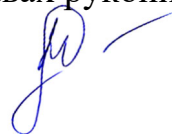


На правах рукописи



Петрова Татьяна Александровна

**ФОРМИРОВАНИЕ ПОТРЕБИТЕЛЬСКИХ СВОЙСТВ
КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ
НОВЫХ ПРОБИОТИЧЕСКИХ ШТАММОВ МИКРООРГАНИЗМОВ**

Специальность 4.3.3. Пищевые системы

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Екатеринбург – 2025

Работа выполнена в Федеральном государственном
бюджетном образовательном учреждении высшего образования
«Казанский национальный исследовательский технологический университет»

Научный руководитель: кандидат биологических наук
Никитина Елена Владимировна (Россия),
доцент кафедры технологии мясных и молочных
продуктов ФГБОУ ВО «Казанский национальный
исследовательский технологический университет»

Официальные оппоненты: доктор технических наук, профессор
Мусина Ольга Николаевна (Россия),
профессор кафедры технологии продуктов питания
ФГБОУ ВО «Алтайский государственный
технический университет им. И. И. Ползунова»

доктор технических наук, доцент
Алиева Людмила Руслановна (Россия),
заместитель декана по международной
и инновационной деятельности факультета
пищевой инженерии и биотехнологий имени
академика А. Г. Храмцова, ведущий научный
сотрудник НИЛ пищевой и агропромышленной
биотехнологии ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский
федеральный университет»

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный
университет»

Защита диссертации состоится 6 июня 2025 г. в 10:00 на заседании
диссертационного совета 24.2.425.03 при ФГБОУ ВО «Уральский государственный
экономический университет» по адресу: 620144, г. Екатеринбург, ул. 8 Марта/
Народной Воли, 62/45, ФГБОУ ВО «Уральский государственный экономический
университет», зал диссертационных советов (ауд. 150).

Отзывы на автореферат, заверенные гербовой печатью, просим направлять
по адресу: 620144, г. Екатеринбург, ГСП-985, ул. 8 Марта/Народной Воли, 62/45,
ФГБОУ ВО «Уральский государственный экономический университет», ученому
секретарю диссертационного совета 24.2.425.03. Факс: (343) 283-13-25.

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

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат сельскохозяйственных наук, доцент  Л. А. Донскова

Общая характеристика работы

Актуальность темы исследования. В настоящее время серьезной проблемой здравоохранения во всем мире является рост заболеваний, связанных с нарушением метаболизма или метаболическим синдромом. У людей с признаками метаболических нарушений увеличиваются риски развития сердечно-сосудистых заболеваний, сахарного диабета, гипертонической болезни, ожирения и др. Современные исследования свидетельствуют, что одним из путей коррекции таких нарушений может быть модификация микробиоты кишечника с помощью пробиотиков. Такая практика применялась интуитивно на протяжении веков, а в настоящее время глубоко изучается в связи с лечением и профилактикой метаболического синдрома и связанных с ним заболеваний. Нарушения микробного баланса кишечника все чаще признаются возможным фактором риска сердечно-сосудистых заболеваний.

Кисломолочные продукты (КМП), содержащие в своем составе пробиотические микроорганизмы, являются доступным инструментом для коррекции метаболического синдрома. Благодаря полезному воздействию на здоровье эти продукты получили широкое признание во всем мире. Среди самых распространенных сквашенных молочных продуктов следует назвать йогурт, кефир, айран. Кроме того, во многих регионах мира встречаются различные виды сметаны, по сути представляющие собой сквашенные сливки. В связи с этим актуален поиск новых молочнокислых бактерий (МКБ) с пробиотическими свойствами и их внедрение в такие КМП, как йогурт и сметана.

Широким спросом среди населения пользуются КМП с пониженным содержанием жира. Однако особенностями качества указанных продуктов являются невысокие органолептические показатели и низкая вязкость. Правильный подбор и баланс МКБ актуален в целях поиска решения данных проблем.

Проблемой КМП с высокой жирностью является самопроизвольное окисление молочного жира. Ухудшение вкуса в результате липолиза молочных продуктов вызвало серьезные отраслевые проблемы со стабильностью при хранении и приемлемостью для потребителей. Актуально исследование влияния новых штаммов на сохранность молочного жира.

Согласно указу Президента РФ от 21 января 2020 г. № 20 «Об утверждении Доктрины продовольственной безопасности Российской Федерации» создание экономически доступных рационов здорового питания для различных групп населения, в том числе со значительным в процентном отношении использованием российского сырья, выступает важной задачей. В связи с этим закваска со штаммами, выделенными в Поволжском регионе России, в частности в Татарстане, решит задачу импортозамещения. Кроме того, доступность сырья позволит получить полезные продукты с невысокой стоимостью и обеспечить ими все слои населения.

В связи с вышеизложенным разработка технологии пробиотических кисломолочных продуктов с использованием новых штаммов *Limosilactobacillus fermentum* AG8 и *Lactiplantibacillus plantarum* AG9 является актуальной задачей. Штаммы *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9 были выделены ранее из клеверного силоса. Данные штаммы продемонстрировали выраженные антагонистические свойства по отношению к патогенным бактериям, обладали высокой кислотообразующей активностью в лабораторных питательных средах, что важно для применения в биотехнологии и пищевой промышленности. AG8 и AG9 устойчивы к желчи, способны к автоагрегации, гидрофобности; кроме того, в геноме штамма AG8 были выявлены последовательности, ответственные за синтез антибактериальных агентов. В совокупности это определило выбор штаммов *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9 для исследования возможности их использования в качестве сокультуры в составе закваски для изготовления йогуртов и сметаны.

Степень разработанности темы. За последние годы появились новые знания в области переработки молочного сырья и создания новых КМП. В частности, отечественные ученые А. В. Бегунова, Н. Б. Гаврилова, А. А. Степанова внесли вклад в разработку КМП с пробиотическими свойствами. В работах Е. С. Гаввы, В. А. Исаева, А. Н. Пономарева описаны подходы к разработке и классификации КМП функционального назначения. Над совершенствованием технологии популярных КМП работали О. Н. Мусина, Н. В. Попова. Изучением пробиотических микроорганизмов и разработкой новых заквасок занимались Н. Л. Андросова, И. В. Бояринева, Н. Л. Бруслик, А. Д. Веснина, Г. С. Волкова, Р. В. Дорофеев, Е. В. Иванова, А. Н. Иркитова, И. С. Милентьева, Л. А. Остроумов, И. С. Полянская, Н. С. Родионова, В. Ф. Семенихина, Н. П. Сорокина.

В трудах зарубежных ученых Z. Abdi-Moghadam, N. F. Fazilah, R. Nohha, F. Lang, S.-M. Lim, S. J. Masoumi, P. Muniandy, I. M. Ramos и др. описаны исследования в области улучшения свойств КМП.

Основные исследования выполнены и диссертация подготовлена на кафедре технологии мясных и молочных продуктов ФГБОУ ВО «КНИТУ».

Цель и задачи работы. Целью диссертационной работы стало улучшение потребительских свойств КМП с использованием новых пробиотических штаммов *Limosilactobacillus fermentum* AG8 и *Lactiplantibacillus plantarum* AG9.

Для достижения поставленной цели исследований были сформулированы следующие основные научные задачи:

1) оценить пробиотические и антиоксидантные свойства штаммов *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9 в сравнении с заквасочным штаммом *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*;

2) исследовать физико-химические, антиоксидантные свойства сквашенного обезжиренного молока, полученного при использовании штаммов *L. fermentum* AG8 или *L. plantarum* AG9;

3) определить моносахаридный состав и микроструктуру экзополисахаридов, синтезируемых *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9 при сквашивании обезжиренного молока;

4) провести доклинические исследования обезжиренного молока, сквашенного *L. fermentum* AG8 или *L. plantarum* AG9, в системе *in vivo* для определения воздействия на рост, липидный обмен, окисленность печени;

5) оценить качество пробиотического кисломолочного напитка на основе йогуртовой закваски с внесением штаммов *L. fermentum* AG8 или *L. plantarum* AG9, усовершенствовать принципиальную схему производства пробиотического йогурта с учетом требований ХАССП;

6) оценить качество пробиотической сметаны с *L. plantarum* AG9, используемым как сокультура, по органолептическим, химическим, структурным, антиоксидантным свойствам в процессе хранения с составлением принципиальной схемы производства пробиотической сметаны с учетом требований ХАССП.

Научная новизна. Работа содержит элементы научной новизны в рамках п. 5, 13, 15 паспорта научной специальности 4.3.3. Пищевые системы.

1. Впервые получены данные о роли новых пробиотических штаммов *Limosilactobacillus fermentum* AG8 и *Lactiplantibacillus plantarum* AG9 в формировании улучшенных физико-химических, органолептических, текстурных и антиоксидантных свойств КМП разной жирности. Впервые выявлен высокий антиоксидантный потенциал клеток и продуктов метаболизма штаммов *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9, что позволило рекомендовать эти штаммы к использованию для получения функциональных кисломолочных продуктов (п. 5 и 13 паспорта научной специальности 4.3.3).

2. Получены новые данные о моносахаридном составе, микроструктуре, антиоксидантных свойствах экзополисахаридов (ЭПС), синтезируемых *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9 при сквашивании обезжиренного молока, показана их роль в формировании антиоксидантных свойств кисломолочного продукта (п. 15 паспорта научной специальности 4.3.3).

3. Впервые выявлено положительное влияние штамма *L. plantarum* AG9 в составе закваски на органолептические и антиоксидантные свойства сметаны, показана сохранность молочного жира сметаны с *L. plantarum* AG9 при хранении (п. 5 паспорта научной специальности 4.3.3).

Теоретическая значимость исследования заключается в расширении научных знаний в области использования новых штаммов молочнокислых бактерий в качестве пробиотических культур в технологии обезжиренных кисломолочных напитков и сметаны.

Получены сведения о неспецифическом влиянии пробиотического КМП со штаммами *Limosilactobacillus fermentum* AG8 или *Lactiplantibacillus plantarum* AG9 на липидный обмен млекопитающих.

Практическая значимость заключается в модификации промышленных заквасок для йогурта и сметаны путем добавления пробиотических

штаммов *L. fermentum* AG8 или *L. plantarum* AG9 в качестве сокультуры. При разработке принципиальной схемы изготовления пробиотических продуктов «Пробиойогурт» и «Пробиосметана» с использованием новых штаммов *Limosilactobacillus fermentum* AG8 и *Lactiplantibacillus plantarum* AG9 учтены требования ХАССП.

В условиях перерабатывающего предприятия ИП Шишкановой А. Р. выпущены опытные партии КМП «Биофермйогурт» с *Limosilactobacillus fermentum* AG8 и «Пробиойогурт» с *Lactiplantibacillus plantarum* AG9. Кроме того, на «Пробиойогурт» разработан технологический регламент и технологические условия 10.51.52.-002-02069639-2025.

Материалы диссертационной работы внедрены в учебный процесс на кафедре технологии мясных и молочных продуктов ФГБОУ ВО «КНИТУ».

Методология и методы исследования. Методологической основой проведения исследований явились труды российских и зарубежных ученых в области переработки молочного сырья и его использования в технологии производства кисломолочных пищевых продуктов для здорового питания. При решении поставленных задач применяли общепринятые стандартные и специальные методы исследований: органолептические, физико-химические, микробиологические, структурные и статистические. Исследования проводились в 3–5-кратной повторности.

Положения, выносимые на защиту:

- результаты оценки пробиотических, метаболических и антиоксидантных свойств новых штаммов *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9 для обоснования перспективности их использования в КМП;
- результаты оценки способности штаммов *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9 сквашивать молоко и обуславливать его физико-химические, текстурные и антиоксидантные свойства с целью подтверждения полезных эффектов штаммов в условиях пищевой матрицы;
- результаты исследования моносахаридного состава и микроструктуры ЭПС *L. fermentum* AG8 или *L. plantarum* AG9 с целью обоснования антиоксидантных свойств;
- результаты оценки влияния сквашенного *L. fermentum* AG8 или *L. plantarum* AG9 молока на рост, липидный обмен и окисленность печени крыс для подтверждения пробиотического эффекта в системе *in vivo*;
- результаты оценки физико-химических, органолептических, текстурных, микробиологических и антиоксидантных показателей обезжиренных пробиотических йогуртов и сметаны с *L. fermentum* AG8 или *L. plantarum* AG9 в процессе хранения для подтверждения эффективности новых штаммов в качестве сокультуры.

Степень достоверности результатов подтверждается проведением экспериментов в многократной повторности с применением стандартных и специальных современных методов исследований; статистической обработкой данных эксперимента с использованием Microsoft Excel, GraphPad;

согласованностью результатов с известными представлениями о составе, структуре, свойствах КМП, а также подтверждается актами апробации, публикацией основных положений диссертации в рецензируемых печатных изданиях.

Апробация результатов исследования. Основные результаты работы представлены на международных и всероссийских научно-практических конференциях, прошедших в Казани (2021, 2023), Курске (2022, 2024), Саратове (2021), Ульяновске (2022).

По материалам диссертационной работы представлен проект на III Республиканском конкурсе «Инженер года», присуждена победа (Казань, 2022). Исследования в этой области поддержаны грантами РФФИ 20-016-00025 «Новые штаммы *Lactobacillus* с пробиотическим, антиоксидантным и генопротекторным действием для биотехнологических производств, основанных на молочнокислом брожении», РНФ 22-26-20022 «Механизмы взаимовлияния молочнокислых бактерий и растительной слизи, обогащенной полисахаридами, как основа для создания новых функциональных продуктов питания».

Личное участие автора. Представленная работа является обобщением результатов научных исследований, проведенных в период с 2017 по 2024 г. Личное участие автора заключается в теоретическом обосновании актуальности исследований, формулировании цели, постановке задач, планировании и выполнении экспериментов, обобщении их результатов, обработке полученных данных, формировании выводов, подготовке материалов к публикации.

Публикации. По материалам диссертационного исследования опубликовано 15 печатных работ, в том числе 3 научных статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК при Минобрнауки России, 5 – в журналах, входящих в базы данных Scopus (Q1-3).

Структура и объем диссертационной работы. Диссертационная работа включает введение, четыре главы, список литературы, содержащий 157 наименований, в том числе 93 иностранных источника. Работа изложена на 151 странице, содержит 29 таблиц, 42 рисунка и четыре приложения.

Благодарности. Автор выражает благодарность научному руководителю, кандидату биологических наук, доценту Е. В. Никитиной и доктору биологических наук, профессору, заведующему кафедрой технологии мясных и молочных продуктов КНИТУ Г. О. Ежковой за предоставление научного оборудования для исследований; сотрудникам Казанского федерального университета за помощь в проведении экспериментальных исследований по тестированию КМП *in vivo*.

Основное содержание работы

Во **введении** обоснована актуальность темы диссертации, сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна и практическая значимость работы.

В **первой главе** представлен анализ литературы, раскрыто состояние молокоперерабатывающей отрасли в России, описаны новые пробиотические штаммы. Обоснована необходимость производства йогурта с новыми пробиотическими штаммами, выделенными в Республике Татарстан.

Во **второй главе** описаны объекты и методы исследования, представлена схема исследований (рисунок 1).

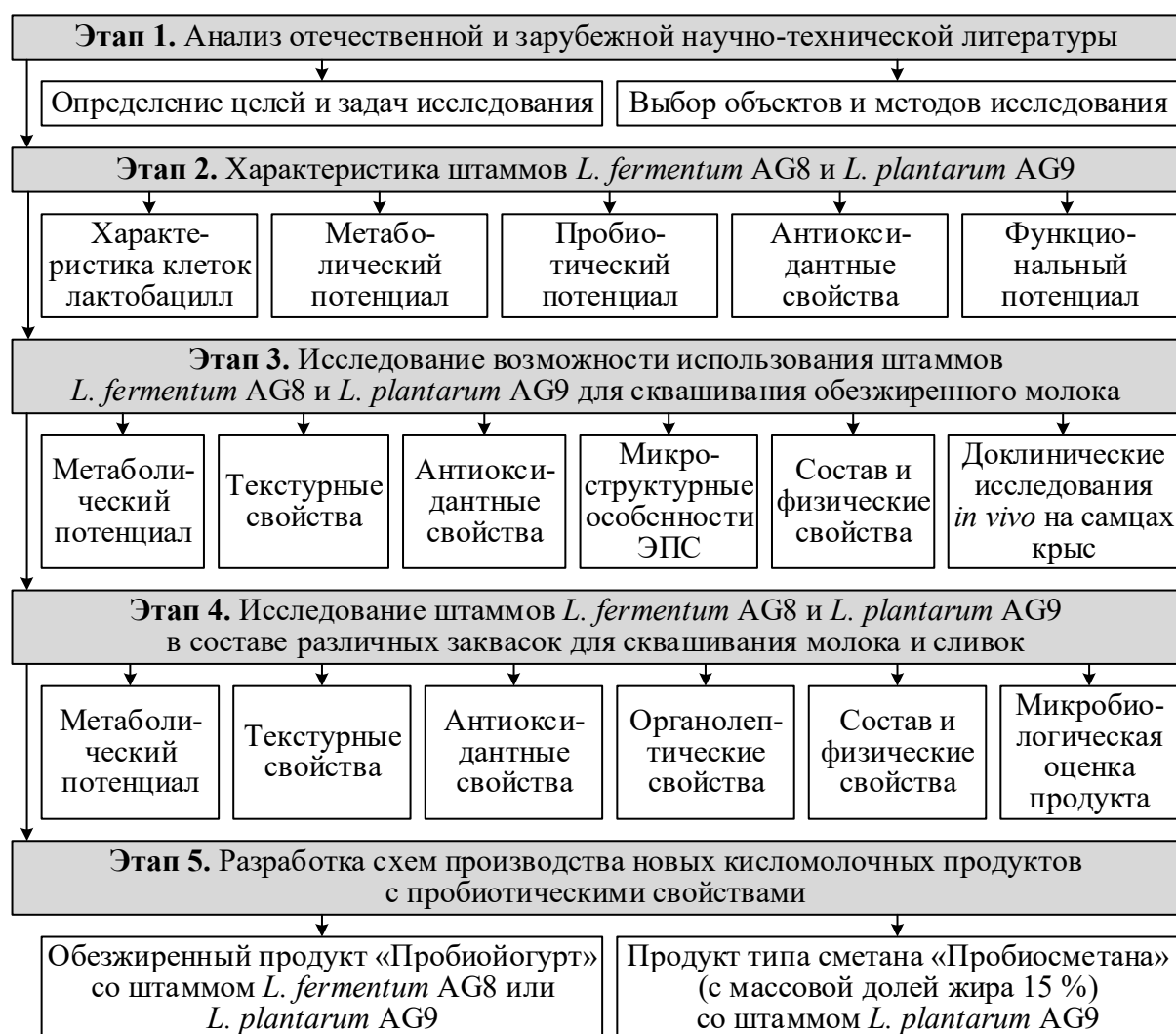


Рисунок 1 – Общая схема исследований

Исследования проводили с 2017 по 2024 г. на базе кафедры ТММП ФГБОУ ВО «КНИТУ». Использовали молоко коровье обезжиренное (м.д.ж. 0,05 %), которое подвергали автоклавированию при 1,1 атм и температуре 121 °С в течение 25 мин, затем охлаждали до температуры заква-

шивания. Использовали стерилизованные сливки (м.д.ж. 15 %), для этого сливки с м.д.ж. 10 % нормализовали сливками с м.д.ж. 20 %. Использовали закваски «Лактосинтез»: для йогурта *L. bulgaricus* и *S. thermophilus*; для сметаны *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*; штаммы *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9; живые системы: крысы-самцы линии Вистар возрастом 6–8 недель.

В качестве пищевой матрицы применяли: на третьем этапе исследования – сквашенное *L. fermentum* AG8 или *L. plantarum* AG9 обезжиренное молоко; на четвертом этапе – йогурты с *L. fermentum* AG8 или *L. plantarum* AG9, сметану с *L. plantarum* AG9 и сливки, сквашенные *L. plantarum* AG9.

Для изготовления КМП использовали закваску МКБ, для чего стерильно переносили в стерильное обезжиренное молоко: 1) лиофильно высушенные закваски в дозировке 0,01 %; 2) в случае новых штаммов из среды МРС сносили суспензию бактерий в концентрации 2 мл на 100 мл молока и выдерживали в термостате 16 ч при 37 °С. Полученную стартовую культуру (закваску) добавляли в обезжиренное молоко из расчета 5 % к массе сырья, при этом соотношение йогуртовой закваски и закваски *L. fermentum* AG8 или *L. plantarum* AG9 составляло 2:1, соотношение сметанной закваски к закваске *L. plantarum* AG9 – 4:1. Продукты выдерживали в термостате 6–8 ч при 40 °С, охлаждали 16 ч при 4 °С и исследовали на 1-е, 7-е и 14-е сутки (21-е сутки в случае пробиотического йогурта).

При выполнении экспериментальной части работы использовали физико-химические, органолептические, спектрофотометрические и микробиологические методы. Анализ профиля текстуры выполнен на структуромере СТ-2. Для СЭМ использовали микроскоп Merlin, для лазерно-сканирующей микроскопии – микроскоп Carl Zeiss LSM 780; анализ проводили в Аналитическом центре микроскопии ФГАОУ ВО «КФУ». Тестирование *in vivo* одобрено локальным этическим комитетом ФГАОУ ВО «КФУ» (протокол № 38 от 04.10.2022). Анализ крови крыс проводили на гематологическом анализаторе Abacus Junior 5 VET; биохимические параметры определяли в ChemWell2902 с использованием наборов или реагентов Spinreact S. A. (Испания). Для математической обработки использовали методы статистического и регрессионного анализа с применением программ Microsoft Excel, GraphPad Prism.

В **третьей главе** сравнивали метаболические и заквасочные свойства новых незаквасочных штаммов *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9 с заквасочным промышленным штаммом *L. bulgaricus*. Затем применили данные штаммы для изготовления сквашенного молока, исследовали его состав и свойства. Выделены и изучены ЭПС. Проведены доклинические исследования *in vivo* на крысах.

Клетки AG8 и AG9 короче *L. bulgaricus* в 4 раза, с меньшим образованием пленок на поверхности (рисунок 2).

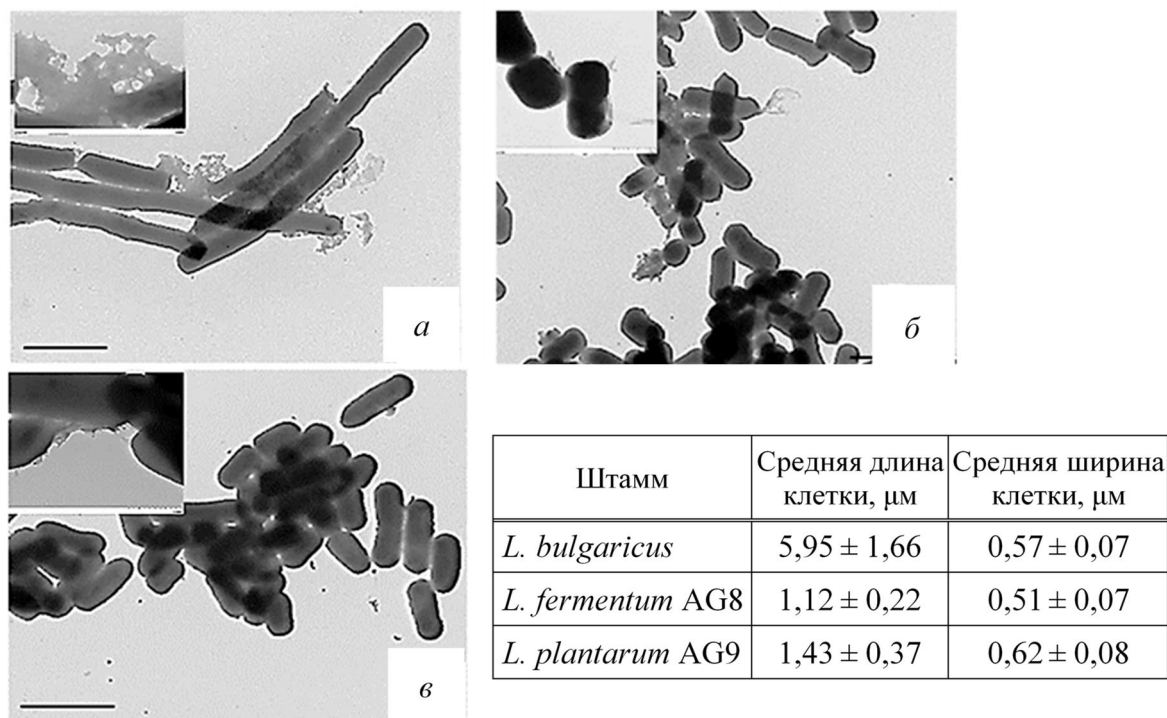


Рисунок 2 – Микрофотографии электронной микроскопии клеток молочнокислых бактерий после 48 ч роста на среде МРС

Около клеток *L. bulgaricus* предположительно визуализируются ЭПС. Клетки AG8 представляют собой короткие ровные палочки, ЭПС плотно упакованы. Клетки AG9 собраны плотно в группы, на поверхности видны ЭПС. Клетки незаквасочных штаммов более темные, с большей электронной плотностью. С помощью сканирующей силовой микроскопии (рисунок 3) показано, что у AG8 и AG9 меньше сила адгезии и деформация (таблица 1).

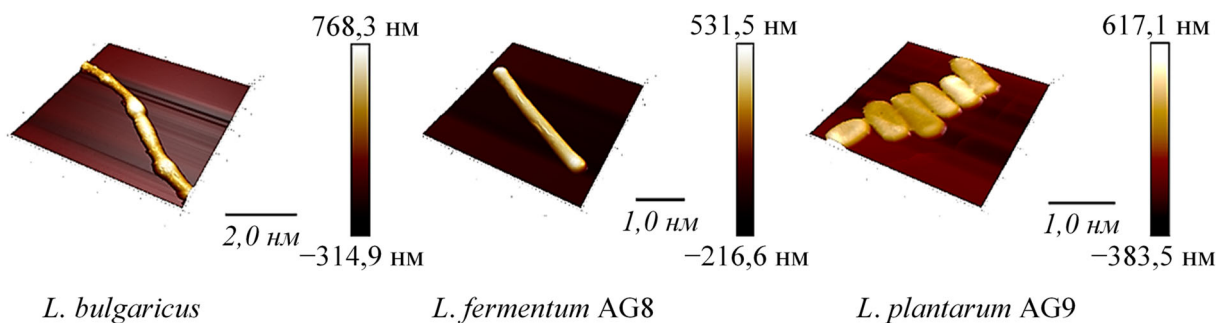


Рисунок 3 – Микрофотографии сканирующей силовой микроскопии клеток

Таблица 1 – Структурно-механические свойства клеток лактобацилл

Штамм	Сила адгезии, нН	Деформация, нм
<i>L. bulgaricus</i>	3,340	5,40
<i>L. fermentum</i> AG8	0,472	0,36
<i>L. plantarum</i> AG9	0,630	2,40

Высокая гидрофобность клеток AG8 и AG9 (30–60 %) в сравнении с *L. bulgaricus* (25 %) может напрямую характеризовать их высокую способность к прикреплению к стенкам кишечника (рисунок 4). Автоагрегация штаммов AG8 и AG9 через 24 ч составила 50–65 %.

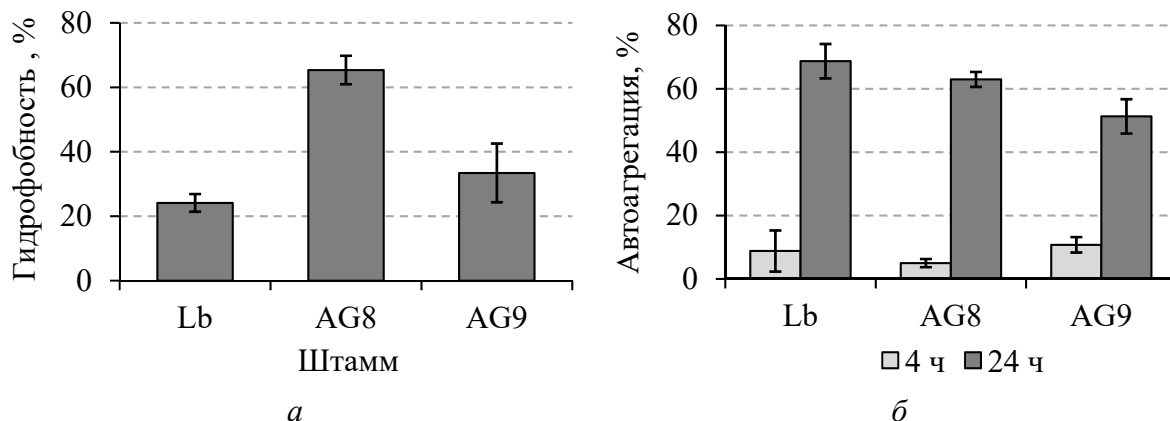


Рисунок 4 – Гидрофобность (а) и автоагрегация (б) клеток лактобацилл, выращенных на среде МРС

Хорошие пробиотические свойства штаммов обусловлены способностью выживать при различных концентрациях хлорида натрия, в кислой среде, желчи и соке ЖКТ (рисунок 5).

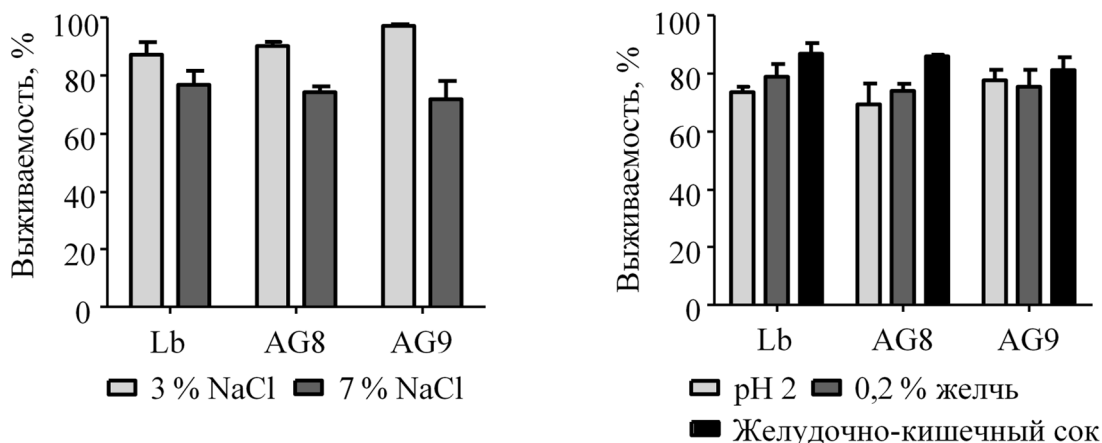


Рисунок 5 – Влияние различных факторов на выживаемость штаммов молочнокислых бактерий, выращенных на среде МРС

Оценивали синтез ряда метаболитов при культивировании на разных средах. Среду с молочной сывороткой использовали для моделирования условий сквашивания молока (рисунок 6).

На обеих средах метаболизм глюкозы штаммами AG8 и AG9 происходил активнее в сравнении с *L. bulgaricus*. Количество ЭПС, выделяемых на среде с молочной сывороткой, в несколько раз выше в сравнении со средой МРС.

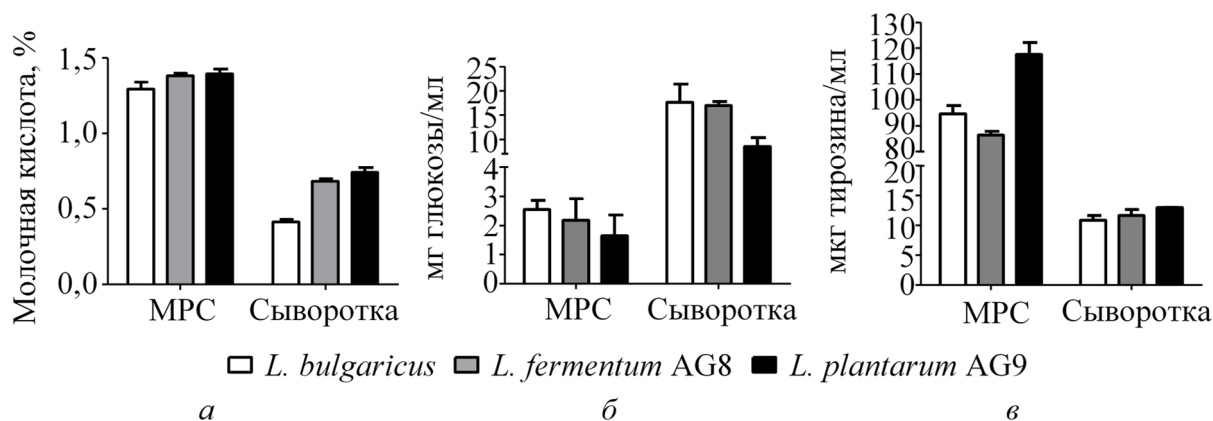


Рисунок 6 – Количество молочной кислоты (а), количество ЭПС (б), общее количество фенольных соединений (ОКФС) (в) в культуральной жидкости

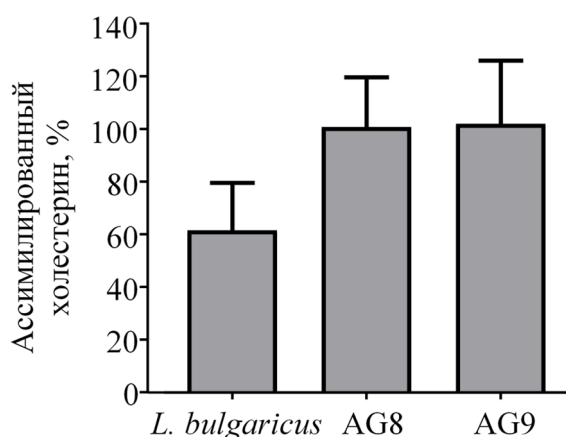


Рисунок 7 – Холестерин-ассимилирующая активность клеток МКБ после выращивания на MPC

Фенольные соединения представлены ароматическими аминокислотами, которые высвобождаются из молочного матрикса, а также целым комплексом вновь синтезируемых метаболитов. Наибольшее количество ОКФС продуцировал AG9 на среде MPC.

Клетки AG8 и AG9 ассимилировали около 70 % холестерина, *L. bulgaricus* – только 45 % (рисунок 7).

Выявлены высокие антиоксидантные свойства культуральной жидкости. Радикал-связывающая активность среды MPC от 60 % до 70 %, среды на молочной сыворотке –

до 20 % (рисунок 8). Гидроксилрадикал-связывающая активность достигала 40 % на обеих средах. Максимальная восстанавливающая активность у *L. bulgaricus* на обеих средах.

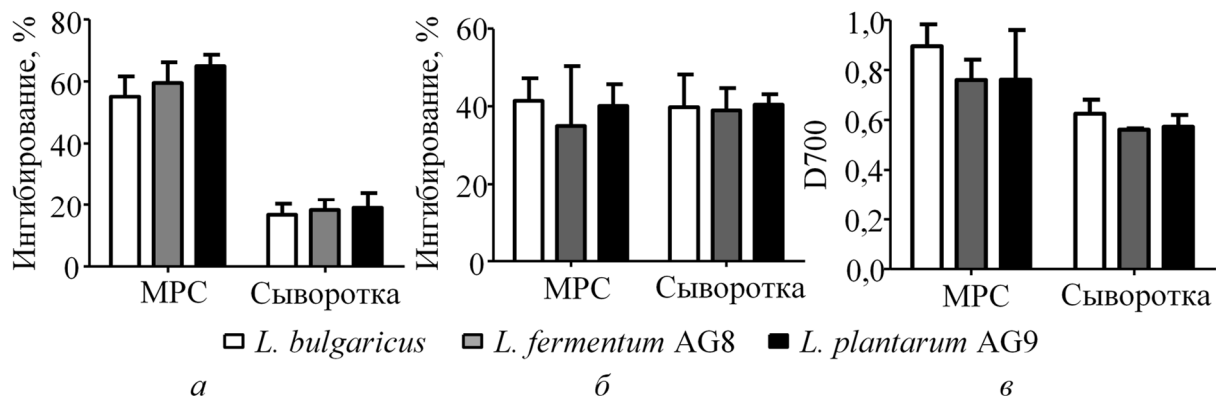


Рисунок 8 – Радикал-связывающая (а), гидроксилрадикальная (б) и восстановительная активность (в) культуральной жидкости

Пищевой матрицей служило обезжиренное молоко, сквашенное *L. fermentum* AG8 или *L. plantarum* AG9. На 14-е сутки хранения в образцах с AG8 и AG9 в сравнении с *L. bulgaricus* выявлена меньшая кислотность, больше белка; ниже количество углеводов и глюкозы (таблица 2). Штаммы AG8 и AG9 более активно метаболизируют углеводы, но выделяют меньше молочной кислоты, что объясняется гетероферментативным типом брожения.

Таблица 2 – Характеристика пищевой матрицы (сквашенного обезжиренного молока) на 14-е сутки хранения

Образец	Титруемая кислотность, °Т	Белки, %	Углеводы, %	Глюкоза, ммоль/л
<i>L. bulgaricus</i>	135,5 ± 4,2	3,71 ± 0,50	4,59 ± 0,15	5,20 ± 0,57
AG8	98,5 ± 2,8	3,83 ± 0,21	4,31 ± 0,16	4,80 ± 0,85
AG9	98,3 ± 1,1	3,77 ± 0,04	4,03 ± 0,33	4,30 ± 0,71

Количество МКБ в образцах с AG8 и AG9 на протяжении хранения на один порядок выше, чем в варианте с *L. bulgaricus*. При хранении ЭПС в сквашенном молоке накапливались, но в образцах с AG8 и AG9 их количество больше в сравнении с образцом с *L. bulgaricus* (рисунок 9).

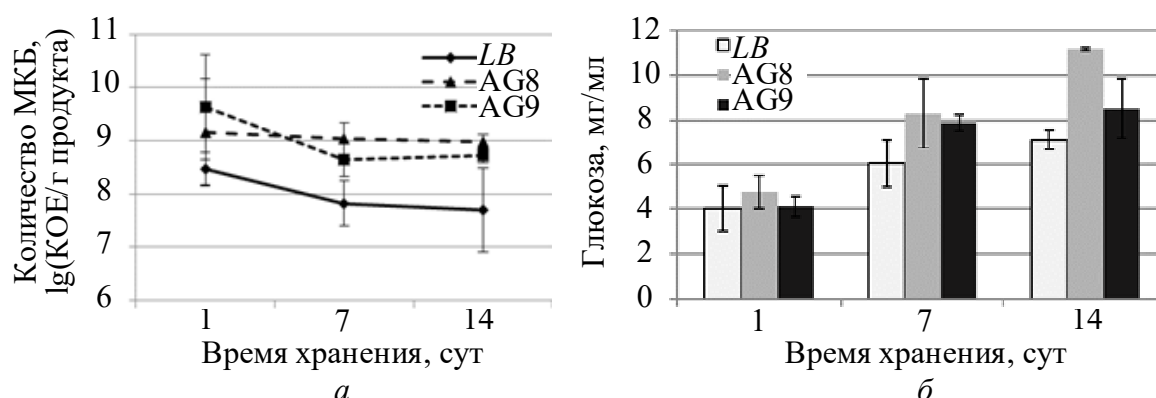


Рисунок 9 – Количество МКБ разных штаммов (а) и ЭПС (б) в процессе хранения сквашенного молока

Выявлено положительное влияние на структурно-механические свойства матрицы. На 14-е сутки хранения эффективная вязкость неразрушенного сгустка и ВУС образцов AG8 и AG9 выше, чем в варианте с *L. bulgaricus*, коэффициент потери вязкости и синерезис ниже (таблица 3).

Таблица 3 – Структурно-механические свойства пищевой матрицы на 14-е сутки хранения

Показатель	<i>L. bulgaricus</i>	AG8	AG9
Вязкость сгустка, мПа/с	1160 ± 226	1590 ± 99	1820 ± 481
Коэффициент потери вязкости, %	50,0 ± 11,3	37,3 ± 0,3	48,3 ± 1,2
Синерезис, %	22,66 ± 9,36	15,21 ± 6,2	14,43 ± 7,34
ВУС, %	35,53 ± 1,09	34,15 ± 2,37	38,01 ± 3,11

С точки зрения полезности новых штаммов выявлено, что восстановительная сила и радикал-связывающая активность сквашенного AG8 и AG9 молока выше в сравнении с *L. bulgaricus* (рисунок 10).

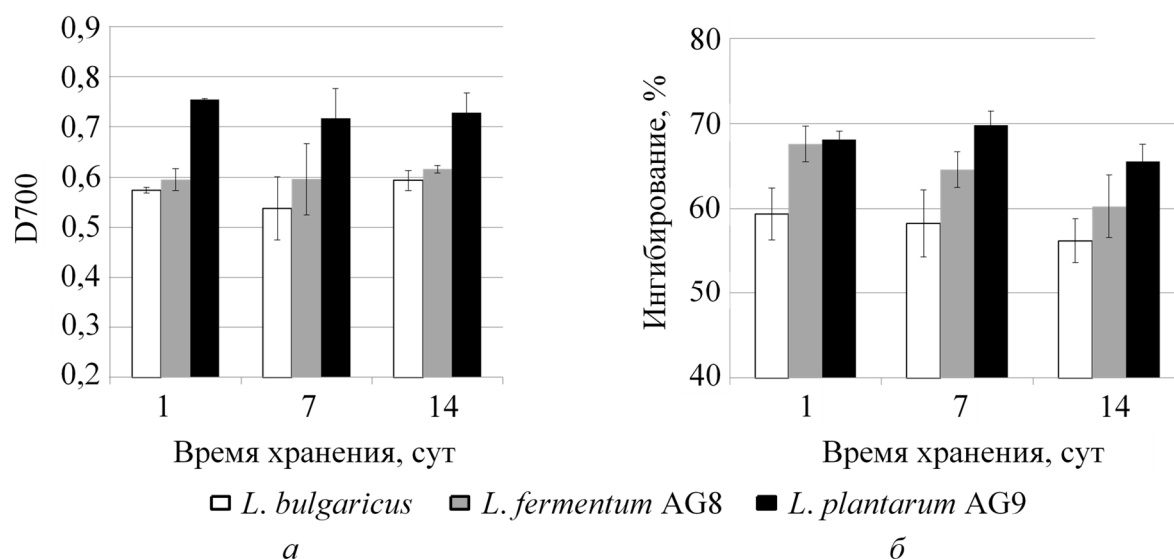


Рисунок 10 – Восстановительная сила (а) и радикал-связывающая активность (б) пищевой матрицы

В ЭПС *L. bulgaricus* преобладали галактоза и глюкоза (рисунок 11). В ЭПС AG9 также преобладали галактоза и глюкоза, но в противоположных соотношениях, в ЭПС AG8 – фруктоза и галактуроновая кислота; эти различия обусловили особенности в морфологической структуре.

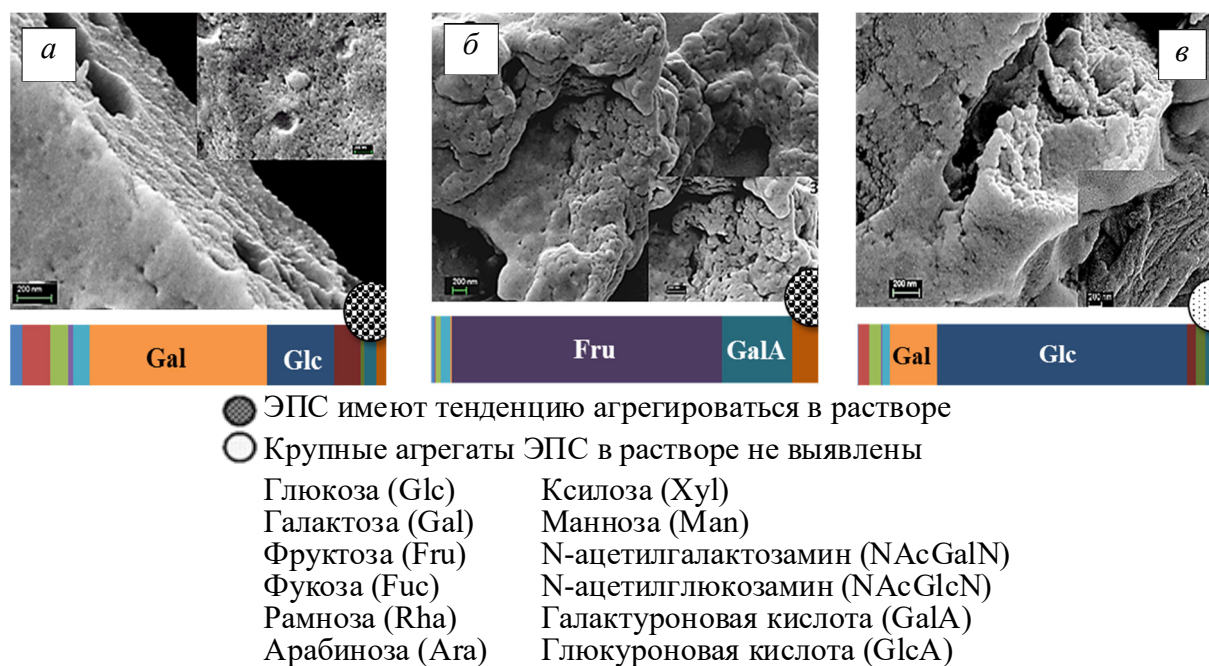


Рисунок 11 – Микрофотографии ЭПС, выделенных из пищевой матрицы: *L. bulgaricus* (а), *L. fermentum* AG8 (б), *L. plantarum* AG9 (в)

Различным химическим составом ЭПС можно объяснить разницу в антиоксидантных свойствах (рисунок 12).

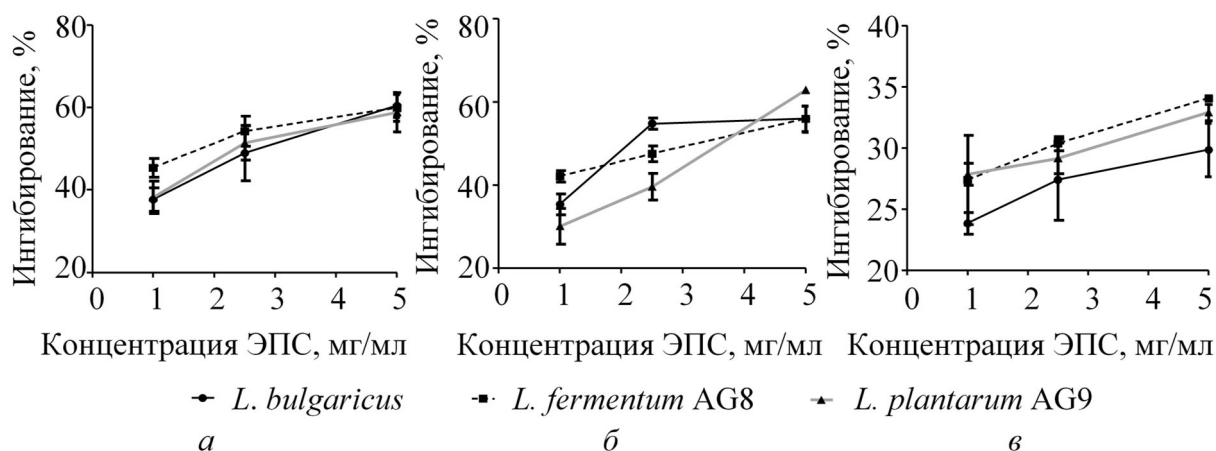


Рисунок 12 – Радикал-связывающая (а), гидроксилрадикал-связывающая (б) и супероксиданион-связывающая активность (в) ЭПС, выделенных из пищевой матрицы

Для подтверждения безопасности сквашенного молока проводили исследования на крысах-самцах линии Вистар. Увеличение показателей роста в группах AG8 и AG9 говорит о повышении усвояемости питательных веществ (таблица 4). О снижении воспалительных процессов свидетельствует снижение лейкоцитов крови в группе AG9; кроме того, в данной группе максимальное количество эритроцитов и тромбоцитов.

Таблица 4 – Влияние пищевой матрицы на коэффициент усвоения корма, вес и гематологические показатели на 42-е сутки эксперимента

Показатель	Контроль	AG8	AG9
Коэффициент усвоения корма, %	4255	3105	3298
Прибавка в весе, г	117,32 ± 12,53	187,76 ± 33,34	166,98 ± 10,78
Лейкоциты, 10 ⁹ /L	8,73 ± 1,16	9,85 ± 3,89	5,68 ± 4,77
Эритроциты, 10 ¹² /L	7,86 ± 1,62	7,98 ± 2,48	8,80 ± 1,58
Тромбоциты, 10 ⁹ /L	272,80 ± 100,82	326,40 ± 133,25	505,20 ± 242,58

Количество липопротеидов высокой и низкой плотности (ЛПВП и ЛПНП) и количество холестерина понижалось в группах AG8 и AG9 в сравнении с контрольной (рисунок 13). Это свидетельствует о положительном влиянии на липидный обмен млекопитающих. Минимальное значение АЛТ у группы AG8, АСТ – у групп AG8 и AG9.

С учетом положительного влияния на печеночные пробы проведен анализ окисленности печени. Более низкие значения показателей в группах AG8 и AG9 в сравнении с контрольной свидетельствуют об уменьшении окислительного стресса (рисунок 14).

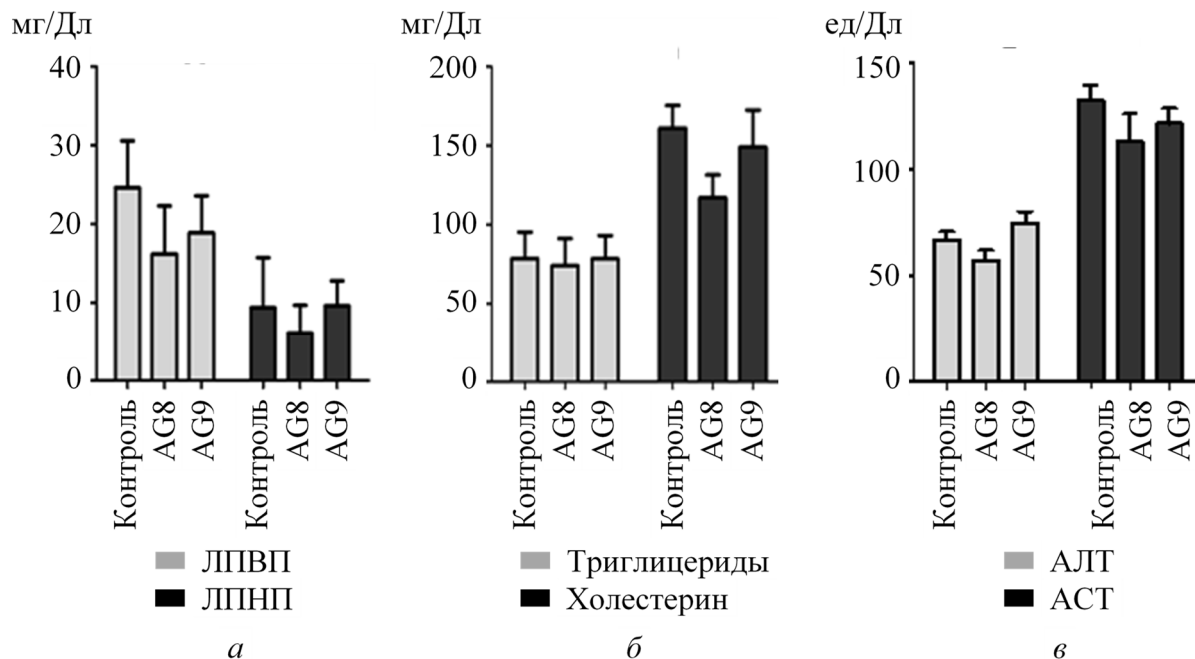


Рисунок 13 – Влияние штаммов в составе пищевой матрицы на биохимические показатели липидного обмена крыс:
a – ЛПВП и ЛПНП; *б* – триглицериды и холестерин; *в* – АЛТ и АСТ

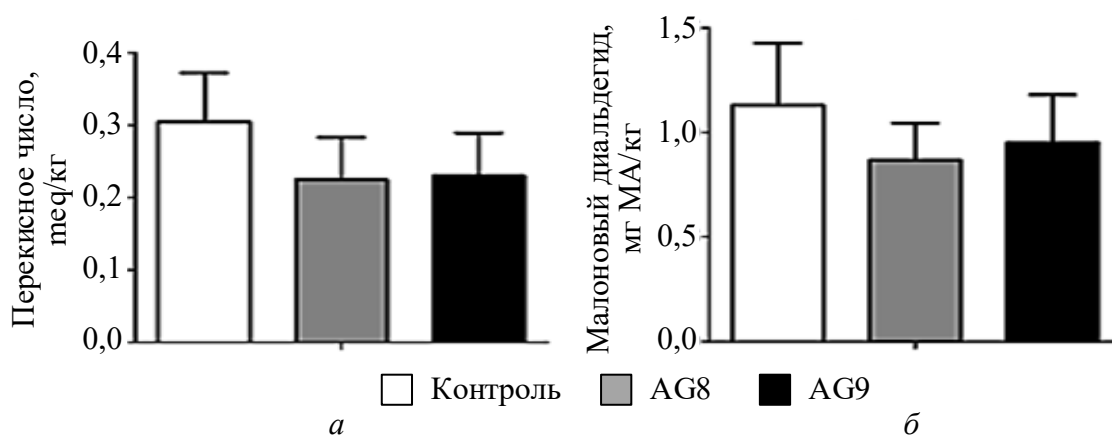


Рисунок 14 – Показатели окисленности печени крыс:
a – перекисное число; *б* – тиобарбитуровое число

В четвертой главе представлены результаты выявления эффектов штаммов *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9 при получении пробиотических йогуртов и сметаны; исследованы их состав, физические, текстурные, органолептические и антиоксидантные свойства. Разработаны принципиальные схемы производства пробиотических йогуртов и сметаны.

Пищевой матрицей служили обезжиренный классический йогурт (закваска *L. bulgaricus* и *S. thermophilus*) и йогурты с добавлением штаммов AG8 или AG9. Выявлено снижение объемов накопления молочной кислоты при хранении в йогуртах с AG8 и AG9 и более интенсивное накопление ЭПС (рисунок 15).

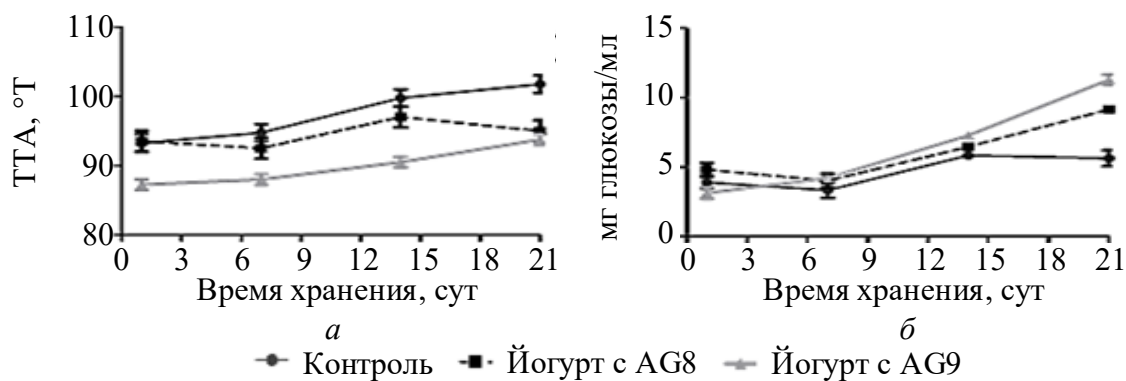


Рисунок 15 – Титруемая кислотность (а) и количество ЭПС (б) в йогуртах

На 21-е сутки хранения в йогуртах с AG8 и AG9 выявлено большее количество легкоусвояемых сывороточных белков, чем в йогурте-контроле. Вероятно, это связано с ингибированием протеолитических процессов при добавлении штаммов к классической закваске.

Добавление пробиотических штаммов улучшало текстуру продуктов. Минимальное значение синерезиса и максимальную ВУС имел йогурт с AG9 (рисунок 16).

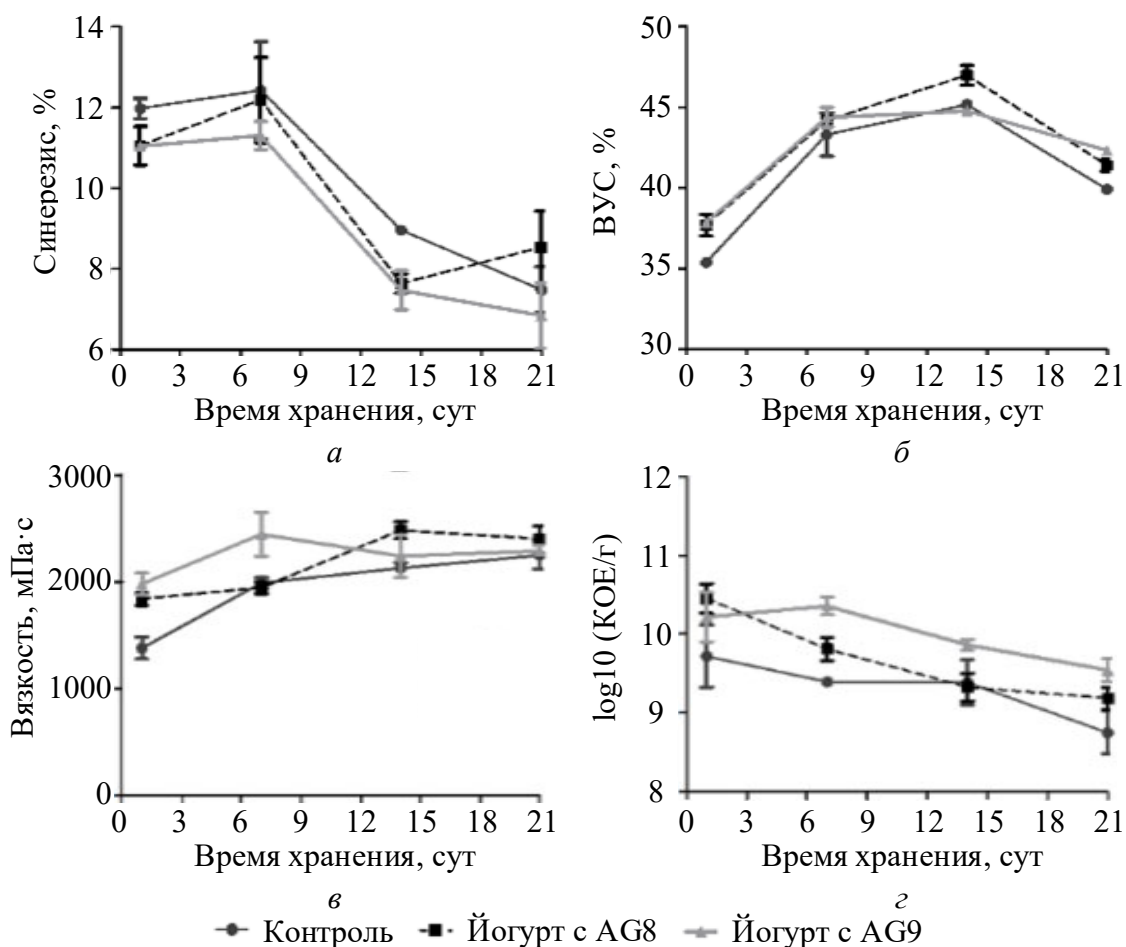


Рисунок 16 – Синерезис (а), ВУС (б), динамическая вязкость (в) и численность МКБ (з) в йогуртах

У йогуртов с AG8 и AG9 более высокие значения вязкости. Количество МКБ в образцах с AG8 и AG9 на протяжении всего времени хранения выше, чем в варианте с *L. bulgaricus*.

Внесение штаммов в йогурт не привело к ухудшению микробиологических показателей. Анализ органолептических свойств показал улучшение вкуса, запаха и консистенции йогуртов с AG8 и AG9. Физико-химические показатели продуктов соответствовали требованиям ГОСТ 31981-2013 (таблица 5).

Таблица 5 – Органолептические свойства и соответствие физико-химических показателей йогуртов требованиям ГОСТ 31981-2013 (21 сут хранения)

Показатель	Норма	Йогурт	Йогурт с AG8	Йогурт с AG9
Органолептические свойства				
Внешний вид (0–5)	–	$4,89 \pm 0,33$	$4,89 \pm 0,33$	$4,77 \pm 0,44$
Вкус и запах (0–10)	–	$6,44 \pm 0,53$	$7,88 \pm 0,93$	$8,11 \pm 0,78$
Консистенция (0–5)	–	$3,44 \pm 0,53$	$4,22 \pm 0,44$	$4,70 \pm 0,44$
Сумма (0–20)	–	$14,77 \pm 1,39$	$16,99 \pm 1,70$	$17,58 \pm 1,66$
Соответствие физико-химических показателей требованиям ГОСТ 31981-2013				
Массовая доля белка, %	Не менее 3,2	$3,88 \pm 0,04$	$3,90 \pm 0,08$	$3,95 \pm 0,05$
СОМО, %	Не менее 9,5	$9,71 \pm 0,26$	$9,83 \pm 0,37$	$9,88 \pm 0,23$
Кислотность, °Т	От 75 до 140 включительно	$101,75 \pm 1,77$	$95,00 \pm 2,12$	$93,75 \pm 1,06$
Фосфатаза или пероксидаза	Отсутствие	Отсутствие		

На рисунке 17 приведена принципиальная схема производства йогурта с учетом требований ХАССП. Выявили факторы, необходимые для учета:

- органолептические – цвет, запах, консистенция, вкус (a);
- физико-химические – температура, кислотность, плотность, вязкость и другие (b);
- микробиологические – количество КМАФАнМ, БГКП (количества), патогенных микроорганизмов *Salmonella*, *L. monocytogenes*, *S. aureus* (c).

Аналогичная схема разработана для сметаны.

По традиционной технологии была получена классическая сметана (15 % жира) на основе лактококков (закваска *L. lactis*, *L. cremoris*, *L. diacetylactis*) и сметана с AG9; также были изготовлены сливки, сквашенные только AG9.

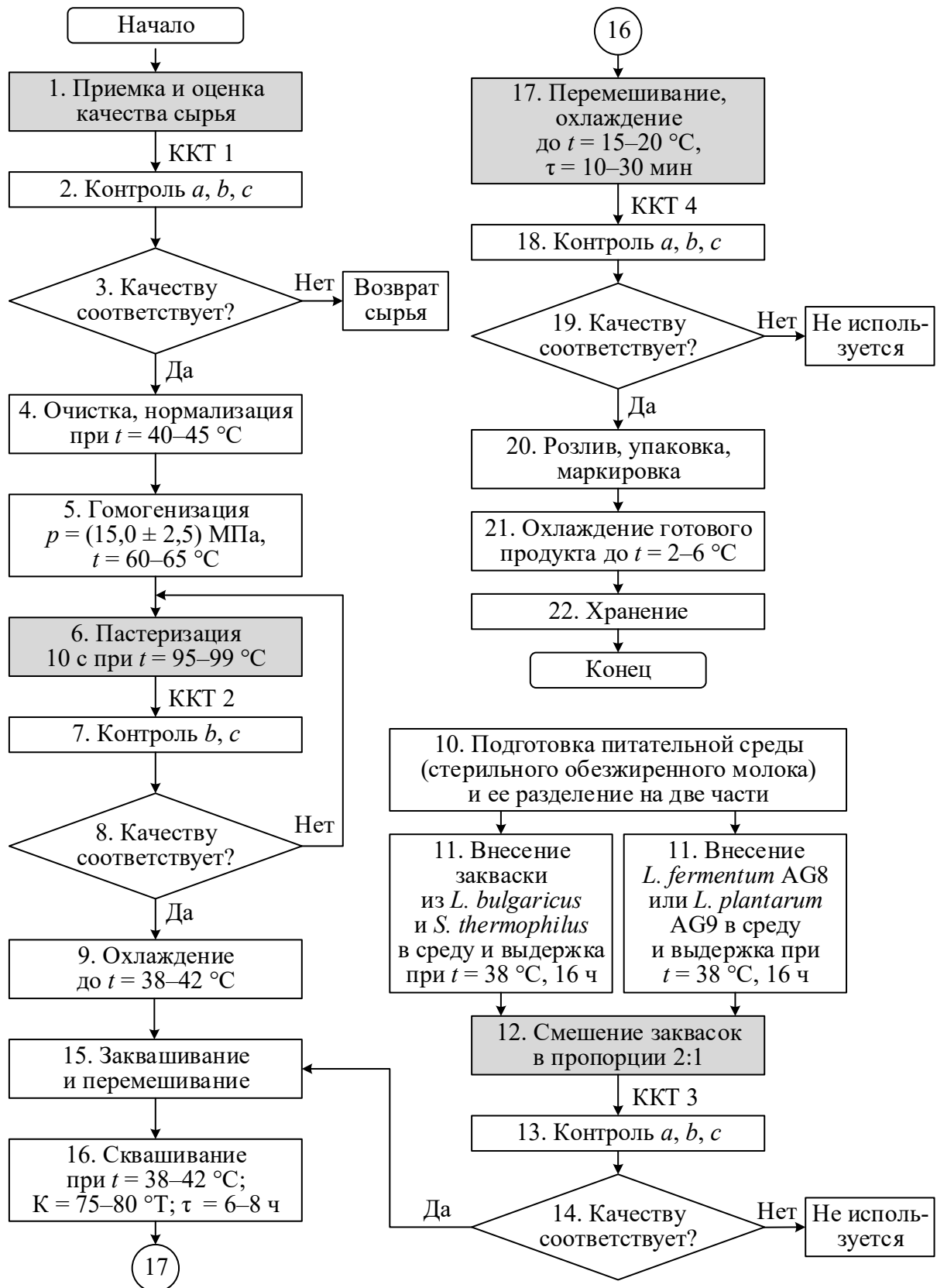


Рисунок 17 – Принципиальная схема производства обезжиренного продукта «Пробиойогурт» со штаммом *L. fermentum* AG8 или *L. plantarum* AG9 с учетом требований ХАССП

Титруемая кислотность сметаны с AG9 была ниже, чем у классического варианта (рисунок 18), здесь же максимально накопление ЭПС.

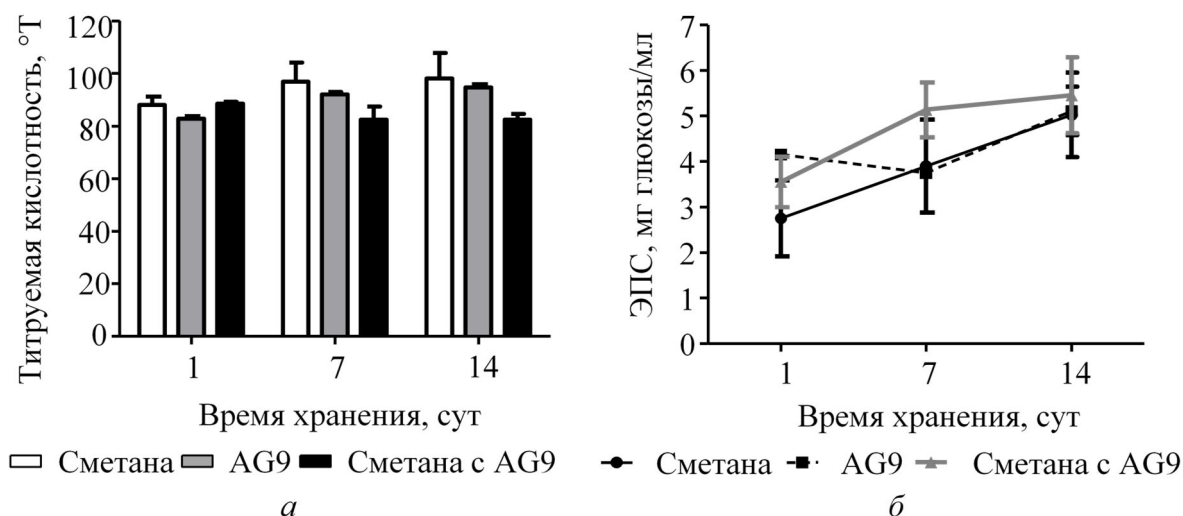


Рисунок 18 – Титруемая кислотность (а) и количество ЭПС (б) в сквашенных сливках и сметане

Максимальные значения радикал-связывающей активности у образца с монозакваской AG9, минимальные – у классической сметаны, промежуточные значения у сметаны с добавлением AG9 (рисунок 19); характер восстанавливающей активности был аналогичным.

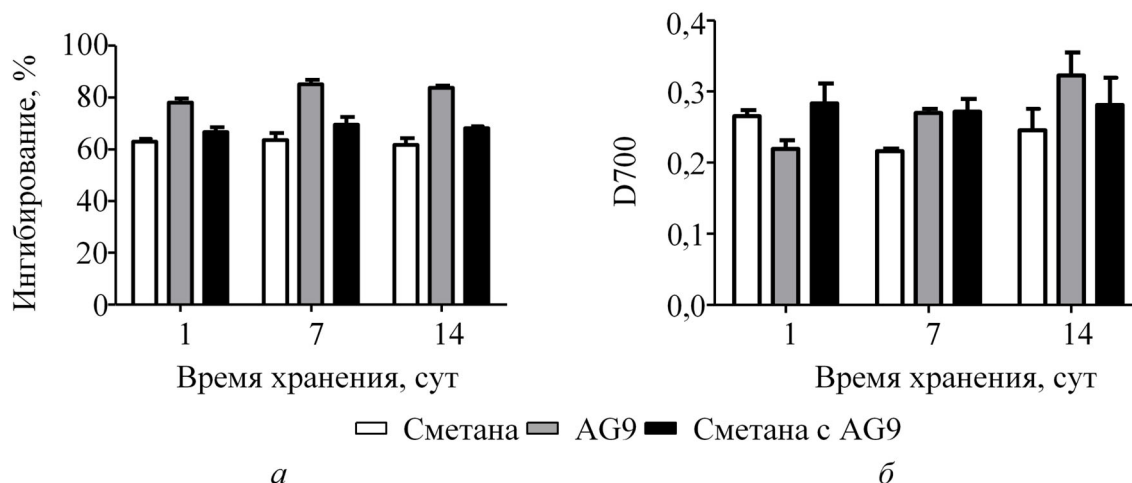


Рисунок 19 – Радикал-связывающая (а) и восстанавливающая активность (б) сквашенных сливок и сметаны

Органолептические характеристики продукта с AG9 оказались невысокими, выявили песчанистую консистенцию. Вкус и запах сметаны с добавлением AG9 описали как менее кислотный, консистенцию – как более густую в сравнении с классическим вариантом (таблица 6). Это объясняли уменьшением постзакислительных процессов и увеличенным продуцированием ЭПС. Рекомендуется применение штамма *L. plantarum* AG9 совместно

с классической сметанной закваской. Физико-химические показатели продуктов соответствовали требованиям ГОСТ 31452. Внесение штамма *L. plantarum* AG9 не привело к ухудшению микробиологических показателей продукта через 14 сут хранения при 4 °С.

Таблица 6 – Органолептические свойства и соответствие физико-химических показателей сметаны требованиям ГОСТ 31452-2012 (14 сут хранения)

Показатель	Норма	Сметана	AG9	Сметана с AG9
Органолептические свойства				
Внешний вид (0–5)	–	4,77 ± 0,44	4,66 ± 0,50	4,77 ± 0,44
Вкус и запах (0–10)	–	7,11 ± 0,60	5,77 ± 0,44	8,00 ± 0,50
Консистенция (0–5)	–	3,88 ± 0,33	3,11 ± 0,33	4,66 ± 0,50
Сумма (0–20)	–	16,76 ± 1,37	13,54 ± 1,27	17,43 ± 1,44
Соответствие физико-химических показателей требованиям ГОСТ 31981-2013				
Массовая доля белка, %	Не менее 2,6	2,82 ± 0,04	2,84 ± 0,06	2,84 ± 0,02
Кислотность, °Т	От 65 до 100 включительно	100,00 ± 1,25	94,60 ± 1,20	82,50 ± 2,10
Фосфатаза или пероксидаза	Отсутствие	Отсутствие		

С учетом антиоксидантных свойств проведен анализ окисленности жира. Выявлено наименьшее значение перекисного числа, свободных жирных кислот и малонового диальдегида в сметане с добавлением AG9 (рисунок 20).

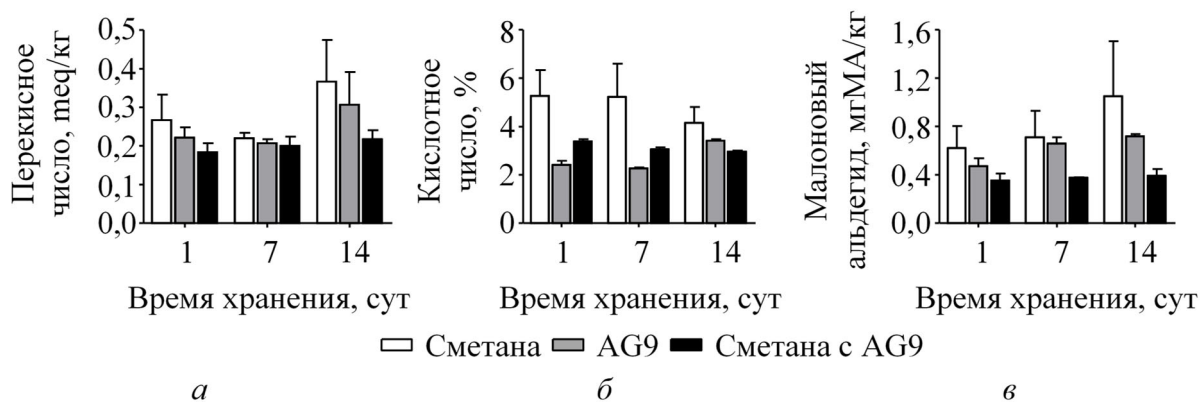


Рисунок 20 – Динамика перекисного числа (а), свободных жирных кислот (б), малонового диальдегида (в) в продуктах

Применение штамма *L. plantarum* AG9, обладающего комплексом антиоксидантных свойств, положительно сказывается на сохранности молочного жира, что перспективно для увеличения срока хранения продукта.

В результате предложена аппаратурно-процессовая схема производства йогурта и сметаны. Результаты позволяют рекомендовать применение штаммов *L. fermentum* AG8 или *L. plantarum* AG9 в качестве пробиотиче-

ской сокультуры с классическими промышленными заквасками для йогурта и сметаны. Применение штаммов позволяет улучшить органолептические и антиоксидантные свойства КМП. Прибыль от реализации 1 т продукции составляет 12 794,53 р., уровень рентабельности – 14,6 %.

Заключение

1. Оценка пробиотического потенциала новых штаммов *Limosilactobacillus fermentum* AG8 и *Lactiplantibacillus plantarum* AG9 показала высокую гидрофобность (30–60 %), автоагрегацию (50–65 %) и устойчивость к кишечному и желудочному соку; выявлена высокая антибиотикорезистентность к цефтриаксону, цефокситину, амоксициллину. Штаммы *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9 являются активными кислотообразователями в условиях среды МРС и среды на основе молочной сыворотки, проявляют протеолитическую активность; комплекс продуктов метаболизма обладает высокими антиоксидантными свойствами, клетки проявляют высокую липолитическую и холестерин-ассимилирующую активность.

2. Выявлено, что при сквашивании обезжиренного молока *L. fermentum* AG8 или *L. plantarum* AG9 синтезируется меньше молочной кислоты, но более активно утилизируются углеводы, накапливается больше экзополисахаридов в сравнении с *L. bulgaricus*. Под действием *L. fermentum* AG8 или *L. plantarum* AG9 формируется кисломолочный сгусток с меньшим синерезисом, большей вязкостью и влагоудерживающей способностью, сгусток сочетает в себе твердость с эластичностью и упругостью. Штаммы *L. fermentum* AG8 или *L. plantarum* AG9 формируют комплекс антиоксидантных свойств сквашенного молока с повышенной восстановительной и радикал-связывающей активностью.

3. Выявлены различия углеводного состава ЭПС: у *L. fermentum* AG8 преобладает фруктоза (69,9 моль%), а у *L. plantarum* AG9 – глюкоза (69,18 моль%). Различалась микроструктура: ЭПС *L. fermentum* AG8 склонны к агрегации в растворе и образованию губчатых структур, ЭПС *L. plantarum* AG9 образуют губчатые и нитевидные участки.

4. В доклинических исследованиях выявлено положительное влияние молока, сквашенного новыми пробиотическими штаммами *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9, на показатели здоровья крыс: улучшились показатели роста на 40–60 %, снизилось количество ЛПНП (у группы AG8 на 3 мг/дл меньше контроля) и общего холестерина (на 30–40 мг/дл), снизилось содержание АЛТ и билирубина по сравнению с контролем. В тканях печени снижалось перекисное и тиобарбитуровое число. Обосновано применение штаммов *L. fermentum* AG8 или *L. plantarum* AG9 в технологии пробиотических кисломолочных продуктов в качестве сокультуры.

5. Органолептическая оценка йогуртов с добавлением штаммов *L. fermentum* AG8 или *L. plantarum* AG9 на 2–3 балла выше, чем у контроля,

что связано с улучшением консистенции продукта и менее кислым вкусом. Применение *L. fermentum* AG8 или *L. plantarum* AG9 в пробиотических йогуртах стабилизировало постзакислительные процессы, позволяло сохранить больше белка, увеличить накопление ЭПС в 2 раза при хранении. Инструментальными методами показано, что сокультуры *L. fermentum* AG8 или *L. plantarum* AG9 повышают эластичность, когезию, адгезию, ВУС и вязкость, снижают синерезис пробиотического йогурта. *L. fermentum* AG8 или *L. plantarum* AG9 в составе йогурта повышают восстановительную и радикал-связывающую активность по сравнению с классическим йогуртом. Усовершенствована схема производства пробиотического йогурта «Пробиойогурт» с учетом требований ХАСПП.

6. Применение *L. plantarum* AG9 в технологии пробиотической сметаны снижает постзакислительные процессы при хранении, обеспечивает стабильность показателя титруемой кислотности (ниже контроля на 20 °Т). Органолептическая оценка сметаны с *L. plantarum* AG9 на (0,67 ± 0,07) балла выше, чем у контроля, за счет улучшения консистенции. В сметане с *L. plantarum* AG9 накапливается больше ЭПС, лучше сохраняется белок, менее выражены протеолитические процессы; антиоксидантные свойства (радикал-связывающая и восстановительная активность) выше контроля; лучше сохраняется молочный жир – снижается накопление перекисей, свободных жирных кислот и малонового диальдегида. Предложена схема производства пробиотической сметаны «Пробиосметана» с учетом требований ХАСПП.

Список работ, опубликованных автором по теме диссертации

Статьи в изданиях, входящих

в Перечень ведущих рецензируемых научных изданий ВАК РФ

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

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

3. 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.

Публикации в изданиях, входящих в международные реферативные базы данных и системы цитирования

4. 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, no. 6. – Art. 290.

5. 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, no. 2. – Art. 197.

6. 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. 486, no. 9. – Art. 486.

7. 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, **T. Petrova** [et al.] // International journal of biological macromolecules. – 2024. – Vol. 281, pt. 1. – Art. 136092.

8. Sungatullina, A. Investigation on fermented milk quality after the addition of flaxseed mucilage and the use of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Lactiplantibacillus plantarum* AG9 / A. Sungatullina, **T. Petrova**, E. Nikitina // Frontiers in bioscience. – 2024. – Vol. 16, no. 2. – Art. 11.

Прочие публикации

9. **Петрова, Т. А.** Влияние штаммов *Lactobacillus fermentum* AG 8 и *Lactobacillus plantarum* AG 9 на физико-химические характеристики и вязкость обезжиренного йогурта / Т. А. Петрова, Е. В. Никитина // Пищевые технологии и биотехнологии : материалы XVII Всерос. конф. молодых ученых, аспирантов и студентов с междунар. участием (Казань, 20–23 апр. 2021 г.). – Казань : КНИТУ, 2021. – С. 653–658.

10. **Петрова, Т. А.** Перспектива использования штамма *Lactobacillus fermentum* AG 16 в технологии функциональных продуктов / Т. А. Петрова, Г. А. Бахитова, Е. В. Никитина // Пищевые технологии будущего: инновации в производстве и переработке сельскохозяйственной продукции : сб. ст. II Междунар. науч.-практ. конф. в рамках междунар. науч.-практ. форума, посвященного Дню Хлеба и соли (Саратов, 24–25 марта 2021 г.). – Саратов : Центр социальных агроинноваций СГАУ, 2021. – С. 399–402.

11. **Петрова, Т. А.** Взаимовлияние пробиотических штаммов лактобацилл и льняной слизи при использовании в производстве молочнокислых напитков / Т. А. Петрова, А. Р. Сунгатуллина, Е. В. Никитина // Фундаментальные аспекты и практические вопросы современной микробиологии и биотехнологии : материалы Нац. науч.-практ. конф. с междунар. участием (Ульяновск, 29 сент. 2022 г.). – Ульяновск : УлГАУ им. П. А. Столыпина, 2022. – С. 389–396.

12. **Петрова, Т. А.** Влияние штамма *Lactobacillus plantarum* AG9 на химические показатели и текстуру сметаны / Т. А. Петрова, Г. А. Бахитова, Е. В. Никитина // Проблемы развития современного общества : сб. науч. ст. 7-й Всерос. нац.

науч.-практ. конф. (Курск, 20–21 янв. 2022 г.) : в 5 т. – Курск : ЮЗГУ, 2022. – Т. 5. – С. 26–30.

13. **Петрова, Т. А.** Влияние льняной слизи на текстурные свойства молока, сквашенного разными молочнокислыми бактериями / Т. А. Петрова, А. Р. Сунгатуллина // Проблемы и перспективы развития России: молодежный взгляд в будущее : сб. науч. ст. 5-й Всерос. науч. конф. (Курск, 20–21 окт. 2022 г.) : в 4 т. – Курск : ЮЗГУ, 2022. – Т. 3. – С. 316–319.

14. **Петрова, Т. А.** Метаболические свойства штаммов *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9: липолитическая активность и холестерин ассимилирующая активность / Т. А. Петрова, Г. О. Ежкова, Е. В. Никитина // Пищевые технологии и биотехнологии : материалы XVIII Всерос. конф. молодых ученых, аспирантов и студентов с междунар. участием (Казань, 18–21 апр. 2023 г.). – Казань : КНИТУ, 2023. – С. 655–658.

15. **Петрова, Т. А.** Влияние незаквасочного пробиотического штамма на качество сметаны / Т. А. Петрова, Е. В. Никитина // Наука молодых – будущее России : сб. науч. ст. 9-й Междунар. науч. конф. перспективных разработок молодых ученых (Курск, 12–13 дек. 2024 г.) : в 5 т. – Курск : Университетская книга, 2024. – Т. 4. – С. 47–50.

Список сокращений и условных обозначений

АЛТ – аланинаминотрансфераза.

АСТ – аспартатаминотрансфераза.

ВУС – влагоудерживающая способность.

КМП – кисломолочный продукт.

ЛПВП – липопротеин высокой плотности.

ЛПНП – липопротеин низкой плотности.

м.д.ж. – массовая доля жира.

МКБ – молочнокислые бактерии.

МРС – питательная среда, бульон де Мана, Рогозы и Шарпа.

ОКФС – общее количество фенольных соединений.

ССМ – сканирующая силовая микроскопия.

СЭМ – сканирующая электронная микроскопия.

ЭПС – экзополисахариды.

Подписано в печать 04.04.2025.
Формат $60 \times 84 \frac{1}{16}$. Гарнитура Таймс. Бумага офсетная. Печать плоская.
Уч.-изд. л. 1,0. Тираж 100 экз. Заказ

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