum* AG8 демонстрировали схожий уровень продукции ЭПС при использовании лактозы и мальтозы, но общий выход был ниже по сравнению с сахарозой. Минимальное количество ЭПС эти штаммы продуцировали на средах с глюкозой и раффинозой. Для штамма *L. plantarum* AG9 характерна последовательность накопления ЭПС: сахароза > лактоза > глюкоза > мальтоза > раффиноза, аналогичная *L. bulgaricus*.

Штамм *L. rhamnosus* AG16 также продемонстрировал максимальный синтез ЭПС на сахарозе, а вторым по эффективности субстратом была лактоза. При использовании глюкозы и раффинозы уровень продукции составил около 4 мг/мл, тогда как на мальтозе он снизился до 2 мг/мл, что является наименьшим значением среди всех исследованных условий.

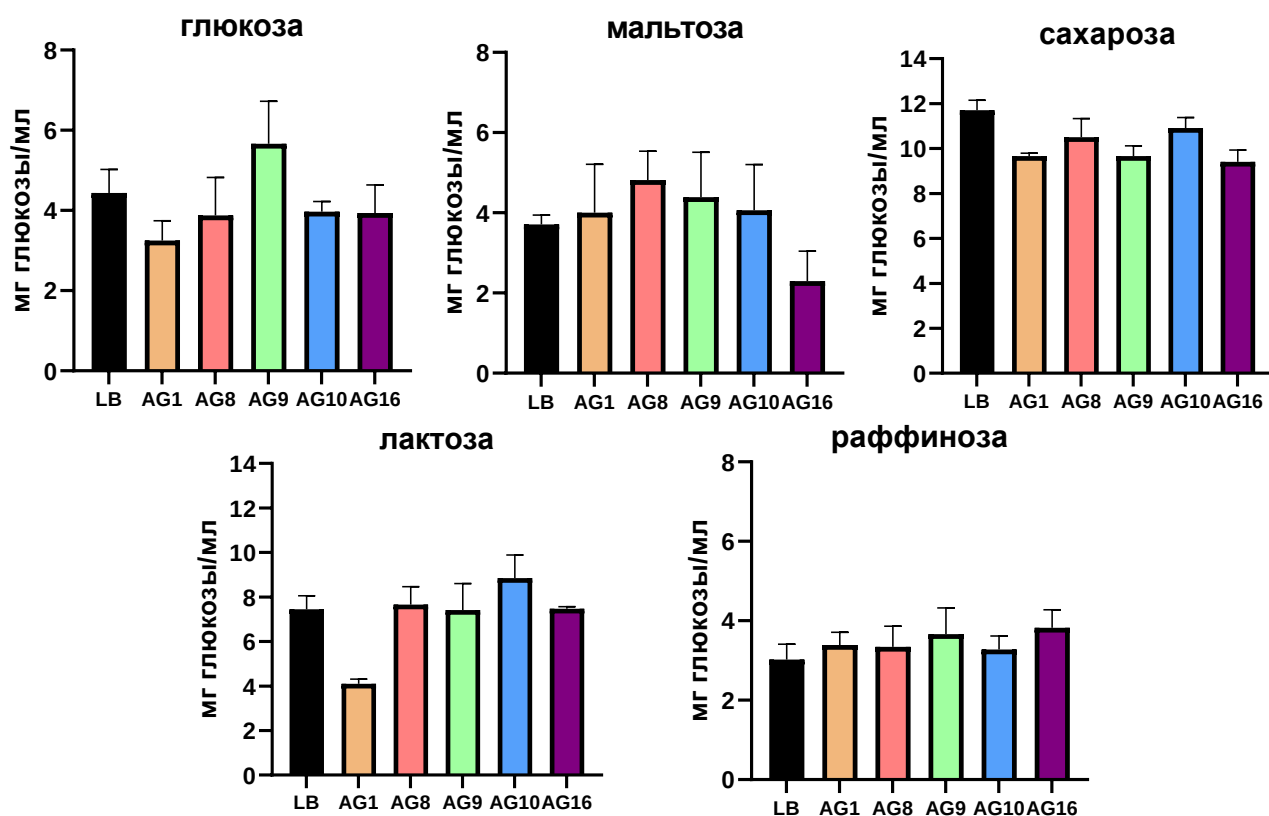


Рисунок 11 – Количество экзополисахаридов у штаммов молочнокислых бактерий при выращивании на различных источниках углерода после 72 ч культивирования

Таким образом, наилучшим источником углерода для синтеза ЭПС является сахароза; среда с лактозой оказывалась второй по урожайности синтезированных ЭПС, за исключением штамма AG1. Таким образом, можно прогнозировать высокую ЭПС-синтезирующую активность селекционированных штаммов при их интродукции в молочное сырье.

Таким образом, семнадцать изолятов МКБ были получены из силоса с использованием селективной среды МРС. Эти изоляты были протестированы на антагонистическую активность против патогенных бактерий (*Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* и *Bacillus subtilis*) и способность продуцировать органические кислоты. Для дальнейшего изучения были отобраны шесть штаммов, видовая принадлежность которых определена, они проявляют наибольшую антимикробную активность (*Lactiplantibacillus plantarum* AG1, AG9, AG10, AG15, *Limosilactobacillus fermentum* AG8, *Lacticaseibacillus rhamnosus* AG16). Все шесть штаммов молочнокислых бактерий были способны *in vitro* снижать уровень холесте-

рина, липидов, получили высокую оценку за потенциально пробиотические свойства, кумулятивная оценка позволила выявить лидеров по пробиотическим свойствам (таблица 10), наибольшая сумма была у штаммов AG8, AG9 и AG10. На основании полученных результатов их можно рекомендовать для использования в качестве коммерческих пробиотиков.

Таблица 10 – Расчет кумулятивного пробиотического эффекта молочнокислых бактерий

[illegible]

4.1.2 Оптимизация питательной среды для выращивания незаквасочных лактобактерий

Стандартная среда МРС является дорогой, что ограничивает ее использование в промышленном секторе для наращивания биомассы бактерий. В связи с этим проведены исследования по оптимизации состава питательной среды на основе вторичного молочного сырья. В качестве основы для питательной среды брали молочную сыворотку неосветленную. Осветление в промышленных масштабах привело бы к удорожанию процесса, молочные белки будут дополнительным питательным компонентом. В качестве доступного дополнительного источника углерода использовали сахарозу, источником витаминов и ростовых компонентов служил дрожжевой экстракт.

Сухую молочную сыворотку растворяли в концентрации 10 % по массе в дистиллированной воде, доводили до кипения и кипятили 5–10 мин (до интенсивного сворачивания казеиновых белков), после чего остужали и фильтровали через ватно-марлевый фильтр, таким образом получали осветленную сыворотку. В наших условиях не использовали дополнительного осветления с помощью кислоты, чтобы не было излишнего закисления. В осветленную сыворотку добавляли необходимый компонент по схеме и автоклавировали (1 атм, 20 мин). Схема оптимизации представлена в таблице 11. Культивирование проводили в течение 3 сут с ежедневным измерением титруемой кислотности. Результаты представлены в приложении А.

Таблица 11 – Схема оптимизации питательной среды

Компонент	Концентрация вносимого компонента, %			
	1	2	3	4
Сахароза	0	1	2	3
Дрожжевой экстракт	0	1	2,5	5
Клетчатка свекловичная	0	0,1	0,2	0,5

По результатам влияния различных ростовых факторов на кислотообразующую активность был применен метод обобщенного и приведенного градиента для расчета дешевой оптимальной среды для выращивания МКБ. На основании полученных результатов были составлены регрессионные уравнения зависимости для каждого штамма по накоплению молочной кислоты, коэффициенты регрессии показаны в таблице 12.

Таблица 12 – Коэффициенты регрессии, отражающие увеличение кислотности питательной среды для штаммов МКБ при использовании различных ростовых субстратов разной концентрации после 24 ч культивирования

Штамм	Сахароза (X_1)	Дрожжевой экстракт (X_2)
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> AG1	0,1643	0,0965
<i>Limosilactobacillus fermentum</i> AG8	0,0135	0,0067
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> AG9	0,0202	0,1285
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> AG10	0,0720	0,1110
<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> AG16	0,0045	0,0262

Для дальнейших расчетов использовали зависимости накопления молочной кислоты только через 24 ч культивирования, так как увеличение времени не отражалось линейной зависимостью. Полученные линейные зависимости позволили составить формулу совместного применения двух компонентов одновременно для каждого штамма (таблица 13).

Таблица 13 – Уравнения, отражающие изменение кислотности ΔK при совместном использовании сахарозы и дрожжевого экстракта

Штамм	Уравнение регрессии
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> AG1	$\Delta K = 0,1643X_1 + 0,0965X_2$
<i>Limosilactobacillus fermentum</i> AG8	$\Delta K = 0,0135X_1 + 0,0067X_2$
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> AG9	$\Delta K = 0,0202X_1 + 0,1285X_2$
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> AG10	$\Delta K = 0,0720X_1 + 0,1110X_2$
<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> AG16	$\Delta K = 0,0045X_1 + 0,0262X_2$

При накоплении молочной кислоты выше 70 °Т происходит резкое ингибирование накопления биомассы МКБ, поэтому мы ввели ограничение:

$$K_{\text{контр}} + (\Delta K / 100) \times K_{\text{контр}} \leq 70 \text{ }^{\circ}\text{T.} \quad (4)$$

На основании введенного ограничения и допустимых концентраций компонентов питательной среды построили математическую модель для каждого штамма (таблица 14).

Таблица 14 – Математические модели по оптимизации питательной среды для штаммов по показателю кислотности

Штамм	$K_{\text{контр}}$	Уравнение
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> AG1	75	$K_1 = 75 + 0,1232X_1 + 0,0724X_2$
<i>Limosilactobacillus fermentum</i> AG8	80	$K_8 = 80 + 0,0108X_1 + 0,0054X_2$
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> AG9	82,5	$K_9 = 82,5 + 0,0167X_1 + 0,1060X_2$
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> AG10	50	$K_{10} = 50 + 0,0360X_1 + 0,0555X_2$
<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> AG16	85	$K_{16} = 85 + 0,0038X_1 + 0,0223X_2$

Систему неравенств решали с помощью инструмента «Поиск решения» программного обеспечения MS Excel 2016; пример неравенств, участвующих в поиске, представлен ниже:

$$\begin{cases} K_1 = 50 + 0,036X_1 + 0,0555X_2; \\ 0,5 \leq X_1 \leq 3; \\ 1 \leq X_2 \leq 5. \end{cases} \quad (5)$$

Аналогичный алгоритм был применен ко всем вариантам штаммов.

В результате получили следующие варианты возможных концентраций компонентов для каждого штамма (таблица 15).

Таблица 15 – Расчетные концентрации компонентов для оптимизации среды на основе молочной сыворотки

Штамм	Сахароза (X_1)	Дрожжевой экстракт (X_2)
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> AG1	0,5	1,000932
<i>Limosilactobacillus fermentum</i> AG8	0,53772942	1
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> AG9	0,5	1
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> AG10	3	5
<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i> AG16	0,5	1
Среднее	1,007545884	1,800186
Среднее без AG10	0,509432355	1,000233

Принимая во внимание, что штамм AG10, видимо, требователен к дополнительным источникам питания и очень хорошо откликается на внесение сахарозы, дрожжевого экстракта, для расчета средней концентрации для оптимизированной среды мы эти данные не брали в расчет, чтобы исключить излишнее кислотообразование для остальных штаммов.

Таким образом, для оптимального быстрого, но не очень сильного накопления молочной кислоты достаточно внести в питательную среду сахарозу в концентрации 0,5 % (или 5 г/л), дрожжевой экстракт – 1 % (или 10 г/л). Таким образом оптимизированная дешевая питательная среда для наращивания биомассы молочнокислых бактерий имеет следующую рецептуру: сыворотка молочная сухая – 10 %, сахароза – 0,5 %, дрожжевой экстракт – 1 %.

Приготовление осуществляется следующим образом. Сухую молочную сыворотку растворяют в концентрации 10 % по массе в дистиллированной воде, полученную жидкую сыворотку доводят до кипения и кипятят 10 мин, после чего остужают и фильтруют через ватно-марлевый фильтр, получая осветленную сыворотку. В данную сыворотку добавляют остальные ингредиенты по прописи и автоклавируют 20 мин при 1 атм. Необходимо учесть, что при осветлении выпадает в осадок ценная фракция казеиновых белков молока, поэтому возможно, что на конечных этапах разработки осветления сыворотки не понадобится данная процедура.

На следующем этапе на оптимизированной среде определяли оптимальное время наращивания биомассы (рисунок 12). Ночную культуру МКБ выращивали на

МРС при 38–40 °С в течение 16 ч, вносили в оптимизированную среду в количестве 0,2 % от объема среды. Инкубирование проводили при 40 °С в течение 30 ч, периодически отбирали стерильно пробы для анализа титруемой кислотности и проводили посев методом drop-plate на МРС-агаре.

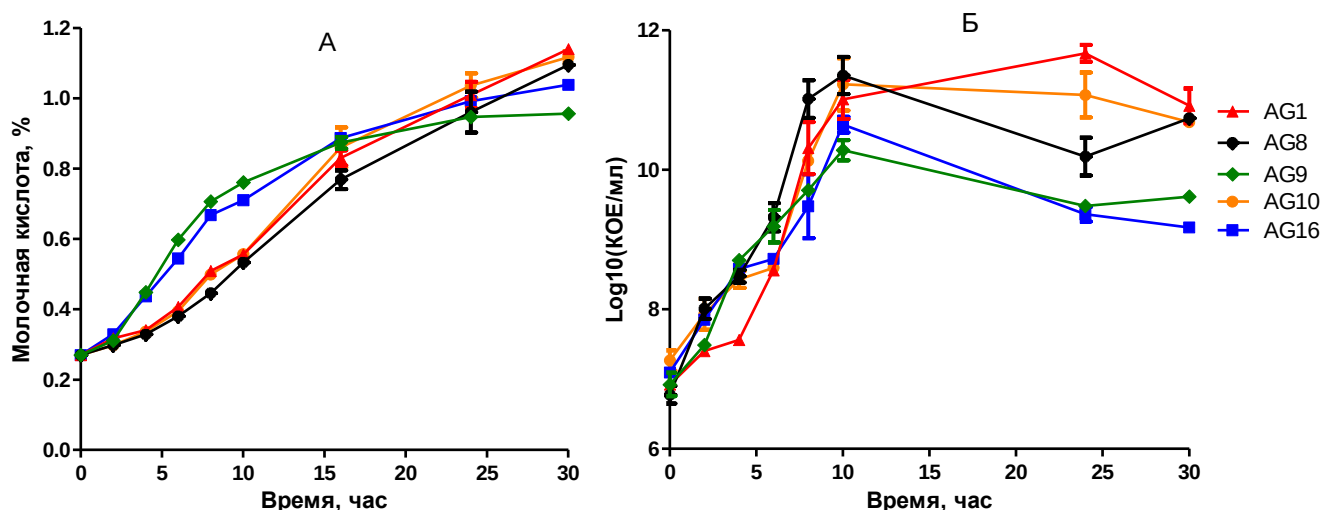


Рисунок 12 – Динамика накопления молочной кислоты (а) и биомассы МКБ (б) на оптимизированной среде на основе молочной сыворотки

Выявлено, что наиболее активное накопление молочной кислоты происходит в диапазоне 5–10 ч, в дальнейшем скорость накопления падает. Даже после 24 ч культивирования молочная кислота все еще накапливается, что свидетельствует о высокой кислотообразующей активности исследуемых штаммов.

Максимальное накопление биомассы МКБ наблюдалось через 10 ч культивирования (окончание стадии логарифмического роста), в этот период концентрация молочной кислоты не превышала 0,8 %, а для штамма AG8 – около 0,7 %. При дальнейшем увеличении времени инкубирования клетки переходят в стационарную фазу и даже отмирают, что, видимо, связано с дальнейшим накоплением кислоты.

Таким образом, для накопления биомассы клеток целесообразно использовать среду, описанную выше, время инкубирования 8–10 ч при 38–40 °С. Необходимо оговориться, что питательная среда на основе сыворотки непрозрачная ввиду наличия молочных белков.

Подводя итог параграфу 4.1, отметим, что в ходе проведенных исследований штаммы МКБ, выделенные из силоса, продемонстрировали значительный пробиотический и технологический потенциал. На основе комплексного анализа антимикробной активности, кислотности среды и накопления биомассы были определены наиболее перспективные штаммы, отличающиеся высокой технологической устойчивостью и пробиотической эффективностью. Основными объектами исследования стали изоляты, идентифицированные как *Lactiplantibacillus plantarum* AG1, AG9, AG10, *Limosilactobacillus fermentum* AG8 и *Lacticaseibacillus rhamnosus* AG16. Эти штаммы характеризуются высокой антагонистической активностью, обусловленной продукцией органических кислот, в частности молочной кислоты, перекиси водорода и антимикробных соединений. Данный комплекс факторов обеспечивает ингибирование роста условно-патогенных микроорганизмов. Штамм AG10 показал наибольшую продуктивность по снижению pH, достигая изменения более чем на 3,5 ед. в течение 24 ч при высокой концентрации глюкозы.

С точки зрения перспектив использования выделенных штаммов в технологии функциональных продуктов выявлены высокая липолитическая активность штаммов (особенно у AG10 и AG15) и способность ассимилировать холестерин (наиболее выражена у AG9, AG8 и AG16). Эти свойства подчеркивают возможность использования выделенных МКБ в разработке функциональных кисломолочных продуктов с дополнительными биологическими эффектами, такими как снижение уровня холестерина и улучшение липидного обмена у потребителей.

Для снижения себестоимости выращивания молочнокислых бактерий проведена оптимизация питательной среды. В качестве основы использовалась молочная сыворотка, которая дополнялась сахарозой (0,5 %) и дрожжевым экстрактом (1 %). Разработанная среда демонстрирует эффективность при инкубации в течение 8–10 ч при 38–40 °С, обеспечивая активное накопление биомассы и органических кислот.

Таким образом, разработанные методы селекции, оптимизации среды и открывают перспективы для исследования технологических свойств выделенных штаммов с перспективой применения в пищевой промышленности. Использование доступных субстратов, таких как молочная сыворотка, снижает себестоимость про-

изводства, а высокая продуктивность штаммов по органическим кислотам способствует их адаптации в современных биотехнологических процессах.

Полученные результаты послужили основой для дальнейших исследований по использованию выделенных штаммов в качестве дополнительных заквасочных культур в составе известных композиций, в конечном счете направленных на промышленную апробацию и внедрение выделенных штаммов в производство продуктов функционального назначения на молочной основе.

4.2 Исследование технологического потенциала новых штаммов молочнокислых бактерий

4.2.1 Химические и микробиологические показатели сквашенного обезжиренного молока

Исследование продуктивности молочнокислого сбраживания данными штаммами в условиях обезжиренного молока позволяет дать оценку качественных характеристик сквашенных продуктов по органолептическим, физико-химическим, текстурным и протекторным показателям. В качестве штамма сравнения использовали промышленный штамм *L. bulgaricus*.

Выявлено, что выделенные штаммы способны за 8 ч сквашивать молоко, однако скорость сквашивания уступает промышленному штамму. Если в варианте с *L. bulgaricus* за 8 ч активного сквашивания при 40 °С и последующего созревания при 4 °С рН и титруемая кислотность были на уровне 4,55 и 122 °Т соответственно, то в случае вариантов с экспериментальными штаммами – в пределах рН 4,70–5,08 и 79–120 °Т соответственно (таблица 16).

Таблица 16 – Способность штаммов сквашивать обезжиренное молоко

Штамм	Время хранения, сут	pH, ед.	Титруемая кислотность, °T
<i>L. bulgaricus</i>	1	$4,55 \pm 0,28$	$122,0 \pm 7,8$
	7	$4,54 \pm 0,13$	$130,0 \pm 5,7$
	14	$4,48 \pm 0,17$	$135,5 \pm 4,2$
AG1	1	$4,72 \pm 0,07$	$121,5 \pm 0,0$
	7	$4,74 \pm 0,08$	$125,8 \pm 1,1$
	14	$4,70 \pm 0,01$	$122,0 \pm 0,7$
AG8	1	$4,98 \pm 0,13$	$93,0 \pm 4,0$
	7	$4,89 \pm 0,19$	$101,5 \pm 6,4$
	14	$4,94 \pm 0,14$	$98,5 \pm 2,8$
AG9	1	$4,97 \pm 0,06$	$92,8 \pm 3,9$
	7	$4,94 \pm 0,02$	$100,5 \pm 3,5$
	14	$4,99 \pm 0,11$	$98,3 \pm 1,1$
AG10	1	$5,09 \pm 0,12$	$86,5 \pm 3,5$
	7	$5,11 \pm 0,21$	$90,5 \pm 2,1$
	14	$5,10 \pm 0,08$	$93,3 \pm 8,8$
AG15	1	$5,09 \pm 0,01$	$79,3 \pm 12,4$
	7	$5,13 \pm 0,07$	$82,5 \pm 9,19$
	14	$5,20 \pm 0,07$	$82,8 \pm 6,7$
AG16	1	$4,98 \pm 0,09$	$91,3 \pm 3,9$
	7	$4,92 \pm 0,06$	$98,0 \pm 1,4$
	14	$5,03 \pm 0,09$	$99,0 \pm 2,1$

Основным метаболитом, повышающим кислотность молока и приводящим к его сквашиванию, является молочная кислота. Учитывая, что *L. bulgaricus* принадлежит к гомоферментативным МКБ, тогда как *L. plantarum* и *L. fermentum* – к гетероферментативным, полученные результаты о меньшей скорости накопления за 8 ч сквашивания молочной кислоты в молоке не удивительны. Последующее хранение сквашенного молока приводило к незначительному сдвигу кислотности в большую сторону, причем наиболее сильные постзакислительные процессы характерны для продукта с *L. bulgaricus*. Слишком интенсивные постзакислительные процессы при хранении могут негативным образом сказаться на текстурных и органолептических характеристиках КМП.

Химический анализ полученного сквашенного молока под действием разных МКБ показал, что разные штаммы практически не влияют на количество общего белка, однако есть изменения во фракционном составе (таблица 17).

Выявлено, что в случае использования штаммов *L. plantarum* и *L. fermentum* в сквашенном молоке количество белков в сыворотке меньше, чем при использовании *L. bulgaricus*.

Исключение составляет штамм *L. plantarum* AG15: в сквашенном молоке выявлено наименьшее количество белка, что, возможно, обусловлено высокой протеолитической активностью, которая больше ценна в случае использования штамма в сыроделии или изготовлении сыровяленых мясных изделий. При этом в случае КМП очень высокая протеолитическая активность может быть причиной возникновения дефектов.

Общее количество углеводов в образцах сквашенного молока при использовании экспериментальных штаммов было меньше, чем в случае использования референсного штамма болгарской палочки. Более активный метаболизм углеводов молока у изучаемых штаммов, по сравнению с *L. bulgaricus* не соответствует их кислотообразующей активности, которая ниже, чем у референсного штамма. Видимо, это связано с меньшей эффективностью синтеза молочной кислоты гетеротрофными МКБ, к которым принадлежат изучаемые штаммы.

Количество глюкозы, продукта гидролиза лактозы, в сыворотке не отличалось у разных штаммов, что свидетельствует об одинаковой лактазной активности изучаемых штаммов. Такие технологические показатели, как плотность и содержание солей, у образцов сквашенного молока практически не различались (в пределах стандартного отклонения).

При начальном количестве жира в молоке 0,5 % после сквашивания *L. bulgaricus* его остается 0,33 %, в случае ферментации штаммами AG – в диапазоне от 0,3 % до 0,25 %, причем есть тенденция к снижению значений этого показателя в процессе хранения.

Таблица 17 – Химические показатели ферментированного обезжиренного молочного сгустка

Штамм	Время хранения, сут	Белок общий, %	Сумма белков в сыворотке, %	Углеводы, %	Глюкоза, мМ/л	Соли, %	Плотность, кг/м³	Сухие вещества, %	Жир, %
<i>L. bulgaricus</i>	1	3,84 ± 0,63	3,15 ± 0,12	4,67 ± 0,13	5,3 ± 0,14	0,73 ± 0,03	1037,23 ± 0,62	9,54 ± 0,50	0,33 ± 0,03
	7	3,93 ± 0,44	3,11 ± 0,10	4,59 ± 0,14	5,4 ± 0,28	0,73 ± 0,02	1037,63 ± 1,39	9,59 ± 0,29	0,35 ± 0,01
	14	3,71 ± 0,50	3,16 ± 0,06	4,59 ± 0,15	5,2 ± 0,57	0,74 ± 0,03	1037,01 ± 1,28	9,42 ± 0,35	0,39 ± 0,03
AG1	1	3,87 ± 0,03	3,01 ± 0,13	4,45 ± 0,19	5,6 ± 0,57	0,70 ± 0,03	1037,94 ± 0,11	9,21 ± 0,33	0,30 ± 0,08
	7	3,82 ± 0,09	2,96 ± 0,00	4,38 ± 0,00	5,6 ± 0,00	0,69 ± 0,00	1036,08 ± 1,06	9,24 ± 0,19	0,35 ± 0,10
	14	3,91 ± 0,03	3,04 ± 0,13	4,31 ± 0,41	5,0 ± 0,28	0,69 ± 0,00	1037,47 ± 1,69	9,78 ± 0,29	0,28 ± 0,15
AG8	1	3,81 ± 0,04	2,83 ± 0,06	4,18 ± 0,08	5,6 ± 0,28	0,66 ± 0,01	1035,34 ± 1,19	8,92 ± 0,15	0,27 ± 0,01
	7	3,84 ± 0,08	2,90 ± 0,04	4,28 ± 0,04	5,2 ± 0,57	0,68 ± 0,01	1036,59 ± 0,49	9,01 ± 0,21	0,22 ± 0,08
	14	3,83 ± 0,21	2,96 ± 0,06	4,31 ± 0,16	4,8 ± 0,85	0,68 ± 0,00	1034,41 ± 1,56	9,20 ± 0,59	0,23 ± 0,23
AG9	1	3,67 ± 0,01	2,85 ± 0,09	4,21 ± 0,13	5,6 ± 0,28	0,67 ± 0,02	1035,68 ± 0,06	8,78 ± 0,25	0,24 ± 0,08
	7	3,72 ± 0,03	3,00 ± 0,06	4,43 ± 0,08	5,0 ± 0,28	0,70 ± 0,01	1035,54 ± 0,91	9,07 ± 0,22	0,23 ± 0,09
	14	3,77 ± 0,04	2,99 ± 0,13	4,03 ± 0,33	4,3 ± 0,71	0,71 ± 0,01	1037,35 ± 0,46	8,65 ± 0,31	0,14 ± 0,03
AG10	1	3,87 ± 0,02	2,86 ± 0,08	4,22 ± 0,11	5,2 ± 0,00	0,63 ± 0,04	1035,38 ± 1,54	8,95 ± 0,22	0,24 ± 0,16
	7	3,87 ± 0,08	2,90 ± 0,05	4,28 ± 0,07	5,6 ± 0,28	0,68 ± 0,01	1035,80 ± 0,19	9,07 ± 0,01	0,25 ± 0,01
	14	3,81 ± 0,09	2,92 ± 0,07	4,02 ± 0,31	4,5 ± 0,99	0,74 ± 0,21	1035,94 ± 1,10	8,94 ± 0,42	0,28 ± 0,01
AG15	1	3,44 ± 0,32	3,14 ± 0,04	4,64 ± 0,06	5,1 ± 0,42	0,73 ± 0,01	1036,44 ± 3,10	9,05 ± 0,35	0,25 ± 0,05
	7	3,35 ± 0,05	3,12 ± 0,07	4,62 ± 0,11	5,5 ± 0,14	0,73 ± 0,01	1036,13 ± 0,14	8,92 ± 0,02	0,23 ± 0,05
	14	3,44 ± 0,10	3,06 ± 0,09	4,51 ± 0,15	4,8 ± 0,57	0,71 ± 0,01	1039,03 ± 0,82	8,81 ± 0,05	0,16 ± 0,01
AG16	1	3,70 ± 0,12	2,88 ± 0,09	4,25 ± 0,13	5,3 ± 0,14	0,67 ± 0,01	1035,65 ± 0,76	8,87 ± 0,09	0,25 ± 0,07
	7	3,81 ± 0,14	2,93 ± 0,03	4,33 ± 0,04	5,5 ± 0,14	0,69 ± 0,01	1035,96 ± 1,03	9,04 ± 0,15	0,21 ± 0,04
	14	3,69 ± 0,13	2,91 ± 0,04	4,47 ± 0,19	5,0 ± 0,57	0,68 ± 0,01	1035,45 ± 0,60	9,09 ± 0,31	0,26 ± 0,01

С точки зрения технологии кисломолочного продукта важно, чтобы количество МКБ в конце срока хранения было не менее 10^7 КОЕ/г. Выявлено, что количество исследуемых штаммов в сквашенном молоке было выше требуемого – на уровне 10^9 КОЕ/г, что на порядок выше, чем у *L. bulgaricus* (рисунок 13).

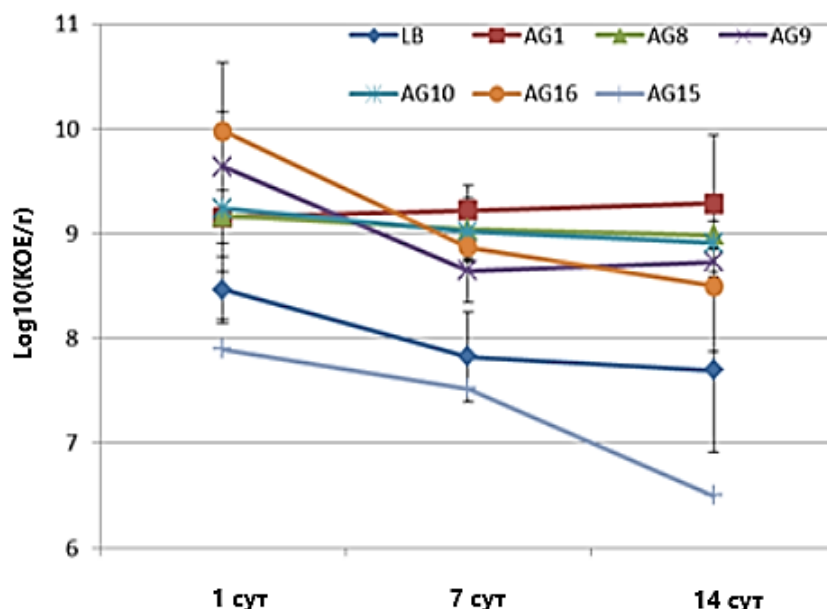


Рисунок 13 – Изменения количеств МКБ в процессе хранения сквашенного обезжиренного молока

В процессе хранения происходило снижение количества МКБ: в случае *L. bulgaricus*, штаммов AG16, AG9, AG15 – на порядок, а в случае сквашенного молока со штаммами AG1, AG8 и AG10 – на четверть порядка. Таким образом, у исследуемых штаммов есть высокий потенциал сохраняться при 4 °С, поддерживая высокий уровень жизнеспособных клеток.

В связи с ранее выявленными липолитическими свойствами клеток МКБ, проведен анализ липолитической активности сквашенного молока (рисунок 14), который показал, что самой высокой активностью обладает молоко, сквашенное штаммами AG16 или AG15. Именно у этих штаммов было наибольшее снижение количества молочного жира в процессе хранения до 0,14–0,16 %.

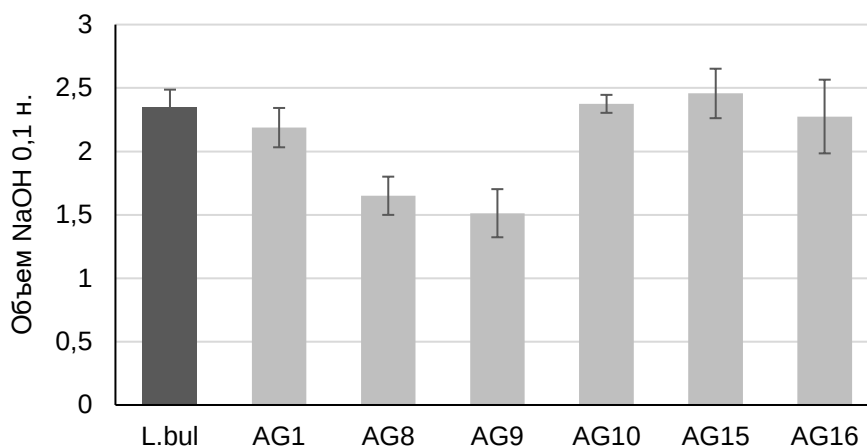


Рисунок 14 – Липолитическая активность обезжиренного молока, сквашенного экспериментальными штаммами

4.2.2 Текстурные показатели сквашенного обезжиренного молока

Анализ текстурных показателей, синерезиса и ВУС показал, что штаммы AG1 и AG10 образуют кисломолочный сгусток с наименьшим показателем синерезиса (таблица 18). В процессе 14 сут хранения происходит повышение способности выделять сыворотку, причем эта тенденция характерна для всех исследуемых штаммов. Однако на конец срока хранения наименьший синерезис выявлен у обезжиренного молока со штаммом *L. plantarum* AG10.

Показатель ВУС оказывает влияние на такие сенсорные характеристики, как мягкость сгустка, его разжевываемость и ощущения на нёбе. На момент готовности (1 сут) наибольшее значение ВУС отмечено у продукта с *L. plantarum* AG1 и *L. plantarum* AG10. В процессе хранения происходило увеличение значения этого показателя у всех штаммов, но наибольший уровень ВУС через 14 сут выявлен у продукта, сквашенного *L. plantarum* AG10.

Анализ вязкостных характеристик показал, что наиболее вязким был сгусток, образуемый при росте и развитии штаммов *L. plantarum* AG1 и *L. plantarum* AG10. В процессе хранения у продукта с *L. plantarum* AG1 снижалась вязкость, тогда как у продукта с *L. plantarum* AG10 она повышалась (таблица 19).

Таблица 18 – Текстурные характеристики ферментированных обезжиренных молочных сгустков

Штамм	Время хранения, сут		
	1	7	14
Синерезис			
<i>L. bulgaricus</i>	21,42 ± 6,4	21,54 ± 1,33	22,66 ± 9,36
AG1	7,37 ± 6,35	11,39 ± 6,88	13,15 ± 7,45
AG8	11,62 ± 7,23	14,07 ± 6,30	15,21 ± 6,20
AG9	10,88 ± 0,79	11,60 ± 8,55	14,43 ± 7,34
AG10	6,70 ± 5,68	9,69 ± 3,70	11,80 ± 5,61
AG15	20,54 ± 10,13	17,12 ± 1,99	27,32 ± 3,20
AG16	14,86 ± 4,15	20,85 ± 18,96	17,16 ± 9,54
Влагоудерживающая способность			
<i>L. bulgaricus</i>	34,86 ± 3,09	35,84 ± 2,59	35,53 ± 1,09
AG1	36,24 ± 5,37	37,95 ± 5,28	34,03 ± 4,83
AG8	32,28 ± 3,62	37,62 ± 7,83	34,15 ± 2,37
AG9	30,96 ± 0,72	37,82 ± 4,45	38,01 ± 3,11
AG10	36,82 ± 1,59	39,57 ± 6,48	39,26 ± 4,12
AG15	30,22 ± 0,19	34,30 ± 1,97	33,82 ± 4,50
AG16	32,82 ± 4,59	37,28 ± 5,03	35,64 ± 4,16

Таблица 19 – Влияние штаммов на вязкостные характеристики ферментированного обезжиренного молочного сгустка

Штамм	Эффективная вязкость неразрушенного сгустка, мПа·с			Коэффициент механической стабильности, 180 с		
	1 сут	7 сут	14 сут	1 сут	7 сут	14 сут
<i>L. bulgaricus</i>	1180 ± 255	1140 ± 198	1160 ± 226	2,5 ± 1,1	2,1 ± 0,3	1,6 ± 0,5
AG1	3400 ± 849	2340 ± 57	2980 ± 1216	1,7 ± 0,1	1,7 ± 0,1	1,6 ± 0,2
AG8	1770 ± 269	1510 ± 113	1590 ± 99	1,8 ± 0,3	1,6 ± 0,2	1,9 ± 0
AG9	1770 ± 467	1800 ± 71	1820 ± 481	2,3 ± 0,1	1,7 ± 0,3	2 ± 0
AG10	2360 ± 226	2510 ± 99	2620 ± 820	1,8 ± 0,1	1,6 ± 0,1	1,9 ± 0,2
AG15	940 ± 764	740 ± 735	570 ± 552	2,2 ± 0,4	1,6 ± 0,6	1,8 ± 0
AG16	1260 ± 264	1470 ± 269	1710 ± 99	1,7 ± 0	1,7 ± 0	0 ± 0,3

Расчеты коэффициента механической стабильности показали, что на конец срока хранения (14 сут) наибольшее его значение имели продукты со штаммами *L. plantarum* AG10 и *L. plantarum* AG9.

В настоящее время анализ текстурного профиля занимает важное место в характеристике пищевых продуктов. В таблице 20 приведены показатели текстурного профиля кисломолочного сгустка в зависимости от используемого для сквашивания штамма.

Таблица 20 – Влияние штаммов на аппаратурный текстурный профиль сквашенного обезжиренного молока

Показатель	Срок хранения, сут	Штамм МКБ						
		AG1	AG8	AG9	AG10	AG15	AG16	<i>L. bulgaricus</i>
Твердость, г	1	33,0	31,5	32,1	30,2	35,5	32,4	32,6
	14	32,5	33,1	33,3	32,3	37,8	32,8	32,5
Эластичность, ед.	1	0,505	0,662	0,595	0,705	0,325	0,468	0,496
	14	0,532	0,549	0,542	0,584	0,245	0,565	0,537
Сила адгезии	1	–6,5	–6,3	–6,3	–5,8	–3,2	–6,8	–6,8
	14	–6,2	–6,0	–6,2	–6,1	–2,8	–6,2	–6,0
Адгезия, ед.	1	27,630	24,065	24,440	20,052	19,230	25,248	29,265
	14	24,018	23,778	26,582	24,095	18,547	24,727	22,471
Когезия, ед.	1	0,017	0,033	0,028	0,036	0,012	0,019	0,019
	14	0,023	0,024	0,025	0,023	0,011	0,024	0,023
Липкость, г	1	0,562	1,029	0,903	1,096	0,311	0,620	0,614
	14	0,760	0,809	0,822	0,756	0,227	0,785	0,755
Упругость, ед.	1	2,80	4,30	3,91	4,32	5,44	2,80	3,00
	14	3,3	3,32	3,50	3,28	6,28	3,39	3,21
Тягучесть, ед.	1	7,50	7,00	7,08	6,28	5,56	7,09	7,92
	14	7,20	6,79	7,50	7,00	4,98	7,08	6,89

Обращает на себя внимание сгусток AG15: его текстуру можно охарактеризовать как твердую, неэластичную, с высокой степенью упругости, причем он оставался таким же и при хранении. Принципиальный компонентный анализ показывает на малое расхождения совокупности текстурных показателей на координатной

плоскости (см. рисунок 13) между первыми и 14-ми сутками, при этом в общем характеристики этого штамма сильно отличаются от остальных.

Иной сгусток образовывал штамм AG10: он характеризуется как мягкий, эластичный, липкий, при этом достаточно упругий. При обобщении данных с помощью PCA по текстурному инструментальному анализу (рисунок 15) выявлено, что в начале хранения сходные сгустки образуют штаммы AG1, AG16 и *L. bulgaricus*.

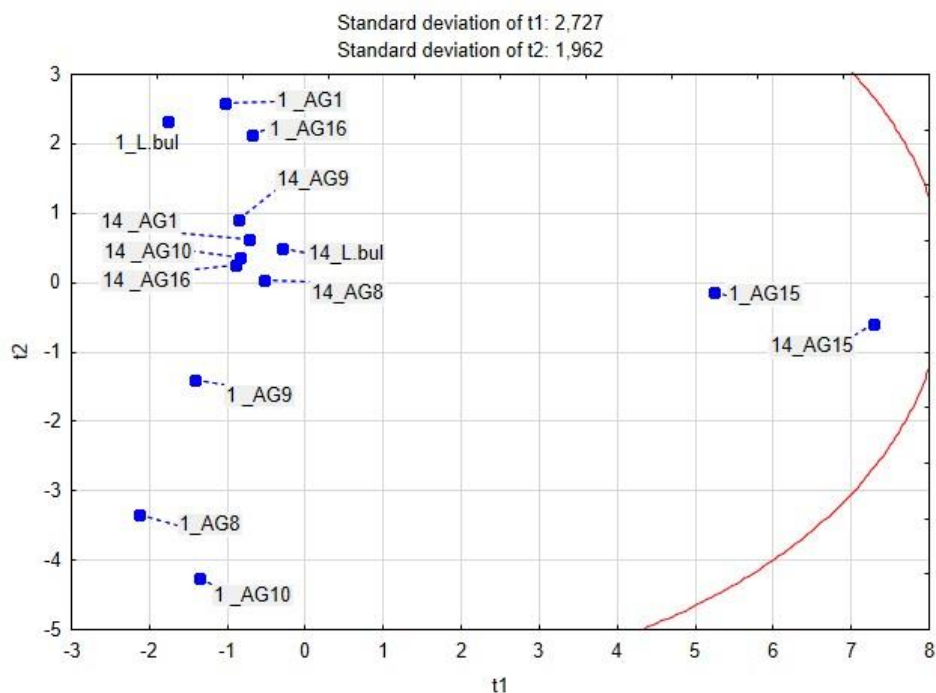


Рисунок 15 – Принципиальный компонентный анализ показателей текстурного профиля молока, сквашенного разными штаммами, при хранении

Свойства текстурного профиля сгустка у штаммов AG8, AG9 и AG10 хоть и лежат в одной четверти координатной плоскости, но расстояние между ними большее, чем между AG1, AG16 и *L. bulgaricus*, что свидетельствует о значительных различиях. Надо отметить, что через 14 сут хранения структура кисломолочного геля стала схожей у всех штаммов, кроме AG15. Координаты точек 14-х суток лежат в одной четверти координатной плоскости.

Выявлено, что в молоке, ферментированном *L. plantarum* AG1 или AG10, образуется молочно-гелевая структура с высокой вязкостью, проявляющая высокую механическую стабильность не только непосредственно после изготовления, но

и в процессе 14 сут хранения. Таким образом, потенциально пробиотический штамм молочнокислых бактерий *L. plantarum* AG10, обладающий ценными промышленными свойствами (повышенной вязкостью молочного сгустка), может быть использован в качестве дополнительной заквасочной культуры в составе промышленных заквасок в качестве функционального агента, корректирующего текстуру. Перспективным являются исследования влияния *L. plantarum* AG10 на качество йогурта, в том числе его текстурные характеристики.

Консистенция и структура КМП зависят от способности заквасочных культур образовывать высоковязкие полисахариды. Поэтому многие исследователи проявляют интерес к вязким закваскам, вырабатывающим ЭПС, способным повышать вязкость и ВУС кислотных сгустков.

В сквашенном молоке в начале хранения количество ЭПС не сильно отличается в зависимости от штамма. Однако в процессе хранения происходило накопление ЭПС, наибольшее их количество было выявлено у штаммов *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG15 (рисунок 16).

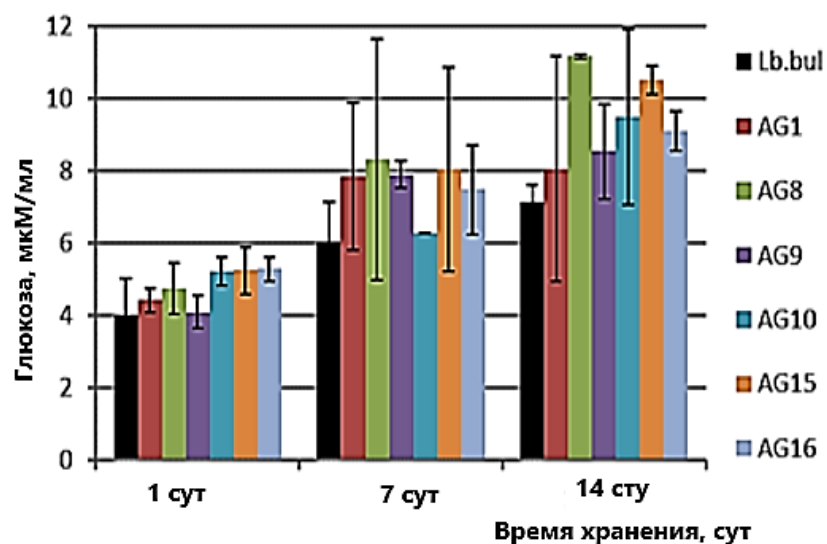


Рисунок 16 – Количество экзополисахаридов, синтезируемых молочнокислыми бактериями в сквашенном обезжиренном молоке, в процессе хранения

Ориентируясь на данные текстурных показателей, можно говорить о синтезе этими штаммами плотных, невязких ЭПС. При этом штамм *L. plantarum* AG10 че-

рез 14 сут накапливает высокое количество ЭПС, при этом улучшается текстура напитка.

Для понимания изменений текстуры при применении разных штаммов выборочно провели анализ сгустков сквашенного молока методом сканирующей микроскопии (рисунок 17).

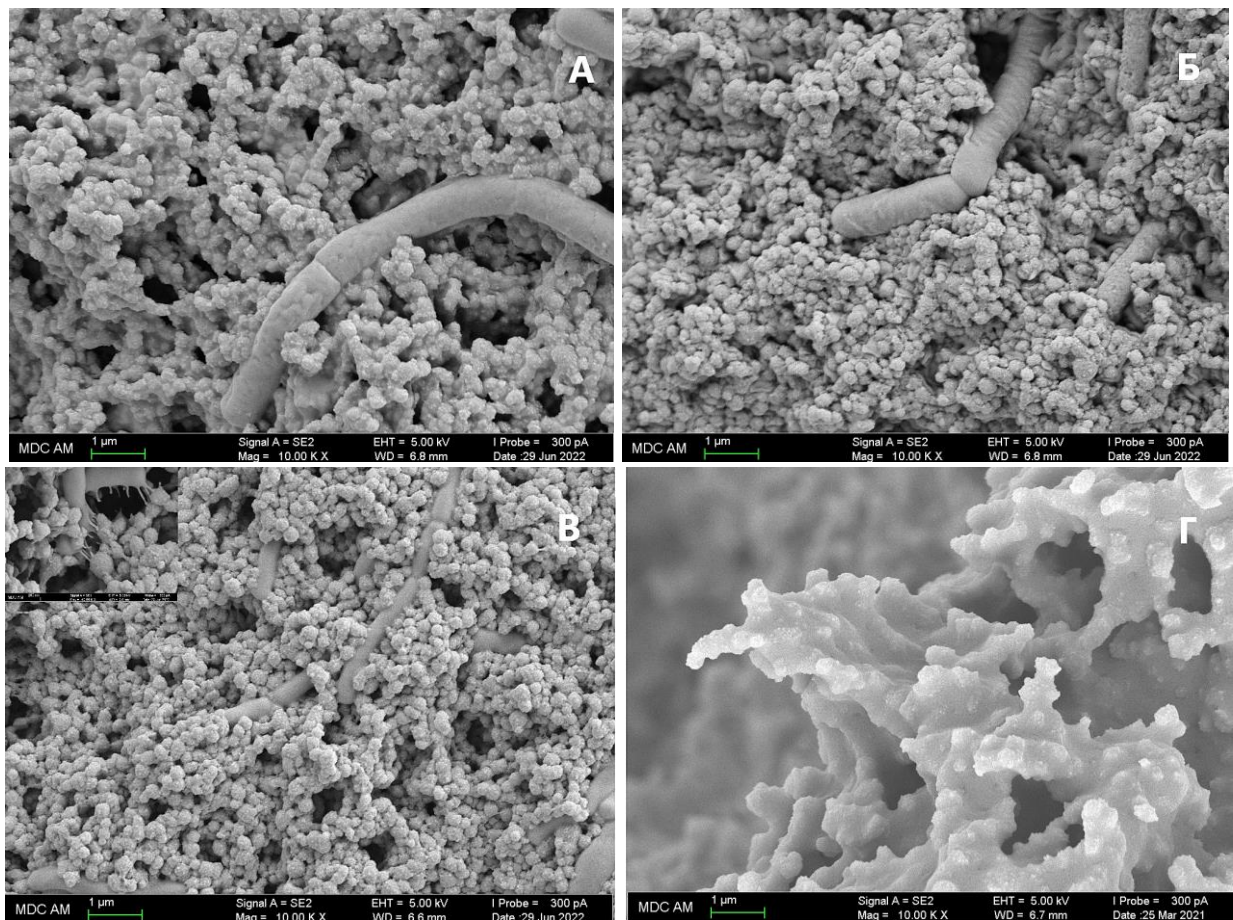


Рисунок 17 – Микрофотографии сканирующей микроскопии молочных сгустков (1 сут хранения), полученных при сквашивании *L. bulgaricus* (а), *L. fermentum* AG8 (б), *L. plantarum* AG9 (в) и *L. plantarum* AG10 (г)

В случае использования *L. bulgaricus* структура обезжиренного ферментированного молока была мелкозернистой малосвязной белковой сетью с большим количеством пустот, с четкими границами и видимыми клетками (рисунок 17, а). Клетки *L. bulgaricus* находились в полупогруженном состоянии относительно матрикса продукта. На поверхности клеток визуализировались пленки; можно предположить, что это ЭПС.

Клетки *L. fermentum* AG8, *L. plantarum* AG9 и *L. plantarum* AG10 по размерам меньше, они теснее прилегают к казеиновому матриксу. Молочный матрикс, полученный с применением *L. fermentum* AG8, имел плотную структуру с частично погруженными клетками, поры незначительны. Кроме того, клетки *L. plantarum* AG9 (рисунок 17, в) были погружены в белковую матрицу и имели типичные внеклеточные образования (тяжи на клетках лактобацилл), позволяющие клеткам образовывать конгломераты с молочными белками. Структура молочного геля *L. plantarum* AG10 характеризовалась наличием пленки между белковыми компонентами, что привело к потере четких границ и более монолитной структуре. Клетки не визуализируются, видимо, погружены в матрикс геля.

4.2.3 Антиоксидантные и антимикробные свойства сквашенного обезжиренного молока

Учитывая потенциал исследуемых штаммов как МКБ с пробиотическими свойствами, провели исследование антиоксидантных и антибактериальных свойств сквашенного молока. Для оценки антиоксидантного потенциала использовали безбелковую фракцию (безбелковый экстракт, ББЭ), сыворотку и сквашенное молоко.

Восстановительная активность (ВА) безбелкового экстракта сквашенного молока невысока независимо от используемого штамма. Однако способность восстанавливать железо у экстрактов, полученных из продуктов с использованием новых штаммов (рисунок 18), достоверно выше, чем у экстрактов *L. bulgaricus*. Возможно, это связано с наличием в ББЭ большего объема биологически активных пептидов, а также восстанавливающих сахаров.

Наибольшая ВА выявлена у экстрактов AG16, меньшую активность проявили AG8, 9 и 10. В процессе хранения ВА безбелкового экстракта снижалась. Наибольшая ВА сыворотки выявлена у AG15, чуть меньше – у AG9 и AG16.

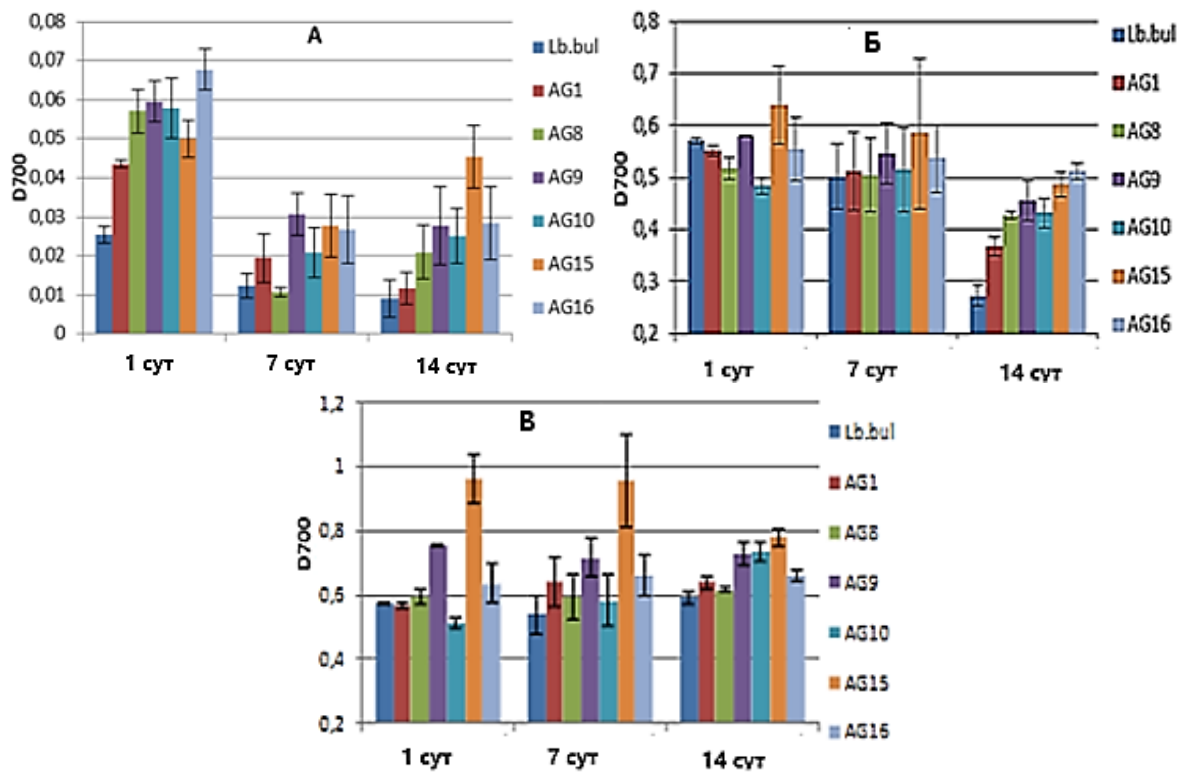


Рисунок 18 – Восстановительная активность фракций ферментированного обезжиренного молочного сгустка: а – безбелковый экстракт, б – сыворотка, в – продукт

В процессе хранения ВА сыворотки снижалась, и на 14-е сутки хранения высокая остаточная активность сохранилась у штаммов AG15, 16 и 9, наименьшая – у сыворотки *L. bulgaricus*.

Представление об ВА всего комплекса веществ, входящих в состав сквашенного молока, дает анализ самого сквашенного молока. Наибольшую ВА проявил продукт, сквашенный *L. plantarum* AG15, немного меньшую – AG9 (рисунок 18, в). В отличие от ББЭ и сыворотки, в случае продукта выявлена иная тенденция изменения ВА продукта. Через 14 сут хранения активность сохранилась или стала выше у шести из семи штаммов, включая *L. bulgaricus*. Исключение составил продукт с *L. plantarum* AG15. Наибольшая ВА через 14 сут выявлена у продуктов с AG9 и AG10. Такие результаты дают возможность предположить, что в процессе хранения происходит синтез и накопление веществ, обуславливающих восстановительные свойства сквашенного продукта.

В настоящее время большой интерес вызывает способность доступных пищевых продуктов снижать давление неблагоприятной окружающей среды, одно из таких качеств – связывание свободных радикалов. Способность связывать свободные радикалы (РСА) у сквашенного молока исследовали у разных фракций (рисунок 19).

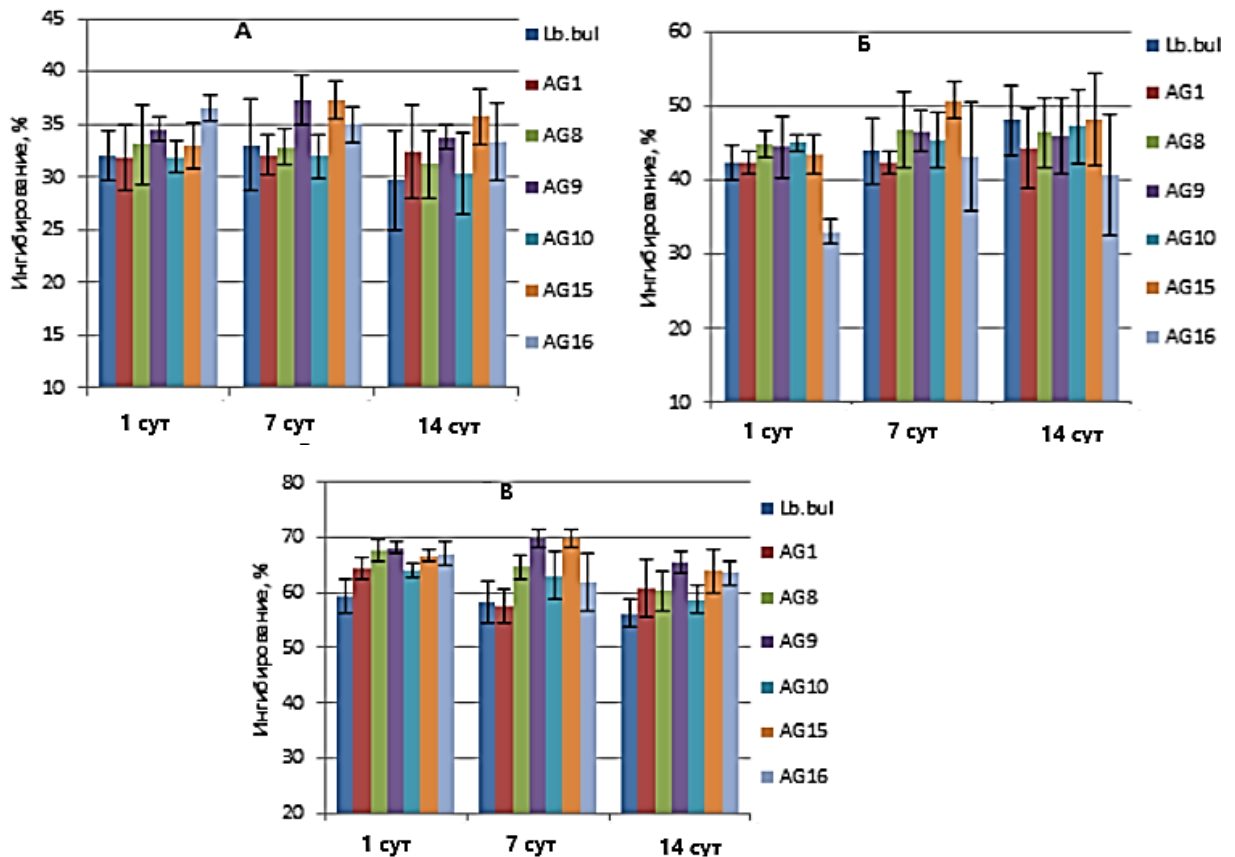


Рисунок 19 – Радикал-связывающая активность различных фракций ферментированного обезжиренного молочного сгустка:
а – безбелковый экстракт; *б* – сыворотка; *в* – продукт

Выявлено, что безбелковый экстракт проявлял РСА на уровне ингибирования образования свободных радикалов 30–35 % (рисунок 19, *а*), наибольшую активность на первые сутки имел продукт с AG16. Через 7 сут хранения активность в экстрактах AG9 и AG15 возросла, в остальных случаях снизилась. Через 14 сут во всех образцах без исключения радикал-связывающая активность ББЭ снизилась.

Анализ сыворотки показал закономерно больший уровень активности связывать свободные радикалы. Активность сыворотки нарастала через 7 сут хранения и сохранялась на высоком уровне даже через 14 сут (рисунок 19, *в*). Возможно, это

связано с экстракцией в сыворотку части ЭПС, количество которых повышалось в процессе хранения.

Анализ РСА продукта показал уровень ингибирования в пределах 60–70 % сразу после сквашивания, в процессе хранения активность снижалась во всех исследуемых продуктах. Общая РСА сквашенного молока была наибольшей у продукта с *L. plantarum* AG9 и *L. fermentum* AG15 через 7 сут хранения, в дальнейшем активность снижалась.

Широко известна способность МКБ проявлять антимикробную активность в отношении патогенной микрофлоры. Это свойство изучали у сквашенного молока и различных его фракций (таблица 21).

Таблица 21 – Антимикробная активность обезжиренного молока, сквашенного разными видами молочнокислых бактерий, в процессе хранения

Штамм	Время хранения, сут	Сквашенное молоко		
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. typhimurium</i>
<i>L. bulgaricus</i>	1	++	++	—
	7	++	++	—
	14	++	++	—
AG1	1	+	++	—
	7	++	++	—
	14	++	++	—
AG8	1	+	+	—
	7	+	+	—
	14	—	—	—
AG9	1	++	++	—
	7	++	++	+
	14	++	++	+
AG10	1	++	+	—
	7	++	+	—
	14	+	+	—
AG15	1	++	—	—
	7	++	—	—
	14	—	—	+

Продолжение таблицы 21

Штамм	Время хранения, сут	Сквашенное молоко		
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. typhimurium</i>
AG16	1	++	+	—
	7	++	+	+
	14	+	+	+
Примечание – Условные обозначения для размера зоны подавления роста патогенов: «—» – зона отсутствует; «+» – не превышает 3 мм; «++» – более 3 мм.				

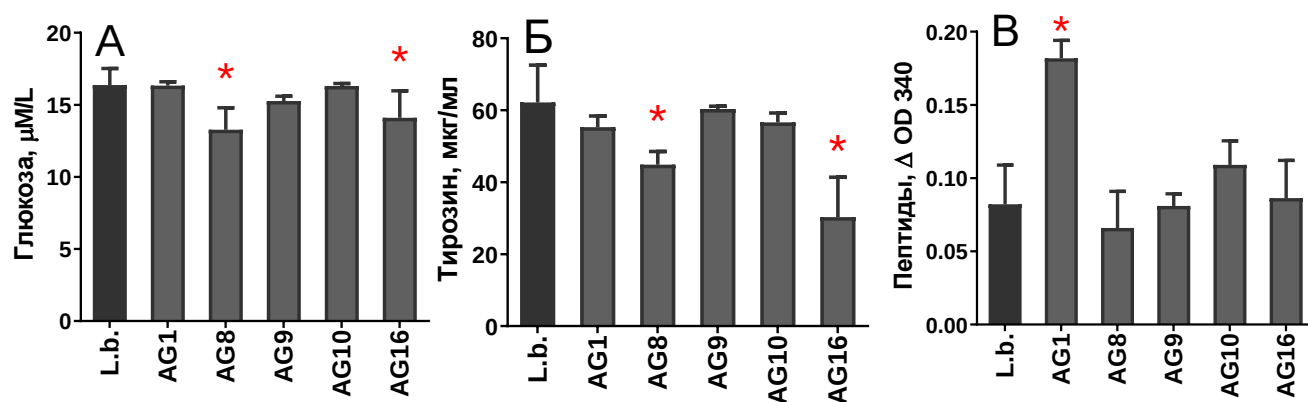
У всех исследуемых штаммов проявлялась антибактериальная активность в отношении *E. coli*, *S. aureus*, однако у большинства исследуемых штаммов активность уменьшалась через 14 сут хранения продукта, за исключением штамма *L. plantarum* AG9. Кроме того, у продукта с *L. plantarum* AG9, выявлена способность подавлять *S. typhimurium*, причем в том числе на 7 и 14 дней хранения.

4.3 Исследование роли экзополисахаридов и небелковых компонентов ферментированного молока в формировании антиоксидантных свойств

В процессе ферментации молока молочнокислые бактерии заквасочной культуры вырабатывают биологически активные вещества – витамины, аминокислоты, ферменты, ЭПС, короткоцепочечные жирные и органические кислоты, фенольные соединения, биоактивные пептиды и др., положительно влияющие на здоровье человека. Поэтому были приготовлены экстракты с предварительно осажденными высокомолекулярными белками (безбелковые экстракты). ББЭ содержал углеводы, включая ЭПС, низкомолекулярные пептиды, аминокислоты, витамины и другие соединения.

Уровень глюкозы – продукта метаболизма лактозы – был значительно ниже в ББЭ молока, сквашенного *L. fermentum* AG8 и *L. rhamnosus* AG16, по сравнению с *L. bulgaricus* (рисунок 20). В образцах этих же штаммов выявлено наименьшее

общее количество фенольных соединений (ОКФС) – маркеров ароматических антиоксидантов.



Примечание – * Статистически значимые различия с *L. bulgaricus* согласно непараметрическому одностороннему анализу дисперсии (Kruskal-Wallis), $p < 0,05$.

Рисунок 20 – Химический состав безбелкового экстракта обезжиренного молока, ферментированного различными штаммами МКБ:
 а – концентрация глюкозы; б – фенольные соединения (по тирозину);
 в – свободные пептиды (реакция с ОРА-реактивом)

Интересно, что у *L. plantarum* AG1 количество пептидов в ББЭ оказалось вдвое выше, чем у других штаммов, что говорит о высокой протеолитической активности.

Способность связывать свободные радикалы была максимальной у ББЭ, полученного с участием *L. plantarum* AG1, AG10 и *L. bulgaricus* (рисунок 21, а), и минимальной – у *L. fermentum* AG8, *L. plantarum* AG9 и *L. rhamnosus* AG16, что коррелирует с содержанием свободных пептидов. ББЭ молока, заквашенного *L. rhamnosus* AG16, показал наименьшую ОН-связывающую активность, тогда как ББЭ *L. plantarum* AG10 – наивысшую (рисунок 21, б). ББЭ с *L. fermentum* AG8 связывал супероксид-радикалы так же, как и *L. bulgaricus*, в то время как другие штаммы проявили более высокую активность (рисунок 21, в).

Максимальная хелатирующая активность ББЭ отмечена у *L. fermentum* AG8 и *L. rhamnosus* AG16, но именно они показали наименьшую способность связывать реактивные формы кислорода (рисунок 21, д). Это указывает на различие молекулярных механизмов антиоксидантной и хелатирующей активности.

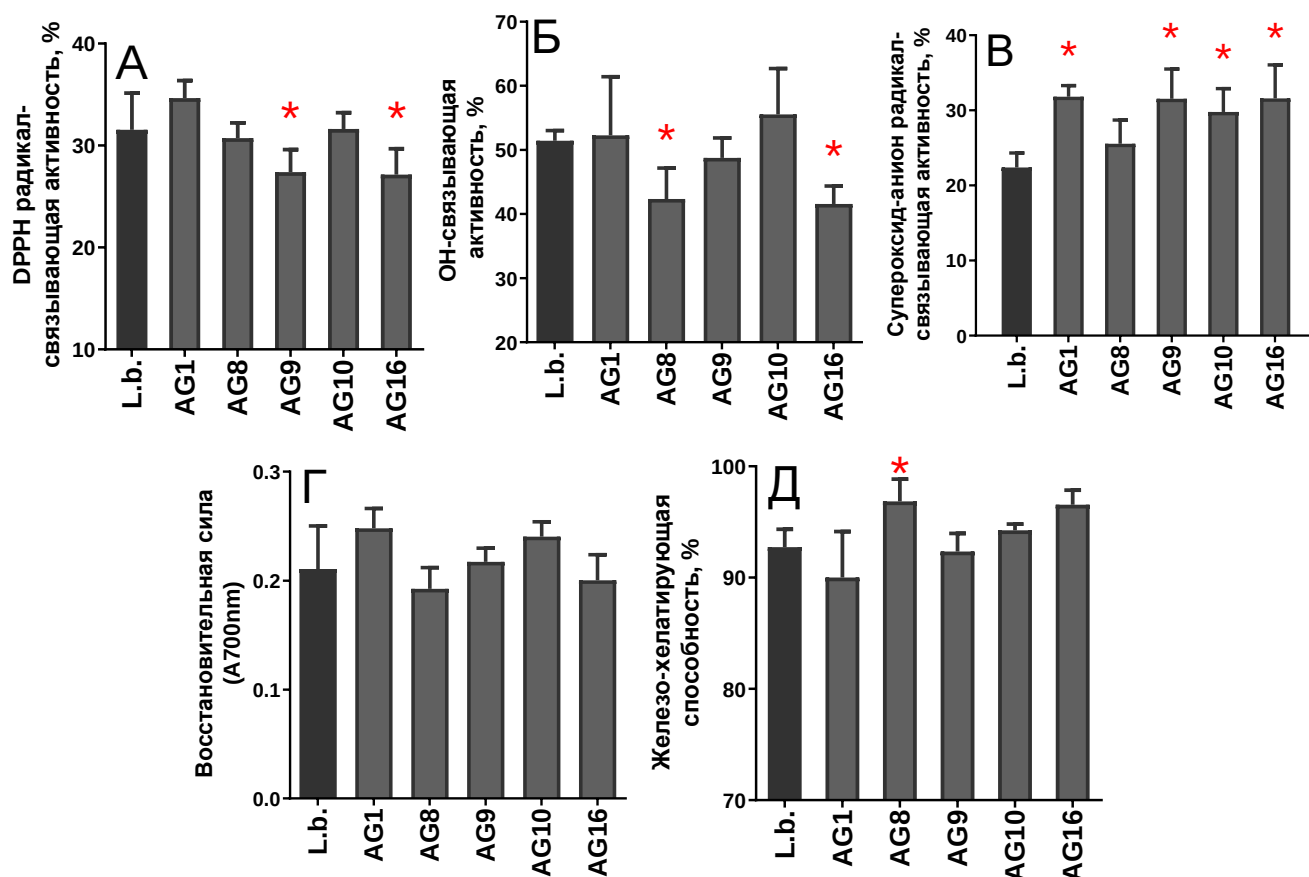
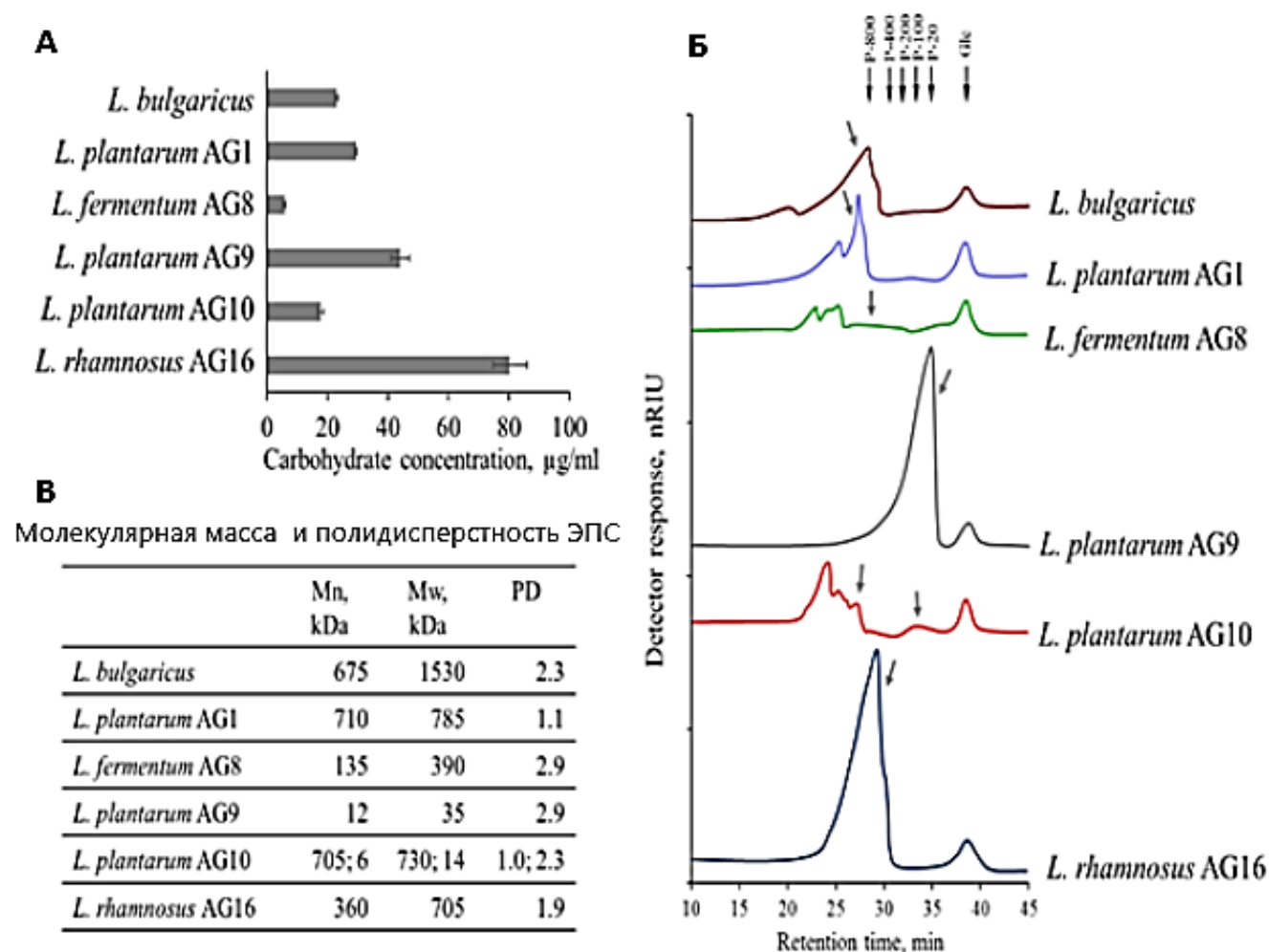


Рисунок 21 – Антиоксидантные и хелатные свойства безбелкового экстракта (предварительно нейтрализованного до pH 7), выделенного из обезжиренного молока, заквашенного различными штаммами МКБ:
 а – активность DPPH; б – активность OH-связывающая; в – скорость поглощения O_2° ; г – восстанавливающая активность; д – Fe-хелатирующая активность

Наблюдаемые различия между антиоксидантными свойствами в ББЭ молока, заквашенного разными штаммами, могут быть результатом количественных и качественных вариаций экзополисахаридов. Максимальный выход ЭПС (по сумме моносахаридов) зафиксирован у *L. rhamnosus* AG16, минимальный – у *L. fermentum* AG8. Высокий выход также наблюдался у *L. plantarum* AG9. Штаммы *L. bulgaricus*, *L. plantarum* AG10 и AG1 продуцировали сопоставимые, но меньшие количества ЭПС – менее половины от уровня *L. rhamnosus* AG16 (рисунок 22, а).

При разделении лиофилизированных ЭПС методом размерно-эксклюзионной хроматографии углеводы обнаруживались в пиках с молекулярной массой выше 10 кДа, что подтверждает полимерную природу ЭПС. Молекулярная масса полисахаридов варьировала между штаммами (рисунок 22, в). ЭПС от *L. plantarum*

AG9 и *L. rhamnosus* AG16 имели один выраженный пик при ~35 и 700 кДа соответственно. В других образцах, помимо характерных пиков, наблюдались пики с массой >1500 кДа. Их моносахаридный состав был сходен с составом низкомолекулярных фракций, что указывает на присутствие агрегатов ЭПС-молекул.



Примечание – Среднее число (*Mn*) и средний вес (*Mw*) молекулярных масс (*в*) приведены для пиков, обозначенных стрелками (*б*).

Рисунок 22 – Выход (*а*) и молекулярно-массовое распределение (*б, в*) ЭПС, синтезированных лактобациллами из силоса, в процессе ферментирования обезжиренного молока

Состав ЭПС, синтезируемых при ферментации обезжиренного молока различными штаммами лактобацилл, существенно различался (таблица 22). В пяти из шести полученных ЭПС доминировали галактоза и глюкоза, но соотношение этих мономеров и присутствие других сахаров варьировались. ЭПС *L. plantarum* AG9 содержала преимущественно глюкозу (69 мол. %) и галактозу (13 мол. %).

Таблица 22 – Моносахаридный состав экзополисахаридов в зависимости от используемого штамма [304]

Образец ЭПС	Состав моносахаридов, моль%											
	Фукоза	Рамноза	Арабиноза	N-ацетил-галактозамин	N-ацетил-глюкозамин	Галактоза	Глюкоза	Ксилоза	Манноза	Фруктоза	Галакту-роновая кислота	Глюку-роновая кислота
<i>L. bulgaricus</i>	3,6±0,1	7,3±0,2	4,9±0,1	1,3±0,0	4,2±0,1	46,9±1,6	17,9±0,7	7,1±0,2	1,0±0,0	0,0±0,0	3,2±0,1	2,6±0,1
<i>L. plantarum</i> AG1	2,2±0,1	13,4±0,4	7,8±0,2	0,1±0,0	2,9±0,1	42,9±1,3	25,7±0,8	0,6±0,0	0,6±0,0	0,0±0,0	2,1±0,1	1,7±0,1
<i>L. fermentum</i> AG8	0,7±0,0	0,3±0,0	1,4±0,0	0,0±0,0	2,4±0,1	0,3±0,0	0,1±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	69,9±2,1	18,2±0,5	6,7±0,2
<i>L. plantarum</i> AG9	0,3±0,0	2,9±0,1	3,3±0,1	0,2±0,0	2,1±0,1	13,1±0,6	69,1±2,8	2,6±0,1	2,6±0,1	0,0±0,0	2,9±0,1	0,9±0,0
<i>L. plantarum</i> AG10	0,0±0,0	8,1±0,2	10,2±0,3	0,1±0,0	5,0±0,2	22,3±0,9	45,5±1,6	3,0±0,1	1,4±0,0	0,0±0,0	2,7±0,1	1,7±0,1
<i>L. rhamnosus</i> AG16	2,5±0,1	0,8±0,0	0,8±0,0	1,7±0,1	0,2±0,0	31,3±1,1	21,1±0,8	28,5±0,9	4,2±0,1	0,0±0,0	6,9±0,2	2,0±0,1

В ЭПС *L. plantarum* AG10 и AG1 также преобладали глюкоза (46 и 26 мол. %) и галактоза (22 и 43 мол. %), но присутствовали и значительные количества арабинозы и рамнозы. Состав ЭПС *L. bulgaricus*, схожий по глюкозе и галактозе с ЭПС *L. plantarum* AG1, содержал меньше арабинозы и рамнозы, но больше ксилозы. Это коррелировало с его большей склонностью к агрегированию, что отражалось в появлении высокомолекулярного пика на профиле элюции (рисунок 22, в), идентичного по составу основному пику.

По сравнению с другими ЭПС, также обогащенными глюкозой и галактозой, ЭПС *L. rhamnosus* AG16 содержали значительно больше ксилозы (29 мол. %) и не проявляли выраженной агрегации, возможно, из-за высокого содержания галактуроновой кислоты (6,9 мол. %) (см. таблицу 21). В отличие от других, ЭПС *L. fermentum* AG8 были представлены фруктонами (70 мол. % фруктозы), обогащенными заряженными уроновыми кислотами: 18 мол. % галактуроновой и 7 мол. % глюкуроновой. Эти полисахариды также склонны к самоагрегации, несмотря на высокое содержание уроновых кислот в высокомолекулярных пиках, хотя их доля была несколько снижена.

Таким образом, моносахаридный состав ЭПС существенно зависит от условий культивирования. Даже при одинаковых условиях разные штаммы одного вида продуцируют ЭПС с отличающимся составом. Внутри образцов с аналогичным соотношением основных компонентов (глюкоза/галактоза) выявлены различия по другим сахарам. Например, при сходном соотношении ключевых мономеров у *L. plantarum* AG9 и AG10 их ЭПС различались по содержанию рамнозы, арабинозы и NAcGlcN. Штамм *L. plantarum* AG1 синтезировал ЭПС с аналогичным уровнем рамнозы и арабинозы, как у AG10, но с иным соотношением глюкозы и галактозы, близким к *L. bulgaricus*. ЭПС на основе глюканов и галактанов, продуцируемые различными *Lactobacilli*, получены в более высоких выходах по сравнению с фруктанами. Наличие арабинозы и рамнозы повышает склонность таких ЭПС к самоагрегации. Этой же способностью обладают и фруктоны *L. fermentum*, несмотря на содержание уроновых кислот.

Различия в составе и свойствах ЭПС, отраженные в организации и морфологии поверхностей микроструктур, которые они образуют при дегидратировании (лиофилизации), были проанализированы с помощью СЭМ. ЭПС, продуцируемые *L. bulgaricus* (рисунок 23), имеют неровную, мелкопористую губчатую структуру, перемежающуюся пустотами с некоторой слоистостью в пространственном сечении, поверхность относительно гладкая.

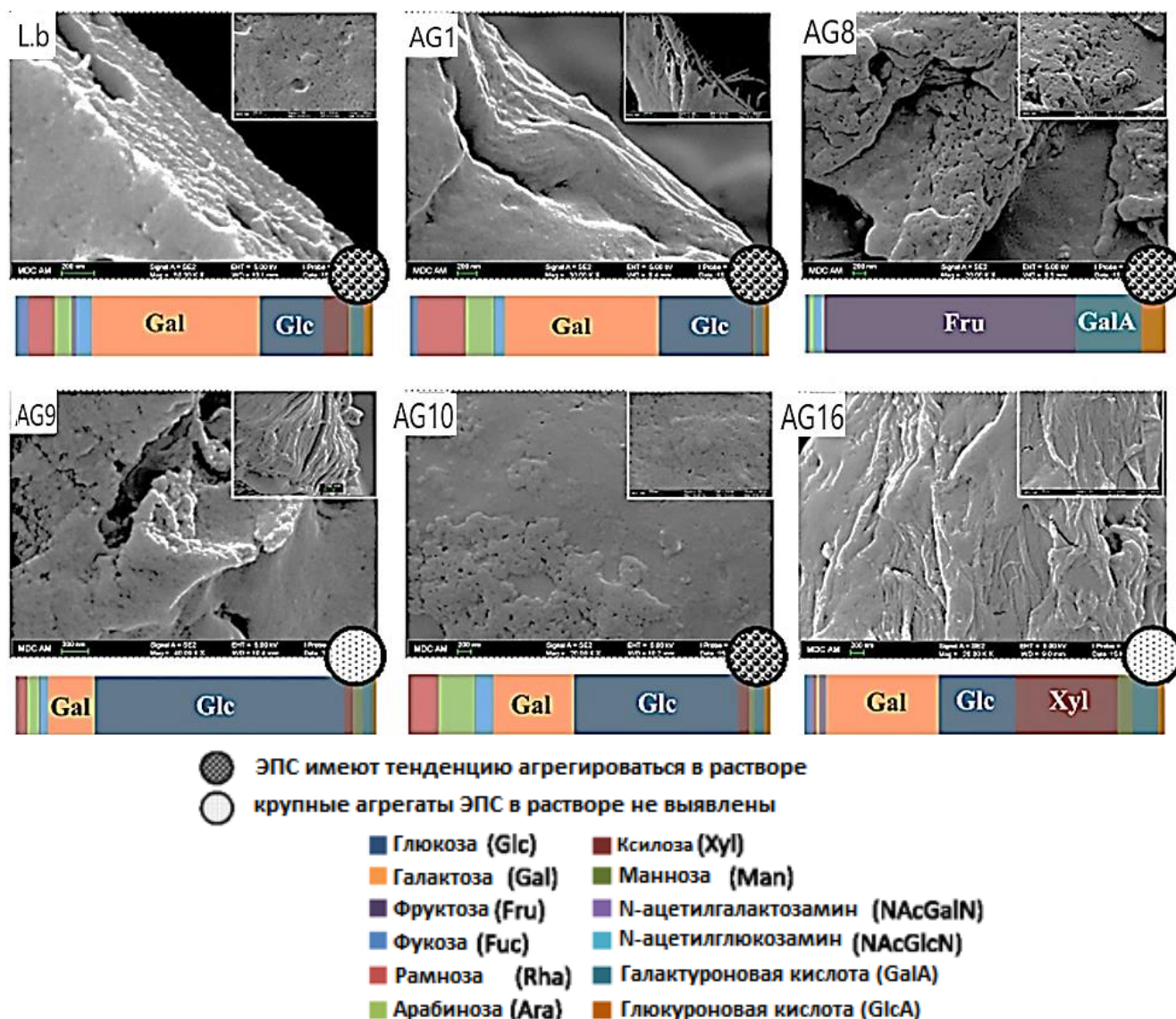


Рисунок 23 – Сканирующая электронная микроскопия экзополисахаридов, выделенных из обезжиренного молока, ферментированного различными штаммами молочнокислых бактерий

ЭПС *L. plantarum* AG1 по гидродинамическим свойствам и составу сходны с ЭПС *L. bulgaricus*, но отличаются отсутствием ксилозы и повышенной долей рамнозы и арабинозы, имеют относительно гладкую структуру из плотно упакованных нитей, плотно приклеенных друг к другу.

Кроме того, встречаются участки с фибриллами ЭПС неправильной формы, не объединенными в компартменты. ЭПС, продуцируемые *L. fermentum* AG8, представленные в основном фруктонами, содержащими галактуроновую кислоту, характеризуются склонностью к агрегации в растворе и формированию губчато-подобных структур, представляющих собой рыхлое вещество с относительно крупными порами.

ЭПС *L. plantarum* AG9, наиболее обогащенные глюкозой, образуют участки как губкоподобных, так и нитевидных структур. Губкоподобные участки являются мелкозернистыми, но с большими пустотами, и слоистость не может быть обнаружена. Однако периодически наблюдается наличие участков в виде гранулярно упакованных нитей, которые затем превращаются в мелкозернистые участки. По-видимому, стадия формирования ЭПС, когда полисахаридные цепи начинают формировать полисахаридную сеть, была зафиксирована при подготовке образцов. Более того, это происходит именно при обезвоживании, так как в растворе данный тип ЭПС не проявляет тенденции к образованию крупных агрегатов (рисунок 22, в).

ЭПС *L. plantarum* AG10, которые наряду с высокой долей глюкозы и галактозы содержат также рамнозу и арабинозу, образуют микроструктуру, подобную микроструктуре минерально-зернистой губки; однако нитевидные участки и слоистость не наблюдаются. Поверхностный слой кажется шероховатым и неоднородным, отчасти похожим на структуру, образованную ЭПС *L. bulgaricus*; однако крупные пустоты не визуализируются. ЭПС *L. rhamnosus* AG16 характеризуются высокой долей ксилозы в составе и отсутствием тенденции к самоагрегации молекул в растворе. Эти ЭПС имеют нитевидный тип структуры; нити собраны в отсеки различной толщины, которые в конечном итоге покрыты слоем аморфного гладкого вещества. Поры в структурах ЭПС очень маленькие, без значительных пустот.

Анализ способности ЭПС связывать радикалы различной химической природы (свободный радикал, гидроксильный радикал, супероксидный радикал) выявил специфичность, при этом дозозависимый эффект проявлялся не всегда (рисунок 24).

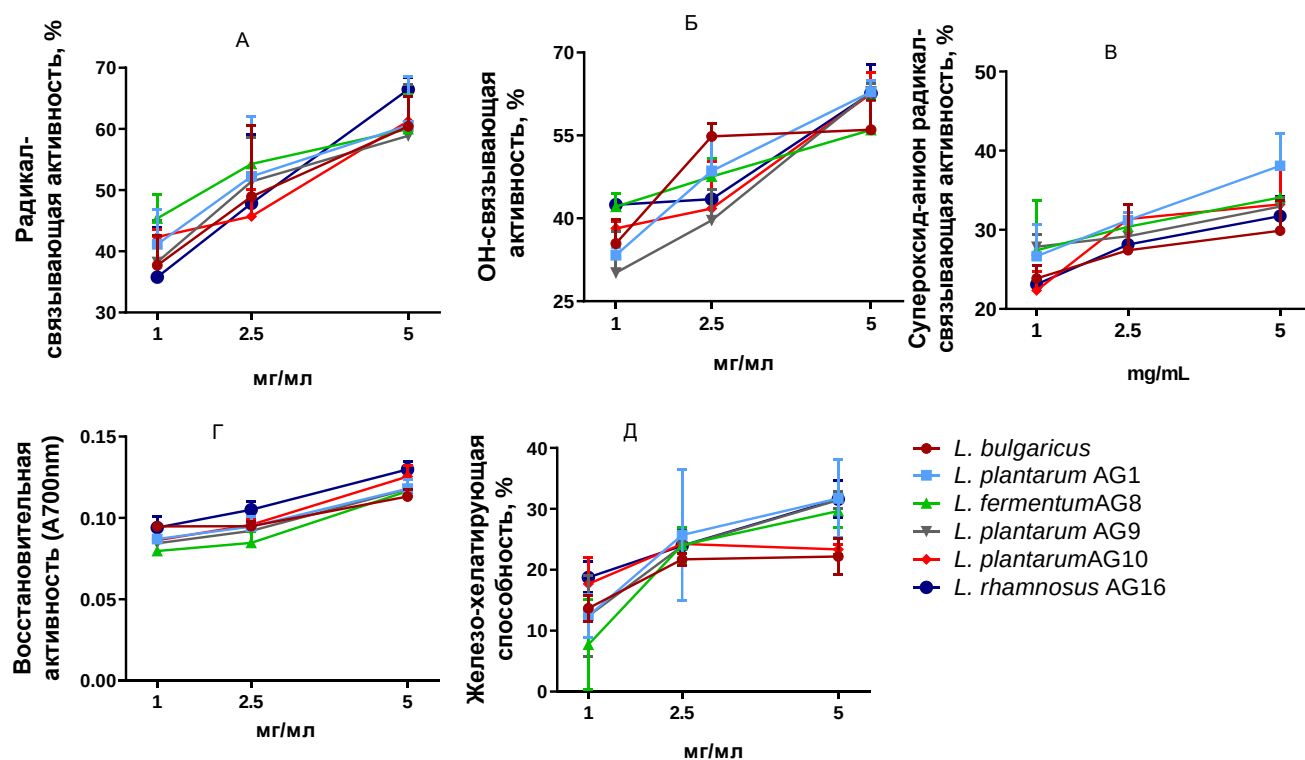


Рисунок 24 – Антиоксидантные свойства ЭПС: а – радикал-связывающая активность; б – активность ОН-связывающая; в – скорость поглощения O_2° ; г – восстанавливающая активность; д – Fe-хелатирующая активность

При самой высокой концентрации (5 мг/мл) наибольшей активностью по связыванию свободных радикалов обладал ЭПС штамма AG16. Гидроксильные радикалы при концентрации 5 мг/мл связывали ЭПС штаммов AG1, AG9, AG10 и AG16 (активность выше 60 %), в то время как AG8 и *L. bulgaricus* имели активность ниже 60 %. Супероксидный радикал наиболее активно связывал ЭПС штамма AG1. Снижение концентрации в 5 раз (до 2,5 и 1 мг/мл) не привело к прямо пропорциональному снижению активности. Восстановительная активность была самой высокой у ЭПС штаммов AG10 и AG16.

Хелатирующую активность ЭПС изучали в тесте на способность связывать ионы железа, где лидерами оказались штаммы ЭПС AG1, AG9 и AG16. Таким об-

разом, разница в проявлении различных аспектов антиоксидантного свойства должна означать разницу в структурной организации различных ЭПС.

Анализ PCA выявил высокое сходство химического состава и антиоксидантных свойств между штаммами *L. bulgaricus* и *L. plantarum* AG9. На некотором расстоянии от них находятся штаммы *L. plantarum* AG1 и *L. plantarum* AG10. По комплексу химических и антиоксидантных свойств штаммы *L. fermentum* AG8 и *L. rhamnosus* AG16 значительно отличаются как друг от друга, так и от штаммов *L. plantarum* (рисунок 25).

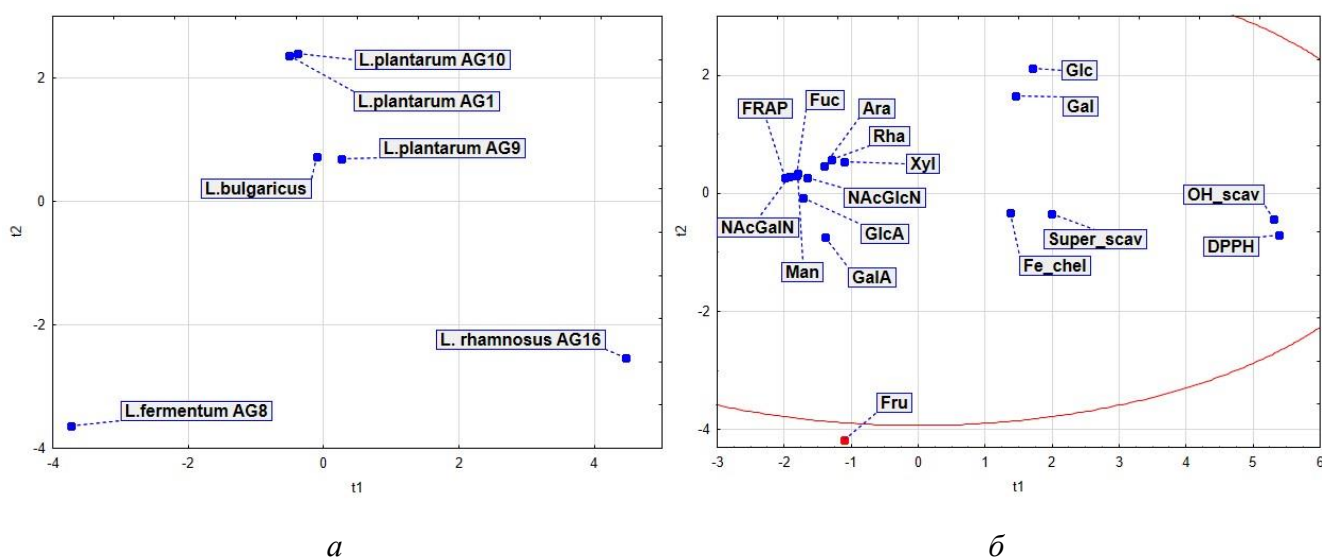


Рисунок 25 – Принципиальный компонентный анализ антиоксидантных свойств штаммов МКБ (а) и антиоксидантных свойств с химическим составом ЭПС (б)

Анализ антиоксидантных свойств ЭПС и их состава выявил высокую степень корреляции между индексом восстановительной активности (FRAP) и наличием большинства детектируемых показателей, за исключением моносахаридов глюкозы, галактозы и фруктозы. Присутствие фруктозы, особенно в качестве основного мономера, играет существенную роль в изменении свойств ЭПС. Радикал-связывающая и гидроксил-связывающая активность высоко коррелируют друг с другом. Кроме того, Fe-хелатирующая активность и супероксид-связывающая активность коррелируют между собой.

Обобщим полученные данные по ЭПС различных штаммов лактобацилл. Пять из шести ЭПС содержали в качестве основных мономеров глюкозу и галактозу, при этом в ЭПС *L. plantarum* AG9 преобладала глюкоза. Кроме того, в их составе в разных пропорциях присутствовали рамноза, арабиноза, N-ацетилглюкозамин, ксилоза, манноза и уроновые кислоты. В некоторых ЭПС были обнаружены фукоза и N-ацетилгалактозамин в небольших количествах. Единственная ЭПС, полученная от *L. fermentum* AG8, была фруктозосодержащей и обогащенной уроновыми кислотами, преимущественно галактуроновой. Такой тип полисахарида ранее не описывался.

Сравнение пар ЭПС позволило выявить ряд закономерностей. При сопоставлении ЭПС *L. bulgaricus* и *L. plantarum* AG1 у последнего отмечено больше рамнозы и арабинозы, меньше ксилозы при сопоставимых долях глюкозы и галактозы. Это привело к снижению пористости, уплотнению микроструктуры, повышенной способности связывать Fe-ионы и удалять OH- и супероксидные радикалы. Напротив, в ЭПС *L. rhamnosus* AG16 увеличивалась доля ксилозы и уменьшались рамноза и арабиноза при тех же основных мономерах, но значимых морфологических изменений не наблюдалось, а супероксид-связывающая активность снижалась. Это указывает на важную роль рамнозы и арабинозы в радикал-связывании и формировании структуры.

Сравнение ЭПС *L. plantarum* AG9 и AG10 показывает, что даже штаммы одного вида продуцируют ЭПС с разным составом и свойствами. У AG10 выше доли рамнозы, арабинозы, NAcGlcN и галактозы, ниже – глюкозы. Это повышает молекулярную массу ЭПС и вызывает значительные изменения микроструктуры – появление крупных пор и фибрилл, упакованных в нити с мелкими порами. Вероятно, эти изменения связаны с изменением соотношения глюкозы и галактозы, а также с NAcGlcN, способным участвовать в гидрофобных и водородных взаимодействиях. Несмотря на рост содержания рамнозы и арабинозы, эффект усиления антиоксидантной активности, как у AG1, не восстановился, а Fe-хелатирующая активность снизилась, что говорит о необходимости специфического сочетания сахаров и структуры ЭПС.

В целом не установлена прямая связь между молекулярной массой ЭПС и снижением радикал-связывающей активности. Высокая ОН-связывающая и Fe-хелатирующая активность *L. fermentum* AG8 может быть обусловлена высоким содержанием уроновых кислот, образующих связи с ионами металлов через карбоксильные группы.

Кроме ЭПС, в ходе ферментации молочнокислыми бактериями образуются белковые метаболиты. Протеиназы расщепляют молочные белки до олигопептидов, а пептидазы расщепляют их до фрагментов с антиоксидантной активностью. Такие пептиды, содержащие гидрофобные и ароматические аминокислоты, деактивируют свободные радикалы [349]. Остатки фосфосерина, продукты гидролиза казеина, активно нейтрализуют радикалы ABTS, а также обладают хелатной активностью. Низкомолекулярные гидролизаты казеина эффективны в связывании пероксидных радикалов, тогда как фосфопептиды проявляют высокую металлохелатирующую способность. ББЭ ферментированного молока демонстрировал высокий потенциал связывания различных радикалов и ионов металлов, что подтверждает присутствие как низко-, так и высокомолекулярных белковых компонентов.

Наличие фруктозы в ЭПС *L. fermentum* AG8 определяет ее отличающиеся антиоксидантные свойства. Уникальность ЭПС *L. rhamnosus* AG16 обусловлена специфическим сочетанием глюкозы, галактозы и ксилозы. Сходство структуры и свойств у штаммов *L. plantarum* подтверждает их филогенетическую близость.

Помимо увеличения срока хранения, ферментация молока молочнокислыми бактериями обогащает продукт функциональными свойствами. Экстрацеллюлярные полисахариды играют ключевую роль в формировании структуры и антиоксидантной активности.

Завершая параграф 4.3, обобщим результаты комплексной оценки потенциала новых штаммов МКБ – *Lactiplantibacillus plantarum* AG1, AG9, AG10, *Limosilactobacillus fermentum* AG8 и *Lacticaseibacillus rhamnosus* AG16, для их использования в ферментации обезжиренного молока и их способности влиять на характеристики ферментированных молочных продуктов. Эти штаммы были вы-

браны на основе их уникальных свойств и потенциала для улучшения качества, функциональных свойств КМП.

Штаммы продемонстрировали эффективную ферментацию обезжиренного молока, хотя скорость подкисления была медленнее по сравнению с промышленным штаммом *L. bulgaricus*. Однако продукты, заквашенные экспериментальными штаммами, демонстрировали стабильный pH и титруемую кислотность в течение периода хранения до 14 сут, что свидетельствует о формировании хорошо сохраняемых кисломолочных продуктов. Медленное подкисление в процессе активного процесса ферментации, наблюдаемое у экспериментальных штаммов, особенно принадлежащих к гетероферментативной группе (таких как *L. plantarum* и *L. fermentum*), может быть связано с их различными метаболическими путями. Это типичная характеристика гетероферментативных МКБ, которые производят более широкий спектр метаболитов, включая органические кислоты, спирты и углекислый газ.

Химический анализ показал, что штаммы оказали значительное влияние на химический состав сквашенного молока. Одним из ключевых результатов стало снижение содержания жиров и углеводов в продуктах по сравнению с продуктами, заквашенными эталонным штаммом *L. bulgaricus*. Наиболее заметное снижение содержания жира наблюдалось в продуктах, ферментированных штаммами AG15 и AG16, что может быть важно для разработки функциональных кисломолочных продуктов, где немаловажна роль липолиза. Хотя общее содержание белка осталось относительно неизменным, белковые фракции претерпели изменения, особенно в случае штамма AG15, который продемонстрировал высокую протеолитическую активность. Это свойство может оказаться полезным при производстве сыра или других молочных продуктов, где желательна расщепление белка. Однако в кисломолочных напитках эта протеолитическая активность должна тщательно контролироваться, чтобы избежать нежелательных дефектов текстуры.

Текстурный анализ показал, что штаммы AG9 и AG10 особенно эффективны в формировании гладких, высоковязких молочных гелей с отличной водоудерживающей способностью и минимальным синерезисом. Это важно для обеспечения

консистенции и качества продукта, особенно в йогурте и других кисломолочных продуктах, которые употребляются как для вкуса, так и для пользы для здоровья. В частности, AG10 формировал наиболее стабильные и вязкие гели, сохраняя благоприятные текстурные характеристики даже после 14 сут хранения. Кроме того, ВУС ферментированных продуктов была самой высокой для штамма AG10 на момент производства и увеличивалась в процессе хранения, что свидетельствует о хорошей стабильности и сохранении качества в течение длительного времени. Выявленный низкий синерезис позволяет использовать штамм AG10 для производства кисломолочных продуктов, сохраняющих желаемую консистенцию в течение длительного срока хранения.

Штаммы AG9, AG10 и AG15 продемонстрировали самый высокий антиоксидантный потенциал, особенно высока их способность поглощать гидроксильные и супероксидные радикалы. Антиоксидантная активность этих продуктов коррелирует с биоактивными соединениями, включая пептиды и ЭПС, которые высвобождались и (или) синтезировались в процессе ферментации. Способность экспериментальных штаммов продуцировать биоактивные пептиды и ЭПС является перспективным фактором для разработки функциональных продуктов питания, которые могут способствовать снижению окислительного стресса и улучшению общего состояния здоровья.

Что касается антимикробной активности, то все экспериментальные штаммы МКБ ингибировали рост распространенных пищевых патогенов *E. coli*, *S. aureus* и *S. typhimurium*. Это позволяет предположить их использование в молочных продуктах не только благодаря их пробиотическим свойствам, но и благодаря их способности повышать безопасность пищевых продуктов путем подавления вредных микроорганизмов во время хранения.

ЭПС МКБ представляет особый интерес из-за их потенциала для улучшения текстуры, стабильности и функциональных свойств КМП. Новые штаммы продуцировали разнообразные ЭПС с различным химическим составом. Штамм AG10 продуцировал ЭПС с высоким содержанием галактозы и рамнозы, что способствовало образованию стабильных гелей с хорошей текстурой. Штамм AG16 продуци-

ровал ЭПС с высоким содержанием ксилозы, который демонстрировал отличные антиоксидантные и металлохелатирующие свойства, что делает его сильным кандидатом для создания функциональных пищевых рецептур, направленных на снижение окислительного стресса. Кроме того, штамм AG9 с высоким содержанием глюкозы в ЭПС способен формировать плотные, стабильные структуры ЭПС, которые играть положительную роль в повышении вязкости и консистенции.

Одним из ключевых результатов работы является высокая жизнеспособность штаммов МКБ в течение всего периода хранения (до 14 сут) с количеством жизнеспособных клеток, превышающим минимально необходимый порог в 10^7 КОЕ/г для пробиотической функциональности.

Для объективного выбора наиболее перспективных пробиотических штаммов для дальнейшей работы был проведен расчет кумулятивного показателя (таблица 23). Наивысший суммарный балл через 14 сут хранения получили образцы, которые были сквашены штаммами AG9 и AG10; кроме того, одинаковый балл получили образцы с AG8 и AG16. Штаммы AG10 и AG9 выделяются способностью создавать стабильные, высококачественный молочные сгусток с отличной текстурой, функциональными преимуществами и увеличенным сроком хранения. Однако ранее показано, что по расчету кумулятивных пробиотических свойств штамм AG8 превосходит AG16 (см. таблицу 10).

Принимая во внимание как пробиотические свойства штаммов, так и технологические перспективы использования новых штаммов, для дальнейшей работы были выбраны штаммы AG10, AG9 и AG8.

Сочетание кислотообразующей способности, стабильности, антимикробных свойств и высокой жизнеспособности делает эти штаммы МКБ перспективными кандидатами для использования в молочной промышленности, особенно для разработки продуктов с добавленной функциональностью и стоимостью, направленных на улучшение метаболического здоровья, здоровья кишечника и общего самочувствия. Для подтверждения функциональных свойств проведен блок исследований *in vivo* на моногастричных животных, в частности, молодых крысах линии Вистар.

Таблица 23 – Расчет кумулятивного показателя качества сквашенного обезжиренного молока (для сравнения использовали показатели образца, сквашенного *L. bulgaricus*)

Группа свойств	Показатель	Коэффициент весомости	Условие	AG1	AG8	AG9	AG10	AG15	AG16
Химические	Белки, %	0,4	Больше, чем у <i>L. bulgaricus</i> , – 1 балл	1	1	1	1	0	0
	Белки в сыворотке, %		Больше, чем у <i>L. bulgaricus</i> , – 1 балл	0	0	0	0	0	0
	Лактоза, %		Меньше, чем у <i>L. bulgaricus</i> , – 1 балл	0	1	1	1	1	1
	Глюкоза, ммол/л		Меньше, чем у <i>L. bulgaricus</i> , – 1 балл	1	1	1	1	1	1
	Соли, %		Больше, чем у <i>L. bulgaricus</i> , – 1 балл	0	0	0	1	0	0
	Плотность, кг/м		Больше, чем у <i>L. bulgaricus</i> , – 1 балл	1	0	1	0	1	0
	Сухие вещества, %		Больше, чем у <i>L. bulgaricus</i> , – 1 балл	1	0	0	0	0	0
	Жир, %		Меньше, чем у <i>L. bulgaricus</i> , – 1 балл	1	1	1	1	1	1
Структурно-механические, текстурные	Синерезис, %	0,4	Меньше, чем у <i>L. bulgaricus</i> , – 1 балл	1	1	1	1	0	1
	ВУС, %		Больше, чем у <i>L. bulgaricus</i> , – 1 балл	0	0	1	1	0	1
	Вязкость, мПа/с		Больше, чем у <i>L. bulgaricus</i> , – 1 балл	1	1	1	1	0	1
	Твердость		Больше, чем у <i>L. bulgaricus</i> , – 1 балл	0	1	1	1	–1	1
	Эластичность		Больше, чем у <i>L. bulgaricus</i> , – 1 балл	0	1	1	1	0	1
	Упругость		Больше, чем у <i>L. bulgaricus</i> , – 1 балл	1	1	1	1	–1	1
Антиоксидантные	ВА	0,1	Больше, чем у <i>L. bulgaricus</i> , – 1 балл	1	1	1	1	1	1
	РСА, %		Больше, чем у <i>L. bulgaricus</i> , – 1 балл	1	1	1	1	1	1
Количество ЭПС	ЭПС, мг/мл	0,1	Больше, чем у <i>L. bulgaricus</i> , – 1 балл	1	1	1	1	1	1
Итого				3,5	3,9	4,7	4,7	1,1	3,9

4.4 Оценка функционально-пробиотического потенциала кисломолочных напитков, ферментированных лактобациллами из силоса, в условиях *in vivo*

Дизайн исследования описан в главе 2. Изучалось влияние ферментированного обезжиренного молока, приготовленного с использованием новых штаммов, на функциональные показатели, метаболизм, иммунную систему и состав микробиома кишечника крыс Вистар в контролируемых условиях.

По результатам проведенного исследования качества ферментированного молока (структурные, химические и антиоксидантные показатели) для тестирования были отобраны варианты штаммов *L. plantarum* AG9, *L. plantarum* AG10 и *L. fermentum* AG8, а также *L. bulgaricus*. В рацион питания крыс линии Вистар вводили молоко, сквашенное соответствующими лактобактериями. Ежедневно животные получали по 2 мл кисломолочного продукта. По истечении шести недель проводили эвтаназию углекислым газом и вскрытие животных, отбор образцов крови и кала.

Продуктивные показатели животных. Проведенное вскрытие и визуальный осмотр внутреннего содержимого брюшной полости животных показали отсутствие видимых патологий или изменений внутренних органов по сравнению с контролем. Все молодые животные в экспериментальных группах показали большую прибавку веса, животные отличались хорошим аппетитом, о чем свидетельствует масса съеденного корма. Эффективность усвоения корма в группе с AG10 была выше, чем в контроле. Отношение массы почек и печени к массе животных статистически значимо не отличалось во всех группах и было в пределах стандартного отклонения. Проведено взвешивание и расчет индекса печени, почек и селезенки (таблица 24).

Обращает на себя внимание реакция селезенки на введение в рацион молока, сквашенного болгарской палочкой или AG10, увеличение индекса селезенки может свидетельствовать о стимулировании иммунного ответа у животных.

Таблица 24 – Абсолютная прибавка веса молодых крыс, масса съеденного корма и эффективность потребления кормов, индексы органов

Показатель	Группа животных				
	NR	NR + LB	NR + AG8	NR + AG9	NR + AG10
Абсолютная прибавка веса, г/животное	123,3 ± 10,2	185,5 ± 26,2	187,8 ± 33,3	167,1 ± 10,8	138,0 ± 21,4
Масса съеденного корма, г (на 5 животных)	5 252	5 592	5 830	6 002	6 095
Эффективность усвоения кормов, % (на 5 животных)	4 261	3 015	3 105	3 298	4 418
Индексы органов, %					
Печень	5,92 ± 0,54	5,10 ± 1,01	5,40 ± 1,15	5,62 ± 0,52	5,772 ± 0,764
Почки	0,82 ± 0,08	0,82 ± 0,16	0,90 ± 0,16	0,90 ± 0,05	0,81 ± 0,09
Селезенка	0,46 ± 0,11	0,49 ± 0,10	0,47 ± 0,08	0,42 ± 0,08	0,50 ± 0,06

На организменном уровне не выявлено отрицательных реакций на введение в рацион животных сквашенного молока с разными тестируемыми штаммами МКБ.

Гематологические показатели. Для оценки функционального состояния животных был проведен общий анализ крови с лейкоцитарной формулой (таблица 25). Впервые проведенный анализ крови крыс при потреблении ими молока, сквашенного изучаемыми штаммами *Lactobacilli*, показал, что при нормальном рационе питания не происходило достоверного увеличения количества лейкоцитов.

Однако, наметилась тенденция к увеличению количества лейкоцитов в вариантах с *L. bulgaricus* и AG8, не превышающих пределов нормы (норма для крыс $6-19 \cdot 10^9/\text{л}$), что говорит о стимулировании иммунного статуса у данных животных. В варианте с потреблением молока, сквашенного AG10, наблюдали снижение доли лимфоцитов с повышением доли гранулоцитов и суммы нейтрофилов, моноцитов, эозинофилов, базофилов (MID). Подобное повышение в пределах нормы может указывать на стимулирование функции иммунного ответа. Выявленная тенденция согласуется с увеличением процентного содержания селезенки у животных этой группы. Умеренный нейтрофилез в пределах нормы указывает не только на патогенные процессы, но и отражает некоторые физиологические состояния, он может быть спровоцирован обильным приемом пищи.

Таблица 25 – Гематологические показатели крови крыс через 42 дня кормления в эксперименте с введением в сбалансированный рацион обезжиренного сквашенного молока

Показатель	NR	NR+LB	NR+AG8	NR+AG9	NR+AG10
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	$7,77 \pm 2,02$	$11,3 \pm 5,53$	$9,85 \pm 3,89$	$5,68 \pm 4,77$	$8,64 \pm 4,9$
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 (MID), $10^9/\text{л}$	$0,34 \pm 0,33$	$0,94 \pm 0,78$	$0,94 \pm 0,4$	$0,34 \pm 0,32$	$1,02 \pm 0,69$
Гранулоциты, $10^9/\text{л}$	$1,26 \pm 0,62$	$2,45 \pm 1,15$	$2,99 \pm 0,8$	$1,63 \pm 0,97$	$2,05 \pm 0,84$
Лимфоциты, %	$77,93 \pm 5,90$	$70,00 \pm 9,22$	$73,18 \pm 5,93$	$72,08 \pm 6,29$	$50,33 \pm 30,11^*$
Сумма нейтрофилов, моноцитов, эозинофилов, базофилов (MID), %	$3,93 \pm 3,74$	$8,30 \pm 4,47$	$5,92 \pm 4,12$	$5,9 \pm 4,08$	$12,65 \pm 0,68$
Гранулоциты, %	$17,84 \pm 5,25$	$21,70 \pm 5,76$	$21,42 \pm 4,58$	$22 \pm 4,33$	$37 \pm 29,77$
Эритроциты, $10^{12}/\text{л}$	$8,87 \pm 2,08$	$7,63 \pm 1,87$	$7,98 \pm 2,48$	$8,8 \pm 1,58$	$8,58 \pm 0,84$
Гемоглобин, г/л	110 ± 17	111 ± 27	129 ± 33	$125 \pm 19,00$	139 ± 15
Гематокрит, %	$50,85 \pm 10,81$	$41,52 \pm 11,87$	$42,27 \pm 12,88$	$49,81 \pm 6,82$	$50,03 \pm 4,4$
Средний объем эритроцитов, fl	$56,80 \pm 3,22$	$54 \pm 5,08$	$55,2 \pm 4,15$	$57,20 \pm 3,90$	$58,25 \pm 4,99$
Средняя концентрация гемоглобина в крови, pg	$13,2 \pm 1,6$	$14,5 \pm 0,5$	$15,7 \pm 1,4$	$14,22 \pm 1,0$	$16,3 \pm 1,6$
Средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах, г/л	227 ± 23	267 ± 18	284 ± 29	250 ± 9	278 ± 24
Широта распределения популяции эритроцитах, %	$18,135 \pm 1,17$	$21,6 \pm 1,15$	$18,52 \pm 1,07$	$18,82 \pm 0,88$	$19,38 \pm 0,96$
Тромбоциты, $10^9/\text{л}$	396 ± 97	499 ± 117	326 ± 133	505 ± 243	399 ± 89
Тромбокрит, %	$0,2885 \pm 0,08$	$0,31 \pm 0,05$	$0,18 \pm 0,12$	$0,42 \pm 0,21$	$0,3 \pm 0,12$
Средний объем тромбоцитов, fl	$6,775 \pm 0,64$	$6,2 \pm 0,32$	$6,6 \pm 0,58$	$6,86 \pm 0,44$	$6,68 \pm 0,21$
Широта распределения популяции тромбоцитов, %	$33,27 \pm 2,02$	$32,2 \pm 2,55$	$32,38 \pm 1,28$	$33,82 \pm 2,77$	$33,3 \pm 0,6$

Из всего спектра показателей крови (18 показателей) обращает на себя внимание достоверное увеличение уровня гемоглобина в варианте с введением продукта, сквашенного бактериями AG8, AG9, AG10 по сравнению с контролем (NR).

Биохимические показатели. Анализ биохимических показателей, ответственных за липидный обмен, показал положительное влияние сквашенного молока на метаболизм жирных кислот в организме млекопитающих. Выявлено, что регулярное потребление сквашенного молока снижает общий уровень холестерина и триглицеридов, на этом фоне монотонно снижаются значения ЛПВП и ЛПНП. Необходимо отметить, что продукт с *L. bulgaricus* и AG8 более эффективно способствуют снижению холестерина, тогда как AG10 активнее в отношении триглицеридов (рисунок 26).

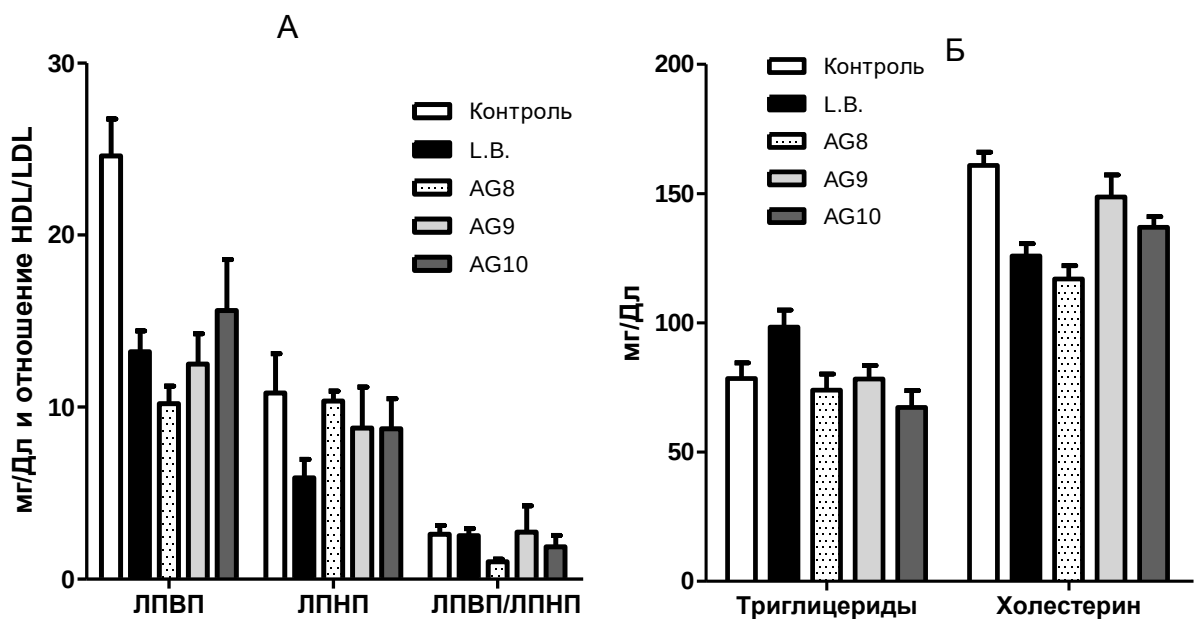


Рисунок 26 – Влияние ферментированного разными штаммами обезжиренного молока на липопротеиды высокой (HDLH) и низкой плотности (LDLH), их соотношение, общий холестерин, триглицериды

Анализ ферментативных систем, участвующих в липидном и белковом обмене, выявил снижение активности аспаратаминотрансферазы (АСТ) и аланинаминотрансферазы (АЛТ) в вариантах опыта с введением напитка на основе AG8, AG9, AG10 (рисунок 27). Был проведен расчет коэффициента Ритиса (КР) – соотношения активности сывороточных АСТ и АЛТ. Значение коэффициента в норме

составляет ($1,33 \pm 0,42$) или 0,91–1,75 для человека (для крыс нет данных); АЛТ преобладает в печени, а АСТ – в миокарде). В вариантах с AG8, AG9 и *L. bulgaricus* коэффициент Ритиса был немного выше, чем у контрольного варианта, что может свидетельствовать о стимулировании сердечной деятельности, повышении метаболических реакций.

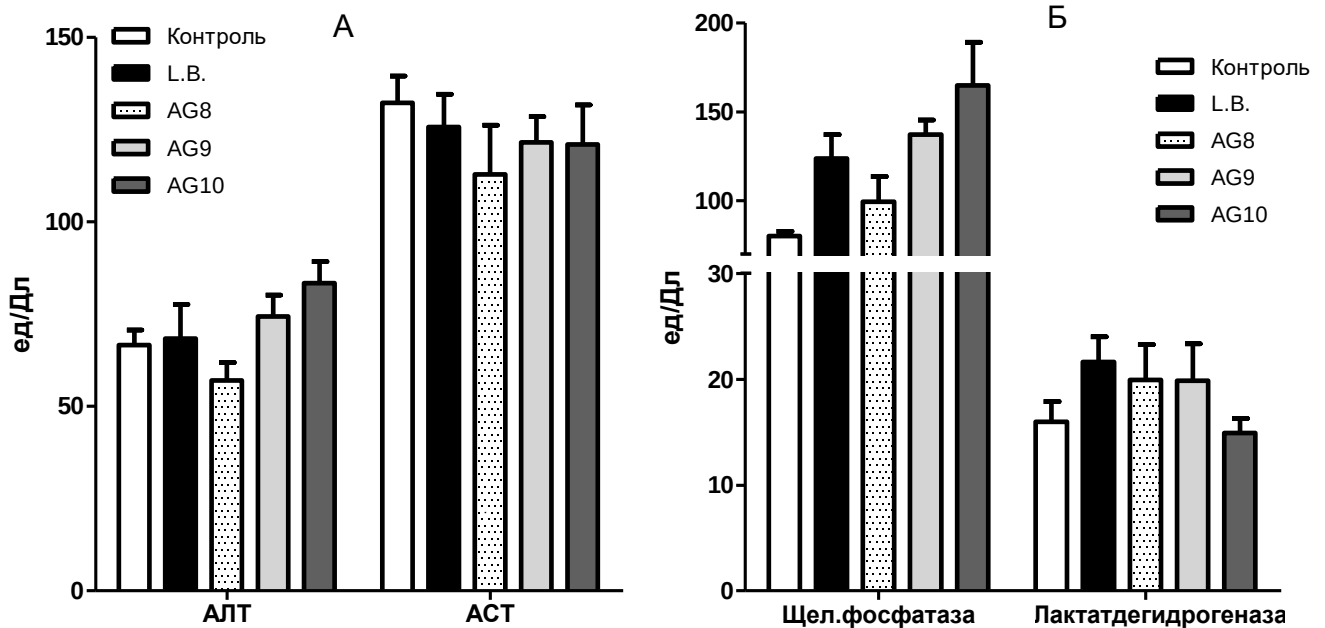


Рисунок 27 – Влияние ферментированного разными штаммами обезжиренного молока на активность ферментов сыворотке крови

Щелочная фосфатаза – фермент, который находится в клетках печени и желчевыводящих путей и является катализатором определенных биохимических реакций в этих клетках, однако необходимо помнить, что характерным отличием желчевыделительной системы крысы является отсутствие желчного пузыря, поэтому образующаяся в печени желчь не депонируется, а сразу поступает в кишечник. При разрушении именно клеток печени их содержимое попадает в кровь. В норме часть клеток обновляется, поэтому в крови обнаруживается определенная активность щелочной фосфатазы. Если гибнет много клеток, она может повышаться очень значительно. Активность щелочной фосфатазы сыворотки крови в экспериментальных группах достоверно не превышает контроль. В варианте AG8 прослеживается тенденция к уменьшению активности щелочной фосфатазы, что коррелирует с пони-

женной активностью АСТ и АЛТ, такая корреляция дает основания предполагать улучшение состояния печени и желчевыводящих путей.

На уровень белка в крови введение любого ферментированного молока не повлияло, незначительное уменьшение может свидетельствовать о более высоком метаболизме белков в организме (рисунок 28). В вариантах с болгарской палочкой, AG8 и AG10 наблюдали снижение уровня билирубина.

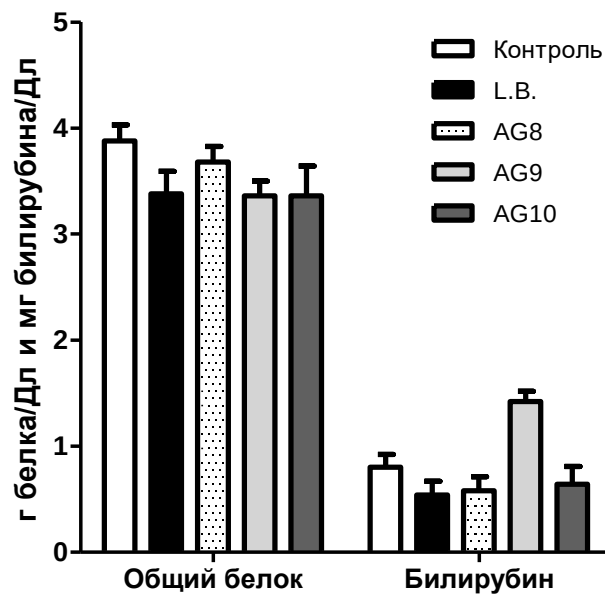


Рисунок 28 – Влияние ферментированного разными штаммами обезжиренного молока на уровень белка и билирубина в сыворотке крови

Принимая во внимание выявленное влияние сквашенного молока на метаболизм жира в организме животных, провели оценку состояния печени крыс. Выявлено статистически значимое снижение перекисного окисления и количество малонового альдегида в тканях печени крыс (рисунок 29). Это, несомненно, является положительным фактором, показывающим, что потребление сквашенного молока, полученного ферментацией пробиотическими штаммами, благотворно влияет на состояние печени, ее окисленности, снижает окислительный прессинг.

Анализ сыворотки крови крыс не показал значимых различий в уровне малонового альдегида (рисунок 30). Выявлено, что потребление сквашенного молока приводит к снижению глюкозы в крови, причем наибольшее снижение отмечено в варианте со штаммом AG9.

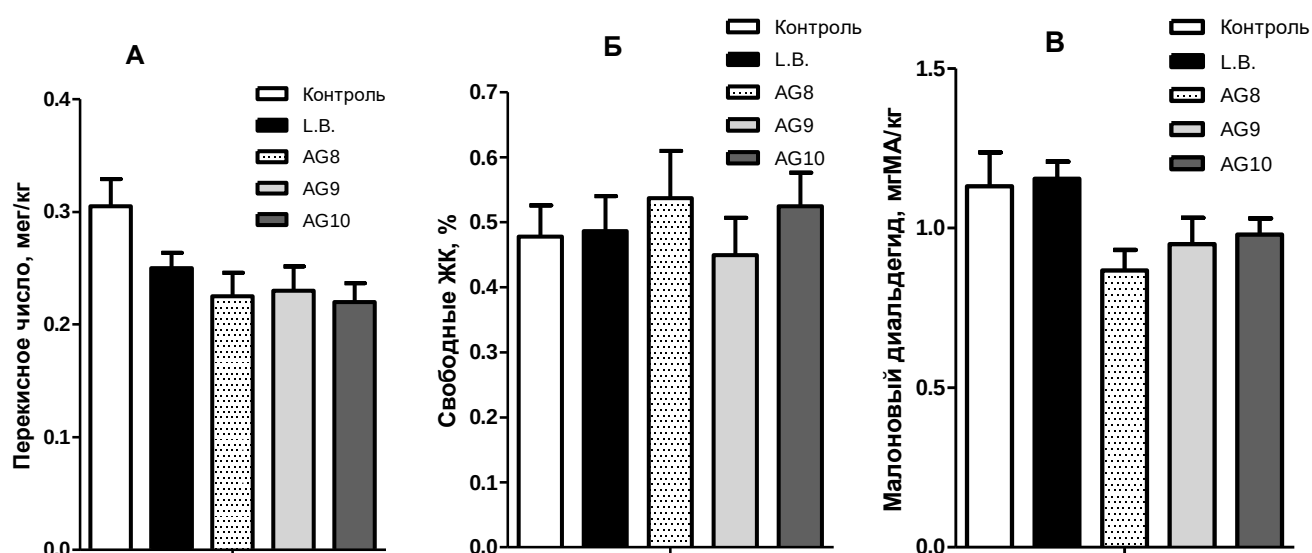


Рисунок 29 – Влияние ферментированного разными штаммами обезжиренного молока на уровень перекисного окисления (а), свободных жирных кислот (б) и тиобарбитурового числа (в) печени крыс

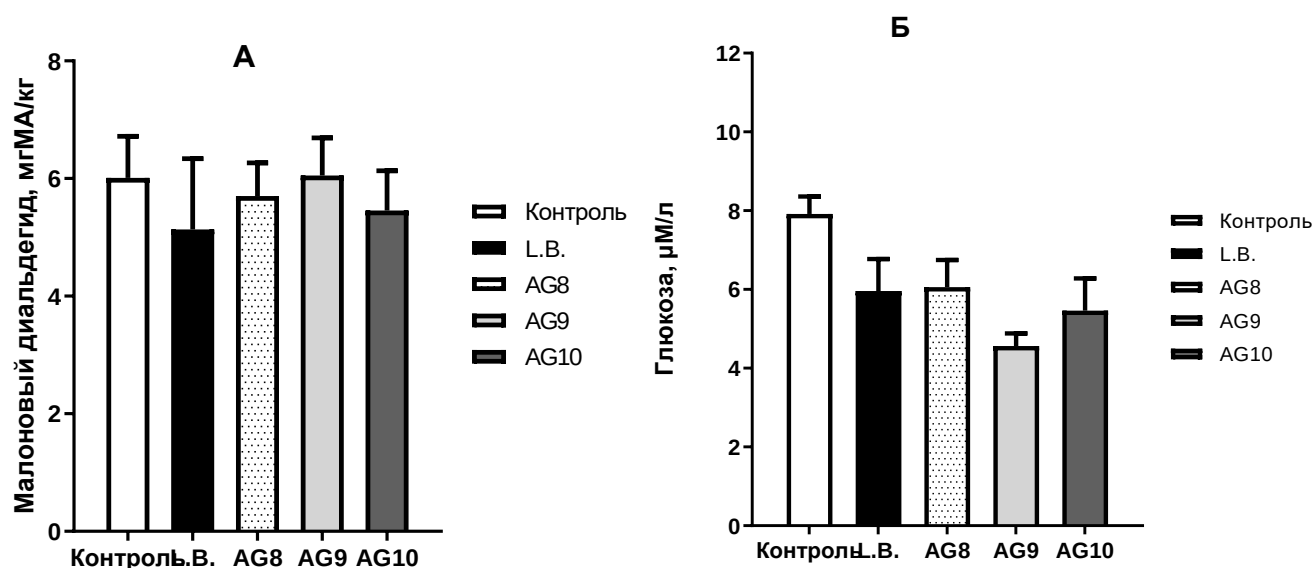


Рисунок 30 – Уровень тиобарбитурового числа (а) и концентрации глюкозы (б) в сыворотке крови крыс

Микробиологические показатели. Классическими методами микробиологии было выявлено положительное влияние сквашенного молока на микрофлору толстого кишечника. Выявлено повышение численности культивируемых МКБ (рисунок 31) во всех экспериментальных вариантах. Наиболее значимое снижение БГКП выявлено в вариантах AG8 и AG9, в этих же случаях наблюдали снижение количества дрожжей.

К сожалению, классические методы микробиологического посева не дают полноценной информации о сдвиге в микробиоме кишечника. В настоящее время все больше исследований затрагивают влияние состояния микрофлоры кишечника на здоровье человека. В частности, особое внимание уделяется тому, как влияют диета и включение тех или иных продуктов на биом кишечника [280; 281; 338].

В связи с вышесказанным были установлены взаимосвязи изменений метагенома кишечника крыс с функциональным состоянием здоровья при потреблении молока, сквашенного разными лактобациллами. Важность изучения микробиома кишечника и его взаимосвязей с липидным обменом подчеркивают многие ученые [28; 110; 279].

Анализ биома по индексам представлен на рисунке 32. Индекс используется для количественной оценки конкретного биоразнообразия. В результате оценки всех индексов α -разнообразия найдены значимые различия в таксономическом богатстве метагеномных сообществ кишечника между группами, которые получали разные образцы сквашенного молока. В частности, установлено повышение таксономического разнообразия микробиоты кишечника у крыс, получавших кисломолочный продукт, квашенный *L. bulgaricus*, *L. fermentum* AG8, *L. plantarum* AG9. В случае использования *L. plantarum* AG10 происходило увеличение разнообразия видов по сравнению с контролем.

Анализ микробиома по филумам показал уменьшение процентного содержания *Firmicutes* в вариантах *L. bulgaricus*, *L. fermentum* AG8 с увеличением доли *Bacteroides* (рисунок 33).

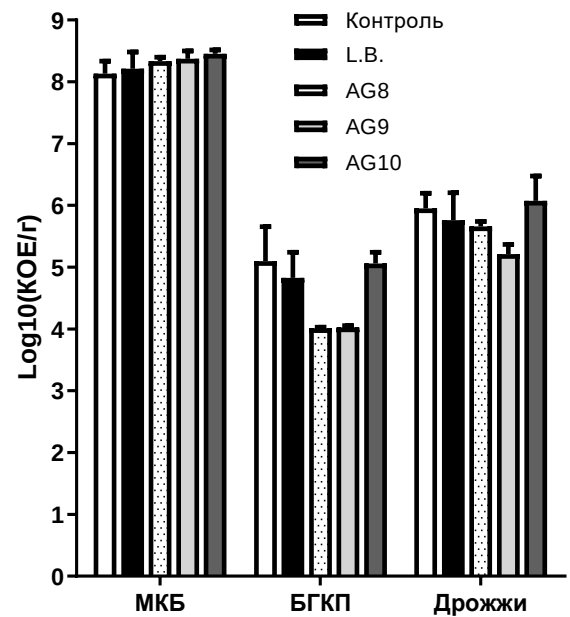


Рисунок 31 – Влияние ферментированного разными штаммами обезжиренного молока на численность некоторых групп микроорганизмов

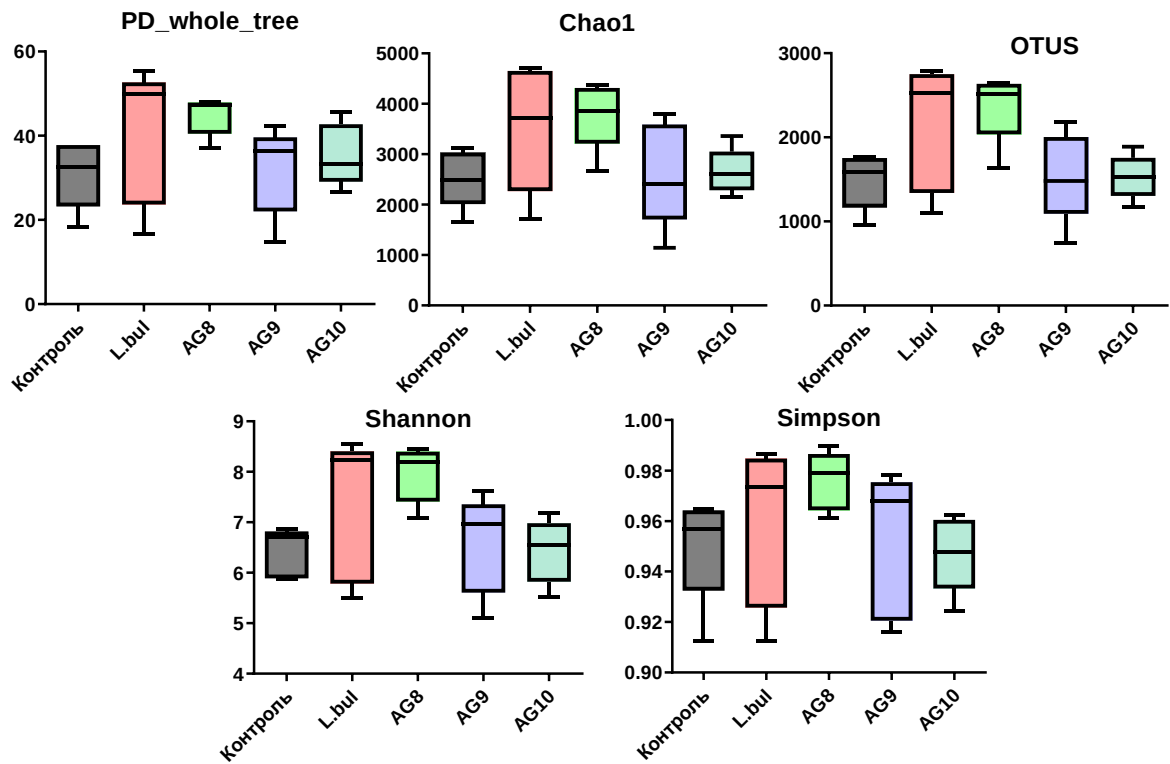
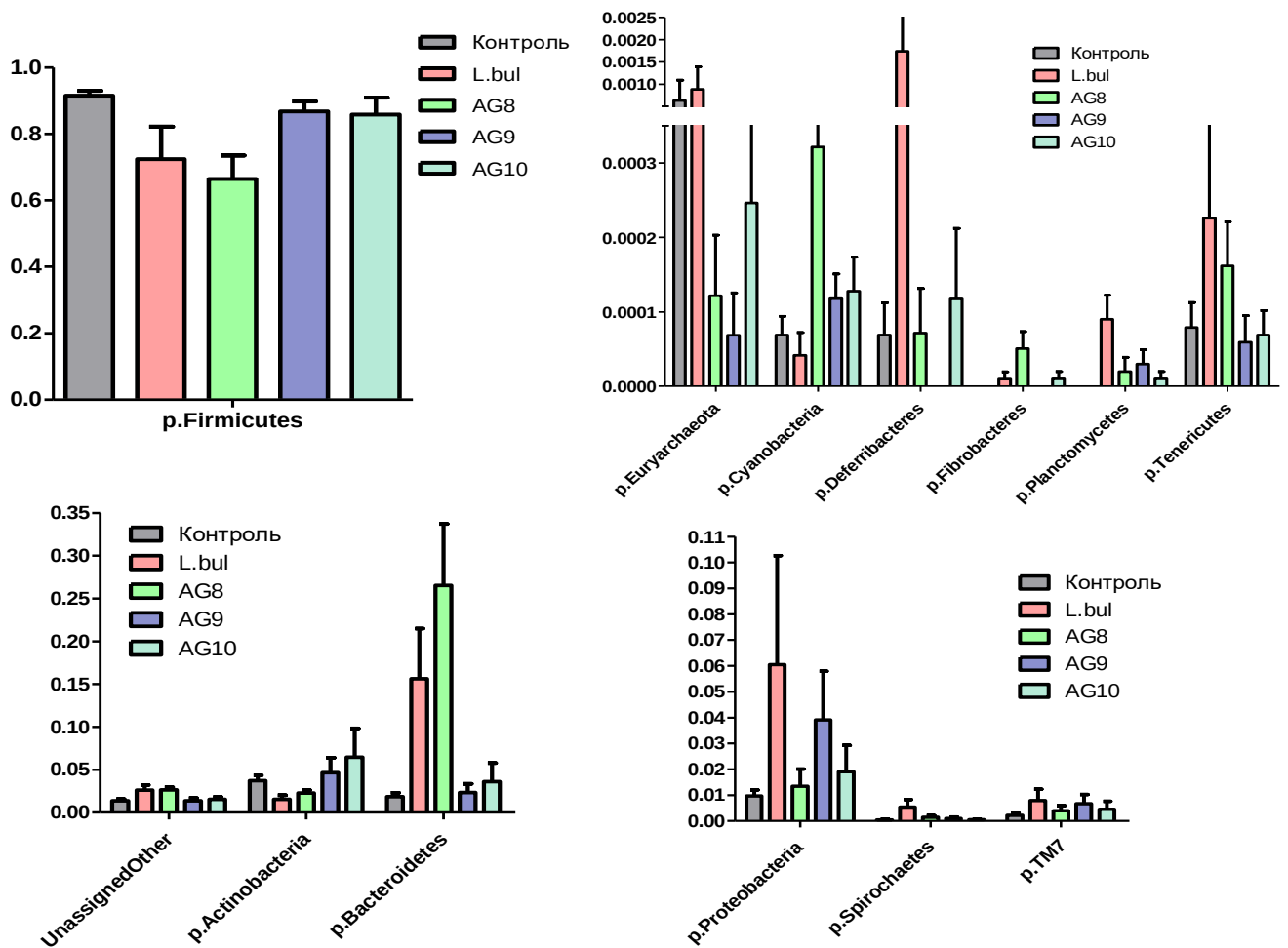
Рисунок 32 – Индексы оценки α -разнообразия микробиоты кишечника крыс

Рисунок 33 – Состав микробиома кишечника на уровне филумов

Более глубокий анализ статистически достоверных изменений в биоме кишечника крыс показал, что в случае потребления молока, сквашенного болгарской палочкой или AG10, достоверно снижалось содержание бактерий родов *Corynebacterium*, *Rothia*, *Bifidobacterium*, неопределенных *Bacillus*, семейства *Planococcaceae*, *Jeotgallicoccus*, *Staphylococcus*. Потребление напитка с *L. bulgaricus* повышало присутствие *Turicibacter*, семейства *Veillonellaceae*, *Catenibacterium*, *Desulfovibrio* (рисунок 34). В случае использования штамма AG10 снижался уровень *Turicibacter*.

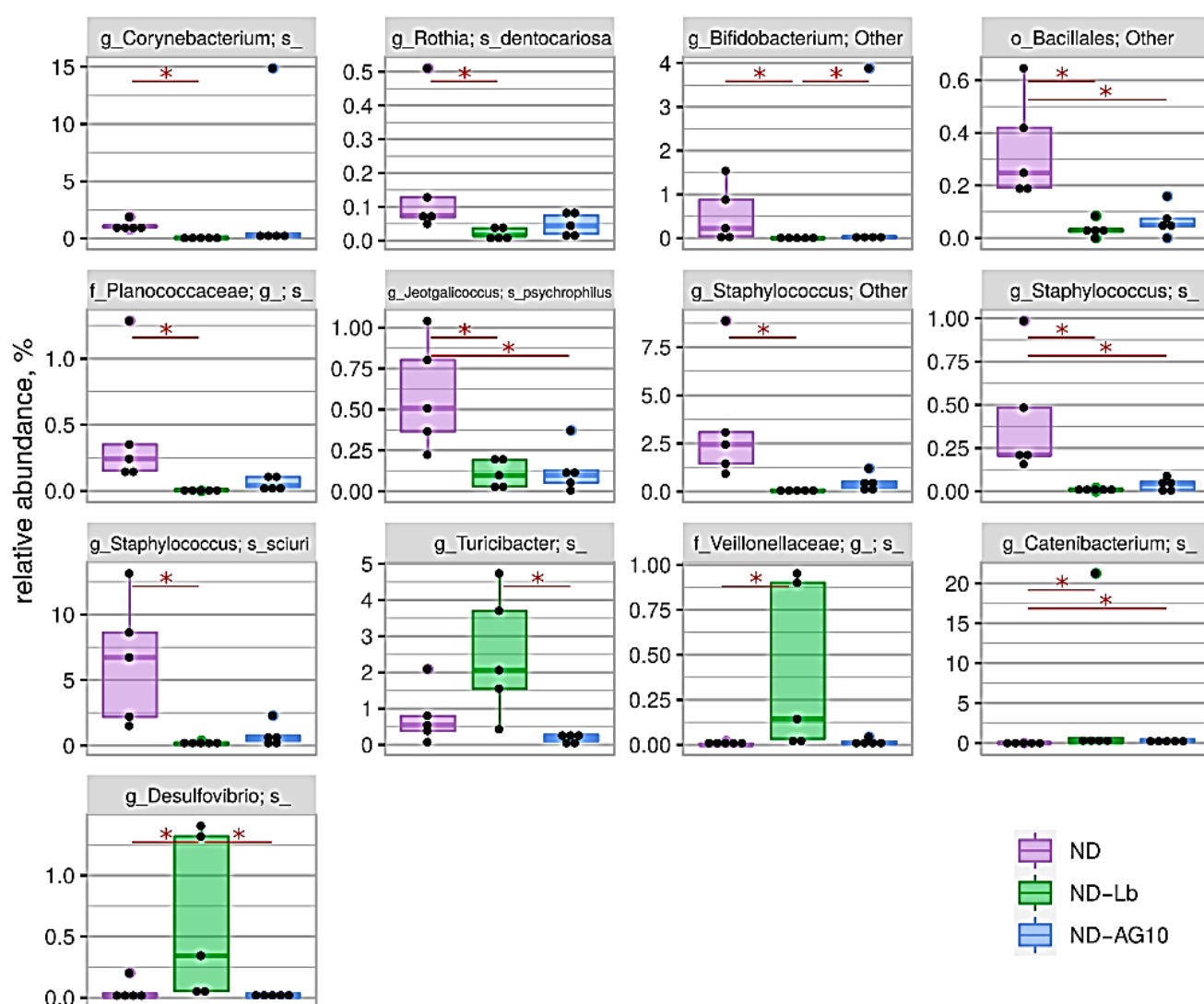


Рисунок 34 – Статистически значимые изменения в содержании бактерий различных родов и семейств в биоме кишечника крыс при потреблении кисломолочного продукта, сквашенного *L. bulgaricus* или *L. plantarum* AG10

Хотя видовое разнообразие биома кишечника повысилось при потреблении напитка, сквашенного *L. plantarum* AG9, статистически значимые различия на уровне родов и семейств были незначительными. Выявлено снижение уровня *Actinomyces*, *Staphylococcus*, *Allobaculum*, а также семейств *Planococcaceae* и *Enterobacteriaceae* (рисунок 35).

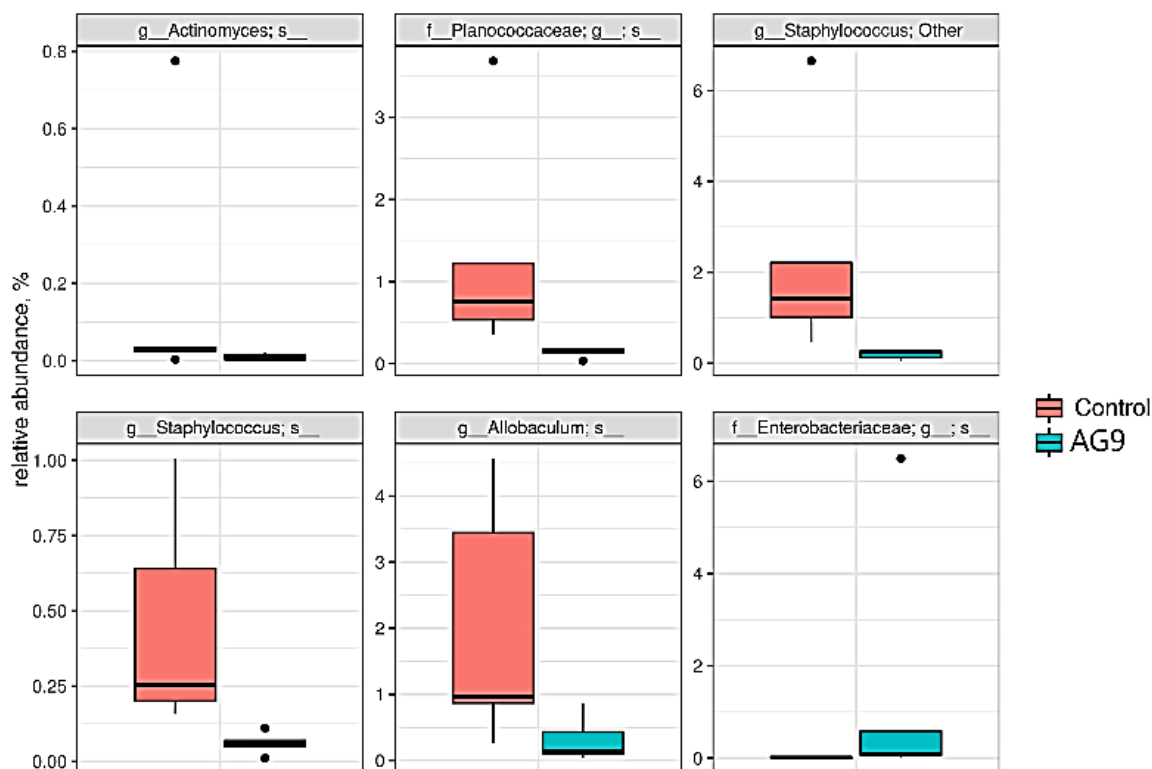


Рисунок 35 – Статистически значимые изменения в содержании бактерий различных родов и семейств в биоме кишечника крыс при потреблении кисломолочного продукта, сквашенного *L. plantarum* AG9

Наибольшее количество статистически значимых изменений выявлено в группе с *L. fermentum* AG8 (рисунок 36). Выявлено снижение таких групп бактерий, как *Corynebacterium*, *Rothia*, *Bifidobacterium*, *Jeotgallcoccus*, *Staphylococcus*, *Turicibacter*, сем. *Peptostreptococcaceae*, *Planococcaceae* и *Clostridiaceae*. Потребление напитка с *L. fermentum* AG8 в биоме кишечника повышало численность 14 групп бактерий: *Bacteroidales*, *Parabacteroides*, *Prevotella*, *Paraprevotella*, *Blautia*, *Lachnospiraceae*, *Coprococcus*, *Dorea*, *Peptococcus*, *Ruminococcus*, *Ruminococcaceae*, *Faecalibacterium*, *Oscillospira*, *Catenibacterium*. *Ruminococcaceae*

и *Lachnospiraceae* являются бутират-продуцирующими бактериями и обладают противовоспалительными свойствами [294].

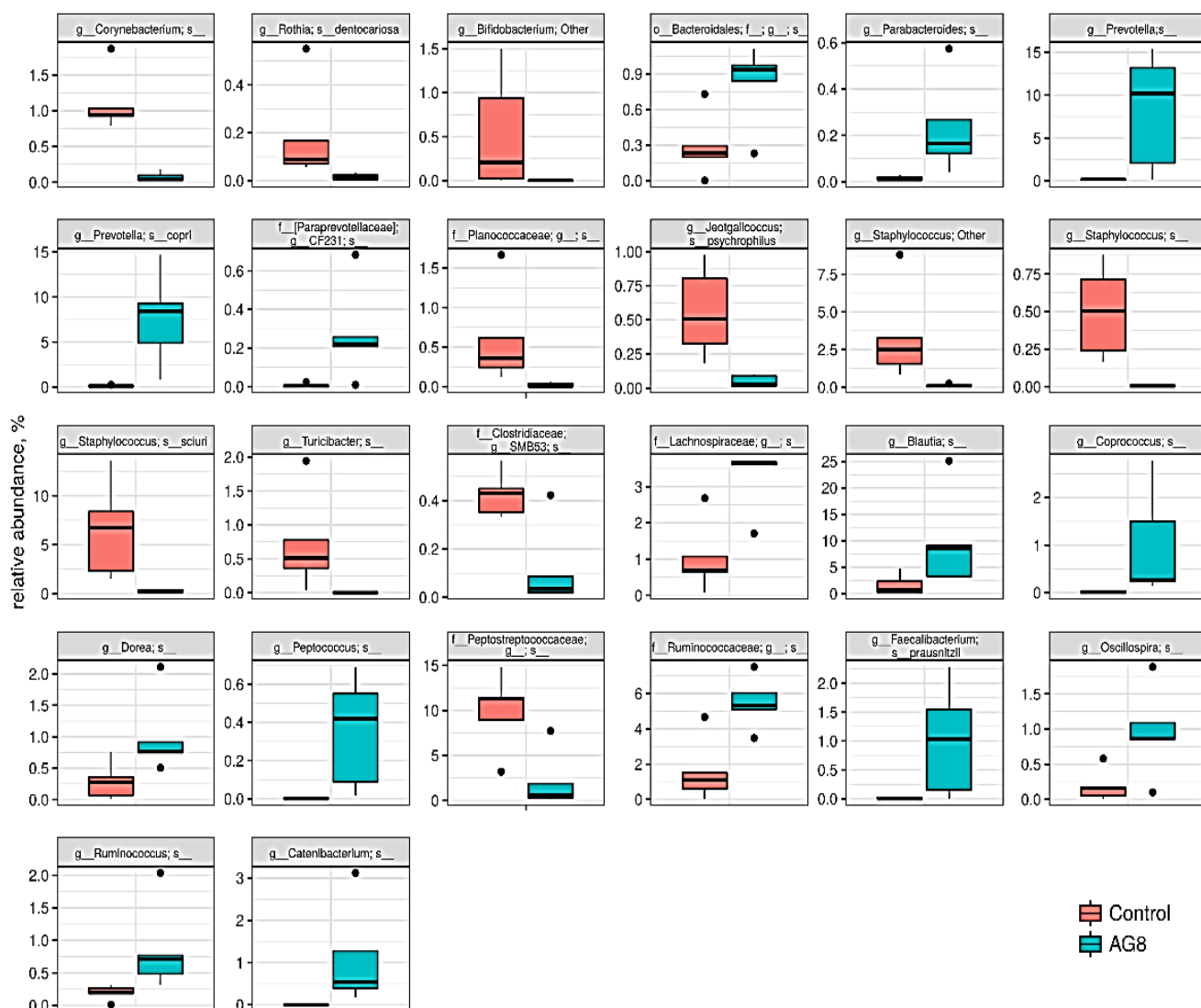


Рисунок 36 – Статистически значимые изменения в содержании бактерий различных родов и семейств в биоме кишечника крыс при потреблении кисломолочного продукта, сквашенного *L. fermentum* AG8

Общим во всех группах было снижение количества *Staphylococcus*, что свидетельствует о антимикробных свойствах выбранных молочнокислых бактерий, что выявлено нами на этапе скрининга и описано в работах [208].

Анализ корреляции между изменениями биомы кишечника и физиолого-биохимическими показателями состояния здоровья животных выявил несколько зави-

симостей. Увеличение уровня видов *Rothia* положительно коррелирует с уровнем лимфоцитов, а также других кровяных телец (рисунок 37).

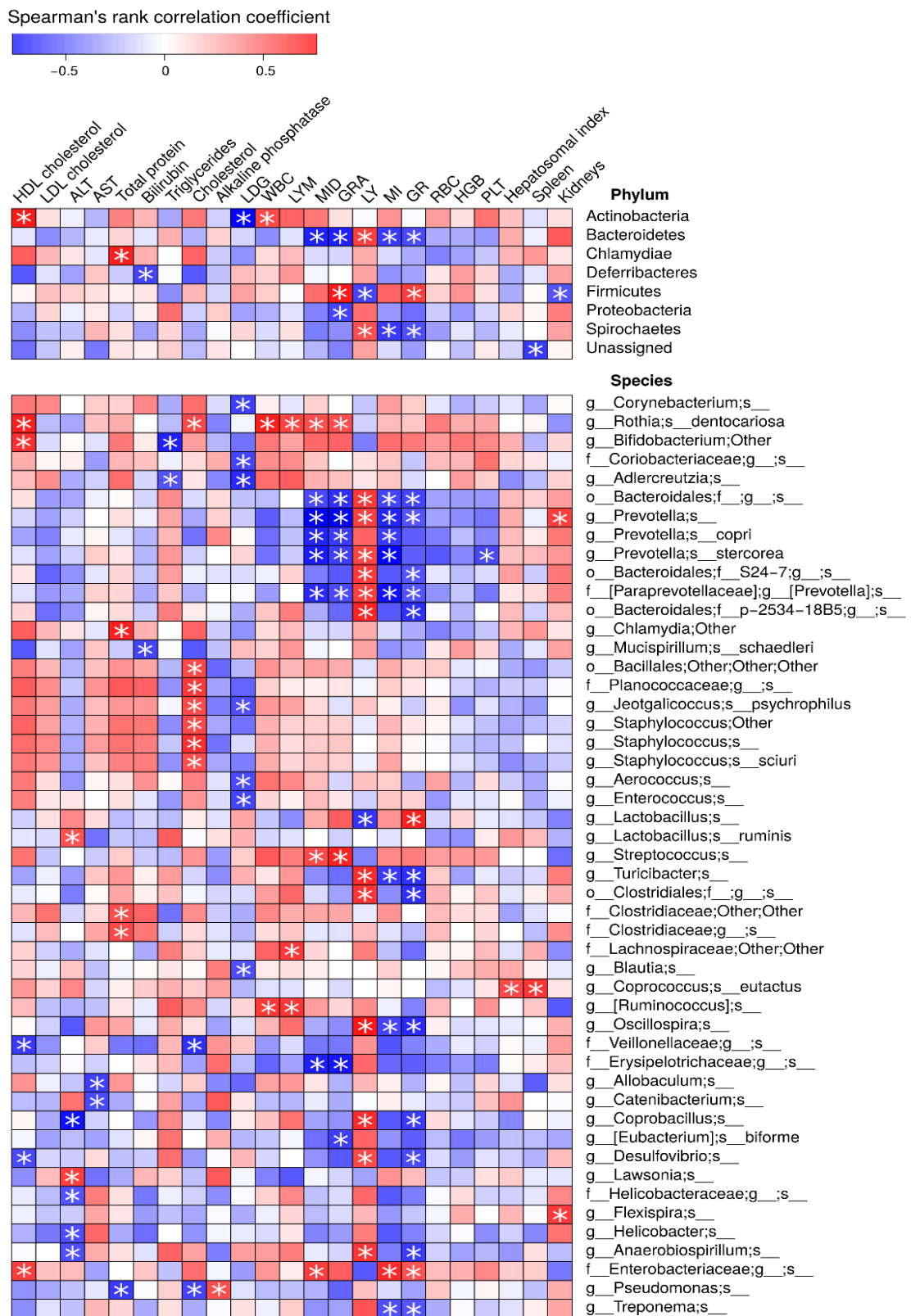


Рисунок 37 – Тепловая карта корреляционных зависимостей между составом биота кишечника крыс и физиолого-биохимическими показателями животных

На уровень лимфоцитов также влияют *Lachnospiraceae* и *Ruminococcus*. Ранее было выявлено, что пробиотик в составе коровьего сыра улучшает микробиоту кишечника, что выражается в увеличении относительной численности порядка *Clostridiales*, семейства *Ruminococcaceae* и *Lachnospiraceae* [111]. Ранее было показано, что эти бактерии производят бутират [127; 160; 254]. Будучи одной из основных короткоцепочечных летучих кислот, бутират связан с защитными эффектами против метаболических расстройств и ожирения [110, 279]. На количество ЛПВП влияют с положительной корреляцией *Rothia*, *Bifidobacterium* и *Enterobacteriaceae*, а группы *Veillonellaceae* и *Desulfovibrio*. Кроме того, на уровень холестерина влияют бактерии *Staphylococcus*, снижение их количества коррелирует со снижением общего холестерина. Возможно, снижение воспалительного прессинга положительно повлияло на метаболические реакции.

О роли бактерий *Erysipelotrichaceae* в жировом обмене и иммуномодуляции организма говорилось ранее, однако их роль не однозначна [252]: ряд видов могут играть положительную роль, другие – отрицательную. В нашем случае обнаружена отрицательная корреляция между *Erysipelotrichaceae*, уровнем гранулоцитов и суммой остальных кровяных телец. Можно говорить, что увеличение доли *Erysipelotrichaceae* снижает напряженность иммунной системы, снижая долю гранулоцитов и сумму нейтрофилов, моноцитов, эозинофилов, базофилов (MID). Несомненно, *Prevotella*, *Bacteroidales* оказывают влияние на иммунную систему бактерии, выявлена их отрицательная корреляция с уровнем и долей гранулоцитов и суммой нейтрофилов, моноцитов, эозинофилов, базофилов. Повышение уровня *Bacteroidales* является неблагоприятным изменением в геноме кишечника, особенно за счет снижения уровня *Firmicutes*. Выявленное повышение доли *Bacteroidales* в варианте с напитком *L. bulgaricus* и AG8 делает эти варианты напитка спорным для дальнейшей работы в качестве пробиотического напитка в условиях нормальной диеты.

Подводя итог изложенному в параграфе 4.4, отметим следующее. С точки зрения общих показателей здоровья молодых крыс выявлено, что во всех экспериментальных группах был более высокий прирост веса и эффективность конверсии

корма по сравнению с контрольной группой. Животные, потреблявшие продукт с AG10, наиболее эффективно усваивали питательные вещества, что свидетельствует об усилении метаболической активности, опосредованной этим штаммом. Показатели органов (печень, почки, селезенка) оставались в пределах нормы во всех группах. Примечательно, что в группах AG10 и *L. bulgaricus* наблюдалось небольшое увеличение индекса селезенки, что, возможно, отражает активацию иммунной системы. Эти результаты подтвердили отсутствие негативных эффектов от употребления ферментированных продуктов.

По гематологическим показателям не выявлено отклонений ни в одной из экспериментальных групп. Употребление ферментированного AG10 молока было связано с повышением уровня гранулоцитов и увеличением доли нейтрофилов, моноцитов и эозинофилов в пределах нормы, что указывает на стимуляцию иммунной системы. Уровень гемоглобина был выше в группах, потреблявших продукты AG8, AG9 и AG10, по сравнению с контрольной группой, что свидетельствует об улучшении способности переносить кислород и общей пользе для здоровья.

Анализ биохимических и метаболических маркеров показал, что употребление ферментированных продуктов улучшило липидный профиль за счет снижения уровня холестерина и триглицеридов, при этом AG8 показал наиболее выраженный эффект по снижению уровня холестерина, а AG10 эффективно снизил уровень триглицеридов. Это свидетельствует о специфическом влиянии штаммов на липидный обмен.

С точки зрения состава и разнообразия микробиоты кишечника во всех экспериментальных группах наблюдалось снижение уровня вредных бактерий, таких как кишечная палочка и стафилококк. Продукты AG8 и AG10 были особенно эффективны в стимулировании роста полезных бутират-продуцирующих таксонов, включая *Lachnospiraceae* и *Ruminococcaceae*. Увеличение в микробиоме кишечника этих же групп положительно коррелировало с гематологическими и метаболическими показателями здоровья.

Альфа-анализ разнообразия выявил значительное увеличение микробного богатства и разнообразия в группах AG9 и AG10. Увеличение видового разнообра-

зия ассоциируется с более здоровой средой кишечника и повышением устойчивости к дисбактериозу. Выявлены таксономические сдвиги: в особенности употребление ферментированного молока AG8 ассоциировано с повышением уровня бутират-продуцирующих бактерий и снижением количества патогенных или провоспалительных таксонов, таких как *Staphylococcus* и *Corynebacterium*. AG10 улучшил микробное богатство, сохранив сбалансированный состав с пониженным уровнем потенциально опасных таксонов, таких как *Turicibacter*. Таким образом, AG8 значительно увеличил количество таксонов, продуцирующих бутират, в то время как AG10 улучшил общее микробное разнообразие и богатство. Употребление AG8 и AG9 уменьшило количество *Bacteroidales*, связанных с неблагоприятными изменениями в кишечнике, и увеличило количество *Firmicutes*, важных для поддержания гомеостаза кишечника. Такая тенденция обогащения в группах AG8 и AG10 свидетельствует о вкладе этих штаммов в системное улучшение функционального состояния млекопитающих.

Выявлены взаимосвязи антиоксидантного потенциала продуктов на основе используемых штаммов и маркерами окислительного стресса. Продукты, ферментированные AG8 и AG9, значительно снизили маркеры окислительного стресса, включая уровень малонового диальдегида в тканях печени. Это указывает на снижение перекисного окисления липидов и окислительного повреждения, что способствует укреплению здоровья печени. Продукты также продемонстрировали гепатопротекторное действие, снизив маркеры повреждения печени, такие как активность АЛТ и АСТ, особенно в группе AG8. Этот штамм, по-видимому, улучшает функцию печени и снижает метаболическую нагрузку на гепатоциты. Кроме того, потребление продуктов AG9 и AG10 было связано со снижением уровня глюкозы в крови, что подчеркивает их потенциал в регулировании метаболического здоровья. Этот эффект может быть обусловлен улучшением состава микробиоты кишечника, снижением окислительного стресса и улучшением метаболической регуляции. Особенно хочется подчеркнуть, что AG10 оказывал выраженное влияние на метаболизм триглицеридов, что еще больше подчеркивает его пригодность для борьбы с дислипидемией и сопутствующими метаболическими нарушениями.

Таким образом, продемонстрирован промышленный потенциал штаммов МКБ AG8, AG9 и AG10 в разработке функциональных молочных продуктов, направленных на улучшение метаболического здоровья, баланса микробиоты кишечника и иммунной модуляции. Новые штаммы способствуют развитию полезных микробных таксонов, усиливают антиоксидантную защиту, а также регулирует метаболизм липидов и глюкозы.

Эффекты, выявленные на стадии работ *in vivo*, показывают, что матрикс кисломолочного геля может быть удобным способом транзита биологически активного агента в макроорганизм, в том числе человека. Возможно, сочетание разных штаммов в одном кисломолочном напитке будет более эффективно влиять на функциональные показатели млекопитающих, что даст возможность сделать напиток для целевого использования в целях профилактики развития или снижения метаболических синдромов.

Бактерии, выделенные нами из природных источников Республики Татарстан, имеют пробиотические свойства, проявляющиеся в условиях *in vitro*, показали себя способными улучшать функциональное состояние организма млекопитающих в модельной системе с крысами *in vivo*. Таким образом, получены объективные данные о положительной роли обезжиренного кисломолочного продукта в формировании положительных изменений функциональном состоянии млекопитающих, способности влиять на липидный обмен, иммунный статус, выявлена антиоксидантная защита. Сочетание этих штаммов МКБ в отдельных рецептурах может синергически усилить их действие, создавая целевые функциональные продукты питания, приносящие определенную пользу здоровью. В совокупности вышесказанное подчеркивает универсальность выделенных штаммов и возможность их использования в функциональных молочных продуктах.

4.5 Обоснование использования новых штаммов молочнокислых бактерий с пробиотическими свойствами в технологии обезжиренных йогуртов в качестве пробиотической сокультуры

Ранее нами показано, что пробиотические штаммы собственной селекции отстают по кислотообразованию от промышленного штамма болгарской палочки. Поэтому не удивительно, что внесение 25 % от общей закваски новых штаммов МКБ не привело к существенному сдвигу показателей титруемой кислотности (рисунок 38). Ведущую роль в кислотообразовании и сквашивании йогуртов играют термофильный стрептококк и болгарская палочка.

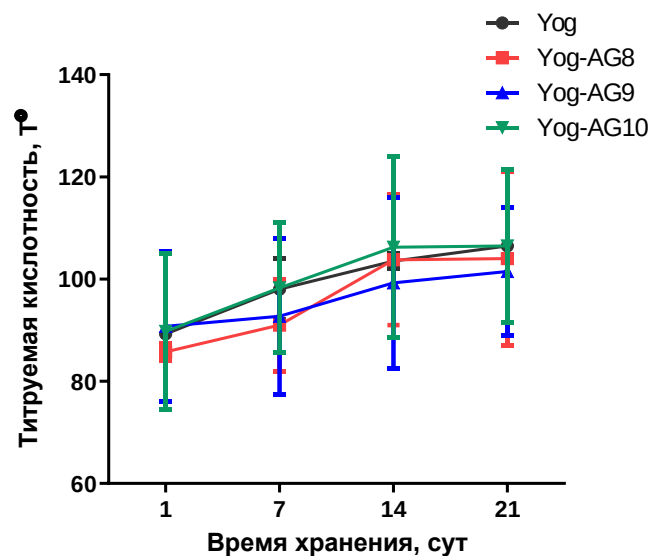


Рисунок 38 – Влияние незаквасочных штаммов на титруемую кислотность йогуртов в процессе хранения

В связи с этим статистически значимой разницы между вариантами с варьированием пробиотического штамма не было выявлено. Значимо с точки зрения технологии, что не выявлено ингибирования кислотообразования и антагонизма по отношению к промышленным штаммам МКБ.

В таблице 26 отражены результаты анализа химического состава обезжиренных йогуртов, изготовленных с различными пробиотическими лактобактериями.

Таблица 26 – Изменение химических параметров йогуртов в процессе хранения в зависимости от вносимой пробиотической культуры бактерий

Штамм	Время хранения, сут	Общий белок, %	Белок в сыворотке, %	Углеводы, %	Глюкоза, ммоль/л	Соли, %	Плотность, кг/м ³	Сухие вещества, %
Йогурт	1	3,92 ± 0,19	3,29 ± 0,20	4,86 ± 0,25	1,3 ± 0,1	0,77 ± 0,04	1036,7 ± 1,1	9,55 ± 0,44
	7	3,91 ± 0,10	2,99 ± 0,20	4,41 ± 0,15	1,1 ± 0,1	0,70 ± 0,04	1036,2 ± 1,2	9,02 ± 0,25
	14	3,88 ± 0,14	3,01 ± 0,11	4,38 ± 0,13	0,9 ± 0,0	0,73 ± 0,02	1036,6 ± 1,1	8,99 ± 0,27
	21	3,88 ± 0,21	2,94 ± 0,12	4,34 ± 0,14	0,9 ± 0,1	0,69 ± 0,01	1035,1 ± 1,9	8,91 ± 0,35
Йогурт + AG8	1	3,99 ± 0,14	3,24 ± 0,09	4,78 ± 0,14	1,1 ± 0,1	0,75 ± 0,02	1036,6 ± 0,8	9,52 ± 0,28
	7	3,88 ± 0,20	3,02 ± 0,08	4,46 ± 0,20	1,1 ± 0,1	0,70 ± 0,02	1036,4 ± 0,6	9,04 ± 0,28
	14	3,91 ± 0,20	3,07 ± 0,06	4,44 ± 0,17	0,7 ± 0,0	0,76 ± 0,02	1035,3 ± 0,8	9,11 ± 0,27
	21	3,90 ± 0,20	3,00 ± 0,10	4,43 ± 0,09	0,9 ± 0,0	0,70 ± 0,01	1035,2 ± 0,6	9,03 ± 0,29
Йогурт + AG9	1	3,89 ± 0,04	3,21 ± 0,12	4,74 ± 0,14	1,2 ± 0,1	0,75 ± 0,03	1035,4 ± 0,7	9,38 ± 0,28
	7	3,82 ± 0,14	3,05 ± 0,07	4,50 ± 0,07	1,1 ± 0,1	0,71 ± 0,02	1035,1 ± 0,7	9,02 ± 0,21
	14	3,97 ± 0,15	3,07 ± 0,06	4,49 ± 0,03	0,9 ± 0,0	0,74 ± 0,01	1035,2 ± 0,8	9,20 ± 0,18
	21	3,95 ± 0,15	3,00 ± 0,10	4,43 ± 0,05	0,8 ± 0,0	0,70 ± 0,01	1036,1 ± 0,3	9,08 ± 0,20
Йогурт + AG10	1	3,98 ± 0,14	3,24 ± 0,15	4,84 ± 0,05	1,2 ± 0,2	0,69 ± 0	1035,4 ± 1,0	9,38 ± 0,19
	7	3,93 ± 0,10	3,05 ± 0,11	4,64 ± 0,04	1,1 ± 0,1	0,69 ± 0	1035,1 ± 1,3	9,02 ± 0,14
	14	3,97 ± 0,10	3,10 ± 0,05	4,58 ± 0,09	0,9 ± 0,0	0,68 ± 0,02	1035,2 ± 0,5	9,20 ± 0,19
	21	3,95 ± 0,22	2,95 ± 0,14	4,36 ± 0,06	0,8 ± 0,0	0,67 ± 0,01	1034,7 ± 0,7	9,08 ± 0,28

Существенных сдвигов по основным макронутриентам не выявлено в вариантах с новыми штаммами, количество белков и углеводов укладывается в нормируемые показатели. Обращает на себя внимание факт более интенсивного снижения количества общих углеводов и глюкозы в процессе хранения в вариантах с новыми штаммами, что видимо, обусловлено более активным потреблением их для метаболических процессов.

Что касается белковых соединений, то количество белков в сыворотке в свежем йогурте (1 сут) в вариантах с АГ штаммами было ниже. Возможно, это обусловлено более активным гидролизом сывороточных белков на стадии ферментации. Однако в процессе хранения эти показатели сравниваются, что обусловлено сохранением протеолитической активности у закваски даже при температуре 4 °С.

Остальные показатели изменяются несущественно, что показывает отсутствие нарушений пищевой ценности йогуртов с внесением в закваску новых штаммов лактобактерий собственной селекции.

Выше показана роль ЭПС в формировании функциональных свойств сквашенного молока. Поэтому выявленная нами тенденция к увеличению количества ЭПС в йогуртах с сокультурой штаммов АГ более чем в 2 раза по сравнению с контрольным йогуртом (рисунок 39) является положительным моментом. Повышение количества ЭПС будет способствовать формированию функциональных свойств КМП.

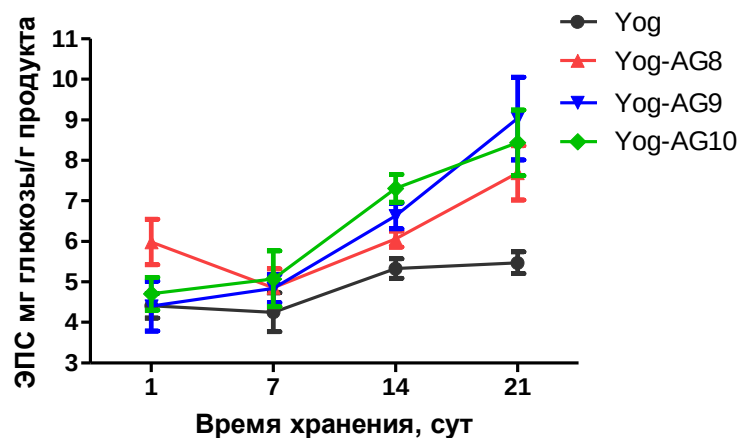


Рисунок 39 – Влияние пробиотических штаммов на накопление ЭПС в йогуртах в процессе хранения при использовании незаквасочных штаммов МКБ

Протеолитическая активность в йогуртах со штаммами AG8 и AG9 статистически не отличается от варианта с чистой йогуртовой закваской. В варианте с AG10 наблюдалось снижение активности накопления пептидов в сквашенном молоке на всем протяжении срока хранения (рисунок 40). В безбелковом экстракте активно накапливались фенолсодержащие соединения в процессе хранения в случае использования AG8 как сокультуры в йогурте.

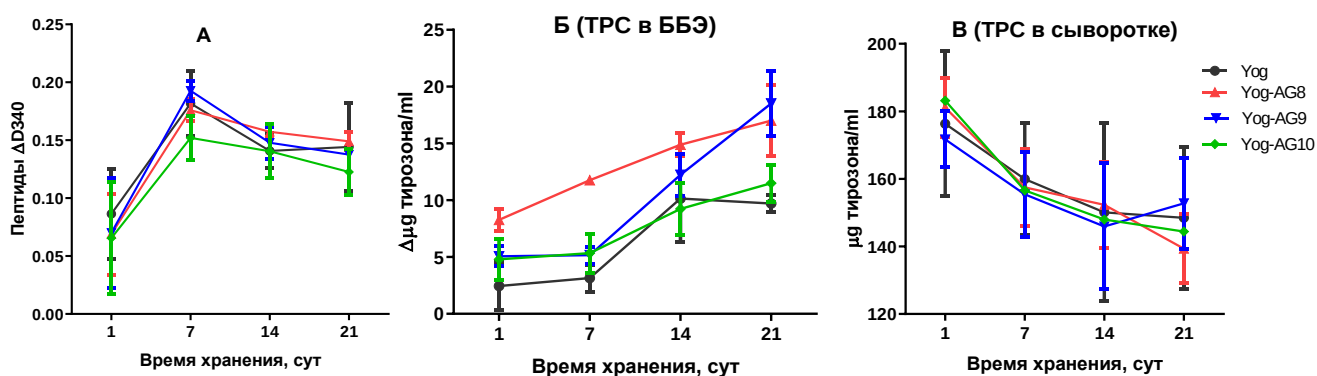


Рисунок 40 – Динамика накопления пептидов (протеолитическая активность) (а), общего количества фенольных соединений в безбелковом экстракте (б) и в сыворотке (в) в процессе хранения

В варианте с AG9 процесс накопления запаздывал, существенные изменения количества фенольных соединений наблюдали через 14 сут хранения. Характер изменений количества фенольных соединений в сыворотке обратно пропорционален динамике в безбелковом экстракте. Видимо, идет процесс перехода высокомолекулярных фенольных соединений в низкомолекулярную форму, а также потребления фенолсодержащих белковых компонентов бактериями.

Вязкостно-текстурные свойства йогуртов. Наиболее вязкие продукты был получен при использовании AG10 в качестве созаквасочной культуры (рисунок 41). В процессе хранения наблюдали нарастание вязкости, что согласуется с данными о накоплении ЭПС в продукте. ЭПС играют не последнюю роль в формировании крепкого молочного геля.

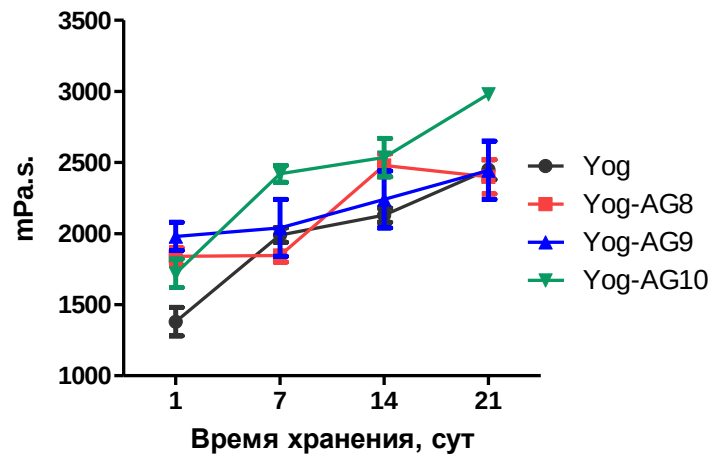


Рисунок 41 – Изменение динамической вязкости йогуртов в процессе хранения

Формирование вязкого геля в варианте с AG10 позволило получить продукт с наименьшим уровнем синерезиса и наибольшим значением ВУС (рисунок 42). Добавление штамма AG8 негативно сказалось на этих показателях.

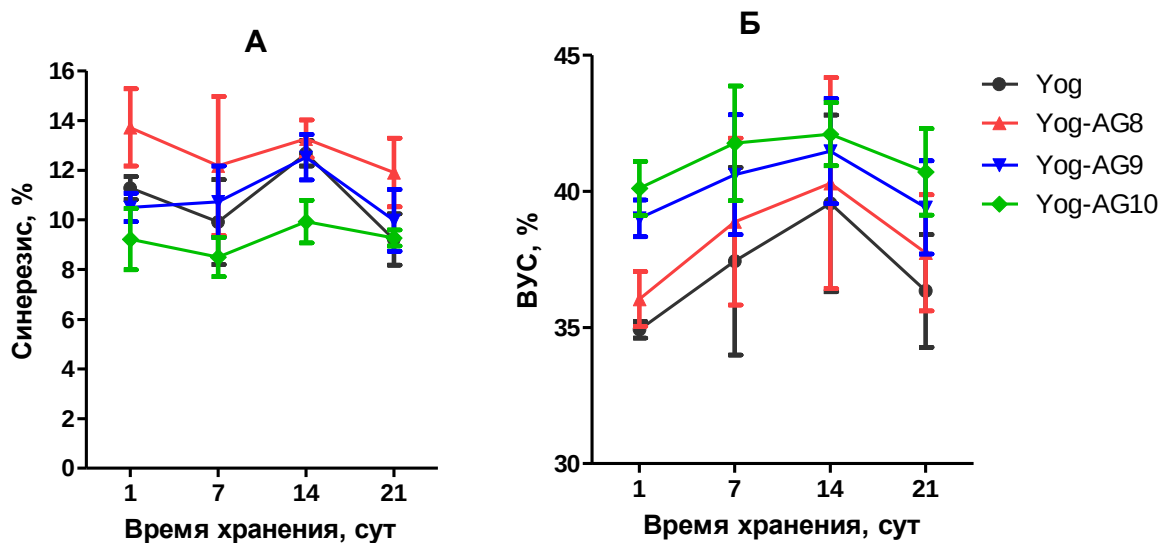
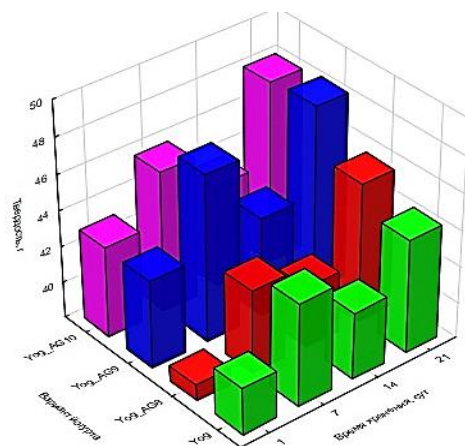
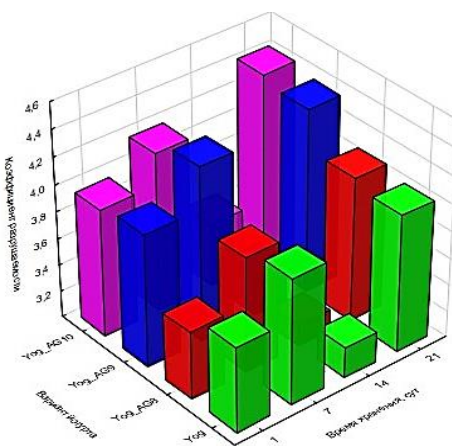


Рисунок 42 – Динамика синерезиса (а) и влагоудерживающей способности (б) йогуртов в процессе хранения

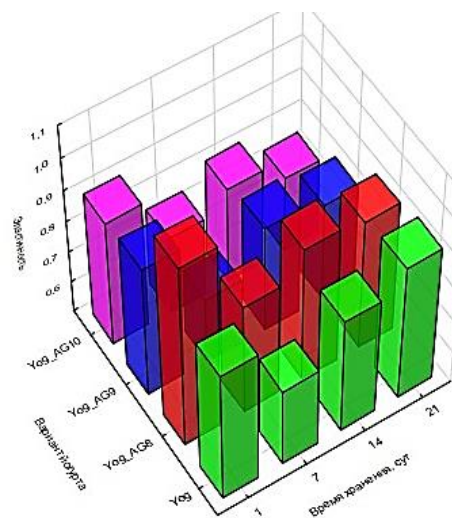
Текстурный инструментальный профиль. Текстурный профиль йогуртов с добавлением пробиотических штаммов представлен на рисунке 43. Добавление штаммов AG9 и AG10 приводило к формированию текстуры йогурта с большей твердостью и большим коэффициентом разрушаемости, при этом показатель эластичности этих образцов был сравним с контролем.



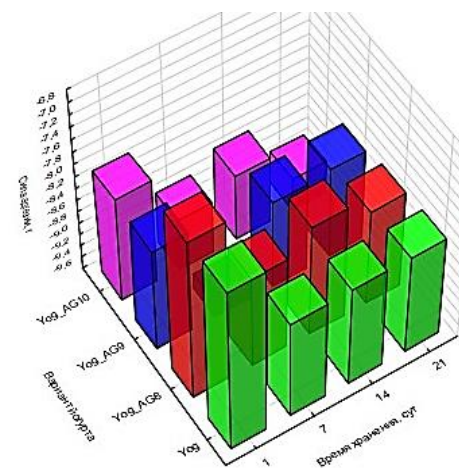
Твердость



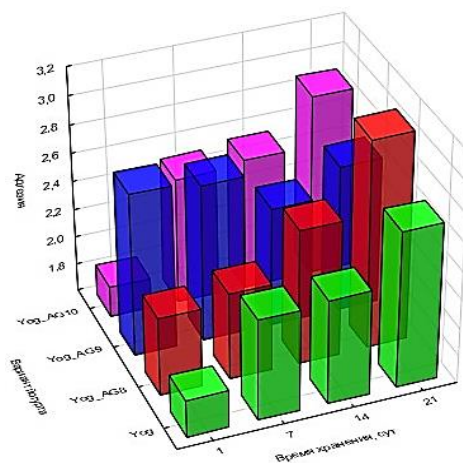
Разрушаемость



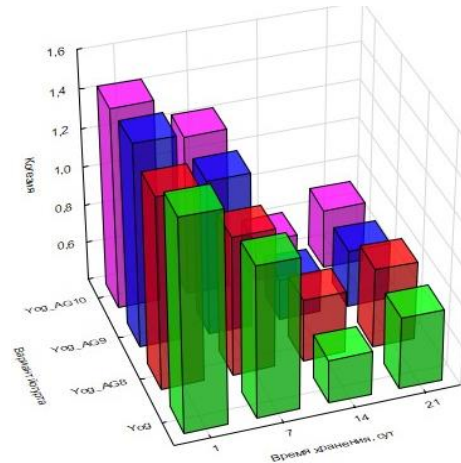
Эластичность



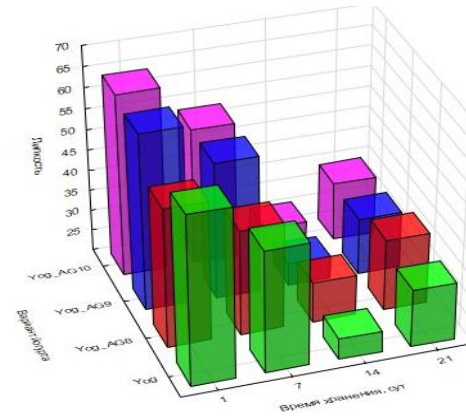
Сила адгезии



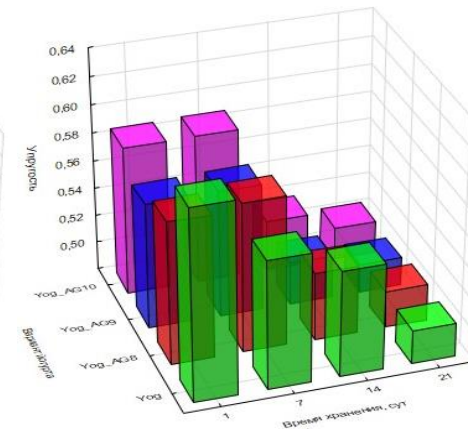
Адгезия



Когезия



Липкость



Упругость

Рисунок 43 – Влияние на текстурный профиль новых штаммов в составе обезжиренного йогурта в процессе хранения

Выявлено увеличение адгезии в процессе хранения у всех образцов. Как известно, адгезия предполагает притяжение между разнородными веществами, поэтому в первую очередь увеличение жесткости геля может быть обусловлено повышенным синтезом ЭПС. Как показано в предыдущих главах, ЭПС во многом влияют на формирование тела кисломолочного напитка. Снижение же когезии в процессе хранения обусловлено снижением притяжения одинаковых молекул, разрушением водородных связей. Таким образом, в процессе хранения выявлены закономерности формирования текстуры молочного геля: нарастание твердости сгустка, адгезии, и снижение когезии, липкости и упругости.

Корреляционный анализ показал, что высокий коэффициент положительной корреляции выявлен между парами твердость – разрушаемость, эластичность – адгезия, когезия – липкость и когезия – упругость (таблица 27). Высокий коэффициент отрицательной корреляции выявлен для пар: твердость – эластичность, твердость – сила адгезии, адгезия – упругость.

Таблица 27 – Тепловая карта корреляций между показателями текстурного профиля йогуртов

Показатель	Твердость	Разрушаемость	Эластичность	Сила адгезии	Адгезия	Когезия	Липкость	Упругость
Твердость	1,000	0,793	–0,748	–0,809	0,639	–0,347	–0,199	–0,507
Разрушаемость	0,793	1,000	–0,482	–0,521	0,392	0,208	0,346	–0,085
Эластичность	–0,748	–0,482	1,000	0,841	–0,288	0,232	0,140	0,132
Сила адгезии	–0,809	–0,521	0,841	1,000	–0,568	0,346	0,239	0,344
Адгезия	0,639	0,392	–0,288	–0,568	1,000	–0,524	–0,442	–0,717
Когезия	–0,347	0,208	0,232	0,346	–0,524	1,000	0,985	0,865
Липкость	–0,199	0,346	0,140	0,239	–0,442	0,985	1,000	0,803
Упругость	–0,507	–0,085	0,132	0,344	–0,717	0,865	0,803	1,000

Таким образом, текстурный профиль – это динамически изменяющийся комплекс параметров, обусловленный формированием и (или) разрушением связей между гетерогенной структурой молочных компонентов, синтезом *de novo* полимеров микробного происхождения и включением их в общую структуру матрикса. В зависимости от сокультур в составе традиционной йогуртовой закваски возможно

изменение текстурного профиля кисломолочного напитка, коррекция его профиля, что особенно актуально в случае обезжиренных и маложирных напитков.

Антиоксидантные свойства. Радикал-связывающая активность йогуртов с новыми штаммами исследовали на протяжении всего срока хранения. Фракция ЭПС более активно связывала свободные радикалы в случае добавления в йогурт новых штаммов (рисунок 44). При этом была выявлена концентрационная зависимости, видимо, накопление ЭПС повышало радикал-связывающую активность.

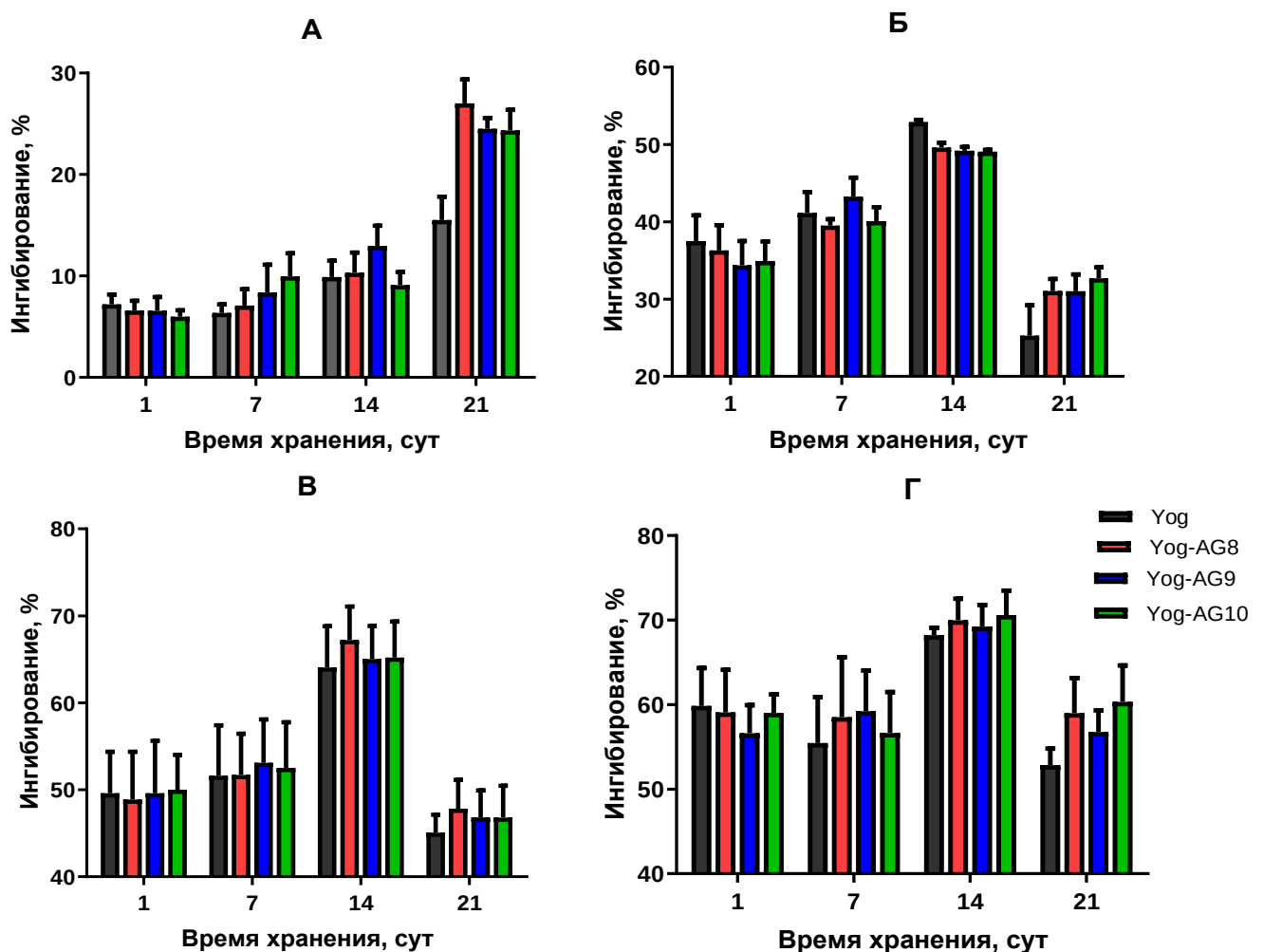


Рисунок 44 – Изменение радикал-связывающей активности разных фракций йогуртов при хранении: *а* – ЭПС; *б* – ББЭ; *в* – сыворотка; *г* – йогурт

Вклад в радикал-связывающую активность ББЭ вносят как ЭПС, так и белковые компоненты. На начальных стадиях хранения не было выявлено значимых различий между вариантами йогуртов, однако, в конце хранения активность была

выше в вариантах с новыми штаммами. На уровне сыворотки складывалась аналогичная ситуация, но на большем абсолютном уровне.

Анализ РСА йогуртов как комплексного сложносоставного продукта выявил большую активность связывать свободные радикалы на конец срока хранения в варианте с новыми штаммами, наибольшая активность была в варианте с AG10.

Восстановительная активность отражает наличие в системе соединений, обладающих восстановительными свойствами. В случае ЭПС повышение ВА в процессе хранения обусловлено увеличением количества ЭПС, содержащие в том числе и восстанавливающие сахара. В ББЭ не отмечено существенных различий между вариантами и в процессе хранения (рисунок 45).

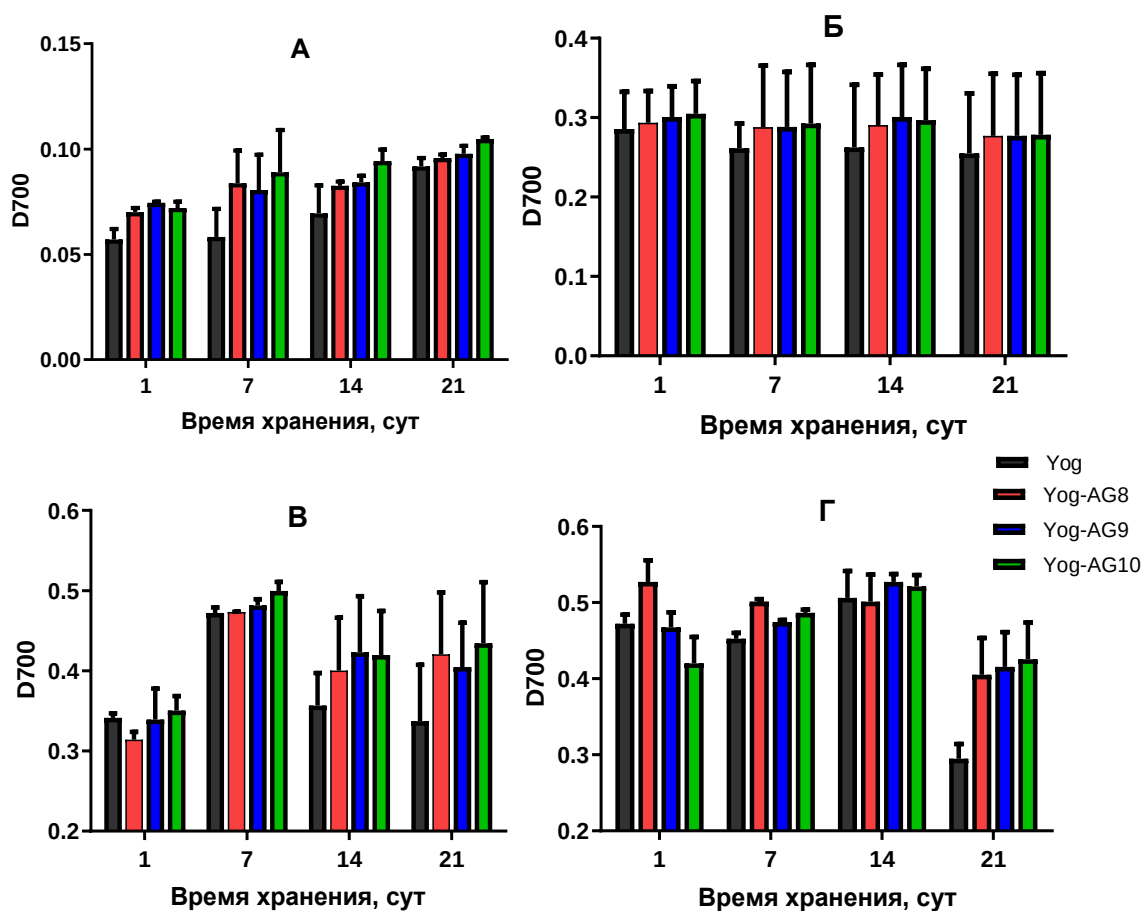


Рисунок 45 – Изменения восстанавливающей активности разных фракций йогуртов при хранении: а – ЭПС; б – ББЭ; в – сыворотка; г – йогурт

Увеличение ВА через 7 сут хранения с последующим снижением может быть связано с накоплением низкомолекулярных ароматических соединений, а потом их

дальнейшим метаболизмом; кроме того, вклад в ВА могут вносить лактоза и глюкоза, продукты их метаболизма. Аналогичным образом можно объяснить колебания ВА и в самом продукте. На конец срока хранения наибольший уровень ВА сохранился в образцах йогурта с добавленными в закваску новыми штаммами.

Анализ данных по йогуртам в процессе хранения. РС-анализ по совокупному массиву данных по различным параметрам в процессе хранения свидетельствует о динамичности свойств разных йогуртов и влиянии новых пробиотических штаммов (рисунок 46).

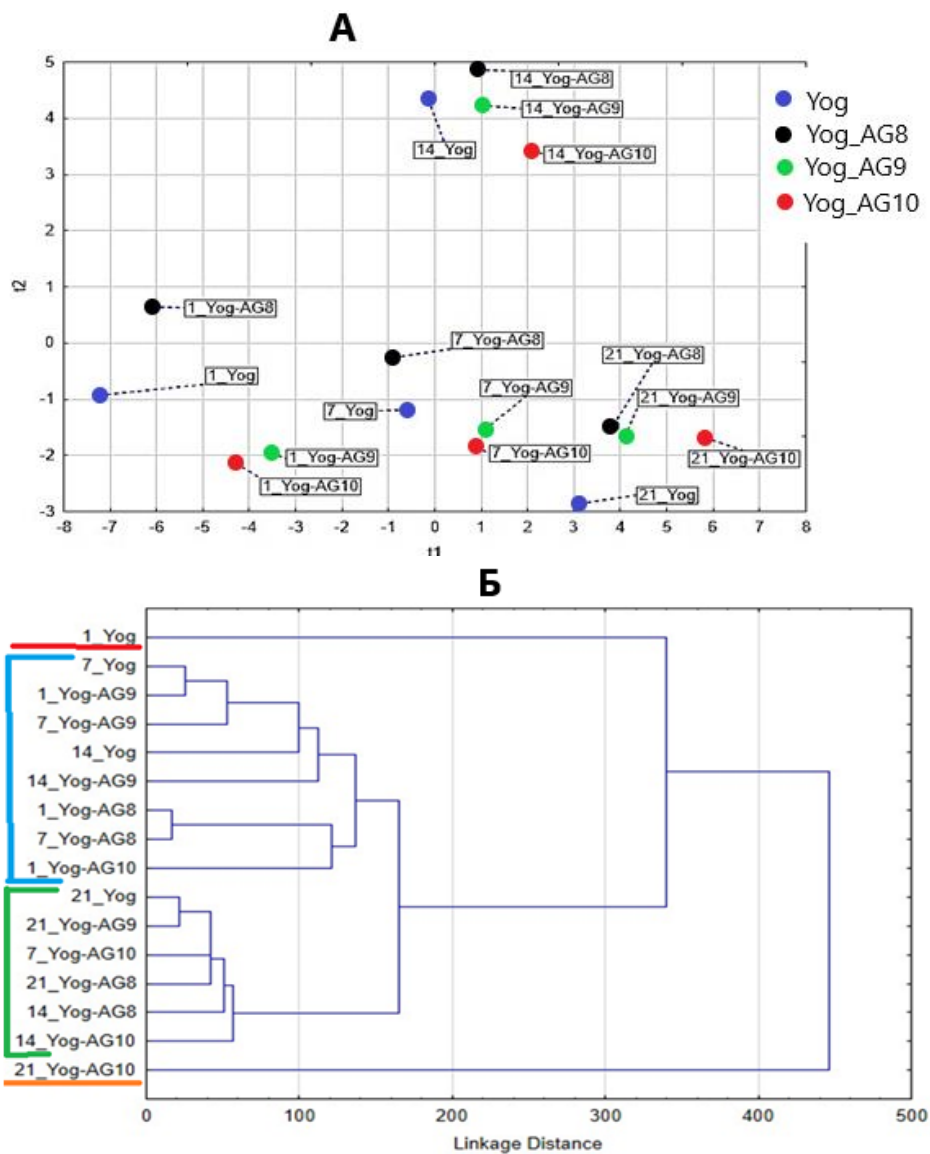


Рисунок 46 – Принципиальный компонентный анализ по совокупности параметров (а) и древовидная диаграмма взаимосвязей (б) между вариантами йогурта с разными пробиотическими штаммами в процессе хранения

Выявлено, что дистанция между положением точек разных йогуртов в начале хранения значительна. Обращает на себя внимание удаленность варианта с AG8 и близость вариантов AG9 и AG10 между собой. При этом контроль (1_Yog) равноудален от остальных вариантов.

В процессе 7 сут хранения дистанция между вариантами сокращается, что косвенно может свидетельствовать от однонаправленности процессов, происходящих в йогуртах независимо от внесенного пробиотического штамма.

После 14 сут хранения наблюдалось резкое смещение координат РС-анализа у всех вариантов йогуртов. В настоящее время наиболее часто производители декларируют сроки годности кисломолочных напитков без внесения стабилизаторов в пределах двух недель. Действительно, именно на этом сроке происходят процессы, изменяющие совокупность свойств продукта на основе ферментации молока. Здесь также важно, что штаммы на этом сроке проявляют свой влияние, дистанция между образцами йогуртов AG8 и AG9 сокращается, при этом AG9-йогурт отдаляется от AG10-йогурта.

После трехнедельного хранения свойства йогуртов изменяются, о чем свидетельствует изменение координат точек на плоскости. Влияние штаммов усиливается, выявлено еще большее сокращение дистанции между образцами йогуртов AG8 и AG9. Йогурт с AG10 имеет набор свойств отличных от контроля и остальных образцов.

Анализ с помощью инструмента cluster-analyze позволила построить древо-видную диаграмму. Здесь можно выделить наиболее различающиеся по свойствам образцы 1_Yog и 21_Yog_AG10. В другую группу (верхняя - выделено голубым) можно объединить все варианты йогуртов на сроке хранения 1-7 дней, а также 14_Yog_AG9. Нижняя группа объединяет все остальные варианты на сроке хранения 14-21 день и образец 7_Yog_AG10. Спускаясь на более мелкие уровни ветвления можно заметить, что образцы йогуртов с AG9 чаще объединяются в группы-кластеры с контрольным йогуртом, тогда как йогурты с AG8 и AG10 имеют меньше пересечения на уровне глубоких слоев ветвления.

Расчет корреляционных коэффициентов (таблица 28) между химическими и антиоксидантными свойствами выявил ряд закономерностей. Положительно коррелировали (коэффициент более 0,7) радикал-связывающая активность (DPPH-EPS) и восстановительная активность (FRAP_EPS) ЭПС с химическими параметрами: количество ЭПС, количество фенольных соединений в безбелковом экстракте (TPC_PFE). Отрицательная корреляция (коэффициент $-0,7$ и менее) выявлена между количеством свободной глюкозы, показателем титруемой кислотности и количеством ЭПС. Не удивительно, что титруемая кислотность обратно коррелирует с количеством белка, пептидов, углеводов общих и глюкозы. Набор этих показателей отражает активные процессы, связанные с гидролизом белка МКБ, метаболизмом пептидов и углеводов.

Подводя итог изложенному в параграфе 4.5, отметим, что включение пробиотических штаммов МКБ в состав закваски для получения обезжиренного йогурта представляет собой перспективный подход к улучшению питательных, текстурных и функциональных свойств конечного продукта. Экспериментальные данные демонстрируют многогранные преимущества и целесообразность использования этих штаммов в качестве сокультур в технологии йогурта.

Экспериментальные штаммы AG8, AG9, AG10 медленнее подкисляют йогурт, чем используемая промышленная культура йогурта. Благодаря этой характеристике они не нарушают процесс первичной ферментации или профиль титруемой кислотности йогурта в процессе производства. Отсутствие антагонизма или ингибирования промышленных заквасочных штаммов подчеркивает их совместимость в качестве дополнительной культуры, поддерживая общую технологическую надежность производства йогурта.

С точки зрения метаболических превращений доказано, что добавление используемых штаммов МКБ улучшает метаболический профиль йогурта во время хранения. В частности, штаммы более эффективно потребляют углеводы, такие как глюкоза, во время хранения, что может способствовать длительной метаболической активности и функциональным преимуществам в течение срока годности продукта.

Таблица 28 – Тепловая карта корреляций между антиоксидантными свойствами и химическими параметрами йогуртов

Параметр	DPPH-EPS	DPPH-PFE	DPPH-Wh	DPPH-Yog	FRAP-EPS	FRAP-PFE	FRAP-Wh	FRAP-Yog	EPS	Prot	Pr-wh	Car	Glu	Salt	DM	TTA	OPA-PFE	TPC-PFE	TPC-Wh
DPPH-EPS	1,00	-0,44	-0,30	-0,10	0,75	-0,35	0,12	-0,49	0,84	0,07	-0,58	-0,55	-0,65	-0,40	-0,41	0,63	0,17	0,84	-0,38
DPPH-PFE	-0,44	1,00	0,94	0,84	-0,26	0,23	0,24	0,79	-0,17	-0,02	0,05	-0,07	-0,16	0,31	-0,05	0,09	0,32	-0,37	0,26
DPPH-Wh	-0,30	0,94	1,00	0,92	-0,08	0,25	0,13	0,66	-0,01	0,07	0,00	-0,14	-0,37	0,29	-0,08	0,28	0,28	-0,18	0,18
DPPH-Yog	-0,10	0,84	0,92	1,00	0,05	0,31	-0,01	0,64	0,23	0,23	0,07	-0,09	-0,45	0,27	0,07	0,31	0,10	-0,02	0,10
FRAP_EPS	0,75	-0,26	-0,08	0,05	1,00	-0,02	0,31	-0,31	0,78	0,09	-0,59	-0,51	-0,68	-0,60	-0,49	0,65	0,27	0,68	-0,40
FRAP_PFE	-0,35	0,23	0,25	0,31	-0,02	1,00	-0,01	0,55	-0,07	0,42	0,66	0,68	0,31	0,24	0,61	-0,50	-0,41	-0,16	-0,36
FRAP_Wh	0,12	0,24	0,13	-0,01	0,31	-0,01	1,00	0,18	0,08	-0,27	-0,54	-0,42	-0,13	-0,48	-0,59	0,22	0,79	0,07	-0,30
FRAP_Yog	-0,49	0,79	0,66	0,64	-0,31	0,55	0,18	1,00	-0,14	0,21	0,38	0,30	0,13	0,44	0,35	-0,33	0,01	-0,33	0,02
EPS	0,84	-0,17	-0,01	0,23	0,78	-0,07	0,08	-0,14	1,00	0,40	-0,41	-0,42	-0,75	-0,35	-0,21	0,60	0,07	0,80	-0,25
Prot	0,07	-0,02	0,07	0,23	0,09	0,42	-0,27	0,21	0,40	1,00	0,36	0,39	-0,08	-0,05	0,51	-0,05	-0,54	0,13	0,15
Pr-wh	-0,58	0,05	0,00	0,07	-0,59	0,66	-0,54	0,38	-0,41	0,36	1,00	0,96	0,67	0,59	0,95	-0,76	-0,77	-0,46	-0,02
Car	-0,55	-0,07	-0,14	-0,09	-0,51	0,68	-0,42	0,30	-0,42	0,39	0,96	1,00	0,76	0,41	0,89	-0,77	-0,76	-0,49	-0,06
Glu	-0,65	-0,16	-0,37	-0,45	-0,68	0,31	-0,13	0,13	-0,75	-0,08	0,67	0,76	1,00	0,23	0,56	-0,84	-0,40	-0,68	0,03
Salt	-0,40	0,31	0,29	0,27	-0,60	0,24	-0,48	0,44	-0,35	-0,05	0,59	0,41	0,23	1,00	0,57	-0,45	-0,33	-0,20	-0,02
DM	-0,41	-0,05	-0,08	0,07	-0,49	0,61	-0,59	0,35	-0,21	0,51	0,95	0,89	0,56	0,57	1,00	-0,69	-0,83	-0,31	0,00
TTA	0,63	0,09	0,28	0,31	0,65	-0,50	0,22	-0,33	0,60	-0,05	-0,76	-0,77	-0,84	-0,45	-0,69	1,00	0,46	0,45	0,04
OPA_PFE	0,17	0,32	0,28	0,10	0,27	-0,41	0,79	0,01	0,07	-0,54	-0,77	-0,76	-0,40	-0,33	-0,83	0,46	1,00	0,19	-0,12
TPC_PFE	0,84	-0,37	-0,18	-0,02	0,68	-0,16	0,07	-0,33	0,80	0,13	-0,46	-0,49	-0,68	-0,20	-0,31	0,45	0,19	1,00	-0,50
TPC_Wh	-0,38	0,26	0,18	0,10	-0,40	-0,36	-0,30	0,02	-0,25	0,15	-0,02	-0,06	0,03	-0,02	0,00	0,04	-0,12	-0,50	1,00

Значительное увеличение синтеза ЭПС в йогуртах с новыми штаммами способствует улучшению текстуры и функциональных свойств продукта. ЭПС способствуют повышению вязкости, прочности геля и радикал-связывающей активности, повышая пищевую ценность и потребительскую привлекательность йогурта. Усиленное производство ЭПС не только улучшает текстуру, но и служит заменителем пищевых волокон, улучшая микробиоту кишечника и пищеварение.

С точки зрения формирования текстурных и реологических свойств использование AG10 в качестве сокультуры привело к самой высокой динамической вязкости и прочности геля, а также к снижению синерезиса. Это коррелирует с увеличением производства ЭПС, который укрепляет матрицу йогурта и повышает ВУС. Штаммы AG9 и AG10 положительно повлияли на основные текстурные характеристики, такие как упругость, клейкость и эластичность. Эти свойства улучшают вкусовые качества обезжиренных йогуртов, делая их более сопоставимыми с полножирными аналогами, которые часто воспринимаются как более совершенные по текстуре. Улучшая органолептические и текстурные характеристики обезжиренных йогуртов, штаммы AG могут помочь преодолеть разрыв между предпочтениями потребителей, заботящихся о здоровье, и сенсорными ограничениями низкокалорийных продуктов.

В антиоксидантных характеристиках также произошли положительные изменения. В общем включение штаммов в состав йогуртной закваски приводит к формированию продукта с повышенной антиоксидантной способностью, особенно в процессе хранения. В формирование этих свойств вносят вклад в том числе ЭПС. Повышение уровня ЭПС в йогуртах с новыми штаммами тесно коррелировало с усилением радикал-связывающей активности.

Помимо ЭПС вклад в формирование антиоксидантных свойств вносят белковые компоненты. В йогуртах со штаммами AG9 и AG8 сохранялась постоянная протеолитическую активность во время хранения, способствуя высвобождению биоактивных пептидов, которые могут обладать дополнительными функциональными свойствами. Штаммы AG8, AG9, AG10 способствовали преобразованию высокомолекулярных фенольных соединений в биодоступные низкомолекулярные

формы во время хранения. Эта динамика повышает антиоксидантный потенциал и ценность йогурта для здоровья. Важным является то, что антиоксидантные свойства йогуртов с новыми штаммами нарастают в процессе хранения, что свидетельствует о длительной биоактивности, которая может помочь защитить продукт и способствовать увеличению сроков хранения.

С точки зрения промышленного применения, нестартовая природа изучаемых штаммов и отсутствие конкуренции со стартерными культурами с высокой скоростью кислотообразования обеспечивает их легкую интеграцию в существующие системы производства йогурта без дополнительных модификаций протоколов ферментации. Наблюдаемая метаболическая активность новых штаммов во время хранения позволяет предположить, что они могут продлить функциональный срок годности йогурта, сохраняя биоактивность и антиоксидантные свойства в течение длительного времени. Включение AG8, AG9, AG10 в качестве сокультур в технологию обезжиренного йогурта дает существенные преимущества: улучшение текстуры, повышение функциональности здоровья, антиоксидантные свойства и улучшение вкусовых качеств без ущерба для традиционного процесса подкисления. Эти штаммы могут быть рекомендованы к включению в рецептуры заквасок для обезжиренных йогуртов, сделав их более привлекательными для потребителей, заботящихся о своем здоровье, и расширив их рыночный потенциал.

4.6 Практическая разработка состава закваски пробиотического йогурта с включением штамма *Lactiplantibacillus plantarum* AG10

Первичный скрининговый анализ новых штаммов на способность сквашивать обезжиренное молоко по физико-химическим, текстурным и антиоксидантным свойствам показал перспективность применения штамма *L. plantarum* AG10 в технологии кисломолочных напитков. На этапе исследований совместного при-

менения незаквасочного штамма в составе закваски с промышленными штаммами йогуртов *L. bulgaricus* и *S. thermophilus* проведен комплексный анализ получаемого продукта. Было использовано сочетание йогуртовой закваски с внесением *L. plantarum* AG10 в соотношении на 10; 20 и 30 % от общей части 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), в процессе хранения титруемая кислотность образцов с AG10 нарастала, но была меньше, чем у классического йогурта (рисунок 47). Это не удивительно, так как ранее показана меньшая по сравнению с промышленным штаммом *L. bulgaricus* кислотообразующая активность. Введение нового штамма AG10 в состав йогуртовой закваски замедляет кислото-накопление при хранении, т. е. препятствует развитию постзакислительных процессов.

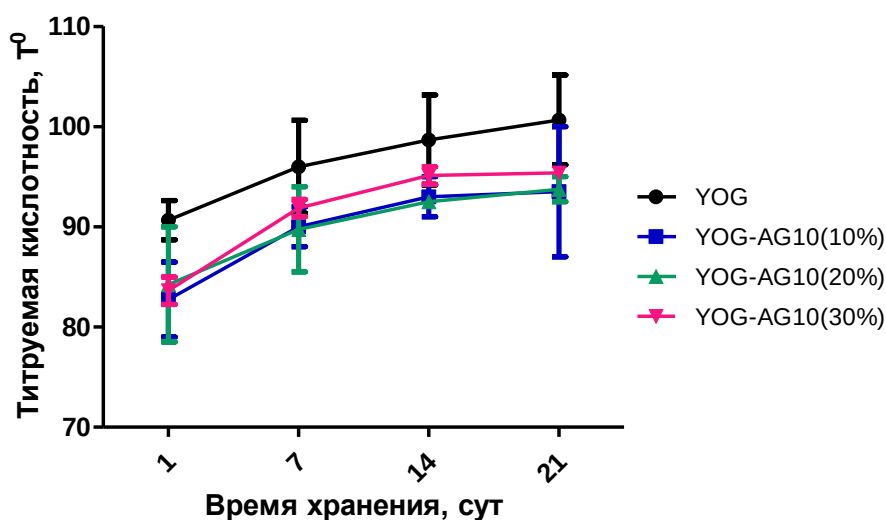


Рисунок 47 – Динамика титруемой кислотности обезжиренных йогуртов, изготовленных с добавлением разной концентрации *L. plantarum* AG10, в процессе хранения при 4 °С

С точки зрения химического состава использование штамма AG10 в рецептуре кисломолочных продуктов привело к более высокому содержанию общего белка по сравнению с контрольным йогуртом (таблица 29). Ранее было выявлено, что протеолитическая активность их меньше, чем у болгарской палочки, именно

это обстоятельство является причиной большего количества белка в тестируемых йогуртах с добавлением AG10.

Таблица 29 – Химическая характеристика обезжиренных йогуртов, изготовленных с добавлением разной концентрации *L. plantarum* AG10, в процессе хранения при 4 °С

Вариант опыта	Время хранения, сут	Общий белок, %	Белок в сыворотке, %	Углеводы, %	Глюкоза, ммоль/л
Йогурт	1	4,01 ± 0,04	2,85 ± 0,24	4,26 ± 0,28	15,25 ± 3,18
	7	3,96 ± 0,07	2,91 ± 0,12	4,29 ± 0,17	11,25 ± 0,35
	14	3,97 ± 0,13	3,05 ± 0,13	4,35 ± 0,01	12,65 ± 5,16
	21	3,95 ± 0,14	2,87 ± 0,11	4,15 ± 0,04	11,5 ± 3,54
Йогурт + AG10 (10 %)	1	3,93 ± 0,05	2,83 ± 0,21	4,28 ± 0,16	13,45 ± 2,05
	7	3,95 ± 0,06	2,80 ± 0,08	4,22 ± 0,13	12,7 ± 0,99
	14	3,95 ± 0,07	2,83 ± 0,04	4,2 ± 0,08	11,6 ± 1,56
	21	3,81 ± 0,06	2,76 ± 0,02	4,07 ± 0,04	5,7 ± 5,94
Йогурт + AG10 (20 %)	1	3,79 ± 0,11	2,83 ± 0,11	4,18 ± 0,16	12,45 ± 1,77
	7	3,85 ± 0,06	2,84 ± 0,04	4,13 ± 0,01	11,55 ± 0,78
	14	3,82 ± 0,08	2,82 ± 0,04	4,05 ± 0,06	10,7 ± 0,28
	21	3,72 ± 0,15	2,73 ± 0,01	4,03 ± 0,01	9,95 ± 0,35
Йогурт + AG10 (30 %)	1	3,94 ± 0,07	3,02 ± 0,32	4,28 ± 0,22	10,1 ± 1,27
	7	3,92 ± 0,01	2,95 ± 0,01	4,36 ± 0,02	7,4 ± 5,09
	14	4,03 ± 0,09	2,94 ± 1,51	4,33 ± 0,07	9,15 ± 0,49
	21	4,08 ± 0,03	2,90 ± 0,07	4,24 ± 0,03	8,85 ± 0,35

На 21-е сутки во всех образцах с AG10 количество белка незначительно снижалось, что можно связать с остаточной активностью протеаз даже при хранении при температуре 4 °С. Во всех исследуемых образцах концентрация белка была в пределах значений, нормируемых ГОСТом для КМП.

Выявлено, что большая концентрация штамма AG10 в закваске способствует более глубокому метаболизму глюкозы, о чем говорит меньшее ее количество в сыворотке йогурта, при этом общее количество углеводов в разных вариантах мало варьирует.

L. plantarum AG10 в составе йогурта активно проявлял способность синтезировать ЭПС. Так, количество ЭПС в вариантах с AG10 было в два раза больше, чем в контрольном варианте (рисунок 48). Отсутствие антагонизма йогуртной закваски и штамма *L. plantarum* AG10 независимо от количества последнего в части синтеза ЭПС является предпосылкой для возможности коррекции текстурных показателей обезжиренного кисломолочного напитка.

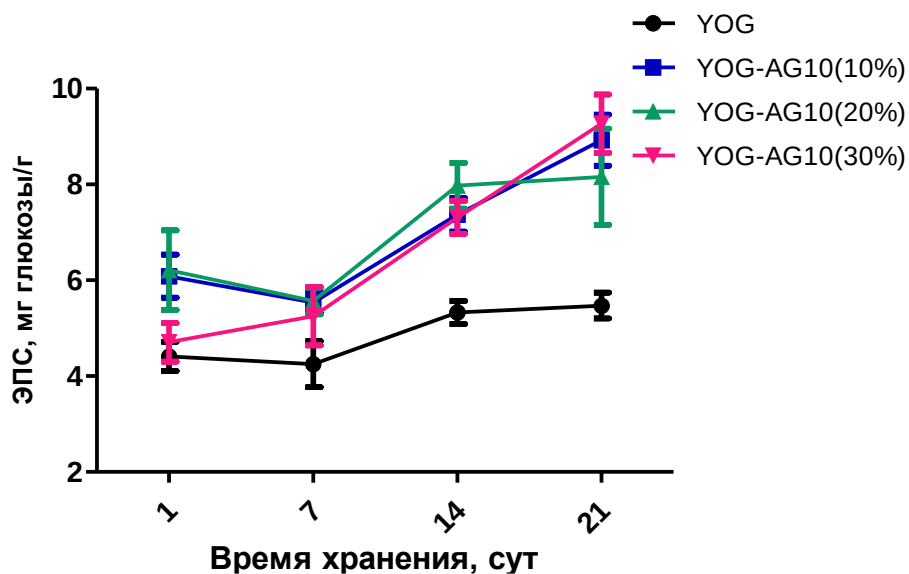


Рисунок 48 – Динамика накопления экзополисахаридов в обезжиренных йогуртах в процессе хранения

Комплекс метаболических превращений белков молока отражен на рисунке 49. Протеолитическая активность закваски йогуртов была самая высокая, выявлено наибольшее количество свободных пептидов в этом варианте. Использование штамма AG10 в составе закваски приводило к ингибированию протеолитических процессов. Аналогичные результаты были нами получены и ранее, при совместном использовании AG10 с йогуртовой закваской протеолитическая активность снижалась. Максимум накопления пептидов при хранении приходится на седьмые сутки, в последующем количество их снижается.

ОКФС в ББЭ в варианте с 30 % AG10 было наибольшим, тогда как в сыворотке – наименьшим. В варианте контрольного йогурта значения были обратными. Во всех вариантах наблюдалось перераспределение фенольных соединений: фе-

нольные соединения в составе высокомолекулярных протеинов подвергались гидролизу и метаболизму, однако часть из них оставалась в составе низкомолекулярных соединений, что давало возможность к их детекции в составе ББЭ.

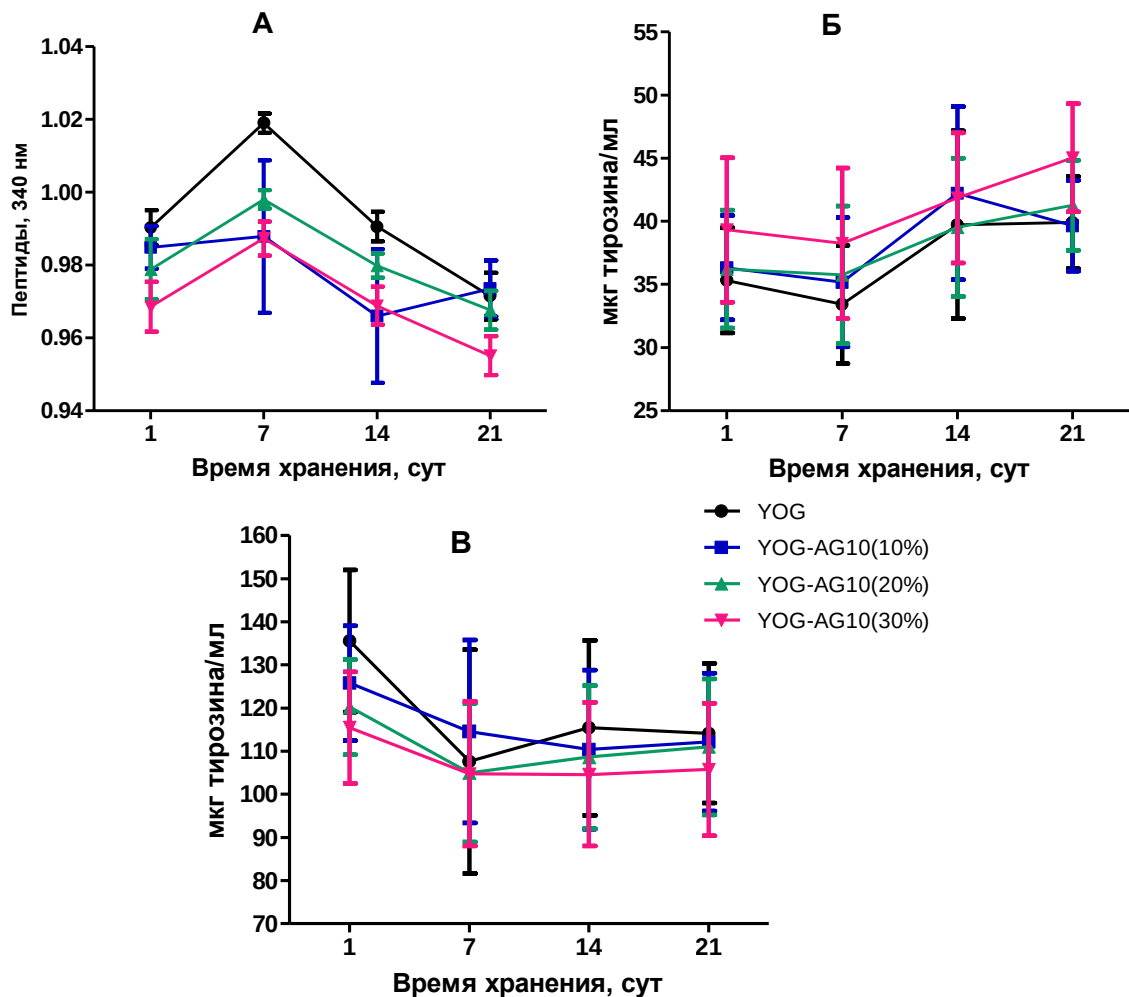


Рисунок 49 – Динамика белковых компонентов – свободных пептидов (а) и общего количества фенольных соединений в безбелковом экстракте (б) и в сыворотке (в) в процессе хранения обезжиренных йогуртов

Добавление штамма AG10 позволяет получить йогурт с наименьшими значениями синерезиса (рисунок 50). При этом самые низкие значения на протяжении всего срока хранения выявлены у образца с 30 % AG10. Добавление штамма AG10 в концентрации 30 % привело значимому повышению ВУС молочного геля йогуртов.

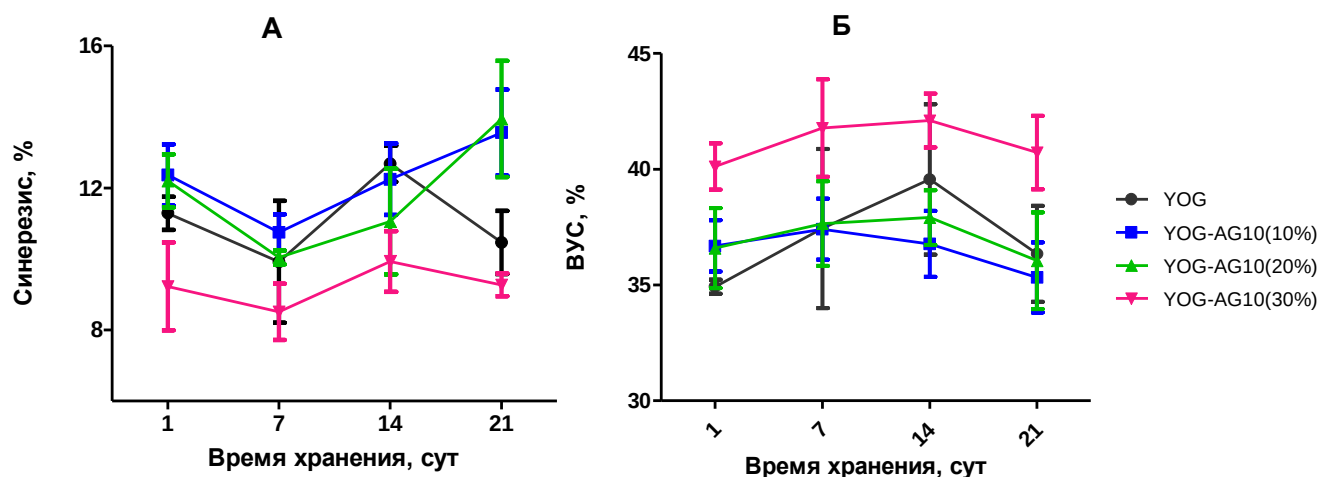


Рисунок 50 – Синерезис (а) и влагосвязывающая способность (б) обезжиренных йогуртов, изготовленных с добавлением разной концентрации *L. plantarum* AG10, в процессе хранения

При хранении в течение первых 7 сут вязкость йогурта увеличивалась для всех образцов, наблюдалось структурообразование сгустка (рисунок 51). Наибольшей вязкостью обладал продукт с добавлением 30 % *L. plantarum* AG10.

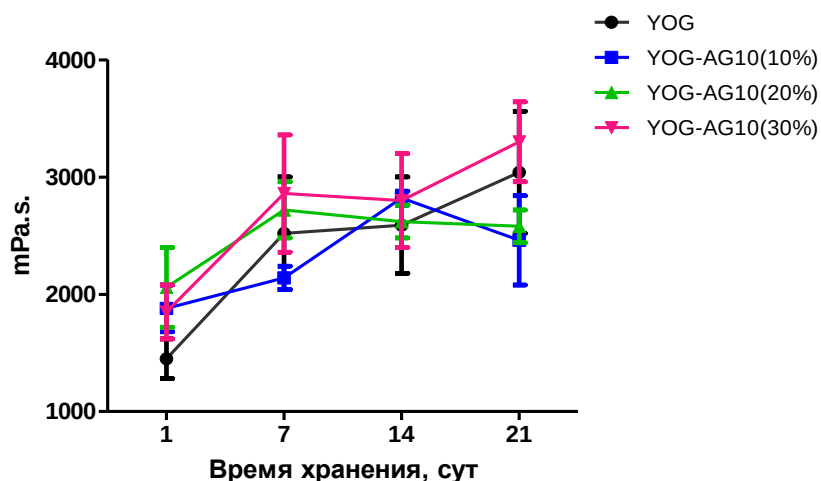


Рисунок 51 – Динамика изменения вязкости обезжиренных йогуртов, изготовленных с добавлением разной концентрации *L. plantarum* AG10, в процессе хранения

При тестировании динамического размера частиц на приборе Zetasizer через 21 сут хранения были выявлены различия распределения частиц кисломолочного геля по размеру (рисунок 52). Если в случае с образцом, сквашенным только йогуртовой закваской, наблюдалось бимодальное распределение частиц геля, нет их од-

нородности, то в случае образцов с AG10 наблюдается мономодальность, формируется сгусток, в котором присутствует фракция с размытым максимумом 255–342 нм. Снижение доли штамма AG10 в закваске приводит к повышению однородности с максимумом в области 342 нм.

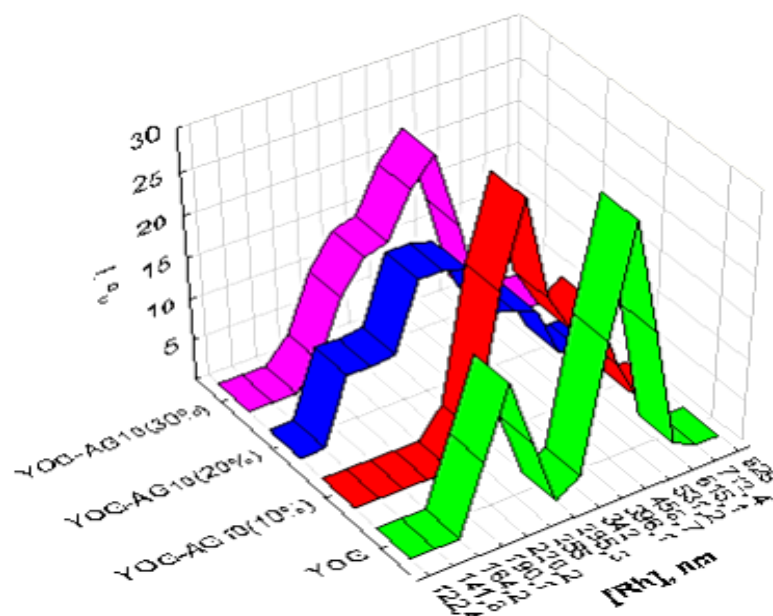


Рисунок 52 – Динамический размер частиц обезжиренных йогуртов, изготовленных с добавлением разной концентрации *L. plantarum* AG10, через 21 сут хранения

Антиоксидантные свойства. В процессе хранения йогуртов наблюдалось снижение радикал-связывающей активности (рисунок 53), на уровне продукта не выявлено значимых отличий между образцами. На уровне сыворотки и ББЭ через 7 сут хранения более активно ингибировалось образование свободных радикалов в образце с 30 % AG10. Относительно высокая радикал-связывающая активность на уровне ББЭ может свидетельствовать о накоплении специфических метаболитов, их направленное действие не выделяется на фоне высокого органического фона в системе продукта и сыворотки.

Таким образом, длительное хранение кисломолочного продукта ухудшает его радикал-связывающую активность. При этом самые высокие значения были выявлены у образцов с добавлением AG10 на протяжении всего срока хранения

(у продукта, сыворотки и безбелкового экстракта, ЭПС). Штамм *L. plantarum* AG10 в синергизме с йогуртовой закваской позволяет улучшить радикал-связывающую активность.

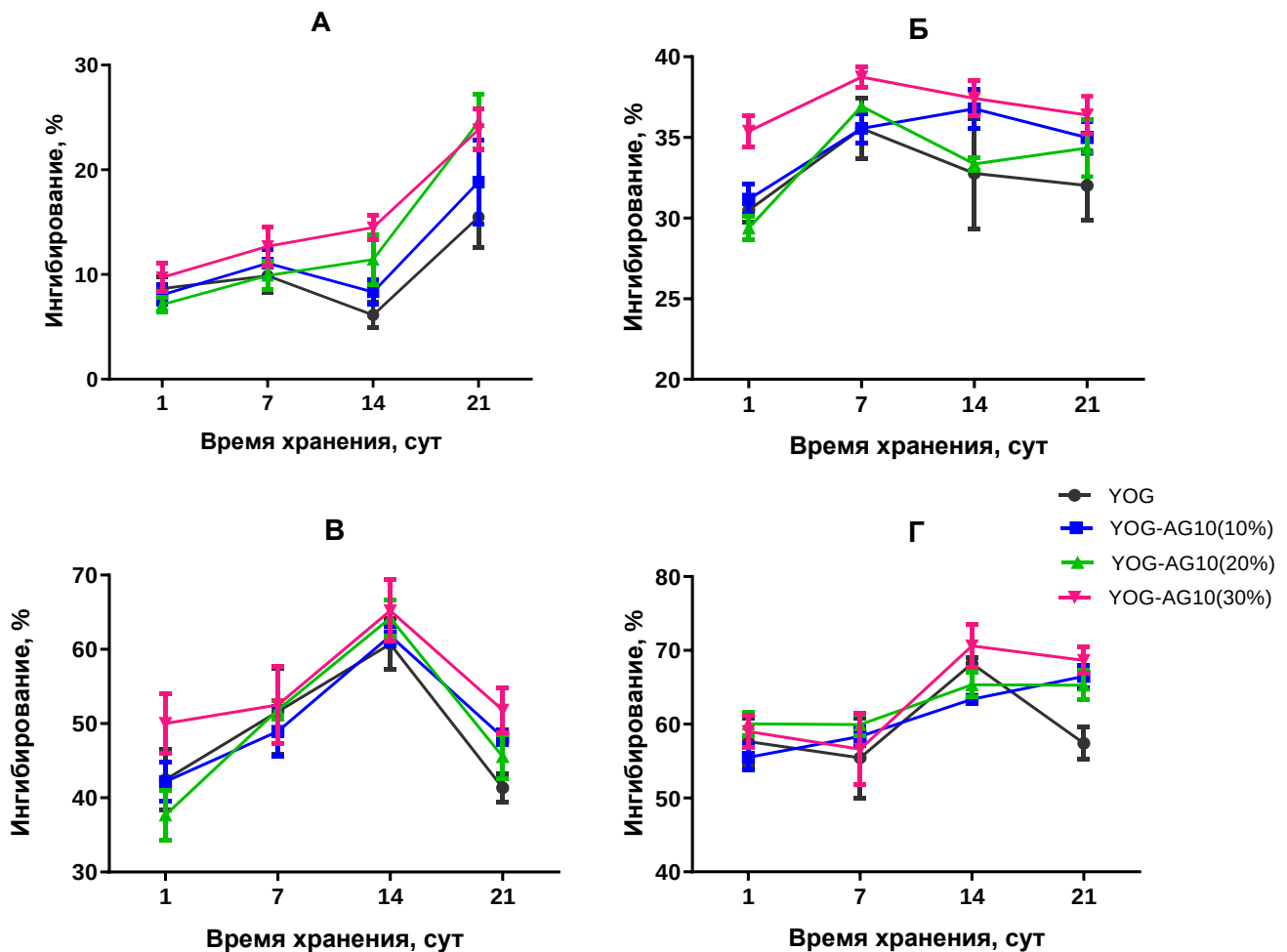


Рисунок 53 – Динамика радикал-связывающей активности разных фракций кисломолочного продукта во время хранения:
 а – ЭПС; б – ББЭ; в – сыворотка; г – йогурт

ВА всех образцов увеличивалась до 20 сут хранения, что, возможно, обусловлено гидролизом лактозы до глюкозы (обладает большим восстановительным потенциалом) (рисунок 54), а также присутствием пептидов с восстанавливающими свойствами, и как следствие накопление их в сквашенном молоке. При этом наибольшие значения выявлены у продуктов с 30 % AG10 на всех уровнях тестирования (продукт, сыворотка, безбелковый экстракт, ЭПС).

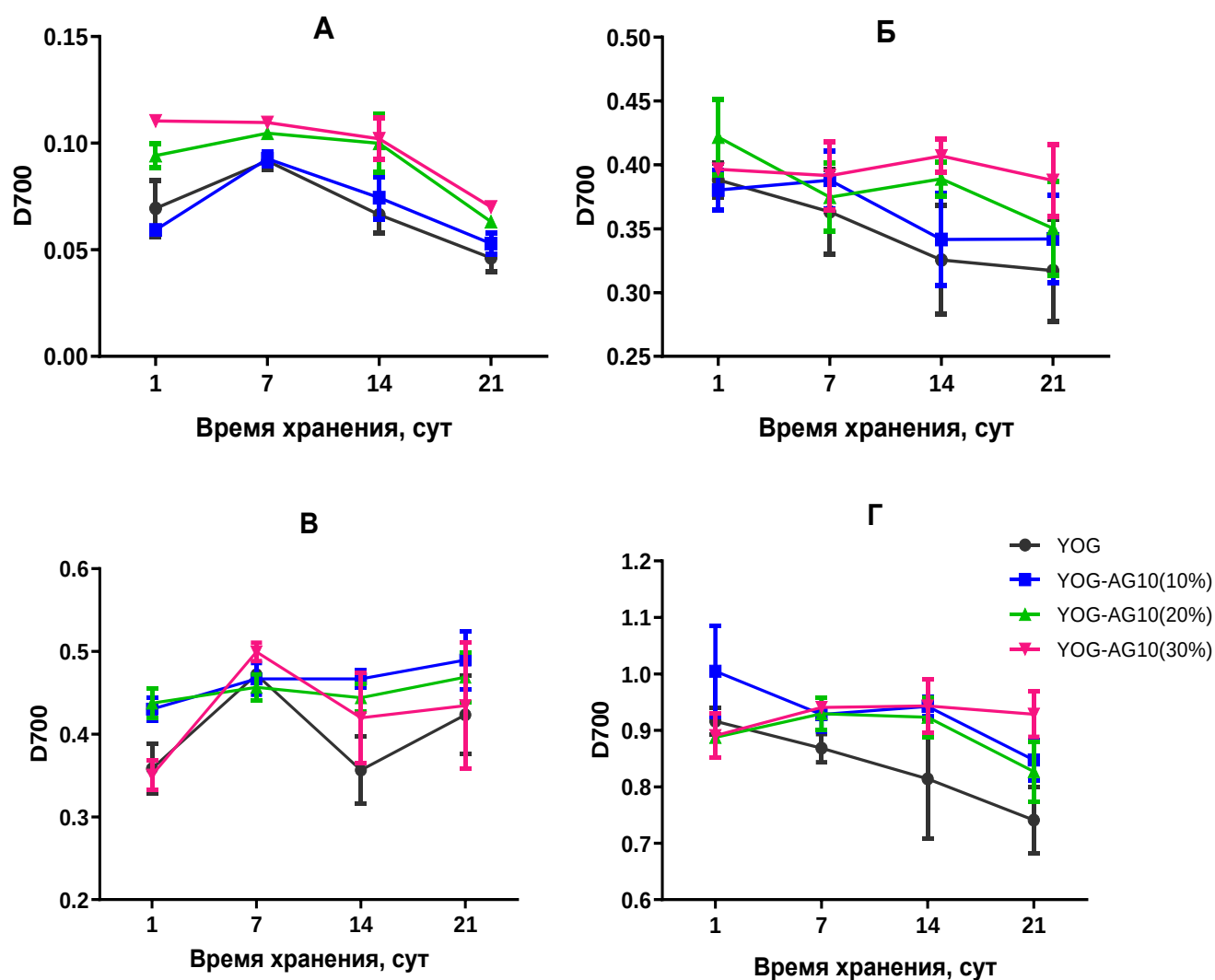


Рисунок 54 – Восстановительная активность разных фракций кисломолочного продукта во время хранения: а – ЭПС; б – ББЭ; в – сыворотка; г – йогурт

Органолептические свойства. Неотъемлемой частью пищевого продукта является его органолептическая характеристика, в случае тестирования йогурта использовалась дифференциальная шкала. Респонденты дали максимальные оценки запаху и внешнему виду йогуртов независимо от добавленного штамма AG10, соответственно, он не влияет на внешний вид и ароматику продукта, улавливаемую человеческим носом (таблица 30). За счет улучшения консистенции и, соответственно, вкуса наибольшую оценку получил образец, содержащий 30 % нового штамма AG10.

Таблица 30 – Органолептические свойства йогуртов, изготовленных с *L. plantarum* AG10

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

Наибольшее влияние новый штамм оказывал на консистенцию, что сказывалось положительно на вкусовых ощущениях на небе, при проглатывании, и на общем впечатлении от вкуса. Респонденты отмечали, что опытные образцы йогуртов были более густыми, и при распределении на нёбе было ощущение большей полноты вкуса, сопоставимое с йогуртом на основе более жирного молока. Респондентам нравилось есть йогурт с минимальным количеством жира, но ощущать его полный вкус.

Об отсутствии влияния *L. plantarum* AG10 на внешний вид свидетельствует также результаты тестирования цветности изделий (таблица 31). Показатель белизны *L* во всех случаях был 100 единиц. Показатели *a* и *b* не отличались у разных образцов.

На рисунке 55 представлена динамика численности МКБ в обезжиренном кисломолочном продукте в процессе хранения. В продукте содержалось достаточное количество МКБ, которое соответствует уровню, рекомендованном ТР ТС 033/2013 и FAO/WHO (2002) (более 10^7 КОЕ/мл), наибольшее количество МКБ сохранялось в варианте 30 % AG10, чтобы свидетельствует о высокой сохранности пробиотической микрофлоры в КМП.

Таблица 31 – Изменение цветовых характеристик обезжиренных йогуртов в процессе хранения

Образец	Время хранения, сут	<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	<i>C</i>
Йогурт	1	100 ± 0	-6,38 ± 0,26	21,81 ± 0,48	22,72 ± 0,25
	7	100 ± 0	-5,32 ± 1,21	17,44 ± 1,08	18,23 ± 0,88
	14	100 ± 0	-4,82 ± 0,85	18,96 ± 2,03	17,90 ± 1,28
	21	100 ± 0	-8,77 ± 1,25	19,98 ± 0,98	21,23 ± 0,59
Йогурт + AG10 (10 %)	1	100 ± 0	-7,13 ± 0,11	21,69 ± 0,61	22,83 ± 0,36
	7	100 ± 0	-5,37 ± 0,57	16,90 ± 0,24	17,73 ± 0,35
	14	100 ± 0	-3,90 ± 1,25	17,16 ± 1,01	17,89 ± 1,27
	21	100 ± 0	-4,59 ± 1,06	19,34 ± 0,99	19,87 ± 1,00
Йогурт + AG10 (20 %)	1	100 ± 0	-6,64 ± 0,56	20,61 ± 0,24	21,66 ± 0,45
	7	100 ± 0	-6,37 ± 1,85	19,17 ± 1,58	20,20 ± 2,35
	14	100 ± 0	-4,57 ± 1,25	18,28 ± 2,44	18,17 ± 1,65
	21	100 ± 0	-5,33 ± 0,39	13,95 ± 1,25	16,00 ± 1,57
Йогурт + AG10 (30 %)	1	100 ± 0	-6,84 ± 0,26	18,61 ± 0,14	19,66 ± 0,45
	7	100 ± 0	-5,27 ± 1,05	19,07 ± 1,44	20,01 ± 1,35
	14	100 ± 0	-4,87 ± 1,05	18,14 ± 2,14	18,17 ± 1,65
	21	100 ± 0	-5,63 ± 0,39	18,95 ± 1,49	18,80 ± 1,61

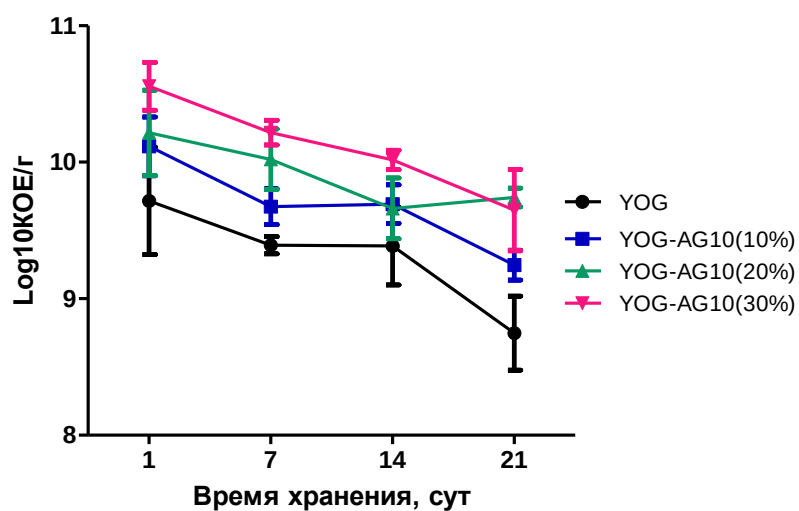


Рисунок 55 – Динамика количества молочнокислых бактерий в процессе хранения пробиотических йогуртов

Известно об уменьшении *L. casei* на порядок в ферментированном молоке, поддерживая популяции от 10^5 до 10^6 КОЕ/мл [82]. В целом в немногих исследова-

ниях сообщается о постоянном подсчете *L. casei* в йогуртах после 21–28 сут хранения [397]. *Lactobacillus reuteri* демонстрирует сокращение на 2 и 3,5 log при хранении для йогурта и ферментированного молока соответственно. Аналогичные подсчеты (10^6) *L. reuteri* были зарегистрированы в молоке и в ферментированной сыворотке 10^7 ; после 28 сут хранения в холодильнике [69]. *Lactobacillus reuteri* имел хорошую стабильность и жизнеспособность в ферментированных молочных продуктах в текущем исследовании. Рекомендованные уровни МКБ более 10^7 сохранялись на 14-е и 21-е сутки.

Что касается качества сквашенного йогурта, то внесение в небольшом количестве новых штаммов МКБ не привело к ухудшению санитарно-эпидемиологического состояния продукта через 21 сут хранения при 4 °C (таблица 32). Микрофлора сквашенных продуктов отражает качество закваски, санитарно-гигиеническое состояние оборудования, используемого для приготовления йогурта. В тестируемых продуктах санитарно-гигиенические показатели качества были в пределах нормы, что говорит о высоком качестве и безопасности сквашенных продуктов.

Таблица 32 – Бактериологические показатели качества пробиотических йогуртов (21 сут хранения)

Образец сквашенного продукта	Группа микроорганизмов,				
	БГКП (колиформы)	<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i>	<i>S. aureus</i>	Дрожжи
Норма по ТР ТС 033/2013 (масса продукта, в которой не допускается присутствие бактерий, г)	3	10	50	10	10
Йогурт	Не обнаружены				
Йогурт + AG10 (10 %)	Не обнаружены				
Йогурт + AG10 (20 %)	Не обнаружены				
Йогурт + AG10 (30 %)	Не обнаружены				

Статистический анализ экспериментальных данных по химическим, антиоксидантным и текстурным показателям в процессе хранения выявил гомологичный ход кривых на координатной плоскости для разных вариантов заквасок (рису-

нок 56). Наглядно показано, что существенное влияние на качественные параметры йогуртов проявляется при внесении в закваску 30 % нового штамма *L. plantarum* AG10, меньшее количество оказывает несущественное влияние.

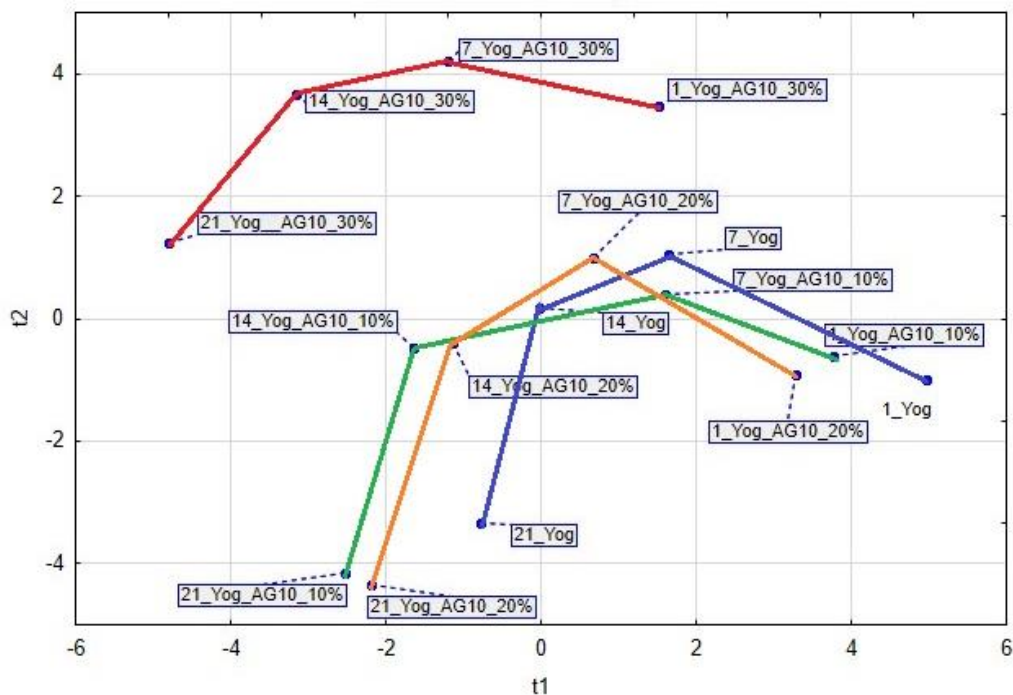


Рисунок 56 – Принципиальный компонентный анализ йогуртов по комплексу показателей в процессе хранения

Выявлено положительное влияние нового штамма *L. plantarum* AG10 на физико-химические характеристики обезжиренного сквашенного молока в синергизме с йогуртовой закваской. Добавление штамма *L. plantarum* AG10 увеличивает количество белка в сквашенном молоке, уменьшает содержание декстрозы, уменьшает синерезис и увеличивает водоудерживающую способность. Кроме того, данный синергизм приводит к увеличению вязкости продукта, также увеличиваются радикал-связывающая способность и восстановительная активность. При этом наилучшие показатели продуктов были выявлены на четырнадцатые сутки хранения, дальнейшее хранение продукта приводит к снижению как технологических, так и антиоксидантных показателей. Применение штамма *L. plantarum* AG10 приводило к улучшению вкусовых качеств йогурта, и можно даже говорить о его роли в технологии КМП как функционального имитатора жира. Необходимо отметить,

что для йогурта в среднем при асептическом розливе и при отсутствии использования стабилизаторов срок хранения составляет 14 сут. В случае использования в составе йогуртовой закваски незаквасочного штамма *L. plantarum* AG10 срок хранения можно увеличить до 21 сут без использования стабилизатора.

Для производства пробиотического йогурта с улучшенными физико-химическими и антиоксидантными свойствами рекомендуется использовать следующую формулу закваски: штамм *Lactopantibacillus plantarum* AG10 – 30 %, йогуртовая закваска в составе *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* и *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* – 70 % от общей массы вносимой закваски. При раздельном внесении штамм *Lactopantibacillus plantarum* AG10 – 30 %, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* – 35 %, *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* – 35 %.

5 Научное обоснование применения картофельного крахмала, модифицированного бактериальными ферментными препаратами амилолитического ряда, в молочной промышленности

5.1 Закономерности изменения свойств крахмалов под действием мультиферментных бактериальных препаратов

Физико-химические свойства крахмалов. Исходя из опыта предыдущих исследований модификации картофельного крахмала чистыми альфа- и бета-амилазами [54; 55; 56; 52] и с целью минимизации финансовых затрат в качестве ферментных препаратов для модификации крахмала выбраны два амилазных препарата:

- широко применяемый в животноводстве как биологическая активная добавка Амилосубтилин™ – препарат, вырабатываемый *Bacillus subtilis*, форма препарата – сухой порошок;

- амилаза *Bacillus licheniformis*, применяемая для осахаривания сусла в пищевой промышленности, форма препарата – жидкая питательная среда, освобожденная от клеток, высокой степени очистки.

Оба препарата не являются моноферментами, их можно назвать мультиферментными препаратами, с остаточным содержанием сопутствующей активности – целлюлазной, протеазной и др. Эти препараты характеризуются низкой стоимостью, высокой активностью, поэтому их применение целесообразно с экономической точки зрения.

На этапе исследования действия бактериальных амилаз в составе мультиферментных препаратов на картофельный крахмал варьировали время обработки и концентрацию фермента. В результате были получены образцы крахмалов, коды которых указаны в таблице 33; описаны условия их получения.

Таблица 33 – Условия получения картофельных крахмалов с ферментативной обработкой

Крахмал	Время обработки, ч	Активность амилаз, У/г крахмала	Амилосубтилин, г/100 мл реакционной смеси	Амилаза <i>Bacillus licheniformis</i> , мл/100 мл реакционной смеси
АМ-0.05	1	0,415	0,0100	—
АМ-0.1	1	0,830	0,0201	—
АМ-0.5	1	2,070	0,1005	—
АМ-1	1	8,300	0,2010	—
АМ-4	4	0,830	0,0201	
АМ-6	6	0,830	0,0201	
АМ-8	8	0,830	0,0201	
ВЛ-0.05	1	0,415	—	0,05
ВЛ-0.1	1	0,830	—	0,1
ВЛ-0.5	1	4,150	—	0,5
ВЛ-1	1	8,300	—	1
ВЛ-4	4	0,830		0,1
ВЛ-6	6	0,830		0,1
ВЛ-8	8	0,830		0,1

Анализ особенностей полученных крахмалов показал, что даже в минимальных используемых дозах происходило изменение физико-химических, технологических свойств. В первую очередь изменилось процентное содержание амилозы и амилопектина, что повлекло за собой изменение вязкости. При модификации крахмалов наблюдается резкое снижение доли амилозы и, соответственно, увеличение амилопектина по сравнению с нативным образцом. У крахмалов, модифицированных амилосубтилином (АМ), это более выражено, чем у крахмалов, обработанных амилазой *B. Licheniformis* (ВЛ). Амилоза легко растворяется в теплой воде, образуя растворы с невысокой вязкостью; в нашем случае доля амилозы повышалась в образцах ВЛ-0.05, ВЛ-0.1, ВЛ-0.5. Изменение вязкости крахмальных клейстеров во многом определяет и изменение вязкости готового продукта.

У модифицированных крахмалов по сравнению с нативным снижается вязкость (таблица 34) в следующей закономерности: чем больше концентрация и время воздействия, тем ниже вязкость.

Таблица 34 – Физико-химические характеристики крахмалов, модифицированных с помощью бактериальных мультиферментных препаратов амилосубтилина и амилазы *B. licheniformis*

Образец крахмала	Амилоза, %	Амилопектин, %	Декстрозный коэффициент, г глюкозы /100 г	Белок, г/100 г крахмала	Влажность, %	Динамическая вязкость, Т	Температура желирования, °С	Растворимость, % (20 °С)	Водосорбирующая активность (20 °С), г воды/ г крахмала	Эмульгирующая емкость, г масла/ г крахмала
Native	24,99	75,01	0,69	0,48	10,22	28,03	69,0	1,21	1,37	6,05
AM-0.05	13,09	86,91	1,44	0,15	10,23	4,58	61,5	6,97	2,14	3,00
AM-0.1	7,83	92,17	0,18	0,13	9,78	3,44	57,9	8,64	2,27	2,51
AM-0.5	14,80	85,20	0,92	0,02	10,63	3,96	59,8	5,30	2,18	2,40
AM-1	13,00	87,00	0,99	0,23	12,46	4,55	54,7	2,79	2,05	1,90
AM-4	6,67	93,33	0,27	0,09	9,26	1,79	–	7,76	1,00	9,67
AM-6	1,73	98,27	0,22	0,17	10,06	1,48	–	5,05	1,36	9,34
AM-8	1,21	98,79	0,28	0,24	8,24	1,50	–	3,01	1,06	9,52
BL-0.05	25,87	74,13	1,23	0,44	11,42	4,24	59,0	4,30	2,08	1,00
BL-0.1	27,70	72,30	0,99	0,12	9,40	4,11	55,0	3,38	2,15	0,90
BL-0.5	25,35	74,65	1,21	0,19	10,40	5,22	56,7	4,40	1,97	0,80
BL-1	18,99	81,01	1,61	0,43	9,92	4,69	57,6	7,39	1,68	1,10
BL-4	0,80	99,20	0,19	0,28	8,94	2,07	–	13,80	0,80	7,51
BL-6	0,72	99,28	0,29	0,35	8,95	1,95	–	16,13	0,76	6,03
BL-8	0,89	99,11	0,09	0,11	8,93	1,82	–	12,50	1,20	5,51

Темпы снижения вязкости у BL-крахмалов выше, что, видимо, объясняется спецификой используемого для модификации ферментного препарата, особенностями гидролитических изменений в полимерной цепочке полисахарида под действием амилаз. По сравнению с нативным крахмалом после модификации выявлено значительное снижение температуры желатинизации у крахмалов, температура желатинизации была ниже в образцах BL. Надо заметить, что снижение этого показателя упрощает введение ФМК в пищевой продукт.

Показатель декстрозного эквивалента по сравнению с нативным крахмалом у модифицированных крахмалов ниже (см. таблицу 34). После модификации крахмала амилосубтилином эмульгирующая способность резко повысилась, но дальнейшее повышение концентрации фермента снижало этот показатель. В отличие от нативного крахмала, у модифицированных образцов водосорбирующая активность повышалась в зависимости от концентрации фермента и времени обработки. Так, низкие дозы приводили к увеличению ВСС, а увеличение времени обработки с максимальной дозой внесения ферментов обуславливало снижение ВСС. Растворимость ФМК многократно увеличивалась по сравнению с нативным картофельным крахмалом.

Оптические свойства крахмалов. Нативный крахмал имел зерна округлой правильной формы, с мелкими частицами гранул, с ровными неиспещренными краями. Для крахмала, модифицированного наименьшей концентрацией амилосубтилина (0,05), характерна потеря внешних четких границ, появление внутренних радиальных слоев (рисунок 57). Повышение концентрации приводит к снижению количества крупных гранул и увеличению количества осколочных неправильных частиц. Для образцов АМ-0.5 и АМ-1 характерно разбухание круглых зерен, что ведет к увеличению количества гранул неправильной формы с испещренными краями.

У крахмала, модифицированного амилазой *B. licheniformis* в концентрации 0,05, внешние слои не затронуты, однако в центре зерна появляется центральная впадина. Для образца BL-0.1 более выражены эффекты центрального креста и размытия границ гранул.

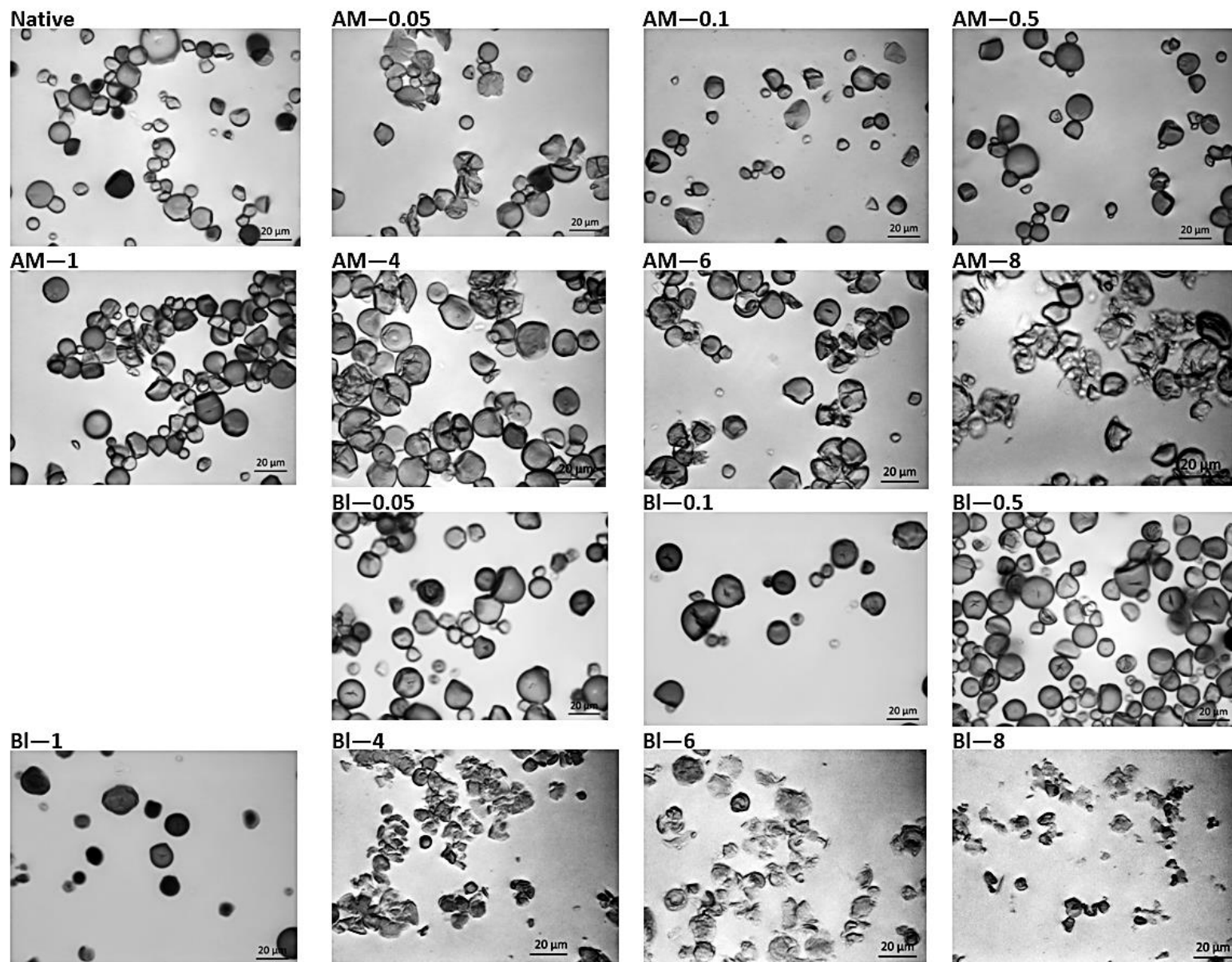


Рисунок 57 – Микрофотографии картофельных крахмалов, частично гидролизированных бактериальными амилазами

Дальнейшее увеличение концентрации приводит к более выраженному проявлению концентрических кругов, наблюдается набухание гранул и размытие границ. У образцов BL-1, 4, 6 и 8 гранулы приобретают неправильную форму с неровными краями, теряют четко оформленную границу.

Структурные изменения крахмальных зерен после ферментной модификации в сухом виде были изучены с помощью сканирующей электронной микроскопии (рисунок 58). Нативный крахмал имел зерна правильной округлой формы, присутствовали как крупные, так и мелкие частицы, гранулы имели ровные неиспещренные края. Для крахмала, модифицированного наименьшей концентрацией амило-субтилина (АМ-0.05), характерна потеря внешних четких границ, края гранул становятся неровными, с выемками и углублениями. Увеличение концентрации приводило к увеличению количества осколочных неправильных частиц крахмала с многогранными краями, снижению количества крупных гранул, а оставшиеся имели неровные края. Модификация приводила к распаду крупных гранул на более мелкие с неправильной формой, с испещренными краями, углублениями.

Немного другая картина характерна для крахмалов, модифицированных амилазным препаратом *B. licheniformis*. Так, у крахмала, модифицированного амилазой *B. licheniformis* в концентрации 0,05 (наименьшей), внешние слои становились шероховатыми, форма гранул не изменялась, видимых углублений не наблюдалось. У образца BL-0.1 заметно увеличение количества мелких гранул с неправильными краями, на которые, видимо, распадалась более крупные гранулы; становились заметными трещины на поверхности гранул. Дальнейшее увеличение концентрации приводило к шероховатости гранул, визуализировались неровные испещренные края. Виден гидролиз внешних слоев в виде трещин и провалов. У образцов BL-1, 4, 6, 8 гранулы приобретали неправильную форму с неровными краями, у некоторых гранул наблюдались расслоение и потеря формы.

Таким образом, характер повреждений, которые были обнаружены в крахмалах под действием амило-субтилина, отличается от повреждений, появившихся в результате действия амилазы *B. licheniformis*. Это может быть обусловлено различиями в действии лидирующей амилазы, а также в действии минорных ферментных активностей, глюкоамилаз, пуллулаза и др.

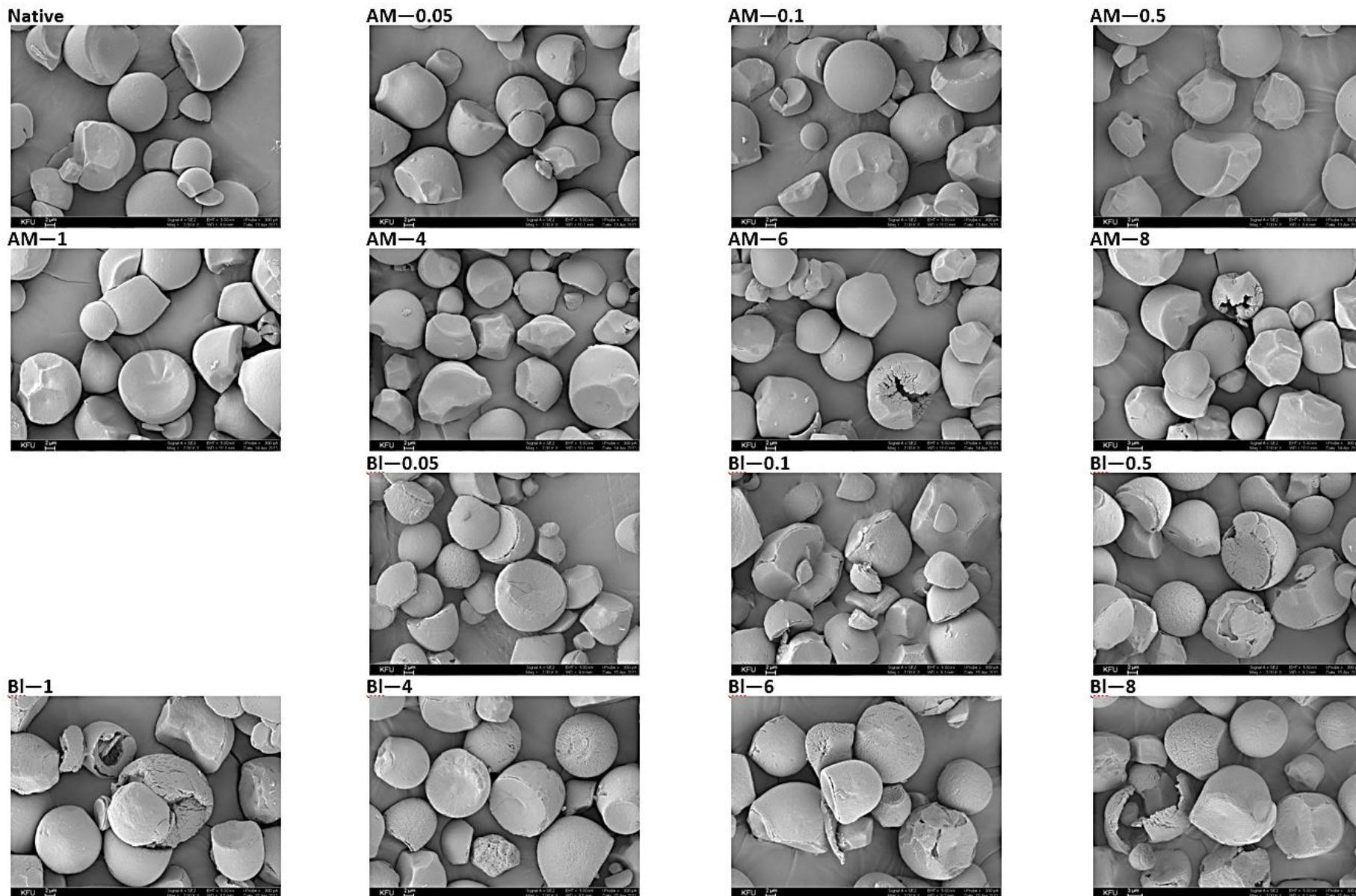


Рисунок 58 – СЭМ-фотографии крахмальных гранул крахмалов, частично гидролизованых бактериальными амилазами

Термогравиметрический анализ крахмалов. Термическая деградация и стабильность крахмала при термообработке являются важными вопросами как с научной, так и с промышленной точки зрения. Обезвоживание и деградация молекул крахмала являются двумя основными процессами, связанным с механизмами деградации крахмала.

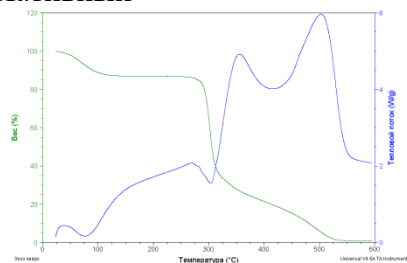
Согласно результатам последних исследований, механизм термического разложения крахмала можно разделить на три этапа. Первый этап – физическое обезвоживание, содержание воды зависит от поглощенной и избыточной воды в крахмале. Второй этап – химическое обезвоживание и термическое разложение, при котором термические реакции начинаются при температуре около 300 °C и являются тепловой конденсацией между гидроксильными группами крахмальных цепей с образованием эфирных участков и высвобождением молекул воды. Последний этап – реакции карбонизации при температурах выше 500 °C. Дальнейшее нагревание относительно больших конъюгированных ароматических структур, образованных при температуре около 600 °C, приводит к образованию аморфного углерода.

Температура термического разложения крахмала повышается с увеличением отношения амилопектина и амилозы. Такая зависимость может быть связана с более высокой молекулярной массой амилопектина, которая требует больше энергии для разрушения молекул. На первом этапе потеря массы молекулами крахмала вызвана дегидратацией, которая закончилась при температуре около 100 °C у всех образцов. Данному процессу соответствует эндотермический пик на кривой ДТА.

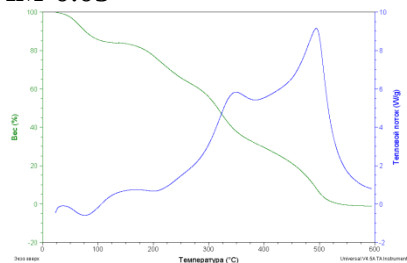
Второй этап потери массы можно объяснить разложением органического вещества с соответствующим экзотермическим пиком, который видно на кривой ДТА. Второй этап химического обезвоживания и химического разложения имеет более высокие значения температур у модифицированных крахмалов, чем у нативного. Этот эффект ферментной модификации может быть связан с более разрыхленной структурой крахмальных зерен и более глубоким и сильным проникновением молекул воды в структуру полимера. Отсюда более длительная и постепенная дегидратация, а также более гладкий ход кривой ТГ, т. е. потеря массы.

Термограммы для картофельных крахмалов (рисунок 59) демонстрируют более устойчивое поведение деградации нативного картофельного крахмала.

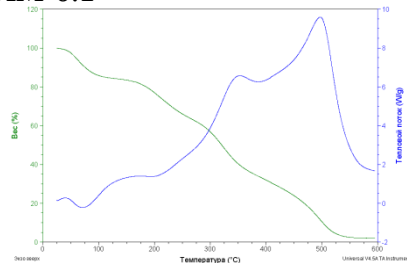
Нативный



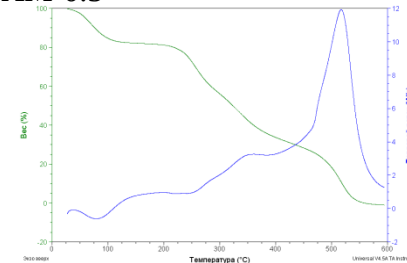
AM-0.05



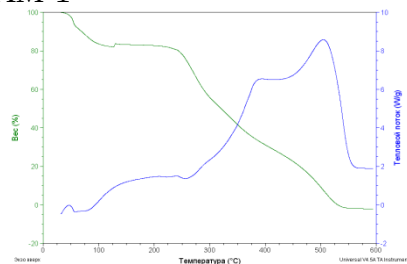
AM-0.1



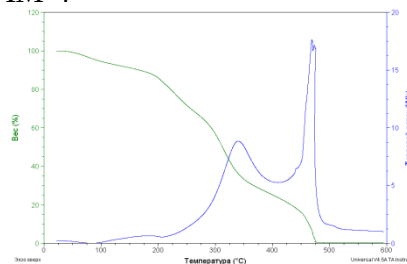
AM-0.5



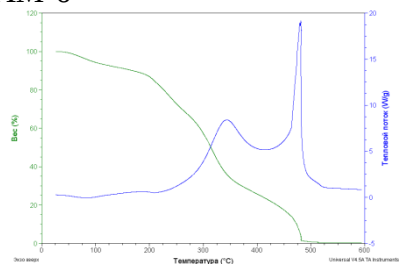
AM-1



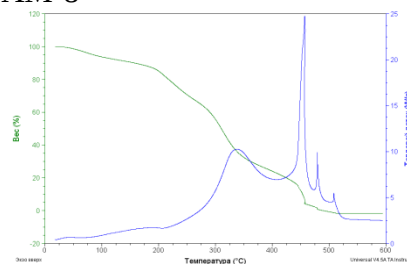
AM-4



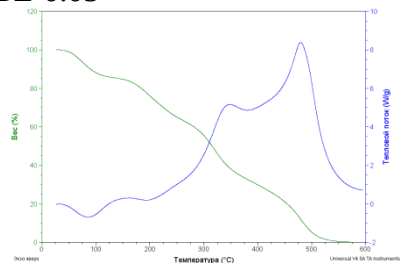
AM-6



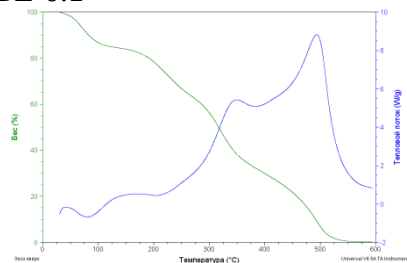
AM-8



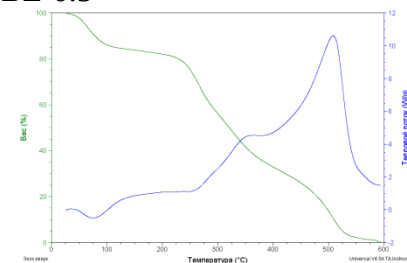
BL-0.05



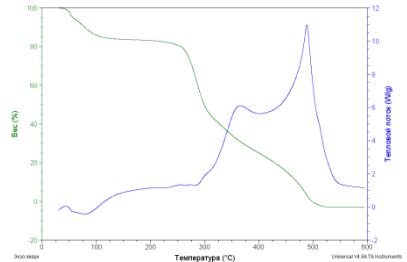
BL-0.1



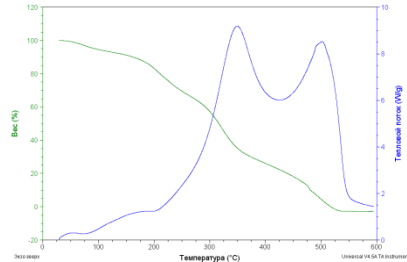
BL-0.5



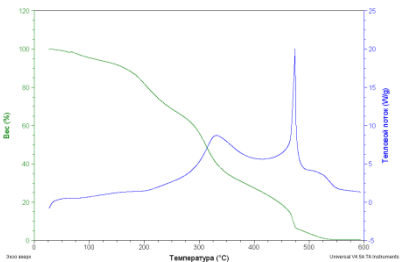
BL-1



BL-4



BL-6



BL-8

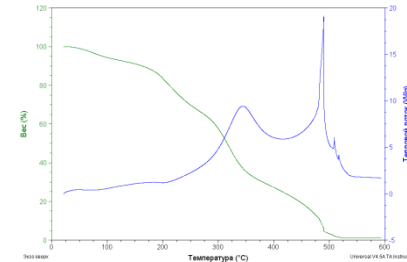


Рисунок 59 – Термогравиметрический анализ крахмалов, частично гидролизованых бактериальными амилазами

На первом этапе показано удаление воды, содержащейся в образце, что составляет 9,46 % (0,47 мг) при повышении температуры образца от комнатной до 231,78 °С. Второй этап показывает деградацию большей части образца – 68,40 % (3,41 мг) – в температурном интервале от 231,78 °С до 393,90 °С, в котором большая часть крахмала разрушается. На третьем этапе другие компоненты – 21,13 % (1,05 мг) – рекомбинируют с неорганической частью (жиром, белком) при повышенной температуре от 393,90 °С до 611,98 °С. Остаток 0,72 % (0,04 мг) указывает чистоту образца, а это означает, что в основном неорганические компоненты крахмала – это зола.

Экзотермический пик на кривой ДТА соответствует значению теплоты, высвобождающейся при сжигании производных соединений крахмала. Анализ кривой ДТА крахмалов выявил, что в случае использования ферментных препаратов на первой стадии термопревращений первый пик высвобождения энергии сглаживается, причем эти изменения более интенсивны в случае использования амилазы *B. licheniformis*. Тепловой поток в диапазоне температур 350–400 °С по мере увеличения ферментативной обработки снижался и имел тенденцию к смещению в сторону увеличения температуры высвобождения.

Увеличение времени воздействия ферментов до 4–8 ч (образцы АМ-4, 6, 8 и ВЛ-4, 6, 8) привело к изменению поведения крахмалов при более высоких температурах (в районе 450–500 °С) (таблица 35).

Если у нативного крахмала наибольшие пики высвобождения энергии были на уровне 5 и 6 У/г крахмала при температуре 500 °С, то в ряду амилосубтилиновых крахмалов наибольший пик высвобождения энергии повышался от 9 до 12 У/г крахмала в ряду АМ-0.05 до АМ-0.5; в случае крахмала, обработанного большей концентрацией фермента, это значение снизилось до 8 У/г крахмала. Однако увеличение времени воздействия до 4–8 ч привело к увеличению пика до 18–20 У/г.

После обработки крахмалов амилазой *B. licheniformis* при повышении концентрации были получены крахмалы, в ряду которых повышалась энергия высвобождения при 500 °С от 8 до 11 У/г крахмала, а у крахмалов ВЛ-6 – от 8 до 20 У/г крахмала.

Таблица 35 – Потери массы нативного и обработанных картофельных крахмалов, рассчитанные по данным ТГА

Образец	Потеря массы, %				Остаток, %
	Первая стадия	Вторая стадия	Третья стадия	Четвертая стадия	
Нативный	13,09	58,77	27,25	—	0,89
АМ-0.05	15,21	20,10	31,83	29,45	3,40
АМ-0.1	15,03	16,36	33,95	31,64	2,02
АМ-0.5	17,54	24,03	23,51	34,78	0,14
АМ-1	17,50	38,38	19,29	24,66	0,17
АМ-4	9,37	24,53	41,26	24,61	0,21
АМ-6	8,51	21,53	46,85	22,83	0,26
АМ-8	12,79	19,66	44,44	22,75	0,30
ВЛ-0.05	14,26	21,41	31,49	32,72	0,01
ВЛ-0.1	15,34	19,79	32,61	32,06	0,14
ВЛ-0.5	15,98	29,67	20,88	33,11	0,34
ВЛ-1	16,28	53,67	29,85	—	0,20
ВЛ-4	8,33	21,76	44,43	25,25	0,20
ВЛ-6	7,97	23,09	43,12	25,33	0,48
ВЛ-8	8,91	65,93	23,92	—	1,24

У этих крахмалов поток энергии в указанном диапазоне стал более компактным, что свидетельствует о химической однородности этих крахмалом, видимо, в результате модификации были сформированы полимерные цепочки однородной длины.

Изменение размера гранул крахмала и прозрачности клейстера. Измерение динамического размера гранул крахмальных растворов дает представление об однородности формируемого геля и определяет перспективу использования для формирования однородной текстуры продукта.

Распределение макромолекул нативного картофельного крахмала в ДМСО носит бимодальный характер с максимумами R_h 28 и 68 нм (рисунок 60). При этом 67 % общей площади под пиками распределения интенсивности рассеяния света приходится на фракцию частиц крупного размера (50–141 нм). Подобное распределение на две фракции соответствует амилозной и амилопектиновой части крахмала, последний играет важную роль в светорассеянии раствором крахмала.

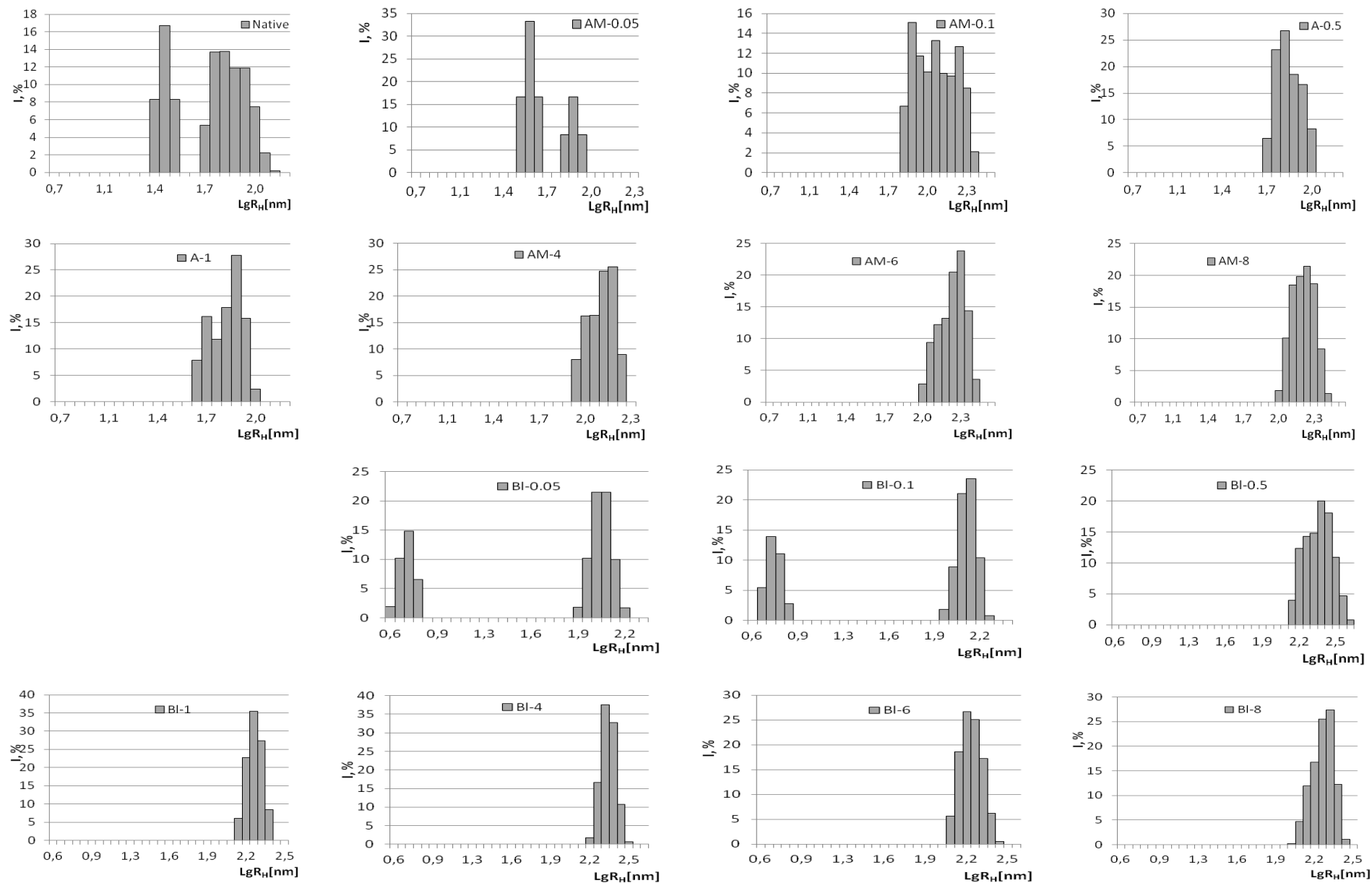


Рисунок 60 – Динамический размер гранул крахмала картофельного, частично гидролизированных бактериальными амилазами

В результате обработки амилосубтилином бимодальность исчезла уже у образца АМ-0.1, дальнейшее увеличение концентрации, а также времени обработки привело к постепенному формированию крахмалов с более однородными по размерам гранулами (см. рисунок 60). При использовании амилазы *B. licheniformis* бимодальность распределения гранул исчезла у образца ВЛ-0.5, т. е. при большей концентрации используемого препарата. Характер полученных в результате крахмальных гранул у крахмалов типа ВЛ схож с крахмалами АМ, однако они отличались большей однородностью, о чем свидетельствует узкий диапазон динамического радиуса.

Обработка крахмала амилосубтилином в основном связана с гидролизом амилозной фракции картофельного крахмала, что подтверждается предыдущими результатами по определению процентного содержания фракций, и, как и следовало ожидать, процесс этот идет тем интенсивнее, чем больше концентрация вносимого фермента при модификации.

В случае модификации амилазой *B. licheniformis* изменение размера молекул крахмала говорит о модификации как амилозной, так и амилопектиновой фракции. Причем в низких дозах внесения фермента большим изменениям подвергается амилопектиновая фракция, ее процентное содержание уменьшается. Крахмалы ВЛ-0.05, ВЛ-0.1 содержат более мелкие молекулы амилозы и более крупные молекулы амилопектина по сравнению с нативным крахмалом. Увеличение концентрации фермента при модификации привело к элиминации мелких гранул, а амилопектиновая фракция крахмалов ВЛ-0.5, ВЛ-1.0 оказалась более крупной в сравнении с нативным крахмалом. Увеличение размера молекул амилопектина у крахмалов ВЛ-0.5, ВЛ-1–ВЛ-8, вероятно, связано с действием ферментного препарата комплексной природы, который может не только оказывать гидролитическое действие, но и вызывать перенос части молекулы амилозы или амилопектина на другую молекулу с образованием новой гликозидной связи. Кроме того, можно предположить, что в результате гидролиза эндосвязей амилопектина происходит более легкое разрыхление амилопектиновой фракции в среде ДМСО, аналогичной воде.

Прозрачность гелей, образуемых крахмалами, важна с точки зрения влияния крахмалов на цвет и внешний вид пищевых продуктов, в которых он будет использоваться. Важно отметить, что модификация уже в низких дозах приводит к формированию прозрачного геля картофельных ФМК. Причем прозрачность сохраняется высокой даже при используемой концентрации крахмала 2 % (рисунок 61).

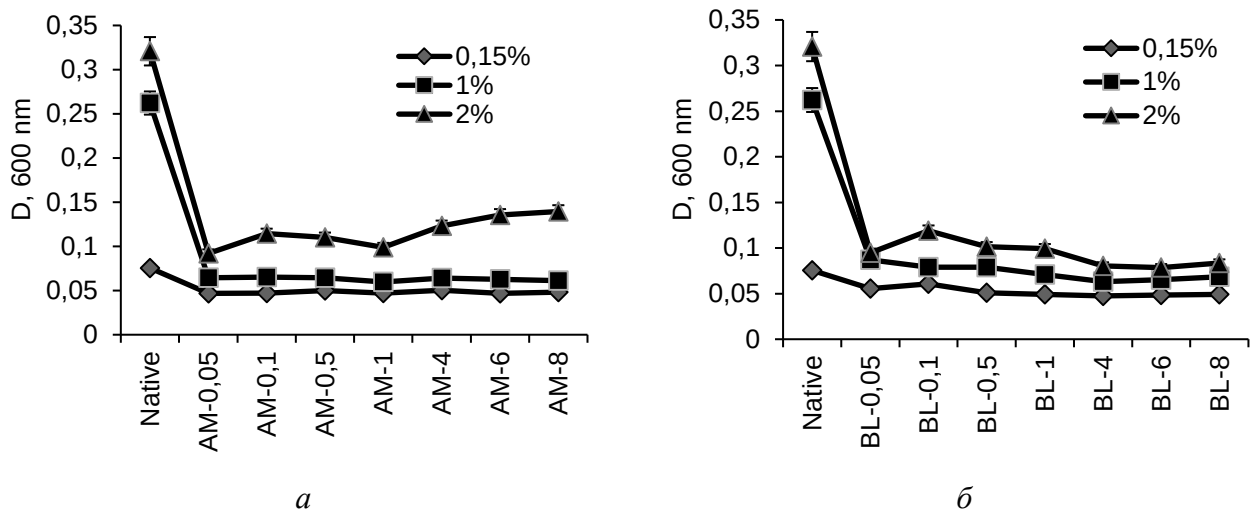


Рисунок 61 – Изменения прозрачности клейстера из крахмалов, частично гидролизованных бактериальными амилазами (*a* – амилазой *B. licheniformis*), при варьировании концентрации полисахарида

Протективные свойства ферментно модифицированных крахмалов.

С точки зрения введения крахмала как компонента не только структурно-корректирующего, но и способного внести вклад в функциональность продукта, протективные свойства очень важны. Выявлено, что восстановительная активность ФМК, обработанных малой дозой (0,05–1), в ряде случаев больше, чем нативного крахмала. Увеличение степени гидролиза за счет увеличения времени обработки ведет к потере высокой восстановительной активности (рисунок 62).

Способность связывать свободные радикалы (РСА) у крахмалов, прошедших модификацию независимо от режима, была выше, чем у нативного крахмала (рисунок 63). Возможно, это связано с показанным выше разрыхлением крахмальных зерен и, как следствие, формированием амилопектиновых мицелл, способных захватывать свободные радикалы.

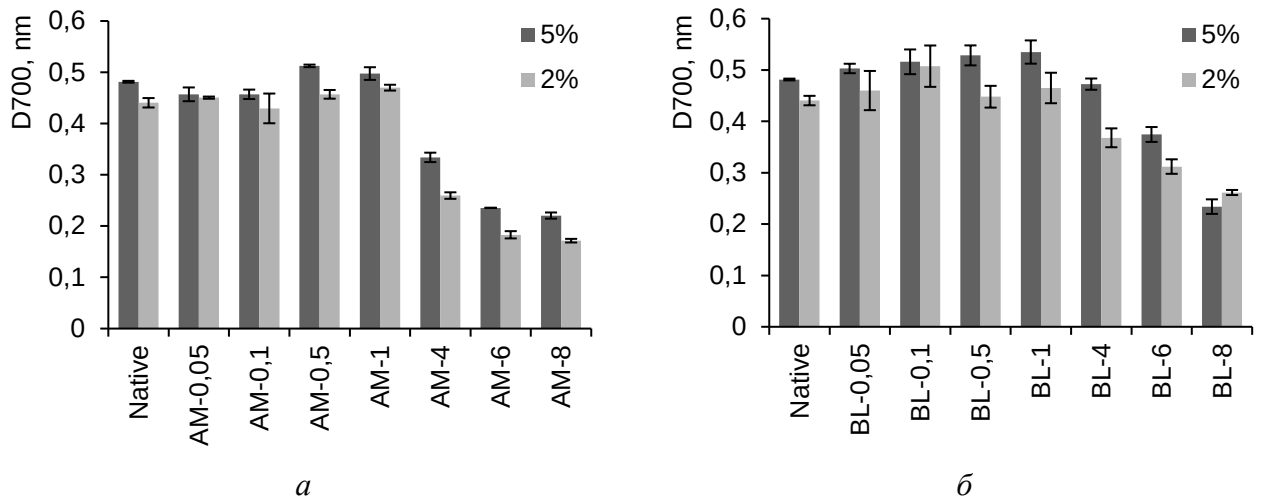


Рисунок 62 – Восстановительная активность крахмалов, частично гидролизированных бактериальными амилазами (*a* – амила-субтилином, *б* – амилазой *B. licheniformis*), при варьировании концентрации

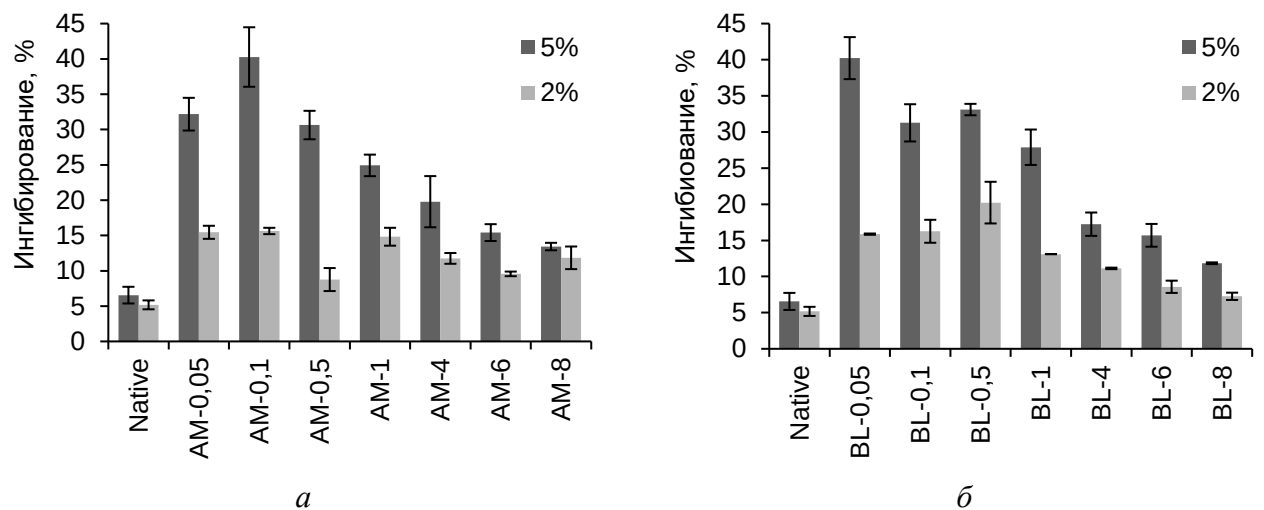


Рисунок 63 – Ради-кал-связывающая активность крахмалов, частично гидролизированных бактериальными амилазами (*a* – амила-субтилином, *б* – амилазой *B. licheniformis*), при варьировании концентрации

Резистентность крахмалов к различным факторам среды. В последнее время внимание исследователей направлено на изучение и получение модифицированных крахмалов, резистентных к воздействию различных физико-химических факторов. В связи с этим проверка термостабильности, кислотоустойчивости и ферментативной резистентности крахмалов весьма актуальна, что и было затро-нуто в данной работе.

Терморезистентность. В технологических процессах, связанных с использованием крахмала, ключевым аспектом является его поведение при нагревании. Для оценки термоустойчивости крахмалов измеряли количество глюкозы, образующейся в результате термического разрушения крахмала.

При нагревании до 80 °С наиболее нестабильными оказались крахмалы АМ-0.05, АМ-0.1 и АМ-0.5, а также крахмалы, модифицированные амилазой *B. licheniformis*. В их растворах было зафиксировано большее содержание глюкозы по сравнению с нативным крахмалом и другими образцами (рисунок 64).

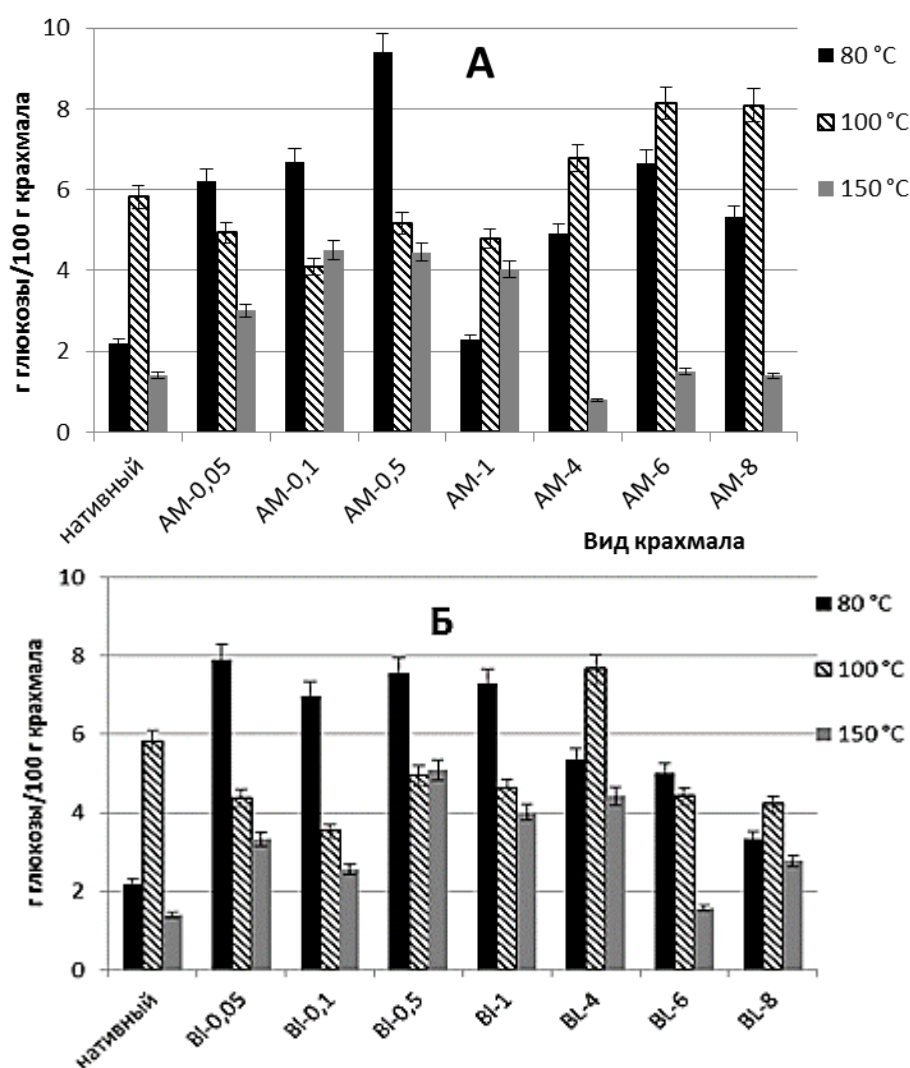


Рисунок 64 – Остаточное содержание глюкозы после выдержки крахмальных клейстеров при различной температуре: *а* – крахмалы, обработанные амилосубтилином; *б* – крахмалы, обработанные амилазой *B. licheniformis*

Нативный крахмал проявил наивысшую устойчивость, что связано с сохранением целостности его гранул. Образец АМ-1 также показал высокую устойчивость, а концентрация глюкозы в нем была близка к нативному крахмалу. Это объясняется изначально высоким содержанием глюкозы и значительной степенью разрушения крахмального зерна, что препятствует выделению дополнительной глюкозы при нагревании.

При температуре 100 °С модифицированные крахмалы выделяли меньше глюкозы, чем нативный. Высокая температура плавления нативного крахмала способствовала более полному высвобождению глюкозы при данной температуре. В случае модифицированных крахмалов, обладающих более низкой температурой плавления, происходил отжиг зерен, что удерживало глюкозу внутри структуры. Среди исследованных образцов наиболее устойчивыми при нагревании до 100 °С оказались АМ-0.1 и ВЛ-0.1, содержание глюкозы оказалось минимальным.

Нагрев до 150 °С повысил термоустойчивость большинства образцов за счет процессов отжига крахмальных зерен, что привело к снижению содержания глюкозы. Исключение составили образцы АМ-0.1 и ВЛ-0.5, где концентрация глюкозы слегка увеличилась. Наибольшую устойчивость к температуре выше температуры клейстеризации продемонстрировали крахмалы АМ-0.05 и ВЛ-0.1. Таким образом, при повышении температуры возрастает устойчивость крахмалов, обработанных амилосубтилином или амилазой *B. licheniformis*.

Устойчивость к кислотному гидролизу. Для оценки кислотоустойчивости крахмалов определяли содержание глюкозы, накопившейся в реакционной смеси после гидролиза серной кислотой. Увеличение глюкозы напрямую зависело от продолжительности процесса.

Через 20 мин кислотного гидролиза наиболее устойчивыми оказались образцы АМ-1, ВЛ-0.05 и ВЛ-0.1, в которых уровень накопленной глюкозы был минимальным (рисунок 65).

Увеличение времени до 40 мин снижало устойчивость всех образцов, что проявлялось в росте концентрации глюкозы. Уровень гидролиза был выше у образцов с меньшей концентрацией амилосубтилина (АМ-0.05, АМ-0.1) и большей концентрацией амилазы *B. licheniformis*.

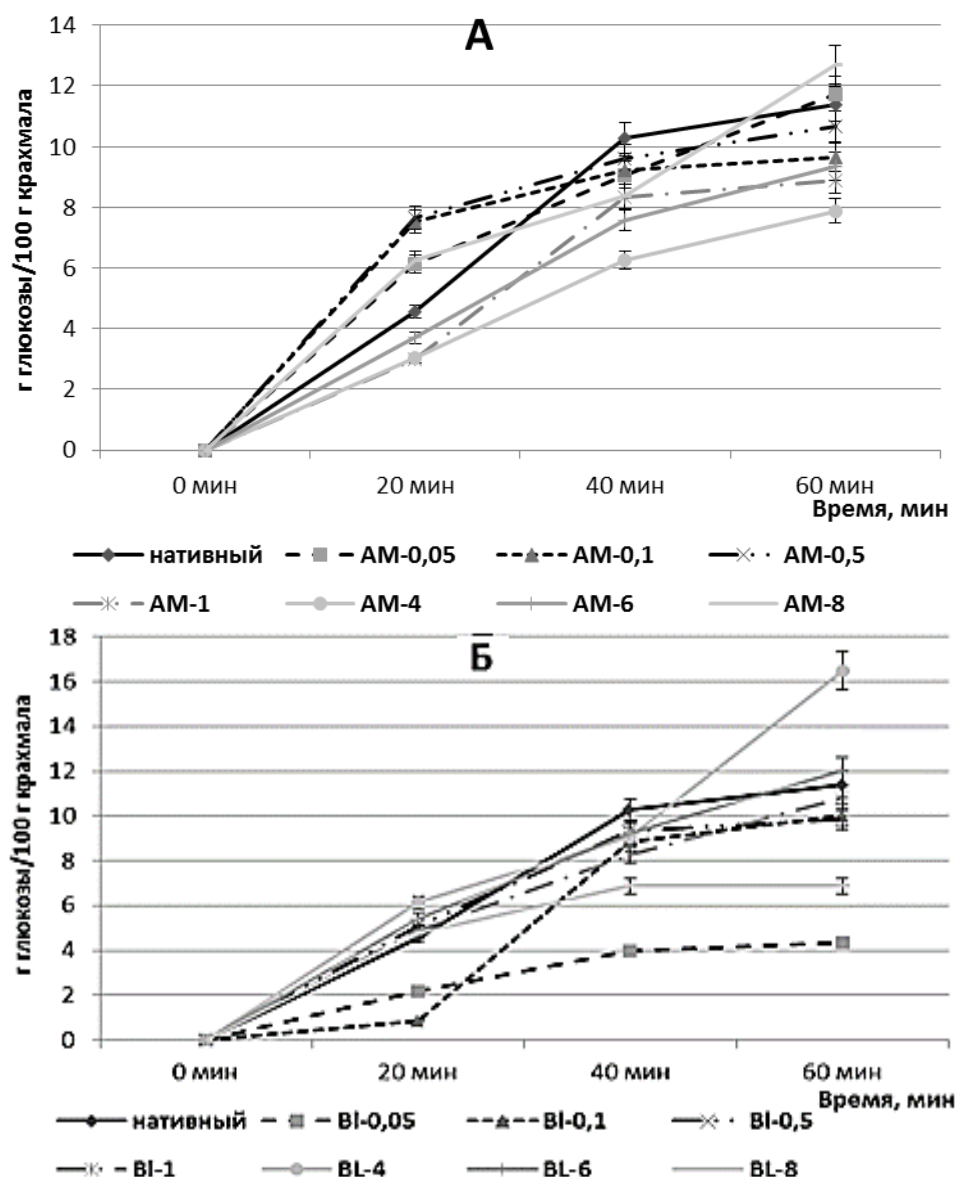


Рисунок 65 – Остаточное содержание глюкозы после обработки крахмального клейстера серной кислотой (устойчивость к химическому гидролизу): а – крахмалы, обработанные амила­суб­ти­ли­ном; б – крахмалы, обработанные амилазой *B. licheniformis*

Через 60 мин содержание глюкозы в образцах АМ-0.05, АМ-0.5 и АМ-1 увеличилось незначительно, тогда как в образцах АМ-0.1, BL-0.05, BL-0.1, BL-0.5 даже наблюдалось снижение, а в BL-1 уровень глюкозы остался неизменным. Это дает основание сделать вывод, что устойчивость крахмалов к кислотному гидролизу увеличивается при снижении концентрации при модификации амилазы *B. licheniformis* и увеличении содержания амила­суб­ти­ли­на.

Устойчивость к ферментному гидролизу. Для оценки ферментативной устойчивости исследуемых образцов крахмалов был использован фермент α -амилаза

(панкреатическая). В результате обработки α -амилазой через 20 мин наблюдалось увеличение концентрации глюкозы во всех образцах (рисунок 66).

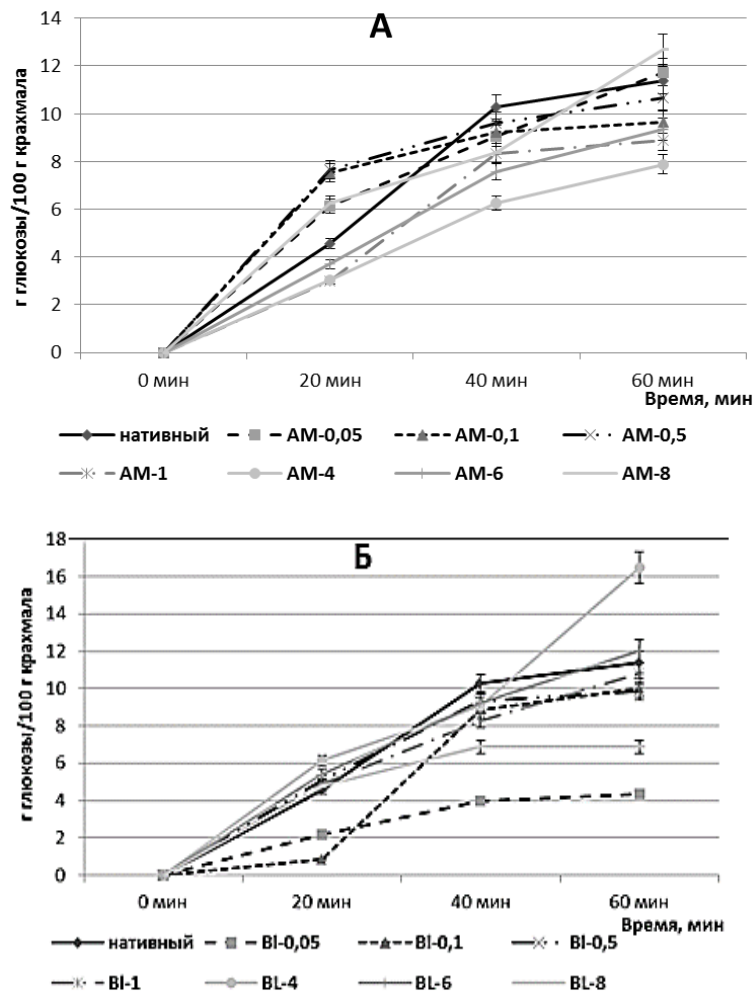


Рисунок 66 – Остаточное содержание глюкозы после обработки крахмального клейстера α -амилазой (устойчивость к ферментному гидролизу): *а* – крахмалы, обработанные амилосубтилином; *б* – крахмалы, обработанные амилазой *B. licheniformis*

В нативном крахмале прирост содержания глюкозы был максимальным по сравнению с другими образцами, за исключением AM-0.5. В дальнейшем в нативном крахмале уровень глюкозы оставался неизменным до завершения эксперимента.

Через 40 мин после начала гидролиза незначительное повышение содержания глюкозы фиксировалось в образцах AM-0.05, AM-0.1, AM-1.0, BL-0.05, BL-0.1 и BL-1.0, тогда как в образце BL-0.5 концентрация глюкозы немного снизилась.

К 60-й минуте гидролиза уровень глюкозы во всех образцах увеличился существенно, за исключением АМ-0.1, где наблюдалось небольшое снижение. Наибольшее накопление глюкозы зафиксировано в образце АМ-0.5, что указывает на его низкую устойчивость к ферментативному воздействию.

Результаты анализа подтвердили, что предварительная ферментация крахмалов амилосубтилином или амилазой *B. licheniformis*, особенно в низких концентрациях, способствует повышению устойчивости крахмалов к действию α -амилазы. Обработка крахмала ферментами *B. licheniformis* и амилосубтилином приводит к значительному увеличению ферментативной устойчивости, что делает такие модификации эффективным методом улучшения свойств крахмалов.

Предварительная ферментативная обработка повышает химическую, термическую и ферментативную стабильность картофельных крахмалов. Использование модифицированных крахмалов целесообразно в пищевой промышленности, особенно в продуктах, подвергающихся длительной тепловой обработке, включающих ингредиенты с низким рН или требующих пролонгированных процессов формирования текстуры.

Особенно эффективно использование амилазы с точки зрения получения химически чистого модифицированного крахмала с повышенной резистентностью. В настоящее время широко обсуждается использование резистентных крахмалов в специальных видах питания. Полученные результаты определяют перспективу применения ФМК в производстве продуктов питания функционального назначения, где крахмалы будут выполнять роль пищевых волокон.

Частичная ферментативная обработка картофельных крахмалов приводит к изменению физико-химических свойств (содержания амилозы, амилопектина и глюкозы), что ведет к изменению технологических параметров: вязкости, эмульгирующей емкости, водоудерживающей способности, набухаемости, растворимости и температуры желирования.

Уменьшение содержания амилозы и увеличение содержания амилопектина в совокупности с уменьшением длины цепи углеводных цепочек приводило к уменьшению вязкости нагретого крахмального клейстера. Обработка картофельного

крахмала амилосубтилином и амилазой *B. licheniformis* приводит снижению степени полимеризации и преимущественному расщеплению амилозы в случае использования амилосубтилина, таким образом процент амилопектина повышается.

Что касается применения амилазы *B. licheniformis*, то здесь наблюдается иная картина: действие этого препарата приводит к увеличению процентного содержания амилозы, что свидетельствует о преимущественном действии, особенно в малых концентрациях, на молекулу амилопектина. Однако увеличение концентрации фермента приводит к более глубокому гидролизу гранул и началу разрушения амилозных фрагментов крахмала.

Известно, что вязкость возрастает экспоненциально с увеличением длины цепи, и наоборот. В случае модифицированных крахмалов по мере гидролиза гидроколлоида наблюдалось уменьшение вязкости крахмального клейстера, причем применение ферментов приводило к снижению вязкости [293].

При измерении температуры желатинизации крахмальных клейстеров было замечено, что образцы АМ образовывали преимущественно густые непрозрачные гели, тактильная густота которых понижалась у крахмалов, обработанных большим количеством фермента. Крахмал, обработанный наименьшей концентрацией амилазы *B. licheniformis*, показывал снижение температуры желатинизации, увеличение же концентрации фермента привело к повышению значения исследуемого показателя. Данный эффект, возможно, обусловлен разницей в механизме действия амилазы *B. licheniformis* в различной концентрации. Температура желатинизации обратно пропорциональна содержанию амилозы и не зависит от структуры амилопектина [204; 399]. Таким образом, ферментативная модификация в низких концентрациях может способствовать снижению температуры желирования, пастообразования и биодоступности в результате уменьшения крахмальных зерен [55; 56].

Так как молекулы гидролизатов, будучи в большинстве своем линейными, образовывали больше водородных связей, а следовательно, требовали больше энергии для разрыва, то этим можно объяснить и повышение температуры желирования для образцов крахмала, обработанного амилазным препаратом *B. licheniformis*. Как пра-

вило, чем больше содержание амилозы, олигосахаридов и мальтодекстринов, тем выше температура желатинизации [52].

Наблюдаемое повышение влагоудерживающей способности ФМК может быть объяснено разрушением структуры гранулы, что в итоге приводило к повышенной доступности амилозы и амилопектина для атаки молекулой воды [400]. Имеются подтверждения, что неповрежденный крахмал поглощает только 30 % воды температуре при 30 °С, в то время как гидролизованный способен поглощать количество воды, равное собственному молекулярному весу [429]. Фактически водосвязывающая способность возрастала с уменьшением размера частиц, так как их площадь поверхности по отношению к объему увеличивалась [407]. Высокий уровень водосвязывающей способности указывал на свободную ассоциацию амилозы и амилопектина в грануле крахмала, в то время как низкий уровень свидетельствовал о тесном взаимодействии. Кроме того, крахмалы с низкой водопоглощающей способностью имели более высокую вязкость.

В ходе микроскопических исследований выявлено увеличение дисперсности гранул крахмала с увеличением концентрации модифицирующего фермента. Гранулы нативного крахмала имели правильную округлую форму; их обработка амилосубтилином и амилазой *Bacillus licheniformis* приводила к деградации крупных гранул до более мелких гранул неправильной формы, с нарушенной структурой, вызванной действием амилолитического фермента. Увеличение концентрации фермента приводило к увеличению количества мелких гранул с испещренными краями и набуханию гранул [52].

Таким образом, проведенная ферментативная модификация с помощью амилосубтилина *Bacillus subtilis* и амилазы *Bacillus licheniformis* расширяет границы использования нативного картофельного крахмала в пищевой промышленности. Полученные крахмалы демонстрировали различные физико-химические и технологические свойства, ряд из них проявляли резистентность к амилазам.

5.2 Научно-практическое обоснование применения картофельных крахмалов, модифицированных мультиферментными бактериальными препаратами, в технологии обезжиренных кисломолочных продуктов

Современные изменения в образе жизни и характере питания значительной части населения привели к росту заболеваемости неинфекционной природы, включая ожирение, диабет, сердечно-сосудистые патологии и рак. Согласно данным систематического анализа, в период с 1980 по 2013 г. у 39 % взрослых старше 18 лет фиксировался избыточный вес, а 13 % страдали ожирением. При этом распространенность ожирения стабильно увеличивалась среди детей и подростков как в экономически развитых, так и в развивающихся странах [316].

Одной из ключевых проблем, вызванных избыточным потреблением жиров, является развитие ожирения, которое, в свою очередь, значительно повышает риск возникновения сахарного диабета II типа, ишемической болезни сердца, артериальной гипертензии, заболеваний желчного пузыря, определенных видов онкологии, дислипидемии и инсулинорезистентности [10].

Сложившаяся ситуация стимулирует разработку низкокалорийных продуктов и продуктов с пониженным содержанием жиров. Такие изделия должны учитывать диетические потребности различных групп населения: людей с ожирением, пациентов с риском развития сердечно-сосудистых заболеваний, диабетиков и тех, кто придерживается низкожировой диеты для контроля массы тела. Кроме того, эти продукты должны быть привлекательны для потребителей, чтобы мотивировать их к включению таких товаров в свой рацион [342; 373].

Спектр применения растительных полисахаридов широк: это и мясоперерабатывающая отрасль, где крахмалы кроме своей основной функции желеобразователя, выполняют роль агента, повышающего влажность, выход и сочность продукта; в молочной отрасли крахмалы популярны в технологиях кисломолочных продуктов, различных молочных десертов, пудингов, творожков, где их основное

свойство гелеобразования используется для коррекции текстуры, придания плотной консистенции.

В кисломолочных продуктах пониженной жирности зачастую присутствуют такие недостатки, как высокий уровень синерезиса, жидкая консистенция, излишне кислый вкус, что обуславливает плохую органолептическую оценку продукта. Об актуальности этой проблемы свидетельствуют исследования современного рынка кисломолочной продукции с пониженным содержанием жира или обезжиренной, проведенные в г. Казани.

5.2.1 Обоснование необходимости коррекции качества кисломолочных напитков с низким содержанием жира

Для скрининга кисломолочных пищевых продуктов были использованы кисломолочные напитки, реализуемые в сетях «Магнит», «Пятерочка», «Верный», «Бахетле». Закупка продуктов осуществлялась в период ноября-декабря 2021 г. Выбор осуществляли по жирности продукта в пределах 0,5–1,5 % жира в составе. Наименования образцов представлены в таблице 36.

На сегодняшний день Россия – один из крупнейших в мире производителей молока и молочной продукции. При этом Республика Татарстан по объему производства молока в стране находится в лидерах. Кроме того, в республике с каждым годом увеличиваются валовое производство и объемы реализации молока. География производителей исследуемой кисломолочной продукции представлена следующими производителями: Республика Башкортостан, Нижегородская область, Самара, Москва, Республика Марий Эл, Удмуртская Республика, Республика Татарстан. В качестве исследуемых кисломолочных продуктов в работе представлены 18 образцов, среди которых: кефир; термостатный кефир; продукт кисломолочный, обогащенный бифидобактериями с пребиотиком и витаминами; биокефирный продукт; биопроduct кисломолочный кефирный; биойогурт и др.

В качестве основного сырья для производства исследуемых продуктов используется нормализованное молоко. Согласно ГОСТ Р 52738-2007 нормализованное молоко представляет собой пастеризованное молоко, доведенное до требуемого содержания жира. Таким образом, показатели массовой доли жира, белка и (или) сухих обезжиренных веществ молока либо их соотношения приведены в соответствие с установленными показателями.

Таблица 36 – Список образцов кисломолочных продуктов с низким содержанием жира

Торговая марка	Полное наименование
Обезжиренные кисломолочные напитки	
Био Баланс	Биопродукт кисломолочный кефирный, обогащенный бифидобактериями, обезжиренный
Наша Корова	Кефир обезжиренный
Valio Clean label	Йогурт питьевой без наполнителя
Просто Молоко	Кефир обезжиренный
Вкусняев	Кефир обезжиренный
Очень важная корова	Кефир обезжиренный
Свой	Кефир обезжиренный
Молочная речка	Кефир обезжиренный
Васькино счастье	Кефир обезжиренный
Маложирные кисломолочные напитки	
Био Мах	Биокефирный продукт, обогащенный бифидобактериями
Эго	Кефир
Био Баланс	Биойогурт, обогащенный бифидобактериями
Био Баланс	Биопродукт кисломолочный кефирный, обогащенный бифидобактериями
Fitness Time Beauty	Продукт кисломолочный, обогащенный бифидобактериями с пребиотиком и витаминами «Биокефир»
Сохраняя традиции Сернурский сырзавод	Кефир термостатный
Молочная речка	Кефир
Село зеленое. Фермерские продукты	Кефир
Алексеевское	Кефир

Также для производства КМП были использованы различные закваски – преимущественно на кефирных грибках, йогуртовая закваска, кроме того, использовались бифидобактерии. Для приготовления некоторых продуктов были добавлены бифидобактерии (биокефирный продукт «Bio Max», биойогурт «Bio Баланс», биопродукт кефирный «Bio Баланс», продукт кисломолочный «Fitnesstime Beauty»). Кисломолочные продукты с бифидобактериями обладают высокими органолептическими показателями и компенсируют потребность организма человека в необходимых питательных веществах. Такие продукты незаменимы для питания людей с хроническими заболеваниями ЖКТ, и перенесших острые кишечные инфекции и пищевые отравления.

В качестве дополнительного сырья могут быть использованы витаминные премиксы и инулин. Введение витаминного премикса повышает витаминную и минеральную ценность продукта. Введение инулина (полисахарид, пребиотик) в кисломолочный продукт позволяет получить продукт повышенной пищевой и биологической ценности, улучшить консистенцию и уменьшить отделение сыворотки и стабилизировать структуру готового продукта.

Большая часть исследуемых продуктов является кефирами или кефирными продуктами. Кефир – это кисломолочный продукт, произведенный путем смешанного (молочнокислого и спиртового) брожения с использованием закваски, приготовленной на кефирных грибках, без добавления чистых культур молочнокислых микроорганизмов и дрожжей. В зависимости от молочного сырья кефир изготавливают из цельного, нормализованного, обезжиренного, восстановленного молока или их смесей.

Исследуемая продукция была произведена согласно таким нормативным документам, как межгосударственные стандарты (ГОСТ 31454-2012) и технические условия (ТУ). ТУ на пищевую продукцию являются документом по стандартизации, в котором установлены требования к качеству и безопасности пищевого продукта. ТУ разрабатывают при отсутствии национального стандарта Российской Федерации или межгосударственного стандарта ГОСТ Р 51740-2016.

Анализ качества КМП. Для потребителя важнейшими критериями качества КМП являются внешний вид, консистенция, цвет, вкус и запах. Органолептические показатели кисломолочных напитков зависят от качества сырья, технологии, пищевых наполнителей и добавок, вида и качества заквасок, а также условий хранения. На рисунке 67 представлена органолептическая оценка КМП. Образцы оценивались не менее чем 10 участниками. Каждый участник получил 30 мл продукта (при 12 °С) в стеклянном флаконе по 100 мл с крышкой. По результатам оценки внешнего вида все 18 образцов получили максимальные баллы, т. е. визуально все образцы выглядели одинаково привлекательно, без включений, цвет белый.

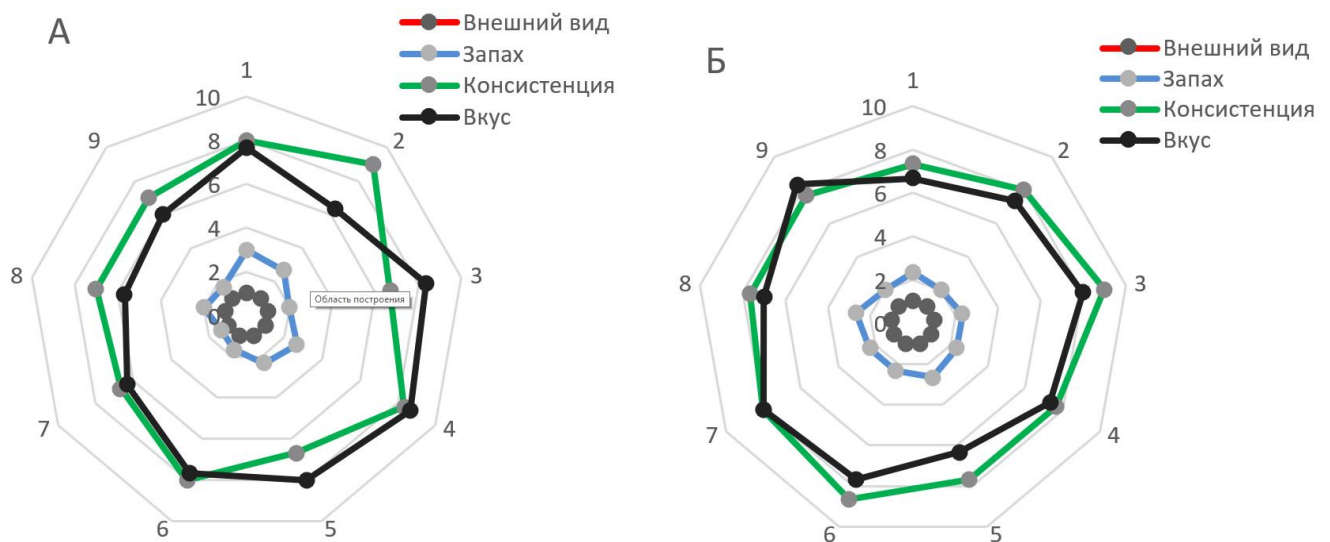


Рисунок 67 – Органолептическая оценка обезжиренных (а) и маложирных (б) кисломолочных напитков

Оценка обезжиренных продуктов показала (рисунок 67, а), что только 4 из 9 образцов показали высокие результаты по консистенции (8 баллов и выше), что составляет только 44 % от всех образцов. Высокую оценку по общему вкусу показали 4 образца, причем образцы 1, 4 и 6 показали совпадение высоких оценок по вкусу и консистенции, что свидетельствует о высоком вкладе в общие ощущения на нёбе и во рту именно консистенции КМП.

Анализ маложирных кисломолочных напитков выявил аналогичную тенденцию: только у 4 из 9 протестированных образцов оценка консистенции была равна или выше 8 баллов. Необходимо отметить, что средний балл по консистенции

у всех образцов был выше, что не удивительно, ведь повышение жирности продукта и, соответственно, повышение сухих веществ положительно сказываются на вязкости продуктов. Таким образом, более чем в 40 % случаев качество кисломолочных напитков с точки зрения консистенции оказалось невысоким.

Химические характеристики КМП. Нормируемая титруемая кислотность для КМП должна быть в пределах 70–140 °Т, представленные на анализ образцы обезжиренных и маложирных КМП укладывались в этот диапазон (рисунок 68). В среднем титруемая кислотность для обезжиренных образцов была 120 °Т, а для маложирных – 125 °Т.

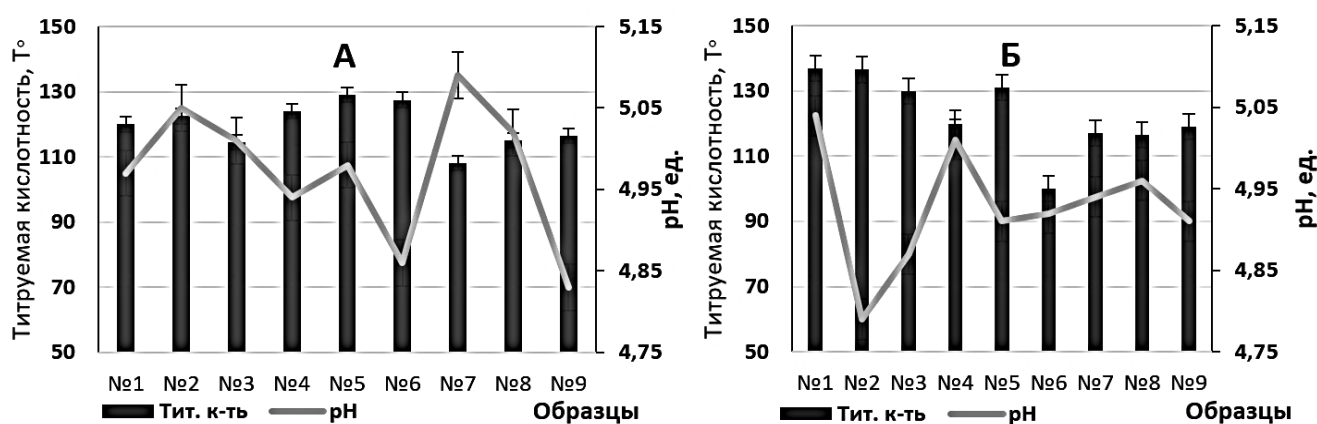


Рисунок 68 – Показатели титруемой кислотности и pH обезжиренных (а) и маложирных (б) кисломолочных напитков

Экспресс-анализ с помощью «Инфралюм» на основе калибровки «Йогурт» показал соответствие продукции по химическим параметрам ГОСТа 31454-2012, массовая доля белка в кефире должна быть не менее 3 %. В частности, такие показатели, как белок, лактоза, плотность и соли, были в пределах нормы (таблица 37).

В сыворотку переходят более 50 % белков молока, в том числе частично казеин, но больше сывороточных белков. Сывороточные белки по содержанию дефицитных незаменимых аминокислот (лизина, триптофана, метионина, треонина) являются наиболее биологически ценной частью молока, важной для пищевых целей. Благодаря жизнедеятельности МКБ кисломолочные продукты усваиваются более чем на 90 % (за счет коагуляции казеина) по сравнению с молоком (32 %).

Таблица 37 – Химическая характеристика кисломолочных напитков

Номер образца	Белок общий, %	Белок в сыворотке, %	Лактоза, %	Соль, %	Сухой остаток, %	Плотность, кг/м ³	Жир, %
Обезжиренные кисломолочные напитки							
1	4,127	2,77	4,10	0,65	9,647	1030,045	0,77
2	4,307	2,93	4,33	0,68	10,147	1030,955	0,83
3	4,040	2,71	4,01	0,63	9,820	1032,338	1,14
4	4,279	2,84	4,19	0,66	10,599	1032,011	1,47
5	3,845	2,80	4,13	0,65	10,120	1030,835	1,49
6	4,165	2,74	4,05	0,64	9,515	1030,100	0,66
7	3,971	2,74	4,05	0,64	9,441	1029,517	0,78
8	4,133	2,71	4,01	0,63	9,513	1030,027	0,74
9	4,153	2,65	3,92	0,62	9,523	1029,782	0,83
Маложирные кисломолочные напитки							
1	4,468	3,41	5,04	0,8	12,118	1035,131	1,81
2	4,265	2,85	4,2	0,66	10,635	1031,498	1,51
3	4,295	3,01	4,44	0,7	11,275	1032,612	1,84
4	4,238	2,79	4,12	0,65	10,588	1031,017	1,58
5	4,211	2,96	4,38	0,69	10,801	1032,241	1,52
6	4,151	2,73	4,04	0,64	10,351	1031,260	1,52
7	4,077	2,71	4,01	0,63	10,037	1031,309	1,32
8	4,148	2,79	4,11	0,65	10,228	1031,080	1,32
9	4,016	2,7	3,99	0,63	10,276	1031,738	1,64

Плотность молока зависит от температуры молока и содержания в нем воды, жира и СОМО и колеблется в пределах 1027–1033 кг/м³. Значения плотности исследуемых кисломолочных напитков находились в данных пределах.

Молочный жир имеет наибольшее значение для переработки молока по сравнению с другими его компонентами, поэтому его количество контролируется на производстве по жировому балансу. Количественный анализ молочного жира в маложирных продуктах показал соответствие заявленным параметрам. Однако для обезжиренных продуктов были обнаружены несоответствия заявленной жирности. Во всех случаях обнаружено превышение по количеству жира от нормируемого параметра. Для потребителя, желающего получить обезжиренный продукт, это может

быть крайне нежелательно. Интересно, что именно у образцов с наибольшим превышением количества жира выявлена высокая органолептическая оценка консистенции. Видимо, производитель заведомо идет на повышение жирности для улучшения консистенции.

Текстурная характеристика кисломолочных напитков. Степень синерезиса является одним из показателей реологических свойств кисломолочных продуктов, так как определяет прочность сгустка и их потребительские свойства.

На рисунке 69 приведены значения показателей синерезиса и влагоудерживающей способности исследуемых образцов. Приемлемым уровнем синерезиса для кисломолочных продуктов считается 5 %. Значение синерезиса более 5 % отмечено у пяти из девяти образцов обезжиренных продуктов, из маложирных образцов – только у трех.

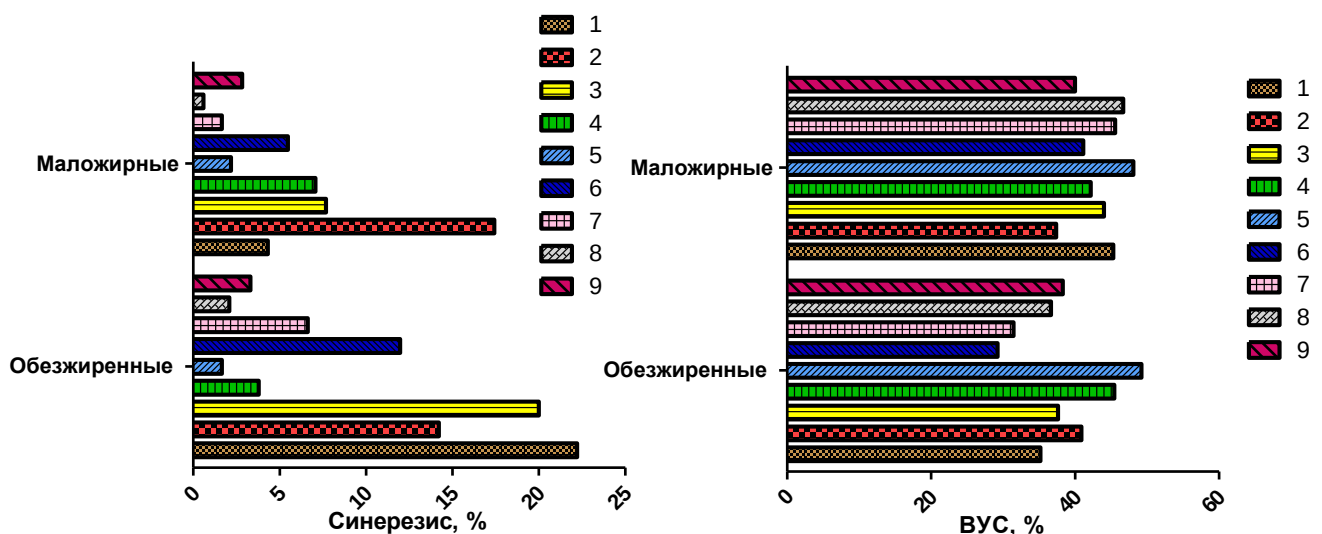


Рисунок 69 – Показатели синерезиса и влагоудерживающей способности кисломолочных напитков

Что касается ВУС, если в качестве приемлемого значения определить 40 %, то среди обезжиренных йогуртов этот рубеж преодолели только три образца (33 % от всех образцов), тогда как среди маложирных показатель выше, ВУС больше 40 % был у семи образцов.

Закономерно, что маложирные продукты были более вязкими при всех режимах тестирования, для них показатель вязкости был в пределах 2000–5200 мПа/с (при скорости 6 об/мин) (рисунок 70). Вязкость для обезжиренных продуктов была в пределах 1400–3700 мПа/с, что значительно меньше маложирных продуктов.

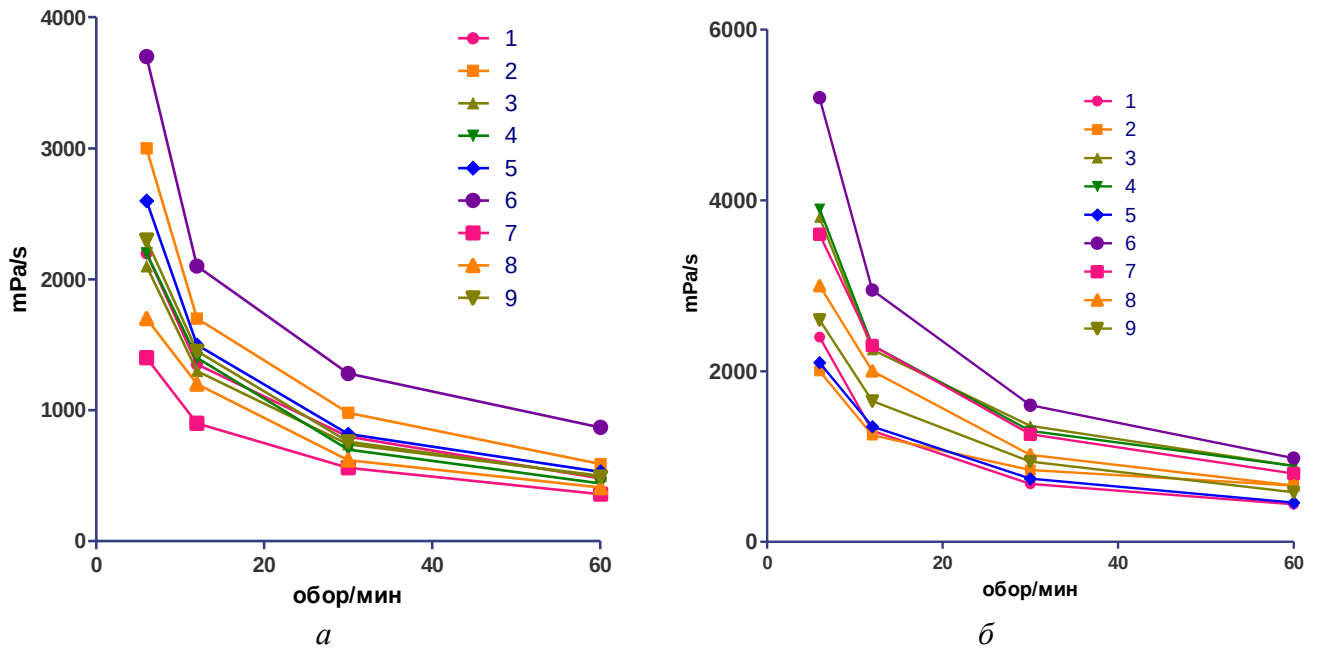


Рисунок 70 – Показатель вязкости у кисломолочных напитков различных производителей (*а* – обезжиренные, *б* – маложирные)

Таким образом, текстурные характеристики обезжиренных кисломолочных напитков значительно уступают продуктам с содержанием жира 1,5–2 %.

Исходя из выявленных недостатков обезжиренных кисломолочных напитков, присутствующих на рынке г. Казани, можно сделать вывод, что необходима коррекция текстурных характеристик без значительного повышения калорийности, изменений вкусовых характеристик и без значительного повышения себестоимости.

5.2.2 Обоснование применения ферментно модифицированных крахмалов в технологии обезжиренных йогуртов

Обезжиренный йогурт был использован как модельная система для исследования влияния ФМК на качество кисломолочных напитков, в которых используются классические культуры молочнокислых бактерий *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* и *Streptococcus thermophilus*. Эти две бактериальные культуры используются как основные во многих напитках, например, простокваша, йогурт, варенец, катык, и др. Реологические и физические характеристики обезжиренных кисломолочных продуктов снижены, поскольку уменьшение доли жира изменяет его механические и сенсорные характеристики [372]. Термостатный обезжиренный йогурт имеет низкую жесткость и высокую степень синерезиса [172]. Одним из подходов, который может быть реализован в технологии изготовления обезжиренных кисломолочных напитков, является применение стабилизаторов и загустителей полисахаридной природы. В качестве стабилизатора может использоваться карбоксиметилцеллюлоза, желатин, крахмалы [107; 336]. Примеры применения крахмалов в производстве йогуртов и других кисломолочных напитков приводятся во многих работах [118; 247; 257]; присутствие крахмалов улучшает текстуру, консистенцию, придает нежирному продукту лучший и полный вкус.

Химические характеристики обезжиренных йогуртов. В первую очередь внесение полисахаридного компонента не должно подавлять развитие МКБ при сквашивании, что отражается в кислотонакоплении. Титруемая кислотность йогуртов с ФМК через сутки изготовления (после сквашивания, охлаждения и стабилизации) у большей части образцов была выше, чем у контрольного образца и йогурта с нативным крахмалом. Необходимо заметить, что хранение в течение 28 сут привело к повышению кислотности во всех вариантах, кроме йогуртов с BL-крахмалами (рисунок 71). Слишком активные постзакислительные процессы при хранении могут привести к излишнему накоплению молочной кислоты, что приведет к частичной гибели клеток МКБ и снижению их численности.

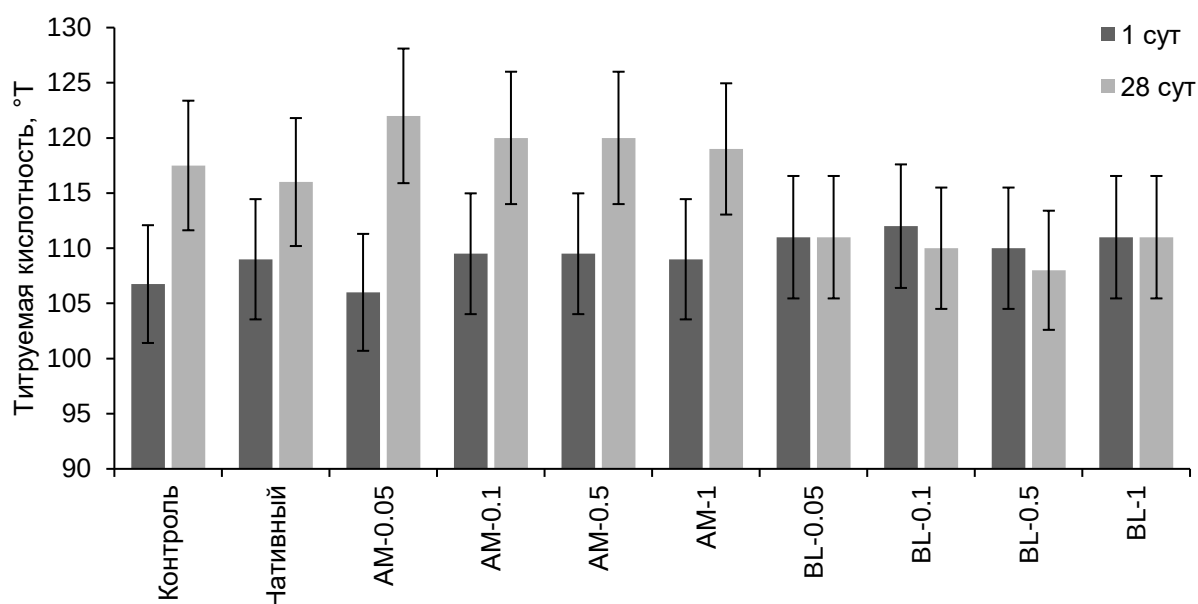


Рисунок 71 – Титруемая кислотность обезжиренных йогуртов с ферментно модифицированными крахмалами в процессе хранения

В случае использования BL-крахмалов наблюдалась стабилизация уровня кислотности, что является положительным моментом с технологической точки зрения.

Химическая характеристика йогуртов представлена в таблице 38, анализ белковой фракции йогурта показал, что количество белка в йогурте при внесении ФМК увеличилось в среднем на 0,1 % (1 сут), видимо, это обусловлено повышением плотности продукта за счет внесения 1 % крахмала.

Через 28 сут хранения количество белков уменьшилось, что обусловлено наличием протеолитической активности у МКБ. В случае использования крахмалов BL уменьшение более интенсивное, что косвенно может свидетельствовать о лучшем сохранении активности у МКБ в матриксе йогурта.

Что касается белков, способных переходить в сыворотку, то их процент увеличился, если в йогурт вносили крахмал. Поскольку в ФМК преобладает амилопектиновая часть, имеющая разветвленную структуру, похожую на поверхностно-активное вещество, было сделано предположение, что крахмалы за счет поверхностно-активных свойств способствуют большему растворению белков в сыворотке.

Таблица 38 – Влияние ферментно-модифицированных крахмалов на химические параметры обезжиренных йогуртов

Показатель	Продол- жительность хранения, сут	Контроль	Нативный	АМ-0.05	АМ-0.1	АМ-0.5	АМ-1	BL-0.05	BL-0.1	BL-0.5	BL-1
Белок в сыво- ротке, %	1	2,86 ± 0,04	3,06 ± 0,02	3,30 ± 0,02	3,17 ± 0,04	3,13 ± 0,02	3,10 ± 0,01	3,15 ± 0,01	3,09 ± 0,02	3,07 ± 0,01	3,17 ± 0,01
	28	2,94 ± 0,02	3,10 ± 0,03	3,26 ± 0,04	3,20 ± 0,01	3,25 ± 0,01	3,16 ± 0,01	3,03 ± 0,02	3,14 ± 0,02	3,15 ± 0,01	3,07 ± 0,03
Белок общий, %	1	4,05 ± 0,11	4,09 ± 0,08	4,21 ± 0,08	4,26 ± 0,11	4,18 ± 0,10	4,21 ± 0,04	4,13 ± 0,04	4,05 ± 0,07	4,06 ± 0,04	4,12 ± 0,04
	28	4,02 ± 0,04	4,02 ± 0,04	4,18 ± 0,02	4,10 ± 0,04	4,09 ± 0,02	3,92 ± 0,01	3,94 ± 0,01	3,97 ± 0,04	4,01 ± 0,02	4,03 ± 0,02
Углеводы, %	1	4,24 ± 0,11	4,92 ± 0,09	4,87 ± 0,12	4,68 ± 0,08	4,62 ± 0,14	4,57 ± 0,11	4,65 ± 0,13	4,56 ± 0,04	4,53 ± 0,07	4,58 ± 0,06
	28	4,21 ± 0,07	4,57 ± 0,11	4,61 ± 0,09	4,43 ± 0,11	4,41 ± 0,12	4,47 ± 0,10	4,45 ± 0,05	4,41 ± 0,08	4,45 ± 0,02	4,24 ± 0,02
Глюкоза, ммоль/л	1	8,5 ± 0,1	14,0 ± 0,2	12,1 ± 0,1	11,0 ± 0,2	11,1 ± 0,1	10,7 ± 0,1	6,1 ± 0,3	7,1 ± 0,1	6,6 ± 0,2	6,2 ± 0,2
	28	6,4 ± 0,1	10,8 ± 0,1	7,4 ± 0,3	10,1 ± 0,1	9,3 ± 0,2	8,3 ± 0,2	3,8 ± 0,2	3,9 ± 0,3	3,4 ± 0,3	3,3 ± 0,1
Сахар, %	1	0 ± 0	0,78 ± 0,01	0,51 ± 0,02	0,65 ± 0,10	0,49 ± 0,03	0,61 ± 0,05	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
	28	0 ± 0	0,22 ± 0,02	0,11 ± 0,04	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
Соли, %	1	0,67 ± 0,01	0,71 ± 0,01	0,72 ± 0,01	0,74 ± 0,01	0,73 ± 0,01	0,72 ± 0,01	0,73 ± 0,01	0,72 ± 0,01	0,69 ± 0,01	0,71 ± 0,01
	28	0,69 ± 0,01	0,72 ± 0,01	0,76 ± 0,01	0,75 ± 0,01	0,76 ± 0,01	0,74 ± 0,01	0,72 ± 0,01	0,73 ± 0,01	0,70 ± 0,01	0,72 ± 0,01
Сухое веще- ство, %	1	9,48 ± 0,56	10,72 ± 0,98	10,40 ± 0,32	10,19 ± 0,57	10,42 ± 0,25	10,38 ± 0,39	10,02 ± 0,47	9,80 ± 0,78	9,79 ± 0,56	9,98 ± 0,44
	28	9,32 ± 0,23	10,13 ± 0,46	10,14 ± 0,24	10,16 ± 0,35	10,12 ± 0,25	9,82 ± 0,36	9,73 ± 0,37	9,61 ± 0,29	9,67 ± 0,11	9,62 ± 0,28
Плотность, кг/м³	1	1033,4 ± 1,1	1035,3 ± 1,2	1035,5 ± 1,0	1035,6 ± 1,1	1035,9 ± 1,0	1035,1 ± 1,3	1036,8 ± 1,5	1036,9 ± 0,9	1036,2 ± 0,9	1036,6 ± 1,2
	28	1034,5 ± 0,8	1035,1 ± 0,8	1036,1 ± 1,1	1036,1 ± 1,0	1037,0 ± 1,2	1037,1 ± 1,0	1036,5 ± 1,2	1036,5 ± 1,1	1036,2 ± 1,1	1035,2 ± 1,1

Анализ углеводных компонентов (общие углеводы, глюкозы в сыворотке и сахаров) показал закономерное увеличение общих углеводов при внесении 1 % крахмала. Было выявлено, что в зависимости от модификации крахмала (используемого фермента и времени модификации) распределение углеводных компонентов различно. Через сутки хранения в йогурте с нативным крахмалом выявлено наличие сахара в концентрации 0,7 %, чуть меньше в вариантах с АМ-крахмалами. Сахаров не обнаружено в контрольном и ВL-вариантах йогуртов. Анализ глюкозы в сыворотке выявил меньшее ее накопление в вариантах с ВL-крахмалами, даже ниже контрольного уровня. Глюкозу в данном случае можно рассматривать как продукт гидролиза как лактозы, а также продукт гидролиза крахмала.

Уровень глюкозы ниже контрольного в образцах ВL может свидетельствовать об интенсификации метаболических процессов и активном использовании глюкозы МКБ. Эти данные согласуются с результатами по титруемой кислотности, большему накоплению молочной кислоты именно в этих вариантах. Закономерно увеличение уровня солей, сухих веществ и плотности в вариантах с внесением крахмалов. Результаты, представленные в таблице 39, свидетельствуют, что получаемые йогурты с ФМК отвечают требованиям ГОСТ 31981-2013 в процессе хранения.

ЭПС молочнокислых бактерий является важным метаболитом, образующимся в том числе и в условиях сквашивания молока. О положительной роли ЭПС говорят многие исследователи [114; 304; 320]. В нашем случае эффективно разделить крахмал и ЭПС не представляется возможным, поэтому в работе берется показатель суммы экстрагируемых полисахаридов, в том числе крахмальной природы.

Выявлено, что в контрольном варианте накапливается примерно 10 мг/г ЭПС (рисунок 72), причем внесение нативного крахмала не повышало этот показатель, что видимо обусловлено нерастворимостью нативного крахмала в воде после экстракции (особенности методики).

Таблица 39 – Соответствие физико-химических показателей йогуртов требованиям ГОСТ 31981-2013 (на 28-е сутки хранения)

Образец йогурта	Массовая доля белка, %	Массовая доля СОМО, %	Кислотность, °Т	Фосфатаза или пероксидаза	Температура продукта при выпуске с предприятия, °С
Норма по ГОСТ	Не менее 3,2	Не менее 9,5	От 75 до 140 включительно	Отсутствие	4 ± 2
Контроль	$4,02 \pm 0,04$	$9,32 \pm 0,23$	119 ± 3	Отсутствует	3 ± 1
Нативный	$4,02 \pm 0,04$	$10,13 \pm 0,46$	116 ± 4		
АМ-0.05	$4,18 \pm 0,02$	$10,14 \pm 0,24$	122 ± 3		
АМ-0.1	$4,10 \pm 0,04$	$10,16 \pm 0,35$	120 ± 2		
АМ-0.5	$4,09 \pm 0,02$	$10,12 \pm 0,25$	120 ± 2		
АМ-1	$3,92 \pm 0,01$	$9,82 \pm 0,36$	119 ± 1		
ВЛ-0.05	$3,94 \pm 0,01$	$9,73 \pm 0,37$	116 ± 3		
ВЛ-0.1	$3,97 \pm 0,04$	$9,61 \pm 0,29$	111 ± 2		
ВЛ-0.5	$4,01 \pm 0,02$	$9,67 \pm 0,11$	111 ± 1		
ВЛ-1	$4,03 \pm 0,02$	$9,62 \pm 0,28$	111 ± 1		

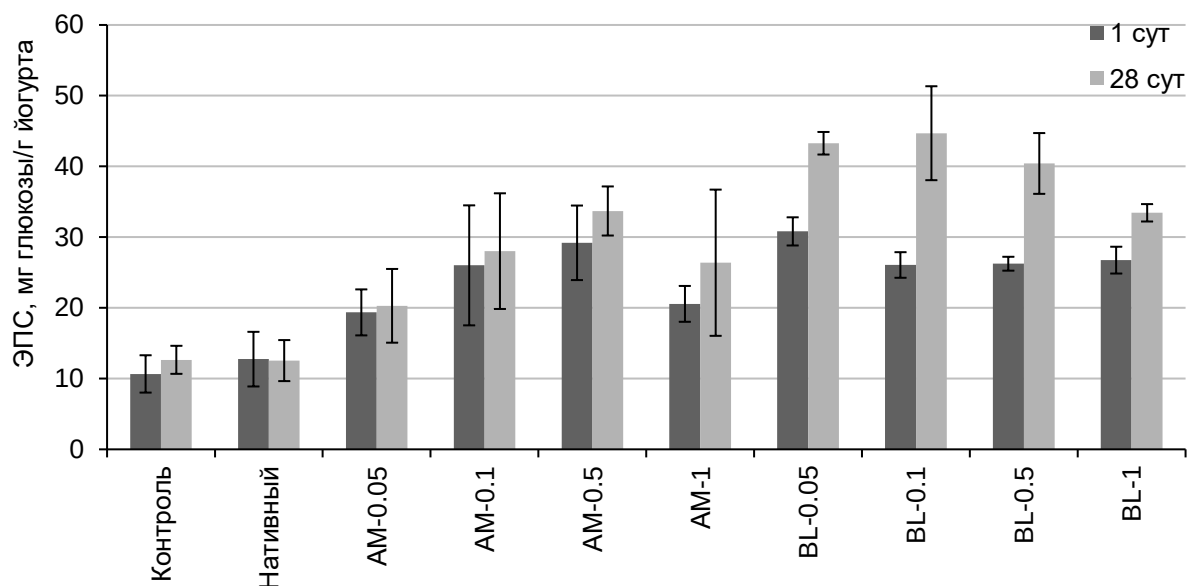


Рисунок 72 – Суммарное количество полисахаридов (крахмалов и экзополисахаридов молочнокислых бактерий) в обезжиренных йогуртах

Использование ФМК привело к повышению суммарного количества полисахаридов через 1 сут до 20–30 мг/г в случае использования АМ-крахмалов и до 25–30 мг/г – в случае ВЛ-крахмалов. Можно предположить, что этот тип крахма-

лов способен эффективно выступать в роли субстрата для синтеза ЭПС, или же использоваться МКБ в роли первоначального матрикса.

Структурно-механические свойства обезжиренных йогуртов с ФМК.

Структура КМП напрямую влияет на органолептическое восприятие продукта человеком. В исследовании применен комплексный подход для выявления изменений структурных свойств йогуртов. Йогурты были охарактеризованы по структурно-механическим показателям, включающим синерезис, ВУС, вязкость, изменение сопротивления. Для подтверждения изменений структуры йогуртов под действием ФМК проведен анализ сканирующей микроскопии и анализ изменений размеров частиц с помощью Zetasizer.

Выявлено положительное влияние ФМК на показатель синерезиса. По сравнению с контролем и вариантом с нативным крахмалом отделение сыворотки было меньше на 5–7 % в вариантах со всеми ФМК до закладки на хранение (рисунок 73).

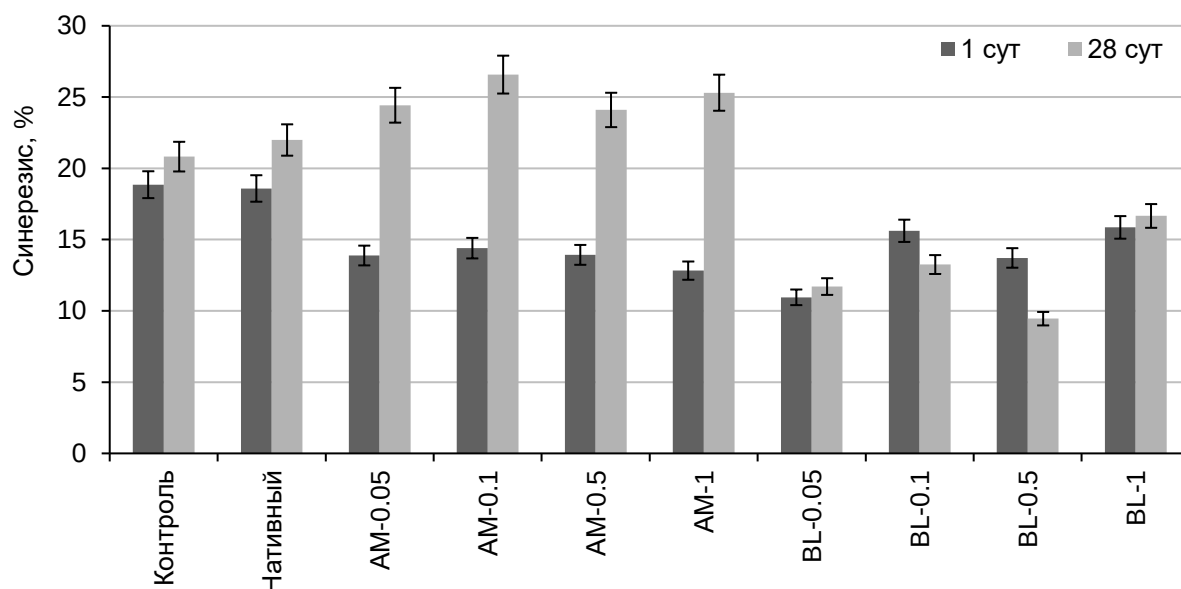


Рисунок 73 – Влияние различных крахмалов на синерезис обезжиренных йогуртов в процессе хранения

Существенное различие в этом показателе наблюдалось через 28 сут хранения, варианты с BL-крахмалами сохранили низкий уровень синерезиса, тогда как в вариантах с AM-крахмалами этот показатель оказался даже выше контрольного.

ВУС характеризует возможность молочного геля удерживать частично связанную воду в своем матриксе. ФМК положительно влияет на ВУС, способствуя формированию матрикса с высокой степенью удерживания воды между молочнo-белковым и крахмальным гелем.

Исследования ВУС обезжиренных йогуртов показало, что перед закладкой на хранение самый высокий показатель был у йогурта с нативным крахмалом, это и не удивительно, так как у этого крахмала наибольшая влагосорбирующая активность при нагревании. Однако, после хранения ВУС йогуртов с нативным крахмалом снизился, обусловленная ретроградацией, тогда как ВУС йогуртов с BL-крахмалами значительно повысился и достигал значений выше нативного (рисунок 74). Эти результаты согласуются с результатами, полученными при анализе синерезиса.

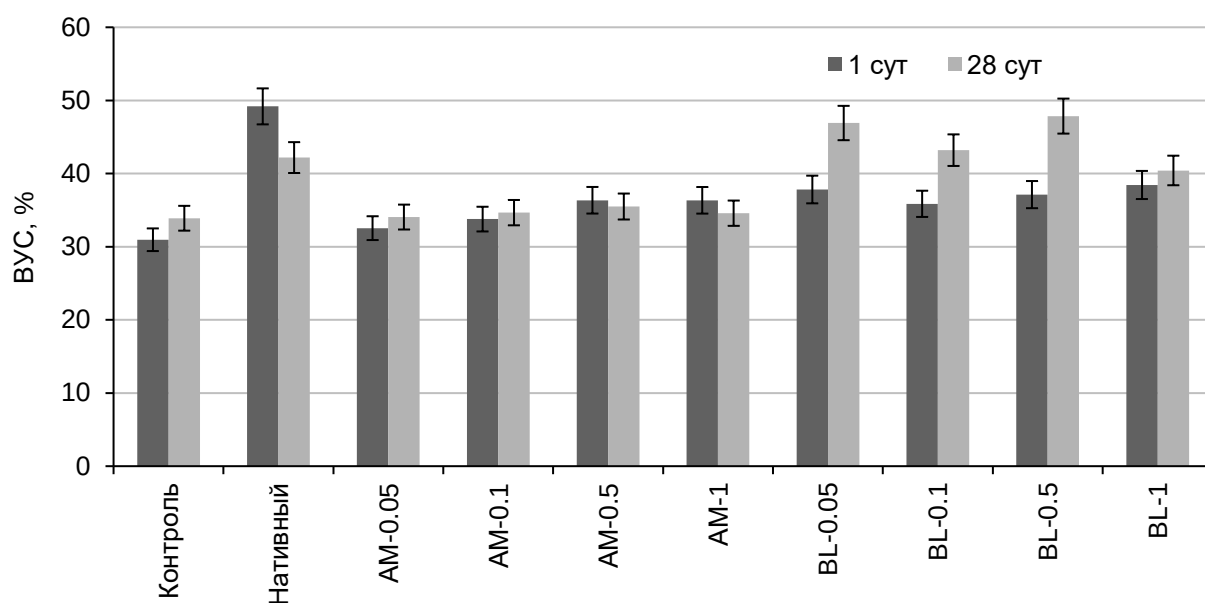


Рисунок 74 – Влияние ферментно модифицированных крахмалов на влагоудерживающую способность обезжиренных йогуртов в процессе хранения

Вязкость йогуртов с ФМК была больше, чем в варианте с нативным крахмалом (рисунок 75). Эта разница достигает достоверных значений в случае использования BL-крахмалов в начале хранения. Через 28 сут хранения наблюдалось снижение вязкости в случае BL-образцов и повышение вязкости во всех остальных случаях.

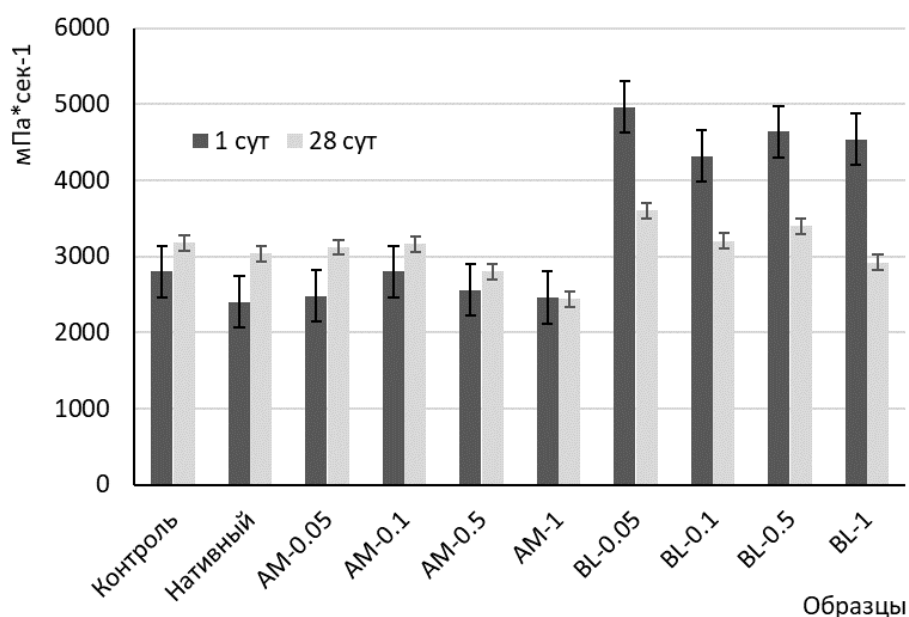


Рисунок 75 – Влияние ФМК на вязкость обезжиренных йогуртов в процессе хранения

Полученные данные отрицательно коррелируют с показателями ВУС, что возможно объясняется формированием белково-крахмального геля с потерей вязкости, но с увеличением других текстурных показателей.

Тестирование эффективной вязкости (рисунок 76) с увеличением времени тестирования до 180 с позволяет охарактеризовать неньютновские жидкости как йогурт, по тиксотропным свойствам. Характер изменения вязкости йогурта с разными ФМК практически во всех случаях похож.

Однако выявлены различия между продуктами в начале хранения и через 28 сут хранения. В процессе хранения характерно снижение силы межмолекулярных связей между молочными белками и крахмальным гелем, что выражается в более интенсивном снижении вязкости при тестировании. Расчет коэффициента механической стабильности показал, что как в начале хранения, так и в конце хранения наиболее стабильны образцы с крахмалами AM-0.1 и BL-0.05, для этих же образцов выявлен наименьший коэффициент потери вязкости (таблица 40). Характерно, что в варианте с нативным крахмалом наблюдали наибольшее снижение механической стабильности и увеличение потери вязкости.

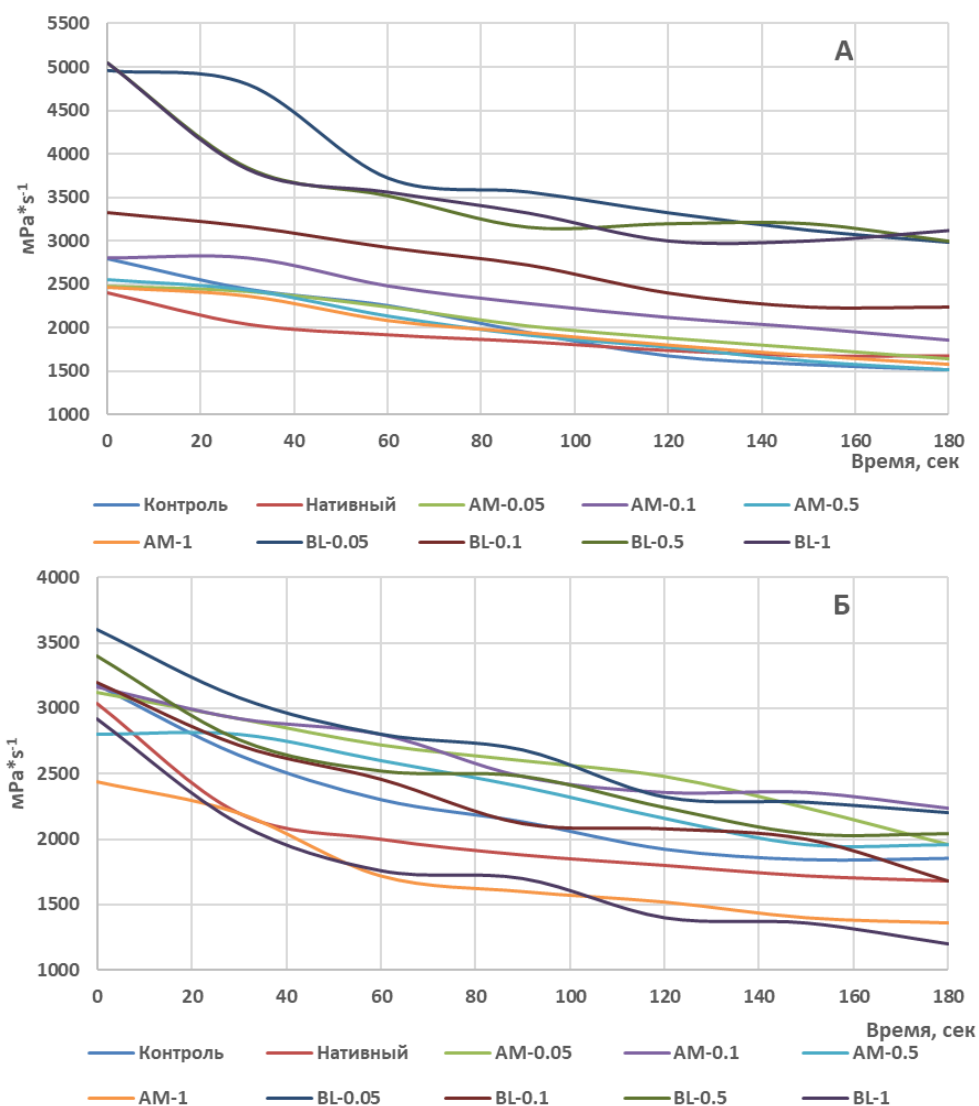


Рисунок 76 – Изменение эффективной вязкости молочных сгустков йогуртов с ФМК через 1 сут (а) и 28 сут (б) хранения. Измерения проводились на вискозиметре с увеличением времени тестирования до 3 мин

Таблица 40 – Влияние ФМК на тиксотропные свойства йогуртов в процессе хранения

Образец	Коэффициент механической стабильности		Коэффициент потери вязкости, %	
	1 сут	28 сут	1 сут	28 сут
Контроль	0,54	0,58	45,7	41,8
Нативный	0,70	0,55	30,0	44,7
AM-0.05	0,66	0,63	33,9	37,2
AM-0.1	0,66	0,71	33,6	29,1
AM-0.5	0,59	0,70	40,6	30,0
AM-1	0,64	0,56	35,8	44,3
BL-0.05	0,60	0,61	39,9	38,9
BL-0.1	0,67	0,53	32,5	47,5
BL-0.5	0,60	0,60	40,5	40,0
BL-1	0,62	0,41	38,1	58,9

На этапе понимания структурных изменений белково-молочного матрикса йогурта при введении в его состав ФМК была проведена электронная сканирующая микроскопия (СЭМ) (рисунок 77).

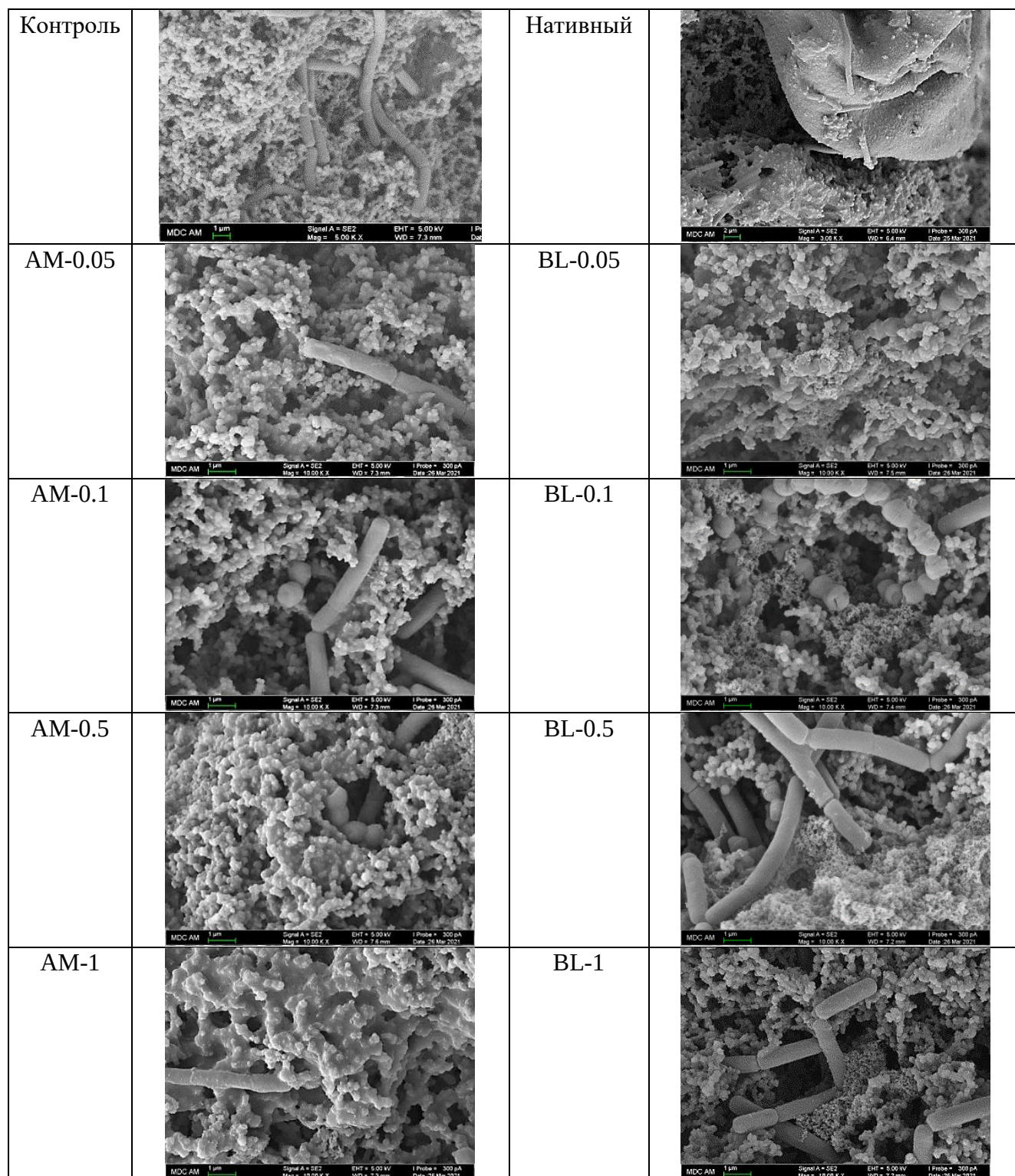


Рисунок 77 – Микрофотографии (СЭМ) структуры йогуртов с ферментно модифицированными картофельными крахмалами (срок хранения 7 сут)

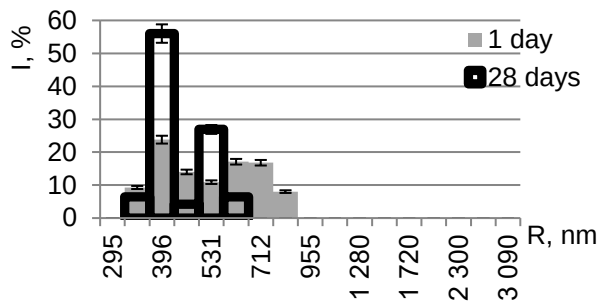
Действительно, СЭМ позволила выявить различия в распределении крахмальных и белковых части, а также расположение клеток МКБ. Контрольный образец характеризуется относительно равномерным распределением белковых глобул, клетки болгарской палочки и стрептококка расположены преимущественно на поверхности белкового матрикса или полуинтегрированы в него.

Контрольный йогурт показал типичную открытую пористую и гомогенную сеть казеинового геля, заполненную полостями от сыворотки. О подобной структуре сообщалось в различных исследованиях [166; 265; 366]. Крупные зерна нативного крахмала не прилегают к белковому гелю, сам белковый матрикс становится более рыхлым, неоднородным, с многочисленными пустотами. В случае, когда клетки бактерий лежат на крахмальных зернах, они не защищены белками, что делает их менее устойчивыми к сохранению жизнеспособности при хранении.

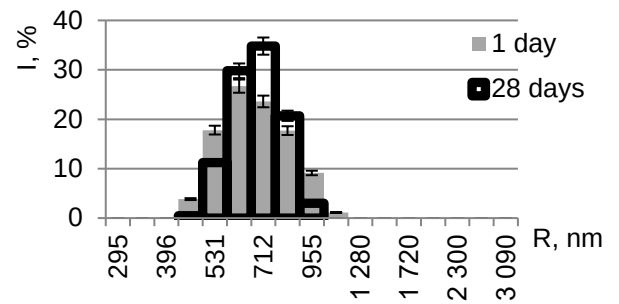
Иная картина была обнаружена при использовании ФМК. Использование ФМК во всех случаях приводило к исчезновению в йогуртах крупных крахмальных зерен. Отмечено погружение в этот матрикс клеток МКБ, что привело к формированию более однородной, гладкой структуры кисломолочного продукта.

Ферментативный частичный гидролиз крахмалов привел к возможности создания в йогурте более однородного тела йогурта, его матрикса. Однако необходимо обратить внимание на различия в микроструктуре йогуртов при использовании крахмалов разной ферментной модификации. Особенность АМ-крахмалов состоит в формировании сплошных тяжей между белковыми частицами молока подобно нативному крахмалу, но без крупных зерен. При этом чем больше степень гидролиза используемого крахмала (особенно образец АМ-1), тем больше заметны эти тяжи с включением белковых глобул, переходящих в сплошную структуру.

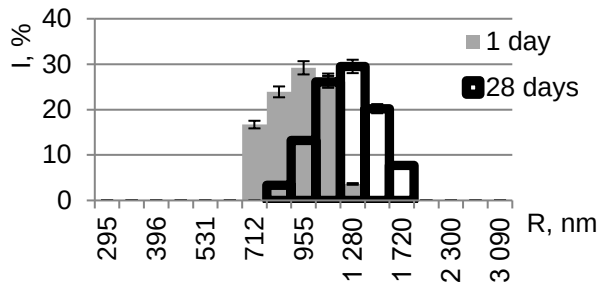
Для характеристики изменений структуры обезжиренного йогурта под действием ФМК (рисунок 78) была применена процедура тестирования на приборе ZetaSize, позволяющем регистрировать изменения размеров полимеров, в том числе природного происхождения.



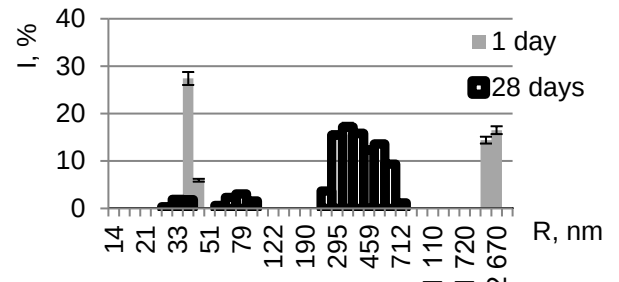
Контроль



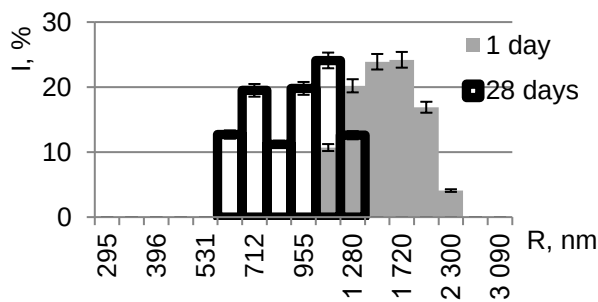
Нативный



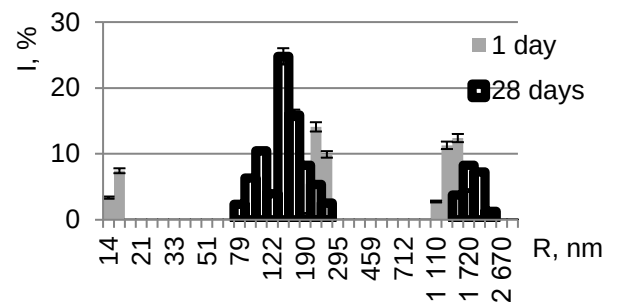
AM-0.05



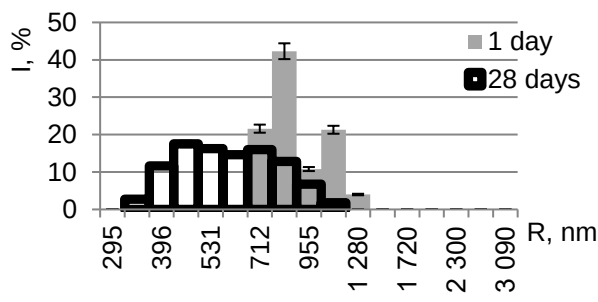
BL-0.05



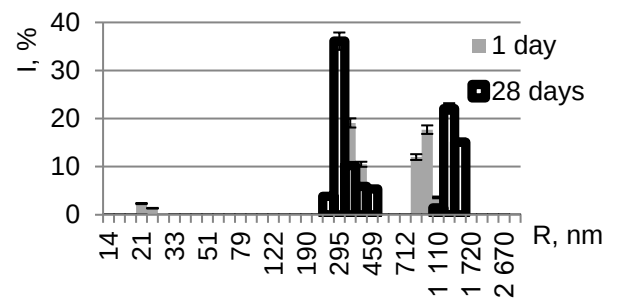
AM-0.1



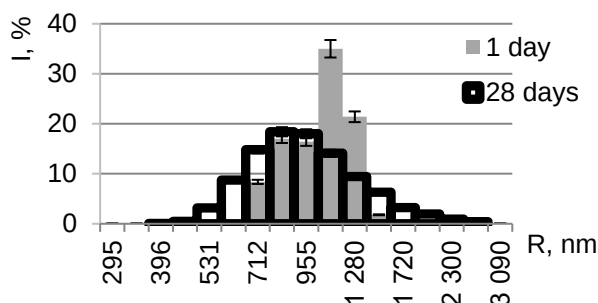
BL-0.1



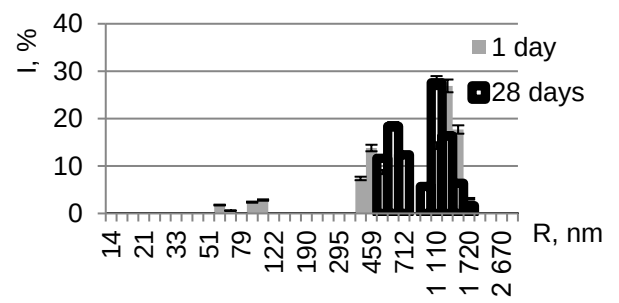
AM-0.5



BL-0.5



AM-1



BL-1

Рисунок 78 – Динамический радиус частиц кисломолочного сгустка йогурта с ФМК

Контрольный образец йогурта формирует частицы размером 396 и 531 нм (55 % и 27 % соответственно) это две основные фракции, причем в процессе хранения эти частица претерпели изменения, разрушение тиксотропных связей привело к формированию частиц размером от 342 до 825 нм в концентрации 8–22 %. Добавление нативного крахмала привело к формированию более крупных частиц в области 531–955 нм (9–27 %), при чем в конце срока хранения снижение гетерогенности частиц, основная фракция частиц лежала в области 615; 712 и 825 нм. Закономерности изменения размеров биополимеров в случае использования ФМК отличны от нативного и контрольного образца. Образцы йогурта с АМ-крахмалами в целом формируют похожий рельеф размеров частиц, но со сдвигом в более крупные частицы, особенно в случае использования крахмала АМ-0.01.

Однако в процессе 28 сут хранения наблюдаются иные закономерности, крахмал АМ-0.05 (наиболее низкая степень гидролиза крахмала) сформировал в йогурте более крупные агрегаты со смещением максимума с 955 на 1 280 нм. Тогда как более гидролизованные крахмалы повели себя по-другому, их максимум сместился в меньшую сторону, с увеличением гетерогенности, возможно это связано с разрывом полимерных связей крахмалов с более высокой степенью гидролиза, обусловленных в том числе действием амилаз МКБ.

Картина распределение размеров частиц в случае использования крахмалов ВЛ сильно отличается от предыдущих образцов. Здесь наблюдается би- или тримодальное распределение частиц, это является отличительной особенностью ВЛ-йогуртов. В случае низко гидролизованного крахмала ВЛ-0.05 в йогурте формируются крупные агрегаты в основной области 2 670 нм, а также малые моногенные частицы 38 нм.

Однако в процессе хранения крупные частицы распадаются и формируют частицы в области 255–531 нм, а также выявлено снижение доли малых частиц, видимо, они вносят свой вклад в формирования средней области. Таким образом, в матрице кисломолочного геля происходят два противоположных процесса: разрушения связей в крупных и формирование связей в малых частицах. Аналогичные

процессы и закономерности можно наблюдать в случае йогуртов с более гидролизованными VL-крахмалами.

Таким образом, текстура обезжиренных йогуртов можно корректировать с помощью ФМК, причем тиксотропные свойства йогуртов с корректорами текстуры обладают динамичностью в процессе хранения. Изменение текстурных свойств связано с особенностями микроструктуры йогурта и обусловлена взаимодействием между казеином, крахмалом, а также клетками МКБ. Необходимо учитывать, что свойства сформированных агломератов в йогурте не статичны, подвержены изменениям в результате формирования, разрыва межмолекулярных связей биополимерами.

Антиоксидантный потенциал обезжиренных йогуртов с ферментно модифицированными крахмалами. В процессе ферментации йогуртов происходит формирование целого ряда полезных веществ, в том числе с антиоксидантными свойствами. Одна из основных ролей по обеспечению комплекса функциональных свойств в КМП принадлежит продуктам протеолиза. Поскольку продукты протеолиза в потенциальных здоровых функциональных продуктах питания рассматриваются как естественная альтернатива синтетическим антиоксидантам, исследовано влияние ФМК на эти свойства. Исследовано влияние крахмалов на радикал-связывающую и железо-восстанавливающую активности, а также на протеолитическую активность заквасочной культуры, как основу синтеза биоактивных пептидов, высвобожденных в йогурте.

Для лучшего понимания механизмов формирования антиоксидантного потенциала применяли подход разделения продукта на фракции. В частности, подвергались тестированию безбелковая фракция, сыворотка, а также сам продукт. Выявлена общая тенденция, характерная для всех трех фракций, образцы с крахмалами типа VL обладали наибольшим радикал-связывающим потенциалом, особенно через 1 сут хранения (рисунок 79). Заслуживает особого внимания выявленные статистически значимые различия в безбелковом экстракте (рисунок 79, в).

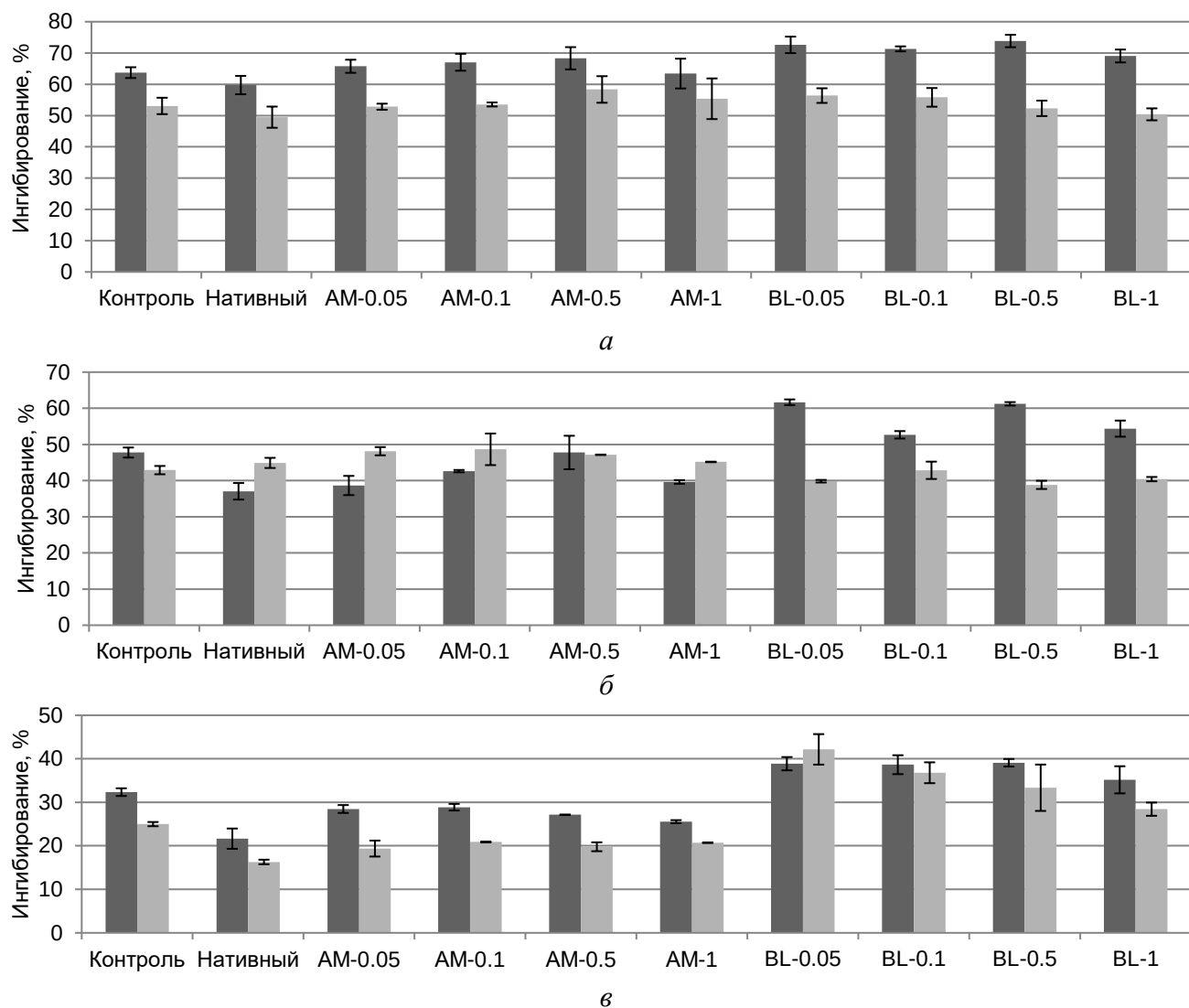


Рисунок 79 – Радикал-связывающая активность йогуртов и их фракций:
а – йогурт; *б* – сыворотка, *в* – безбелковый экстракт
 (темно-серые столбцы – 1-е сутки, светло-серые столбцы – 28-е сутки)

Иная тенденция выявлена при тестировании восстановительной активности продукта с нативным или АМ-типом крахмалами. Возможно, это обусловлено повышенным количеством восстанавливающих сахаров (как продуктов частичного гидролиза крахмала) в этих вариантах йогурта (рисунок 80, *а*). На уровне же сыворотки и безбелкового экстракта эта тенденция менялась, восстановительная активность выше в вариантах с ВЛ-крахмалами (рисунок 80, *б, в*).

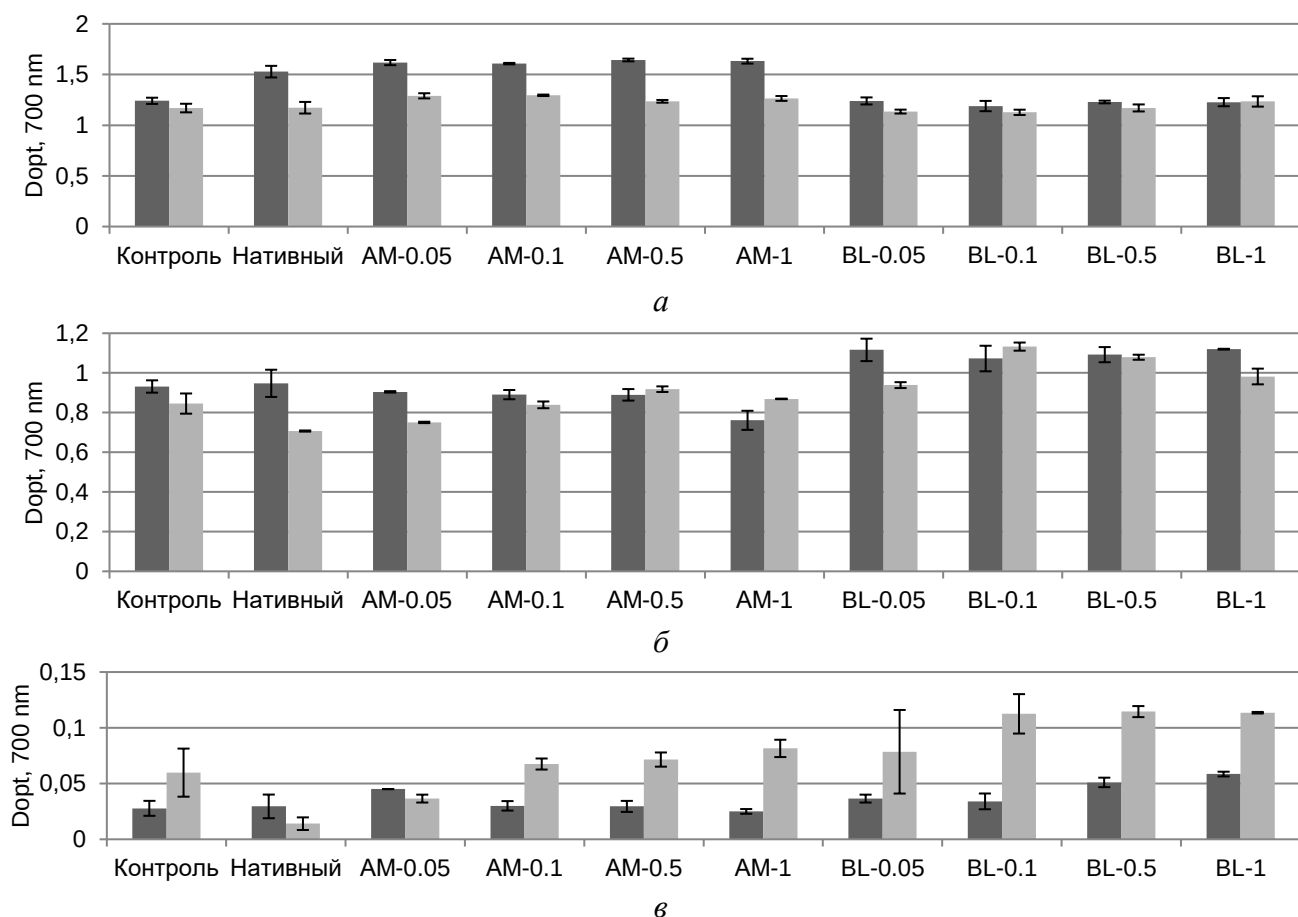


Рисунок 80 – Восстановительная активность йогуртов и их фракций:
а – йогурт; *б* – сыворотка, *в* – безбелковый экстракт
 (темно-серые столбцы – 1-е сутки, светло-серые столбцы – 28-е сутки)

Формирование антиоксидантных свойств может быть обусловлено синтезом пептидов, тестирование низкомолекулярных пептидов с помощью ОРА-реагента выявило, что в случае использования BL-крахмалов в йогурте в качестве стабилизатора, синтез и накопление низкомолекулярных пептидов выше (рисунок 81).

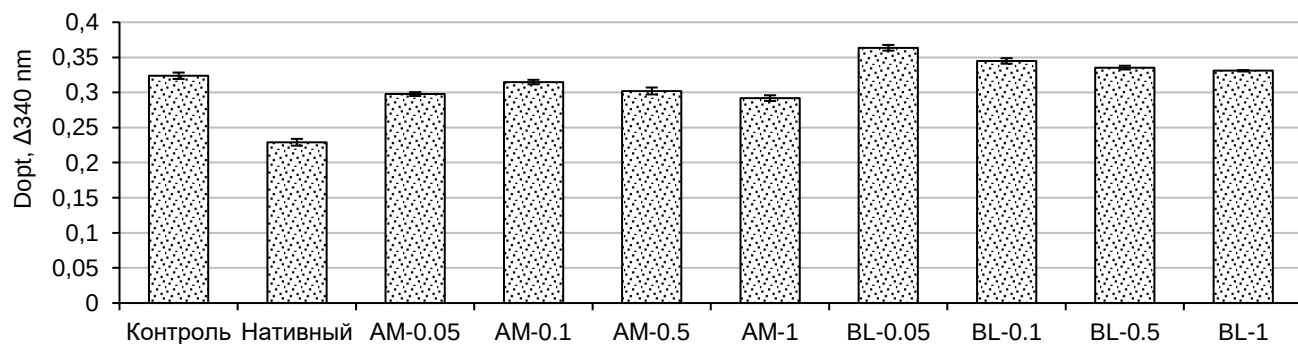


Рисунок 81 – Количество накопленных пептидов в йогуртах с ФМК через 28 сут хранения

Микробиологическая характеристика обезжиренных йогуртов с ферментно модифицированными крахмалами. Сохранность МКБ в процессе хранения является важным регламентируемым показателем. Во всех вариантах количество МКБ было выше 10^7 КОЕ/г, важно, что введение ФМК в йогурты приводило к повышению количества МКБ, о чем свидетельствует и большее накопление молочной кислоты в этих вариантах. В конце срока хранения количество молочнокислых микроорганизмов было в ряде вариантов с ФМК на порядок больше (рисунок 82).

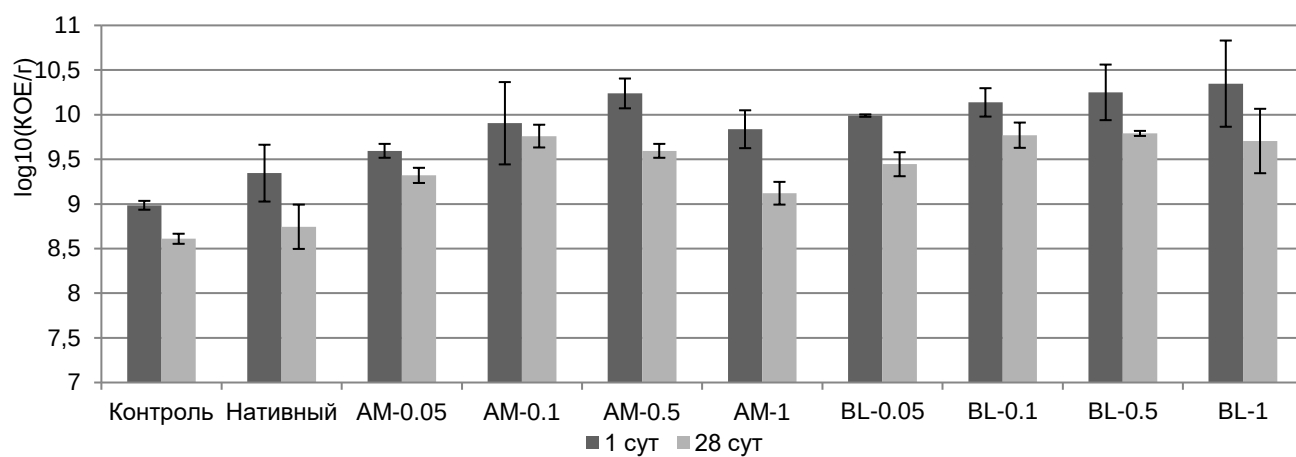


Рисунок 82 – Количество молочнокислых бактерий в йогуртах на разных сроках хранения

Анализ на санитарно-опасных групп бактерий показал их отсутствие (таблица 41).

Таблица 41 – Бактериологические показатели качества йогуртов на 28-е сутки хранения

Показатель	Норма по ТР ТС 033/2013	Контроль Нативный AM-0.05 AM-0.1 AM-0.5 AM-1 BL-0.05 BL-0.1 BL-0.5 BL-1
БГКП	Не допускаются в 0,1 г	Не обнаружено
Патогенные, в том числе сальмонеллы	Не допускаются в 25 г	Не обнаружено
Стафилококки <i>S. aureus</i>	Не допускаются в 1 г	Не обнаружено
КМАФАнМ, КОЕ, в 1 г продукта (молочно-кислые микроорганизмы (МК МО))	Не менее $1 \cdot 10^7$	Соответствует (см. рисунок 82)

Органолептические свойства и товароведная оценка обезжиренных йогуртов с ФМК. Йогурты с ФМК по внешнему виду не отличались от контроля (таблица 42), имели приятный, выраженный кисломолочный вкус и аромат, густую консистенцию без комочков. Йогурты с ФМК имели плотное тело напитка, обволакивали нёбо. Контрольный образец отличался пустотелым вкусом с большей кислотностью. Контроль и йогурты с ФМК в целом имели мелкозернистую, гладкую и кремообразную консистенцию.

Таблица 42 – Органолептическая оценка (1-е сутки хранения) и инструментальные цветовые характеристики (1-е и 28-е сутки хранения) нежирных йогуртов, изготовленных с ФМК

Образец	Период хранения, сут	Цветность			Органолептическая оценка				
		<i>L</i>	<i>a</i>	<i>b</i>	Внешний вид	Вкус	Запах	Консистенция	Среднее
Контроль	1	99,25	−2,09	14,29	4,8	4,2	4,5	4,2	4,425
	28	99,47	−3,17	23,39					
Нативный	1	97,74	−1,75	16,72	3,4	3,6	4,3	3,6	3,725
	28	99,47	−3,17	23,39					
АМ-0.05	1	96,89	−2,25	15,55	4,7	4,5	4,4	4,2	4,450
	28	100,00	−2,54	12,30					
АМ-0.1	1	99,49	−2,53	15,11	4,8	4,7	4,3	4,4	4,550
	28	100,00	−2,56	21,12					
АМ-0.5	1	100,00	−3,11	17,50	4,8	4,8	4,4	4,7	4,675
	28	100,00	−2,00	25,60					
АМ-1	1	100,00	−3,95	19,78	4,8	4,8	4,3	4,6	4,625
	28	100,00	−3,11	23,36					
BL-0.05	1	100,00	−11,12	26,68	4,8	4,8	4,8	5,0	4,850
	28	100,00	−12,12	26,68					
BL-0.1	1	100,00	−10,33	21,06	4,7	4,2	4,5	4,7	4,550
	28	100,00	−10,93	22,06					
BL-0.5	1	100,00	−5,76	12,66	4,9	4,9	4,6	5,0	4,850
	28	100,00	−7,04	13,06					
BL-1	1	100,00	−4,60	11,17	5,0	4,8	4,6	4,8	4,825
	28	100,00	−4,09	11,97					

Йогурт с нативным крахмалом был наименее предпочтительным по внешнему виду: он имел более твердую желеобразную структуру, плохо перемешивался и создавал неприятное ощущение крахмалистого налета во рту, имел слабовыраженный кисломолочный аромат и вкус с крахмалистым послевкусием. Средняя вкусовая оценка образцов с ФМК была выше, чем у контроля, из-за насыщенного сливочного вкуса. Наивысшую среднюю оценку (4,85 балла) получили образцы BL-0.05 и BL-0.5 (см. таблицу 42).

Наличие или отсутствие крахмалов не влияло на белизну (L) продукта в процессе хранения. В йогуртах контрольном, при использовании крахмалов нативного, АМ наблюдали увеличение показателя желтизны (b) в процессе хранения, тогда как для вариантов с BL-крахмалами цветовая характеристика была более стабильна.

Комплексная товароведная оценка йогуртов показала, что обезжиренный кисломолочный продукт с ФМК, особенно обработанный амилазой *B. licheniformis*, имеет больший суммарный балл по сравнению с контрольным и нативным вариантами (таблица 43).

Таблица 43 – Комплексная товароведная оценка обезжиренных йогуртов, стабилизированных крахмалами

Показатель	Коэффициент весомости	Эталон	Контроль	Нативный	АМ-0.1	АМ-0.05	АМ-0.5	АМ-1	BL-0.05	BL-0.1	BL-0.5	BL-1
Органолептическая оценка	0,5	–										
Вкус	0,4	5	4,2	3,6	4,5	4,7	4,8	4,8	4,8	4,2	4,9	4,8
$P_n/P_{эт}$	–	–	0,84	0,72	0,9	0,94	0,96	0,96	0,96	0,84	0,98	0,96
Запах	0,15	5	4,5	4,3	4,4	4,3	4,4	4,3	4,5	4,5	4,6	4,8
$P_n/P_{эт}$	–	–	0,9	0,86	0,88	0,86	0,88	0,86	0,9	0,9	0,92	0,96
Консистенция	0,25	5	4,2	3,6	4,2	4,4	4,7	4,6	4,9	4,5	5	4,8
$P_n/P_{эт}$	–	–	0,84	0,72	0,84	0,88	0,94	0,92	0,98	0,9	1	0,96
Цвет, внешний вид	0,2	5	4,8	3,4	4,7	4,8	4,8	4,8	4,8	4,7	4,9	5
$P_n/P_{эт}$	–	–	0,96	0,68	0,94	0,96	0,96	0,96	0,96	0,94	0,98	1
<i>Итого по группе</i>	–	–	0,437	0,367	0,45	0,46	0,47	0,47	0,48	0,44	0,49	0,48

Продолжение таблицы 43

Показатель	Коэффициент весомости	Эталон	Контроль	Нативный	АМ-0.1	АМ-0.05	АМ-0.5	АМ-1	BL-0.05	BL-0.1	BL-0.5	BL-1
Физико-химические показатели	0,2	–										
Массовая доля белка, %	0,5	3,2	4,049	4,086	4,213	4,256	4,181	4,213	4,127	4,047	4,001	4,122
$P_n/P_{эт}$	–	–	1,27	1,28	1,32	1,33	1,31	1,32	1,29	1,26	1,25	1,29
Количество суммарных полисахаридов, мг/г	0,5	14	10,66	12,75	19,36	26,01	29,20	20,57	30,81	26,07	26,25	26,75
$P_n/P_{эт}$	–	–	0,76	0,91	1,38	1,86	2,09	1,47	2,20	1,86	1,87	1,91
<i>Итого по группе</i>	–	–	1,34	1,37	1,45	1,52	1,52	1,46	1,51	1,45	1,44	1,48
Оценка свойств стабильности	0,3	–										
Кислотность, °Т	0,5	140	105	109	106	109,5	109,5	109	110,5	111	112	110
$P_n/P_{эт}$	–	–	0,75	0,78	0,76	0,78	0,78	0,78	0,79	0,79	0,80	0,79
Вязкость, мПа/с	0,3	4000	2800	2400	2480	2800	2560	2460	4960	4320	4640	4540
$P_n/P_{эт}$	–	–	0,7	0,6	0,62	0,7	0,64	0,615	1,24	1,08	1,16	1,135
Синерезис, %	0,2	5	18,85	18,60	13,88	14,40	13,93	12,82	10,95	15,62	13,71	15,86
$P_n/P_{эт}$	–	–	0,27	0,27	0,36	0,35	0,36	0,39	0,46	0,32	0,36	0,32
<i>Итого по группе</i>	–	–	0,192	0,187	0,191	0,201	0,196	0,196	0,258	0,235	0,246	0,240
Комплексный показатель	–	–	1,971	1,924	2,091	2,181	2,186	2,126	2,247	2,103	2,196	2,21

Таким образом, крахмал, прошедший ферментную обработку в течение 1 ч амилазой *B. licheniformis* в концентрации 0,415 ед/г крахмала, наилучшим образом подходит для применения в технологии обезжиренных КМП со стабильной текстурой и наилучшими товароведными характеристиками.

5.2.3 Научное обоснование применения ферментно модифицированных крахмалов в технологии обезжиренного варенца

Для приготовления варенца используется традиционная йогуртовая закваска, состоящая из *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*. Его особенностью является использование топленого коровьего молока. В результате КМП имеет кремовый оттенок и специфический приятный запах топления. Традиционно жирность варенца колеблется от 2,5 % до 4 %, такой напиток имеет густую консистенцию, полный насыщенный вкус. В связи с этим актуальна разработка низкожирного кисломолочного продукта отличного от йогурта по вкусовому ряду. Для улучшения текстурных свойств использовали те же ФМК, что и для йогурта, крахмалы описаны в параграфе 5.1, названия варенцов соответствуют коду крахмала, представленному в таблице 33.

Значения pH и титруемой кислотности образцов варенца приведены на рисунке 83.

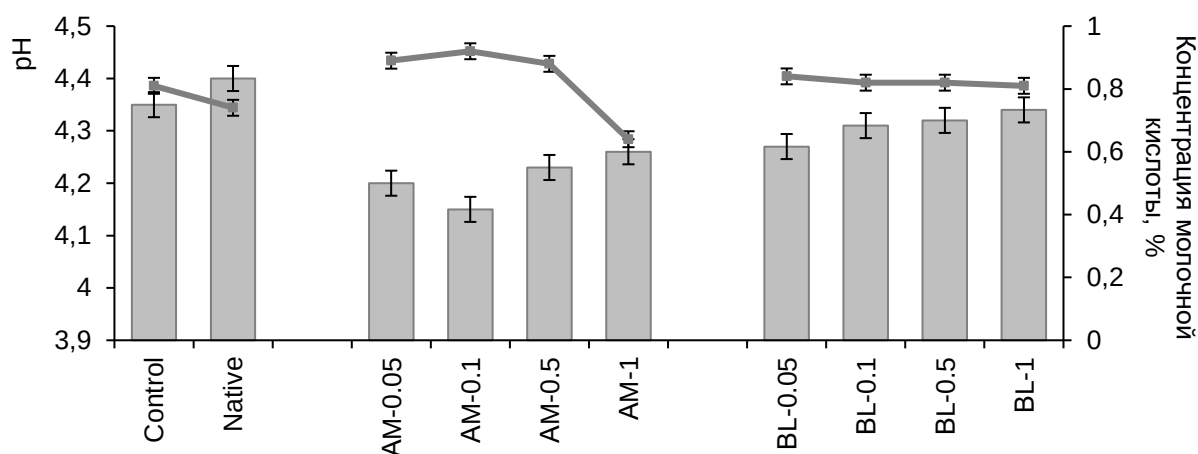


Рисунок 83 – Показатели pH (столбцы) и концентрация молочной кислоты (линия) обезжиренных варенцов с добавлением ФМК

pH контрольного и нативного образца были на уровне 4,35–4,4, тогда как образцы с крахмалами BL имели более низкий pH (4,28–4,32). Самый низкий pH был у образцов AM. Титруемая кислотность отражает зависимость, чем ниже pH, тем

выше кислотность. Исключение составляет образец АМ-1, внесением ФМК, полученного с помощью амила субтилина стимулирует нарастание кислотности в процессе сбраживания лактозы. Возможно, крахмал, подвергшийся интенсивному предварительному гидролизу, выступает в качестве дополнительного источника питания.

Химический состав варенцов иллюстрируется в таблице 44. Не выявлено существенной разницы в содержании белка в варенце контрольном и с внесением ФМК, в образце с нативным крахмалом белка меньше на 0,4 % ($p > 0,05$). Количество сывороточного белка в образцах АМ и ВЛ в общей массе увеличилось примерно на 0,2 %, что может быть следствием более активного развития молочнокислых бактерий и проявления их протеолитической активности.

Таблица 44 – Физико-химический состав образцов варенца с добавлением различных крахмалов ($m \pm M$)

Образец	Белок общий, %	Белок в сыворотке, %	Углеводы, %	Сухие вещества, %	Соли, %	Плотность, кг/м ³
Контроль	3,46 ± 0,23	1,96 ± 0,02	4,06 ± 0,04	8,21 ± 0,3	0,69 ± 0,01	1033 ± 1
Нативный	3,09 ± 0,21	2,04 ± 0,04	6,09 ± 0,03	10,72 ± 0,29	0,71 ± 0,01	1036 ± 0,5
АМ-0,05	3,50 ± 0,32	2,30 ± 0,04	6,06 ± 0,07	10,87 ± 0,44	0,77 ± 0,01	1036 ± 1
АМ-0,1	3,48 ± 0,25	2,25 ± 0,06	6,06 ± 0,07	10,84 ± 0,39	0,76 ± 0,01	1037 ± 1
АМ-0,5	3,47 ± 0,24	2,26 ± 0,03	6,06 ± 0,06	10,83 ± 0,34	0,76 ± 0,01	1036 ± 1
АМ-1	3,46 ± 0,26	2,22 ± 0,03	6,05 ± 0,06	10,73 ± 0,36	0,76 ± 0,01	1036 ± 1
ВЛ-0,05	3,47 ± 0,26	2,27 ± 0,10	6,07 ± 0,10	10,88 ± 0,47	0,76 ± 0,01	1036 ± 1
ВЛ-0,1	3,51 ± 0,24	2,25 ± 0,04	6,06 ± 0,10	10,83 ± 0,39	0,76 ± 0,01	1036 ± 1
ВЛ-0,5	3,48 ± 0,20	2,28 ± 0,04	6,06 ± 0,08	10,83 ± 0,33	0,76 ± 0,01	1036 ± 1
ВЛ-1	3,52 ± 0,35	2,27 ± 0,04	6,06 ± 0,08	10,88 ± 0,48	0,76 ± 0,01	1036 ± 1

Количество углеводов и общее содержание сухого вещества естественным образом увеличилось в образцах с крахмалом, что обусловлено наличием 2 % углеводов в крахмале. Это также обуславливает увеличение солей в сыворотке и повышение плотности напитка.

Увеличение сухого вещества за счет добавления крахмала положительно сказалось на текстурных характеристиках. Внесение ФМК АМ-0,5, АМ-1, ВЛ-0,1,

BL-0.5, BL-1 снижает уровень синерезиса образцов (рисунок 84, *а*). Наибольший синерезис наблюдался в образце с нативным крахмалом. Такое положительное влияние ФМК может быть связано с их более низкой вязкостью, увеличением адсорбционной способности воды и растворимости при комнатной температуре, а также морфологической перестройкой, разрыхлением гранул крахмала [416], соответственно, увеличением общей площади контакта с компонентами молока.

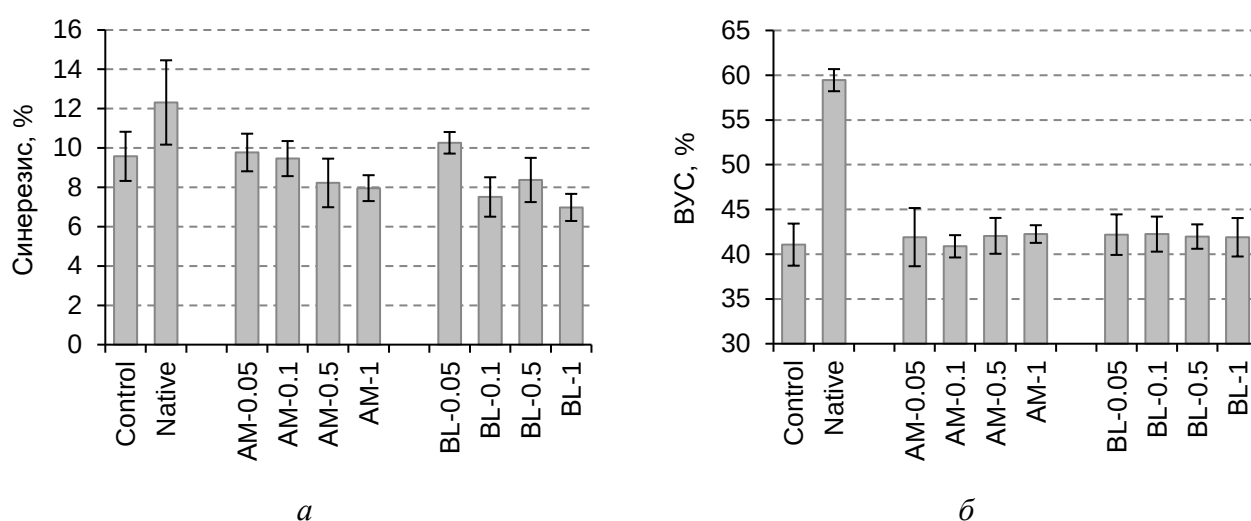


Рисунок 84 – Синерезис (*а*) и влагоудерживающая способность (*б*) обезжиренных варенцов с добавлением различных крахмалов ($m \pm M$)

ФМК не оказывали влияния на ВУС, в то время как нативный крахмал увеличивал эту способность в варенце на 18 % (рисунок 84, *б*). Вероятно, это связано с высокой желирующей способностью нативного картофельного крахмала после нагревания и, как следствие, его большей способностью удерживать воду в матрице после тепловой обработки.

Вязкость образцов с добавлением крахмалов была значительно выше контроля (рисунок 85), а у варенцов с добавлением ФМК выше, чем у варенца с нативным крахмалом, особенно в случае использования крахмалов AM-0.5, AM-1, BL-1. Механизм повышения вязкости и как следствие улучшение текстуры КМП варьируется в зависимости от используемого гидроколлоида. Модифицированные крахмалы – это в большинстве своем нейтральные стабилизаторы, не вступающий во взаимодействие с белками в рН-зависимых процессах, но улучшает тело и текстуру

напитка за счет увеличения вязкости водной фазы системы [228; 317]. Несмотря на то, что вязкость геля нативного крахмала выше [416], вязкость ферментированного продукта с нативным крахмалом ниже, чем с ФМК, это может быть обусловлено более разрыхленной и мицеллеподобной структурой ФМК-геля в молоке и его способности образовывать более однородные матриксы. Увеличение концентрации фермента, используемого для получения крахмала, позволяет получить крахмал с более низкой молекулярной массой.

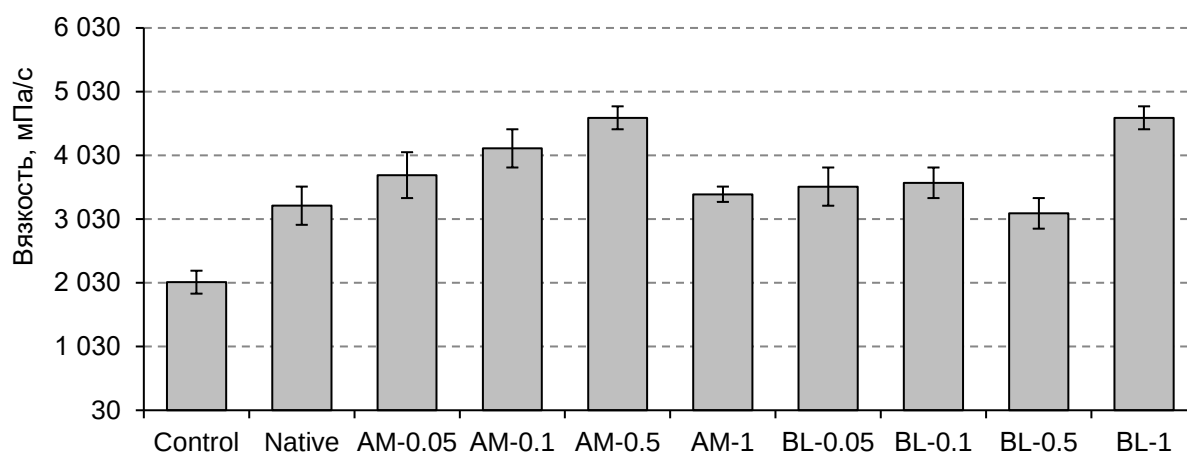


Рисунок 85 – Вязкость образца обезжиренного варенца с различными картофельными крахмалами

Такая структура частично гидролизованного ФМК позволяет крахмалу более эффективно реагировать с молочными белками, особенно во время трехчасового процесса нагревания при топлении.

Добавление в варенец крахмала привело к увеличению экстрагируемых полисахаридов, в том числе и ЭПС лактобацилл, разница между контролем и нативным образцом 16 мг/г продукта (рисунок 86). В случае образцов с ФМК увеличение концентрации суммы полисахаридов составило 20–25 мг/г продукта. Наибольшее количество полисахаридов выявлено у всех образцов BL и AM-1. Видимо, ФМК выступает дополнительным субстратом или стимулирующим агентом для синтеза полисахаридов молочнокислыми бактериями.

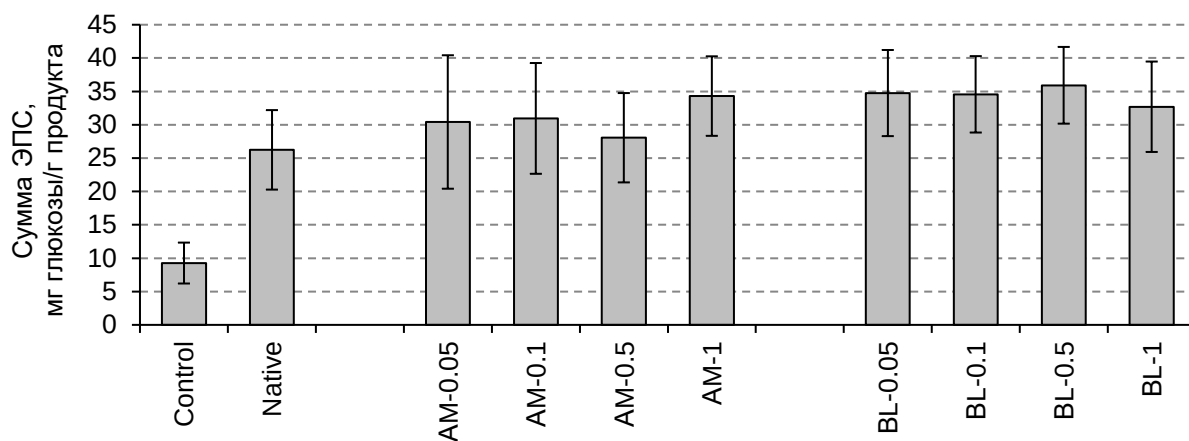


Рисунок 86 – Сумма экстрагируемых полисахаридов в образцах варенца с различными картофельными крахмалами

Увеличение синтеза ЭПС положительно влияет на вязкость и синерезис, ферментно модифицированный крахмал дополнительно связывает агрегаты казеина в общий матрикс. В результате уменьшается вероятность разделения фаз, при котором размер областей дисперсной среды, снижающих прочность образца.

ФМК оказал положительное влияние на органолептические оценки обезжиренных варенцов (таблица 47). Образец с нативным крахмалом был наименее предпочтителен по внешнему виду, остальные образцы с крахмалами не отличались от контроля. При оценке аромата наиболее интенсивный приятный запах топления в сочетании с кисломолочным был у образцов AM-0.1 и BL-1, у образца Native аромат был невыраженный, без интенсивного кисломолочного аромата. При оценке текстуры выявлено, что наиболее гладкая, однородная и тягучая консистенция характерная для образцов AM-0.1, AM-0.5 и BL-0.5, BL-1. Контрольный образец был менее вязким, тягучим, с менее выраженным ароматом топления. Средняя оценка вкуса образцов с ФМК была выше контрольного образца, но значительно отличалась среди образцов, высокие оценки вкуса были у варенцов AM-0.1, AM-0.5 и BL-0.5, BL-1. Образец с нативным крахмалом имел выраженный привкус крахмала, плохо размазывался по небу, так как имел клочковатую текстуру. В процессе топления в молоке происходит реакция меланоидинообразования, в результате чего молоко приобретает кремовый оттенок и специфический вкус. После ферментации

молочнокислыми бактериями интенсивность привкуса продуктов реакции Майяра снижалась за счет появления кислых продуктов метаболизма.

Присутствие крахмалов несколько изменило цветовую характеристику варенцов (таблица 45). По сравнению с контролем образцы с крахмалами были более темными, наибольшее потемнение было у образца Native, присутствие ФМК не приводило к столь интенсивному потемнению. В образцах АМ и ВЛ показатели a и b больше смещены в красную и желтую сторону, соответственно, чем у контрольного образца. Исследования термостабильности показали более высокую устойчивость ФМК, чем нативного крахмала (данные показаны ранее). Это может быть причиной более интенсивного окрашивания нативного крахмала в варенце, поскольку 3-часовой период нагревания привел к частичному разложению нативного крахмала и высвобождению глюкозы, а также повышению уровня свободных аминокислот. Реакция Майяра при добавлении в молоко ФМК проходит менее интенсивно, чем при добавлении нативного крахмала. С точки зрения технологического процесса, чтобы не допустить получения более интенсивного цвета у варенца с ФМК можно сократить время топления, что снизит экономические затраты.

Таблица 45 – Балльная оценка органолептических показателей и инструментальные показатели цветности образцов обезжиренного варенца с добавлением ФМК

Образец	Внешний вид (0–1)	Аромат (1–3)	Текстура (1–10)	Вкус (1–10)	Сумма	Цветность		
						L	a^*	b^*
Контроль	1 ± 0	$1,6 \pm 0,55$	$5,8 \pm 0,84$	$5,4 \pm 0,55$	$13,8 \pm 1,93$	$71,23 \pm 1,98$	$3,26 \pm 2,54$	$19,37 \pm 2,68$
Нативный	0 ± 0	$1,0 \pm 0,71$	$4,0 \pm 0,71$	$4,6 \pm 0,55$	$9,6 \pm 1,96$	$52,77 \pm 2,11$	$5,12 \pm 1,22$	$31,05 \pm 2,20$
АМ-0,05	1 ± 0	$1,8 \pm 0,45$	$6,6 \pm 0,55$	$5,8 \pm 0,45$	$15,2 \pm 1,44$	$65,64 \pm 3,44$	$5,11 \pm 1,08$	$25,14 \pm 2,45$
АМ-0,1	1 ± 0	$2,0 \pm 0,00$	$8,2 \pm 0,45$	$7,8 \pm 0,45$	$19,0 \pm 0,89$	$59,94 \pm 2,41$	$5,09 \pm 1,52$	$24,73 \pm 2,14$
АМ-0,5	1 ± 0	$1,6 \pm 0,55$	$8,0 \pm 0,71$	$7,4 \pm 0,55$	$18,0 \pm 1,80$	$66,92 \pm 4,23$	$4,84 \pm 2,02$	$26,13 \pm 2,54$
АМ-1	1 ± 0	$1,8 \pm 0,45$	$7,2 \pm 0,45$	$6,8 \pm 0,45$	$16,8 \pm 1,34$	$66,38 \pm 4,21$	$4,65 \pm 1,10$	$25,81 \pm 3,02$
ВЛ-0,05	1 ± 0	$1,6 \pm 0,55$	$6,8 \pm 0,45$	$7,0 \pm 0,00$	$16,4 \pm 0,99$	$67,69 \pm 3,98$	$4,61 \pm 1,08$	$25,78 \pm 3,24$
ВЛ-0,1	1 ± 0	$1,6 \pm 0,55$	$7,8 \pm 0,45$	$7,2 \pm 0,84$	$17,6 \pm 1,83$	$64,30 \pm 1,98$	$4,87 \pm 0,88$	$14,84 \pm 1,24$
ВЛ-0,5	1 ± 0	$1,8 \pm 0,45$	$8,2 \pm 0,45$	$7,2 \pm 0,45$	$18,2 \pm 1,34$	$65,88 \pm 2,12$	$4,83 \pm 2,02$	$26,35 \pm 2,80$
ВЛ-1	1 ± 0	$2,0 \pm 0,00$	$8,6 \pm 0,55$	$8,2 \pm 0,45$	$19,8 \pm 0,99$	$68,62 \pm 2,14$	$4,56 \pm 1,82$	$25,44 \pm 2,78$

Наибольшим потенциалом связывать свободные радикалы обладали образцы BL (рисунок 87), у этих же образцов сыворотка обладает высокой радикал-связывающей активностью.

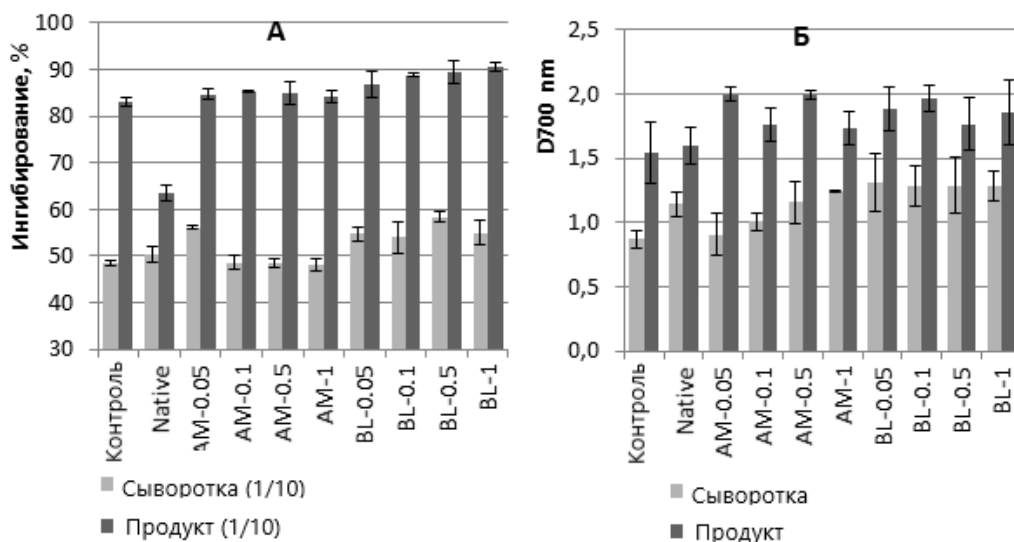


Рисунок 87 – Радикал-связывающая (а) и восстановительная активности (б) сыворотки и обезжиренного варенца с добавлением ФМК

Образец Native проявил наименьшую активность. Сыворотка образцов AM в трех случаях из четырех и Native проявили сравнимую с контролем радикал-связывающую активность.

Способность восстанавливать Fe^{3+} в Fe^{2+} наиболее сильно проявилась у образцов ферментированного продукта с ФМК (рисунок 87, б), тогда как контроль и Native слабее проявляли восстанавливающую силу. Добавление в варенец крахмалов привело к повышению восстанавливающей способности сыворотки продукта. Наибольший восстанавливающий потенциал проявили сыворотки с крахмалами BL.

Таким образом, использование ферментно ФМК для стабилизации обезжиренного Варенца позволяет повысить уровень белка в сыворотке по сравнению с нативным крахмалом. ФМК, обработанные амилазой *B. licheniformis*, стимулируют развитие заквасочной культуры йогурта *L. bulgaricus* и *S. thermophilus*, более того стимулируют синтез экзополисахаридов. В присутствии ФМК вязкость варенца увеличивается, улучшается текстура, повышается способность молочного геля связывать сыворотку. ФМК в концентрации 0,5–1 % способствует формирова-

нию более сливочного топленого вкуса в кисломолочных низкожирных продуктах из топленого молока. С точки зрения повышения функциональности КМП, применение ФМК способствует формированию повышенного антиоксидантного потенциала. ФМК можно рассматривать как дополнительный источник углерода, способствующий развитию заквасочных культур молочнокислых бактерий и образованию комплекса веществ с антиоксидантными свойствами.

5.2.4 Обоснование функциональных свойств обезжиренных кисломолочных продуктов с внесением ферментно модифицированного крахмала в системе *in vivo*

Йогурты традиционно относят к функциональным пищевым продуктам, содержащий все основные питательные вещества, необходимые для здоровья. Все положительные моменты, указывающие на перспективность применения ФМК в технологии КМП, могут быть признаны несостоявшимися при условии их отрицательного влияния на здоровье человека. В качестве модели для подтверждения безопасности применения ФМК в составе йогурта были выбраны крысы линии Вистар (половозрелые) как представители моногастричных всеядных животных. В их сбалансированный рацион питания в качестве дополнительного ингредиента был добавлен обезжиренный йогурт в количестве 2 г ежедневно на одно животное.

В результате шестинедельного эксперимента выявлено, что введение в рацион йогурта с крахмалами снизило прибавку в весе взрослых особей, эффективность потребления кормов возросла (таблица 46). На макроорганизменном уровне йогурты с крахмалами снижают накопление массы тела, что является положительным, поскольку возраст крыс 10–12 недель (половозрелые особи). Наблюдение за животными показало, что они были активны, с хорошим аппетитом, угнетения в поведенческих реакциях не наблюдали, общего токсического эффекта не выявили.

Таблица 46 – Прибавка веса, масса съеденного корма и эффективность потребления корма за 42 дня эксперимента с введением в рацион крыс обезжиренного йогурта с ФМК

Группа животных	Абсолютная прибавка веса животного, г	Масса съеденного корма (на 5 животных), г	Эффективность усвоения кормов (на 5 животных), %
Контроль	111,4 ± 16,6	2965	962,3
Йогурт	109,0 ± 7,1	3411	901,7
Йогурт нативный	62,2 ± 12,1	4700	1165,6
Йогурт + АМ-0.05	79,2 ± 2,7	4251	1028,8
Йогурт + BL-0.05	69,8 ± 5,2	4136	1200,3

Расчет индекса массы органов показал, что гепатосомальный индекс (процент печени) у животных, получавших йогурты с крахмалом нативным и АМ-0.05, не отличается от группы, получавшей йогурт, и ниже, чем в контроле (рисунок 88). В этих же группах снижался почечный индекс по сравнению с контролем.

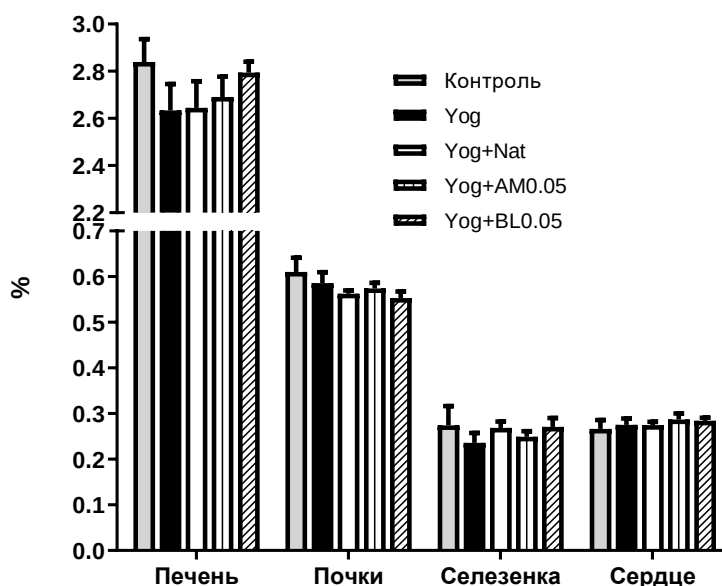


Рисунок 88 – Индексы различных органов крыс, получавших в рационе йогурты с крахмалами, через 42 дня эксперимента

Индекс селезенки и сердца значимо не отличались от контроля во всех экспериментальных группах. Визуальный осмотр органов брюшной полости не выявил видимых патологий, органы не гиперемированы, нет накопления жира или дистрофических изменений.

Анализ крови с лейкоцитарной формулой показал снижение уровня лейкоцитов в вариантах с йогуртом и с BL-0.05 (таблица 47). Это снижение в основном обусловлено уменьшением количества лимфоцитов, что указывает на снижение интенсивности воспалительных процессов, улучшение состояния иммунной системы.

Таблица 47 – Влияние йогуртов на гематологические показатели крови крыс через 6 недель эксперимента

Показатель	Референсные значения для крыс	Контроль	Йогурт	Йогурт + нативный	Йогурт + АМ-0.05	Йогурт + BL-0.05
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	2,1–19,5	$10,26 \pm 4,1$	$4,26 \pm 2^*$	$10,83 \pm 2,2$	$7,41 \pm 1,7^*$	$5,81 \pm 1,5^*$
Лимфоциты, $10^9/\text{л}$	1,3–14,1	$7,02 \pm 3,3$	$3,18 \pm 1,7^*$	$7,09 \pm 3,3$	$5,58 \pm 3,1$	$5,28 \pm 1,4^*$
Сумма нейтрофилов, моноцитов, эозинофилов, базофилов, $10^9/\text{л}$	0–0,98	$0,27 \pm 0,04$	$0,19 \pm 0,03$	$0,16 \pm 0,04$	$0,25 \pm 0,06$	$0,10 \pm 0,01^*$
Гранулоциты, $10^9/\text{л}$	0–7,5	$1,33 \pm 0,09$	$0,66 \pm 0,02^*$	$1,32 \pm 0,15$	$1,09 \pm 0,4$	$0,44 \pm 0,10^*$
Лимфоциты, %	25–97	$77,8 \pm 8,5$	$84 \pm 6,3^*$	$71,7 \pm 11,8$	$75,3 \pm 8,7$	$91,3 \pm 1,5^*$
Сумма нейтрофилов, моноцитов, эозинофилов, базофилов, %	0–7	$2,8 \pm 3,3$	$3,6 \pm 2,7$	$2 \pm 3,4$	$4,4 \pm 2,9$	$1,7 \pm 1,2$
Гранулоциты, %	0–75	$19,5 \pm 6$	$12,4 \pm 5,1$	$25 \pm 11,4$	$21,3 \pm 7,4$	$7,3 \pm 1$
Эритроциты, $10^{12}/\text{л}$	4,5–10	$12,33 \pm 2,3$	$10,06 \pm 2,5$	$12,8 \pm 2,9$	$10,17 \pm 4,3$	$7,58 \pm 1,8$
Гемоглобин, г/л	120–180	130 ± 24	$122 \pm 17,7$	$124 \pm 29,3$	$122 \pm 15,5$	129 ± 9
Гематокрит, %	35–52	$52,0 \pm 11,4$	$47,0 \pm 12,4$	$62,1 \pm 14,3$	$55,4 \pm 24,6$	$45,2 \pm 10,9$
Средний уровень эритроцитов, ft	50–96	$55 \pm 1,6$	$55 \pm 2,7$	$56 \pm 3,1$	$59 \pm 2,8$	$60 \pm 0,9$
Широта распределения популяции эритроцитах, %	–	$17,6 \pm 0,9$	$17,3 \pm 1,2$	$17,9 \pm 1,1$	$16,2 \pm 1,8$	$14,5 \pm 0,8$
Тромбоциты, $10^9/\text{л}$	150–1370	786 ± 169	221 ± 82	130 ± 14	$266 \pm 78^*$	$414 \pm 97^*$
Тромбокрит, %	0–15	$0,51 \pm 0,20$	$0,17 \pm 0,10$	$0,19 \pm 0,04$	$0,24 \pm 0,05$	$0,28 \pm 0,10$
Средний объем тромбоцитов, ft	–	$6,6 \pm 0,5$	$6,3 \pm 0,6$	$6,6 \pm 1$	$6,6 \pm 0,5$	$6,8 \pm 0,2$
Широта распределения популяции тромбоцитов, %	–	$32,6 \pm 2,2$	$33,4 \pm 2,2$	$33,4 \pm 3,1$	$32,6 \pm 1,9$	$32,2 \pm 0,4$

Показатели гемоглобина и эритроцитов не отреагировали на введение в рацион питания кисломолочного продукта. Обращает на себя внимание снижение количества тромбоцитов по сравнению с контролем, но не ниже нормы. Это можно рассматривать как эффект снижения рисков тромбообразования при потреблении КМП, причем присутствие в йогурте крахмала не снижает этого эффекта.

Продолжая исследования КМП в части влияния на липидный обмен млекопитающих, был проведен анализ биохимических параметров крови по фракциям липидов (рисунок 89).

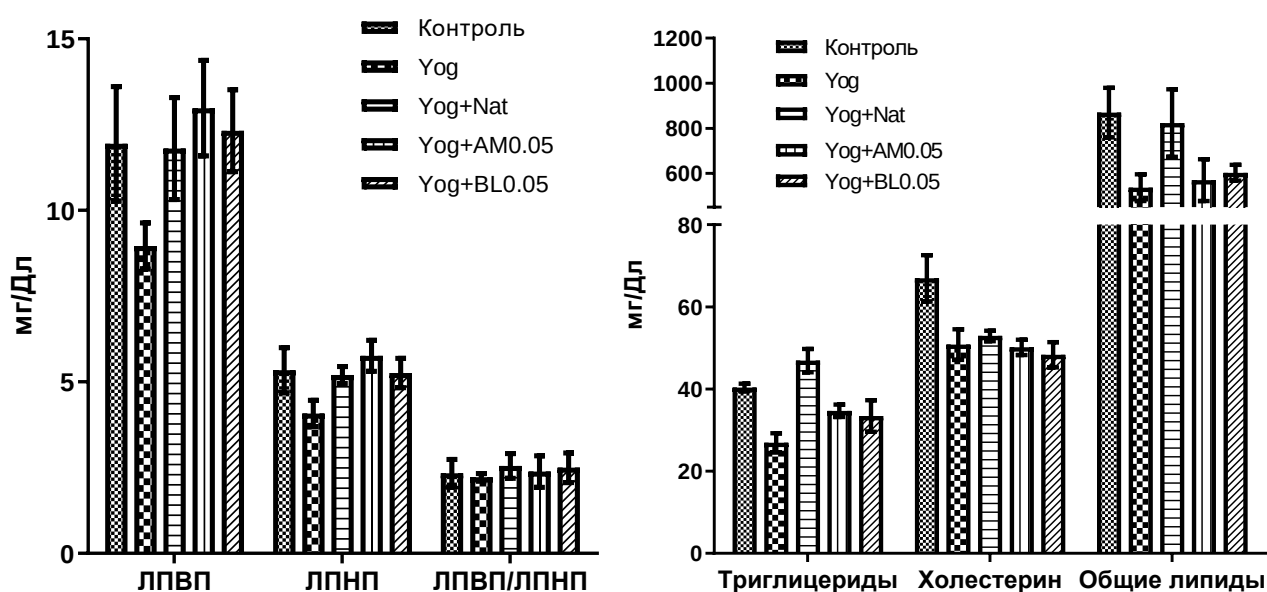


Рисунок 89 – Влияние обезжиренных йогуртов на липидный обмен крыс (анализ крови через 42 сут)

Выявлено, что потребление натурального йогурта и йогуртов с ФМК снижает уровень холестерина, триглицеридов, ЛПВП и ЛПНП по сравнению с контролем. В случае использования йогурта с ФМК достоверно снижался уровень триглицеридов в сравнении с вариантом с нативным крахмалом. Важно, что при потреблении йогурта или йогурта с крахмалами происходит снижение уровня холестерина. Общий уровень липидов снизился в вариантах с йогуртом и йогуртами с ФМК, тогда как в вариантах с нативным крахмалом уровень липидов был равен контрольному варианту.

Что касается белкового обмена, то на него введение в рацион питания йогурта практически не повлияло (рисунок 90). Измерение креатинина используется почти исключительно в оценке функции почек, в этой связи увеличение количества креатинина в варианте с нативным крахмалом указывает на незначительную повышенную нагрузку на орган. Выявлено снижение уровня глюкозы при регулярном потреблении йогуртов, причем присутствие крахмалов в КМП не влияло на проявление положительного эффекта.

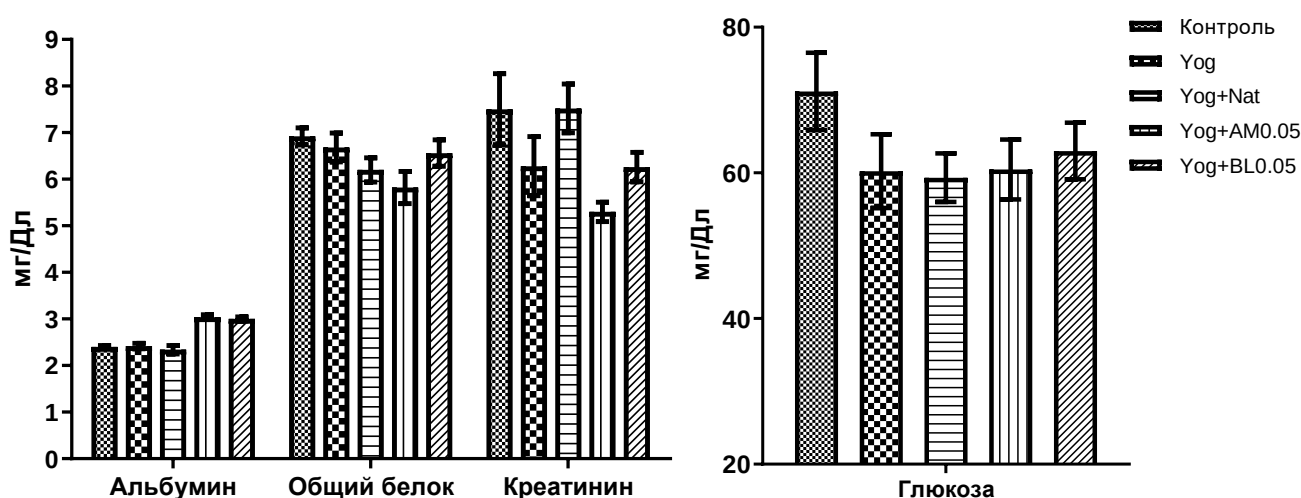


Рисунок 90 – Влияние обезжиренных йогуртов на белковые и углеводный компонент крови крыс (анализ через 42 сут)

Уровень активности сывороточных ферментов: холинэстераза, АЛФ, АСТ и АЛТ, во всех вариантах эксперимента был в пределах нормы, однако обнаружены тенденции в повышении уровня ферментативной активности в ряде вариантов (рисунок 91). Например, в варианте с чистым йогуртом у животных была выше активность щелочной фосфатазы, что может свидетельствовать об более активном процессе ассимиляции кальция из пищи. Чуть выше, чем в контроле, был уровень активности АСТ в варианте с йогуртом и йогуртом с BL-0,05 крахмалом, возможно, это связано с увеличением сердечной деятельности.

Активность сывороточной холинэстеразы выше, чем в контрольной группе, в случае использования в рационе питания животных йогурта с нативным крахмалом.

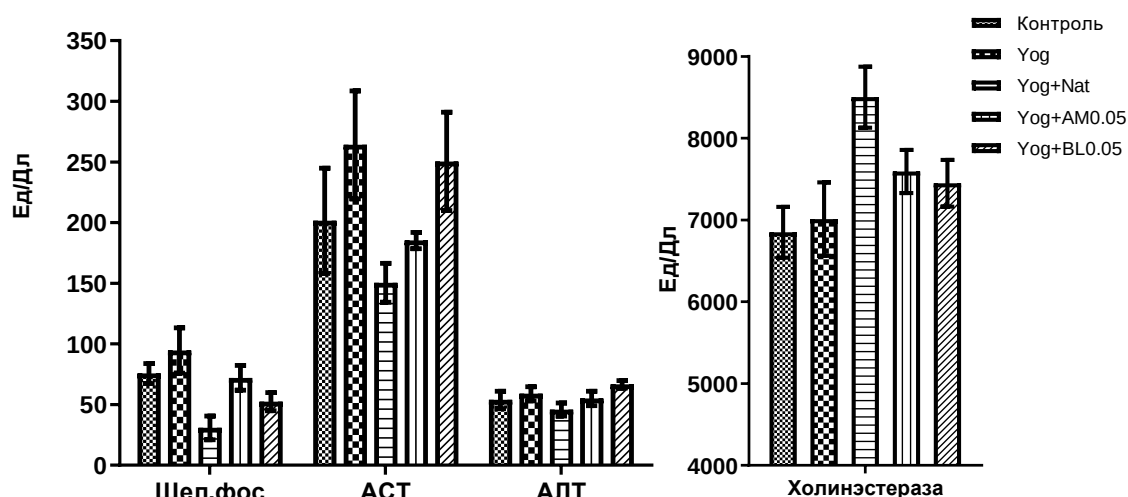


Рисунок 91 – Влияние обезжиренных йогуртов на ферментные системы крови крыс (анализ через 42 сут)

Практически все биохимические показатели крови тем или иным образом связаны с деятельностью печени, было проведено исследование печени крыс по показателям окисленности ее жировой фракции (рисунок 92). Количество сводных жирных кислот, как результат действия липаз, в вариантах с йогуртами ниже, чем в контроле, причем в вариантах с йогуртами с крахмалами уровень самый низкий. Перекисное число печени наименьшее в варианте с чистым йогуртом и йогуртом с крахмалом BL-0.05. Во всех вариантах с йогуртами наблюдали снижение уровня малонового альдегида. О высоком антиоксидантном потенциале молочнокислых бактерий сообщается во многих источниках [179; 184], способность связывать перекиси и свободные радикалы обнаруживается не только в супернатанте культуральной жидкости, бесклеточных экстрактах, но и в ферментированных молочных продуктах, отдельных белковых компонентах, выделенных из кисломолочных продуктов [105; 133; 309].

Кисломолочный продукты и бактерии в их составе несомненно влияют на микрофлору кишечника. Методами классической микробиологии выявлен положительный эффект кисломолочных продуктов, в том числе с ФМК, на микрофлору. В частности, снижался уровень колиформных бактерий, среди них *E. coli* (рисунок 93).

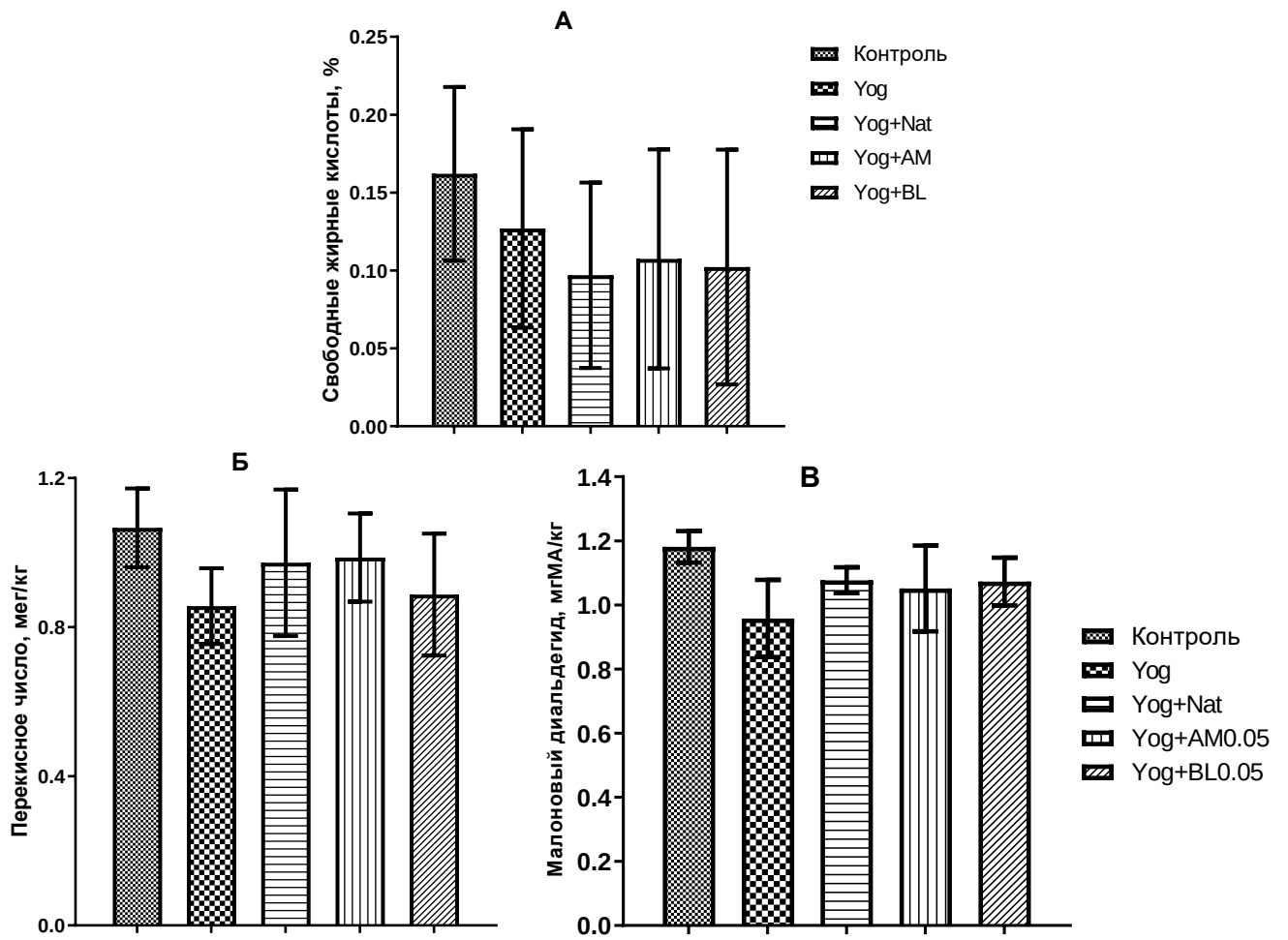


Рисунок 92 – Влияние обезжиренных йогуртов с крахмалами на окисленность печени крыс (анализ крови через 42 сут): *а* – свободные жирные кислоты, *б* – перекисное число, *в* – малоновый диальдегид)

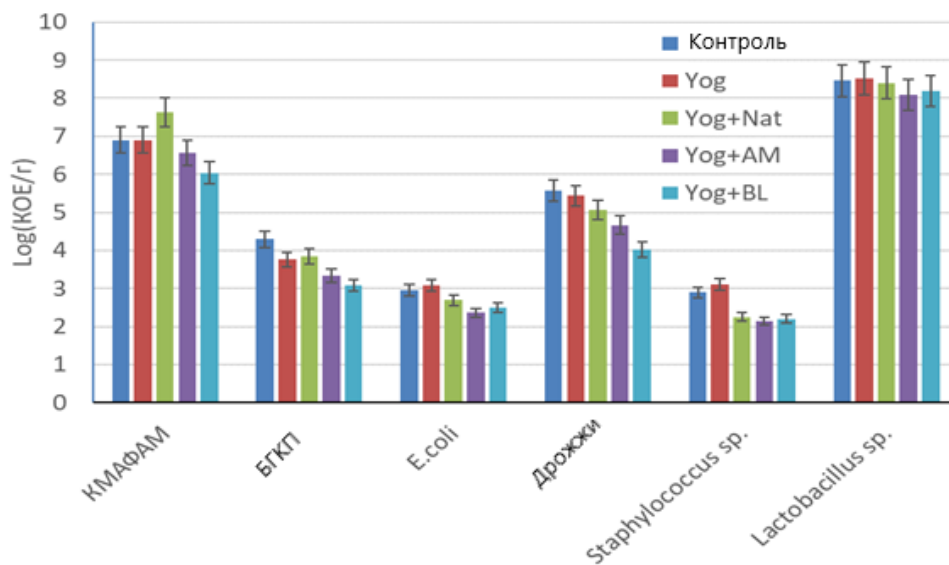


Рисунок 93 – Влияние обезжиренных йогуртов с крахмалами на микрофлору кишечного содержимого крыс (слепая кишка)

Почти на порядок меньше дрожжей и стафилококков в варианте с крахмалами, особенно с BL-0.05, чем в контроле или вариантах с чистым йогуртом. Количество *Lactobacilli* значимо не различалось во всех вариантах – на уровне 10^8 КОЕ/г.

Статистический анализ комплекса показателей функционального состояния животных (рисунок 94) выявил, что введение в рацион КМП, в том числе с ФМК, кардинально смещает координаты расположения экспериментальных групп от контрольной. В свою очередь, введение нативного крахмала в большей степени изменяет совокупность показателей по сравнению с группой, получающей обезжиренный йогурт, их области мало перекрываются. Группы животных, получающие йогурты с ФМК, имеют перекрывающиеся области с небольшим расхождением между собой. При этом их области больше приближены к варианту с йогуртом.

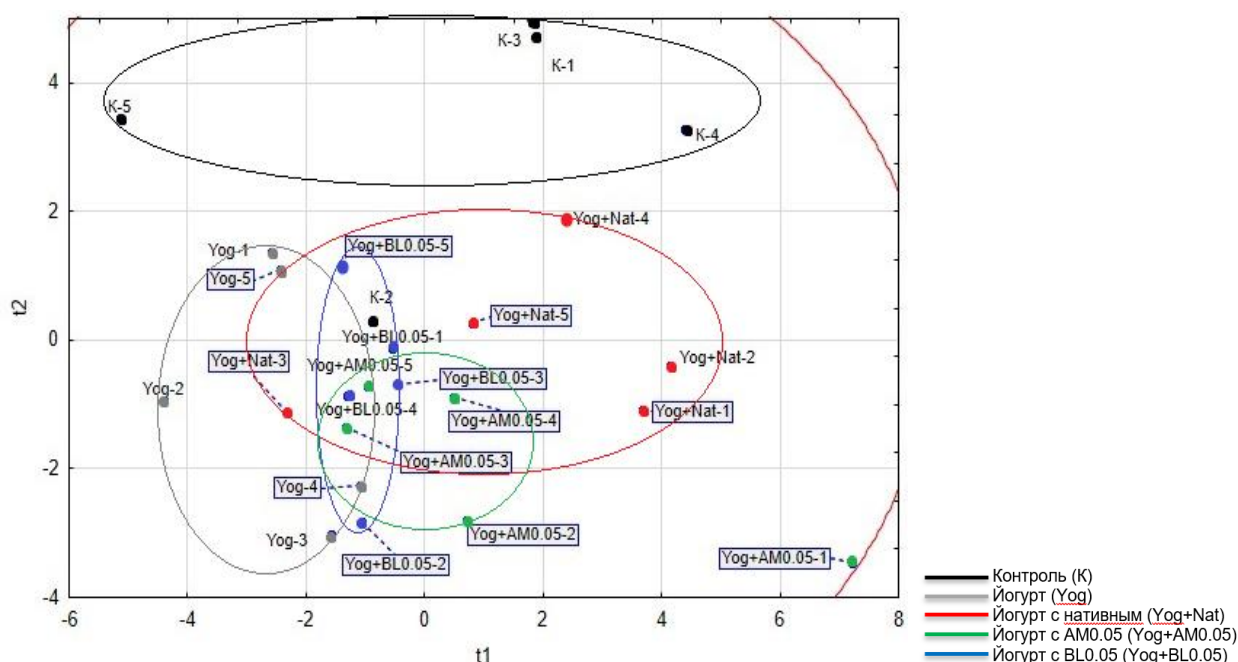


Рисунок 94 – Принципиальный компонентный анализ показателей разных групп животных в зависимости от вида йогурта в рационе

На основе статистической обработки можно утверждать, что КМП, изготовленный с ФМК, и йогурт без стабилизатора воздействуют на организм млекопитающих сходно. Нельзя утверждать аналогичное о продукте с нативным крахмалом. КМП с ФМК усиливают функциональные эффекты йогурта в части воздействия на микрофлору кишечника, положительного влияния на липидный и белковый обмен.

5.2.5 Совершенствование технологии обработки картофельного крахмала непосредственно в молочном сырье и последующая его апробация

Для удешевления процесса получения обезжиренных КМП со стабильной текстурой, была предложена технологическая схема получения продукта с дополнительной стадией обработки крахмального сырья ферментными препаратами в смеси на основе обезжиренного молока (рисунок 95).

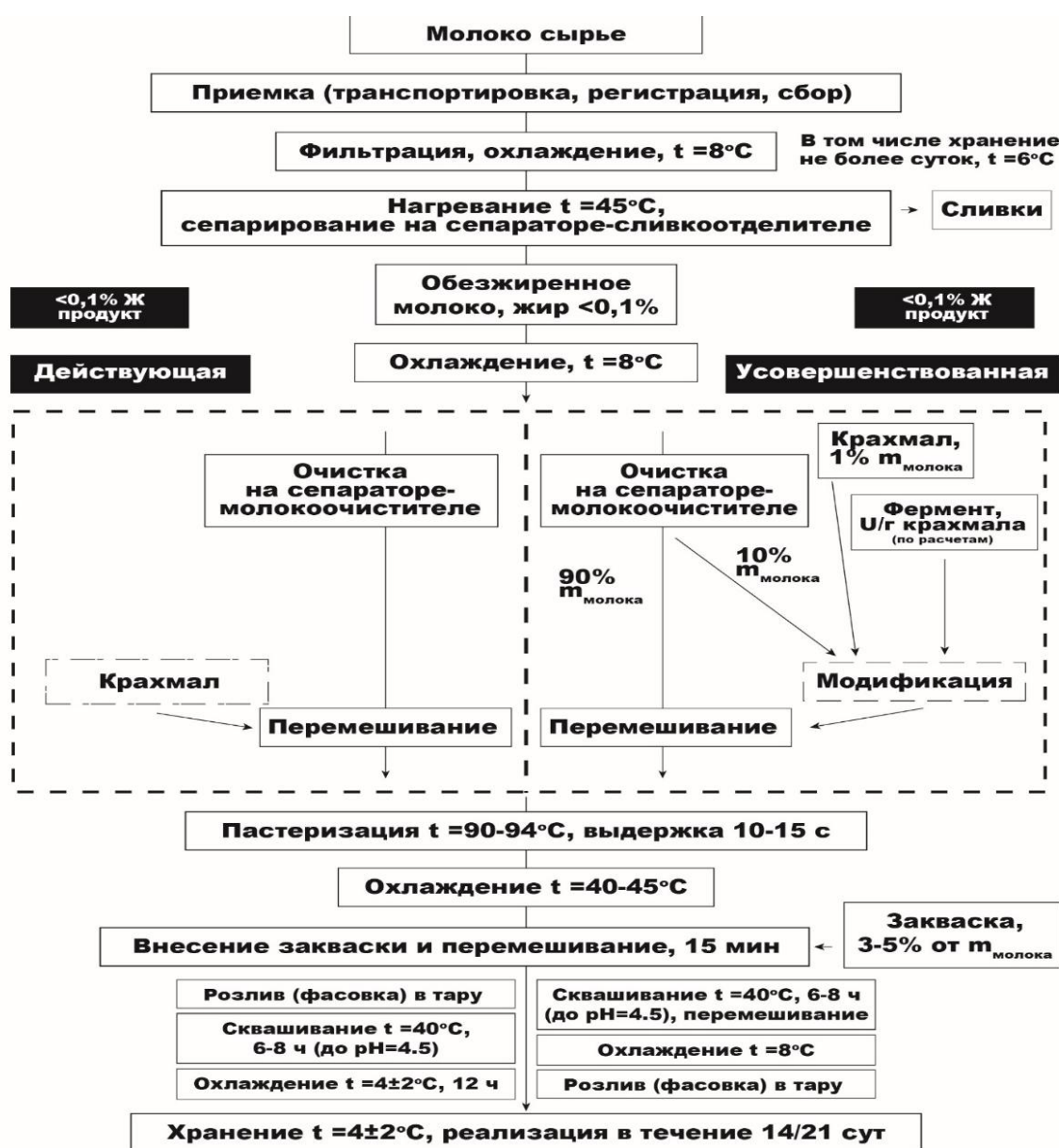


Рисунок 95 – Принципиальная технологическая схема получения кисломолочного напитка со стабилизатором

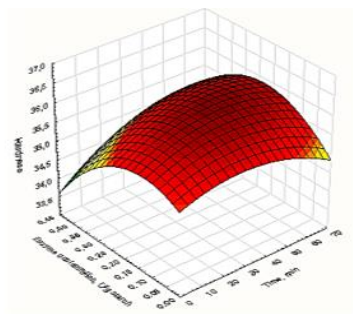
Особенностью предлагаемой схемы является включение стадии ферментной модификации в технологический процесс получения КМП. Такое новшество позволит производителям самостоятельно регулировать степень гидролиза крахмала в зависимости от желаемой текстуры, используемого крахмала по ботаническому происхождению и особенностей самого КМП.

В связи с предлагаемой схемой важно дать практические рекомендации по модификации крахмального сырья, а именно уточнить диапазон концентраций и время обработки. Для этих целей проведено исследование на основе математической модели, с применением подхода поверхностного отклика. По композиционному плану с использованием двух факторов (таблица 48) проведена модификация крахмала с последующей выработкой обезжиренного йогурта. После выработки продуктов в рамках технологических изменений исследовали комплекса текстурных, реологических и технологических параметров.

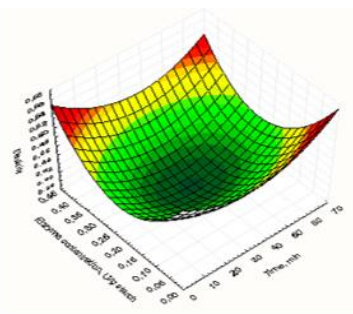
Таблица 48 – Композиционный план для двух факторов

Вариант опыта	Факторы в безразмерной системе координат			Факторы в натуральном масштабе	
	X_0	X_1	X_2	X_1 (время обработки)	X_2 (доза фермента)
1	1	-1	-1	0	0,0
2	1	-1	-0,5	0	0,1
3	1	-0,5	-0,5	15	0,1
4	1	0	-0,5	30	0,1
5	1	0,5	-0,5	45	0,1
6	1	1	-0,5	60	0,1
7	1	-1	0	0	0,2
8	1	-0,5	0	15	0,2
9	1	0	0	30	0,2
10	1	0,5	0	45	0,2
11	1	1	0	60	0,2
12	1	-1	1	0	0,4
13	1	-0,5	1	15	0,4
14	1	0	1	30	0,4
15	1	0,5	1	45	0,4
16	1	1	1	60	0,4
Σ	16,0	8,5	7,3	—	—

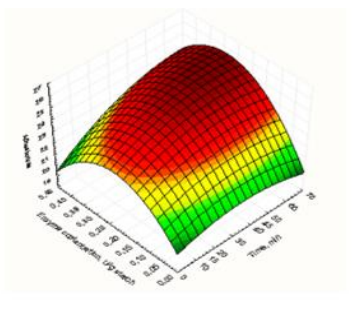
Учитывая цели внесения крахмалов, для стабилизации текстуры, в качестве показателей отклика выбрали независимые параметры: твердость, эластичность, адгезия, клейкость, упругость, тягучесть, вязкость, синерезис (рисунки 96 и 97). В таблице Г.1 приложения Г показаны все значения отклика для двухфакторного эксперимента.



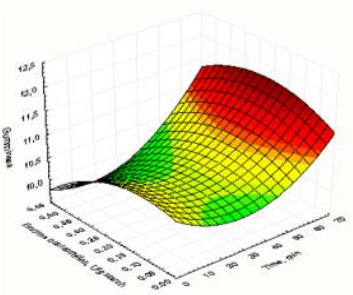
А - Твердость



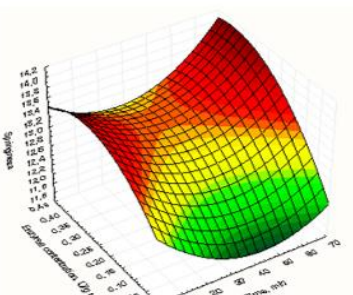
Б - Эластичность



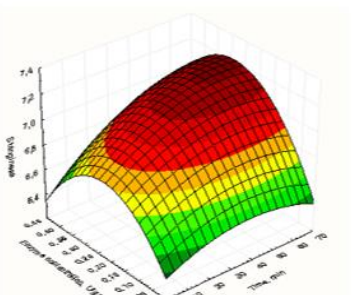
В - Адгезия



Г - Клейкость

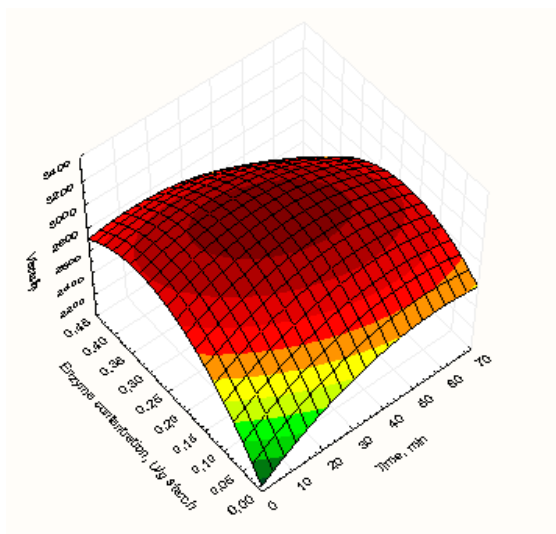


Д - Упругость

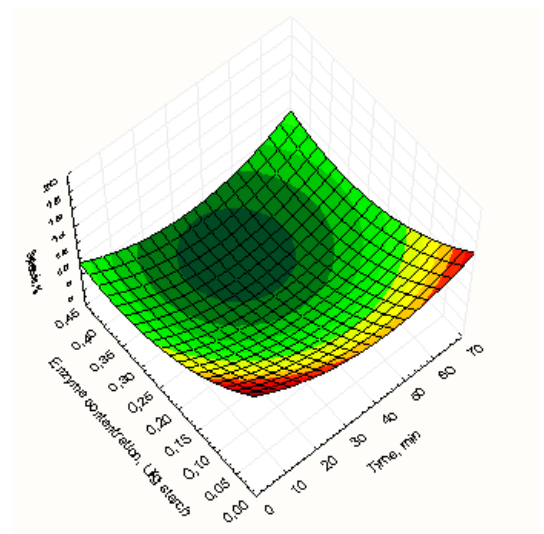


Е - Тягучесть

Рисунок 96 – Влияние концентрации и времени обработки на текстурные характеристики



а



б

Рисунок 97 – Влияние концентрации и времени обработки на вязкость (а) и синерезис (б)

Рассчитаны коэффициенты двухфакторной модели, а также коэффициенты уравнения регрессии (таблица 49).

Таблица 49 – Формулы зависимостей для параметров

Параметр	Условное обозначение	Уравнение регрессии	Ограничения
Твердость	$X_{ТВ}$	$35,27 + 0,022x_1 + 4,72x_2 - 0,0004x_1x_1 + 0,061x_1x_2 - 18,54x_2x_2$	$32 \leq X_{ТВ} \leq 36,0$
Когезия	X_K	$0,33 - 0,0012x_1 + 0,011x_2 + 2,01 \cdot 10^{-5}x_1x_1 + 0,0003x_1x_2 - 0,081x_2x_2$	$0,25 \leq X_K \leq 0,34$
Скорректированная когезия	$X_{СК}$	$0,26 - 0,001x_1 - 0,18x_2 + 1,20E-5x_1x_1 + 0,001x_1x_2 + 0,31x_2x_2$	$0,21 \leq X_{СК} \leq 0,29$
Адгезия	X_A	$19,69 + 0,06x_1 + 31,17x_2 - 1,00E-3x_1x_1 + 0,14x_1x_2 - 70,64x_2x_2$	$19 \leq X_A \leq 26$
Эластичность	$X_Э$	$0,55 - 0,003x_1 - 0,98x_2 + 4,83E-5x_1x_1 - 0,002x_1x_2 + 2,19x_2x_2$	$0,38 \leq X_Э \leq 0,54$
Клейкость	$X_{КЛ}$	$10,72 - 0,03x_1 + 1,99x_2 + 6,00E-4x_1x_1 + 0,03x_1x_2 - 9,03x_2x_2$	$9,7 \leq X_{КЛ} \leq 12,5$
Упругость	X_U	$12,78 - 0,05x_1 + 7,13x_2 + 6,00E-4x_1x_1 + 0,04x_1x_2 - 12,82x_2x_2$	$12 \leq X_U \leq 15$
Тягучесть	X_T	$6,37 + 0,01x_1 + 4,02x_2 - 1,00E-4x_1x_1 + 0,02x_1x_2 - 9,05x_2x_2$	$6 \leq X_T \leq 8$
Вязкость	X_B	$2060,21 + 20,15x_1 + 5446,47x_2 - 0,18x_1x_1 - 33,40x_1x_2 - 8901,60x_2x_2$	$2075 \leq X_B \leq 3230$
Синерезис	X_C	$17,95 - 0,24x_1 - 48,01x_2 + 2,70E-3x_1x_1 + 0,10x_1x_2 + 65,14x_2x_2$	$6 \leq X_C \leq 17$
ВУС	$X_{ВУС}$	$40,63 - 0,05x_1 - 85,42x_2 + 2,00E-4x_1x_1 + 0,26x_1x_2 + 145,45x_2x_2$	$29 \leq X_{ВУС} \leq 34$

С помощью инструментов Statistica 12 и «Поиск решения» MS Excel рассчитаны оптимальные значения факторов для каждого параметра, далее определены оптимальное время обработки (X_1 , t, мин) и активность ферментного препарата (X_2 , U/г крахмала) (таблица 50). Оптимальный диапазон значений для концентрации ферментного препарата и времени обработки для модификации картофельного крахмала составил 0,30–0,33 U/г крахмала и 30–35 минут, соответственно.

Ранее аналогичная работа была проведена для тапиокового крахмала [92; 93], который во многом похож на картофельный крахмал. В связи с этим условия модификации, в частности время и концентрация обработки, были очень схожи.

Таблица 50 – Результат расчета оптимальных показателей концентрации фермента и времени обработки

Параметр	Оптимальные значения		Прогнозируемые значения
	X_1 (t, мин)	X_2 , U/г крахмала	
Твердость, г	34,46	0,33	35,04
Эластичность	31,52	0,33	0,39
Адгезия, г·с	33,40	0,31	24,10
Когезия	31,58	0,32	0,31
Скорректированная когезия	33,64	0,31	0,21
Клейкость, г	33,62	0,31	11,42
Упругость, мм	35,18	0,31	13,01
Тягучесть, мм	32,99	0,31	7,53
Вязкость, мПа/с	31,18	0,30	3043,10
Синерезис, %	33,75	0,31	4,36
ВУС, %	32,86	0,33	31,24
Среднее значение	33,15	0,316	–

Полученные результаты позволили применить данную технологическую схему для получения обезжиренного йогурта со стабильной текстурой. Как и на предыдущих этапах исследований для ферментной модификации применяли амилосубтилин и амилазу *B. licheniformis*. Для кисломолочных продуктов без стабилизаторов в полиэтиленовой таре рекомендованный срок хранения составляет 5–7 сут, в случае использования стабилизаторов этот срок увеличивается до 10–14 сут. При тестировании продукта, полученного по предлагаемой схеме, срок хранения увеличили до 28 сут, увеличив рекомендованный срок в два раза.

Выявленные закономерности изменения химических показателей представлен на рисунке 98 и таблице 44. Йогурт_АМ и Йогурт_ВЛ в начале хранения имели более высокую кислотность, чем в контроле, которая при хранении уменьшалась, тогда как в контроле наблюдали обратную тенденцию. Такой характер колебания

уровня кислотности свидетельствует о положительном влиянии ФМК на сохранность йогурта и постзакислительные процессы. То есть присутствие стабилизатора позволило избежать излишнего закисления йогурта, тогда как в контроле МКБ продолжали метаболизировать глюкозу и синтезировать молочную кислоту. Что касается протеолитической активности (рисунок 98, *г*), не выявлено существенного отличия между образцами, накопление низкомолекулярных пептидов в процессе хранения происходит идентично.

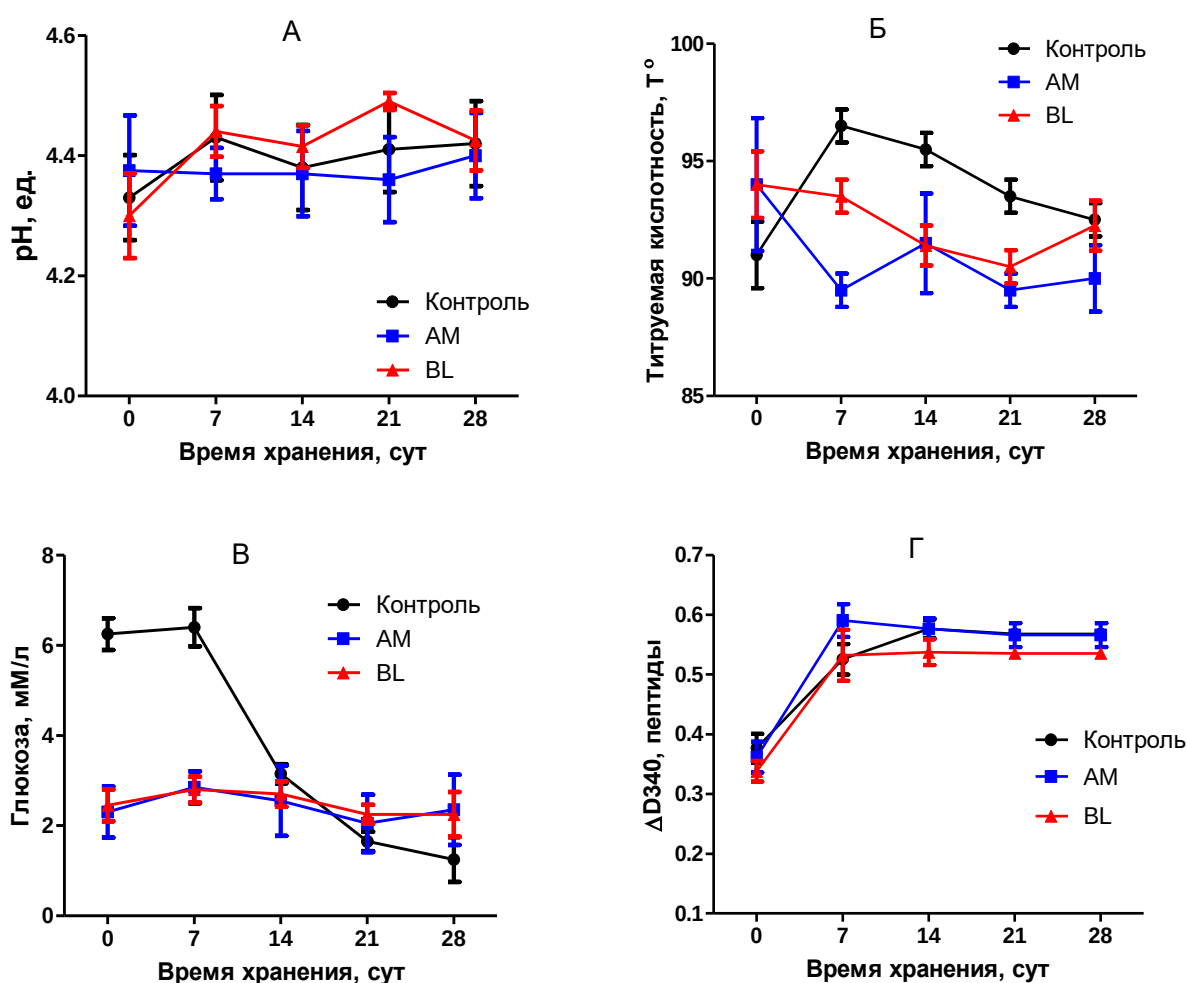


Рисунок 98 – Динамика pH (*а*), титруемой кислотности (*б*), количества глюкозы (*в*) и увеличения низкомолекулярных пептидов (*г*) в обезжиренных йогуртах, изготовленных по предлагаемой технологии, в процессе хранения

Анализ химического состава обезжиренного йогурта подтвердил закономерности, выявленные нами ранее. Добавление крахмалов закономерно повышает ко-

личество углеводов в единице объема, снижая количество белка, при этом повышается количество сухих веществ и плотность (таблица 51). Ферментная модификация крахмала, интегрированная в процесс обработки молока до стадии пастеризации, не повлияла на химические показатели йогурта. Поведение продукта в процессе хранения повторяет ранее выявленные закономерности, когда в технологии применяли уже готовый ФМК (классическая технология добавления стабилизатора).

Таблица 51 – Химические показатели йогуртов с ФМК, изготовленных по расчетной математической модели, в процессе хранения

Вариант йогурта	Срок хранения, сут	Белок, %	Белок в сыворотке, %	Углеводы, %	Соли, %	Сухое вещество, %	Плотность, г/см ³
Контроль	1	4,16 ± 0,11	3,01 ± 0,01	4,44 ± 0,11	0,70 ± 0,01	9,30 ± 0,12	1035,3 ±
	7	4,34 ± 0,12	2,84 ± 0,04	4,29 ± 0,10	0,66 ± 0,01	9,19 ± 0,14	1034,9 ±
	14	4,07 ± 0,10	2,91 ± 0,04	4,30 ± 0,06	0,68 ± 0	9,05 ± 0,20	1036,1 ± 0,1
	21	3,89 ± 0,13	2,89 ± 0,03	4,27 ± 0,05	0,67 ± 0	8,84 ± 0,21	1035,5 ± 0,1
	28	4,09 ± 0,10	2,99 ± 0	4,22 ± 0,11	0,67 ± 0	8,82 ± 0,21	1034,6 ± 0,2
Йогурт_АМ	1	3,70 ± 0,09	3,10 ± 0,03	4,98 ± 0,05	0,78 ± 0,01	9,61 ± 0,18	1038,8 ± 0,1
	7	3,73 ± 0,02	3,26 ± 0,04	4,91 ± 0,05	0,76 ± 0	9,30 ± 0,11	1037,9 ± 0,2
	14	3,74 ± 0,03	3,16 ± 0,01	4,96 ± 0,07	0,74 ± 0,01	9,14 ± 0,12	1040,3 ± 0,2
	21	3,59 ± 0,03	3,09 ± 0,02	4,87 ± 0,06	0,72 ± 0,01	8,89 ± 0,12	1038,5 ± 0,1
	28	3,60 ± 0,06	3,24 ± 0,03	4,89 ± 0,05	0,76 ± 0	9,12 ± 0,14	1039,7 ± 0,1
Йогурт_ВЛ	1	4,02 ± 0,10	3,29 ± 0,02	4,86 ± 0,01	0,77 ± 0	9,66 ± 0,13	1039,9 ± 0,1
	7	4,01 ± 0,05	3,43 ± 0,02	4,87 ± 0,05	0,78 ± 0	9,88 ± 0,12	1040,5 ± 0
	14	4,01 ± 0,03	3,28 ± 0,08	4,84 ± 0,03	0,76 ± 0	9,62 ± 0,14	1041,5 ± 0,1
	21	4,05 ± 0,03	3,27 ± 0,02	4,83 ± 0,03	0,76 ± 0	9,64 ± 0,08	1041,4 ± 0,2
	28	3,94 ± 0,04	3,41 ± 0,03	4,74 ± 0,04	0,76 ± 0	9,77 ± 0,11	1041,0 ± 0,1

Результаты анализа углеводовных спирто-экстрагируемых и перерастворенных в воде углеводовных компонентов показывают, что применение амилазы *B. licheniformis* в предлагаемой технологии позволяет увеличить накопление ЭПС в десятки раз по сравнению с контролем, при этом в экстракте не обнаруживаются компоненты крахмала (рисунок 99).

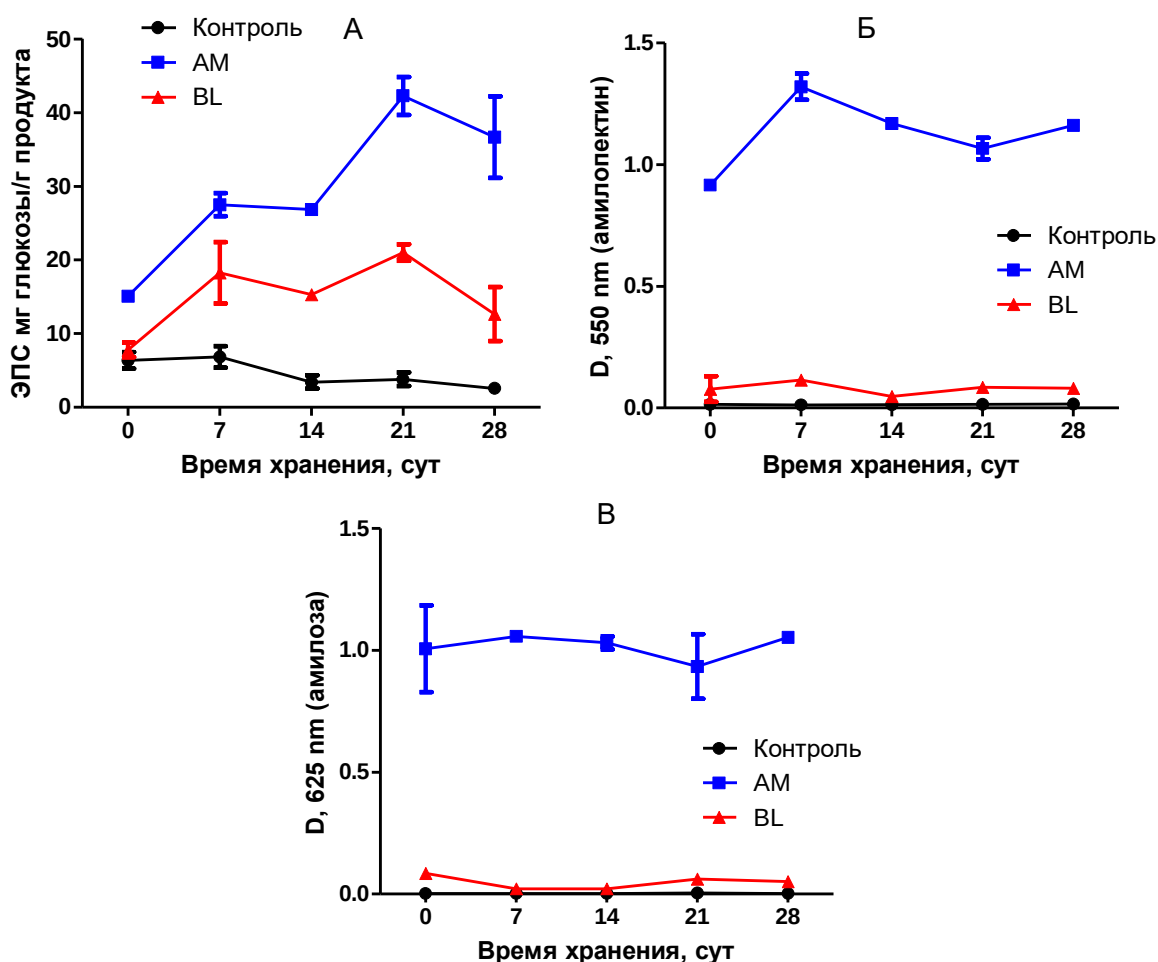


Рисунок 99 – Динамика количества суммы ЭПС (а), амилопектина (б) и амилозы (в) в обезжиренных йогуртах, изготовленных по предлагаемой технологии, в процессе хранения

Обезжиренные йогурты, изготовленные с крахмалом, модифицированным в молочной смеси, имели меньшее значение синерезиса, большее значение ВУС и вязкости (рисунок 100), особенно выделялся вариант BL (обработка амилазой *B. licheniformis*).

Опытные образцы отличались повышенной твердостью, но одновременно они имели более высокие показатели пластической деформации, то есть выдерживали большие нагрузки для возникновения необратимых изменений на молекулярном уровне (рисунок 101). При этом опытные образцы показали повышенную по сравнению с контролем упругость.

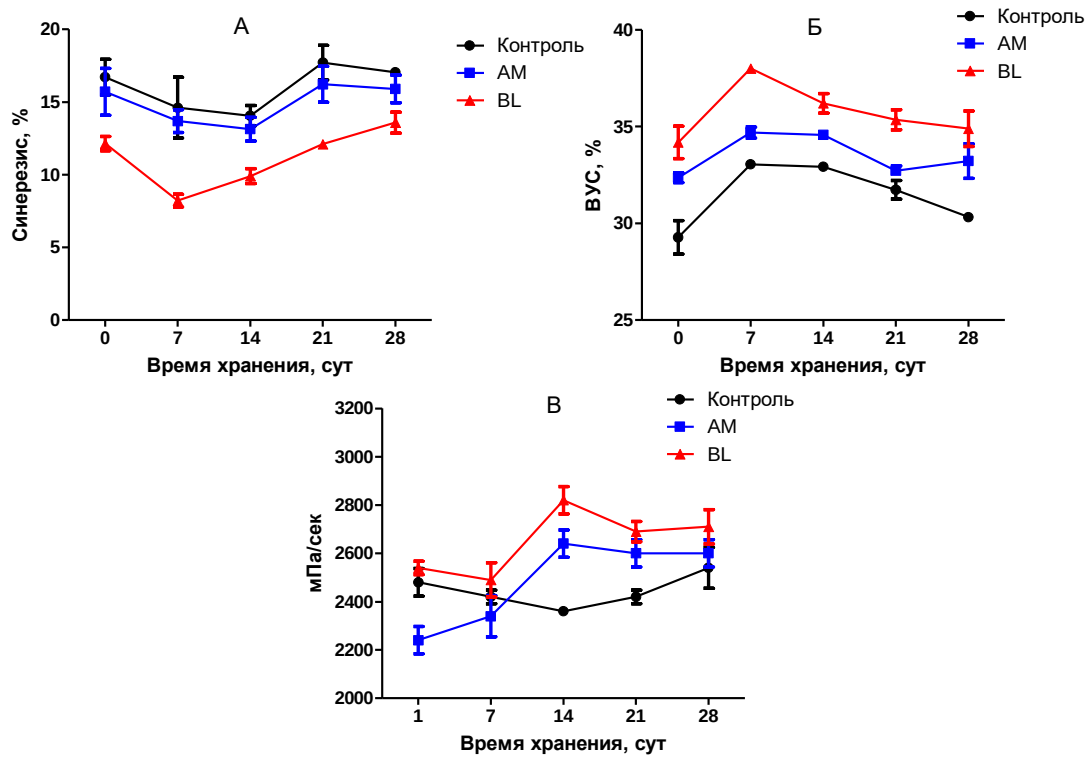


Рисунок 100 – Динамика синерезиса (а), ВУС (б) и вязкости (в) обезжиренных йогуртов, изготовленных по предлагаемой технологии, в процессе хранения

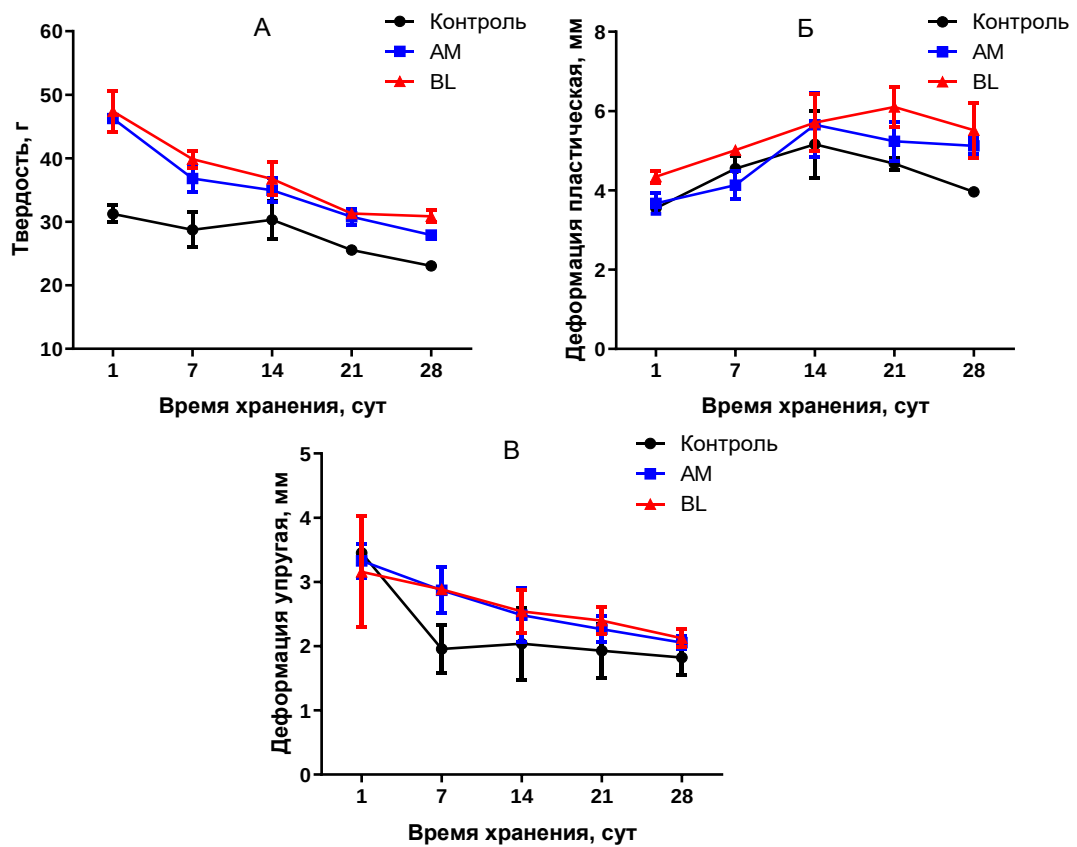


Рисунок 101 – Динамика твердости (а), пластической (б) и упругой (в) деформации в обезжиренных йогуртах, изготовленных по предлагаемой технологии, в процессе хранения

Анализ распределения белково-крахмальных частиц кисломолочного матрикса по размерам показал, что все образцы йогуртов вначале хранения имели полимодальное распределение в разных областях: контрольный – 1990–2670 и 3580–5560 нм; йогурт_АМ – 459–955, 255–342 и 91–106 нм, а йогурт_ВЛ – 955–1480, 3090–4150 нм (рисунок 102). Через 28 сут хранения наибольшую стабильность и неизменность в размерах частиц имел йогурт_ВЛ. Видимо крахмал, модифицированный в молоке именно с использованием амилаз *B. licheniformis*, приводит к формированию максимальной стабильной структуры молочного геля йогурта.

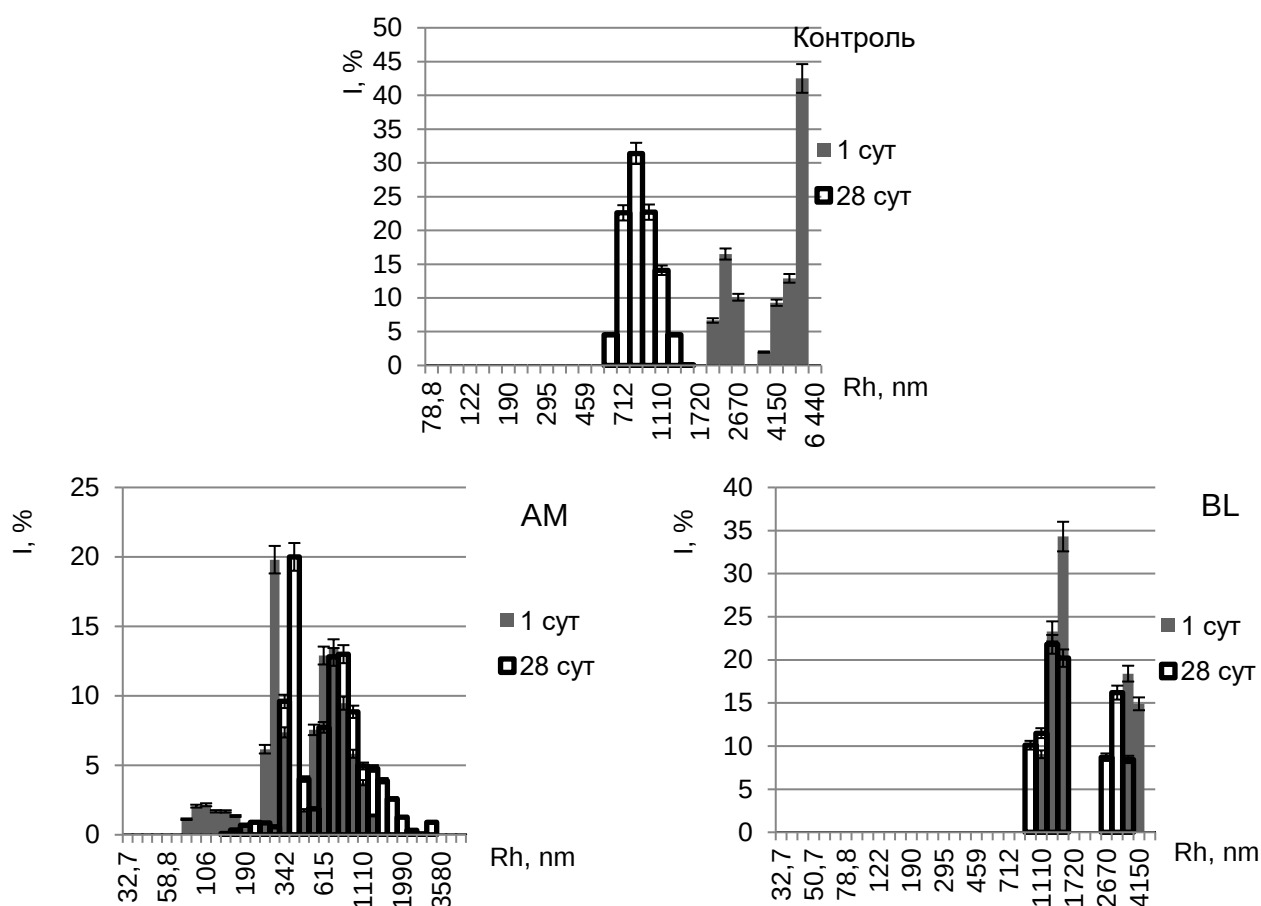


Рисунок 102 – Динамический размер частиц в обезжиренных йогуртах, изготовленных по предлагаемой технологии, в процессе хранения

Проявление антиоксидантных свойств было максимально в опытных вариантах обезжиренных йогуртов с ФМК (рисунки 103 и 104).

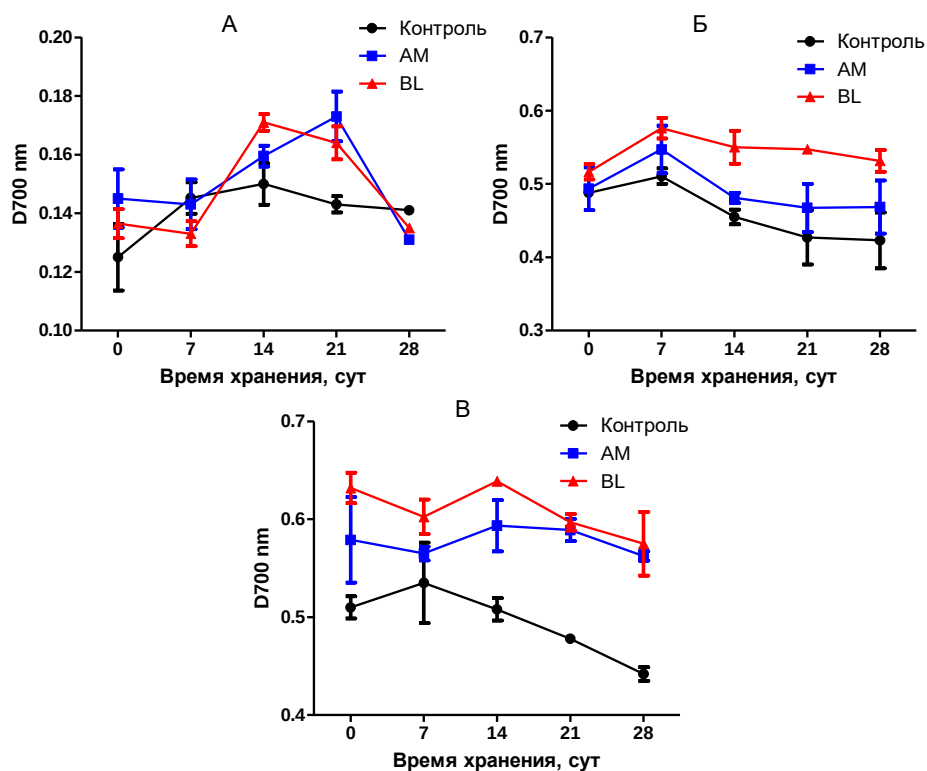


Рисунок 103 – Динамика восстанавливающей активности в разных фракциях обезжиренных йогуртов, изготовленных по предлагаемой технологии, в процессе хранения: безбелковый экстракт (а), сыворотка (б) и йогурт (в)

Все фракции йогурта с крахмалами, включая ББЭ и сыворотку, обладали большей восстанавливающей силой и могли эффективно ингибировать образование свободных радикалов. Более того, введение крахмального компонента позволило удерживать высокую антиоксидантную активность на протяжении 28 сут хранения.

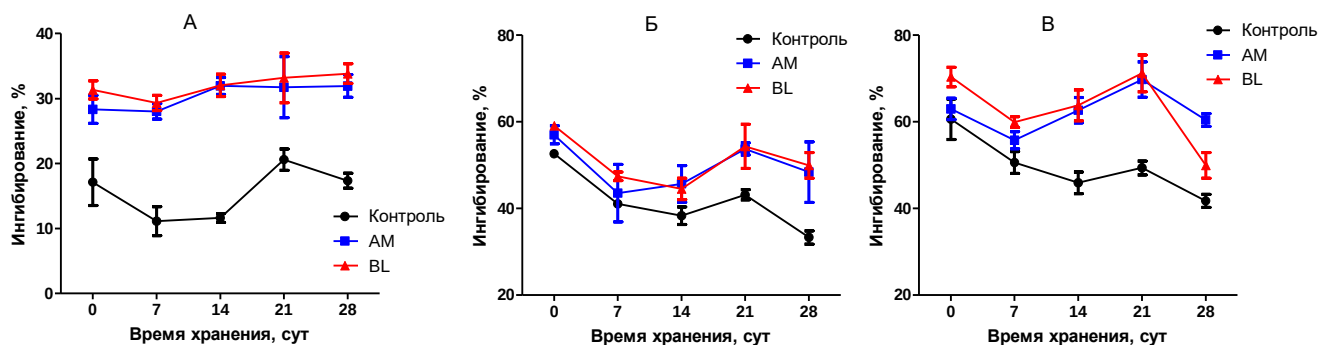


Рисунок 104 – Динамика радикал-связывающей активности (ДППН-метод) в разных фракциях обезжиренных йогуртов, изготовленных по предлагаемой технологии, в процессе хранения: безбелковый экстракт (а), сыворотка (б) и йогурт (в)

Статистический анализ совокупности анализируемых свойств йогуртов показал, что контрольный обезжиренный йогурт кардинальным образом отличается от йогуртов, изготовленных со стабилизатором (рисунок 105).

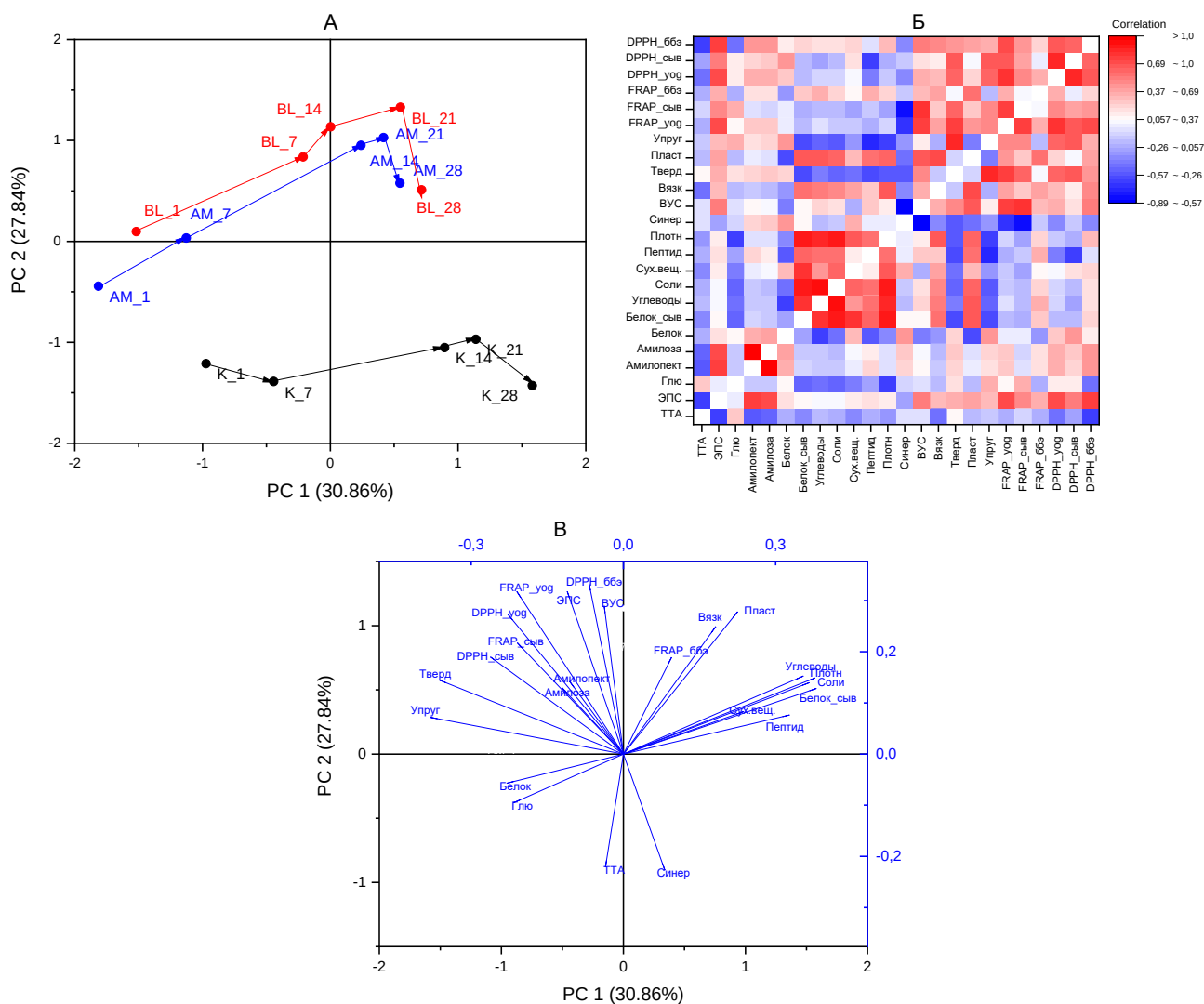


Рисунок 105 – Принципиальный компонентный анализ (РСА) (а, в) и тепловая карта корреляции (б) показателей йогуртов

Образцы йогуртов, в технологии которых применялась модификация крахмалов ферментами, имеют близкие координаты на плоскости, что свидетельствует об их сходстве. Необходимо заметить, что изменение координат образцов AM и BL в процессе хранения имеют сходный рельеф, то есть подчиняются одинаковым закономерностям, чего нельзя сказать о контрольном образце. Характер изменения свойств контрольного йогурта иной.

Результатом исследования стала разработка аппаратурной схемы изготовления КМП со стабилизатором, ферментная модификация которого интегрирована в технологию (рисунок 106).

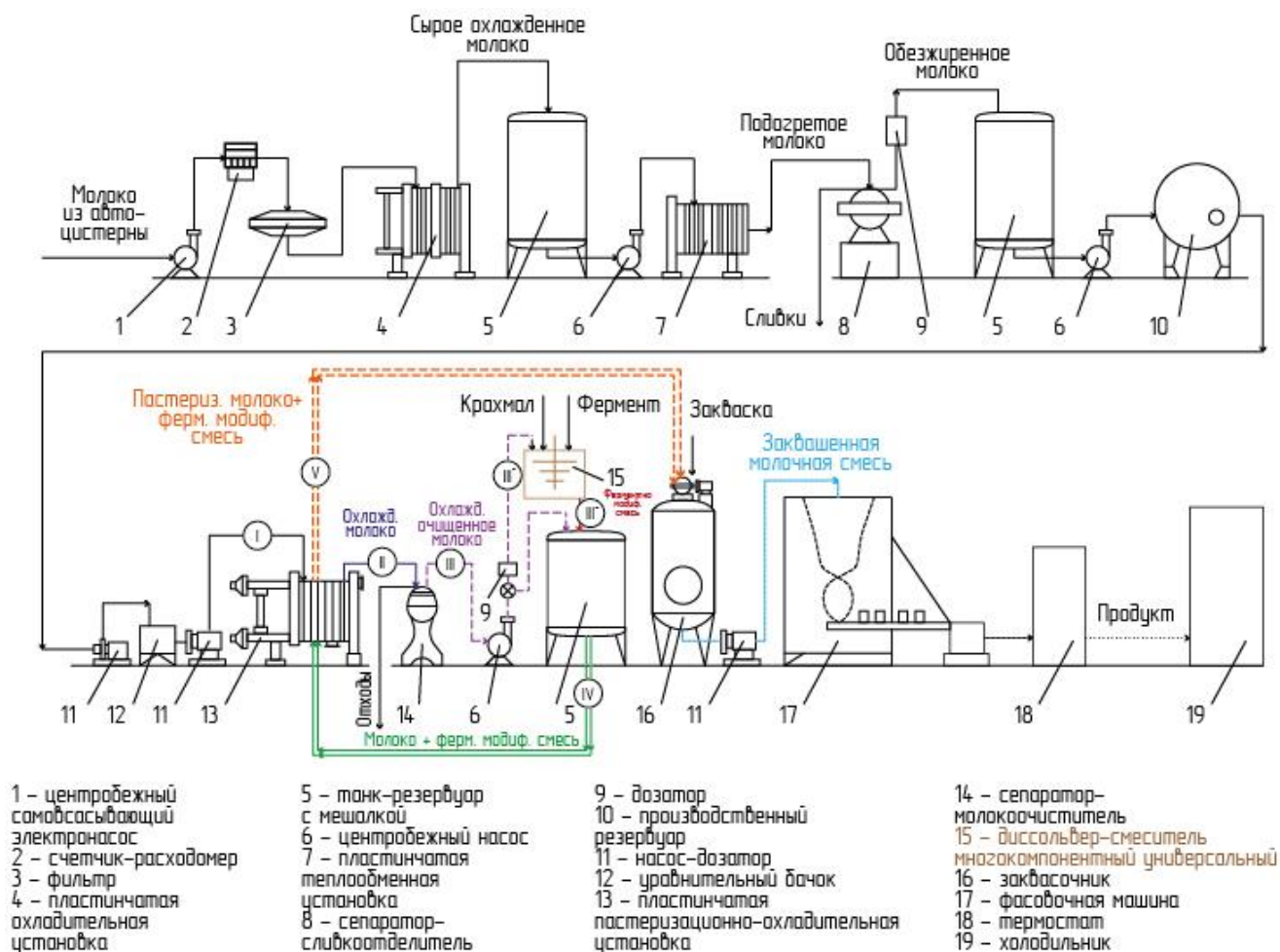


Рисунок 106 – Аппаратурная схема разрабатываемой технологии (технологические стадии производства обозначены римскими цифрами (I–V) и пояснения технологического процесса даны вдоль линий)

Таким образом, проведено исследование, посвященное разработке и апробации математической модели для оптимизации ферментной модификации картофельного крахмала непосредственно в молочной смеси с целью улучшения качества обезжиренных йогуртов. Использован композиционный план эксперимента с двумя факторами: время обработки (0–60 мин) и доза фермента (0–0,4 U/г крахмала). На основе уравнений регрессии определены оптимальные параметры: 30–35 мин обработки и концентрация фермента 0,30–0,33 U/г крахмала. Йогурты, из-

готовленные с модифицированным крахмалом (особенно с амилазой *Bacillus licheniformis*), продемонстрировали повышенную стабильность текстуры, снижение синерезиса (до 4,36 %), увеличение вязкости (до 3043 мПа/с) и влагоудерживающей способности (31,24 %). Антиоксидантная активность, восстановительная сила и радикал-связывающие свойства также оказались выше, чем в контрольных образцах. Срок хранения продукта увеличился до 28 сут. Математическая модель и композиционный план эксперимента могут быть адаптированы для других видов крахмала и кисломолочных продуктов.

Разработанная аппаратурная схема (включая ферментную обработку крахмала в молоке) успешно апробирована на производстве ИП Шишканова, получена партия термостатного обезжиренного йогурта с высокими органолептическими показателями (приложение А). Продукт соответствовал требованиям по органолептическим показателям и сохранял качество при хранении.

5.2.6 Расчет товарной себестоимости продукта

В таблице 52 проведен расчет себестоимости йогурта 0,1 % жирности, изготовленного по традиционной технологии (без крахмалов), для йогурта (м.д.ж. 0,1 %) с добавлением химически модифицированного картофельного крахмала (Е1442) и йогурта (м.д.ж. 0,1 %) с ферментно модифицированным крахмалом (полученные крахмалы, согласно «Кодекс алиментариус», имеют Е-код – Е1405).

Согласно расчетам, что разработанная технология удорожает существующее производство на 0,95 %, в то время как технология с приобретаемым химически модифицированным крахмалом приводит к удорожанию на 4,8 %.

Таблица 52 – Расчет себестоимости йогурта 0,1 % жирности, изготовленного по разной технологии

Статья расходов	Сумма, р.		
	Йогурт 0,1 % (контроль)	Йогурт 0,1 % + E1442*	Йогурт 0,1 % + технология (E1405)**
Стоимость 1 м ³ молока-сырья	34 180,00	34 180,00	34 180,00
Стоимость 1 м ³ крахмала	–	1 650,00	325,00
Стоимость 1 м ³ 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.			

Заключение по главе 5

Совокупность полученных данных (о состоянии гематологических, биохимических показателей крови, окисленности печени и функциональному здоровью органов, о микробиологическом составе микрофлоры кишечника) свидетельствует об отсутствии токсических проявлений ферментированных крахмалов, выявлено сохранение антиоксидантных свойств у йогурта с ФМК. Важным является факт, что йогурты с ФМК обладают большим потенциалом снижать численности патогенной микрофлоры, возможно выступая протектантом-пребиотиком лактобактерий в процессе прохождения по ЖКТ.

В такой ретроспективе можно говорить о пребиотическом действии ферментно модифицированных крахмалов в составе молочнокислого продукта. Учитывая, что пребиотики – это неперевариваемые пищевые ингредиенты, которые благотворно влияют на организм хозяина, стимулируя рост и (или) активность од-

ной или ограниченного числа бактерий в толстой кишке, тем самым улучшая здоровье хозяина [156; 170; 375; 396]. Ранее выявлена повышенная, чем у нативного крахмала, устойчивость ФМК к действию α -амилазы панкреатической.

Мировой спрос на пребиотики оценивается примерно в 167 тыс. т и 390 млн евро. Среди них основными компонентами пребиотиков считаются фруктоолигосахарид, инулин, изомальтоолигосахариды, полидекстроза, лактулоза и резистентный крахмал. В Японии также продаются преимущественно олигосахариды, такие как соевые олигосахариды, галактоолигосахариды и ксилоолигосахариды [333]. Частично гидролизованные крахмалы, полученные после обработки амилазами бактериального происхождения, обладают свойствами олигосахаридов. Известно, что олигосахариды играют важную роль в борьбе с ожирением за счет увеличения сытости и снижения чувства голода [145; 151]. Пребиотики увеличивают абсорбцию кальция, тем самым улучшая содержание минералов в костях и минеральную плотность костей (BMD) [145]. Кроме того, они влияют на образование глюкозы в крови, снижают уровень холестерина и липидов в сыворотке крови [287].

ФМК в составе йогурта и варенца повышают сохранность заквасочных культур в процессе хранения. Именно пребиотики зачастую могут способствовать росту и выживанию пробиотических культур, влияя на рост и метаболиты как пробиотика, так и закваски. Из-за потенциального синергизма между пробиотиками и пребиотиками продукты, содержащие комбинацию этих ингредиентов, часто называют синбиотиками [215; 388]. Использование ферментно модифицированных крахмалов в обезжиренных йогуртах, варенце безопасно и оказывает положительное влияние на здоровье, включая нормализацию метаболических процессов, снижение окислительного стресса и улучшение микробиоты кишечника. Йогурты с VL-крахмалом особенно перспективны для разработки функциональных продуктов с пребиотическими свойствами. Результаты подтверждают возможность создания синбиотиков на основе ФМК, сочетающих пробиотики и пребиотики, для улучшения здоровья человека. Перспектива введения в состав йогуртовой закваски пробиотических штаммов молочнокислых бактерий является целью исследования следующей главы.

6 Научно-практическое обоснование совместного применения пробиотического штамма *Lactiplantibacillus plantarum* AG10 и ферментно модифицированных крахмалов в технологии кисломолочных продуктов

6.1 Оценка качества кисломолочных продуктов

Совместное применение в технологии обезжиренного йогурта стабилизатора в виде ферментно модифицированного крахмала с пробиотическим штаммом *L. plantarum* AG10 в оптимальной концентрации (30 % от массы закваски) было исследовано по классической схеме, применяемой на всех этапах исследования КМП. На основе предыдущих исследований для стабилизации выбрали крахмалы, апробированную выше технологию с интегрированной модификацией ферментами амилосубтилином или амилазой *B. licheniformis*.

Закономерности развития закваски в условиях присутствия ФМК и штамма AG10 не выходили за рамки полученных ранее результатов. Как и ожидалось, присутствие нативного картофельного крахмала тормозило накопление молочной кислоты (рисунок 107), тогда как ФМК совместно с AG10 сдерживали излишнее закисление продукта в процессе хранения.

Химическая характеристика йогуртов представлена в таблице 53. ФМК не оказывали существенного влияния на белковые показатели. Как и ожидалось, введе-

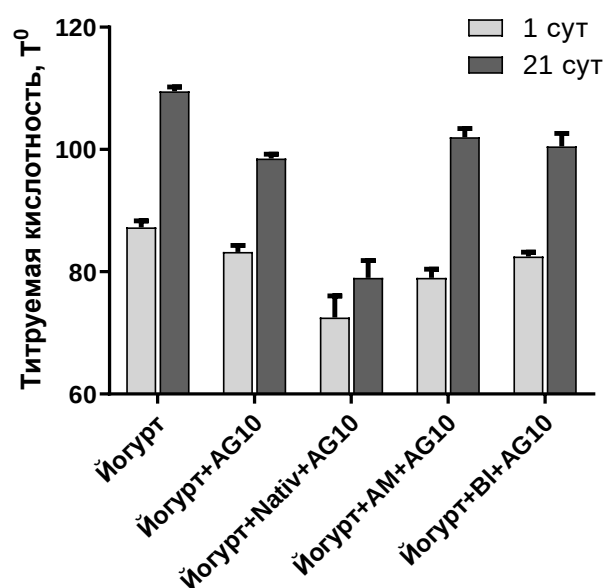


Рисунок 107 – Титруемая кислотность пробиойогуртов

ние ФМК увеличило долю углеводов, но это увеличение меньше в случае нативного крахмала.

Таблица 53 – Изменение химических характеристик кисломолочных продуктов

Вариант йогурта	Время хранения, сут	Белок, %	Белок в сыворотке, %	Углеводы, %	Глюкоза, мМ/л	Сухое вещество, %	Соли, %
Йогурт	1	4,08 ± 0,07	3,10 ± 0,21	4,51 ± 0,08	1,90 ± 0,14	9,34 ± 0,03	0,76 ± 0,01
	21	3,92 ± 0,09	3,09 ± 0,11	4,45 ± 0,06	1,15 ± 0,07	9,10 ± 0,15	0,74 ± 0,00
Йогурт + AG10	1	4,03 ± 0,08	3,08 ± 0,08	4,55 ± 0,05	1,65 ± 0,07	9,30 ± 0,02	0,73 ± 0,01
	21	3,97 ± 0,14	3,03 ± 0,07	4,44 ± 0,08	1,40 ± 0,14	9,13 ± 0,21	0,73 ± 0,01
Йогурт + Nativ + AG10	1	3,95 ± 0,08	3,12 ± 0,04	4,93 ± 0,08	2,90 ± 0,28	9,54 ± 0,16	0,79 ± 0,01
	21	3,82 ± 0,08	3,03 ± 0,03	4,81 ± 0,01	2,00 ± 0,28	9,47 ± 0,19	0,78 ± 0,01
Йогурт + AM + AG10	1	3,96 ± 0,06	3,23 ± 0,07	4,77 ± 0,01	1,88 ± 0,04	9,47 ± 0,05	0,75 ± 0,01
	21	3,93 ± 0,08	3,19 ± 0,13	4,60 ± 0,03	1,00 ± 0,14	9,28 ± 0,12	0,75 ± 0,01
Йогурт + BL + AG10	1	3,98 ± 0,06	3,36 ± 0,11	4,79 ± 0,01	1,89 ± 0,12	9,52 ± 0,07	0,75 ± 0,01
	21	3,96 ± 0,09	3,15 ± 0,06	4,60 ± 0,06	1,13 ± 0,11	9,29 ± 0,16	0,73 ± 0,01

Количество свободных пептидов в ББЭ в вариантах с AG10 меньше, чем в йогурте. Действительно, в предыдущих главах нами показана меньшая суммарная протеолитическая активность *L. plantarum* AG10. ФМК на стадии сквашивания не влиял на накопление пептидов (см. рисунок 106, а), чего нельзя сказать о нативном крахмале. В конце срока хранения в вариантах с ФМК количество пептидов было меньше, что можно объяснить активным метаболизмом белковых компонентов и, соответственно, сохранением метаболически активных клеток МКБ на 21-е сутки хранения. В процессе хранения происходит перераспределение фенольных соединений, в ББЭ при хранении идет накопление ОКФС (рисунок 108) за счет гидролиза в низкомолекулярные формы, о чем говорит снижение ОКФС в сыворотке (см. рисунок 108, в). Наиболее интенсивное снижение отмечается в вариантах с AG10, при этом необходимо отметить, что ФМК не ингибировал эти процессы. В варианте с нативным крахмалом накопление ОКФС в ББЭ было минимальным.

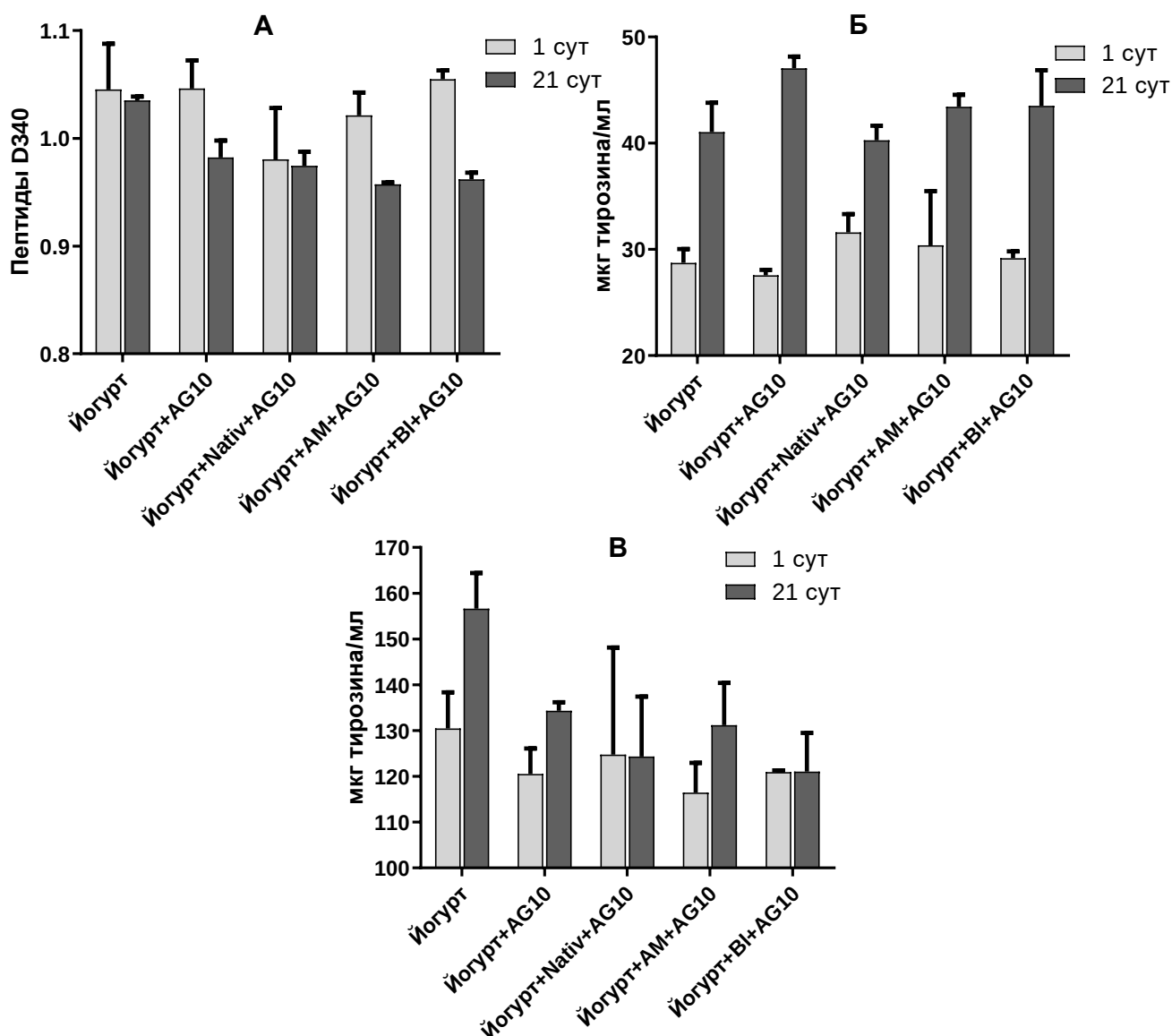


Рисунок 108 – Изменение низкомолекулярных пептидных компонентов в пробиойогуртах в процессе хранения:
а – свободных пептидов в ББЭ; *б* – ОКФС в ББЭ; *в* – ОКФС в сыворотке

На всех этапах исследования отмечалась роль ЭПС в формировании ряда свойств, при этом роль ФМК была существенной. Совместное применение ФМК и ЭПС-синтезирующего штамма AG10 привело к значительному стимулированию накопления ЭПС – в 4–5 раз больше, чем в варианте без ФМК (рисунок 109).

Текстурная характеристика. Как и на предыдущих этапах исследования, эффект введения ФМК больше проявлялся в процессе хранения. Совместное применение пробиотического штамма и ФМК позволило снизить синерезис в 2 раза в сравнении с контрольным йогуртом (рисунок 110).

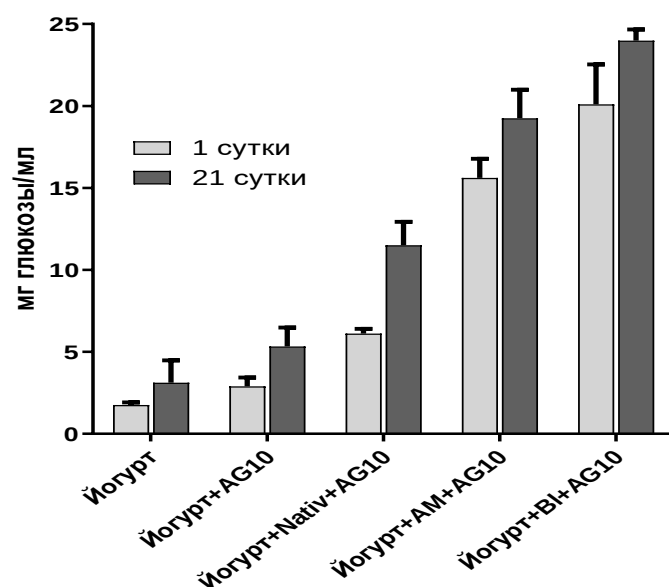


Рисунок 109 – Суммарное количество полисахаридов (ЭПС и крахмальной природы) в пробиойогурте при использовании ФМК и *L. plantarum* AG10

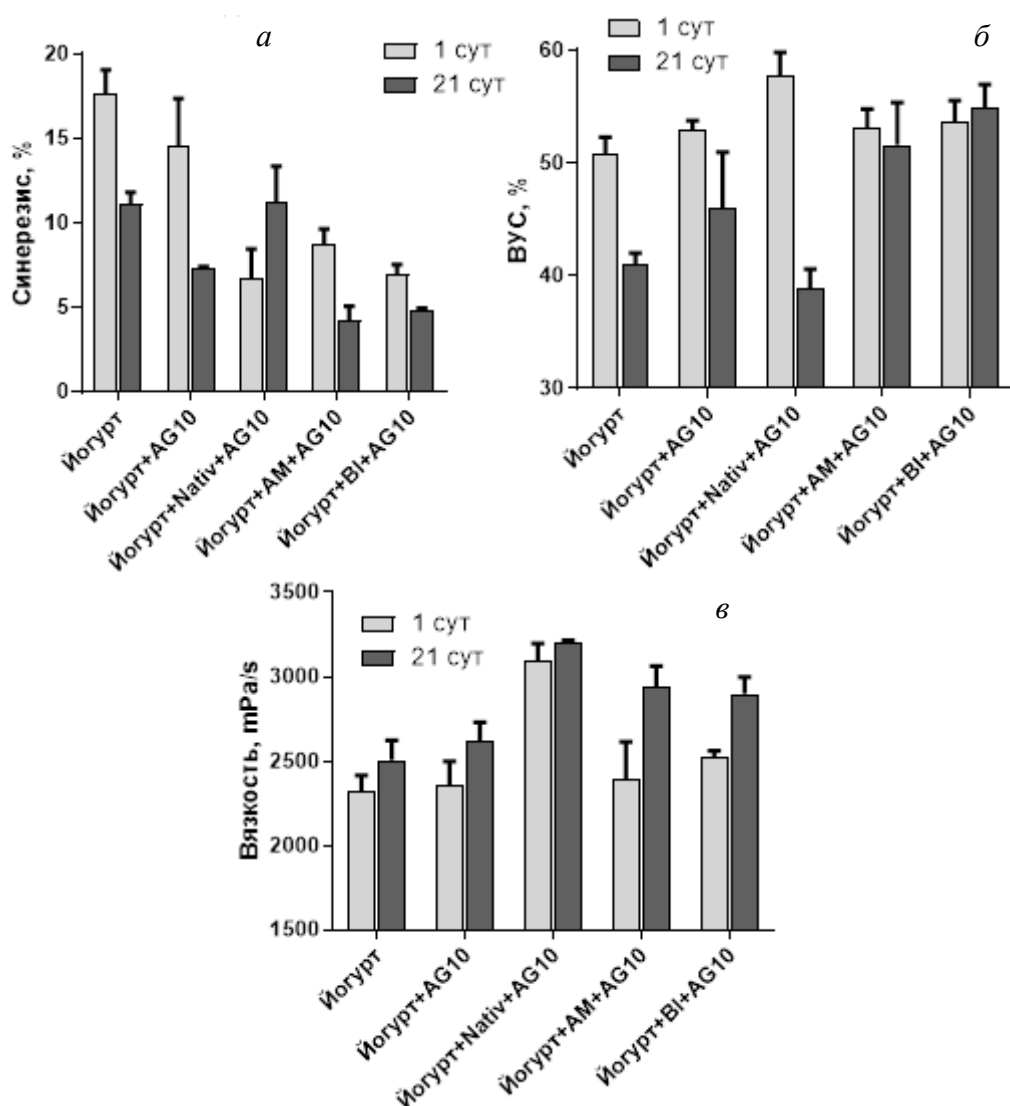


Рисунок 110 – Структурно-механические показатели йогуртов

Одновременно в вариантах с ФМК формируется матрикс йогурта с высоким значением ВУС. Вязкость пробиойогуртов с ФМК выше, чем в контроле и просто пробиойогурте с AG10.

Выявлены закономерности изменения текстурного профиля при совместном использовании пробиотического штамма AG10 и ФМК, представленные на рисунке 111.

Совместное использование штамма AG10 и ФМК приводит к увеличению твердости сгустка, однако, в отличие от нативного крахмала, нет экстремально сильного увеличения, сгусток не становится «резиновым». Значительное увеличение твердости в варианте с нативным крахмалом ведет к повышенной разрушаемости, снижению эластичности и когезии, особенно в процессе хранения.

Использование ФМК позволяет мягко повысить твердость, сохранить эластичность и когезию, в том числе в процессе хранения. При этом увеличение когезии ФМК вариантов йогуртов в процессе хранения соотносятся с показателем вязкости. Таким образом, именно стабилизация связей в матриксе йогурта между сходными молекулами является ведущим механизмом формирования текстуры обезжиренных йогуртов.

Механизм формирования таких связей при отсутствии молочного жира может быть следующим: участие белкового матрикса молока как основа при снижении pH, закрепление в казеиновой сетке пространственно-ориентированных биологических молекул с высокой стабильностью в сочетании с упругостью и мягкостью с помощью экзополисахаридов бактерий и частично гидролизованного крахмала. Причем нельзя упускать из виду возможность формирования гибридных структур между этими двумя углеводными компонентами. Кроме того, с учетом высокой ЭПС-синтезирующей активности AG10 ФМК может выступать дополнительным субстратом для синтеза ЭПС, что подтверждается стимулированием накопления суммарного количества полисахаридов в вариантах с ФМК.

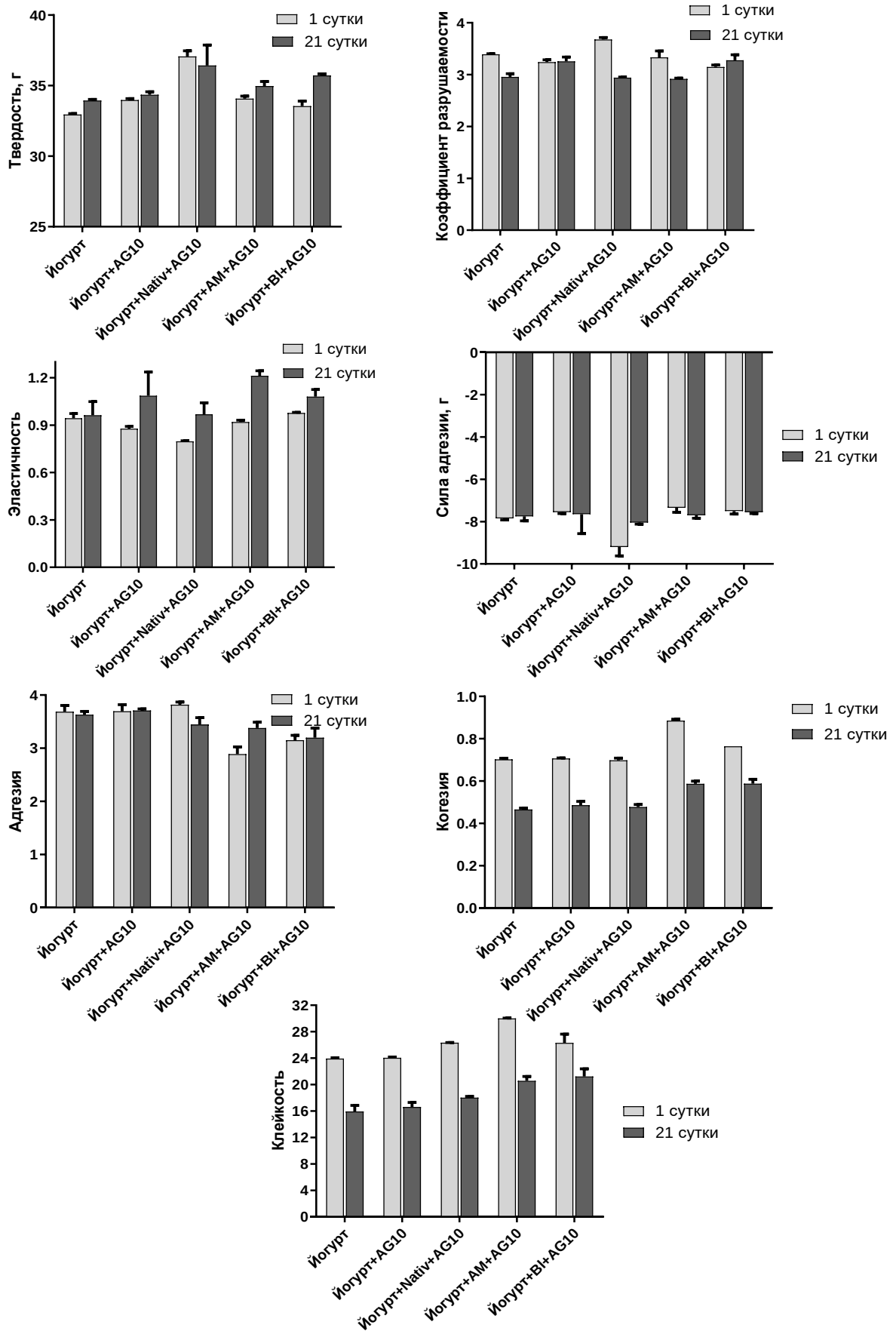


Рисунок 111 – Изменение показателей текстурного профиля пробиогуртов при использовании ФМК и *L. plantarum* AG10

Органолептические показатели. Балльная оценка органолептических показателей представлена на рисунке 112. Обращают на себя внимание высокие оценки вкуса и консистенции у образцов с ФМК. При слепой дегустации участники не смогли с высокой долей вероятности указать образцы, изготовленные с ФМК. Технологическая особенность ФМК на фоне высокой ЭПС-синтезирующей способности AG10 полностью интегрировать в матрицу продукта является очень перспективной.

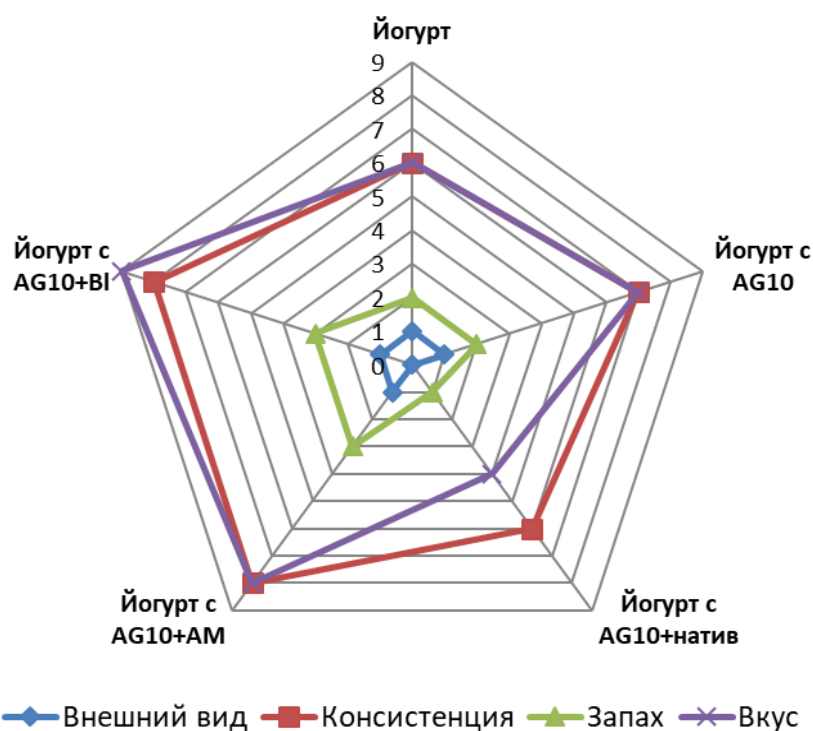


Рисунок 112 – Профилограмма органолептических показателей йогуртов в конце срока хранения (21 сут)

Инструментальная оценка цветности йогуртов показала, что введение ФМК привело к повышению показателя белизны продукта L (таблица 54).

Контрольный йогурт имел нежный вкус с выраженной кислотностью, мелкозернистую текстуру, без комочков. Йогурт с AG10 имел более плотный сгусток, менее кислый вкус, отличался большей сливочностью и кремообразностью. Невысокие оценки получил йогурт с AG10 и нативным крахмалом, который имел рыхлую, неоднородную консистенцию, расслаивающийся и комковатый сгусток, невыраженный нейтральный вкус с крахмалистым послевкусием.

Таблица 54 – Инструментальная цветовая характеристика йогуртов в процессе хранения

Образец	<i>L</i>		<i>a</i>		<i>b</i>	
	1 сут	21 сут	1 сут	21 сут	1 сут	21 сут
Йогурт	96,2 ± 1,0	98,9 ± 1,5	-0,5 ± 0,2	-0,9 ± 0,8	25,0 ± 2,5	28,7 ± 2,4
Йогурт с AG10	99,7 ± 0,5	98,7 ± 1,9	-0,1 ± 0,1	-0,6 ± 0,3	25,0 ± 0,5	27,2 ± 2,4
Йогурт с AG10 + натив	97,0 ± 4,0	99,0 ± 1,4	-0,3 ± 0,2	-1,0 ± 0,0	21,6 ± 0,6	26,6 ± 1,1
Йогурт с AG10 + AM	99,3 ± 0,5	98,3 ± 1,1	-0,2 ± 0,0	-0,9 ± 0,0	23,3 ± 0,1	26,2 ± 0,6
Йогурт с AG10 + BL	99,2 ± 1,8	100,0 ± 0,0	-0,6 ± 0,7	-0,6 ± 0,0	25,6 ± 1,3	28,1 ± 1,4

Йогурт с AG10 + AM характеризовался как продукт с плотным мелкозернистым сгустком без включений, на вкус приятный, в меру кислый, со сладковатым послевкусием, консистенция нежная, в меру тягучая, кремообразная. Йогурт с AG10 + BL имел аналогичные характеристики консистенции, вкус был в меру кислым без послевкуся, приятный сливочный.

Все йогурты с ФМК, в отличие варианта с нативным крахмалом, не имели крахмалистого послевкуся, характеризовались однородной кремообразной консистенцией, что делает их сравнимыми с контрольным образцом.

Микробиологические показатели. По количеству МКБ в йогуртах можно говорить о способности ФМК действовать протекторно на клетки лактобактерий, способствуя их выживанию при температурах хранения (4 ± 2) °C (рисунок 113).

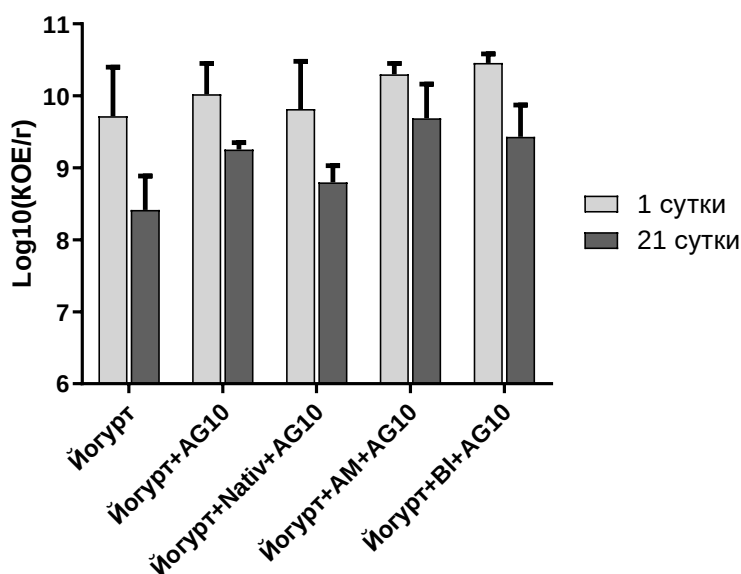


Рисунок 113 – Количество МКБ в йогуртах в начале и конце хранения

Совместное использование штамма AG10 с ФМК приводит к формированию условий, способствующих максимальному выживанию МКБ в процессе хранения.

Антиоксидантные свойства. Совокупность антиоксидантных свойств в самом йогурте как сложном гетерогенном продукте и в отдельных его составляющих (сыворотке, безбелковом экстракте и ЭПС) показана на рисунках 114–116.

Восстановительная активность ЭПС-фракции была выше в вариантах с крахмалами, что объясняется большим накоплением полисахаридов, основу которых составляют моносахариды с восстанавливающими свойствами (рисунок 114).

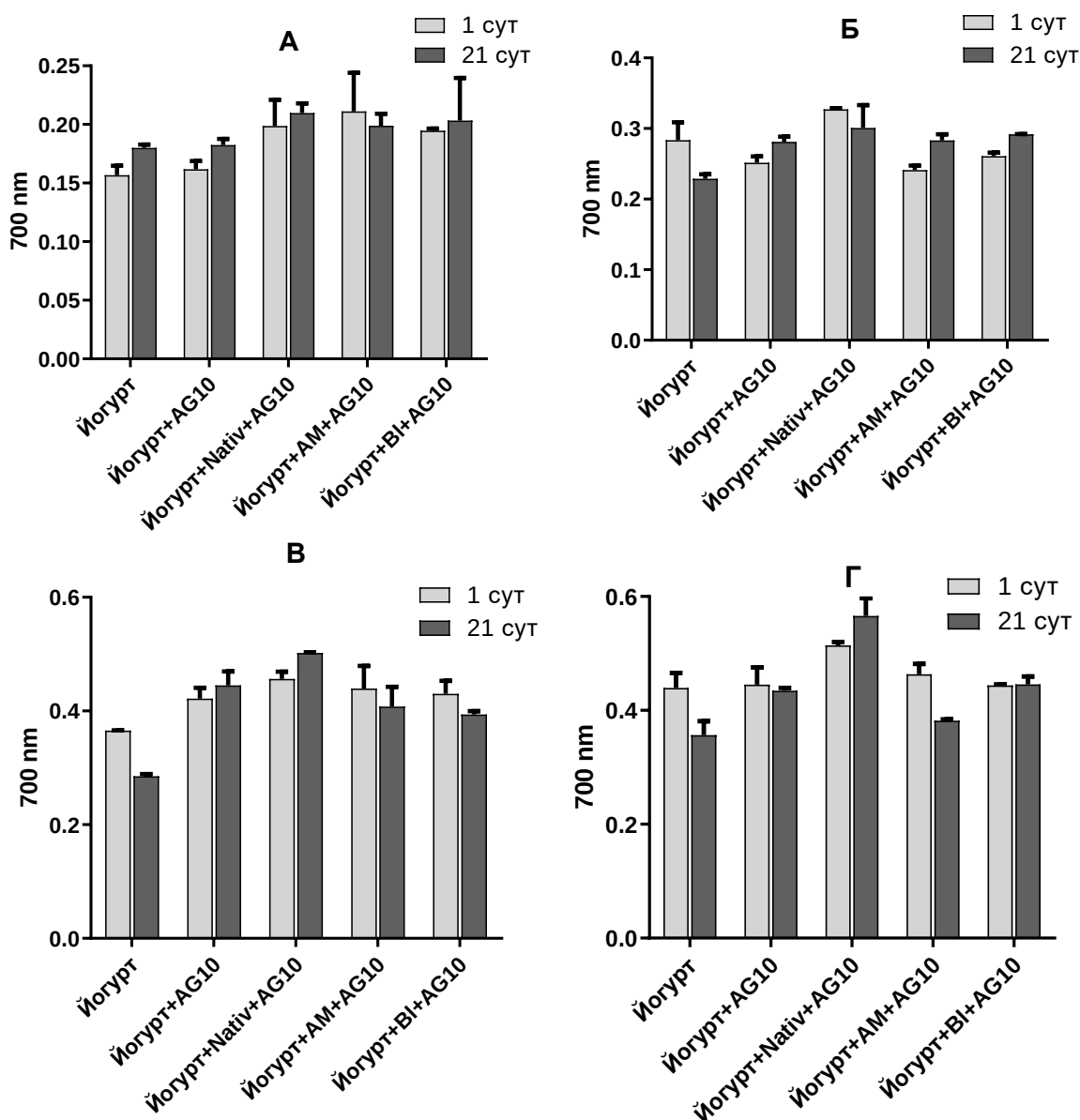


Рисунок 114 – Восстановительная активность разных фракций йогуртов, изготовленных с добавлением штамма AG10 и крахмалов:

а – ЭПС; *б* – ББЭ; *в* – сыворотка; *г* – йогурт

В безбелковом экстракте ВА выше в варианте с нативным крахмалом, но в процессе хранения активность уменьшилась. В случае же ФМК-образцов активность возросла в конце срока хранения. В случае сыворотки и йогурта картина больше напоминает характер изменения ВА для ЭПС. Предполагается, что лидирующая роль в формировании способности восстанавливать железо принадлежит восстанавливающим компонентам углеводной природы.

Радикал-связывающая активность ЭПС-экстракта была самой высокой у образцов с ФМК до и после хранения. Присутствие нативного крахмала в йогурте приводило к снижению активности ЭПС через 21 сут (рисунок 115).

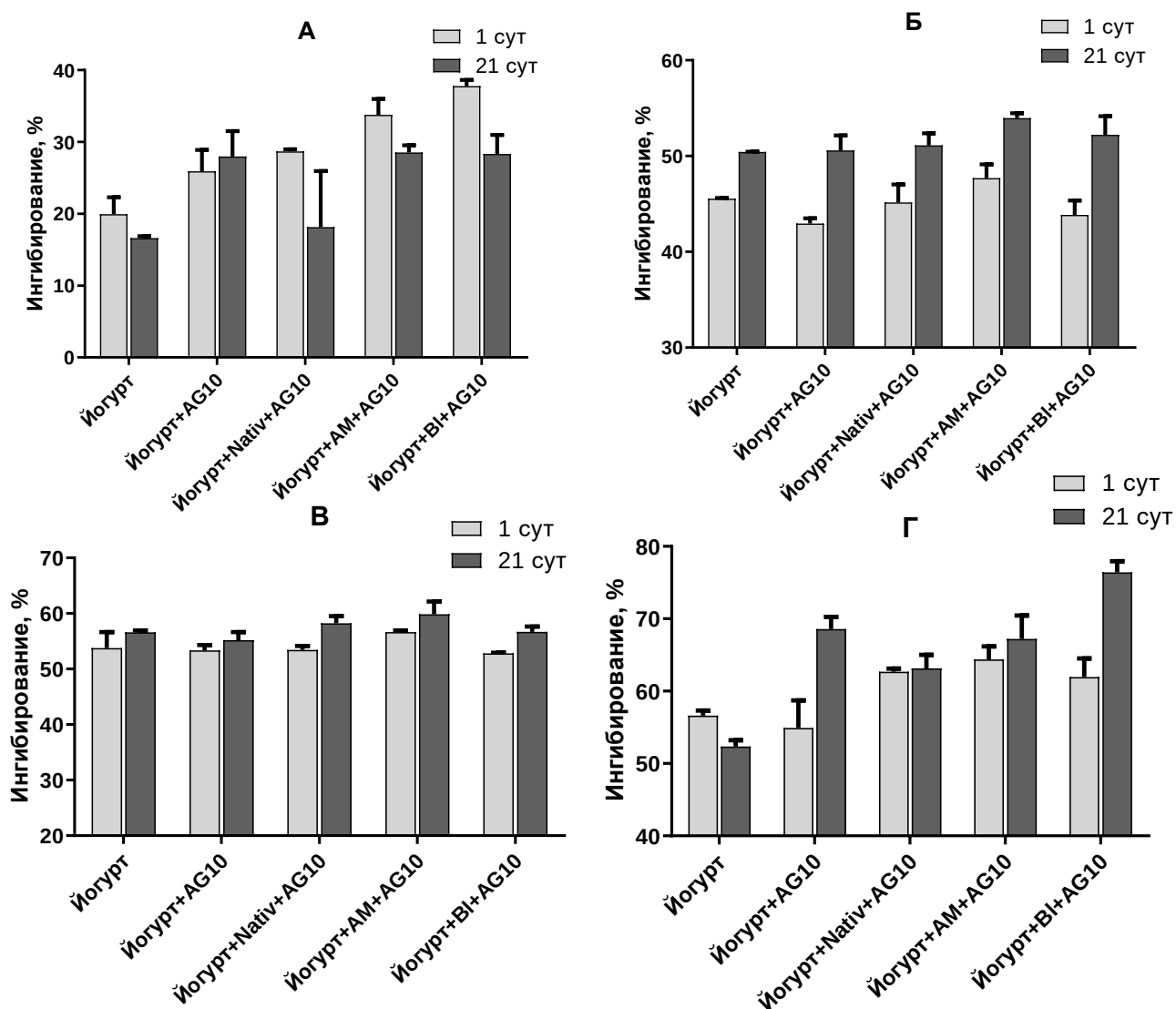


Рисунок 115 – Радикал-связывающая активность разных фракций йогуртов, изготовленных с добавлением штамма AG10 и крахмалов:
а – ЭПС; *б* – ББЭ; *в* – сыворотка; *г* – йогурт

ББЭ показали высокую РС-активность, причем в этом случае она нарастала на конец периода хранения. Для сыворотки характерна аналогичная тенденция, но на более высоком абсолютном уровне.

Тестирование собственно продукта выявило положительное влияние ФМК на формирование способности связывать свободные радикалы. В отличие от нативного полисахарида, применение ФМК на фоне внесения пробиотического штамма позволяет сохранить и увеличить эту способность в период хранения.

Способность связывать гидроксилрадикалы у йогуртов более выражена, чем способность связывать свободные радикалы. Однако тенденции, выявленные в предыдущем тесте на разных фракциях йогурта, сохраняются (рисунок 116).

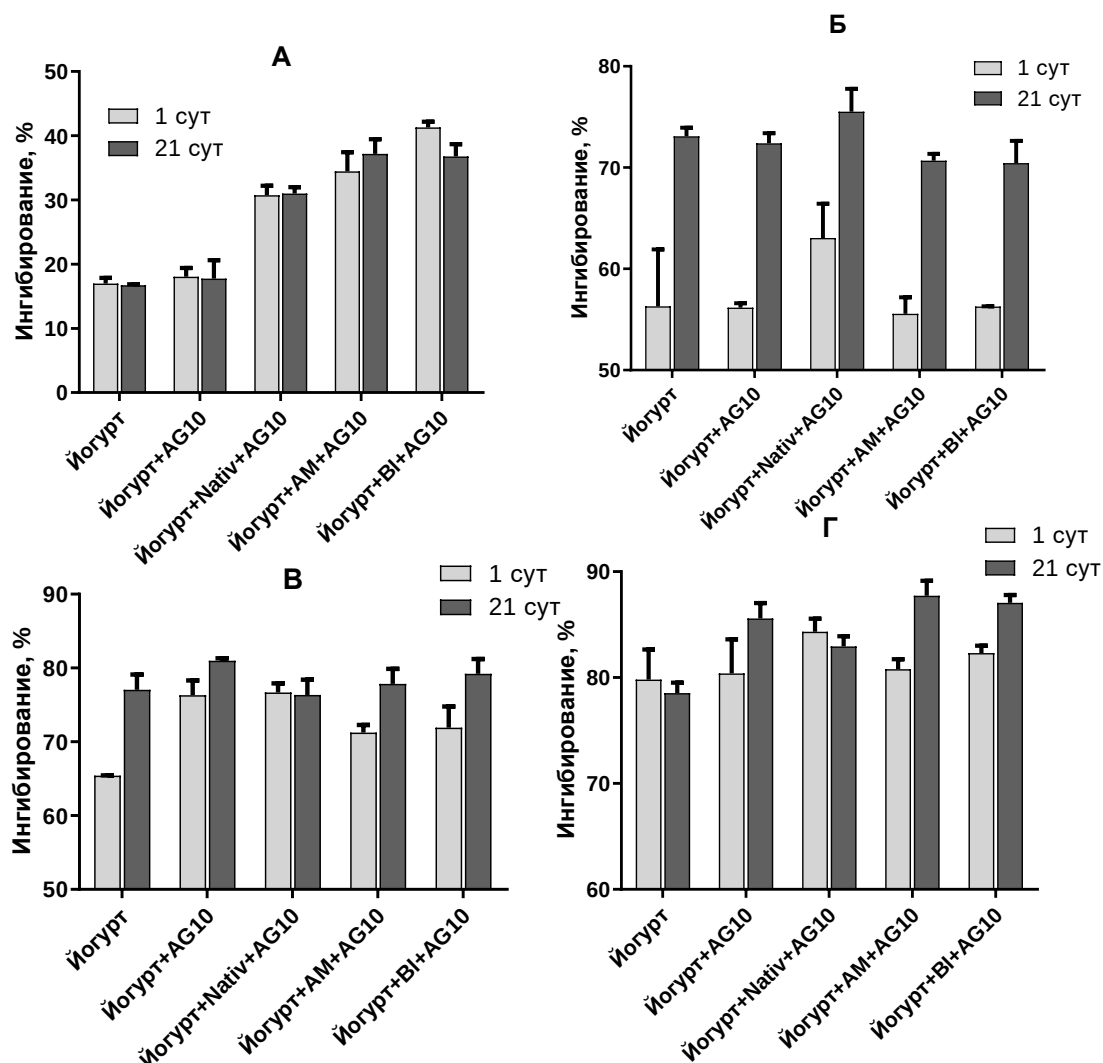


Рисунок 116 – Гидроксилрадикал-связывающая активность разных фракций йогуртов, изготовленных с добавлением штамма AG10 и крахмалов:

а – ЭПС, б – ББЭ, в – сыворотка, г – йогурт

Учитывая роль молочнокислых бактерий в коррекции метаболических процессов млекопитающих, на уровне ЭПС были проведены исследования ингибирования панкреатических ферментов: глюкозидазы и липазы (рисунок 117).

Надо отметить, что ЭПС, синтезируемые в вариантах с ФМК, проявили высокую способность к ингибированию глюкозидазы – ключевого фермента метаболизма глюкозы. Необходимо отметить нарастание этой активности в ЭПС-экстракте, которая может быть напрямую связана с увеличением концентрации ЭПС.

С липазой ситуация иная: в начале хранения высокая активность выявлена у вариантов с BL-крахмалом, а также варианте с AG10 без крахмала. У всех вариантов активность ЭПС снижалась несмотря на то, что количество ЭПС увеличивалось. Подобная картина может свидетельствовать о роли не только концентрации ЭПС, но и их структурных особенностях, составе и конформации.

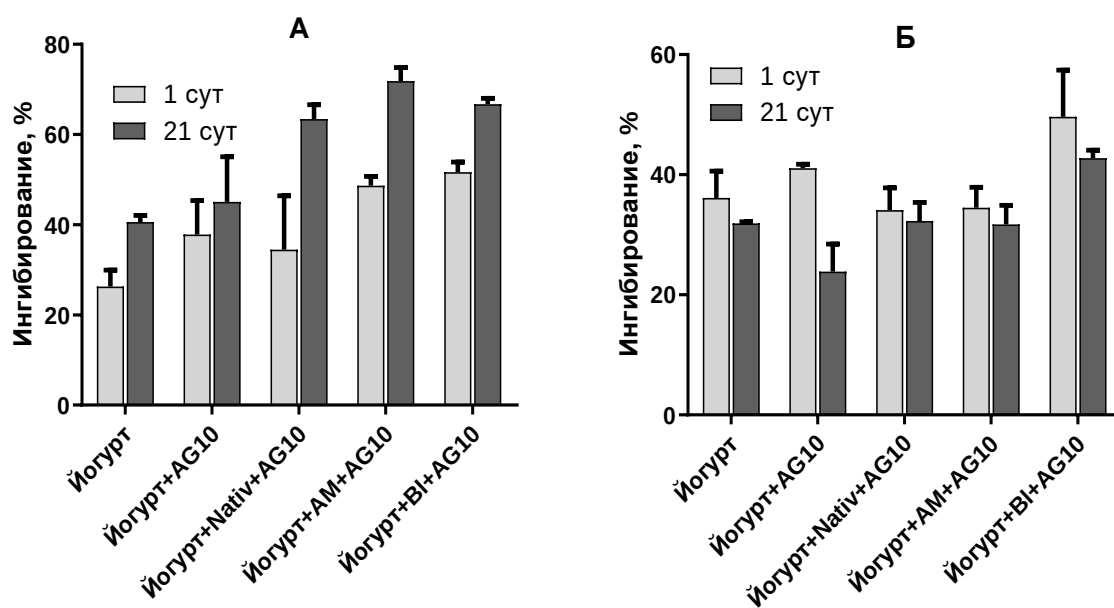


Рисунок 117 – Способность ЭПС ингибировать панкреатические глюкозидазу (а) и липазу (б) в системе *in vitro*

Статистический анализ комплекса показателей. Принципиальный компонентный анализ из статистического арсенала, применение которого учитывает многофакторность исследований, показал отличия в комплексе показателей йогуртов в зависимости от применения сокультуры и разных крахмалов (рисунок 118).

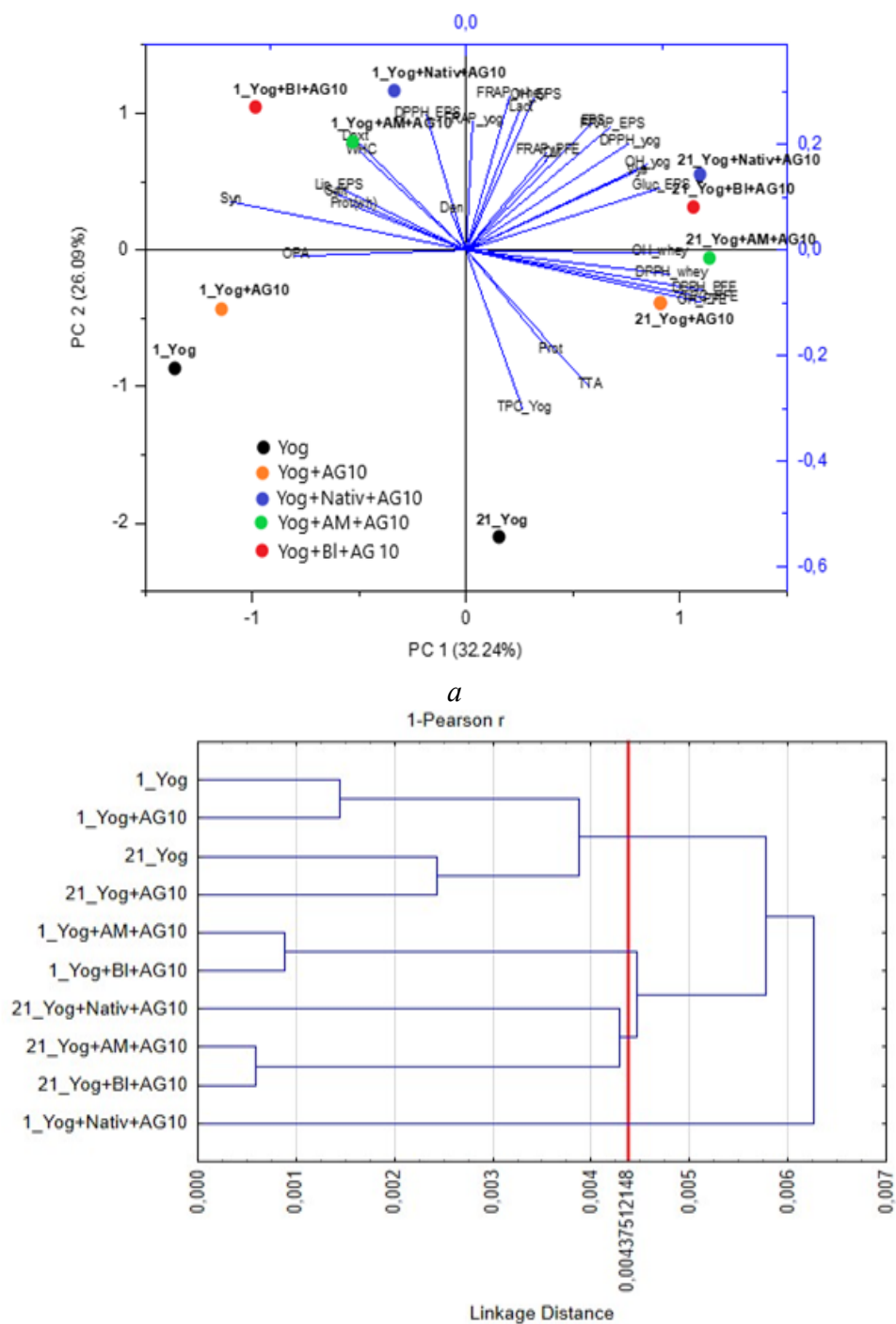


Рисунок 118 – Принципиальный компонентный анализ (а) и древовидная диаграмма взаимосвязей (б) между показателями обезжиренных йогуртов, изготовленных со штаммом AG10 и ФМК

Прежде всего, можно констатировать, что введенный штамм *L. plantarum* AG10 в состав закваски йогурта существенно влияет на комплекс свойств в процессе хранения, наблюдается увеличение расстояния между точками Yog и Yog_AG10 через 21 сут хранения по сравнению с 1-ми сутками.

Введение ФМК приводит к удалению координат точек образцов от контрольного йогурта в соседнюю координационную четверть. Через 21 сут наблюдается уменьшение удаления точек между вариантами с ФМК и вариантом с AG10 без ФМК. Это может свидетельствовать о стирании различий в комплексе свойств, гармоничном интегрировании ФМК в структуру пробиотического йогурта.

Древовидные диаграммы доказали свою неопределимость при анализе сложных систем. Использование древовидных диаграмм в различных областях доказало свою эффективность в качестве инструмента визуализации и понимания сложных взаимосвязей. В настоящем исследовании древовидная диаграмма взаимосвязей позволила на втором уровне выделить две группы: 1-я – образцы с нативным крахмалом и йогурт с АМ крахмалом (1-е сутки хранения) (выделена красным); 2-я – входят все остальные образцы (выделены зеленым, синим черным). В свою очередь, вторая группа на пятом уровне взаимосвязей делится на три группы. Фактически на 1-е сутки хранения йогурты с AG10, в том числе с ФМК, больше взаимосвязаны с чистым йогуртом, чем вариант с нативным. В процессе хранения (21 сут) взаимосвязи образцов удаляют, ослабевают. Взаимосвязан образцы пробиотического йогурта с AG10 и с BL-крахмалом. Вариант с AG10 и АМ-йогуртом больше взаимосвязаны с вариантом с нативным крахмалом. Выявленная нами дивергенция признаков на древовидной диаграмме между образцами с крахмалами АМ и BL может быть обусловлена различной микроструктурно-пространственной организацией матрикса геля йогурта, которые описаны в предыдущих главах (сканирующая микроскопия йогуртов с ФМК). Кроме того, необходимо учитывать, что штамм *L. plantarum* AG10 формирует структуру кисломолочного геля отличную от структуры сквашенного молока с *L. bulgaricus* [319]. Таким образом, изменения носят дуалистический характер, как со стороны ФМК, так и со стороны штамма AG10.

На следующем этапе был проведен анализ корреляционных зависимостей между комплексом параметров (рисунок 119).

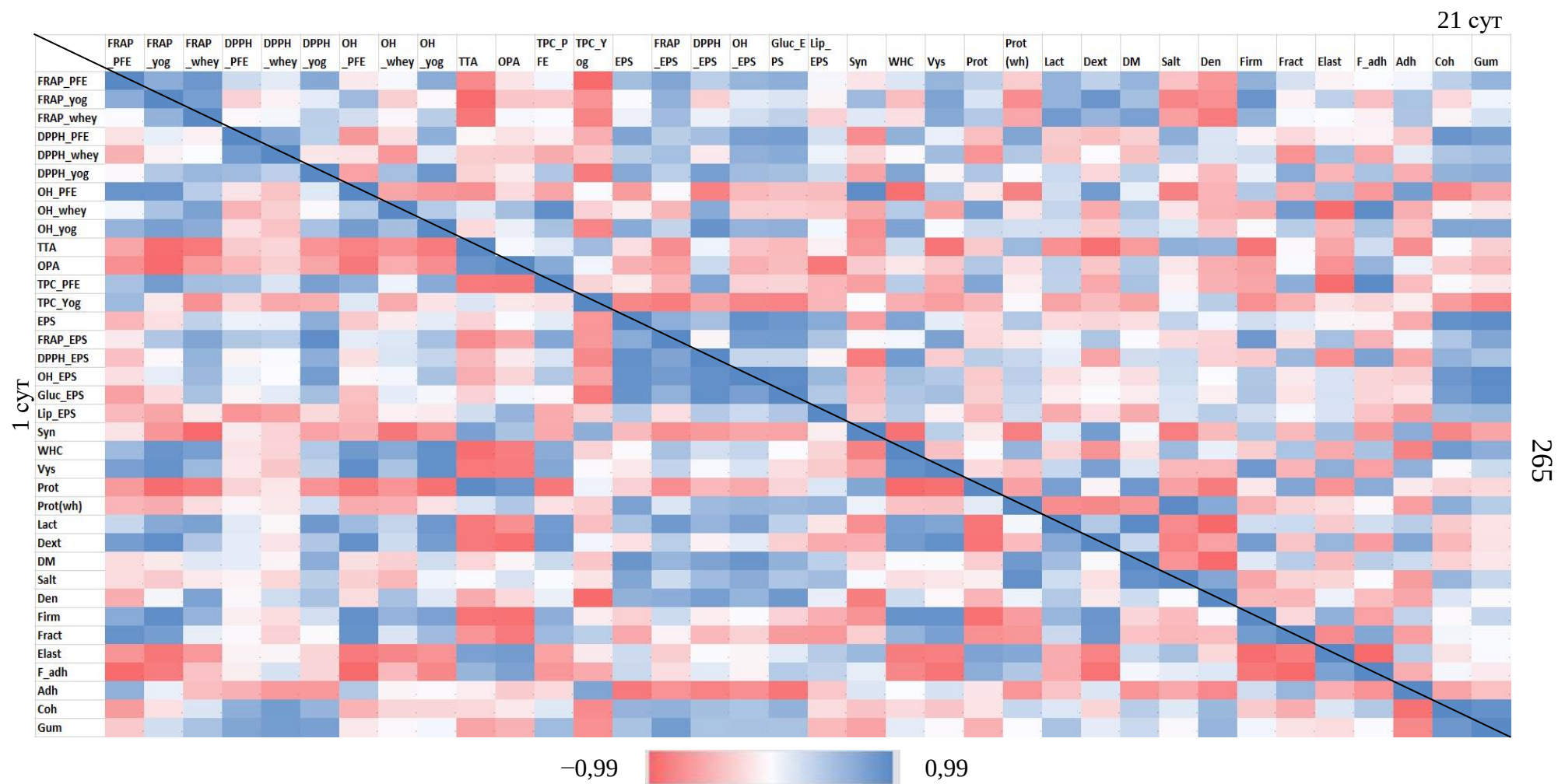


Рисунок 119 – Тепловая карта корреляций, рассчитанных для 1-х и 21-х суток (разделение по линии)

Анализ подтвердил обратную корреляцию уровня глюкозы и углеводов к титруемой кислотности, что является закономерным, так как углеводы используются в качестве ростового субстрата. Закономерны положительные корреляции между когезией и клейкостью, которые в процессе хранения приобретают положительные корреляции с уровнем ЭПС.

Необходимо отметить, что в 1-е сутки хранения выявлено больше значимых корреляционных коэффициентов (больше 0,7 и меньше -0,7). Так, положительные значения больше 0,7 на первые сутки были в 110 случаях, меньше -0,7 – в 63 случаях. В процессе хранения связи корреляционные ослабли: корреляция больше 0,7 была в 95 случаях, меньше -0,7 – в 44 случаях. Такие изменения в корреляционном анализе могут свидетельствовать о процессах, которые не могут быть описаны чисто химическими изменениями. Здесь мы можем иметь дело с увеличением межмолекулярных взаимодействий, синтезом низкомолекулярных соединений *de novo*, например ЭПС, разрушением макромолекул и полимеризацией моно- и олигомолекул. Несомненно, такие процессы присутствуют в пищевой системе как йогурт даже при температуре 4 °C, метаболические реакции молочнокислых бактерий богаты и разнообразны и реализуются в условиях пониженных температур хранения.

Таким образом, исследование совместного применения пробиотического штамма *Lactiplantibacillus plantarum* AG10 и ферментно-модифицированных крахмалов (ФМК) в технологии обезжиренных йогуртов включало оценку качества продукта по химическим, микробиологическим, текстурным и органолептическим показателям, а также изучение антиоксидантных свойств и влияния на выживаемость МКБ. Неоспоримо показано, что использование ФМК (АМ-0.05 и ВЛ-0.05) вместе с AG10 способствует стабилизации кислотности продукта в процессе хранения. Введение ФМК увеличивает содержание углеводов, но не влияет существенно на белковые компоненты, при этом улучшаются текстурные характеристики йогурта, снижается синерезис и повышается вязкость. Органолептическая оценка показала, что йогурты с ФМК и AG10 получили высокие оценки по вкусу и консистенции, в отличие от варианта с нативным крахмалом. ФМК интегрируются в структуру йогурта без негативных изменений, что подтверждает их технологическую примени-

мость. Микробиологический анализ подтвердил, что ФМК способствует выживанию МКБ при хранении. Антиоксидантные свойства йогуртов с ФМК и AG10 оказались выше, особенно в части связывания свободных радикалов и ингибирования ферментов. Сочетание пробиотика AG10 и ФМК обеспечивает синергетический эффект, что подтверждается экспериментальными данными. Принципиальный компонентный и корреляционный анализы подтвердили, что комбинация AG10 и ФМК существенно влияет на комплекс свойств йогурта, гармонизируя его химические, физико-химические и микробиологические параметры.

Результаты работы позволяют рекомендовать внедрение комбинации *L. plantarum* AG10 и ФМК в производство обезжиренных кисломолочных продуктов для улучшения их функциональных, текстурных и потребительских характеристик. Технология обеспечивает создание функциональных продуктов с пробиотическими свойствами, повышенной стабильностью при хранении и антиоксидантным потенциалом, что соответствует современным трендам в пищевой индустрии. На следующем этапе были проведены исследования *in vivo* для выявления улучшенных пробиотических и функциональных свойств пробиойогурта с ФМК.

6.2 Исследование *in vivo* функциональных свойств кисломолочного продукта с *L. plantarum* AG10 и ферментно модифицированным картофельным крахмалом BL-0.05

Оценка влияние йогурта с пробиотическим штаммом *L. plantarum* AG10 и ФМК на общие физиологические ответы моногастричных животных, в частности крыс линии Вистар, показала, что пробиойогурт способствует более эффективному потреблению кормов, при этом замедляя набор массы тела половозрелых особей (таблица 55).

Таблица 55 – Биологические показатели крыс (половозрелые особи, самцы)

Показатель	Контроль	Пробиойогурт	Пробиойогурт +BL-0.05
Средняя масса животного, г:			
1 сут	260 ± 32	284 ± 26	250 ± 17
42 сут	287 ± 29	296 ± 21	275 ± 21
Масса съеденного корма, г	3292	3261	3345
Эффективность потребления корма, %	104	127	126
Среднесуточный прирост, г	0,60 ± 0,17	0,45 ± 0,17	0,60 ± 0,13
Абсолютный прирост, г	31,6 ± 6,2	25,6 ± 7,8	26,6 ± 5,8
Относительный прирост (к контролю), %	–	81	84

Добавление в стандартный рацион крыс 2 г пробиойогурта независимо от присутствия крахмала статистически значимо не влияло на абсолютный и среднесуточный прирост массы тела в сравнении с контролем. Известен эффект снижения набора массы тела у взрослых крыс, обусловленный действием МКБ [254]. Несомненно, лактобактерии пробиойогурта влияют на микробиоту кишечника, что влияет на переваривание и всасывание жиров в тонком кишечнике, причем присутствие ФМК этого эффекта не снижает. Такой эффект может быть связан с увеличением метаболических реакций, связанных с жировым обменом, в частности, с воздействием на желчные кислоты [249].

Индексы внутренних органов крыс в трех группах не имели статистически значимых различий ($p < 0,05$) (таблица 56), однако среднее значение гепатосомального индекса в вариантах с кисломолочным продуктом ниже контроля.

Таблица 56 – Коэффициенты внутренних органов крыс, %

Показатель	Контроль	Пробиойогурт	Пробиойогурт + BL-0.05
Сердце	1,52 ± 0,11	1,69 ± 0,15	1,68 ± 0,04
Селезенка	1,12 ± 0,18	1,13 ± 0,09	1,13 ± 0,10
Почки (2 шт.)	3,15 ± 0,26	3,17 ± 0,15	3,06 ± 0,18
Печень	15,15 ± 0,93	13,91 ± 0,92	14,21 ± 0,69

Общих признаков интоксикации или иных физиологических отклонений в процессе эксперимента и при постмортальном осмотре не было выявлено.

Гематологический анализ. Гематологические параметры являются индикаторами физиологического здоровья животных, индикатором сбалансированности рациона питания, воспалительных процессов (таблица 57). Двухфакторный дисперсионный анализ не выявил значимых отличий между группами, что является показателем отсутствия негативного воздействия разработанных продуктов как пробиогурта, так и пробиогурта с BL-0.05.

Таблица 57 – Влияние пробиогурта на гематологические показатели крыс

Показатель	Референсное значение	Контроль	Пробиогурт	Пробиогурт + BL-0.05
Лейкоциты, $10^9/\text{л}$	2,1–19,5	$5,9 \pm 2,04$	$7,9 \pm 2,43$	$6,46 \pm 0,63$
Лимфоциты, $10^9/\text{л}$	1,3–14,1	$4,62 \pm 1,79$	$6,68 \pm 1,35$	$5,37 \pm 0,43$
Сумма нейтрофилов, моноцитов, эозинофилов, базофилов, $10^9/\text{л}$	0–0,98	$0,21 \pm 0,18$	$0,29 \pm 0,25$	$0,31 \pm 0,33$
Гранулоциты, $10^9/\text{л}$	0–7,5	$1,07 \pm 0,58$	$0,94 \pm 0,85$	$0,77 \pm 0,24$
Лимфоциты, %	25–97	$77,78 \pm 6,89$	$86,2 \pm 7,39$	$83,36 \pm 5,91$
Сумма нейтрофилов, моноцитов, эозинофилов, базофилов, %	0–7	$4,3 \pm 4,67$	$3,26 \pm 1,94$	$4,92 \pm 4,78$
Гранулоциты, %	0–75	$18,08 \pm 6,92$	$10,56 \pm 5,68$	$11,74 \pm 2,61$
Эритроциты, $10^{12}/\text{л}$	4,5–10	$8,28 \pm 0,36$	$9,25 \pm 0,7$	$8,4 \pm 0,36$
Гемоглобин, г/л	140–180	$135,4 \pm 11,3$	$144 \pm 10,2$	$138,4 \pm 3,1$
Гематокрит, %	35–52	$43,05 \pm 3,43$	$46,61 \pm 2,46$	$44,53 \pm 1,3$
Средний объем эритроцитов, фл	50–96	$52,6 \pm 3,13$	$52,4 \pm 2,97$	$52 \pm 1,87$
Среднее содержание гемоглобина в крови, пг	16–32	$16,16 \pm 0,57$	$16,06 \pm 1,21$	$16,58 \pm 0,38$
Средняя концентрация гемоглобина в эритроците, г/л	300–400	$311,4 \pm 3,29$	$303,4 \pm 28,29$	$318 \pm 5,29$
Ширина распределения эритроцитов, %	–	$14,76 \pm 0,5$	$15,58 \pm 0,93$	$14,88 \pm 0,11$
Тромбоциты, $10^9/\text{л}$	150–1370	$531 \pm 31,38$	$686,8 \pm 94,36$	$615 \pm 69,43$
Тромбокрит (доля тромбоцитов в общем объеме цельной крови), %	0–15	$0,36 \pm 0,03$	$0,5 \pm 0,16$	$0,41 \pm 0,05$
Средний объем тромбоцитов, фл	–	$6,76 \pm 0,32$	$7,06 \pm 0,18$	$6,58 \pm 0,36$
Широта распределения популяции тромбоцитов, %	–	$33,26 \pm 0,53$	$33,62 \pm 1,01$	$32,58 \pm 0,87$

Значимые отличия ($P < 0,05$) в пределах нормы обнаружены в показателя для количества тромбоцитов в группах с пробиогуртами. Возможно, это связано с дополнительным поступлением витамина К с кисломолочным продуктом, а как известно витамин К необходим для синтеза белков крови, ответственных за коагуляцию и образование тромбоцитов [420].

Биохимические показатели. Было изучено влияние рациона на биохимические показатели, в том числе, отвечающие за липидный обмен крыс (рисунок 120).

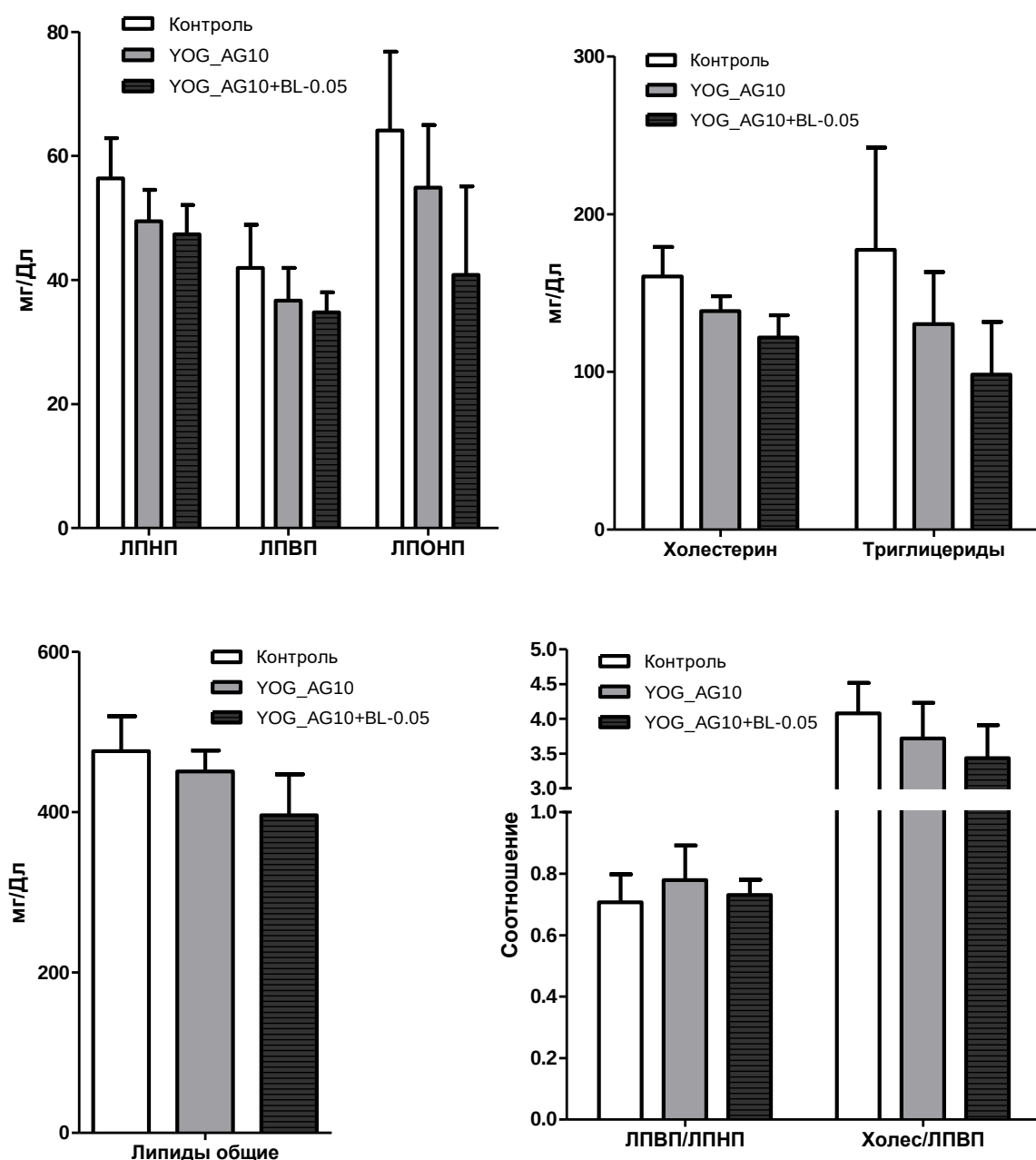


Рисунок 120 – Влияние пробиогуртов на показатели крови, отвечающие за липидный обмен

Добавление в рацион крыс 2 г пробиойогурта приводило к снижению общего количества ЛПВП, ЛПНП, ЛПОНП, холестерина, триглицеридов, липидов, в сравнении с контролем. Монотонное снижение показателя ЛПВП и ЛПНП не приводило к изменению индекса ЛПВП/ЛПНП. Однако выявлено снижение индекса холестерин/ЛПВП, учитывая прогностическую ценность этого показателя с точки зрения риска развития ишемической болезни сердца, можно говорить о стойком положительном влиянии продукта пробиойогурт на факторы, связанные с развитием сердечно-сосудистых заболеваний. В совокупности в группе пробиойогурта-ФМК наблюдали лучшую динамику снижения липидных показателей, чем в группе с пробиойогуртом.

Гипохолестериновый эффект КМП и способность МКБ снижать уровень холестерина в крови активно изучаются. Выделено несколько возможных механизмов этого действия: 1) деконъюгация желчных солей пробиотическими микроорганизмами, синтезирующими гидролазу желчных солей, что способствует их выведению с фекалиями [249; 338]; 2) ассимиляция холестерина из кишечной среды в клеточные стенки пробиотиков, включая как растущие, так и нежизнеспособные клетки [411]. Эффективность холестерин-ассимилирующего действия зависит от специфики штаммов пробиотиков и уровня синтезируемых ими соединений с гипохолестериновыми свойствами.

Улучшение показателей липидного обмена, наблюдаемое при употреблении пробиойогурта, возможно связано с увеличением общего содержания экстрагируемых экзополисахаридов (ЭПС). Было установлено, что для штаммов МКБ, способных снижать холестерин в культуральной среде, существует положительная корреляция между уровнем холестерина и количеством синтезируемых ЭПС [221]. Например, употребление КМП, сквашенного с использованием ЭПС-продуцирующего штамма *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, значительно снижало уровень холестерина в крови у лабораторных крыс. Напротив, подобного эффекта не наблюдалось при использовании штамма, не продуцирующего ЭПС. Предполагается, что устойчивость полисахаридов к воздействию пищеварительных ферментов и их вла-

гоудерживающие свойства позволяют им действовать аналогично пищевым волокнам [313].

Биомаркеры активности ферментов сыворотки крови, как АСТ и АЛТ являются важными биохимическими показателями хронических заболеваний печени, таких как гепатит, цирроз и жировая дистрофия. Анализ активности ферментов сыворотки крови у крыс показал отсутствие статистически значимых отличий между группами (рисунок 121). Однако в группе, получавшей пробиойогурты, была выявлена тенденция к снижению коэффициента Ритиса, что может свидетельствовать о благоприятном влиянии на состояние печени.

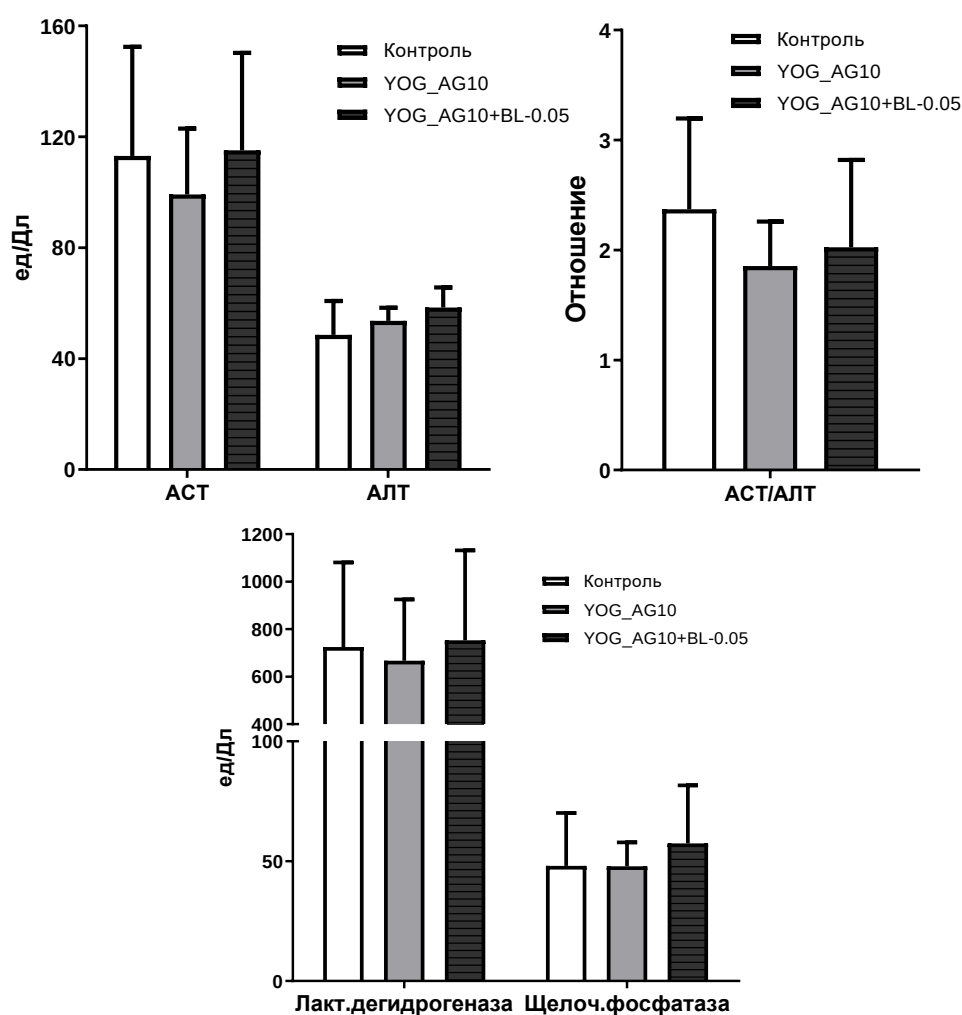


Рисунок 121 – Влияние пробиойогуртов на показатели ряда ферментов сыворотки крови

Статистически значимых неблагоприятных воздействий различной диеты на содержание белка и его фракций в организме крыс не выявлено (рисунок 122). Выявлена тенденция на снижение уровня глюкозы в крови.

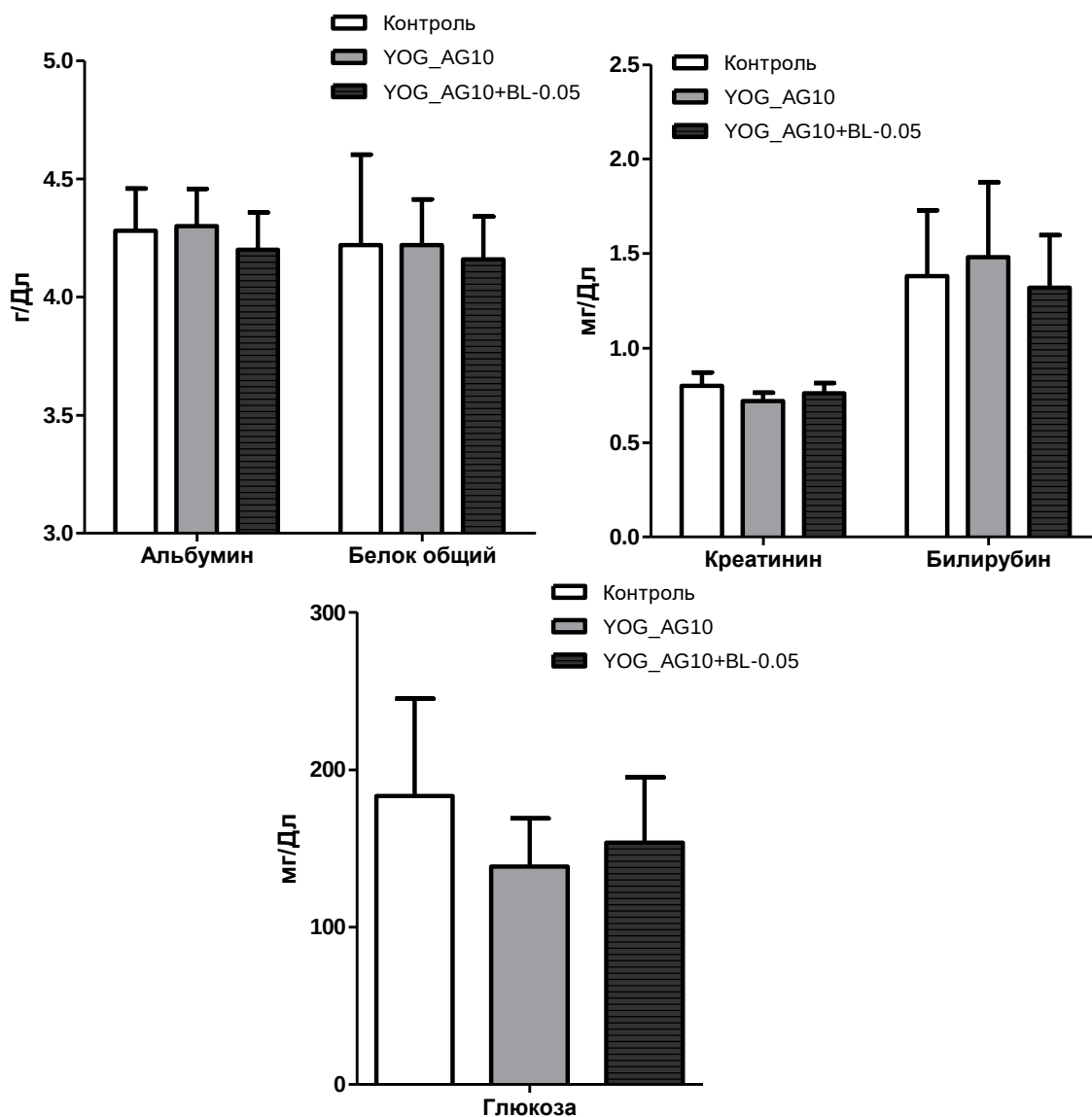


Рисунок 122 – Влияние пробиойогуртов на показатели белкового обмена и глюкозы

Анализ окисленности липидов печени. Степень окисленности липидов печени крыс при включении в рацион питания пробиойогуртов снизилась (рисунок 123), об этом свидетельствуют показатели сводных жирных кислот и перекисного окисления, которые имели тенденцию к снижению в случае вариантов с пробиойогуртами. Показатель же количества малонового диальдегида, как конечного продукта перекисного окисления липидов, статистически значимо меньше в вари-

антах с пробиойогуртами. Малоновый альдегид образуется в результате атаки свободных радикалов ненасыщенных жирных кислот клеточных мембран, поэтому это биомаркер для мониторинга окисления липидов [248].

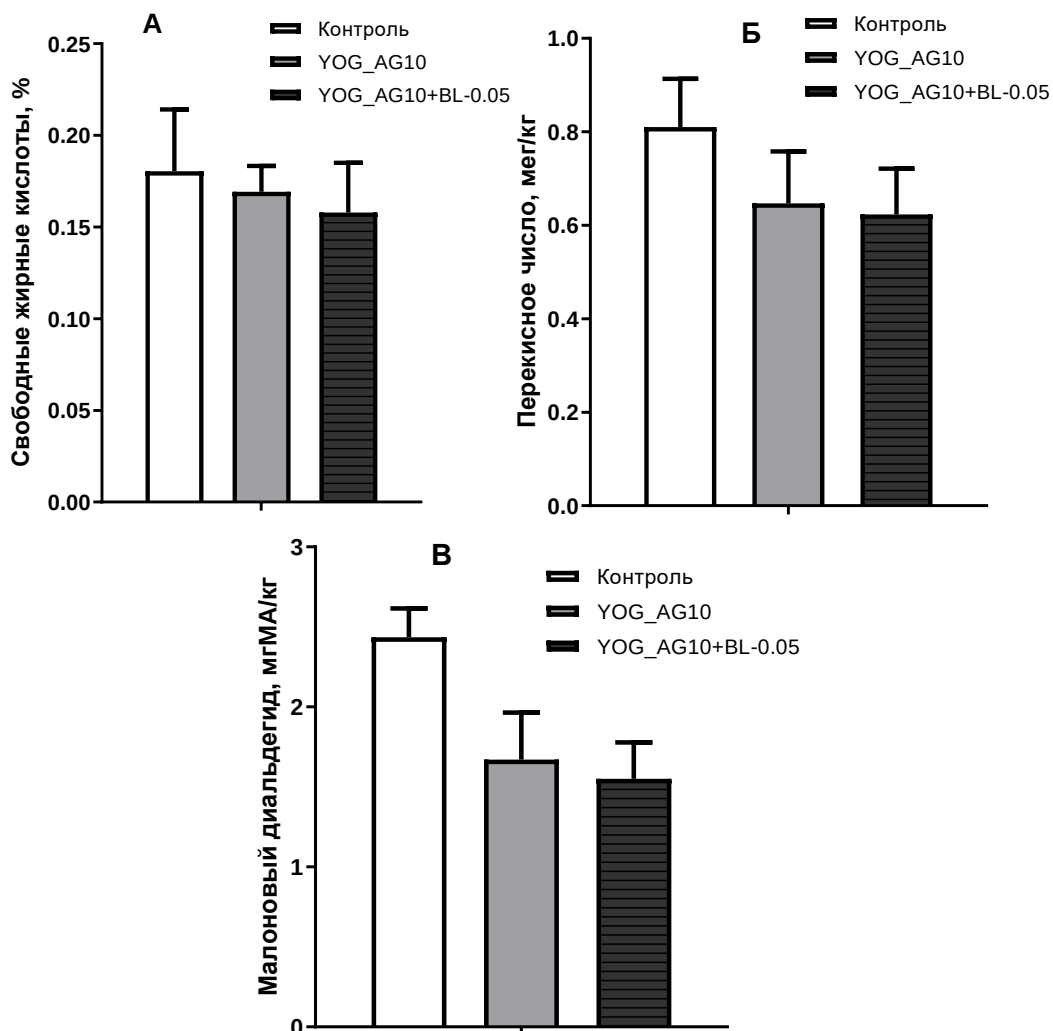


Рисунок 123 – Влияние пробиойогуртов на индикаторы перекисного окисления печени животных: *а* – свободные жирные кислоты; *б* – показатель перекисного окисления; *в* – количество малонового альдегида

В комплексе можно говорить о снижении окислительного прессинга на организм животных. Ранее показанная антиоксидантная активность пробиойогурта в системе *in vitro* находит свою реализацию в системе *in vivo*.

В исследованиях с кефиром в рационе крыс показано улучшение показателей по биомаркерам токсичности печени [141], микрофлора кефира была способна ослаблять окислительный стресс, как *in vitro*, так и *in vivo* [225]. Лактобациллы и

бифидобактерии могли защищать от перекисного окисления липидов *in vitro* и снижали уровень свободных радикалов [154]. Йогурт из козьего молока в рационе крыс приводил к снижению уровня малонового альдегида [128].

Принципиальный компонентный анализ показал, что группы пробиойогурт и контроль не имеют точек пересечения, тогда как группа пробиойогурт с крахмалом имеют перекрывания как с контролем, так и пробиойогуртом, однако эти области незначительны (рисунок 124).

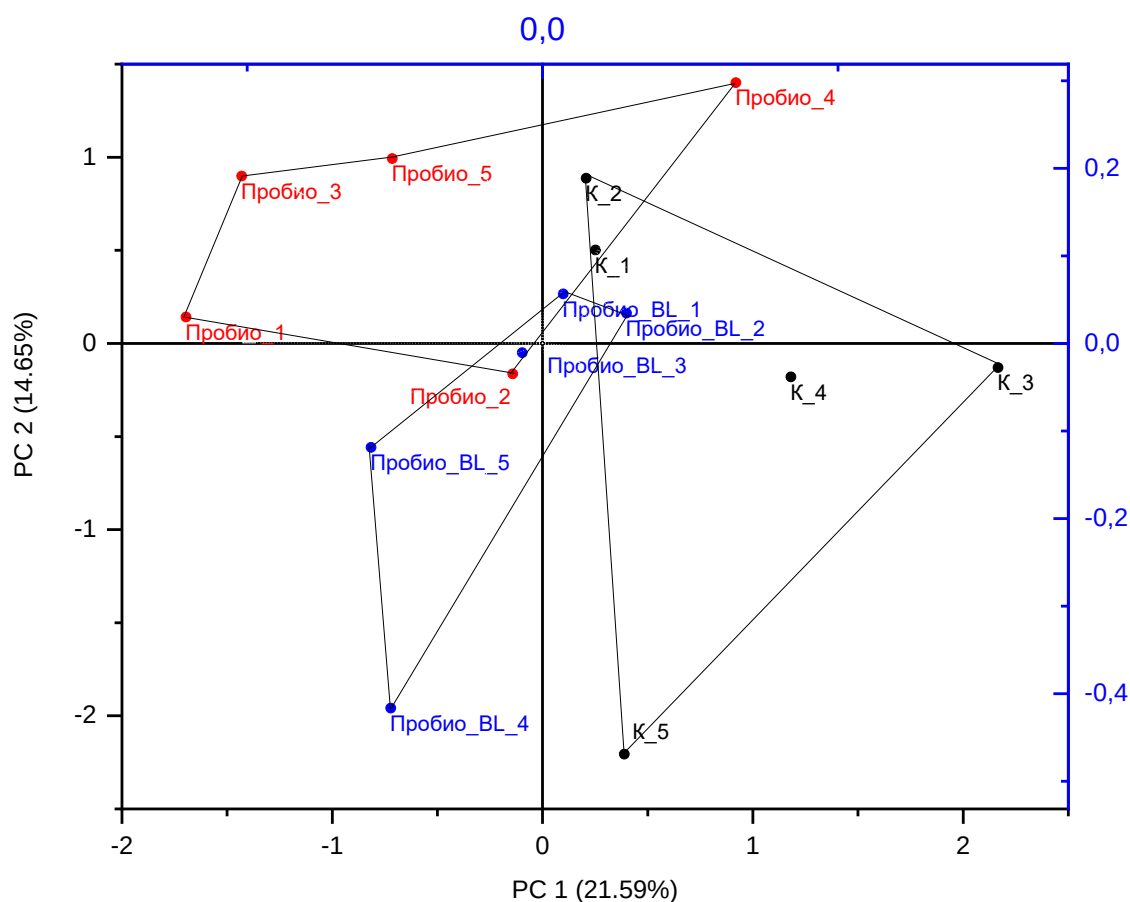


Рисунок 124 – Принципиальный компонентный анализ (РСА) крыс по группам, получавших пробиойогурт и пробиойогурт с ферментно модифицированным крахмалом BL-0.05

Вообще, расхождение в группе Пробио_VI между особями наименьшее, что свидетельствует о более направленном действии КМП, снижая погрешность в индивидуальности реакции организма млекопитающих на пробиойогурт.

Проведенное исследование продемонстрировало значительный потенциал совместного применения ФМК и пробиотического штамма *L. plantarum* AG10 в технологии производства обезжиренных йогуртов. Результаты работы подтвердили, что комбинация ФМК (AM-0.05 или BL-0.05) с AG10 обеспечивает стабилизацию ключевых параметров продукта, включая кислотность, текстуру и микробиологическую стабильность, в течение 21 сут хранения.

ФМК не оказывают существенного влияния на белковый состав йогурта, но увеличивают содержание углеводов, что способствует улучшению текстуры. Совместное использование AG10 и ФМК сдерживает излишнее закисление продукта, сохраняя оптимальный уровень титруемой кислотности. ФМК в сочетании с AG10 значительно снижают синерезис (в 2 раза по сравнению с контролем) и повышают вязкость, формируя однородную, кремообразную консистенцию. Органолептическая оценка подтвердила высокие потребительские качества йогуртов с ФМК, которые не имели крахмалистого послевкуся и получили высокие оценки за вкус и текстуру. ФМК проявляют протекторное действие в отношении МКБ, способствуя их выживанию при хранении, что особенно важно для пробиотических продуктов. Йогурты с ФМК и AG10 демонстрируют повышенную антиоксидантную активность, включая способность связывать свободные радикалы и ингибировать панкреатические ферменты (глюкозидазу и липазу). ЭПС, синтезируемые в присутствии ФМК, играют ключевую роль в усилении функциональных свойств продукта. Принципиальный компонентный и корреляционный анализы подтвердили синергетический эффект от сочетания AG10 и ФМК, гармонизирующий комплекс свойств йогурта.

Результаты исследования позволяют рекомендовать внедрение комбинации *L. plantarum* AG10 и ФМК в производство обезжиренных йогуртов для улучшения их функциональных, текстурных и потребительских характеристик. Такая технология соответствует современным трендам пищевой индустрии, направленным на

создание продуктов с пробиотическими свойствами, повышенной стабильностью и антиоксидантным потенциалом.

Исследование функциональных свойств КМП, изготовленного с использованием йогуртной закваски и пробиотического штамма *L. plantarum* AG10 с добавлением ФМК на примере половозрелых крыс линии Вистар показало, что регулярное потребление продукта замедляет набор массы тела, улучшает эффективность потребления корма, при этом не выявлено статистически значимых изменений в массе внутренних органов, кроме снижения гепатосомального индекса. Гематологические анализы не выявил негативных эффектов, хотя были небольшие изменения в количестве тромбоцитах, возможно, связано с повышением доступности из-за витамина К. В биохимических показателях наблюдалось снижение уровня холестерина, ЛПНП, ЛПОНП, триглицеридов, что связано с гипохолестериновым эффектом пробиотика и ЭПС. Также уменьшились маркеры окислительного стресса в печени, такие как малоновый диальдегид. Принципиальный компонентный анализ подтвердил различия между группами, особенно в группе Пробио_VI, где реакции организма были более однородными.

Проведенное исследование подтвердило функциональную эффективность и безопасность кисломолочного продукта с йогуртовой закваской, обогащенного пробиотическим штаммом *Lactoplantibacillus plantarum* AG10 и ФМК, полученного по новой технологии, на модели крыс линии Вистар. Регулярное употребление разработанного продукта может стать перспективным инструментом для профилактики сердечно-сосудистых заболеваний и инсультов, что позволяет отнести его к функциональным продуктам. На основе полученных результатов была разработана техническая документация на обезжиренный кисломолочный продукт «Пробиойогурт_VI», стабилизированный ферментно модифицированным крахмалом, который не имеет дефектов текстуры или консистенции. При содержании жира всего 0,1 % он получил высокую органолептическую оценку. Комплексный анализ подтвердил, что продукт обладает улучшенными характеристиками. Разработанная технология универсальна, легко адаптируется к использованию с различными за-

квасками и жировыми заменителями, что делает ее подходящей для широкого ассортимента обезжиренных кисломолочных продуктов.

Таким образом, проведенная работа вносит значительный вклад в развитие технологий функционального питания, предлагая научно обоснованные решения для производства высококачественных пробиотических продуктов с высокими потребительскими свойствами.

Заключение

1. На основе аргументированного скрининга из природных источников Татарстана определены перспективные штаммы МКБ: *Lactiplantibacillus plantarum* AG1, AG9, AG10, AG15, *Limosilactobacillus fermentum* AG8 и *Lacticaseibacillus rhamnosus* AG16, с высокими пробиотическими свойствами: устойчивость к желчи и кислотам, антагонистическая активность против условно-патогенных бактерий; кислотообразующая, липолитическая и холестерин-ассимилирующая активности (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 предотвращается 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 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, но 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 в печени, как маркеры окислительного стресса печени. КМП как носитель пробиотических МКБ существенно влияют на микробиоту кишечника, способствуя росту бутират-синтезирующих представителей сем. *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 нарушают процессов ферментации, отсутствует антагонизм между пробиотическими культурами и заквасочными культурами *L. bulgaricus*, *S. thermophilus*. Пробиотические йогурты отличаются повышенной вязкостью, прочностью, упругость, эластичностью и ВУС, это 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 °Т, 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 α -амилазе на 30–50 %, увеличивает на 20–40 % АОА.

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 (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 бактериальные ЭПС в 4–5 раз, повышает на один порядок выживаемости МКБ, на 25 % радикал-связывающую и на 10 % гидроксилрадикал-связывающую активности, улучшает органолептические свойства (консистенцию, вкус). Медико-биологически подтверждена функциональность пробиоти-

ческого 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 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. 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 сокращений и условных обозначений

ББЭ – безбелковый экстракт.

ВА – восстановительная активность.

ВУС – влагоудерживающая способность.

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт.

КМП – кисломолочные продукты.

ЛПВП – липопротеиды высокой плотности.

ЛПНП – липопротеиды низкой плотности.

ЛПОНП – липопротеин очень низкой плотности.

МКБ – молочнокислые бактерии.

ОКФС – общее количество фенольных соединений.

РСА – радикал-связывающая активность.

ФМК – ферментно модифицированный картофельный крахмал.

ЭПС – экзополисахариды.

Список литературы

1. Артюхова, С. И. Об актуальности использования при производстве биопродуктов для функционального питания молочнокислых бактерий, синтезирующих экзополисахариды / С. И. Артюхова, Е. В. Моторная // Международный журнал экспериментального образования. – 2015. – № 5-1. – С. 76–76.
2. Астафьева, Б. В. Исследование термостабильности функционального пробиотического пищевого ингредиента на основе инкапсулированных микроорганизмов *Lactobacillus plantarum* SP-A3 / Б. В. Астафьева, К. А. Бабинцев, М. К. Курбонова [и др.] // Вестник Международной академии холода. – 2022. – № 2. – С. 42–47.
3. Бегунова, А. В. Антимикробные свойства *Lactobacillus* в кисломолочных продуктах / А. В. Бегунова, И. В. Рожкова, Т. И. Ширшова, Ю. И. Крысанова // Молочная промышленность. – 2020. – № 6. – С. 22–23.
4. Бегунова, А. В. Потенциал молочнокислых бактерий в снижении уровня холестерина / А. В. Бегунова, И. В. Рожкова, Т. И. Ширшова, Ю. И. Крысанова // Пищевая промышленность. – 2020. – № 11. – С. 12–15.
5. Бордин, Д. С. Эффективность и безопасность *Lactobacillus reuteri* DSMZ17648 у инфицированных *Helicobacter pylori* / Д. С. Бордин, И. Н. Войнован, С. Г. Хомерики [и др.] // Лечащий врач. – 2016. – № 5. – С. 106.
6. Ботина, С. Г. Использование штаммов молочнокислых бактерий, синтезирующих экзополисахариды, в производстве кисломолочных продуктов питания / С. Г. Ботина, И. В. Рожкова, В. Ф. Семенихина // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2010. – № 1. – С. 38–40.
7. Бояринева, И. В. Антимутагенная активность пробиотических культур и микробных консорциумов / И. В. Бояринева, И. С. Хамагаева, Н. А. Замбалова [и др.] // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. – 2023. – Т. 11, № 3. – С. 91–98.

8. Бояринаева, И. В. Новые биопродукты на молочной и растительной основах и их качественная характеристика / И. В. Бояринаева, А. Б. Подволоцкая, В. Д. Степачкина, Е. О. Рочин // Молочная промышленность. – 2023. – № 6. – С. 56–61.

9. Бруслик, Н. Л. Оценка лекарственной устойчивости пробиотических лактобацилл / Н. Л. Бруслик, Д. Р. Ахатова, А. А. Тойменцева [и др.] // Антибиотики и химиотерапия. – 2015. – Т. 60, № 3–4. – С. 6–13.

10. Вениаминова, Е. А. Повышенное потребление жиров и холестерина как патогенетический фактор депрессии: возможные молекулярные механизмы / Е. А. Вениаминова, Т. В. Стрекалова // Нейрохимия. – 2016. – Т. 33, № 1. – С. 33–41.

11. Веснина, А. Д. Получение пробиотического консорциума на основе выделенных из коровьего молока штаммов / А. Д. Веснина, Н. В. Фотина, А. Ю. Просяков [и др.] // Молочнохозяйственный вестник. – 2021. – № 2 (42). – С. 107–122.

12. Волкова, Г. С. Изучение производственных свойств отдельных штаммов молочнокислых бактерий для создания пробиотиков / Г. С. Волкова, Е. В. Куксова, Е. М. Сербя // Пищевая промышленность. – 2020. – № 3. – С. 8–11.

13. Волкова, Г. С. Изучение фунгицидных свойств метаболитов молочнокислых бактерий / Г. С. Волкова, Е. В. Куксова // Успехи медицинской микологии. – 2019. – Т. 20. – С. 470–475.

14. Гаврилова, Н. Б. Биотехнологические аспекты производства творожных продуктов для специализированного питания / Н. Б. Гаврилова, Н. Ф. Иванова, Н. Л. Чернопольская // Молочная промышленность. – 2023. – № 5. – С. 82–84.

15. Гаврилова, Н. Б. Комплексное использование пробиотиков и метабиотиков в биотехнологии продуктов функционального назначения / Н. Б. Гаврилова, Н. Л. Чернопольская, С. А. Коновалов, Н. Ф. Иванова // Молочная промышленность. – 2022. – № 11. – С. 23–25.

16. Ганина, В. И. Тенденции рынка заквасок / В. И. Ганина, И. И. Ионова, К. Н. Казакова // Молочная промышленность. – 2021. – № 3. – С. 40–43.

17. Головкова, Е. В. Молочный напиток «Приморский» – продукт нового поколения / Е. В. Головкова, Е. В. Медведева, Т. К. Каленик // Технические науки – от теории к практике. – 2013. – № 21. – С. 153–159.

18. Горелов, А. В. Применение пробиотических продуктов в комплексной терапии острых кишечных инфекций и запоров у детей с атопическим дерматитом / А. В. Горелов, И. Я. Конь, Н. А. Михайлова [и др.] // Вопросы современной педиатрии. – 2004. – Т. 3, № 6. – С. 93–98.

19. ГОСТ 30347-2016. Молоко и молочная продукция. Методы определения *Staphylococcus aureus* : дата введения 01.09.2017. – Москва : Изд-во стандартов, 2016. – 17 с.

20. ГОСТ 30726-2001. Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий вида *Escherichia coli* : дата введения 01.07.2002. – Москва : Изд-во стандартов, 2010. – 8 с.

21. ГОСТ 31454-2012. Кефир. Технические условия.

22. ГОСТ 31747-2012. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий) : дата введения 01.07.2013. – Москва : Изд-во стандартов, 2013. – 20 с.

23. ГОСТ 33566-2015. Молоко и молочная продукция. Определение дрожжей и плесневых грибов : дата введения 01.07.2016. – Москва : Изд-во стандартов, 2016. – 16 с.

24. ГОСТ ISO 6785-2015. Молоко и молочная продукция. Обнаружение *Salmonella* spp : дата введения 07.06.2013. – Москва : Изд-во стандартов, 2016. – 24 с.

25. ГОСТ Р 52738-2007. Молоко и продукты переработки. Термины и определения.

26. Гурский, И. А. Особенности производства структурированных кисломолочных десертов, обогащенных пищевыми волокнами / И. А. Гурский, А. А. Творогова // Холодильная техника. – 2020. – № 2. – С. 50–53.

27. Донченко, Л. В. Безопасность пищевой продукции / Л. В. Донченко, В. Д. Надыкта. – Москва : Пищепромиздат, 2001. – 528 с. – ISBN 5-89703-028-6.

28. Драпкина, О. М. Микрофлора кишечника и ожирение / О. М. Драпкина, О. Н. Корнеева, В. Т. Ивашкин // Российские медицинские вести. – 2014. – Т. 19, № 2. – С. 12–16.

29. Евдокимов, И. А. Кисломолочный продукт, обогащенный хитозаном, с продленным сроком хранения / И. А. Евдокимов, В. П. Курченко, Л. Р. Алиева [и др.] // Молочная промышленность. – 2024. – № 4. – С. 22–25.

30. Зобкова, З. С. Выбор ингредиентов с антиоксидантными свойствами для функциональных кисломолочных продуктов / З. С. Зобкова, Е. Г. Лазарева, И. Р. Шелагинова // Молочная промышленность. – 2021. – № 6. – С. 48–49.

31. Зубкова, Т. В. Использование нетрадиционного растительного сырья в молочной промышленности / Т. В. Зубкова, М. Ю. Горшкова, И. Ю. Горшкова, М. Ю. Кузьмина // Современные тенденции развития науки и технологий. – 2015. – № 8-4. – С. 23–25.

32. Иванова, Е. В. Применение заквасок на молоке и молокосодержащих смесях / Е. В. Иванова, Н. В. Романова, О. Ю. Ильина // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. – 2021. – Т. 83, № 2 (88). – С. 102–107.

33. Ивченко, О. Б. Влияние модифицированных и резистентных картофельных крахмалов на культуры клеток *E. coli* / О. Б. Ивченко, Е. А. Мартынова, М. М. Гаппаров // Вопросы питания. – 2007. – № 76. – С. 23–25.

34. Иркитова, А. Н. Некоторые аспекты биотехнологии пробиотического кисломолочного напитка на основе комбинированной закваски / А. Н. Иркитова, И. А. Функ, Р. В. Дорофеев // Техника и технология пищевых производств. – 2016. – Т. 42, № 3. – С. 19–24.

35. Исаев, В. А. Функциональные пищевые продукты и проектирование их физиологического воздействия на организм человека / В. А. Исаев, С. В. Симоненко // Медицинские науки. – 2016. – № 2. – С. 42–49.

36. Каночкина, М. С. Антагонистическая активность пептидов, продуцируемых молочнокислыми бактериями и дрожжами: механизмы их действия и возможности целенаправленного применения в пищевой промышленности / М. С. Каноч-

кина, В. В. Тарасова, А. Д. Коновалова // Пищевая промышленность. – 2023. – № 7. – С. 40–46.

37. Капустин, М. А. Характеристика физико-химических свойств, антиоксидантной, антимуtagenной и репаративной активности нанокомплексов куркуминоидов с циклодекстринами / М. А. Капустин, А. С. Чубарова, И. В. Ржепаковский [и др.] // Современная наука и инновации. – 2024. – № 1 (45). – С. 80–96.

38. Китаевская, С. В. Изучение способности молочнокислых бактерий продуцировать липолитические ферменты / С. В. Китаевская // Вестник Казанского технологического университета. – 2015. – Т. 18, № 18. – С. 256–258.

39. Козлова, О. В. Биотехнология кисломолочного плавленого сыра с метабитами / О. В. Козлова, С. И. Артюхова // Актуальная биотехнология. – 2019. – № 3 (30). – С. 225–228.

40. Коптелова, Е. К. Модификация крахмала путем импрегнирования ферментным препаратом / Е. К. Коптелова, Т. В. Лapidус, И. Г. Маннова, Н. Д. Лукин // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2016. – № 10. – С. 16–20.

41. Кузина, Л. Б. Сравнительный анализ существующих методов оценки степени резистентности крахмалов, крахмалопродуктов и пищевых ингредиентов / Л. Б. Кузина, Н. Д. Лукин, Л. Г. Кузьмина [и др.] // Пищевая промышленность. – 2023. – № 9. – С. 66–73.

42. Курченко, В. П. Использование полисахаридов для снижения горького вкуса гипоаллергенных пептидов гидролизата белков сыворотки молока / В. П. Курченко, Т. Н. Головач, Н. В. Сушинская [и др.] // Молочная промышленность. – 2023. – № 3. – С. 28–31.

43. Курченко, В. П. Мультикомпонентные композиты нанокомплексов циклодекстрина с биологически активными веществами для функциональных продуктов питания / В. П. Курченко, Т. Н. Головач, Н. В. Сушинская [и др.] // Техника и технология пищевых производств. – 2022. – Т. 52, № 2. – С. 375–389.

44. Куцова, А. Е. Определение перспективных направлений проектирования продуктов функционального назначения / А. Е. Куцова, С. В. Шахов, И. А. Глотова

// Международный научный вестник (Вестник Объединения православных ученых). – 2015. – № 1 (5). – С. 46–50.

45. Кучеренко, И. В. Источники выделения культур лактококков для бактериальных заквасок / И. В. Кучеренко, Н. П. Сорокина, Е. С. Масежная [и др.] // Молочная промышленность. – 2020. – № 10. – С. 36–38.

46. Ле, В. М. Критерии оценки антиоксидантных свойств вторичных метаболитов при обогащении молочных продуктов / В. М. Ле, А. Ю. Просеков, А. С. Сухих [и др.] // Молочная промышленность. – 2024. – № 4. – С. 32–40.

47. Лодыгин, А. Д. Исследование влияния дозы внесения пребиотического концентрата на эффективность сквашивания обезжиренного молока молочнокислыми микроорганизмами / А. Д. Лодыгин, Е. В. Мединцева, Д. Н. Лодыгин // Вестник Северо-Кавказского федерального университета. – 2017. – № 4 (61). – С. 19–24.

48. Лукин, Н. Д. Влияние степени гидролиза на физико-химические и структурные свойства кукурузного крахмала в процессе низкотемпературной биоконверсии / Н. Д. Лукин, З. М. Бородина, А. А. Папахин // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2014. – № 12. – С. 38–41.

49. Нечаев, А. П. Пищевая химия / А. П. Нечаев. – Санкт-Петербург : ГИОРД, 2001. – 592 с. – ISBN 5-901065-16-6.

50. 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.

51. Никитина, Е. В. Влияние новых штаммов молочнокислых бактерий на качество обезжиренного сквашенного молока / Е. В. Никитина, А. И. Вафина // Вестник Казанского технологического университета. – 2017. – Т. 20, № 7. – С. 164–166.

52. 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.

53. Никитина, Е. В. Влияние обработки амилазой *Bacillus licheniformis* на морфологические свойства пшеничного крахмала / Е. В. Никитина, З. В. Галимова,

Н. Н. Абдуллина, Ф. К. Алимова // Вестник Казанского технологического университета. – 2013. – Т. 16, № 6. – С. 121–123.

54. Никитина, Е. В. Резистентность модифицированных картофельных крахмалов, обработанных альфа- и бета-амилазами / Е. В. Никитина, Л. З. Габдукаева, О. А. Решетник // Вестник Казанского технологического университета. – 2010. – № 10. – С. 382–387.

55. 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.

56. 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.

57. 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.

58. Никитина, Е. В. Частично гидролизованный 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.

59. О безопасности молока и молочной продукции : технический регламент Таможенного союза ТР ТС 033/2013 : дата введения 09.12.2013. – Москва : Изд-во стандартов, 2013. – 129 с.

60. Об утверждении приоритетных направлений научно-технологического развития и перечня важнейших наукоемких технологий : указ Президента РФ от 18 июня 2024 г. № 529.

61. Олескин, А. В. Пробиотики, психобиотики и метабиотики: проблемы и перспективы / А. В. Олескин, Б. А. Шендеров // Физическая и реабилитационная медицина, медицинская реабилитация. – 2020. – Т. 2, № 3. – С. 233–243.

62. Патент № 2787716 Российская Федерация, МПК А23С 9/13. Композиция для получения кисломолочного продукта для геродиетического питания : № 2021121427 : заявл. 19.07.2021 : опубл. 11.01.2023 / Н. Л. Чернопольская, Н. Б. Гаврилова.

63. 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.

64. Полянская, И. С. Антагонистическая активность пробиотических штаммов: факторы регулирования / И. С. Полянская, Л. Г. Стоянова, В. Ф. Семенихина // Молочная промышленность. – 2017. – № 1. – С. 42–44.

65. Полянская, И. С. Иммунопрофилактика инфекционных заболеваний с помощью кисломолочных продуктов / И. С. Полянская, В. Ф. Семенихина // Молочная промышленность. – 2015. – № 8. – С. 40–42.

66. Полянская, И. С. Как работают молочнокислые микроорганизмы / И. С. Полянская, О. И. Топал, В. Ф. Семенихина // Молочная промышленность. – 2014. – № 12. – С. 52–53.

67. Полянская, И. С. Классификация функциональных пищевых продуктов на молочной основе / И. С. Полянская, В. Ф. Семенихина // Молочная промышленность. – 2017. – № 2. – С. 56–58.

68. Просеков, А. Ю. Иммобилизация бифидобактерий для повышения их жизнеспособности при преоральной доставке в матрице пищевых продуктов / А. Ю. Просеков, Т. В. Вобликова // Современная наука и инновации. – 2018. – №3. – С. 141–146.

69. Раскошная, Т. А. Конструирование питательной среды для культивирования пробиотического микроорганизма *Lactobacillus reuteri* / Т. А. Раскошная, В. Ф. Семенихина, И. В. Рожкова // Молочная промышленность. – 2015. – № 4. – С. 26–27.

70. Решетник, Е. И. Влияние растворимых пищевых волокон из *Larix dahurica* на качество молочного биопродукта / Е. И. Решетник, С. Л. Грибанова, Ю. И. Держапольская [и др.] // Молочная промышленность. – 2023. – № 6. – С. 62–65.

71. Руськина, А. А. Возможности трансформации фракций нативного крахмала для получения сырьевых ингредиентов целевого назначения / А. А. Руськина, И. Ю. Потороко // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. – 2022. – Т. 10, № 3. – С. 5–12.

72. Руськина, А. А. Технология синтеза резистентного крахмала, примененного для эмульсионных систем, на основе ультразвуковой кавитации / А. А. Руськина, И. Ю. Потороко // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. – 2023. – Т. 11, № 2. – С. 41–48.

73. Рябцева, С. А. Пробиотические свойства сахаромикетов / С. А. Рябцева, А. Г. Храмцов, С. Н. Сазанова [и др.] // Прикладная биохимия и микробиология. – 2023. – Т. 59, № 2 – С. 120–123.

74. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы СанПиН 2.3.2.2362-08 «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов».

75. Семенихина, В. Ф. Разработка биотехнологии кисломолочного продукта с *Lactobacillus reuteri* lr1 и исследование его функциональных свойств в эксперименте *in vitro* и *in vivo* / В. Ф. Семенихина, И. В. Рожкова, А. В. Бегунова, Т. В. Федорова, Т. И. Ширшова // Вопросы питания. – 2018. – Т. 87, № 5. – С. 52–62.

76. Симоненко, Е. С. Разработка кисломолочного продукта на основе кобыльего молока и ассоциации молочнокислых микроорганизмов / Е. С. Симоненко, А. В. Бегунова // Вопросы питания. – 2021. – Т. 90, № 5 (537). – С. 115–125.

77. Соколов, А. А. Физико-химические и биохимические основы технологии мясопродуктов / А. А. Соколов. – Москва : Пищевая промышленность, 1965. – 487 с.

78. Соломин, Д. А. Целесообразность и эффективность производства модифицированных крахмалов в крахмалопаточной отрасли / Д. А. Соломин // Пищевая промышленность. – 2013. – № 7. – С. 54–56.

79. Соломина, Л. С. Развитие производства нативных и модифицированных крахмалов в крахмалопаточной отрасли / Л. С. Соломина, Н. Д. Лукин, Д. А. Соломин // Пищевая промышленность. – 2021. – № 12. – С. 12–15.

80. Сорокина, Н. П. Выбор бактериальных заквасок для ферментированной молочной продукции / Н. П. Сорокина, И. В. Кучеренко // Молочная промышленность. – 2016. – № 7. – С. 24–26.

81. Сорокина, Н. П. Способы применения бактериальных заквасок и концентратов / Н. П. Сорокина, Е. В. Кураева // Сыроделие и маслоделие. – 2015. – № 3. – С. 31–32.

82. Стоянова, Л. Г. Сравнение свойств бактериоцинов некоторых штаммов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* / Л. Г. Стоянова, Г. Б. Федорова, Н. С. Егоров [и др.] // Прикладная биохимия и микробиология. – 2007. – Т. 43, № 6. – С. 677–684.

83. Стратегия повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 года : утверждена распоряжением Правительства РФ от 29 июня 2016 г. № 1364-р.

84. Сухих, С. А. Свойства микроорганизмов, выделенных из национальных казахских кисломолочных напитков / С. А. Сухих, Е. В. Ульрих, А. Ю. Просеков [и др.] // Молочная промышленность. – 2021. – № 5. – С. 28–30.

85. Тарасова, Р. Н. Исследование пребиотических свойств гетерополисахаридов льна культурного на бактериях *Lactobacillus acidophilus* / Р. Н. Тарасова, Е. В. Ожимкова, И. В. Ущаповский // Вестник Тверского государственного технического университета. – 2018. – № 1 (33). – С. 61–66.

86. Тюрин, М. В. К механизму антагонистической активности лактобацилл / М. В. Тюрин, Б. А. Шендеров, Н. Г. Рахимова [и др.] // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 1989. – Т. 66, № 2. – С. 3–8.

87. Усенко, Д. В. Использование пробиотического продукта, содержащего *Lactobacillus casei* Defensis, в лечении кишечных инфекций у детей с измененной аллергической реактивностью / Д. В. Усенко, А. В. Горелов, С. В. Шабалина // Инфекционные болезни. – 2005. – Т. 3, № 3. – С. 51–55.

88. Успенский, Ю. П. Лечение инфекции *Helicobacter pylori*: проблемы и перспективы / Ю. П. Успенский, Н. В. Барышникова, Ю. А. Фоминых // Гастроэнтерология. Приложение к журналу Consilium Medicum. – 2015. – № 1. – С. 8–17.

89. Фролова, А. С. Изучение пробиотических свойств консорциума штаммов ацидофильной палочки / А. С. Фролова, Ю. Р. Серазетдинова, И. С. Миленьева, О. А. Неверова // XXI век: итоги прошлого и проблемы настоящего плюс. – 2022. – Т. 11, № 3 (59). – С. 97–102.

90. Хамагаева, И. С. Влияние пребиотика Raftiline GR на функциональные свойства нового пробиотического кисломолочного продукта «Пропионикс кефирный» / И. С. Хамагаева, И. В. Бояринева // Перспективы науки. – 2012. – № 12 (39). – С. 81–84.

91. Хамагаева, И. С. Внеклеточные метаболиты, синтезируемые пробиотическими микроорганизмами / И. С. Хамагаева, С. Б. Тумунова, Н. А. Замбалова // Молочная промышленность. – 2010. – № 7. – С. 27.

92. 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.

93. Цыганов, М. С. Разработка технологии и формирование потребительских свойств обезжиренных кисломолочных напитков : дис. ... канд. техн. наук : 4.3.3 / М. С. Цыганов. – Казань, 2023. – 168 с.

94. Шаненко, Е. Ф. Синтез биогенных аминов молочнокислыми бактериями на средах растительного и животного происхождения / Е. Ф. Шаненко, Ю. А. Николаев, В. И. Ганина [и др.] // Микробиология. – 2022. – Т. 91, № 4. – С. 433–450.

95. Шатнюк, Л. Н. Обогащение молочных продуктов: научное обоснование, нормативная база, практические решения / Л. Н. Шатнюк, В. Б. Спиричев, В. М. Коденцова, О. А. Вржесинская // Молочная промышленность. – 2010. – № 10. – С. 34–39.

96. Шигина, Е. С. Метабиотики в составе обогащенного йогурта / Е. С. Шигина, И. С. Полянская, В. Ф. Семенихина, Л. Г. Стоянова // Молочная промышленность. – 2022. – № 3. – С. 19–21.

97. Шмидт, Ю. С. Исследование влияния заквасок для производства йогурта на процесс ферментации козьего и коровьего молока в различных соотношениях / Ю. С. Шмидт, А. Д. Лодыгин, С. А. Емельянов // Современная наука и инновации. – 2023. – № 4 (44). – С. 138–144.

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

99. Юрьев, В. П. Резистентные крахмалы: медико-физиологические и физико-химические представления. Часть 2. Физико-химические и технологические аспекты решения медико-физиологических проблем / В. П. Юрьев, М. М. Гаппаров, Л. А. Вассерман, Н. К. Генкина // Вопросы питания. – 2006. – Т. 75, № 1. – С. 3–9.

100. Янковский, Д. С. Бифидобактерии и лактобациллы как оптимальная основа современных пробиотиков / Д. С. Янковский, Г. С. Дымент // Современная педиатрия. – 2006. – № 3 (12). – С. 1–10.

101. Яруллина, Д. Р. Бактерии рода *Lactobacillus*: общая характеристика и методы работы с ними / Д. Р. Яруллина, Р. Ф. Фахруллин. – Казань : Казанский университет, 2014. – 51 с.

102. Abdelazez, A. Postbiotic gamma-aminobutyric acid and camel milk intervention as innovative trends against hyperglycemia and hyperlipidemia in streptozotocin-induced C57BL/6J diabetic mice / A. Abdelazez, G. Alshehry, E. Algarni [et al.] // Frontiers in microbiology. – 2022. – Vol. 13. – Art. 943930.

103. Abdelazez, A. Production of a functional frozen yogurt fortified with *Bifidobacterium* spp. / A. Abdelazez, Z. Muhammad, Q.-X. Zhang [et al.] // BioMed research international. – 2017. – Vol. 2017. – Art. 6438528.

104. Abdelazez, A. Screening potential probiotic characteristics of *Lactobacillus brevis* strains *in vitro* and intervention effect on type I diabetes *in vivo* / A. Abdelazez, H. Abdelmotaal, S. E. Evivie [et al.] // BioMed research international. – 2018. – Vol. 2018, № 1. – Art. 7356173.

105. Abdel-Hamid, M. The biological activity of fermented milk produced by *Lactobacillus casei* ATCC 393 during cold storage / M. Abdel-Hamid, E. Romeih, R. R. Gamba [et al.] // International dairy journal. – 2019. – Vol. 91. – P. 1–8.

106. Agyemang, P. N. Effect of the use of starches of three new Ghanaian cassava varieties as a thickener on the physicochemical, rheological and sensory properties of yoghurt / P. N. Agyemang, P. T. Akonor, C. Tortoe [et al.] // Scientific African. – 2020. – № 9. – Art. e00521.

107. Alakali, J. Effect of stabilizers on the physico-chemical and sensory attributes of thermized yoghurt / J. Alakali, T. Okonkwo, E. Iordye // African journal of biotechnology. – 2008. – Vol. 7. – P. 7–15.

108. Al-Dhabi, N. A. Probiotic and antioxidant potential of *Lactobacillus reuteri* LR12 and *Lactobacillus lactis* LL10 isolated from pineapple puree and quality analysis of pineapple-flavored goat milk yoghurt during storage / N. A. Al-Dhabi, M. V. Arasu, P. Vijayaraghavan [et al.] // Microorganisms. – 2020. – Vol. 8, № 10. – Art. 1461.

109. Aleman, R. S. High protein brown rice flour, tapioca starch and potato starch in the development of gluten-free cupcakes / R. S. Aleman, G. Paz, A. Morris [et al.] // LWT. – 2021. – Vol. 152. – Art. 112326.

110. Aljutaily, T. Gut microbiota metabolites for sweetening type I diabetes / T. Aljutaily, M. Consuegra-Fernández, F. Aranda [et al.] // Cellular and molecular immunology. – 2018. – Vol. 15, № 2. – P. 92–95.

111. Aljutaily, T. Probiotic-enriched milk and dairy products increase gut microbiota diversity: a comparative study / T. Aljutaily, E. Huarte, S. Martinez-Monteagudo [et al.] // Nutrition research. – 2020. – Vol. 82. – P. 25–33.

112. Allen-McFarlane, R. Isolation and characterization of *L. parafarraginis* (KU495926) inhibiting multidrug-resistant and extended spectrum beta-lactamase gram-negative bacteria / R. Allen-McFarlane, A. D. Allen, G. Bansal, B. Eribo // Journal of microbiology, biotechnology and food sciences. – 2019. – Vol. 8. – P. 1041–1053.

113. Allgeyer, L. C. Sensory and microbiological quality of yogurt drinks with prebiotics and probiotics / L. C. Allgeyer, M. J. Miller, S.-Y. Lee // Journal of dairy science. – 2010. – Vol. 93. – P. 4471–4479.

114. Al-Nabulsi, A. A. Characterization and bioactive properties of exopolysaccharides produced by *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* isolated from labaneh / A. A. Al-Nabulsi, Z. W. Jaradat, F. R. Al Qudsi [et al.] // LWT. – 2022. – Vol. 167. – Art. 113817.

115. Al-Sadi, R. *Lactobacillus acidophilus* induces a strain-specific and toll-like receptor 2-dependent enhancement of intestinal epithelial tight junction barrier and protection against intestinal inflammation / R. Al-Sadi, P. Nighot, M. Nighot [et al.] // The American journal of pathology. – 2021. – Vol. 191, № 5. – P. 872–884.

116. Alsaleem, K. A. Enhancing low-fat probiotic yogurt: the role of xanthan gum in functionality and microbiological quality / K. A. Alsaleem, M. E. A. Hamouda // Processes. – 2024 – Vol. 2, № 5. – Art. 990.

117. Altay, F. A review on traditional Turkish fermented non-alcoholic beverages: microbiota, fermentation process and quality characteristics / F. Altay, F. Karbancioglu-Guler, C. Daskaya-Dikmen, D. Heperkan // International journal of food microbiology. – 2013. – Vol. 167. – P. 44–56.

118. Altemimi, A. Extraction and optimization of potato starch and its application as a stabilizer in yogurt manufacturing / A. Altemimi // Foods. – 2018. – Vol. 7, № 2. – Art. 14.

119. Altermann, E. Complete genome sequence of the probiotic lactic acid bacterium *Lactobacillus acidophilus* NCFM / E. Altermann, W. M. Russell, M. A. Azcarate-Peril [et al.] // Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA. – 2005. – Vol. 102. – P. 3906–3912.

120. Al-Yousef, H. M. Chemical profile, *in vitro* antioxidant, pancreatic lipase, and alpha-amylase inhibition assays of the aqueous extract of *Elettaria cardamomum* L. fruits / H. M. Al-Yousef, A. S. Alqahtani, W. H. B. Hassan [et al.] // Journal of chemistry. – 2021. – Vol. 2021. – Art. 5583001.

121. Amaya-Llano, S. L. Acid thinned jicama and maize starches as fat substitute in stirred yogurt / S. L. Amaya-Llano, A. L. Martínez-Alegría, J. J. Zazueta-Morales, F. Martínez-Bustos // LWT – Food science and technology. – 2008. – Vol. 41, № 7. – P. 1274–1281.

122. Ametaj, B.-N. Introducing dairy: a transdisciplinary journal to advance understanding of dairy nutrition, health and productivity, welfare and well-being as well as milk synthesis-composition and health effects of its products / B.-N. Ametaj // Dairy. – 2020. – Vol. 1, № 1. – P. 1–5.

123. Amiri, S. *In situ* production of conjugated linoleic acid by *Bifidobacterium lactis* BB12 and *Lactobacillus acidophilus* LA5 in milk model medium / S. Amiri, R. R. Mokarram, M. S. Khiabani [et al.] // LWT. – 2020. – Vol. 132. – Art. 109933.

124. Angelin, J. Exopolysaccharides from probiotic bacteria and their health potential / J. Angelin, M. Kavitha // International journal of biological macromolecules. – 2020. – Vol. 162. – P. 853–865.

125. Anukam, K. C. Development of a novel probiotic yogurt “PENTOYO” with a fully sequenced *Lactobacillus pentosus* KCA1 and its survival during storage at 4 °C / K. C. Anukam, N. A. Olise // Tropical journal of pharmaceutical research. – 2012. – Vol. 11. – P. 977–981.

126. Arab, M. A comprehensive review on yogurt syneresis: effect of processing conditions and added additives / M. Arab, M. Yousefi, E. Khanniri [et al.] // Journal of food science and technology. – 2023. – Vol. 60. – P. 1656–1665.

127. Araki, Y. *Clostridium butyricum*, a probiotic derivative, suppresses dextran sulfate sodium-induced experimental colitis in rats / Y. Araki, A. Andoh, J. Takizawa [et al.] // International journal of molecular medicine. – 2004. – Vol. 13, № 4. – P. 577–580.

128. Araújo, A. A. Intestinal anti-inflammatory activity of goat milk and goat yoghurt in the acetic acid model of rat colitis / A. A. de Araújo, P. O. A. de Assis, G. C. B. Guerra [et al.] // International dairy journal. – 2016. – № 56. – P. 45–54.

129. Ares, G. Influence of gelatin and starch on the instrumental and sensory texture of stirred yogurt / G. Ares, D. Goncalvez, C. Perez [et al.] // International journal of dairy technology. – 2007. – Vol. 60. – P. 263–269.

130. Aryana, K. Fat-free plain yogurt manufactured with inulins of various chain lengths and *Lactobacillus acidophilus* / K. Aryana, S. Plauche, R. Rao [et al.] // Journal of food science. – 2007. – Vol. 72, № 3. – P. 79–84.

131. Aryana, K. J. A 100-year review: yogurt and other cultured dairy products / K. J. Aryana, D. W. Olson // *Journal of dairy science*. – 2017. – Vol. 100. – P. 9987–10013.
132. Ayten, A. A. Effect of food processing on the resistant starch content of cereals and cereal products – a review / A. A. Ayten // *International journal of food science and technology*. – 2011. – Vol. 46. – P. 455–462.
133. Ayyash, M. *In vitro* investigation of anticancer and ACE-inhibiting activity, α -amylase and α -glucosidase inhibition, and antioxidant activity of camel milk fermented with camel milk probiotic: a comparative study with fermented bovine milk / M. Ayyash, A. K. Al-Nuaimi, S. Al-Mahadin, S.-Q. Liu // *Food chemistry*. – 2018. – Vol. 239. – P. 88–97.
134. Azim, Z. Corredig Influence of cross-linked waxy maize starch on the aggregation behavior of casein micelles during acid-induced gelation / Z. Azim, M. Alexander, M. Koxholt // *Food biophysics*. – 2010. – Vol. 5. – P. 227–237.
135. Aziznia, S. Whey protein concentrate and gum tragacanth as fat replacers in nonfat yogurt: chemical, physical, and microstructural properties / S. Aziznia, A. Khosrowshahi, A. Madadlou, J. Rahimi // *Journal of dairy science*. – 2008. – Vol. 91. – P. 2545–2552.
136. Babich, O. O. Structure and properties of antimicrobial peptides produced by antagonist microorganisms isolated from Siberian natural objects / O. O. Babich, I. S. Milentyeva, L. S. Dyshlyuk [et al.] // *Foods and raw materials*. – 2022. – Vol. 10, № 1. – P. 27–39.
137. Bagheri, S. Effect of probiotic supplementation on seizure activity and cognitive performance in PTZ-induced chemical kindling / S. Bagheri, A. Heydari, A. Alinaghipour, M. Salami // *Epilepsy behavior*. – 2019. – Vol. 95. – P. 43–50.
138. Baick, S.-C. Assessment of characteristics and functional properties of *Lactobacillus* species isolated from kimchi for dairy use / S.-C. Baick, C.-H. Kim // *Korean journal for food science of animal resources*. – 2015. – Vol. 35. – P. 339–349.

139. Baruzzi, F. Improvement of Ayran quality by the selection of autochthonous microbial cultures / F. Baruzzi, L. Quintieri, L. Caputo [et al.] // Food microbiology. – 2016. – Vol. 60. – P. 92–103.

140. Begunova, A. V. Development of antioxidant and antihypertensive properties during growth of *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus rhamnosus* and *Lactobacillus reuteri* on cow's milk: fermentation and peptidomics study / A.V. Begunova // Foods. – 2020. – Vol. 10, № 1. – Art. 17.

141. Ben Taheur, F. Does probiotic kefir reduce dyslipidemia, hematological disorders and oxidative stress induced by zearalenone toxicity in wistar rats? / F. Ben Taheur, C. Mansour, S. Mechri [et al.] // Toxicon: X. – 2022. – Vol. 14. – Art. 100121.

142. Bhuyan, A. A. The *in vitro* antiviral activity of *Lacticaseibacillus casei* MCJ protein-based metabolites on bovine viral diarrhea virus / A. A. Bhuyan, A. Akbar Bhuiyan, A. M. Memon [et al.] // Animal biotechnology. – 2023. – Vol. 34, № 2. – P. 340–349.

143. Binda, S. Criteria to qualify microorganisms as “probiotic” in foods and dietary supplements / S. Binda, C. Hill, E. Johansen [et al.] // Frontiers in microbiology. – 2020. – Vol. 11. – Art. 1662.

144. Bomfim, V. B. Partial characterization and antioxidant activity of exopolysaccharides produced by *Lactobacillus plantarum* CNPC003 / V. B. Bomfim, J. Neto, K. S. Leite [et al.] // LWT. – 2020. – Vol. 127. – Art. 109349.

145. Bosscher, D. Inulin and oligofructose as functional ingredients to improve bone mineralization / D. Bosscher, J. Van Loo, A. Franck // International dairy journal. – 2006. – Vol. 16. – P. 1092–1097.

146. Bravo-Núñez, Á. Physically and chemically modified starches as texturisers of low-fat milk gels / Á. Bravo-Núñez, V. Pando, M. Gómez // International dairy journal. – 2019. – Vol. 92. – P. 21–27.

147. Brumovsky, L. Quantification of resistant starch in several starch sources treated thermally / L. Brumovsky, J. O. Brumovsky, M. R. Fretes, J. M. Peralta // International journal of food properties. – 2009. – Vol. 12. – P. 451–460.

148. Buleon, A. Starch granules: structure and biosynthesis / A. Buleon, P. Colonna, V. Planchot, S. Ball // International journal of biological macromolecules. – 1998. – Vol. 23. – P. 85–112.
149. Burgain, J. Lactic acid bacteria in dairy food: surface characterization and interactions with food matrix components / J. Burgain, J. Scher, G. Francius [et al.] // Advances in colloid and interface science. – 2014. – Vol. 213. – P. 21–35.
150. Callan, M. J. Predicting self-rated mental and physical health: the contributions of subjective socioeconomic status and personal relative deprivation / M. J. Callan, H. Kim, W. J. Matthews // Frontiers in psychology. – 2015. – Vol. 6. – Art. 1415.
151. Cani, P. D. Oligofructose promotes satiety in rats fed a high-fat diet: involvement of glucagon-like peptide-1 / P. D. Cani, A. M. Neyrinck, N. Maton, N. M. Delzenne // Obesity research. – 2005. – Vol. 13. – P. 1000–1007.
152. Caporaso, J. G. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data / J. G. Caporaso, J. Kuczynski, J. Stombaugh [et al.] // Nature methods. – 2010. – Vol. 7, № 5. – P. 335–336.
153. Capurso, L. Thirty years of *Lactobacillus rhamnosus* GG: a review / L. Capurso // Journal of clinical gastroenterology. – 2019. – Vol. 53. – P. 1–41.
154. Cavallini, D. C. Effects of probiotic bacteria, isoflavones and simvastatin on lipid profile and atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits: a randomized double-blind study / D. C. Cavallini, R. Bedani, L. Q. Bomdespacho [et al.] // Lipids in health and disease. – 2009. – Vol. 8, № 1. – Art. 1.
155. Chakraborty, I. N. P. An insight into the gelatinization properties influencing the modified starches used in food industry: a review / I. N. P. Chakraborty, S. S. Mal, U. C. Paul [et al.] // Food and bioprocess technology. – 2022. – Vol. 15, № 6. – P. 1195–1223.
156. Charalampopoulos, D. Evaluation of the effect of malt, wheat and barley extracts on the viability of potentially probiotic lactic acid bacteria under acidic conditions / D. Charalampopoulos, S. S. Pandiella, C. Webb // International journal of food microbiology. – 2003. – Vol. 82. – P. 133–141.

157. Chen, K. A combination of three probiotic strains for treatment of acute diarrhoea in hospitalised children: an open label, randomised controlled trial / K. Chen, J. Xin, G. Zhang [et al.] // Beneficial microbe. – 2020. – Vol. 11, № 4. – P. 339–346.

158. Chen, L. γ -Aminobutyric acid-rich yogurt fermented by *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophiles* fmb5 appears to have anti-diabetic effect on streptozotocin-induced diabetic mice / L. Chen, H. Zhao, C. Zhang [et al.] // Journal of functional foods. – 2016. – Vol. 20. – P. 267–275.

159. Chen, S. Potential probiotic characterization of *Lactobacillus reuteri* from traditional Chinese highland barley wine and application for room-temperature-storage drinkable yogurt / S. Chen, L. Chen, L. Chen [et al.] // Journal of dairy science. – 2018. – Vol. 101. – P. 5780–5788.

160. Chen, X. Effects of intravenous infusion with sodium butyrate on colonic microbiota, intestinal development-and mucosal immune-related gene expression in normal growing pigs / X. Chen, J. Xu, Y. Su, W. Zhu // Frontiers in microbiology. – 2018. – Vol. 9. – Art. 1652.

161. Cheng, L.-H. Anti-aging effects of *Lactocaseibacillus paracasei* PS117 on cognitive and intestinal health in naturally-aged mice: a focus on senescence-related proteins and microbiota composition / L. H. Cheng, C. C. Wu, Y. H. Wei [et al.] // Experimental gerontology. – 2024. – Vol. 195. – Art. 112529.

162. Chiu, H.-F. Efficacy of probiotic milk formula on blood lipid and intestinal function in mild hypercholesterolemic volunteers: a placebo-control, randomized clinical trial / H.-F. Chiu, C.-Y. Fang, Y.-C. Shen [et al.] // Probiotics and antimicrobial proteins. – 2021. – Vol. 13. – P. 624–632.

163. Cho, Y. R. Production of gamma-aminobutyric acid (GABA) by *Lactobacillus buchneri* isolated from Kimchi and its neuroprotective effect on neuronal cells / Y. R. Cho, J. Y. Chang, H. C. Chang // Journal of microbiology and biotechnology. – 2007. – Vol. 17. – P. 104–109.

164. Corredig, M. Polysaccharide–protein interactions in dairy matrices, control and design of structures / M. Corredig, N. Sharafbafi, E. Kristo // Food hydrocolloids. – 2011. – Vol. 25. – P. 1833–1841.

165. Cousin, F. J. The first dairy product exclusively fermented by *Propionibacterium freudenreichii*: a new vector to study probiotic potentialities *in vivo* / F. J. Cousin, S. Louesdon, M. B. Maillard [et al.] // Food microbiology. – 2012. – Vol. 32. – P. 135–146.
166. Crispin-Isidro, G. Effect of inulin and agave fructans addition on the rheological, microstructural, and sensory properties of reduced fat stirred yogurt / G. Crispin-Isidro, C. Lobato-Calleros, H. Espinosa-Andrews [et al.] // LWT – Food science and technology. – 2015. – Vol. 62. – P. 438–444.
167. Cui, B. Effect of cross-linked acetylated starch content on the structure and stability of set yoghurt / B. Cui, Y. Lu, C. Tan [et al.] // Food hydrocolloids. – 2014. – Vol. 35. – P. 576–582.
168. Cui, C. Recent advances in the preparation, characterization, and food application of starch-based hydrogels / C. Cui, Y. Jia, Q. Sun [et al.] // Carbohydrate polymers. – 2022. – Vol. 291. – Art. 119624.
169. Cui, L. Comparative studies on the effect of probiotic additions on the physicochemical and microbiological properties of yoghurt made from soymilk and cow's milk during refrigeration storage (R2) / L. Cui, S. K. C. Chang, R. Nannapaneni // Food control. – 2021. – Vol. 119. – Art. 107474.
170. Cunningham, M. Applying probiotics and prebiotics in new delivery formats – is the clinical evidence transferable? / M. Cunningham, G. Vinderola, D. Charalampopoulos [et al.] // Trends in food science technology. – 2021. – Vol. 112. – P. 495–506.
171. Czuchajowska, Z. Enzyme-resistant Starch. IV. Effect of complexing lipids / Z. Czuchajowska, D. Sievert, Y. Pomeranz // Cereal chemistry. – 1991. – Vol. 68, № 5. – P. 537–542.
172. Dairy technology: principles of milk properties and processes / P. Walstra, T. J. Geurts, A. Noomen. – New York : Marcel Dekker, 1999. – 727 p. – ISBN 0-824-70228-X.

173. Dalglish, D. G. The structure of the casein micelle of milk and its changes during processing / D. G. Dalglish, M. Corredig // Annual review of food science and technology. – 2012. – Vol. 3. – P. 449–467.

174. Daniel, M. *Lactobacillus rhamnosus* PL1 and *Lactobacillus plantarum* PM1 versus placebo as a prophylaxis for recurrence urinary tract infections in children: a study protocol for a randomised controlled trial / M. Daniel, H. Szymanik-Grzelak, A. Turczyn, M. Pańczyk-Tomaszewska // BMC Urology. – 2020. – Vol. 20, № 1. – Art. 168.

175. De Morais, J. L. Autochthonous adjunct culture of *Limosilactobacillus mucosae* CNPC007 improved the techno-functional, physicochemical, and sensory properties of goat milk greek-style yogurt / J. L. De Morais, E. F. Garcia, V. B. Viera [et al.] // Journal of dairy science. – 2022. – Vol. 105. – P. 1889–1899.

176. De Oliveira, M. N. Fermented milks and yogurt / M. N. De Oliveira // Encyclopedia of food microbiology / eds. R. Robinson, C. Batt. – 2nd edition. – Amsterdam : Academic Press, 2014. – P. 908–922.

177. De Santis, D. Improvement of the sensory characteristics of goat milk yogurt / D. De Santis, G. Giacinti, G. Chemello, M. T. Frangipane // Journal of food science. – 2019. – Vol. 84. – P. 2289–2296.

178. Decourcelle, N. Effect of thickeners and sweeteners on the release of blended aroma compounds in fat-free stirred yoghurt during shear conditions / N. Decourcelle, S. Lubbers, N. Vallet [et al.] // International dairy journal. – 2004. – Vol. 14, № 9. – P. 783–789.

179. Del Carmen, S. Anti-cancer effect of lactic acid bacteria expressing antioxidant enzymes or IL-10 in a colorectal cancer mouse model / S. Del Carmen, A. de Moreno de LeBlanc, R. Levit [et al.] // International immunopharmacology. – 2017. – Vol. 42. – P. 122–129.

180. Desam, G. P. A mechanistic model for swelling kinetics of waxy maize starch suspension / G.P. Desam, J. Li, G. Chen [et al.] // Journal of food engineering. – 2018. – Vol. 222. – P. 237–249.

181. Didelot, S. Preparation of angiotensin-I-converting enzyme inhibitory hydrolysates from unsupplemented caprine whey fermentation by various cheese microflora

/ S. Didelot, S. Bordenave-Juchereau, E. Rosenfeld [et al.] // International dairy journal. – 2005. – Vol. 16. – P. 976–983.

182. Dilna, S. V. Characterization of an exopolysaccharide with potential health-benefit properties from a probiotic *Lactobacillus plantarum* RJF4 / S. V. Dilna, H. Surya, R. G. Aswathy [et al.] // LWT – Food science and technology. – 2015. – Vol. 64, № 2. – P. 1179–1186.

183. Dimitrellou, D. Assessment of freeze-dried immobilized *Lactobacillus casei* as probiotic adjunct culture in yogurts / D. Dimitrellou, P. Kandyli, Y. Kourkoutas // Foods. – 2019. – Vol. 8. – Art. 374.

184. Ding, W. Characterization of antioxidant properties of lactic acid bacteria isolated from spontaneously fermented yak milk in the Tibetan plateau / W. Ding, L. Wang, J. Zhang [et al.] // Journal of functional foods. – 2017. – Vol. 35. – P. 481–488.

185. Dominguez-Ayala, J. E. Supramolecular structure and technofunctional properties of starch modified by high hydrostatic pressure (HHP): a review / J. E. Dominguez-Ayala, A. Soler, G. Mendez-Montealvo, G. Velazquez // Carbohydrate polymers. – 2022. – Vol. 291. – Art. 119609.

186. Donnet-Hughes, A. Bioactive molecules in milk and their role in health and disease: the role of transforming growth factor- β / A. Donnet-Hughes, N. Duc, P. Serrant [et al.] // Immunology and cell biology. – 2000. – Vol. 78, № 1 – P. 74–79.

187. Du, R. P. Purification, characterization and antioxidant activity of dextran produced by *Leuconostoc pseudomesenteroides* from homemade wine / R. P. Du, X. X. Qiao, F. K. Zhao [et al.] // Carbohydrate polymers. – 2018. – Vol. 198. – P. 529–536.

188. Duarte, C. A. L. Application of the galactomannan gel from *Cassia grandis* seeds for biomedical purposes: study of the incorporation of collagenases and their release profile / C. A. L. Duarte, M. G. Silva, A. L. F. Porto [et al.] // Carbohydrate polymers. – 2024. – Vol. 334. – Art. 122061.

189. Dyshlyuk, L. S. Using bifidobacterium and propionibacterium strains in probiotic consortia to normalize the gastrointestinal tract / L. S. Dyshlyuk, I. S. Milentyeva, L. K. Asyakina [et al.] // Brazilian journal of biology. – 2024. – Vol. 84. – Art. 256945.

190. Eirlinger, R. C. Formation, analysis, structure and properties of type III enzyme resistant starch / R. C. Eirlinger // *Journal of cereal science*. – 1994. – Vol. 68. – P. 129–138.
191. Ejtahed, H. S. Probiotic yogurt improves antioxidant status in type 2 diabetic patients / H. S. Ejtahed, J. Mohtadi-Nia, A. Homayouni-Rad [et al.] // *Nutrition*. – 2012. – Vol. 28. – P. 539–543.
192. Ekinici, F. Y. Effect of using propionic acid bacteria as an adjunct culture in yogurt production / F. Y. Ekinici, M. Gurel // *Journal of dairy science*. – 2008. – Vol. 91. – P. 892–899.
193. Elli, M. Survival of yogurt bacteria in the human gut / M. Elli, M. L. Callegari, S. Ferrari [et al.] // *Applied and environmental microbiology*. – 2006. – Vol. 72. – P. 5113–5117.
194. El-Sayed, S. M. Preparation and evaluation of yogurt fortified with probiotics jelly candy enriched with grape seeds extract nanoemulsion / S. M. El-Sayed, H. S. El-Sayed, H. M. Elgamily, A. M. Youssef // *Journal of food processing and preservation*. – 2022. – Vol. 46. – e16713.
195. Fan, X. Characterization of the effects of binary probiotics and wolfberry dietary fiber on the quality of yogurt / X. Fan, Z. Shi, J. Xu [et al.] // *Food chemistry*. – 2023. – Vol. 406. – Art. 135020.
196. Fan, X. Effect of single probiotics *Lactobacillus casei* CGMCC1.5956 and *Levilactobacillus brevis* CGMCC1.5954 and their combination on the quality of yogurt as fermented milk / X. Fan, L. Du, J. Xu [et al.] // *LWT*. – 2022. – Vol. 163. – Art. e113530.
197. Fantinato, V. Use of yogurt prepared with the probiotic *Streptococcus salivarius* BIO5 strain in the control of bacterial tonsillitis in children / V. Fantinato, H. R. de Carvalho, A. de Sousa // *International journal of probiotics and prebiotics*. – 2020. – Vol. 15. – P. 30–33.
198. Fettke, J. Transitory starch and its degradation in higher plant cells / J. Fettke, A.R. Fernie, M. Steup // *Essential reviews in experimental biology*. – 2012. – Vol. 5. – P. 309–372.

199. FitzGerald, R. J. Bioactive peptides and lactic fermentations / R. J. FitzGerald, B. A. Murray // International journal of dairy technology. – 2006. – Vol. 59. – P. 118–125.
200. Foligné, B. Probiotics from research to market: the possibilities, risks and challenges / B. Foligné, C. Daniel, B. Pot // Current opinion in microbiology. – 2013. – Vol. 16. – P. 284–292.
201. Fonseca, L. M. Physical modification of starch by heat-moisture treatment and annealing and their applications: a review / L. M. Fonseca, S. Halal, A. R. G. Dias, E. D. R. Zavareze // Carbohydrate polymers. – 2021. – Vol. 274. – Art. 118665.
202. Forkuo, G. S. Alleviation of multiple asthmatic pathologic features with orally available and subtype selective GABAA receptor modulators / G. S. Forkuo, A. N. Nie-man, N. Y. Yuan [et al.] // Molecular pharmaceutics. – 2017. – Vol. 14, № 6. – P. 2088–2098.
203. Foroutan, A. Chemical composition of commercial cow's milk / A. Foroutan, A.-C. Guo, R. Vazquez-Fresno [et al.] // Journal of agricultural and food chemistry. – 2019. – Vol. 67, № 17. – P. 4897–4914.
204. Fredriksso, N. H. The influence of amylose and amylopectin characteristics on gelatinization and retrogradation properties of different starches / H. Fredriksson, J. Silverio, R. Andersson [et al.] // Carbohydrate polymers. – 1998. – Vol. 35. – P. 119–134.
205. Fuglsang, A. Lactic acid bacteria: inhibition of angiotensin converting enzyme *in vitro* and *in vivo* / A. Fuglsang, F. Rattray, D. Nilsson, N. Nyborg // Antonie van Leeuwenhoek. – 2003. – Vol. 83. – P. 27–34.
206. Garbacz, K. Anticancer activity of lactic acid bacteria / K. Garbacz // Seminars in cancer biology. – 2022. – Vol. 86. – P. 356–366.
207. Gatt, M. Randomized clinical trial of multimodal optimization of surgical care in patients undergoing major colonic resection / M. Gatt, A. Anderson, B. S. Reddy [et al.] // British journal of surgery. – 2005. – Vol. 92. – P. 1354–1362.
208. 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.

209. Gavrilova, N. Advanced biotechnology of specialized fermented milk products / N. Gavrilova, M. Chernopolskaya, D. Rebezov [et al.] // International journal of recent technology and engineering. – 2019. – Vol. 8, № 2. – P. 2718–2722.

210. Gemmell, M. The physiological characters and flagellar arrangement of motile homofermentative lactobacilli / M. Gemmell, W. Hodgkiss // Journal of general microbiology. – 1964. – Vol. 35. – P. 519–526.

211. Genovese, D. B. Role of starch granule characteristics (volume fraction, rigidity, and fractal dimension) on rheology of starch dispersions with and without amylase / D. B. Genovese, M. A. Rao // Cereal chemistry. – 2003. – Vol. 80, № 3. – P. 350–355.

212. Gentès, M.-C. Impact of starch and exopolysaccharide-producing lactic acid bacteria on the properties of set and stirred yoghurts / M.-C. Gentès, S. L. Turgeon, D. St-Gelais // International dairy journal. – 2016. – Vol. 55. – P. 79–86.

213. Ghosh, B. S. Effect of *Saccharomyces boulardii* cncm-I 3799 and *Bacillus subtilis* cu-1 on acute watery diarrhea: a randomized double-blind placebo-controlled study in Indian children / B. S. Ghosh, P. Bhattacharya, N. Mohanty [et al.] // Pediatric gastroenterology, hepatology nutrition. – 2021. – Vol. 24, № 5. – Art. 423.

214. Giacometti, C. F. High protein yogurt with addition of *Lactobacillus helveticus*: peptide profile and angiotensin-converting enzyme ACE-inhibitory activity / C. F. Giacometti, B. D. Parra, G. B. Domingues [et al.] // Food chemistry. – 2020. – Vol. 333. – Art. 127482.

215. Gibson, G. R. Dietary modulation of the human colonic microbiota: Introducing the concept of prebiotics / G. R. Gibson, M. B. Roberfroid // Journal of nutrition. – 1995. – Vol. 125. – P. 1401–1412.

216. Girard, M. Gelation and resistance to shearing of fermented milk: Role of exopolysaccharides / M. Girard, C. Schaffer-Lequart // International dairy journal. – 2007. – Vol. 17. – P. 666–673.

217. Gobbetti, M. Angiotensin-I-converting-enzymeinhibitory and antimicrobial bioactive peptides / M. Gobbetti, F. Minervini, C. G. Rizzello // International journal of dairy technology. – 2004. – Vol. 57. – P. 173–188.

218. Goh, K. K. Milk protein–polysaccharide interactions / K. K. Goh, A. Sarkar, H. Singh // From expression to food / eds. M. Boland [et al.]. – 2nd edition. – Amsterdam : Academic Press, 2014. – P. 387–419.

219. Gomaa, M. A. E. Nano casein–pectin complex: exploring physicochemical, organoleptic properties, and LAB viability in skimmed milk and low-fat yoghurt / M. A. E. Gomaa, M. G. Allam, E. Mokhtar [et al.] // Food nutrition. – 2024. – Vol. 10. – 1288202.

220. González-Tomás, L. Rheology, flavour release and perception of low-fat dairy desserts / L. González-Tomás, S. Bayarri, A. J. Taylor, E. Costell // International dairy journal. – 2008. – Vol. 18. – P. 858–866.

221. Guan, X. Screening and characterization of lactic acid bacterial strains that produce fermented milk and reduce cholesterol levels / X. Guan, Q. Xu, Y. Zheng [et al.] // Brazilian journal of microbiology. – 2017. – Vol. 48, № 4. – P. 730–739.

222. Guarner, F. Should yoghurt cultures be considered probiotic? / F. Guarner, G. Perdigon, G. Corthier [et al.] // British journal of nutrition. – 2005. – Vol. 93. – P. 783–786.

223. Guillemard, E. Consumption of a fermented dairy product containing the probiotic *Lactobacillus casei* DN-114 001 reduces the duration of respiratory infections in the elderly in a randomised controlled trial / E. Guillemard, F. Tondu, F. Lacoïn, J. Schrezenmeir // British journal of nutrition. – 2010. – Vol. 103. – P. 58–68.

224. Guo, W.-L. Hypoglycemic and hypolipidemic activities of *Grifola frondosa* polysaccharides and their relationships with the modulation of intestinal microflora in diabetic mice induced by high-fat diet and streptozotocin / W.-L. Guo, J.-C. Deng, Y.-Y. Pan [et al.] // International journal of biological macromolecules. – 2020. – Vol. 153. – P. 1231–1240.

225. Guven, A. The effect of kefir on the activities of GSH-Px, GST, CAT, GSH and LPO levels in carbon tetrachloride-induced mice tissues / A. Guven, A. Guven, M. Gulmez // Journal of veterinary medicine, series B. – 2003. – Vol. 50, № 8. – P. 412–416.

226. Guzzon, R. Exploring the microbiota of the redbrown defect in smear-ripened cheese by 454-pyrosequencing and its prevention using different cleaning systems

/ R. Guzzon, I. Carafa, K. Tuohy [et al.] // Food microbiology. – 2017. – Vol. 62. – P. 160–168.

227. Han, X. Improvement of the texture of yogurt by use of exopolysaccharide producing lactic acid bacteria / X. Han, Z. Yang, X. P. Jing [et al.] // BioMed research international. – 2016. – Vol. 2016. – Art. 7945675.

228. Hansen, P. M. T. Food hydrocolloids in the dairy industry / P. M. T. Hansen // Food hydrocolloids / eds. K. Nishinari, E. Doi. – Boston : Springer, 1993. – P. 211–224.

229. Hassan, A. N. Capsule formation by nonropy starter cultures affects the viscoelastic properties of yogurt during structure formation / A. N. Hassan, M. Corredig, J. F. Frank // Journal of dairy science. – 2002. – Vol. 85. – P. 716–720.

230. Hassimotto, N. M. A. Antioxidant capacity of Brazilian fruit, vegetables and commercially-frozen fruit pulps / N. M. A. Hassimotto, M. I. Genovese, F. M. Lajolo // Journal of food composition and analysis. – 2009. – Vol. 22, № 5. – P. 394–396.

231. He, J. T. An insight into the health beneficial of probiotics dairy products: a critical review / J. T. He, W. Li, J. Deng [et al.] // Critical reviews in food science and nutrition. – 2023. – Vol. 63, № 32. – P. 11290–11309.

232. Heidari, Z. Antimicrobial activity of bacteriocin produced by a new *Latilactobacillus curvatus* sp. LAB-3H isolated from traditional yogurt / Z. Heidari, M. F. Ghasemi, L. Modiri // Archives of microbiology. – 2022. – Vol. 204. – Art. 101.

233. Higgins, J. A. Resistant starch: metabolic effects and potential health benefits / J. A. Higgins // Journal of AOAC International. – 2004. – Vol. 87, № 3. – P. 761–768.

234. Hill, D. Recent advances in microbial fermentation for dairy and health / D. Hill, I. Sugrue, E. Arendt [et al.] // F1000Research. – 2017. – Vol. 6. – Art. 751.

235. Hussain, I. Quality comparison of probiotic and natural yogurt / I. Hussain, A. U. Rahman, N. Atkinson // Pakistan journal of nutrition. – 2009. – Vol. 8. – P. 9–12.

236. Hutkins, R. W. Starter cultures / R. W. Hutkins // Microbiology and technology of fermented foods / ed. R. W. Hutkins. – Oxford : Blackwell, 2007. – P. 67–106.

237. Ibrahim, A. The effects of various stabilizers on physiochemical properties of camel milk yoghurt / A. Ibrahim, S. Khalifa // Journal of American science. – 2015. – Vol. 11. – P. 15–24.

238. Imamoglu, H. Influence of storage time and starches on texture attributes of conventional milk yogurt using response surface methodology / H. Imamoglu, P. Coggins, D. Rowe // *International food research journal*. – 2017. – Vol. 24, № 4. – P. 1721.

239. Isazadeh, A. Anti-cancer effects of probiotic *Lactobacillus acidophilus* for colorectal cancer cell line caco-2 through apoptosis induction / A. Isazadeh, S. Hajazimian, B. Shadman [et al.] // *Pharmaceutical sciences*. – 2020. – Vol. 27, № 2. – P. 262–267.

240. Israilides, C. Pullulan from agro-industrial wastes / C. Israilides, A. Smith, B. Scanlon, C. Barnett // *Biotechnology and genetic engineering reviews*. – 1999. – Vol. 16. – P. 309–324.

241. Ivanova, S. A. Molecular design and synthesis of antimicrobial peptides of wide range / S. A. Ivanova, L. A. Astakhova, A. I. Piskaeva [et al.] // *Science evolution*. – 2017. – Vol. 2, № 1. – P. 60–67.

242. Ivashkin, V. Efficacy of a probiotic consisting of *Lactocaseibacillus rhamnosus* PDV 1705, *Bifidobacterium bifidum* PDV 0903, *Bifidobacterium longum* subsp. *infantis* PDV 1911, and *Bifidobacterium longum* subsp. *longum* PDV 2301 in the treatment of hospitalized patients with COVID-19: a randomized controlled trial / V. Ivashkin, V. Fomin, S. Moiseev [et al.] // *Probiotics and antimicrobial proteins*. – 2023. – Vol. 15, № 3. – P. 460–468.

243. Janaswamy, S. Hydrocolloid-based nutraceutical delivery systems / S. Janaswamy, S. R. Youngren // *Food and function*. – 2012. – Vol. 3. – P. 503–507.

244. Jane, J. Effects of amylopectin branch chain length and amylose content on the gelatinization and pasting properties of starch / J. Jane, Y. Y. Chen, L. F. Lee [et al.] // *Cereal chemistry*. – 1999. – Vol. 76. – P. 629–637.

245. Jane, J. Structural features of starch granules / J. Jane // *Starch chemistry and technology* / ed. J. BeMiller, R. Whistler. – 3rd edition. – Burlington : Academic Press, 2009. – P. 193–227.

246. Jankovic, I. Application of probiotics in food products – challenges and new approaches / I. Jankovic, W. Sybesma, P. Phothirath [et al.] // *Current opinion in biotechnology*. – 2010. – Vol. 21. – P. 175–181.

247. Januario, J. G. B. Probiotic yoghurt flavored with organic beet with carrot, cassava, sweet potato or corn juice: physicochemical and texture evaluation, probiotic viability and acceptance / J. G. B. Januario, I. C. F. da Silva, A. S. de Oliveira [et al.] // International food research journal. – 2017. – Vol. 24. – P. 359–366.

248. Jia, Z. Toxic effects of zearalenone on oxidative stress, inflammatory cytokines, biochemical and pathological changes induced by this toxin in the kidney of pregnant rats / Z. Jia, M. Liu, Z. Qu [et al.] // Environmental toxicology and pharmacology. – 2014. – Vol. 37, № 2. – P. 580–591.

249. Jin, D. Deoxycholic acid induces gastric intestinal metaplasia by activating STAT3 signaling and disturbing gastric bile acids metabolism and microbiota / D. Jin, K. Huang, M. Xu [et al.] // Gut microbes. – 2022 – Vol. 14, № 1. – Art. 2120744.

250. Jørgensen, M. R. *Lactobacillus rhamnosus* strains of oral and vaginal origin show strong antifungal activity *in vitro* / M. R. Jørgensen, P. Thestrup Rikvold, M. Lichtenberg [et al.] // Journal of oral microbiology. – 2020. – Vol. 12, № 1. – Art. 1832832.

251. Jung, S.-P. Effect of *Lactobacillus gasseri* BNR17 on overweight and obese adults: a randomized, double-blind clinical trial / S.-P. Jung, K.-M. Lee, J.-H. Kang [et al.] // Korean journal of family medicine. – 2013. – Vol. 34, № 2. – Art. 80.

252. Kaakoush, N. O. Insights into the role of *Erysipelotrichaceae* in the human host / N. O. Kaakoush // Frontiers in cellular and infection microbiology. – 2015. – Vol. 5. – Art. 84.

253. Kailasapathy, K. Commercial sources of probiotic strains and their validated and potential health benefits – a review / K. Kailasapathy // International journal of fermented foods. – 2013. – Vol. 2. – P. 1–17.

254. Kang, C. Gut microbiota mediates the protective effects of dietary capsaicin against chronic low-grade inflammation and associated obesity induced by high-fat diet / C. Kang // mBio. – 2017. – Vol. 8, № 3. – Art. e00470.

255. Kankainen, M. Comparative genomic analysis of *Lactobacillus rhamnosus* GG reveals pili containing a human-mucus binding protein / M. Kankainen, L. Paulin,

S. Tynkkynen [et al.] // Proceedings of the National academy of sciences of the USA. – 2009. – Vol. 106. – P. 17193–17198.

256. Kanning, M. W. Improved creaminess in stirred yoghurt through amylomaltase-treated starch domains / M. W. Kanning, F. van de Velde, A. C. Alting [et al.] // International dairy journal. – 2012. – Vol. 27, № 1–2. – P. 86–91.

257. Kategunya, R. Physico-chemical properties of jackfruit seed starch (*Artocarpus heterophyllus*) and its application as a thickener and stabilizer in chilli sauce / R. Kategunya, C. Sanguansri // LWT – Food science and technology. – 2011. – Vol. 44. – P. 1309–1313.

258. Kato, A. Improvement of emulsifying properties of egg white proteins by the attachment of polysaccharide through Maillard reaction in a dry state / A. Kato, K. Minaki, K. Kobayashi // Journal of agricultural and food chemistry. – 1993. – Vol. 41. – P. 540–543.

259. Kato-Kataoka, A. Fermented milk containing *Lactobacilli casei* strain Shirota prevents the onset of physical symptoms in medical students under academic examination stress / A. Kato-Kataoka, K. Nishida, M. Takada [et al.] // Beneficial microbes. – 2016. – Vol. 7. – P. 153–159.

260. Kaur, L. Physico-chemical, rheological and structural properties of fractionated potato starches / L. Kaur, J. Singh, O. J. McCarthy, H. Singh // Journal of food engineering. – 2007. – Vol. 82. – P. 383–394.

261. Keogh, M. K. Rheology of stirred yogurt as affected by added milk fat, protein and hydrocolloids / M. K. Keogh, B. T. O’Kennedy // Journal of food science. – 1998. – Vol. 63, № 1. – P. 108–112.

262. Khalili, M. Application of probiotics in folate bio-fortification of yoghurt / M. Khalili, A. H. Rad, A. Y. Khosroushahi [et al.] // Probiotics and antimicrobial proteins. – 2020. – Vol. 12. – P. 756–763.

263. Khider, M. Functional low-fat set yogurt enhanced with microbial exo-polysaccharides-mediated anticancer activity / M. Khider, M. Z. El-Readi, S. Abdalrahim [et al.] // Journal of pure and applied microbiology. – 2022. – Art. e5957.

264. 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.

265. Kieserling, K. Impact of pectin-rich orange fibre on gel characteristics and sensory properties in lactic acid fermented yoghurt / K. Kieserling, T. M. Vu, S. Drusch, S. Schalow // Food hydrocolloids. – 2019. – Vol. 94. – P. 152–163.

266. Kim, D. H. Kefir alleviates obesity and hepatic steatosis in high-fat diet-fed mice by modulation of gut microbiota and mycobiota: targeted and untargeted community analysis with correlation of biomarkers / D. H. Kim, H. Kim, D. Jeong [et al.] // Journal of Nutritional Biochemistry. – 2017. – Vol. 44. – P. 35–43.

267. Klaenhammer, T. Discovering lactic acid bacteria by genomics / T. Klaenhammer, E. Altermann, F. Arigoni [et al.] // Antonie van Leeuwenhoek. – 2002. – Vol. 82. – P. 29–58.

268. Kołozyn-Krajewskaa, D. Probiotic meat products and human nutrition / D. Kołozyn-Krajewskaa, Z. J. Dolatowski // Process biochemistry. – 2012. – Vol. 47. – P. 1761–1772.

269. Konstantinidi, M. Functional foods and bioactive compounds: a review of its possible role on weight management and obesity's metabolic consequences / M. Konstantinidi, A. E. Koutelidakis // Medicines (Basel). – 2019 – Vol. 6, № 3. – Art. 94.

270. Kudo, H. *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* OLL1073R-1 eps gene knockout mutants reduced exopolysaccharide synthesis and immunomodulatory activities / H. Kudo, M. Nakano, A. Kikuchi [et al.] // International dairy journal. – 2024. – Vol. 150. – Art. 105827.

271. Kumari Chandana, V. B. Fermented *Ananas comosus* and *Carica papaya* harbor putative probiotic *Limosilactobacillus fermentum* and *Lacticaseibacillus paracasei* strains with inhibitory activity against α -glucosidase and α -amylase / V. B. Kumari Chandana, S. S. Huligere, A. Z. Mohammad [et al.] // South African journal of botany. – 2024. – Vol. 172. – P. 348–360.

272. Laake, K. O. Outcome of four weeks' intervention with probiotics on symptoms and endoscopic appearance after surgical reconstruction with a J-configured ileal-

pouch-anal-anastomosis in ulcerative colitis / K. O. Laake, A. Bjørneklett, G. Aamodt [et al.] // Scandinavian journal of gastroenterology. – 2005. – Vol. 40. – P. 43–51.

273. Laue, C. Effect of a yoghurt drink containing lactobacillus strains on bacterial vaginosis in women – a double-blind, randomised, controlled clinical pilot trial / C. Laue, E. Papazova, A. Liesegang [et al.] // Beneficial microbes. – 2018. – Vol. 9. – P. 35–50.

274. Le, Q.-T. Amylololytically-resistant tapioca starch modified by combined treatment of branching enzyme and maltogenic amylase / Q.-T. Le, C.-K. Lee, Y.-W. Kim [et al.] // Carbohydrate polymers. – 2009. – Vol. 75. – P. 9–14.

275. Lee, N.-K. Physicochemical analysis of yogurt produced by *Leuconostoc mesenteroides* H40 and its effects on oxidative stress in neuronal cells / N.-K. Lee, S.-M. Lim, M.-J. Cheon [et al.] // Food science of animal resources. – 2021. – Vol. 41. – P. 261–273.

276. Li, C. Influence of *Lactobacillus plantarum* on yogurt fermentation properties and subsequent changes during postfermentation storage / C. Li, J. Song, L.-Y. Kwok [et al.] // Journal of dairy science. – 2017. – Vol. 100. – P. 2512–2525.

277. Li, H. B. Developing novel synbiotic yoghurt with *Lactocaseibacillus paracasei* and Lactitol: investigation of the microbiology, textural and rheological properties / H. B. Li, W. B. Song, T. T. Liu [et al.] // International dairy journal. – 2022. – Vol. 135. – Art. 105475.

278. Li, H.-Y. Effects and mechanisms of probiotics, prebiotics, synbiotics, and postbiotics on metabolic diseases targeting gut microbiota: a narrative review / H.-Y. Li, D.-D. Zhou, R.-Y. Gan [et al.] // Nutrients. – 2021. – Vol. 13, № 9. – Art. 3211.

279. Li, M. Multilevel structure of wheat starch and its relationship to noodle eating qualities / M. Li, S. Dhital, Y. Wei // Comprehensive reviews in food science and food safety. – 2017. – Vol. 16, № 5. – P. 1042–1055.

280. Li, X.-R. Gut microbiota alterations from three-strain yogurt formulation treatments in slow-transit constipation / X.-R. Li, C.-J. Liu, X.-D. Tang [et al.] // Canadian journal of infectious diseases and medical microbiology. – 2020. – Vol. 2020, – Art. 4583973.

281. Li, Y. Effects of skim milk fermented with *Lactobacillus plantarum* WW on the constitutions of rats fed a high-fat diet / Y. Li, J. Wu, C. X. Cao [et al.] // Journal of dairy science. – 2020. – Vol. 103. – P. 5019–5029.

282. Limsowtin, G. K. Y. Lactic acid bacteria, taxonomy / G. K. Y. Limsowtin, M. C. Broome, I. B. Powell // Encyclopedia of dairy sciences / ed. H. Roginski. – Oxford : Elsevier, 2002. – P. 1470–1478.

283. Lin, L. Structural properties of starch from single kernel of high-amylose maize / L. S. Lin, E. Zhao, E. Li [et al.] // Food hydrocolloids. – 2021. – Vol. 124. – Art. 107349.

284. Liu, W. Relationships between functional genes in *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus* isolates and phenotypic characteristics associated with fermentation time and flavor production in yogurt elucidated using multilocus sequence typing / W. Liu, J. Yu, Z. Sun [et al.] // Journal of dairy science. – 2016. – Vol. 99. – P. 89–103.

285. Lo, T. C.-T. Correlation evaluation of antioxidant properties on the monosaccharide components and glycosyl link AGes of polysaccharide with different measuring methods / T. C.-T. Lo, C. A. Chang, K.-H. Chiu [et al.] // Carbohydrate polymers. – 2011. – Vol. 86. – P. 320–327.

286. Lobato-Calleros, C. Impact of native and chemically modified starches addition as fat replacers in the viscoelasticity of reduced-fat stirred yogurt / C. Lobato-Calleros, C. Ramírez-Santiago, E. J. Vernon-Carter, J. Alvarez-Ramirez // Journal of food engineering. – 2014. – Vol. 131. – P. 110–115.

287. López-Molina, D. Molecular properties and prebiotic effect of inulin obtained from artichoke (*Cynara scolymus* L.) / D. López-Molina, M. D. Navarro-Martínez, F. R. Melgarejo [et al.] // Phytochemistry. – 2005. – Vol. 66. – P. 1476–1484.

288. Low-fat yogurt market report by type (flavored, unflavored), nature (organic, conventional), distribution channel (supermarkets and hypermarkets, convenience stores, specialty stores, online stores, and others), and region 2025–2033. – URL: <https://www.maximizemarketresearch.com/market-report/global-low-fat-yogurt-market/17351/> (дата обращения: 13.08.2025).

289. Lu, H. Alpha-glucosidase inhibitory peptides: sources, preparations, identifications, and action mechanisms / H. Lu, T. Xie, Q. Wu [et al.] // *Nutrients*. – 2023. – Vol. 15, № 19. – Art. 4267.

290. Lunardello, K. A. The physicochemical characteristics of nonfat set yoghurt containing some hydrocolloids / K. A. Lunardello, F. Yamashita, M. D. Benassi, C. De Rensis // *International journal of dairy technology*. – 2012. – Vol. 65. – P. 260–267.

291. Ma, Y. Enzymatic hydrolysis of corn starch for producing fat mimetics / Y. Ma, C. Cai, J. Wang, D.-W. Sun // *Journal of food engineering*. – 2006. – Vol. 73, № 3. – P. 297–303.

292. Maarel, M. J. E. C. Properties and applications of starch-converting enzymes of the α -amylase family / M. J. E. C. Maarel, B. Veen, J. C. M. Uitdehaag [et al.] // *Journal of biotechnology*. – 2002. – Vol. 94. – P. 137–155.

293. Madsen, M. H. Changes in viscosity properties of potato starch during growth / M. H. Madsen, D. H. Christensen // *Starch*. – 1996. – Vol. 48. – P. 245–249.

294. Mancabelli, L. Identification of universal gut microbial biomarkers of common human intestinal diseases by meta-analysis / L. Mancabelli, C. Milani, G. A. Lugli [et al.] // *FEMS Microbiology ecology*. – 2017. – Vol. 93. – Art. fix153.

295. Marcos, A. The effect of milk fermented by yogurt cultures plus *Lactobacillus casei* DN-114001 on the immune response of subjects under academic examination stress / A. Marcos, J. Wärnberg, E. Nova [et al.] // *European journal of nutrition*. – 2004. – Vol. 43. – P. 381–389.

296. Marta, H. The effect of starch-hydrocolloid interaction on starch digestibility, pasting and physicochemical properties: a review / H. Marta, Y. Cahyana, M. Djali // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*. – 2020. – Vol. 443, № 1. – Art. 012084.

297. Martínez-Cañavate, A. A probiotic dairy product containing *L. gasseri* CECT5714 and *L. coryniformis* CECT5711 induces immunological changes in children suffering from allergy / A. Martínez-Cañavate, S. Sierra, L. F. Villoslada [et al.] // *Pediatric allergy and immunology*. – 2009. – Vol. 20. – P. 592–600.

298. Martinovic, A. *Streptococcus thermophilus*: to survive, or not to survive the gastrointestinal tract, that is the question! / A. Martinovic, R. Cocuzzi, S. Arioli, D. Mora // *Nutrients*. – 2020. – Vol. 12. – Art. 2175.

299. Mary, P. R. Non-enzymatically hydrolyzed guar gum and orange peel fibre together stabilize the low-fat, set-type yogurt: a technofunctional study / P. R. Mary, S. Mutturi, M. Kapoor // *Food hydrocolloids*. – 2022. – Vol. 122. – Art. 107100.

300. Mater, D. D. G. *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* survive gastrointestinal transit of healthy volunteers consuming yogurt / D. D. G. Mater, L. Bretigny, O. Firmesse [et al.] // *FEMS microbiology letters*. – 2005. – Vol. 250. – P. 185–187.

301. McFarland, L. V. Efficacy of single-strain probiotics versus multi-strain mixtures: systematic review of strain and disease specificity / L. V. McFarland // *Digestive diseases and sciences*. – 2021. – Vol. 66. – P. 694–704.

302. Mele, M. B. Alterations in GABAA-receptor trafficking and synaptic dysfunction in brain disorders / M. Mele, R. O. Costa, C. B. Duarte // *Frontiers in cellular neuroscience*. – 2019. – Vol. 13. – Art. 77.

303. Mikky, S. S. Impact of *Lactobacillus gasseri* and its bacteriocin on the quality of drinkable yoghurt / S. S. Mikky, E. M. A. Ibrahim, H. A. Elbarbary, H. A. Mohamed // *Alexandria journal of veterinary sciences*. – 2021. – Vol. 69. – P. 33–42.

304. 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, A. Sungatullina [et al.] // *International journal of biological macromolecules*. – 2024. – Vol. 281. – Art. 136092.

305. Miller, J. Review of nature's perfect food: how milk became America's drink / J. Miller // *The American historical review*. – 2002. – Vol. 83, № 3. – P. 344–346.

306. Miranda, M. Mass transfer control of enzymatic hydrolysis of polysaccharides by glucoamylase / M. Miranda, M. A. Murado, A. Sanroman, J. M. Lema // *Enzyme and microbial technology*. – 1991. – Vol. 13. – P. 142–147.

307. Mohana, B. H. Characteristics of native and enzymatically hydrolyzed ragi (*Eleusine coracana*) and rice (*Oryza sativa*) starches / B. H. Mohana, A. Gopala, N. Malleshia, R. N. Tharanathan // Carbohydrate polymers. – 2005. – Vol. 59. – P. 43–50.

308. Morell, P. Yogurts with an increased protein content and physically modified starch: rheological, structural, oral digestion and sensory properties related to enhanced satiating capacity / P. Morell, I. Hernando, E. Llorca, S. Fiszman // Food research international. – 2015. – № 70. – P. 64–73.

309. Moslehishad, M. The comparative assessment of ACE-inhibitory and antioxidant activities of peptide fractions obtained from fermented camel and bovine milk by *Lactobacillus rhamnosus* PTCC 1637 / M. Moslehishad, M. R. Ehsani, M. Salami [et al.] // International dairy journal. – 2013. – Vol. 29. – P. 82–87.

310. Muganga, L. Screening for lactic acid bacteria based on antihyperglycaemic and probiotic potential and application in symbiotic set yoghurt / L. Muganga, X. Liu, F. Tian [et al.] // Journal of functional foods. – 2015. – Vol. 16. – P. 125–136.

311. Muniandy, P. Influence of green, white and black tea addition on the antioxidant activity of probiotic yogurt during refrigerated storage / P. Muniandy, A. B. Shori, A. S. Baba // Food pack shelf life. – 2016. – Vol. 8. – P. 1–8.

312. Nabeshima, E. H. Functional properties of pregelatinised and cross-linked starch obtained by extrusion with sodium trimetaphosphate / E. H. Nabeshima, M. Grossmann // Carbohydrate polymers. – 2001. – Vol. 45. – P. 347–353.

313. Nakajima, H. Cholesterol lowering activity of ropy fermented milk / H. Nakajima, Y. Suzuki, T. Hirota // Journal of food science. – 1992. – Vol. 57, № 6. – P. 1327–1329.

314. Navaf, M. Effect of different hydrothermal treatments on pasting, textural, and rheological properties of single and dual modified *Corypha umbraculifera* L. starch / M. Navaf, K. V. Sunooj, B. Aaliya [et al.] // Starch/Stärke. – 2022. – Vol. 74, № 3–4. – Art. 2100236.

315. Nehal, F. Characterization, high production and antimicrobial activity of exopolysaccharides from *Lactococcus lactis* F-mou / F. Nehal, M. Sahnoun, S. Smaoui [et al.] // Microbial pathogenesis. – 2019. – Vol. 132. – P. 10–19.

316. Ng, M. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013 / M. Ng, T. Fleming, M. Robinson [et al.] // *Lancet*. – 2014. – Vol. 384, № 9945. – P. 766–81.

317. Nguyen, P. T. Effect of different hydrocolloids on texture, rheology, tribology and sensory perception of texture and mouthfeel of low-fat pot-set yoghurt / P. T. Nguyen, O. Kravchuk, B. Bhandari, S. Prakash // *Food hydrocolloids*. – 2017. – Vol. 72. – P. 90–104.

318. Nikitina, E. 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.

319. 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, № 290. – P. 1–15.

320. 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, № 197. – P. 1–19.

321. Nyanzi, R. Invited review: probiotic yogurt quality criteria, regulatory framework, clinical evidence, and analytical aspects / R. Nyanzi, P. J. Jooste, E. M. Buys // *Journal of dairy science*. – 2021. – Vol. 104. – P. 1–19.

322. Obaroakpo, J. U. α -Glucosidase and ACE dual inhibitory protein hydrolysates and peptide fractions of sprouted quinoa yogurt beverages inoculated with *Lactobacillus casei* / J. U. Obaroakpo, L. Liu, S. Zhang [et al.] // *Food chemistry*. – 2019. – Vol. 299. – Art. 124985.

323. Obayomi, O. V. Unveiling the role of functional foods with emphasis on prebiotics and probiotics in human health: a review / O. V. Obayomi, A. F. Olaniran, S. O. Owa // *Journal of functional foods*. – 2024. – Vol. 119. – Art. 106337.

324. Ogawa, M. Short-term mastication after weaning upregulates GABAergic signaling and reduces dendritic spine in thalamus / M. Ogawa, T. Nagai, Y. Saito [et al.] // Biochemical and biophysical research communications. – 2018. – Vol. 498, № 3. – P. 621–626.

325. Ognean, C. Fat replacers – review / C. Ognean, N. Darie, M. Ognean // Journal of agroalimentary processes and technologies. – 2006. – Vol. 12, № 2. – P. 433–442.

326. Oh, H. E. Effect of potato starch addition on the acid gelation of milk / H. E. Oh, S. G. Anema, M. Wong [et al.] // International dairy journal. – 2007. – Vol. 17. – P. 808–815.

327. Oh, J. K. Prevention of cholesterol gallstone formation by *Lactobacillus acidophilus* ATCC 43121 and *Lactobacillus fermentum* MF27 in lithogenic diet-induced mice / J. K. Oh, Y. R. Kim, B. Lee [et al.] // Food science of animal resources. – 2021. – Vol. 41, № 2. – Art. 343.

328. Olson, D. W. An excessively high *Lactobacillus acidophilus* inoculation level in yogurt lowers product quality during storage / D. W. Olson, K. J. Aryana // LWT. – 2008. – Vol. 41. – P. 911–918.

329. Olufemi, A. O. Physico-chemical, functional and pasting properties of native and chemically modified water yam (*Dioscorea alata*) starch and production of water yam starch-based yogurt / A. O. Olufemi, O. S. John // Starch/Stärke. – 2016. – Vol. 68, № 7–8. – P. 719–726.

330. Omar, J. M. *Lactobacillus fermentum* and *Lactobacillus amylovorus* as probiotics alter body adiposity and gut microflora in healthy persons / J. M. Omar, Y.-M. Chan, M. L. Jones [et al.] // Journal of functional foods. – 2013. – Vol. 5. – P. 116–123.

331. Omojola, M. O. Isolation and physico-chemical characterization of cola starch / M. O. Omojola, Y. O. Akinkunmi, K. O. Olufunsho [et al.] // African journal of food, agriculture, nutrition and development. – 2010. – Vol. 10, № 7. – P. 2884–2900.

332. Ondee, T. *Lactobacillus acidophilus* LA5 improves saturated fat-induced obesity mouse model through the enhanced intestinal *Akkermansia muciniphila* / T. Ondee, K. Pongpirul, P. Visitchanakun [et al.] // Scientific reports. – 2021. – Vol. 11. – Art. 6367.

333. Ouwehand, A. C. Synbiotics: combining the benefits of pre- and probiotics / A. C. Ouwehand, K. Tiihonen, H. Mäkivuokko, N. Rautonen // Functional dairy products, vol. 2 / ed. M. Saarela. – Woodhead, 2007. – P. 195–213.

334. Palaria, A. Effect of a synbiotic yogurt on levels of fecal *Bifidobacteria*, *Clostridia*, and *Enterobacteria* / A. Palaria, I. Johnson-Kanda, D. J. O'Sullivan // Applied and environmental microbiology. – 2012. – Vol. 78. – P. 933–940.

335. Pandey, A. Advances in microbial amylases / A. Pandey, P. Nigam, C. Soccol [et al.] // Biotechnology and applied biochemistry. – 2000. – Vol. 31. – P. 135–152.

336. Pang, Z. Evaluation of tilapia skin gelatin as a mammalian gelatin replacer in acid milk gels and low-fat stirred yogurt / Z. Pang, H. Deeth, H. Yang [et al.] // Dairy science. – 2017. – Vol. 100. – P. 3436–3447.

337. Pang, Z. Physiochemical properties of modified starch under yogurt manufacturing conditions and its relation to the properties of yogurt / Z. Pang, R. Xu, T. Luo [et al.] // Journal of food engineering. – 2018. – Vol. 245. – P. 11–17.

338. Park, S. Rice bran fermented with kimchi-derived lactic acid bacteria prevents metabolic complications in mice on a high-fat and cholesterol diet / S. Park, H.-C. Chang, J.-J. Lee // Foods. – 2021. – Vol. 10. – Art. 1501.

339. Patent № 4839281 United States, IPC A61K35/747. *Lactobacillus* strains and methods of selection : № 724114 : appl. 17.04.1985 : publ. 13.06.1989 / S. L. Gorbach, B. R. Goldin.

340. Patent № 5032399 United States, IPC A23L33/135. *L. acidophilus* strains : № 341027 : appl. 20.04.1989 : publ. 16.07.1991 / S. L. Gorbach, B. R. Goldin.

341. Patent № 7183108 United States, IPC A23C9/1234. Selection and uses of lactic acid bacteria strains modulating non-specific immunity : № 856969 : appl. 18.11.1999 : publ. 27.02.2007 / C. Cayuela, N. N. Dugas, E. Postaire.

342. Paz, N. F. Characterization of goat milk and potentially symbiotic non-fat yogurt / N. F. Paz, E. G. de Oliveira, M. S. N. de Kairuz, A. N. Ramon // Food science and technology (Campinas). – 2014. – Vol. 34, № 3. – P. 629–635.

343. Peng, C. Comparative effects of the single and binary probiotics of *Lactica-seibacillus casei* Zhang and *Bifidobacterium lactis* V9 on the growth and metabolomic

profiles in yogurts / C. Peng, G. Yao, Y. Sun [et al.] // Food research international. – 2022. – Vol. 152. – Art. 110603.

344. Perez, A. A. Interactions between milk whey protein and polysaccharide in solution / A. A. Perez, C. R. Carrara, C. C. Sánchez [et al.] // Food chemistry. – 2009. – Vol. 116. – P. 104–113.

345. Pessione, E. Bioactive molecules released in food by lactic acid bacteria: encrypted peptides and biogenic amines / E. Pessione, S. Cirrincione // Frontiers in microbiology. – 2016. – Vol. 7. – Art. 876.

346. Phytochemicals in food and health: perspectives for research and technological development / eds. D. K. Verma, M. Thakur. – Boca Raton : CRC Press, 2021. – 318 p. – ISBN 978-1-771-88936-0.

347. Pongjanta, J. Debranching enzyme concentration effected on physicochemical properties and α -amylase hydrolysis rate of resistant starch type III from amylose rice starch / J. Pongjanta, A. Utaipattanaceep, O. Naivikul, K. Piyachomkwan // Carbohydrate polymers. – 2009. – Vol. 78, № 1. – P. 5–9.

348. Popovic, N. Yogurt produced by novel natural starter cultures improves gut epithelial barrier *in vitro* / N. Popovic, E. Brdaric, J. Đokic [et al.] // Microorganisms. – 2020. – Vol. 8. – Art. 1586.

349. Power, O. Antioxidative peptides: enzymatic production, *in vitro* and *in vivo* antioxidant activity and potential applications of milk-derived antioxidative peptides / O. Power, P. Jakeman, R. J. FitzGerald // Amino acids. – 2013. – Vol. 44. – P. 797–820.

350. Prochaska, K. Surface activity of commercial food grade modified starches / K. Prochaska, P. Kędziora, J. Le Thanh, G. Lewandowicz // Colloids and surfaces B: Biointerfaces. – 2007. – Vol. 60. – P. 187–194.

351. Protte, K. Establishing the biopolymer ratio of whey protein–pectin complexes before and after thermal stabilisation / K. Protte, F. Balinger, J. Weiss [et al.] // Food hydrocolloids. – 2019. – Vol. 89. – P. 554–562.

352. Punia Bangar, S. Enzymatic modification of starch: a green approach for starch applications / S. Punia Bangar, A. O. Ashogbon, A. Singh [et al.] // Carbohydrate polymers. – 2022. – Vol. 287. – Art. 119265.

353. Quirós, A. Identification of novel antihypertensive peptides in milk fermented with *Enterococcus faecalis* / A. Quirós, M. Ramos, B. Muguerza [et al.] // International dairy journal. – 2007. – Vol. 17. – P. 33–41.

354. Rahbar Saadat, Y. A comprehensive review of anticancer, immunomodulatory and health beneficial effects of the lactic acid bacteria exopolysaccharides / Y. Rahbar Saadat, A. Yari Khosroushahi, B. Pourghassem Gargari // Carbohydrate polymers. – 2019. – Vol. 217. – P. 79–89.

355. Ramakrishna, R. Functional bioactives from barley for human health benefits / R. Ramakrishna, D. Sarkar, K. Shetty // Functional foods and biotechnology / ed. K. Shetty, D. Sarkar. – Boca Raton : CRC Press, 2019. – P. 61–85.

356. Rezaei, M. Producing and analyzing gamma-aminobutyric acid containing probiotic black grape juice using *Lactobacillus plantarum* plantarum IBRC(10817) and *Lactobacillus brevis* IBRC (10818) / M. Rezaei, Y. Ghasemi, A. Sharifan, H. Bakhoda // Measurement: Food. – 2022. – Vol. 8. – Art. 100056.

357. Rezazadeh, L. Daily consumption effects of probiotic yogurt containing *Lactobacillus acidophilus* La5 and *Bifidobacterium lactis* Bb12 on oxidative stress in metabolic syndrome patients / L. Rezazadeh, B. Alipour, M. A. Jafarabadi [et al.] // Clinical nutrition ESPEN. – 2021. – Vol. 41. – P. 136–142.

358. Romero-Chapol, O. Encapsulation of *Lactocaseibacillus rhamnosus* GG: probiotic survival, *in vitro* digestion and viability in apple juice and yogurt / O. Romero-Chapol, A. Varela-Pérez, A. G. Castillo-Olmos [et al.] // Applied sciences. – 2022. – Vol. 12, № 4. – Art. 2141.

359. Rong, J. Probiotic and anti-inflammatory attributes of an isolate *Lactobacillus helveticus* NS8 from Mongolian fermented koumiss / J. Rong, H. Zheng, M. Liu [et al.] // BMC microbiology. – 2015. – Vol. 15. – Art. 196.

360. Rosa, D. D. Milk kefir: nutritional, microbiological and health benefits / D. D. Rosa, M. Dias, Ł. M. Grześkowiak [et al.] // Nutrition research reviews. – 2017. – Vol. 30, № 1. – P. 82–96.

361. Ruiz, M. J. Antimicrobial activity of *Lactiplantibacillus plantarum* against shiga toxin-producing *Escherichia coli* / M. J. Ruiz, M. D. Garcia, L. M. M. Canalejo [et al.] // Journal of applied microbiology. – 2023. – Vol. 134, № 9. – Art. 202.

362. Rukundin, H. I. A modified method for determining free fatty acids from small soybean oil sample sizes / H. I. Rukundin, P. J. White, C. J. Bern, T. B. Bailey // Journal of the American oil chemists' society. – 1998. – № 75. – P. 563–568.

363. Rutenberg, M. M. Starch derivatives: production and uses / M. M. Rutenberg, D. Solarek // Starch chemistry and technology / ed. R. L. Whistler. – 2nd ed. – New York : Academic Press, 1984. – P. 311–388.

364. Saadi, A. M. Effect of some types of stabilizers on the quality of yogurt during storage / A. M. Saadi, N. B. Jafar, M. A. Jassim // Journal of hygienic engineering and design. – 2023. – Vol. 38. – P. 125–130.

365. Saeed, F. Enhanced viability of microencapsulated lyophilized probiotics under *in vitro* simulated gastrointestinal conditions / F. Saeed, M. Afzaal, A. Ahmad [et al.] // Journal of food processing and preservation. – 2022. – Vol. 52, № 4. – P. 359–365.

366. Sah, B. Physicochemical, textural and rheological properties of probiotic yogurt fortified with fibre-rich pineapple peel powder during refrigerated storage / B. Sah, T. Vasiljevic, S. McKechnie, O. Donkor // Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie. – 2016. – Vol. 65. – P. 978–986.

367. Sahan, N. Physical chemical and flavour quality of non-fat yogurt as affected by a β -glucan hydrocolloidal composite during storage / N. Sahan, K. Yasar, A. A. Hayaloglu // Journal of food hydrocolloids. – 2008. – Vol. 22, № 7. – P. 1291–1297.

368. Sallam, K. I. Antioxidants and antimicrobial effects of garlic in chicken sausage / K. I. Sallam, M. Ishioroshi, K. Samejima // Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie. – 2004. – Vol. 37, № 8. – P. 849–855.

369. Sanap, D. S. Probiotics, their health benefits and applications for development of human health: a review / D. S. Sanap, M. A. Garje, G. R. Godge // Journal of drug delivery and therapeutics. – 2019. – Vol. 9, № 4. – P. 631–640.

370. Sanchez, J. I. Culture conditions determine the balance between two different exopolysaccharides produced by *Lactobacillus pentosus* LPS26 / J. I. Sanchez, B. Mar-

tínez, R. Guillen [et al.] // Applied and environmental microbiology. – 2006. – Vol. 72, № 12. – P. 7495–7502.

371. Sanders, M. E. Invited review: the scientific basis of *Lactobacillus acidophilus* NCFM functionality as a probiotic / M. E. Sanders, T. R. Klaenhammer // Journal of dairy science. – 2001. – Vol. 84. – P. 319–331.

372. Sandoval-Castilla, O. Microstructure and texture of yogurt as influenced by fat replacers / O. Sandoval-Castilla, C. Lobato-Calleros, E. Aguirre-Mandujano, E. J. Vernon-Carter // International dairy journal. – 2004. – Vol. 14. – P. 151–159.

373. Sandrou, D. K. Low-fat/calorie foods: current state and perspectives / D. K. Sandrou, I. S. Arvanitoyannis // Critical reviews in food science and nutrition. – 2003. – Vol. 40. – P. 427–447.

374. Santos, D. I. Methods for determining bioavailability and bioaccessibility of bioactive compounds and nutrients / D. I. Santos, J. Saraiva, A. A. Vicente, M. Moldao-Martins // Innovative thermal and non-thermal processing / eds. F. J. Barba [et al.]. – Amsterdam : Woodhead, 2019. – P. 23–54.

375. Saxelin, M. Persistence of probiotic strains in the gastrointestinal tract when administered as capsules, yoghurt, or cheese / M. Saxelin, A. Lassig, H. Karjalainen [et al.] // International journal of food microbiology. – 2010. – Vol. 144, № 2. – P. 293–300.

376. Schillinger, U. Use of group-specific and RAPD-PCR analyses for rapid differentiation of *Lactobacillus* strains from probiotic yogurts / U. Schillinger, N. Yousif, L. Sesar, C. Franz // Current microbiology. – 2003. – Vol. 47. – P. 453–456.

377. Schmedes, A. A new thiobarbituric acid (TBA) method for determining free malondialdehyde (MDA) and hydroperoxides selectively as a measure of lipid peroxidation / A. Schmedes, G. Homer // Journal of American oil chemists' society. – 1989. – Vol. 66. – P. 813–817.

378. Shan, Y. Evaluation of improved γ -aminobutyric acid production in yogurt using *Lactobacillus plantarum* NDC75017 / Y. Shan, C. X. Man, X. Han [et al.] // Journal of dairy science. – 2015. – Vol. 98, № 4. – P. 2138–2149.

379. Shehata, M. G. Plant extracts in probiotic encapsulation: evaluation of their effects on strain survivability in juice and drinkable yoghurt during storage and an *in vitro* gastrointestinal model / M. G. Shehata, H. S. Abd-Rabou, S. A. El-Sohaimy // Journal of pure and applied microbiology. – 2019. – Vol. 13. – P. 609–617.

380. Shetty, K. Introduction: Metabolic-driven ecological rationale to advance biotechnological approaches for functional foods / K. Shetty, D. Sarkar // Functional foods and biotechnology: biotransformation and analysis of functional foods and ingredients / eds. K. Shetty, D. Sarkar. – Boca Raton : CRC Press, 2020. – P. 454.

381. Shibi, V. Fermented milk and dairy products as a functional food product / V. Shibi, H. N. Mishra // Critical reviews in science and nutrition. – 2013. – Vol. 53, № 5. – P. 482–496.

382. Shirkan, F. Effect of pectin on anti-diabetic and anti-oxidant properties of fermented milk by lactic acid bacteria isolated from traditional Iranian dairy products / F. Shirkan, S. Mirdamadi, M. M. Mirzaei [et al.] // Journal of food science and technology. – 2023. – Vol. 19, № 123. – P. 55–67.

383. Singh, J. Factors influencing the physico-chemical, morphological, thermal and rheological properties of some chemically modified starches for food applications – a review / J. Singh, L. Kaur, O. J. McCarthy // Food hydrocolloids. – 2007. – Vol. 21, № 1. – P. 1–22.

384. Singh, J. Studies on the morphological, thermal and rheological properties of starch from some Indian potato cultivars / J. Singh, N. Singh // Food chemistry. – 2001. – Vol. 75. – P. 67–77.

385. Singh, M. Effect of purified oat β -glucan on fermentation of set-style yogurt mix / M. Singh, S. Kim, S. X. Liu // Journal of food science. – 2012. – Vol. 77. – P. 195–201.

386. Singh, N. Morphological, thermal, rheological and retrogradation properties of starch fractions varying in granule size / N. Singh, L. Kaur // Journal of the science of food and agriculture. – 2004. – Vol. 84. – P. 1241–1252.

387. Siriwardhana, N. Modulation of adipose tissue inflammation by bioactive food compounds / N. Siriwardhana, N. S. Kalupahana, M. Cekanova [et al.] // Journal of nutritional biochemistry. – 2013. – Vol. 24, № 4. – P. 613–623.

388. Siró, I. Functional food. Product development, marketing and consumer acceptance – a review / I. Siró, E. Kápolna, B. Kápolna, A. Lugasi // Appetite. – 2008. – Vol. 51, № 3. – P. 456–467.

389. Smid, E. J. Functional implications of the microbial community structure of undefined mesophilic starter cultures / E. J. Smid, O. Erkus, M. Spus [et al.] // Microbial cell factories. – 2014. – Vol. 13. – P. 1–9.

390. Solanki, D. Characterization of angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides produced in fermented camel milk (Indian breed) by *Lactobacillus acidophilus* NCDC-15 / D. Solanki, A. Sakure, S. Prakash, S. Hati // Journal of food science and technology. – 2022. – Vol. 59, № 9. – P. 3567–3577.

391. Sonestedt, E. Dairy products and its association with incidence of cardiovascular disease: the Malmö diet and cancer cohort / E. Sonestedt, E. Wirfält, P. Wallström [et al.] // European journal of epidemiology. – 2011. – Vol. 26. – P. 609–618.

392. Song, L. γ -Aminobutyric acid inhibits the proliferation and increases oxaliplatin sensitivity in human colon cancer cells / L. Song, A. Du, Y. Xiong [et al.] // Tumor biology. – 2016. – Vol. 37. – P. 14885–14894.

393. Song, Y. Characterization of barley starches of waxy, normal, and high amylose varieties / Y. Song, J. Jane // Carbohydrate polymers. – 2000. – Vol. 41. – P. 365–377.

394. Soni, R. Development of probiotic yogurt: effect of strain combination on nutritional, rheological, organoleptic and probiotic properties / R. Soni, N. K. Jain, V. Shah [et al.] // Journal of food science and technology. – 2020. – Vol. 57. – P. 2038–2050.

395. Soomro, A. H. Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from traditional yoghurt (Dahi) in Sindh Pakistan / A. H. Soomro, S. Subhopoto, S. A. Sheikh [et al.] // Pakistan journal of scientific and industrial research. Series B: Biological sciences. – 2022. – Vol. 65. – P. 67–76.

396. Stanton, C. Fermented functional foods based on probiotics and their biogenic metabolites / C. Stanton, R. P. Ross, G. F. Fitzgerald, D. van Sinderen // Current opinion in biotechnology. – 2005. – Vol. 16. – P. 198–203.
397. Starch: chemistry and technology / eds. J. N. BeMiller, R. L. Whistler. – 3rd edition. – New York : Academic Press, 2009. – 894 p. – ISBN 978-0-12-746275-2.
398. Sungatullina, A. Effect of flaxseed mucilage on the probiotic, antioxidant, and structural-mechanical properties of the different *Lactobacillus* cells / A. Sungatullina, T. Petrova, M. Kharina [et al.] // Fermentation. – 2023. – Vol. 9, № 5. – Art. 486.
399. Svegmark, K. Comparison of potato amylopectin starches and potato starches-influence of year and variety / K. Svegmark, K. Helmersson, G. Nilsson [et al.] // Carbohydrate polymers. – 2002. – Vol. 47. – P. 331–340.
400. Swinkels, J. J. M. Composition and properties of commercial native starches / J. J. M. Swinkels // Stärke. – 1985. – Vol. 37. – P. 1–5.
401. Szajewska, H. Health benefits of *Lactobacillus rhamnosus* GG and *Bifidobacterium animalis* subspecies *lactis* BB-12 in children / H. Szajewska, I. Hojsak // Postgraduate medicine. – 2020. – Vol. 132. – P. 441–451.
402. Tabasco, R. *Lactobacillus acidophilus* La-5 increases Lactacin B production when it senses live target bacteria / R. Tabasco, T. García-Cayuela, C. Peláez, T. Requena // International journal of food microbiology. – 2009. – Vol. 132. – P. 109–116.
403. Taj, R. *In vitro* screening of EPS-producing *Streptococcus thermophilus* strains for their probiotic potential from Dahi / R. Taj, T. Masud, A. Sohail [et al.] // Food science and nutrition. – 2022. – Vol. 10. – P. 2347–2359.
404. Tamime, A. Y. Structure of fermented milks / A. Y. Tamime, A. Hassan, E. Earnworth, T. Toba // Structure of dairy products / ed. A. Y. Tamime. – Oxford : Blackwell, 2007. – P. 134–169.
405. Tan-Lim, C. S. C. Comparative effectiveness of probiotic strains for the treatment of pediatric atopic dermatitis: a systematic review and network meta-analysis / C. S. C. Tan-Lim, N. A. R. Esteban-Ipac, J. B. V. Mantaring [et al.] // Pediatric allergy and immunology. – 2021. – Vol. 32. – P. 124–136.

406. Tao, Y. Rapid screening and identification of α -glucosidase inhibitors from mulberry leaves using enzyme-immobilized magnetic beads coupled with HPLC/MS and NMR / Y. Tao, Y. Zhang, Y. Cheng, Y. Wang // Biomedical chromatography. – 2013. – Vol. 27, № 2. – P. 148–155.

407. Tester, R. F. Swelling and gelatinization of cereal starches / R. F. Tester, W. R. Morrison // Cereal chemistry. – 1990. – Vol. 67. – P. 558–563.

408. The top 10 causes of death / WHO. – URL: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/the-top-10-causes-of-death> (дата обращения: 17.12.2024).

409. Tian, L. Probiotic characteristics of *Lactiplantibacillus plantarum* N-1 and its cholesterol-lowering effect in hypercholesterolemic rats / L. Tian, R. Liu, Z. Zhou [et al.] // Probiotics and antimicrobial proteins. – 2022. – Vol. 14, № 2. – P. 337–348.

410. Tillisch, K. Consumption of fermented milk product with probiotic modulates brain activity / K. Tillisch, J. Labus, L. Kilpatrick [et al.] // Gastroenterology. – 2013. – Vol. 144. – P. 1394–1401.

411. Tomaro-Duchesneau, C. Cholesterol assimilation by *Lactobacillus* probiotic bacteria: an *in vitro* investigation / C. Tomaro-Duchesneau, M. L. Jones, D. Shah [et al.] // BioMed research international. – 2014. – Vol. 2014. – Art. 380316.

412. Tonucci, L. B. Clinical application of probiotics in type 2 diabetes mellitus: a randomized, double-blind, placebo-controlled study / L. B. Tonucci, K. M. Olbrich dos Santos, L. Licursi de Oliveira [et al.] // Clinical nutrition. – 2017. – Vol. 36. – P. 85–92.

413. Trinh, T. On the texture profile analysis test / T. Trinh, K. Tuoc, S. Glasgow // Chemeca. – Wellington, 2012. – P. 1–12.

414. 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.

415. Tuinier, R. Depletion-induced phase separation of aggregated whey protein colloids by an exocellular polysaccharide / R. Tuinier, J. K. G. Dhont, C. G. De Kruif // Langmuir. – 2000. – Vol. 16. – P. 1497–1507.

416. 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.

417. Vamadevan, V. Observations on the impact of amylopectin and amylose structure on the swelling of starch granules / V. Vamadevan, E. Bertoft // Food hydrocolloids. – 2020. – Vol. 103. – Art. 105663.

418. Vivek, K. A comprehensive review on microencapsulation of probiotics: technology, carriers and current trends / K. Vivek, S. Mishra, R. C. Pradhan [et al.] // Applied food research. – 2023. – Vol. 3, № 1. – Art. 100248.

419. Walsh, A. M. Microbial succession and flavor production in the fermented dairy beverage kefir / A. M. Walsh, F. Crispie, K. Kilcawley [et al.] // mSystems. – 2016. – Vol. 1, № 5. – Art. e00052-16.

420. Walther, B. Menaquinones, bacteria, and the food supply: the relevance of dairy and fermented food products to vitamin K requirements. / B. Walther, J. P. Karl, S. L. Booth, P. Boyaval // Advances in nutrition. – 2013. – Vol. 4, № 4. – P. 463–473.

421. Wang, D. Effect of modification by maltogenic amylase and branching enzyme on the structural and physicochemical properties of sweet potato starch / D. Wang, T. Mi, W. Gao [et al.] // International journal of biological macromolecules. – 2023. – Vol. 239. – Art. 124234.

422. Wang, D. Enhanced production of γ -aminobutyric acid in litchi juice fermented by *Lactobacillus plantarum* HU-C2W / D. Wang, Y. Wang, H. Lan [et al.] // Food bioscience. – 2021. – Vol. 42. – Art. 101155.

423. Wang, G. Characteristics of probiotic preparations and their applications / G. Wang, Y. Chen, Y. Xia [et al.] // Foods. – 2022. – Vol. 11. – Art. 2472.

424. Wang, G. Cholesterol-lowering potentials of *Lactobacillus* strain overexpression of bile salt hydrolase on high cholesterol diet-induced hypercholesterolemic mice / G. Wang, W. Huang, Y. Xia [et al.] // Food and function. – 2019. – Vol. 10, № 3. – P. 1684–1695.

425. Wang, J. Polysaccharide-based colloids as fat replacers in reduced-fat foods / J. Wang, M. Shang, X. Li [et al.] // Trends in food science and technology. – 2023. – Vol. 141. – Art. 104195.

426. Wang, K.-Y. Effects of ingesting *Lactobacillus*- and *Bifidobacterium*-containing yogurt in subjects with colonized *Helicobacter pylori* / K.-Y. Wang, S.-N. Li, C.-S. Liu [et al.] // American journal of clinical nutrition. – 2004. – Vol. 80. – P. 737–741.

427. Wang, X. Gelation mechanisms of granular and non-granular starches with variations in molecular structures / X. Wang, S. Liu, Y. Ai // Food hydrocolloids. – 2022. – Vol. 129. – Art. 107658.

428. Warmiska-Radyko, I. Evaluation of antibacterial and fungistatic activity of yogurts with addition of *Propionibacterium jensenii* and *Propionibacterium acidipropionici* strains / I. Warmiska-Radyko, L. Laniewska-Trokenheim, M. Modzelewska // Communications in agricultural and applied biological sciences. – 2003. – Vol. 68. – P. 511–514.

429. Wattanachant, S. Suitability of sago starch as a base for dual modification / S. Wattanachant, K. Muhammad, D. M. Hashim, R. A. Rahman // Food chemistry. – 2003. – Vol. 80. – P. 463–471.

430. Wong, C. GABA, gammahydroxybutyric acid, and neurological disease / C. Wong, T. Bottiglieri, O. C. Snead // Annals of neurology. – 2003. – Vol. 6. – P. 3–12.

431. Wong, C. W. Enzymatic production of linear long-chain dextrin from sago (*Metroxylon sagu*) starch / C. W. Wong, S. K. S. Muhammad, M. H. Dzulkifly [et al.] // Food chemistry. – 2007. – Vol. 100, № 2. – P. 774–780.

432. Wong, W.-Y. Beneficial and immunomodulatory effects of heat-killed *Lactobacillus plantarum* L137 in normal and acute colitis mice / W.-Y. Wong, B. Dow Chan, P.-T. Cho [et al.] // Journal of functional foods. – 2024. – Vol. 116. – 106167.

433. Wu, J. The anti-cancer effects and mechanisms of lactic acid bacteria exopolysaccharides *in vitro*: a review / J. Wu, Y. Zhang, L. Ye, C. Wang // Carbohydrate polymers. – 2021. – Vol. 253. – Art. 117308.

434. Wu, N. Effects of ultra-high pressure treatment on angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitory activity, antioxidant activity, and physicochemical properties of

milk fermented with *Lactobacillus delbrueckii* QS306 / N. Wu, Y. Zhao, Y. Wang, Q. Shuang // Journal of dairy science. – 2021. – Vol. 105. – P. 1837–1847.

435. Wu, Q. High γ -aminobutyric acid production from lactic acid bacteria: emphasis on *Lactobacillus brevis* as a functional dairy starter / Q. Wu, N. P. Shah // Critical reviews in food science and nutrition. – 2017. – Vol. 57, № 17. – P. 3661–3672.

436. Wu, S. Degradation of potato starch and the antioxidant activity of the hydrolysates / S. Wu, M. Lu, Y. Fang [et al.] // Journal of food processing and preservation. – 2017. – Vol. 41. – Art. e13068.

437. Xiankang, F. Characterization of a novel flavored yogurt enriched in γ -aminobutyric acid fermented by *Levilactobacillus brevis* CGMCC1.5954 / F. Xiankang, L. Yu, Z. Shi [et al.] // Journal of dairy science. – 2022. – Vol. 106, № 2. – P. 852–867.

438. Xin, Y. Immunomodulatory potential of *Lactobacillus helveticus* KLDS 1.8701 postbiotics: by regulating the Th17/Treg balance / Y. Xin, C. Hu, Y. Li [et al.] // Food bioscience. – 2024. – Vol. 61. – Art. 104842.

439. Yadav, B. S. Study of effect of natural fermentation on the resistant starch content of legume-based fermented foods / B. S. Yadav, A. Shara, R. B. Yadav // Agricultural technology. – 2007. – Vol. 3, № 1. – P. 21–27.

440. Yahya, M. A. Antihypertensive effect of fermented skim camel (*Camelus dromedarius*) milk on spontaneously hypertensive rats / M. A. Yahya, O. A. Alhaj, A. S. Al-Khalifah // Nutricion hospitalaria. – 2017. – Vol. 34. – P. 416–421.

441. Yamamura, S. The effect of *Lactobacillus helveticus* fermented milk on sleep and health perception in elderly subjects / S. Yamamura, H. Morishima, T. Kumano-go [et al.] // European journal of clinical nutrition. – 2009. – Vol. 63. – P. 100–105.

442. Yang, L. Prebiotic properties of *Ganoderma lucidum* polysaccharides with special enrichment of *Bacteroides ovatus* and *B. uniformis* in vitro / L. Yang, X. Kang, W. Dong [et al.] // Journal of functional foods. – 2022. – Vol. 92. – Art. 105069.

443. Yang, Y. Complete genome sequence of *Lactobacillus helveticus* CAUH18, a potential probiotic strain originated from koumiss / Y. Yang, H. An, Z. Zhai [et al.] // Journal of biotechnology. – 2016. – Vol. 224. – P. 18–19.

444. Yang, Z. Effect of porous waxy rice starch addition on acid milk gels: structural and physicochemical functionality / Z. Yang, X. Xu, Y. Hemar [et al.] // Food hydrocolloids. – 2020. – Vol. 109. – Art. 106092.
445. Yi, L. Buffalo yogurt fermented with commercial starter and *Lactobacillus plantarum* originating from breast milk lowered blood pressure in pregnant hypertensive rats. / L. Yi, J. T. Min, C. L. Jun [et al.] // Journal of dairy science. – 2024. – Vol. 107, № 1. – P. 62–73.
446. Yi, L. Purification and characterization of a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus crustorum* MN047 isolated from koumiss from Xinjiang, China / L. Yi, Y. Dang, J. Wu [et al.] // Journal of dairy science. – 2016. – Vol. 99. – P. 7002–7015.
447. Yogurt – worldwide / Statista. – URL: <https://www.statista.com/outlook/cmo/food/dairy-products-eggs/yogurt/worldwide> (дата обращения: 04.06.2024).
448. You, S. Comparison of the physicochemical properties of barley starches after partial α -amylolysis and acid/alcohol hydrolysis / S. You, M. S. Izydorczyk // Carbohydrate polymers. – 2007. – Vol. 69. – P. 489–502.
449. Yuryev, V. P. Changes in structural and thermodynamic properties of low and high amylase starches during biosynthesis / V. P. Yuryev, L.A. Wasserman // Science publisher. – 2003. – Vol. 7. – P. 91–113.
450. Zhang, H. Characterization of a yogurt-quality improving exopolysaccharide from *Streptococcus thermophilus* / H. Zhang, W. Ren, Q. B. Guo [et al.] // Food hydrocolloids. – 2018. – Vol. 81. – P. 220–228.
451. Zhang, H. Effect of sodium alginate on the yogurt stability was dependent on the thickening effect and interaction between casein micelles and sodium alginate / H. Zhang, X. Bian, S. Luo [et al.] // International journal of biological macromolecules. – 2023. – Vol. 235. – Art. 123887.
452. Zheng, J. A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: description of 23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of *Lactobacillaceae* and *Leuconostocaceae* / J. Zheng, S. Wittouck, E. Salvetti [et al.] // International journal of systematic and evolutionary microbiology. – 2020. – Vol. 70, № 4. – P. 2782–2858.

453. Zhong, Y. High-amylose starch: structure, functionality and applications / Y. Zhong, L. Tai, A. Blennow [et al.] // Critical reviews in food science and nutrition. – 2023. – Vol. 63, № 27. – P. 8568–8590.

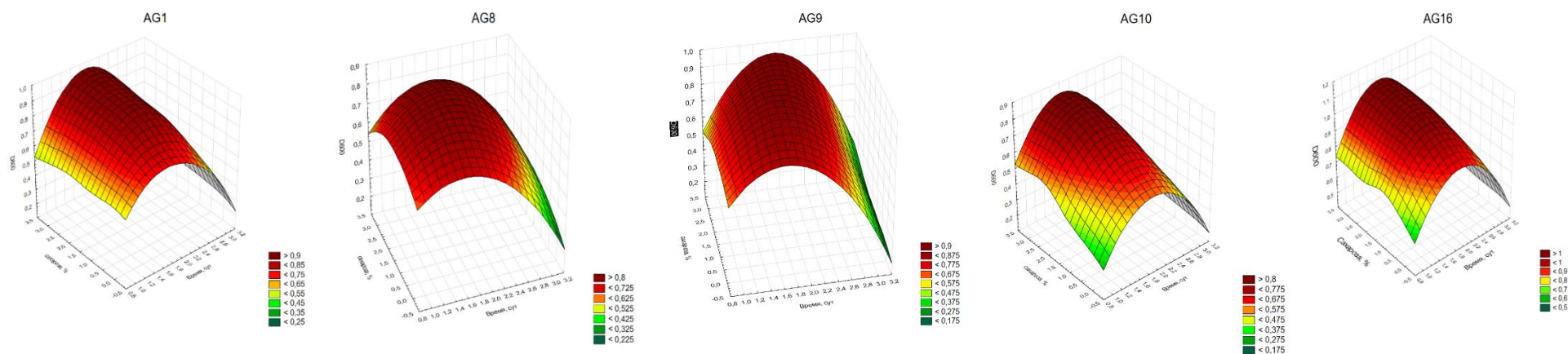
454. Zhou, L.-Y. *Bifidobacterium infantis* regulates the programmed cell death 1 pathway and immune response in mice with inflammatory bowel disease / L.-Y. Zhou, Y. Xie, Y. Li // World journal of gastroenterology. – 2022. – Vol. 28, № 26. – Art. 3164.

455. Zhou, M. Structure and pasting properties of oat starch / M. Zhou, K. Robards, M. Glennie-Holmes, S. Helliwell // Cereal chemistry. – 1998. – Vol. 75. – P. 273–281.

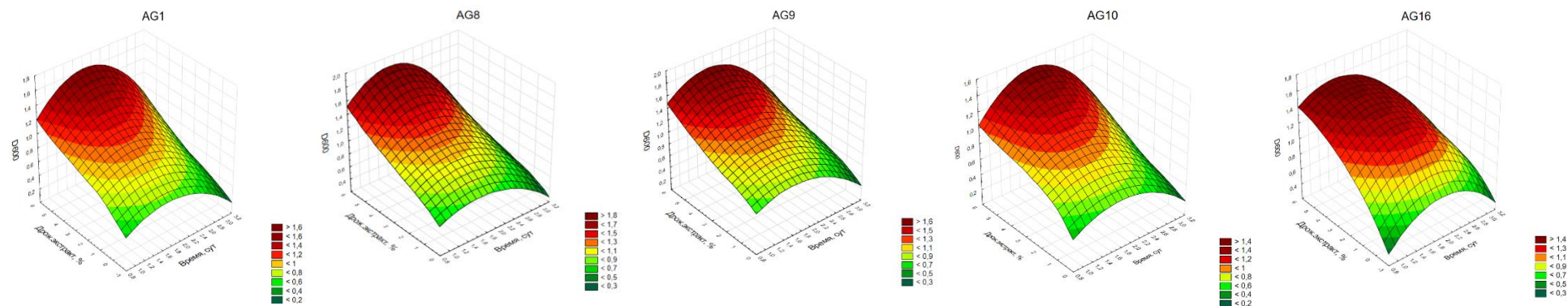
456. Zhou, T. Effects of applying *Lactobacillus helveticus* H9 as adjunct starter culture in yogurt fermentation and storage / T. Zhou, R. Huo, L.-Y. Kwok [et al.] // Journal of dairy science. – 2019. – Vol. 102. – P. 223–235.

Приложение А (справочное)

Изменение количества молочной кислоты во времени при варьировании количества сахарозы и дрожжевого экстракта



Изменение количества молочной кислоты во времени при варьировании количества сахарозы



Изменение количества молочной кислоты во времени при варьировании количества дрожжевого экстракта

Приложение Б

(справочное)

Акты выработки

УТВЕРЖДАЮ

Индивидуальный предприниматель
Шишканова Альбина Рафиковна

«5» 03



АКТ

выработки опытной партии продукта обезжиренного кисломолочного
«БиоферЙогурт» с включением пробиотического штамма *Limosilactobacillus fermentum*
AG8 в промышленных условиях на территории молочного цеха

Настоящий акт составлен в том, что 10 марта 2023 г. На технологической линии молочного цеха ИП Шишкановой А.Р. была выработана партия продукта «БиоферЙогурт» обезжиренный с пробиотическим штаммом *Limosilactobacillus fermentum* AG8, соответствующего ГОСТу 32923-2014. Выработка проводилась по классической технологии термостатного способа производства.

Для производства продукта «БиоферЙогурт» обезжиренного с включением *Limosilactobacillus fermentum* AG8. Использовали молоко коровье по ГОСТ Р 52054, которое в процессе технологической обработки сепарировали с получением обезжиренного молока. Обезжиренное молоко после пастеризации непосредственно использовали для производства обезжиренного продукта «БиоферЙогурт». Использовали закваски бактериальные и бакконцентраты для продукта «Йогурт» по нормативным и техническим документам, утвержденным в установленном порядке. Кроме того, дополнительно вносили закваску *Limosilactobacillus fermentum* AG8 в виде заквасочной ночной культуры, выращенной на обезжиренном стерильном молоке.

Дегустационная оценка новых обезжиренных продуктов «БиоферЙогурт» с включением *Limosilactobacillus fermentum* AG8 осуществлялась по следующим показателям: внешний вид, запах, консистенция, вкус. Дегустационный анализ показал, что разработанные продукт «БиоферЙогурт» обезжиренный с включением имел высокие оценки по органолептическим показателям.

Комиссия одобрила работу по применению *Limosilactobacillus fermentum* AG8 в технологии продуктов «Йогурт» обезжиренных термостатных с полезными свойствами, в частности для профилактики повышения холестерина в крови. Это технология рекомендована к внедрению на территории молочного цеха.

Представители ИП Шишканова А.Р.
Руководитель группы качества

Шишканова А.Р.

Технолог

Бусыгина С.Р.

Представители ФГБОУ ВО «КНИТУ»
к.б.н., доцент кафедры ТММП

Е.В. Никитина

д.б.н., профессор кафедры ТММП

Г.О. Ежкова

к.б.н., доцент кафедры ТММП

Э.Ш. Юнусов

аспирант кафедры ТММП

Т.А. Петрова

УТВЕРЖДАЮ

Индивидуальный предприниматель

Шишканова Альбина Рафиковна

Рафиковна

«15» 03



АКТ

выработки опытной партии продукта обезжиренного кисломолочного
«ПробиоЙогурт» с включением пробиотического штамма *Lactiplantibacillus plantarum* AG9
в промышленных условиях на территории молочного цеха

Настоящий акт составлен в том, что 10 марта 2023 г. На технологической линии молочного цеха ИП Шишкановой А.Р. была выработана партия продукта «ПробиоЙогурт» обезжиренный с пробиотическим штаммом *Lactiplantibacillus plantarum* AG9, соответствующего ГОСТу 32923-2014. Выработка проводилась по классической технологии термостатного способа производства.

Для производства продукта «ПробиоЙогурт» обезжиренного с включением *Lactiplantibacillus plantarum* AG9. Использовали молоко коровье по ГОСТ Р 52054, которое в процессе технологической обработки сепарировали с получением обезжиренного молока. Обезжиренное молоко после пастеризации непосредственно использовали для производства обезжиренного продукта «ПробиоЙогурт». Использовали закваски бактериальные и бакконцентраты для продукта «Йогурт» по нормативным и техническим документам, утвержденным в установленном порядке. Кроме того дополнительно вносили закваску *Lactiplantibacillus plantarum* AG9 в виде заквасочной ночной культуры, выращенной на обезжиренном стерильном молоке.

Дегустационная оценка новых обезжиренных продуктов «ПробиоЙогурт» с включением *Lactiplantibacillus plantarum* AG9 осуществлялась по следующим показателям: внешний вид, запах, консистенция, вкус. Дегустационный анализ показал, что разработанный продукт «ПробиоЙогурт» обезжиренный с включением имел высокие оценки по органолептическим показателям.

Комиссия одобрила работу по применению *Lactiplantibacillus plantarum* AG9 в технологии продуктов «Йогурт» обезжиренных термостатных с дополнительными свойствами по профилактики повышения уровня холестерина в крови. Это технология рекомендована к внедрению в молочном цехе ИП Шишкановой А.Р.

Представители ИП Шишканова А.Р.
Руководитель группы качества

Шишканова А.Р.

Технолог

Бусыгина С.Р.

Представители ФГБОУ ВО «КНИТУ»
к.б.н., доцент кафедры ТММП

Е.В. Никитина

д.б.н., профессор кафедры ТММП

Г.О. Ежкова

к.б.н., доцент кафедры ТММП

Э.Ш. Юнусов

аспирант кафедры ТММП

Т.А. Петрова

УТВЕРЖДАЮ

Индивидуальный предприниматель
Шишканова Альбина Рафиковна

« 4 » 04 2023



АКТ

выработки опытной партии продукта обезжиренного кисломолочного «Йогурт»
в промышленных условиях на территории молочного цеха

Настоящий акт составлен в том, что 30 марта 2023 г. На технологической линии молочного цеха ИП Шишкановой А.Р. была выработана партия продукта «Йогурт» обезжиренный с компонентами, соответствующего ГОСТу 32923-2014. Выработка проводилась по классической технологии термостатного способа производства.

Для производства продукта «Йогурт» обезжиренного с включением крахмального полисахарида использовали молоко коровье по ГОСТ Р 52054, которое в процессе технологической обработки сепарировали с получением обезжиренного молока. Обезжиренное молоко после внесения крахмала и пастеризации непосредственно использовали для производства обезжиренного продукта «Йогурт». В качестве крахмального полисахарида использовали нативный крахмала тапиоки, который был модифицирован промышленным ферментным препаратом Альфалад БН®, название крахмала ВТ-0,25. Ферментно модифицированный крахмал соответствовал ГОСТу 32902-2014. Тапиоковый ферментно модифицированный крахмал ВТ-0,25 получен на кафедре «Технология мясных и молочных продуктов» Казанского национального исследовательского технологического университета (ФГБОУ ВО «КНИТУ»). Использовали закваски бактериальные и бакконцентраты для продукта «Йогурт» по нормативным и техническим документам, утвержденным в установленном порядке.

Дегустационная оценка новых обезжиренных продуктов «Йогурт» с включением крахмального полисахарида осуществлялась по следующим показателям: внешний вид, запах, консистенция, вкус. Дегустационный анализ показал, что разработанные продукты «Йогурт» обезжиренные с включением крахмального полисахарида имели высокие оценки по органолептическим показателям.

Комиссия одобрила работу по применению тапиоковых ферментно модифицированных крахмалов в технологии продуктов «Йогурт» обезжиренных термостатных. Это технология рекомендована к внедрению у ИП Шишкановой А.Р. на территории молочного цеха.

Представители ИП Шишканова А.Р.
Руководитель группы качества

Шишканова А.Р.

Технолог

Бусыгина С.Р.

Представители ФГБОУ ВО «КНИТУ»
к.б.н., доцент кафедры ТММП

Е.В. Никитина

д.б.н., профессор кафедры ТММП

Г.О. Ежкова

к.б.н., доцент кафедры ТММП

Э.Ш. Юнусов

аспирант кафедры ТММП

М.С. Цыганов

УТВЕРЖДАЮ

Индивидуальный предприниматель
Шишканова Альбина Рафиковна

«25» 03



АКТ

выработки опытной партии продукта обезжиренного кисломолочного «Йогурт» с включением крахмального полисахарида в промышленных условиях на территории молочного цеха

Настоящий акт составлен в том, что 20 марта 2023 г. На технологической линии молочного цеха ИП Шишкановой А.Р. была выработана партия продукта «Йогурт» обезжиренный с компонентами, соответствующего ГОСТу 32923-2014. Выработка проводилась по классической технологии термостатного способа производства.

Для производства продукта «Йогурт» обезжиренного с включением крахмального полисахарида, который подвергался ферментной модификации, интегрированной в процесс изготовления продукта. Использовали молоко коровье по ГОСТ Р 52054, которое в процессе технологической обработки сепарировали с получением обезжиренного молока. Обезжиренное молоко после внесения крахмала и пастеризации непосредственно использовали для производства обезжиренного продукта «Йогурт». В качестве крахмального полисахарида использовали нативный крахмала тапиоки (соответствовал ГОСТу 32902-2014), который был модифицирован промышленным ферментным препаратом Альфалад БН®, в процессе технологического цикла. Использовали закваски бактериальные и бакконцентраты для продукта «Йогурт» по нормативным и техническим документам, утвержденным в установленном порядке.

Дегустационная оценка новых обезжиренных продуктов «Йогурт» с включением крахмального полисахарида осуществлялась по следующим показателям: внешний вид, запах, консистенция, вкус. Дегустационный анализ показал, что разработанные продукты «Йогурт» обезжиренные с включением крахмального полисахарида имели высокие оценки по органолептическим показателям.

Комиссия одобрила работу по применению тапиковых ферментно модифицированных крахмалов в технологии продуктов «Йогурт» обезжиренных термостатных. Это технология рекомендована к внедрению в молочном цехе ИП Шишкановой А.Р.

Представители ИП Шишканова А.Р.
Руководитель группы качества

Шишканова А.Р.

Технолог

Бусыгина С.Р.

Представители ФГБОУ ВО «КНИТУ»
к.б.н., доцент кафедры ТММП

Е.В. Никитина

д.б.н., профессор кафедры ТММП

Г.О. Ежкова

к.б.н., доцент кафедры ТММП

Э.Ш. Юнусов

аспирант кафедры ТММП

М.С. Цыганов



УТВЕРЖДАЮ

заместитель генерального директора
ООО "Казанский молочный комбинат"
Габдрахимов А.Ф.
2019 г.

АКТ

выработки опытной партии йогурта обезжиренного с включением крахмального полисахарида повышенной резистентности в промышленных условиях на ООО "Казанский молочный комбинат"

Настоящий акт составлен в том, что 12 марта 2019 г. на технологической линии ООО "Казанский молочный комбинат" была выработана партия симбилакта обезжиренного с компонентами, соответствующего ГОСТу Р 51331-99. Выработка проводилась по классической технологии термостатного способа производства.

Для производства йогурта обезжиренного с включением крахмального полисахарида повышенной резистентности использовали молоко коровье сырое по ГОСТ Р 52054, которое в процессе технологической обработки сепарировали с получением обезжиренного молока. Обезжиренное молоко после внесения крахмала и пастеризации непосредственно использовали для производства обезжиренного йогурта. В качестве крахмального полисахарида использовали тапиоковый крахмал, который был модифицирован бактериальным препаратом Амилосубтилином®, название крахмала АМ-0.5. Ферментно модифицированный крахмал соответствовал ГОСТу Р 53876-2010, как 1 сорт, был более устойчивым к действию панкреатической альфа-амилазы. Тапиоковый ферментно модифицированный крахмала АМ-0.5 получен на кафедре Технологии мясных и молочных продуктов Казанского национального исследовательского технологического университета. Использовали закваски бактериальные для симбилакта по нормативным и техническим документам, утвержденным в установленном порядке.

Дегустационная оценка нового обезжиренного симбилакта с включением крахмального полисахарида повышенной резистентности осуществлялась по следующим показателям: внешний вид, запах, консистенция, вкус. Дегустационный анализ показал, что разработанный безжиренного симбилакта с включением крахмального полисахарида повышенной резистентности имел высокие оценки по органолептическим показателям.

Комиссия одобрила работу по применению ферментно модифицированных крахмалов в технологии симбилакта обезжиренного термостатного. Эта технология рекомендована к внедрению на ООО "Казанский молочный комбинат"

Представители ООО "Казанский молочный комбинат"

Руководитель группы качества

М.Е.Ахметзянова

Технолог

М.А.Егорова

Представители ФГБОУ ВО "КНИТУ"

к.б.н., доцент кафедры ТММП

Е.В. Никитина

д.б.н., профессор кафедры ТММП

Г.О. Ежкова

к.т.н., доцент кафедры ТММП

Э.Ш. Юнусов

аспирант кафедры ТММП

М.С. Цыганов



УТВЕРЖДАЮ

Заместитель генерального директора

ООО "Казанский молочный комбинат"

Габдрахимов А.Ф.

2019 г.

АКТ

выработки опытной партии йогурта обезжиренного с включением крахмального полисахарида повышенной резистентности
в промышленных условиях на ООО "Казанский молочный комбинат"

Настоящий акт составлен в том, что 15 марта 2019 г. на технологической линии ООО "Казанский молочный комбинат" была выработана партия йогурта обезжиренного с компонентами, соответствующего ГОСТу Р 51331-99. Выработка проводилась по классической технологии термостатного способа производства.

Для производства йогурта обезжиренного с включением крахмального полисахарида повышенной резистентности использовали молоко коровье сырое по ГОСТ Р 52054, которое в процессе технологической обработки сепарировали с получением обезжиренного молока. Обезжиренное молоко после внесения крахмала и пастеризации непосредственно использовали для производства обезжиренного йогурта. В качестве крахмального полисахарида использовали тапиоковый крахмал, который был модифицирован бактериальным препаратом Амилоубтилином®, название крахмала АМ-0.05. Ферментно модифицированный крахмал соответствовал ГОСТу Р 53876-2010, как 1 сорт, был более устойчивым к действию панкреатической альфа-амилазы. Тапиоковый ферментно модифицированный крахмала АМ-0.5 был получен на кафедре Технологии мясных и молочных продуктов Казанского национального исследовательского технологического университета. Использовали закваски бактериальные и бакконцентраты для йогурта по нормативным и техническим документам, утвержденным в установленном порядке.

Дегустационная оценка новых обезжиренных йогуртов с включением крахмального полисахарида повышенной резистентности осуществлялась по следующим показателям: внешний вид, запах, консистенция, вкус. Дегустационный анализ показал, что разработанные йогурты обезжиренные с включением крахмального полисахарида повышенной резистентности имели высокие оценки по органолептическим показателям.

Комиссия одобрила работу по применению ферментно модифицированных крахмалов в технологии йогуртов обезжиренных термостатных. Эта технология рекомендована к внедрению на ООО "Казанский молочный комбинат"

Представители ООО "Казанский молочный комбинат"

Руководитель группы качества

М.Е.Ахметзянова

Технолог

М.А.Егорова

Представители ФГБОУ ВО "КНИТУ"

к.б.н., доцент кафедры ТММП

Е.В. Никитина

д.б.н., профессор кафедры ТММП

Г.О. Ежкова

к.т.н., доцент кафедры ТММП

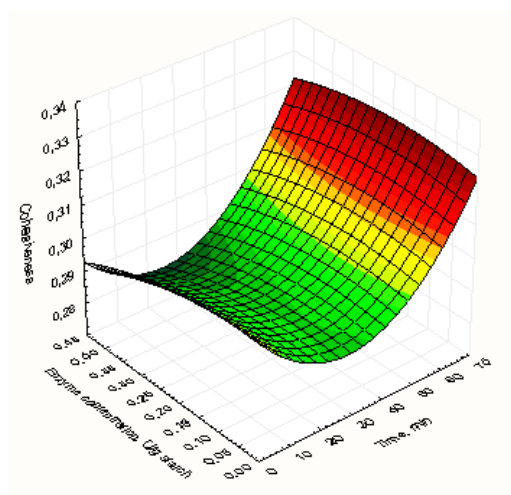
Э.Ш. Юнусов

аспирант кафедры ТММП

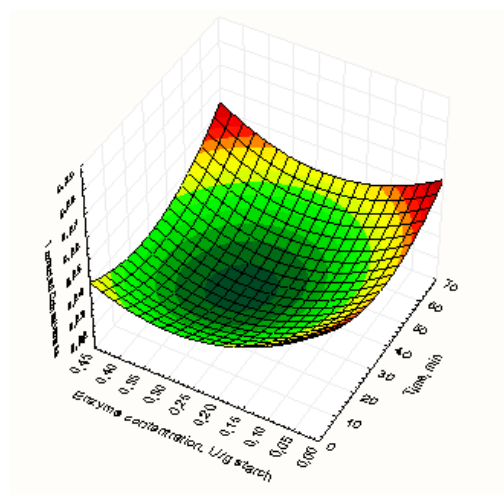
М.С. Цыганов

Приложение В
(справочное)

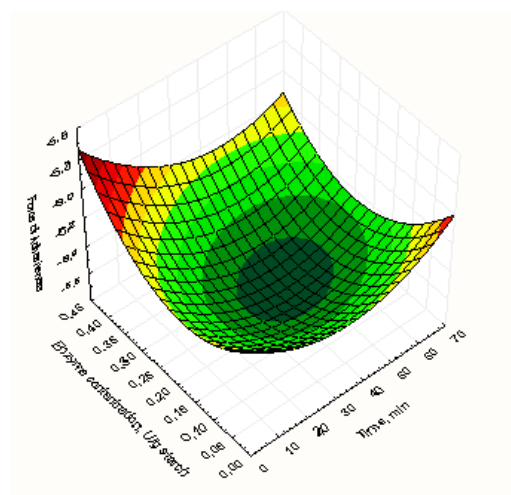
Дополнительные графики значений отклика системы АПТ продукта
по математической модели



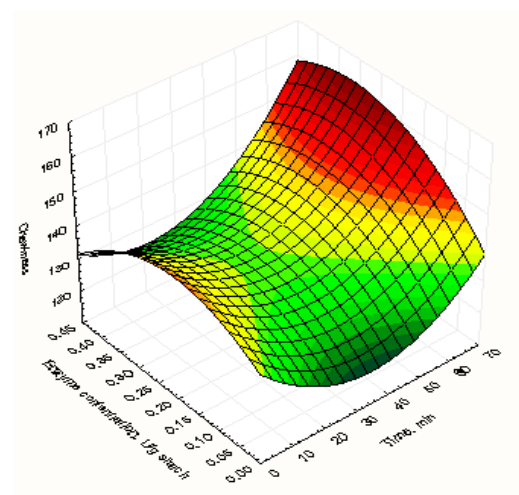
Когезия



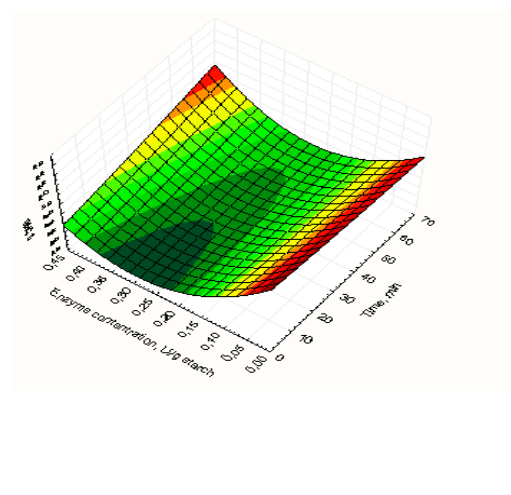
Скорректированная когезия



Сила адгезии



Разжевываемость



Приложение Г (справочное)

Значения отклика для двухфакторного эксперимента и корреляция структурно-механических параметров

Таблица Г.1 – Значения отклика для двухфакторного эксперимента

Показатель	Номер варианта опыта															
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16
Время, мин – Активность, У/г крахмала	0–0	0–0,1	15–0,1	30–0,1	45–0,1	60–0,1	0–0,2	15–0,2	30–0,2	45–0,2	60–0,2	0–0,4	15–0,4	30–0,4	45–0,4	60–0,4
Твердость, г	35,55	34,85	36,10	35,55	35,95	35,70	35,65	36,30	35,50	36,30	36,45	33,65	35,50	35,00	35,35	35,25
Когезия	0,31	0,31	0,31	0,29	0,28	0,29	0,28	0,28	0,28	0,33	0,34	0,31	0,29	0,28	0,28	0,30
Скорректированная когезия	0,24	0,26	0,28	0,22	0,23	0,24	0,22	0,22	0,22	0,22	0,23	0,23	0,24	0,22	0,22	0,25
Сила адгезии, г	–6,20	–6,05	–6,40	–6,35	–6,40	–6,55	–6,50	–6,50	–6,65	–6,55	–6,75	–5,70	–6,30	–6,55	–6,55	–6,10
Адгезия, г·с	20,18	20,83	22,69	22,44	23,46	24,85	25,68	23,57	25,40	24,23	24,78	19,23	22,93	24,07	25,87	23,44
Эластичность	0,54	0,49	0,45	0,41	0,43	0,44	0,39	0,40	0,42	0,39	0,40	0,54	0,44	0,43	0,41	0,49
Клейкость, г	11,04	10,80	11,25	10,11	10,18	10,30	9,81	10,33	9,76	12,04	12,32	10,35	10,37	9,78	9,88	10,64
Упругость, мм	13,42	12,78	12,54	12,07	12,40	12,20	13,29	13,41	13,38	13,59	13,59	14,02	12,97	13,08	12,69	13,71
Тягучесть, мм	6,44	6,42	6,79	6,94	6,79	7,13	7,29	6,80	7,13	6,95	7,17	6,28	6,84	7,02	7,28	6,90
Разжевываемость, г·мм	148,30	138,04	141,44	122,36	126,40	125,78	130,35	138,56	130,69	163,30	166,90	145,26	134,51	127,82	125,37	145,92
Вязкость, мПа/с	2076,0	2413,6	2855,4	2952,6	2915,3	2700,1	2820,5	2798,9	2924,7	3221,5	3032,1	2931,4	2813,3	2794,5	2746,1	2579,1
Синерезис, %	17,70	16,00	9,74	8,62	8,97	10,75	10,07	8,23	7,07	7,52	7,28	8,69	7,09	6,35	6,38	6,44
ВУС, %	44,11	29,01	31,29	32,32	32,26	31,70	30,40	30,48	30,82	32,11	32,00	30,13	30,69	31,53	31,78	33,13

Таблица Г.2 –Корреляция структурно-механических параметров

Параметр	Твер- дость	Когезия	Скорр. когезия	Сила адгезии	Адгезия	Эласти- чность	Клей- кость	Упру- гость	Тягу- чьсть	Разже- выва- емость	Вязкость	Синерезис	ВУС
Твердость	1,000	0,179	-0,095	-0,770	0,547	-0,674	0,440	-0,220	0,501	0,241	0,253	-0,113	0,122
Когезия	0,179	1,000	0,346	0,150	-0,354	0,236	0,962	0,382	-0,346	0,912	0,067	0,217	0,204
Скорректированная когезия	-0,095	0,346	1,000	0,420	-0,426	0,506	0,272	-0,197	-0,435	0,114	-0,388	0,375	-0,007
Сила адгезии	-0,770	0,150	0,420	1,000	-0,856	0,834	-0,087	0,246	-0,835	0,043	-0,379	0,364	0,075
Адгезия	0,547	-0,354	-0,426	-0,856	1,000	-0,823	-0,158	-0,171	0,968	-0,198	0,426	-0,571	-0,307
Эластичность	-0,674	0,236	0,506	0,834	-0,823	1,000	0,019	0,262	-0,799	0,130	-0,664	0,549	0,435
Клейкость	0,440	0,962	0,272	-0,087	-0,158	0,019	1,000	0,298	-0,163	0,904	0,139	0,156	0,216
Упругость	-0,220	0,382	-0,197	0,246	-0,171	0,262	0,298	1,000	-0,221	0,677	0,031	-0,124	0,112
Тягучесть	0,501	-0,346	-0,435	-0,835	0,968	-0,799	-0,163	-0,221	1,000	-0,223	0,416	-0,571	-0,246
Разжевываемость	0,241	0,912	0,114	0,043	-0,198	0,130	0,904	0,677	-0,223	1,000	0,124	0,060	0,222
Вязкость	0,253	0,067	-0,388	-0,379	0,426	-0,664	0,139	0,031	0,416	0,124	1,000	-0,750	-0,615
Синерезис	-0,113	0,217	0,375	0,364	-0,571	0,549	0,156	-0,124	-0,571	0,060	-0,750	1,000	0,522
ВУС	0,122	0,204	-0,007	0,075	-0,307	0,435	0,216	0,112	-0,246	0,222	-0,615	0,522	1,000

Приложение Д (справочное)

Свидетельства о государственной регистрации базы данных

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

**RU2024621740**

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
**ГОСУДАРСТВЕННАЯ РЕГИСТРАЦИЯ БАЗЫ ДАННЫХ, ОХРАНЯЕМОЙ
АВТОРСКИМИ ПРАВАМИ**

Номер регистрации (свидетельства):
2024621740
Дата регистрации: 19.04.2024
Номер и дата поступления заявки:
2024621316 08.04.2024
Дата публикации и номер бюллетеня:
19.04.2024 Бюл. № 4
Контактные реквизиты:
Тодороски Кирил, +7 (987) 008 64 64,
kiriltodoroski96@gmail.com

Автор(ы):
Ежков Владимир Олегович (RU),
Ежкова Асия Мазетдиновна (RU),
Яруллина Дина Рашидовна (RU),
Каюмов Айрат Рашитович (RU),
Волков Ренат Алиевич (RU),
Гаврилова Елизавета Андреевна (RU),
Никитина Елена Владимировна (RU),
Тодороски Кирил (МК),
Ларина Юлия Вадимовна (RU)
Правообладатель(и):
Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования «Казанская государственная
академия ветеринарной медицины имени Н.Э.
Баумана» (RU)

Название базы данных:
**МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ОРГАНОВ ПИЩЕВАРЕНИЯ ПЕРЕПЕЛОВ
ПРИ ПРИМЕНЕНИИ В КОРМЛЕНИИ СИНБИОТИКА НА ОСНОВЕ ШТАММОВ
ЛАКТОБАЦИЛЛ И АГРОМИНЕРАЛОВ**

Реферат:

В базе данных представлена актуальность и перспективность применения новых синбиотических препаратов на основе различных автохтонных штаммов лактобацилл в рационах перепелов. Дана характеристика морфоструктурного состояния мышечного желудка, тонкой и толстой кишки контрольных и опытных перепелов. Показаны результаты сравнительных исследований гистоструктуры органов, установлено положительное воздействие синбиотиков в организме птиц, проявившееся в усилении секреторной деятельности фундальных желез, увеличение количества гистеолимфоцитарных клеток и кровенаполненности сосудов мышечной оболочки кишечника. База данных включает в себя описание материалов и методов, схему применения различных доз и штаммов лактобацилл в составе синбиотика, заключение и список использованных источников. Обеспечивает выполнение образовательной функции. Тип ЭВМ: РС. ОС: Windows 7 и выше.

Вид и версия системы управления базой данных: Adobe Reader

Объем базы данных: 8,9 МБ



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ
ГОСУДАРСТВЕННАЯ РЕГИСТРАЦИЯ БАЗЫ ДАННЫХ, ОХРАНЯЕМОЙ
АВТОРСКИМИ ПРАВАМИ

Номер регистрации (свидетельства): 2024622165 Дата регистрации: 21.05.2024 Номер и дата поступления заявки: 2024621753 06.05.2024 Дата публикации и номер бюллетеня: 21.05.2024 Бюл. № 6 Контактные реквизиты: Тодороски Кирил +7 (987) 008 64 64 kiriltodoroski96@gmail.com	Автор(ы): Каюмов Айрат Рашитович (RU), Яруллина Дина Рашидовна (RU), Гаврилова Елизавета Андреевна (RU), Ежков Владимир Олегович (RU), Ежкова Асия Мазетдиновна (RU), Никитина Елена Владимировна (RU), Волков Ренат Алиевич (RU) Правообладатель(и): Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанская государственная академия ветеринарной медицины имени Н.Э. Баумана» (RU)

Название базы данных:
СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ОРГАНОВ ПИЩЕВАРЕНИЯ
ПЕРЕПЕЛОВ ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ПРОБИОТИКОВ НА ОСНОВЕ ШТАММОВ
ЛАКТОБАЦИЛЛ

Реферат:
База данных (БД) представляет собой исследование о влиянии пробиотиков на основе штаммов лактобацилл на структурно-функциональное состояние органов пищеварительного тракта перепелов. Полученные результаты показывают соответствие параметров морфологии органов контрольных и опытных птиц их возрастным и физиологическим особенностям. Под влиянием различных пробиотических препаратов отмечали улучшение структуры каемчатых эпителиоцитов слизистой двенадцатиперстной кишки и различной степени активации клеток лимфоидной ткани кишечника – от умеренной до значительной степени, в единичных случаях – до истощения лимфоидной ткани. БД предназначена для улучшения понимания влияния пробиотиков на пищеварение перепелов и может быть использована для улучшения метаболизма и повышения продуктивности перепелов. Тип ЭВМ: PC; ОС: Windows 7 и выше.

Вид и версия системы управления базой данных: Adobe Reader
Объем базы данных: 5,8 МБ

Приложение Е
(справочное)

Разработанная техническая документация

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Казанский национальный исследовательский
технологический университет» (ФГБОУ ВО «КНИТУ»)

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор института пищевых
производств и биотехнологий
КНИТУ



Сироткин А.С.

ТЕХНИЧЕСКИЕ УСЛОВИЯ

По производству пробиотического йогурта «Пробиойогурт»

ТУ 10.51.52. – 002 – 02069639 - 2025

(вводятся впервые)

Срок введения «20» января 2025

Разработано:

Зав.кафедрой Технологии мясных и
молочных производств КНИТУ,
докт.биол.наук, проф. Ежковой Г.О.

Доцентом кафедры ТММП КНИТУ
канд.биол.наук. Е.В. Никитиной

Ассистентом кафедры ТММП КНИТУ
Т.А. Петровой

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Казанский национальный исследовательский
технологический университет» (ФГБОУ ВО «КНИТУ»)

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор института пищевых
производств и биотехнологий
КНИТУ



Сироткин А.С.

ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ИНСТРУКЦИЯ

По производству пробиотического йогурта «Пробиойогурт»

ТР 10.51.52. – 002 – 02069639 - 2025

(вводятся впервые)

Срок введения «20» января 2025

Разработано:

Зав.кафедрой Технологии мясных и
молочных производств КНИТУ,
докт.биол.наук, проф. Ежковой Г.О.

Доцентом кафедры ТММП КНИТУ
канд.биол.наук. Е.В. Никитиной

Ассистентом кафедры ТММП КНИТУ
Т.А. Петровой

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Казанский национальный исследовательский
технологический университет» (ФГБОУ ВО «КНИТУ»)

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор института пищевых
производств и биотехнологий
КНИТУ



Сироткин А.С.

ТЕХНИЧЕСКИЕ УСЛОВИЯ

По производству пробиотического йогурта «Иммунйогурт»

ТУ 10.51.52. – 003 – 02069639 - 2025
(вводятся впервые)

Срок введения «20» января 2025

Разработано:

Зав.кафедрой Технологии мясных и
молочных производств КНИТУ,
докт.биол.наук, проф. Ежковой Г.О.

Доцентом кафедры ТММП КНИТУ
канд.биол.наук. Е.В. Никитиной

Ассистентом кафедры ТММП КНИТУ
Т.А. Петровой

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Казанский национальный исследовательский
технологический университет» (ФГБОУ ВО «КНИТУ»)

«УТВЕРЖДАЮ»
Директор института пищевых
производств и биотехнологий
КНИТУ



Сироткин А.С.

ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ИНСТРУКЦИЯ

По производству пробиотического йогурта «Иммунойогурт»

ТР 10.51.52. – 003 – 02069639 - 2025
(вводятся впервые)

Срок введения «20» января 2025

Разработано:

Зав.кафедрой Технологии мясных и
молочных производств КНИТУ,
докт.биол.наук, проф. Ежковой Г.О.

Доцентом кафедры ТММП КНИТУ
канд.биол.наук. Е.В. Никитиной

Ассистентом кафедры ТММП КНИТУ
Т.А. Петровой

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Казанский национальный исследовательский
технологический университет» (ФГБОУ ВО «КНИТУ»)

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор института пищевых
производств и биотехнологий
КНИТУ

Сироткин А.С.



ТЕХНИЧЕСКИЕ УСЛОВИЯ

По производству пробиотического йогурта «БиофермЙогурт»

ТУ 10.51.52. – 004 – 02069639 - 2025
(вводятся впервые)

Срок введения «20» января 2025

Разработано:

Зав.кафедрой Технологии мясных и
молочных производств КНИТУ,
докт.биол.наук, проф. Ежковой Г.О.

Доцентом кафедры ТММП КНИТУ
канд.биол.наук. Е.В. Никитиной

Ассистентом кафедры ТММП КНИТУ
Т.А. Петровой

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования «Казанский национальный исследовательский
технологический университет» (ФГБОУ ВО «КНИТУ»)

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор института пищевых
производств и биотехнологий
КНИТУ



Сироткин А.С.

ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ИНСТРУКЦИЯ

По производству пробиотического йогурта «БиофермЙогурт»

ТР 10.51.52. – 004 – 02069639 - 2025

(вводятся впервые)

Срок введения «20» января 2025

Разработано:

Зав.кафедрой Технологии мясных и
молочных производств КНИТУ,
докт.биол.наук, проф. Ежковой Г.О.

Доцентом кафедры ТММП КНИТУ
канд.биол.наук. Е.В. Никитиной

Ассистентом кафедры ТММП КНИТУ
Т.А. Петровой

Приложение Ж
(справочное)

Справка о депонировании



Биоресурсный центр Всероссийская коллекция
промышленных микроорганизмов (БРЦ ВКПМ)
НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР
«КУРЧАТОВСКИЙ ИНСТИТУТ»



1117545, 1-й Дорожный проезд д.1, г. Москва mail:vkpm@genetika.ru тел. (495) 315 12 10

14328

НАЦИОНАЛЬНОЕ ПАТЕНТНОЕ ДЕПОНИРОВАНИЕ

СПРАВКА О ДЕПОНИРОВАНИИ

Биоресурсный центр - Всероссийская Коллекция Промышленных
Микроорганизмов (БРЦ ВКПМ) НИЦ «Курчатовский институт» приняла на
национальное патентное депонирование культуру:

Lactiplantibacillus plantarum S10

Дата депонирования: 21 августа 2024 года

Депозитор: ФГАОУ ВО КФУ

Область применения штамма (продукт, продуцируемый штаммом): компонент
заквасок, пробиотик

РЕГИСТРАЦИОННЫЙ НОМЕР ВКПМ: В-14328

Руководитель БРЦ ВКПМ
Проф.



Синеокий С.П.