

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

На правах рукописи



Петрова Татьяна Александровна

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

Специальность 4.3.3. Пищевые системы

Диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук

Научный руководитель:
кандидат биологических наук, доцент
Никитина Елена Владимировна

Казань – 2025

Оглавление

Введение.....	5
1 Обзор литературы.....	12
1.1 Современные тенденции в технологии кисломолочных продуктов	13
1.2 Свойства молочнокислых бактерий и их применение в пищевой промышленности	17
1.2.1 Применение молочнокислых бактерий в пищевой промышленности	17
1.2.2 Пробиотические микроорганизмы.....	18
1.2.3 Заквасочные и незаквасочные пробиотические бактерии для производства КМП	20
1.2.4 Антиоксидантные свойства молочнокислых бактерий	25
1.3 Экзополисахариды молочнокислых бактерий и текстурные свойства кисломолочных продуктов.....	27
Заключение по обзору литературы	29
2 Материалы и методы собственных исследований.....	31
2.1 Используемые в работе молочнокислые бактерии.....	32
2.2 Методики изучения пробиотических свойств	33
2.3 Изготовление кисломолочных продуктов.....	37
2.4 Доклинические исследования обезжиренного молока, сквашенного штаммами <i>L. fermentum</i> AG8 и <i>L. plantarum</i> AG9, в системе <i>in vivo</i>	38
2.5 Исследование состава, физических, текстурных и органолептических свойств КМП	39
2.6 Методы тестирования антиоксидантных свойств КМП.....	43
2.7 Статистический анализ.....	44
3 Результаты исследований и обсуждение	45
3.1 Характеристика клеток <i>L. fermentum</i> AG8, <i>L. plantarum</i> AG9 и <i>L. bulgaricus</i> и их пробиотического, метаболического и антиоксидантного потенциала.....	45

3.2 Исследование потенциала штаммов <i>L. fermentum</i> AG8 и <i>L. plantarum</i> AG9 сквашивать обезжиренное молоко	57
3.2.1 Характеристика состава и физических свойств сквашенного молока	57
3.2.2 Текстурные свойства сквашенного молока.....	61
3.2.3 Антиоксидантные и антимикробные свойства сквашенного молока	64
3.2.4 Особенности экзополисахаридов, синтезированных молочнокислыми бактериями при сквашивании молока.....	66
3.3 Доклинические исследования обезжиренного молока, сквашенного штаммами <i>L. fermentum</i> AG8 и <i>L. plantarum</i> AG9, в системе <i>in vivo</i>	72
4 Разработка технологии пробиотических йогуртов и сметаны с новыми штаммами <i>L. fermentum</i> AG8 и <i>L. plantarum</i> AG9	80
4.1 Влияние <i>L. fermentum</i> AG8 и <i>L. plantarum</i> AG9 на йогурты.....	80
4.1.1 Состав и физические свойства йогуртов	80
4.1.2 Текстурные свойства йогуртов.....	84
4.1.3 Органолептические свойства йогуртов	86
4.1.4 Оценка соответствия йогуртов нормативной документации	88
4.1.5 Антиоксидантные свойства йогуртов.....	89
4.1.6 Разработка принципиальной схемы производства йогурта с <i>L. fermentum</i> AG8 и <i>L. plantarum</i> AG9 с учетом требований ХАССП	92
4.2 Разработка технологии пробиотической сметаны со штаммом <i>L. plantarum</i> AG9.....	97
4.2.1 Состав и физические свойства сквашенных сливок и сметаны.....	98
4.2.2 Органолептические свойства сквашенных сливок и сметаны.....	101
4.2.3 Оценка соответствия сквашенных сливок и сметаны нормативной документации.....	102
4.2.4 Антиоксидантные свойства сквашенных сливок и сметаны.....	103
4.2.5 Изменения молочного жира сквашенных сливок и сметаны в процессе хранения	105

4.2.6 Разработка принципиальной схемы производства сметаны с <i>L. plantarum</i> AG9 с учетом требований ХАССП	107
4.3 Разработка аппаратурно-процессовой схемы йогурта и сметаны с новыми штаммами	110
4.4 Экономические аспекты технологии производства	112
Заключение	117
Список сокращений и условных обозначений	119
Список литературы	120
Приложение А Акты промышленной апробации	139
Приложение Б Технологический регламент по производству пробиотического йогурта «Пробиойогурт»	141
Приложение В Технические условия по производству пробиотического йогурта «Пробиойогурт»	145
Приложение Г Дегустационный лист	151

Введение

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 продук-

тов 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 кисло-молочных 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 [87]; кроме того, в геноме штамма AG8 были выявлены последовательности, ответственные за синтез антибактериальных агентов [122]. 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;

б) 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 моносакхаридном 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 (приложение А). Кроме того, на «Пробиойогурт» разработан технологический регламент и технологические условия 10.51.52.-002-02069639-2025 (приложения Б, В).

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 бакте-

рий 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*.

1 Обзор литературы

Улучшение качества пищевых продуктов – важная часть национальных программ по оздоровлению населения, которые реализуются во всем мире, в том числе в России. Согласно Стратегии развития пищевой и перерабатывающей промышленности Российской Федерации на период до 2030 г., одной из приоритетных задач является обеспечение населения рационом, сбалансированным по соотношению белков, жиров, углеводов, витаминов и микроэлементов, приближенному к стандартам ВОЗ [14]. Кроме того, поставлена задача импортозамещения основных продуктов питания и их компонентов, а также внедрения биотехнологий в производство пищевой продукции.

Молочные продукты занимают важное место в обеспечении продовольственной безопасности Российской Федерации [55]. Они имеют высокую усвояемость, улучшают работу желудочно-кишечного тракта (ЖКТ), являются источником биологически ценных веществ, обеспечивающих функционирование организма человека [12; 47; 59]. Пробиотическое воздействие КМП изучается в целях поддержания и восстановления микробиологического статуса человека [6].

Развитие молочной промышленности связано с производством функциональных продуктов, что обусловлено ухудшением экологической ситуации и необходимостью улучшения здоровья в условиях негативного влияния образа жизни [19; 48]. Согласно ГОСТ Р 52349-2005 к функциональным пищевым продуктам относятся продукты для систематического употребления здоровым населением, снижающие риск развития заболеваний, связанных с питанием, предотвращающие дефицит питательных веществ, улучшающие здоровье за счет функциональных пищевых ингредиентов.

В современных условиях ухудшения экологической обстановки и увеличения стрессовых ситуаций необходимо создание продуктов питания, укрепляющих защитные функции организма [2]. Актуальна разработка следующих функциональных молочных продуктов: пробиотических, пребиотических и симбиотиче-

ских, а также продуктов, обогащенных биологически активными веществами, растительными белками, минеральными веществами, витаминами и др. [11]. В отличие от обогащенных продуктов, для функциональных продуктов на этикетке указываются не только гарантированное содержание нутриентов, но и заявление о его пользе для здоровья [43].

Ежедневный рацион человека должен включать в себя функциональные пищевые ингредиенты, в частности, пробиотические бактерии [13]. Большую часть представленных на рынке продуктов с пробиотиками составляют йогурты и сквашенные молочные продукты. Функциональные КМП, содержащие пробиотические микроорганизмы, обладают антигипертензивными, противоопухолевыми, антиоксидантными, иммуномодулирующими свойствами, снижают уровень холестерина [4]. Пробиотические микроорганизмы способны выполнять профилактику и лечение расстройств пищеварительной системы. Актуальна разработка методов, улучшающих пробиотический эффект молочных продуктов.

Большинство доступных пробиотических продуктов содержат штаммы, принадлежащие к родам *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* [106].

1.1 Современные тенденции в технологии кисломолочных продуктов

В условиях сложной геополитической обстановки и необходимости импортозамещения вопросы продовольственной независимости России приобретают особую актуальность. В нашей стране за последние пять лет производство молока увеличилось с 30,6 до 32,4 млн т [1].

Россия является одним из крупнейших в мире производителей молока и молочной продукции. Так, в 2020 г. объем отечественного рынка молочной продукции увеличился на 4,8 % и составил 950,2 млрд р. Однако, согласно данным статистики, рост объема рынка сопровождается повышением цен. Так, за период с 2010

по 2023 г. цена за литр молока возросла более чем вдвое: с 30,21 до 75,11 р. При этом повышение инфляционного давления на молочную продукцию в период с 2021 г. по настоящее время обусловлено влиянием взаимосвязанных факторов: ростом издержек ведения деятельности, а также увеличением расходов на логистические операции [23].

Последние несколько лет для предприятий молочной промышленности, как и для многих других отраслей, стали периодом усиления экономического кризиса на фоне пандемии и инфляционного роста цен в экономике. При этом 2021 г. стал наиболее кризисным, когда финансовые результаты существенно ухудшились, а риск банкротства возрос. Однако к 2022 г. произошла стабилизация ситуации с учетом новых экономических условий [51].

Почти 86 % молока в России – отечественного производства. Тем самым российский рынок молочной продукции вплотную приблизился к показателю, установленному Доктриной продовольственной безопасности – 90 % собственной продукции.

Самым крупным регионом – производителем молока в России, по данным 2023 г., является Республика Татарстан: здесь произвели 2,19 млн т молока. На Татарстан приходится 6,5 % от общего объема производства молока в Российской Федерации [62].

Молоко и молочные продукты – одни из самых популярных и потребляемых продуктов питания. Их можно употреблять с раннего возраста, они являются важным источником белка, кальция, фосфора, витаминов В₂ и В₁₂ [79].

Молоко различных видов млекопитающих, используемое для производства КМП, отличается по общему содержанию сухих веществ, лактозы, жира, белка и минеральных веществ. Кроме того, на переработку молока влияют геоклиматические условия, здоровье животных, порода, корм, сезон и стадия лактации [76].

Во всем мире чаще всего применяется коровье молоко, поскольку оно наиболее похоже на грудное. Исследования, проведенные ФАО и ВОЗ, показывают, что мировое потребление и производство молочных продуктов возрастают [79].

КМП получают при действии живых микроорганизмов и ферментных систем [30]. При этом разнообразие методов производства влияет на физические, химические, органолептические и питательные свойства продукта. Условия обработки и состав продукта влияют на микробиоту во время производства, созревания и хранения. Кроме того, продукты, произведенные в разных регионах, могут отличаться не только по методам производства, но и по составу микроорганизмов.

Производство КМП выступает важной частью экономической стабильности в мире. Творог, йогурт, сыр, кефир и кумыс являются наиболее популярными КМП, при этом наиболее распространен среди них йогурт [128]. КМП по сравнению с молоком, из которого они изготовлены, обладают уникальным вкусом, текстурой, внешним видом, повышенной усвояемостью и определенными функциональными свойствами. Сквашивание представляет собой анаэробный катаболизм углеводов микроорганизмами, один из древнейших методов консервирования.

В развивающихся странах йогурт является продуктом, доступным для ежедневного рациона. Йогурт производится с помощью сквашивания молока *Lactobacillus bulgaricus* и *Streptococcus thermophilus* при температуре 27–40 °С. Йогурт можно производить из любого молока, однако чаще всего применяют коровье молоко. При производстве йогурта имеют значение тип и количество используемой закваски, качество сырья, сорт молока, температура, давление [113].

В йогуртах (жирных и обезжиренных) в сравнении с молоком выше содержание белка, молочной кислоты, макроэлементов (калия, кальция, фосфора, магния, натрия, хлора), микроэлементов (йода), а также витаминов (А, С, D, Е и группы В). Поскольку лактоза в молоке преобразуется в молочную кислоту во время ферментации, люди с непереносимостью лактозы могут употреблять йогурт без каких-либо побочных эффектов. Более того, употребление КМП вызывает небольшое снижение рН желудка, что снижает риск транзита патогенов и последствия проблемы низкой секреции желудочного сока.

Белок из йогурта усваивается легче, чем белок молока, благодаря бактериальному перевариванию молочных белков в йогурте. Йогурт служит источником более высокой концентрации свободных аминокислот, особенно пролина и гли-

цина. Кроме того, кислая среда, образуемая за счет бактерий, увеличивает биодоступность кальция, калия, фосфора и цинка по сравнению с молоком [86].

В настоящее время наблюдается тенденция включения различных пищевых элементов в пищевые продукты для улучшения их влияния на здоровье. Обогащение традиционных продуктов не только увеличивает количество питательных веществ и делает продукт более привлекательным для потребителя, но и может увеличивать экономическую выгоду. Успешность обогащения определяется следующими факторами: правильным выбором продукции для обогащения, степенью охвата населения, включающего этот продукт в свой рацион, частотой его употребления. Всем этим факторам соответствует молочная продукция [25].

Наряду с классическим натуральным йогуртом, в состав которого входят *L. bulgaricus* и *S. thermophilus*, существуют йогурты с наполнителями и вкусовыми добавками. Опубликованы исследования по обогащению йогурта различными соединениями, включая витамины, минералы, жирные кислоты, пребиотики, пробиотики, ароматизаторы и растительные экстракты [66].

Осведомленность потребителей о здоровом образе жизни и правильном питании обуславливают расширение ассортимента КМП. При этом все большую популярность приобретают био йогурты, содержащие живые клетки пробиотических культур. В России пробиотические КМП занимают значимую долю среди функциональных продуктов, что связано не только с пищевыми предпочтениями населения, но и с относительно невысокой их стоимостью [27]. Функциональные продукты – это продукты, которые в дополнение к питательным веществам содержат полезные для здоровья человека соединения.

Такие свойства йогурта для потребителей, как высокая пищевая ценность, терапевтический эффект для здоровья и высокие органолептические показатели, обуславливают актуальность обогащения йогурта, в том числе пробиотиками. Пробиотики – это живые микроорганизмы, которые оказывают благоприятное воздействие на здоровье хозяина [8; 56]. Различные штаммы пробиотиков могут демонстрировать различное биотехнологическое поведение по отношению к среде йогурта, что необходимо оценить до их коммерческого применения [66].

1.2 Свойства молочнокислых бактерий и их применение в пищевой промышленности

МКБ – это микроорганизмы с общепризнанным статусом безопасности, производящие молочную кислоту в качестве продукта метаболизма [72]. МКБ имеют сложные пищевые потребности и нуждаются в нескольких факторах роста, таких как пурины, пиримидины, витамины и аминокислоты. МКБ получают энергию путем сквашивания углеводов (например, глюкозы). По способу брожения глюкозы МКБ классифицируются на гомоферментативные, которые производят исключительно молочную кислоту в качестве конечного продукта сквашивания, и гетероферментативные, которые производят также уксусную кислоту, CO₂ и этанол. МКБ могут расти при температуре от 2 °С до 53 °С и в диапазоне рН от 4,5 до 6,5 [138]. В зависимости от родов, видов или штаммов они могут выделять эффекторные белки, производить экзополисахариды (ЭПС), генерировать био-пленки или прикрепляться к абиотическим и (или) биологическим поверхностям.

1.2.1 Применение молочнокислых бактерий в пищевой промышленности

Наиболее распространенные рода, применяемые в пищевой промышленности: *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* и *Weissella* [68]. За счет протеолиза, липолиза, гликолиза и метаболизма пирувата МКБ производят метаболиты, влияющие на качество, срок годности и безопасность пищевых продуктов, улучшая их технологические, органолептические, питательные характеристики [46; 102].

МКБ применяют в различных отраслях пищевой промышленности: в частности, при производстве кофе [89], при выработке пищевых добавок из пищевых

отходов и из водорослей [136]. Применение МКБ в производстве мясных продуктов и зерновых продуктов улучшает текстуру и вкус, продлевает срок годности [97]. Ферментация позволяет использовать побочные продукты переработки фруктов: кожуру, выжимки и ядра [154]. МКБ, участвующие в ферментации хлеба, могут улучшать его органолептические характеристики. Выяснилось, что смешение *Lactobacillus paracasei* C5 и *Lactobacillus pentosus* D1 с дрожжами в качестве заквасочных культур приводит к улучшению вкуса хлеба [156].

Характеристики сквашенных продуктов в прошлом зависели от доминирования наиболее адаптированных штаммов. Сегодня сквашенные пищевые продукты производятся с добавлением заквасок с заранее изученными свойствами, специфичными для каждого продукта.

1.2.2 Пробиотические микроорганизмы

В соответствии с ГОСТ Р 56139-2014 к основным пробиотическим микроорганизмам относят лактобациллы (*Lactobacillus*), бифидобактерии (*Bifidobacterium*), пропионовокислые бактерии (*Propionibacterium*), стрептококки вида *Streptococcus thermophilus*, бактерии рода *Lactococcus*. Согласно требованиям ФАО/ВОЗ пробиотические штаммы должны соответствовать требованиям безопасности и функциональности, таким как непатогенная, неиммуногенная природа, а также сохранять свою активность во время производства, обработки и хранения. Кроме того, пробиотики должны обладать следующими свойствами: снижение воспалительной реакции кишечника, повышенная адгезия к слизистой оболочке кишечника, модуляция иммунной системы, снижение уровня холестерина за счет его абсорбции, нейтрализация нежелательных соединений (энтеротоксинов, аммиака и токсичных биологических аминокислот), снижение pH и ингибирование роста патогенных бактерий [36; 69]. К пробиотическим МКБ предъявляются и технологические тре-

бования: устойчивость к термической обработке при распылительной сушке, выработка ЭПС [98].

В мире распространены нарушения работы ЖКТ и сердечно-сосудистой системы, причиной которых чаще всего являются метаболические изменения организма, в частности, изменения микробиоты кишечника. Микробиоту можно корректировать введением продуктов питания с пробиотиками, ее позитивные эффекты обуславливают в том числе МКБ [5; 20; 28]. В ЖКТ пробиотические бактерии могут прикрепляться к поверхности слизистой оболочки и выживать за счет способности противостоять кислоте, ферментам, кислороду и желчи. Благодаря устойчивости к антибиотикам пробиотики выживают в присутствии лекарств и других антимикробных соединений [69].

Пробиотики применяют при непереносимости лактозы, употребление КМП с пробиотическими штаммами более эффективно по сравнению с приемом лекарств с пробиотиками [3]. Воздействие пробиотиков на хозяина зависит от пробиотика, дозировки и продолжительности лечения. Эффективная доза составляет 10^7 – 10^9 КОЕ/мл, что может быть достигнуто при ежедневном потреблении не менее 100 г КМП с концентрацией пробиотиков 10^6 – 10^7 КОЕ/мл [84].

Исследования влияния пробиотиков на здоровье человека сосредоточены на заболеваниях ЖКТ, воспалительных заболеваниях кожи, аллергии, инфекциях дыхательных путей, ожирении, метаболических заболеваниях (в частности, диабете II типа), сердечно-сосудистых, когнитивных и психических заболеваниях, здоровье костей, заболеваниях печени, ожоговых ранах и гинекологических заболеваниях [29; 126]. Также пробиотики рассматриваются как альтернатива антибиотикам в связи с устойчивостью патогенных бактерий к последним. Поиск пробиотических штаммов и разработка на их основе продуктов функционального назначения остаются актуальными [50].

Традиционным источником пробиотических МКБ, рекомендованным ФАО/ВОЗ, является ЖКТ человека. Нетрадиционными источниками получения пробиотических МКБ служат ЖКТ животного, грудное молоко человека, продук-

ты питания (сквашенные и несквашенные), воздух, почва. Ценными источниками являются также фрукты, овощи, соки и зерновые продукты [157].

1.2.3 Заквасочные и незаквасочные пробиотические бактерии для производства КМП

Заквасочные пробиотические бактерии. Молочные закваски – это тщательно отобранные микроорганизмы, которые добавляют в молоко для производства КМП. Большинство из них относятся к МКБ (*Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Streptococcus* и *Leuconostoc*). В некоторых случаях вместе с МКБ используют также немолочнокислые закваски (бактерии, дрожжи и плесень). Источниками заквасочной микрофлоры могут служить сухие бактериальные закваски и сухие или замороженные бактериальные концентраты (концентрированные закваски) [52; 53].

Lactococcus lactis используют как основные компоненты заквасок при производстве сметаны, йогурта, сыра за счет роли в подкислении и образовании вкуса [15]. Кроме того, изучен пробиотический потенциал штаммов *L. lactis*, выделенных из сырого и ферментированного молока. Штаммы *L. lactis* устойчивы к желчным солям и кислотам, обладают антимикробной активностью и уменьшают количество холестерина. *L. lactis* устойчивы в условиях ЖКТ, предотвращают рост патогенных бактерий, вырабатывают бактериоцины [95].

Наиболее изученные виды пробиотических бактерий относятся к роду *Lactobacillus*. Например, *Lactobacillus casei* является одним из наиболее изученных видов из-за его промышленного и пробиотического потенциала [124]. В частности, штамм *L. casei*-01 традиционно использовался в качестве пробиотической культуры в молочных продуктах. Потребление продуктов питания, включающих этот вид МКБ, приводит к антигипертензивным и антиоксидантным эффектам, улучшению липидного профиля. Есть также технологический эффект: в йогуртах

с *L. casei*-01 уменьшается синергизм, что может быть следствием продуцирования ЭПС, увеличиваются твердость, липкость и вязкость [124].

Lactobacillus acidophilus улучшают состояние сердечно-сосудистой системы, безопасны при непереносимости лактозы, способствуют профилактике рака и болезней ЖКТ, улучшают иммунитет, проявляют антимикробную активность [81]. Употребление сквашенного молока с *L. acidophilus* может быть эффективным при лечении диареи, запора и болезни Альцгеймера. *L. acidophilus* в составе йогурта усиливает пробиотические свойства и улучшает качество конечного продукта: увеличивается количество жизнеспособных бактерий, улучшаются вязкость и физико-химические свойства при хранении [109].

Лауреат Нобелевской премии И. Мечников связал здоровье и долголетие болгарского народа с высоким потреблением йогурта, содержащего *Lactobacillus bulgaricus* (*L. bulgaricus*). Болгарская палочка может находиться в виде отдельных клеток и цепочек, оптимальная температура развития 40–45 °С, предел кислотообразования 300 °Т. Образует плотный ровный сгусток [54].

Болгарская палочка в синергизме с термофильным молочнокислым стрептококком (*Streptococcus thermophilus*) выступают компонентами классической закваски для йогурта [21; 49]. *S. thermophilus* – единственный вид стрептококков, широко используемый при сквашивании пищевых продуктов, особенно при производстве йогуртов. Между *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus bulgaricus* в заквасочных культурах йогурта существует симбиотическая связь. Эти симбиотические отношения возникают при протеолизе. Уровень некоторых аминокислот в молоке недостаточен для развития *Streptococcus thermophilus*. Этот недостаток устраняет *Lactobacillus bulgaricus*. При этом *L. bulgaricus* обладает ограниченной пептидазной активностью. *S. thermophilus* продуцирует пептидазную активность для себя и для *L. bulgaricus* [152].

Его использование в качестве заквасочного материала вместе с *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* не ограничивается только йогуртами, *S. thermophilus* также используется в других молочных продуктах, например в некоторых сырах и сметане. Он улучшает текстуру и вкусовые качества, ускоряет ферментацию

молочных продуктов; обладает пробиотическими эффектами, включая антиоксидантную активность, модуляцию кишечной микробиоты, ингибирование определенных патогенов и т. д. Производственные характеристики *S. thermophilus*, такие как подкисляющая способность, протеолитическая активность, быстрый рост, выработка ЭПС, бактериоцинов и вкусовых веществ, антифагов, влияют на качество КМП [80]. Термофильный стрептококк представляет собой длинные цепочки, состоящие из грамположительных шарообразных или эллипсоидных клеток. Отличительным признаком является диапазон температур роста – от 20 °С до 50 °С, оптимальная температура 37–40 °С. По энергии кислотообразования превосходит все молочнокислые стрептококки, сквашивает молоко за 3,5–6 ч.

Незаквасочные пробиотические бактерии: штаммы Lactobacillus plantarum и Lactobacillus fermentum. Штаммы *Lactobacillus plantarum* и их пробиотические функции подробно описаны благодаря их естественному обитанию в таких экологических нишах, как сквашенные продукты, ЖКТ человека и животных [153]. Штаммы *L. plantarum* не являются заквасочной культурой, однако их применение с целью получения пробиотических продуктов получило распространение. *L. plantarum* – самая большая группа МКБ, они широко распространены в природе и могут быть выделены из различных сред, включая растительные материалы, сквашенные продукты (йогурт, сыр и соленья), мясные продукты, вино, фруктовый сок, ЖКТ животных и человека [139]. Пробиотические свойства *L. plantarum* включают в себя иммуномодуляцию, антиоксидацию, способность снижать уровень холестерина, эффективную способность к деградации нитритов и антимикробную активность против других бактерий [107]. В частности, *Lactiplantibacillus plantarum* DMDL 9010 обладает хорошей адгезией, антиоксидантными и антимикробными способностями, толерантностью к желудочно-кишечной среде и имеет потенциал для использования в качестве стартовой культуры [92].

Исследователями была доказана пробиотическая роль *Lactobacillus plantarum* Vu-Eg5, а также улучшение физико-химических свойств сквашенного обезжиренного коровьего молока. Эти факты могут доказывать необходимость использования плантарума в синергии с другими микроорганизмами [90].

В связи с ужесточением запретов в отношении применения антибиотиков – улучшителей роста в животноводстве привлекательной альтернативой в птицеводстве становятся кормовые пробиотики. В частности, установлено, что *L. plantarum* 16 оказывает полезное воздействие на показатели роста и здоровье кишечника бройлеров [149].

В качестве альтернативы антибиотикам против *Salmonella paratyphi* было предложено использовать пробиотические штаммы *L. casei* MYSRD 108 и *L. plantarum* MYSRD 71, которые выживают при низких значениях pH, толерантны к желчи, способны аутоагрегировать. Штаммы проявили антагонистическую активность против пищевого патогена *S. paratyphi* [82].

Из традиционного турецкого молочнокислого сквашенного напитка «Шалгам» учеными был выделен новый штамм *L. plantarum* DY46. Установлен антимикробный потенциал этой бактерии DY46 в отношении *Salmonella enterica* sv. *typhimurium* ATCC14028, *Klebsiella pneumoniae* ATCC13883 и *Proteus vulgaris* ATCC8427. Также выяснено, что штамм толерантен к кислоте и желчи в концентрациях, имитирующих состояние ЖКТ человека. *L. plantarum* DY46 может стать диетической добавкой, которая обеспечит функциональные преимущества для хозяина [153].

В ряде исследований, наряду с йогуртовой закваской *L. bulgaricus* и *Streptococcus thermophilus*, в состав йогурта вводили *L. reuteri* DSMZ 8533 и потенциальный пробиотический штамм *L. plantarum* A3. Смешивание культур позволило улучшить твердость, консистенцию и вязкость йогурта. В йогурте, заквашенном с *L. plantarum* A3, накапливались такие компоненты, как аминокислоты, особенно лейцин, валин, а также ненасыщенные жирные кислоты (ЖК). *L. plantarum* A3 является потенциальным пробиотическим штаммом, который может улучшить сенсорный и пищевой профиль сквашенного молока [101].

Lactobacillus fermentum – вид бактерий, широко используемый при разработке ряда пробиотических препаратов. Различные штаммы *L. fermentum* могут выступать в качестве пробиотиков для борьбы с желудочно-кишечными инфекциями, бактериальными заболеваниями пищевого происхождения, колитами или как

противораковое, антивозрастное и антидиабетическое средство [114]. Пробиотик *Lactobacillus fermentum* играет роль антиоксиданта как производитель глутатиона, имеет свойства стимуляции иммунной системы, модуляции кишечных инфекций, синдрома раздраженного кишечника, снижения веса и модификации микробного состава у людей с ожирением [105].

Применение пробиотических штаммов в борьбе инфекциями ЖКТ представляет собой перспективный подход. Штамм *Lactobacillus fermentum* 4-17 выделен из кашкине, иранского зернового сквашенного продукта. *L. fermentum* 4-17 способен выживать при низких значениях pH, воздействии желчных солей и среды ЖКТ. Он показал высокую гидрофобность клеток и адгезию, а также антиадгезивные свойства (включая конкуренцию, ингибирование и замещение) в отношении патогенных бактерий [83].

Из-за высокой устойчивости к антибиотикам стандартная терапия против патогена *Helicobacter pylori* не всегда успешна, поэтому исследователи использовали пробиотический штамм *L. fermentum* UCO-979C [85]. Штамм обладает отличными пробиотическими свойствами и активностью против *H. pylori* в клеточных и животных моделях [88].

Введение потенциально пробиотического штамма *L. fermentum* 296 в высокожировую диету самцов крыс Вистар в течение четырех недель снижает уровень холестерина и триглицеридов в сыворотке крови. Также при этом снижается симпатический сердечно-сосудистый тонус и систолическое артериальное давление. Это позволяет предположить, что введение *L. fermentum* 296 может стать альтернативной стратегией профилактики диетической гиперхолестеринемии и гипертриглицеридемии, а также связанных с ними сердечно-сосудистых осложнений [127].

Штамм *Lactobacillus fermentum* KU200060 был выделен из кимчи (корейских квашеных овощей), исследователями были выявлены его высокие пробиотические характеристики (устойчивость в ЖКТ, способность к адгезии, устойчивость к антибиотикам, антибактериальная активность). Была подтверждена воз-

возможность использования *L. fermentum* KU200060 в качестве закваски для создания пробиотического йогурта с противокариесными функциями [105].

Помимо положительных эффектов пробиотических МКБ, описанных выше, исследователи сообщают и о способности МКБ защищать от окислительного стресса за счет восстановления микробиоты кишечника. МКБ являются основным источником природных антиоксидантов, производя антиоксидантные ферменты, метаболиты и пептиды, устойчивые к присутствию перекиси водорода.

1.2.4 Антиоксидантные свойства молочнокислых бактерий

Многие факторы внешней среды генерируют свободные радикалы и активные формы кислорода (АФК) в метаболизме [18]. Избыточное накопление в организме АФК может вызывать окислительный стресс, который приводит к повреждению клеточных биомолекул и ускоряет старение, вызывает сердечно-сосудистые и воспалительные заболевания, рак, склероз, болезни Хантингтона, Паркинсона, Альцгеймера. Для снижения риска этих заболеваний актуально применение антиоксидантов, в качестве которых МКБ продемонстрировали большой потенциал [134].

Большинство МКБ, особенно *Fructilactobacillus*, *Lacticaseibacillus*, *Lactiplantibacillus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Latilactobacillus*, *Lentilactobacillus*, *Leuconostoc*, *Limosilactobacillus*, *Pediococcus*, *Streptococcus* способны к синтезу внутриклеточных и внеклеточных соединений – ЭПС. ЭПС на основе МКБ отличаются большим разнообразием. Антиоксидантный потенциал ЭПС определяется их моносахаридным составом. Обнаружено, что увеличение доли рамнозы и арабинозы и уменьшение ксилозы повышает антиоксидантные свойства: гидроксилрадикальную, супероксиданион-связывающую и железо-хелатирующую активность. Увеличение ксилозы и уменьшение рамнозы и арабинозы, вероятно,

приводит к высокой восстанавливающей и ДФПГ-активности [119]. Повышенные уровни рамнозы увеличивают антиоксидантную активность ЭПС и снижают перекисное окисление липидов [155]. Кроме того, использование смешанных культур МКБ приводит к более высокой антиоксидантной активности сквашенного молока.

Были исследованы ЭПС, продуцируемые *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* и штаммами МКБ из клеверного силоса (*L. fermentum* AG8, *L. plantarum* AG9). Обнаружено, что все ЭПС поглощали гидроксильные и ДФПГ-радикалы, а также выявлены высокие уровни ингибирующей активности α -глюкозидазы и липазы. Добавление 0,4 % льняной слизи увеличивало выход ЭПС [111].

Добавление штаммов МКБ позволяет увеличивать антиоксидантную активность КМП и других продуктов. Было выявлено повышение антиоксидантной активности рисовых отрубей после их сквашивания штаммами *Lactobacillus plantarum*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactobacillus fermentum* и *Lactobacillus paracasei* по сравнению с несквашенными рисовыми отрубями [103].

Бактерии, принадлежащие к родам *Bifidobacterium*, *Lactobacillus* и *Enterococcus durans* LAB 18, снижают уровни свободных радикалов [78]. Значения восстановительной активности у молока, сквашенного *L. fermentum*, при хранении увеличивались в сравнении с *L. plantarum*, *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* [75].

Исследователи выяснили, что *L. plantarum*, *L. delbrueckii*, *L. fermentum* и *L. paracasei*, выделенные из образцов коммерческого йогурта, производят ЭПС. Эти ЭПС обладают высокой антиоксидантной активностью в отношении ДФПГ-радикалов, восстанавливают ионы железа и увеличивают общее содержание фенольных соединений [67].

Новые штаммы *Lactiplantibacillus* sp. ME2b, *Lactococcus* sp. ME7, *Lacticaseibacillus* sp. ME17 и *Lactobacillus* sp. ME27a, выделенные из коровьего молока, синтезировали ЭПС. Экстракты ЭПС связывали гидроксильные и ДФПГ-радикалы, обладали восстанавливающей силой [143].

Некоторые синтетические антиоксиданты могут представлять потенциальный риск и вызывать побочные эффекты. По этой причине антиоксидантные со-

единения, полученные из природных источников, чрезвычайно ценны. Помимо улучшения антиоксидантных свойств, ЭПС из МКБ положительно влияют на текстуру пищевых продуктов, применяются в качестве эмульгаторов, стабилизаторов, загустителей, желирующих агентов, а также для удержания влаги, влияния на реологию, твердость и синерезис, в целях улучшения текстуры, сенсорных свойств и вкусовых ощущений [99].

1.3 Экзополисахариды молочнокислых бактерий и текстурные свойства кисломолочных продуктов

В настоящее время среди потребителей КМП популярны продукты с низким содержанием жира. Известно, что такие продукты отличаются невысокой вязкостью, в то время как для потребителя предпочтительна текстура продукта, создающая более густое ощущение во рту. В связи с этим дефекты текстуры маложирных КМП могут отталкивать потребителя [32; 34]. В целях формирования улучшенных реологических характеристик маложирных КМП могут быть использованы ЭПС, выделяемые КМП [41]. Улучшение реологических свойств КМП с помощью ЭПС зависит от их расположения (капсулярные или свободные), структуры (молекулярной массы, заряда, степени разветвленности и жесткости), концентрации и взаимодействия с другими веществами. Взаимодействие ЭПС с белками формирует белковую сеть, которая улучшает вязкоупругие свойства и усиливает способность удерживать воду. Таким образом, ЭПС снижают синерезис геля и увеличивают вязкость, влагоудерживающую способность (ВУС) и упругость геля [65].

ЭПС улучшают консистенцию и вкус йогурта, сыра, сквашенных сливок и молочных десертов. *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, продуцирующие ЭПС, улучшают текстуру и вязкость йогурта и снижают синерезис. В обезжиренном йогурте с добавлением штамма *L. fermentum*

AG8 количество ЭПС было выше в сравнении с классическим йогуртом, что коррелировало с увеличением вязкости [40].

Молоко, сквашенное *L. plantarum* AG10, в сравнении с молоком, сквашенным *L. bulgaricus*, через 14 сут сохраняло высокий уровень жизнеспособных клеток, характеризовалось повышенным содержанием ЭПС и более высокой вязкостью. Повышенное производство ЭПС привело к образованию сгустка с более высокой плотностью на микрофотографиях и обусловило повышенную твердость и связность продукта по сравнению с молоком, ферментированным с *L. bulgaricus* [118].

В качестве вспомогательной культуры при производстве обезжиренного йогурта применяли штамм *Limosilactobacillus mucosae* (ранее – *Lactobacillus mucosae*) DPC 6426, продуцирующий ЭПС. Выяснили, что это привело не только к снижению синерезиса, но и к улучшению функциональных свойств [96].

Штамм *Leu. mesenteroides* F27, выделенный из КМП и синтезирующий ЭПС, добавляли в йогурт. Наблюдали усиление роста МКБ, увеличение ВУС и вязкости [116].

Штаммы *Levilactobacillus brevis* UCLM-Lb47, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* 6F6-12 и *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *mesenteroides* 2F6-9, продуцирующие ЭПС, добавляли в рецептуру обезжиренных йогуртов. Йогурты, изготовленные с использованием выбранных штаммов, показали более высокие значения ВУС, концентрации ЭПС и вязкости во рту, чем контрольный йогурт, который имел более жидкую текстуру. Данные штаммы могут быть использованы для замены гидроколлоидов в рецептуре обезжиренного йогурта [129].

Таким образом, использование МКБ, продуцирующих ЭПС, способствует удовлетворению спроса потребителей на полезные для здоровья КМП, обладающие улучшенными реологическими свойствами.

Заключение по обзору литературы

Оздоровление населения за счет улучшения качества пищевых продуктов – важная задача не только для России, но и для всего мира. Поскольку молоко и КМП являются одними из самых потребляемых продуктов, улучшение технологических и функциональных свойств данных продуктов актуально.

Известно, что КМП в сравнении с молоком обладают уникальным вкусом, текстурой, внешним видом, повышенной усвояемостью и определенными функциональными свойствами. Йогурт – КМП, доступный для ежедневного рациона в развивающихся странах. Такие свойства йогурта, как высокая пищевая ценность, терапевтический эффект для здоровья и высокие органолептические показатели, обуславливают актуальность обогащения йогурта, в том числе пробиотиками. В настоящее время наблюдается тенденция включения различных элементов в пищевые продукты для улучшения их влияния на здоровье. Новые незаквасочные пробиотические штаммы включают в состав йогурта наряду с классической закваской. Невысокая стоимость получаемых пробиотических КМП и пищевые предпочтения населения обуславливают их популярность в России.

В последние десятилетия популярность исследований пробиотиков возросла за счет их потенциала улучшать здоровье и облегчать течение некоторых заболеваний в сочетании с другими методами лечения. Описаны противодиабетические и антиоксидантные эффекты. Пробиотики рассматриваются как альтернатива антибиотикам. Исследования влияния пробиотиков сосредоточены на заболеваниях ЖКТ, воспалительных заболеваниях кожи, аллергии, инфекциях дыхательных путей, метаболических и сердечно-сосудистых заболеваниях и т. д.

Незаквасочные штаммы *Lactobacillus plantarum* и *Lactobacillus fermentum* описаны как пробиотики, обитающие в сквашенных продуктах, ЖКТ человека и животных. Данные штаммы широко применяются в пищевой промышленности, и их внедрение в рецептуру классического йогурта представляется перспективным.

Помимо пробиотических свойств, штаммы МКБ также способны улучшать текстурные свойства маложирных КМП. В настоящее время среди населения популярны КМП с низким содержанием жира, однако их невысокая вязкость делает продукт менее привлекательным. В целях формирования улучшенных реологических характеристик маложирных КМП могут быть использованы ЭПС, выделяемые МКБ. Таким образом, исследовательские работы, посвященные поиску и применению новых пробиотических штаммов в технологии КМП, сохраняют свою актуальность.

2 Материалы и методы собственных исследований

На рисунке 1 представлена общая схема исследований.

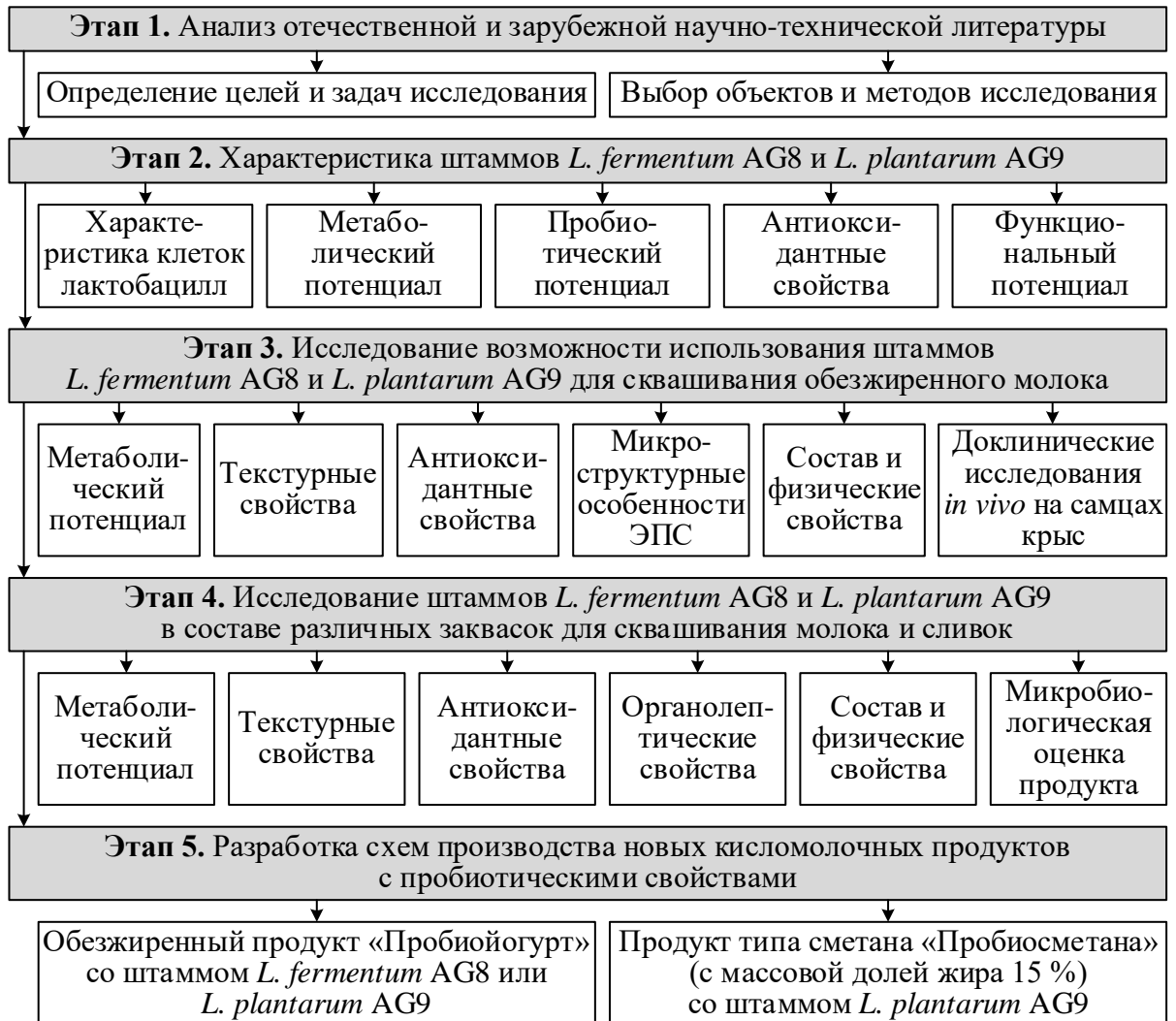


Рисунок 1 – Общая схема исследований

2.1 Используемые в работе молочнокислые бактерии

Limosilactobacillus fermentum AG8 и *Lactiplantibacillus plantarum* AG9 были выделены из 5-месячного ферментированного силоса («Заволжье», Кайбицкий район, Республика Татарстан, Россия), их видовая принадлежность описана ранее [87]. Образцы силоса (10 г) смешивали с 50 мл стерильного физиологического раствора (0,9 % NaCl) и после интенсивного встряхивания готовили серию 10-кратных разведений в физиологическом растворе (10^{-1} – 10^{-8}). Каждое разведение (1 мл) смешивали с 20 мл капустного агара (капуста 200 г, глюкоза 20 г, пептон 10 г, агар 20 г, вода 1000 мл), содержащего 3 % CaCO₃, и высевали. Чашки инкубировали в микроаэрофильных условиях при 37 °С в течение 48 ч.

Бактериальные колонии, образующие чистые зоны гидролиза CaCO₃, считались МКБ и были индивидуально отобраны и посеяны на чашках с агаром МРС (HiMedia, Индия) методом разбавления. Чашки инкубировали в микроаэрофильных условиях при 37 °С до получения отдельных колоний; затем изоляты подвергали окрашиванию по Граму и тесту на каталазу. Для дальнейших исследований отбирали только каталазоотрицательные и грамположительные изоляты. Бактериальные изоляты поддерживали на твердом агаре МРС для немедленного использования или в 50 % глицерине при минус 80 °С.

Lactobacillus delbrueckii subsp. *bulgaricus* («Лактосинтез», Москва, Россия) служил коммерческим штаммом сравнения.

Для йогурта применяли йогуртовую закваску (*L. bulgaricus* и *S. thermophilus*) («Лактосинтез», Москва, Россия), которую предварительно активировали, как описано ниже. Для сметаны использовали лиофильно высушенную закваску «Лактосинтез», в которую входят следующие бактерии: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*.

Хранение и активацию культур, приготовление питательных сред (МРС бульона и питательной среды с молочной сывороткой) осуществляли в соответствии с методами, описанными ранее [141], как и приготовление клеточной суспензии.

2.2 Методики изучения пробиотических свойств

Приготовление клеточной суспензии. *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9 инокулировали в бульон МРС с 2 % инокулята и культивировали при 37 °С в течение 24 ч. Затем центрифугировали при 6000 об/мин в течение 10 мин. Супернатанты фильтровали с использованием стерильных шприцевых фильтров 0,22 мкм (Minisart, Sartorius, Геттинген, Германия). Клетки ресуспендировали в стерильном 0,85 % растворе NaCl и использовали для анализа пробиотических свойств. Бесклеточные супернатанты также собирали и использовали для анализов [141].

Метод сканирующей силовой микроскопии (ССМ). Изображения клеток получали методом ССМ с использованием сканирующего силового микроскопа Dimension FAsScan (Bruker Nano Surfaces, Санта-Барбара, Калифорния, США) по методу, описанному ранее [141].

Метод трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) клеток. Клетки дважды промывали 0,2 Na–К-фосфатным буфером (рН 7,4) и фиксировали в течение 6 ч в 1 % растворе глутаральдегида в 0,1 Na–К-фосфатном буфере (рН 7,4). Клетки дважды промывали 0,2 Na–К-фосфатным буфером, а затем инкубировали в течение 2 ч в 1 % OsO₄ в 0,1 М PBS при комнатной температуре. После промывания клетки обезвоживали в серии этанолов (2 раза в 50 % этаноле в течение 10 мин, 2 раза в 70 % этаноле в течение 10 мин, 2 раза в 95 % этаноле в течение 10 мин и 3 раза в 100 % этаноле в течение 10 мин) с окончательной обработкой чистым ацетоном в течение 10 мин. Обезвоженные образцы встраивали в смолу EPON 812 (Fluka Chemie AG, Швейцария), после полной полимеризации блоки разрезали на тонкие (~1–3 μm) и ультратонкие (~80–100 нм) срезы с помощью ультрамикротомы Leica EM UC7 (Leica, Германия). Тонкие срезы анализировали на световом микроскопе Nikon ECLIPSE TS100 (Nikon, Япония) в режиме фазового контраста. Ультратонкие срезы переносили на 3-мм медные опорные сетки (300 меш) и получали изображения без контрастирования уранилацетатом и цитратом свинца на трансмиссионном электронном микроскопе Hitachi HT 7700 Ex-

cellence (Hitachi, Япония) при напряжении 80 кВ в специальном режиме высокого контраста.

Гидрофобность и автоагрегацию клеток изучали по методике, описанной ранее [108]. Гидрофобность определяли методом микробной адгезии к углеводам: суспензии клеток с *n*-гексадеканом осторожно перемешивали, после разделения двух фаз определяли оптическую плотность водной фазы, рассчитывали гидрофобность по уравнению. Для измерения автоагрегации в течение 2 ч контролировали изменение клеточных суспензий в фосфатно-солевом буферном растворе с рН 7 и при 600 нм. Степень автоагрегации рассчитывали также с помощью уравнения.

Устойчивость клеток к 3 % и 7 % NaCl. Тестируемые штаммы инокулировали в пробирки с бульоном МРС. В качестве контроля использовали МРС без NaCl. Рассчитывали процент выживаемости [141].

Устойчивость клеток к кислоте. Бульон МРС подкисляли соляной кислотой до рН 2. Тестируемые штаммы инокулировали в пробирки с подкисленным бульоном МРС. В качестве контроля использовали МРС. Рассчитывали процент выживаемости [141].

Устойчивость клеток к солям желчных кислот. Для оценки устойчивости штамма к солям желчных кислот использовали метод, предложенный ранее [73]. Тестируемые штаммы инокулировали в пробирки с бульоном МРС с добавлением 0,3 % солей желчных кислот (Россия). В качестве контроля использовали МРС без солей желчных кислот. Рассчитывали процент выживаемости.

Устойчивость клеток к условиям имитации ЖКТ. Устойчивость штамма к искусственному желудочному и кишечному соку определяли по методу, описанному ранее [125]. Осадки активных бактериальных культур ресуспендировали в искусственном желудочном соке (0,5 % NaCl, 3 г/л пепсина, рН 3,0 доводили 1 М HCl), а затем в искусственной кишечной жидкости (0,5 % NaCl, 1 г/л трипсина, 1 г/л желчной соли, рН 8 доводили 1 М раствором NaOH) с инкубацией при 37 °С по 2 ч на каждом этапе. Рассчитывали процент выживаемости.

Чувствительность МКБ к антибиотикам определяли диско-диффузионным методом, описанным ранее [7]. Бактерии выращивали в бульоне МРС в течение 24 ч при 37 °С, а затем выливали на чашки с агаром МРС. На поверхность посеваемых чашек наносили диски с антибиотиками (НИЦ фармакотерапии, Россия). Все изоляты подвергали скринингу на чувствительность к цефтриаксону, амоксициллину, клиндамицину, эритромицину, цефокситину и стрептомицину. Через 48 ч инкубации в анаэробных условиях при 37 °С измеряли диаметр зоны ингибирования.

Количество молочной кислоты (титруемую кислотность) определяли для всех групп титрованием до достижения рН 8,3 с использованием дистиллированной воды (5 мл бульона на 10 мл дистиллированной воды) [141]. Затем для оценки количества молочной кислоты (%) использовали 0,1 н. раствор NaOH. Рассчитывали количество молочной кислоты.

Выделение и количественное определение ЭПС проводили по методу, описанному ранее [118]. Культуральную жидкость инкубировали при 100 °С, охлаждали, добавляли трихлоруксусную кислоту (ТХУ), удаляли осадок центрифугированием. К супернатанту добавляли охлажденный этанол, инкубировали 48 ч при 4 °С. ЭПС собирали после центрифугирования. Для количественного определения ЭПС к образцу добавляли фенол и серную кислоту, инкубировали при 30 °С, перемешивали и охлаждали. Поглощение измеряли при 490 нм, рассчитывали количество ЭПС.

Общие фенольные соединения в культуральной жидкости определяли с использованием реактива Фолина – Чокальтеу по методу, описанному ранее [112]. Для этого к культуральной жидкости добавляли реактив Фолина – Чокальтеу, через 10 мин добавляли раствор карбоната натрия (5 %) и дистиллированную воду, перемешивали. Смесь инкубировали в течение 1 ч в темноте и измеряли оптическую плотность при 750 нм. Результаты выражали в тирозиновых эквивалентах, мкг/мл. Для устранения белковых соединений получали безбелковый экстракт, для чего к культуральной жидкости добавляли ТХУ и центрифугировали.

Активность липолитических ферментов МКБ определяли по методу, описанному ранее [24]. К подсолнечному маслу прибавляли фосфатный буфер (рН 7,0) и сильно встряхивали. Вносили культуральную жидкость, встряхивали 2–3 мин. Гидролиз проводили в течение 2 ч при 37 °С, после чего добавляли этанол. Продукты гидролиза оттитровывали 0,05 М раствором NaOH в присутствии 1 % раствора тимолфталейна. Контрольные образцы готовили аналогично, исключив стадию гидролиза. Рассчитывали активность липазы.

Определение холестерин-ассимилирующей активности клеток проводили по методу, описанному ранее [144]. В бульон МРС добавляли холестерин-ПЭГ 600 (Sigma-Aldrich, США) и инокулят пробиотической культуры, инкубировали при 37 °С в течение 24 ч. Жизнеспособность после инкубации измеряли стандартными методами подсчета колоний. Для этого суспензии пробиотиков центрифугировали при 4000 об/мин в течение 10 мин при 4 °С и собирали супернатанты, содержащие неусвояемый холестерин. Использовали спектрофотометр, рассчитывали холестерин, усваиваемый штаммами.

Исследование ингибирования культуральной жидкостью ферментов липазы и глюкозидазы. Активность ингибирования липазы в бесклеточных супернатантах определяли по методу, описанному ранее [70]. Образец и калий-фосфатный буфер (рН 6,0) смешивали и инкубировали с раствором липазы 10 мин при 37 °С. Добавляли *n*-нитрофенилбутират в качестве субстрата. После инкубации при 37 °С в течение 15 мин количество выделившегося в реакцию *n*-нитрофенола измеряли при 405 нм, рассчитывали процент ингибирования.

Ингибирующую активность α -глюкозидазы in vitro определяли по методу, описанному ранее [142]. Образец, 0,1 М калий-фосфатный буфер и раствор α -глюкозидазы смешивали. После инкубации при 37 °С в течение 10 мин в качестве субстрата добавляли 1000 мкл *n*-НФГ и проводили ферментативную реакцию при 37 °С в течение 60 мин. Активность α -глюкозидазы определяли по измерению выхода *n*-нитрофенола из *n*-НФГ при 410 нм, рассчитывали процент ингибирования.

2.3 Изготовление кисломолочных продуктов

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.

Изготовление сквашенного L. fermentum AG8 и L. plantarum AG9 обезжиренного молока и йогуртов. Сквашенное молоко, йогурт, пробиотический йогурт готовили из обезжиренного молока (м.д.ж. 0,05 %), которое подвергали автоклавированию при 1,1 атм и температуре 121 °С в течение 25 мин, затем охлаждали до температуры заквашивания. Для приготовления 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 и выдерживали в термостате 6–8 ч при 40 °С. Далее продукт охлаждали 16 ч при 4 °С и исследовали (на 1-е сутки). Кроме того, оставляли партию на хранение и анализировали на 7-е и 14-е сутки, а также на 21-е сутки в случае пробиотического йогурта.

Для пробиотического йогурта закваски добавляли в обезжиренное молоко из расчета 5 % к массе сырья, при этом соотношение йогуртовой закваски к закваске *L. fermentum* AG8 или *L. plantarum* AG9 составляло 2:1.

Изготовление сквашенных сливок и сметаны с L. plantarum AG9. Использовали стерилизованные сливки (м.д.ж. 15 %), для этого сливки с м.д.ж. 10 % нормализовали сливками с м.д.ж. 20 %. Для исследований были изготовлены сливки, сквашенные монозакваской из штамма *L. plantarum* AG9 (AG9) и два вида сметаны: на основе классической закваски (СМ) и со смешанной закваской (классическая закваска плюс закваска из *L. plantarum* AG9 в соотношении 4:1, СМ + AG9).

Сначала получали закваску на обезжиренном молоке, как описано выше. Затем полученную стартовую культуру (закваску) добавляли в сливки (с содержанием жира 15 %) из расчета 5 % к массе сырья. Для получения сливок, сквашенных монозакваской *L. plantarum* AG9, в сливки вносили закваску в количестве 5 %. Для получения пробиотической сметаны в сливки вносили 80 % стартовой культуры (закваски) для классической сметаны и 20 % стартовой культуры (закваски) штамма *L. plantarum* AG9. Сливки сквашивали в термостате 12 ч при 30 °С до достижения у продукта значения pH 4,8–4,6. Измеряли pH каждый час pH-метром. Сметану охлаждали в течение 16 ч при 4–5 °С, затем проводили анализ качественных характеристик.

Фракции сквашенных сливок и сметаны готовили аналогично фракциям КМП, однако для приготовления водного экстракта (сыворотки) образцы перед обработкой на водяной бане разбавляли водой в 2 раза.

2.4 Доклинические исследования обезжиренного молока, сквашенного штаммами *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9, в системе *in vivo*

В эксперименте использовали белых крыс породы Вистар, массой 90–120 г, возрастом 6–8 недель. Эксперимент проводили в соответствии с методом, описанным ранее [38].

Крысы были случайным образом разделены на три группы по пять особей в каждой. Каждая группа получала следующие рационы питания (содержания):

- контроль: коммерческий корм для лабораторных крыс и мышей (DeltaFids, компания «БиоПро», Новосибирск, Россия) и стерильная вода;
- AG8: коммерческий корм + молоко, сквашенное штаммом *L. fermentum* AG8, обезжиренное молоко (2 г/животное) и стерильная вода;

– AG9: коммерческий корм + молоко, сквашенное штаммом *L. plantarum* AG9, обезжиренное молоко (2 г/животное) и стерильная вода.

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

Через шесть недель (42 сут) образцы крови животных были собраны сразу после эвтаназии в одноразовые пробирки. Для гематологических исследований в пробирки добавляли антикоагулянт, для биохимических анализов пробирки использовали без коагулянта, центрифугировали при 3500 об/мин в течение 10 мин.

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

Анализ крови проводили на гематологическом анализаторе Abacus Junior 5 VET (Diatron Messtechnik GmbH, Австрия). Биохимические параметры общего холестерина и фракций – общего холестерина, липопротеина высокой плотности, липопротеина низкой плотности, триглицеридов, аланинаминотрансферазы и аспаратаминотрансферазы, общего белка и билирубина, определяли в ChemWell2902 (Awareness Technology, США) с использованием наборов Spinreact S. A. (Испания).

2.5 Исследование состава, физических, текстурных и органолептических свойств КМП

Состав и физические свойства обезжиренного сквашенного молока определяли в соответствии с методами, описанными ранее [34].

Количество МКБ в процессе хранения сквашенного молока определяли в соответствии с чашечным методом с использованием среды МРС агар: 1 г образца

скващенного молока разводили 9 мл фосфатно-буферного раствора и проводили десятикратные серийные разведения. Затем 0,1 мл суспензии из разведений наносили на МРС агар, инкубировали при 40 °С в течение 48–72 ч, после чего подсчитывали колонии. Измерение проводили на 1-е, 7-е и 14-е сутки, количество бактерий рассчитывали как КОЕ/г продукта.

Получение безбелкового экстракта и сыворотки. Безбелковый экстракт получали в соответствии с методом, описанным ранее [118]. К 5 г скващенного 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 [118].

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

Количество ЭПС определяли в соответствии с методом, описанным в параграфе 2.2 [118].

Анализ количества пептидов был описан ранее [118], методика основана на реакции ОРА-реагента (реагент ОРА, 10 мг/мл *o*-фталевого альдегида и 3-меркаптопропионовой кислоты в 0,4 М боратном буфере, ThermoScientific, США) с пептидами и дальнейшем определении оптической плотности при 340 нм.

Определение вязкости. Показатель вязкости измеряли ротационным вискозиметром Брукфильда с концентрическим цилиндром (модель RV-DVIII, Inc., Китай), оснащенный ротором № 3. Продукты измеряли в охлажденном состоянии при 8 °С. Измеряли коэффициент сопротивления сгустка при скорости ротора 6; 12; 30 и 60 мин⁻¹, измерение проводили в течение 180 с. Определяли эффективную вязкость, коэффициент потери вязкости, коэффициент механической стабильности [32].

Синерезис и влагоудерживающую способность (ВУС) определяли в соответствии с методами, описанными ранее [64]: синерезис измеряли после охлаждения

образцов до 4 °С. Образцы центрифугировали 5 мин при 1000 об/мин и температуре 20 °С. Выделившуюся сыворотку удаляли и взвешивали. Для определения ВУС образцы после охлаждения до 4 °С центрифугировали 10 мин при 3000 об/мин и температуре 20 °С. Выделившуюся сыворотку удаляли и взвешивали.

Анализ профиля текстуры проводили с помощью структурометра СТ-2 (Россия). Программа: два цикла погружения и поднятия цилиндра (диаметр 36 мм и высота 35 мм) с тензодатчиком, глубина погружения – 15 мм, скорость – 0,5 мм/с. Твердость, эластичность, адгезию, когезию, скорректированную когезию, липкость, упругость, тягучесть, разжевываемость рассчитывали по формулам, приведенными в [145].

Параметры цвета измеряли колориметром Chroma Meter (Китай) по методу, описанному ранее [34].

Органолептический анализ осуществляли в соответствии с ГОСТ ISO 4121-2016, ГОСТ Р ИСО 22935-2-2011, ГОСТ Р ИСО 22935-3-2011, ГОСТ ISO 5492-2014 с описанием органолептических характеристик йогурта по ГОСТ 31981-2013, ТР ТС 033/2013. На основании данной научно-технической документации и гедонистической шкалы с коэффициентами весомости, представленной в работах [117; 35] с изменениями, разработана 20-балльная шкала (таблица 1).

Таблица 1 – Балльная оценка кисломолочных напитков

Показатель	Балльная оценка
Внешний вид (5 баллов) ¹	
Отличная	5
Хорошая	4
Удовлетворительная	3
Вкус и запах (10 баллов) ²	
Отличный	9–10
Хороший	8–7
Удовлетворительный	6–5
Неудовлетворительный	4–0

Продолжение таблицы 1

Показатель	Балльная оценка
Консистенция (5 баллов) ¹	
Отличная	5
Хорошая	4
Удовлетворительная	3
<p>Примечание – При оценке свойств по балльной системе использовали цифровую дискретную интервальную шкалу:</p> <p>5¹ / (9–10²) – нет отклонения от заранее установленных требований к органолептическим свойствам;</p> <p>4¹ / (8–7²) – минимальное отклонение;</p> <p>3¹ / (6–5²) – заметное отклонение;</p> <p>2¹ / (4–0²) – значительное отклонение.</p>	

По итогам балльной оценки продукцию характеризовали следующим образом: отличная – 18–20 баллов; хорошая – 15–17; удовлетворительная – 12–14; неудовлетворительная – ниже 11 баллов.

Испытателей для органолептического анализа отбирали по ГОСТ ISO 85861-2011, ГОСТ Р ИСО 22935-1-2011. В состав входили специалисты и преподаватели Института пищевых производств и биотехнологии ФГБОУ ВО «КНИТУ». Каждый участник получал 50 мл продукта температурой 12 °С в стеклянном флаконе объемом 100 мл с откручивающейся крышкой. Дегустационный лист оценки органолептических показателей представлен в приложении Г.

Оценку микробиологических показателей КМП проводили по методам, регламентированным ГОСТ. БГКП (колиформы) выявляли по ГОСТ 31747-2012, бактерии вида *Escherichia coli* – по ГОСТ 30726-2001, *Salmonella* spp. – по ГОСТ ISO 6785-2015, *Staphylococcus aureus* – по ГОСТ 30347-2016, дрожжи и плесневые грибы – по ГОСТ 33566-2015.

Антимикробную активность сквашенного молока определяли диско-диффузионным методом, описанным в параграфе 2.2 [7].

Молекулярную массу ЭПС анализировали методом эксклюзионной хроматографии. Моносахаридный состав определяли методом высокоэффективной анионообменной хроматографии. С помощью сканирующей электронной микро-

скопии (СЭМ) анализировали различия в составе и свойствах лиофилизированных ЭПС [119].

2.6 Методы тестирования антиоксидантных свойств КМП

ДФПГ-активность анализировали по методу, описанному ранее [77], с изменениями [146]. Метод колориметрический, основан на реакции ДФПГ, растворенного в этаноле, с образцом антиоксиданта исследуемого вещества и определении оптической плотности при 517 нм.

Гидроксилрадикальную активность анализировали в соответствии с процедурой, описанной в [125]. Образцы предварительно разводили в 5 раз. Добавляли раствор FeSO_4 , этанольный раствор салициловой кислоты и раствор перекиси водорода, образцы инкубировали 30 мин при 37 °С, центрифугировали 5 мин при 9000 об/мин. Активность выражали как поглощение при 510 нм.

Активность хелатирования ионов железа исследовали согласно методике, описанной в [112]. К исследуемому образцу приливали FeCl_2 , раствор феррозина и воду, выдерживали 10 мин при 30 °С. Дополнительные ряды пробирок: 1 – по основной методике, но с заменой раствора феррозина на воду; 2 – две пробирки по основной методике, но с заменой образца на воду. Измеряли поглощение при 562 нм.

Восстановительную силу анализировали по методике, описанной ранее [120]. Метод фотометрический, основан на измерении изменений цвета, при которых раствор желтого цвета (Fe^{3+}) восстанавливается до различных оттенков синего цвета (Fe^{2+}) в зависимости от восстанавливающей способности образца, которая обнаруживается при 700 нм.

Перекисное число определяли по методу, приведенному в [132].

Кислотное число (значение свободных жирных кислот) определяли по методике [131].

Тиобарбитуровое число определяли в соответствии с [133].

Анализ активности ЭПС по захвату супероксидных анион-радикалов проводили по методике, описанной ранее [119].

2.7 Статистический анализ

Все эксперименты проводились в трех повторах. Результаты анализировали на статистическую значимость с помощью двухстороннего анализа ANOVA с использованием программного обеспечения GraphPad Prism при уровне значимости $P < 0,05$. При работе с крысами учитывали переменные, т. е. общий холестерин, HDL-C, LDL-C, VLDL-C и концентрация триглицеридов. Среднее значение каждой из переменных для каждой крысы и различия между ними для каждого вида питания были измерены методом ANOVA. Результаты, полученные для каждой группы, оценивали попарно с помощью теста достоверно значимых различий Tukey. Расчеты проводили с помощью программы GraphPad.

3 Результаты исследований и обсуждение

3.1 Характеристика клеток *L. fermentum* AG8, *L. plantarum* AG9 и *L. bulgaricus* и их пробиотического, метаболического и антиоксидантного потенциала

На первом этапе новые незаквасочные штаммы *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9 сравнивали с промышленным заквасочным штаммом *L. bulgaricus*. Сравнивали как метаболические, так и заквасочные свойства. Затем применяли данные штаммы для изготовления КМП.

Электронная микроскопия позволила выявить различия в размерах клеток и структурных особенностях. Средний размер *L. bulgaricus* около 6 мкм. Клетки AG8 и AG9 были короче *L. bulgaricus* (более чем в 4 раза) и характеризовались меньшим образованием пленок на поверхности клеток и клеточных агрегатов после 48 ч инкубации в МРС (рисунок 2).

В случае с *L. bulgaricus* около клеток визуализируется органическое вещество, предположительно ЭПС, достаточное плотное (рисунок 2, а). Клетки AG8 в контроле имеют вид коротких ровных палочек, визуализируется ЭПС (рисунок 2, б), однако ЭПС выглядит плотно упакованными зернистоподобными структурами. Клетки AG8 после деления затрудняются в расхождении, их связывают тяжи.

Клетки AG9 собраны достаточно плотно в группы, на поверхности видны ЭПС, плотно прилегающий к клеточной поверхности; возможно, именно ЭПС позволяет клеткам плотно конгломерировать друг с другом (рисунок 2, в). Как и в случае с AG8, в/на клетках наблюдаются небольшие электронно-плотные области, но у AG9 их количество и плотность больше. Клетки незаквасочных штаммов более темные, что свидетельствует о большей электронной плотности.

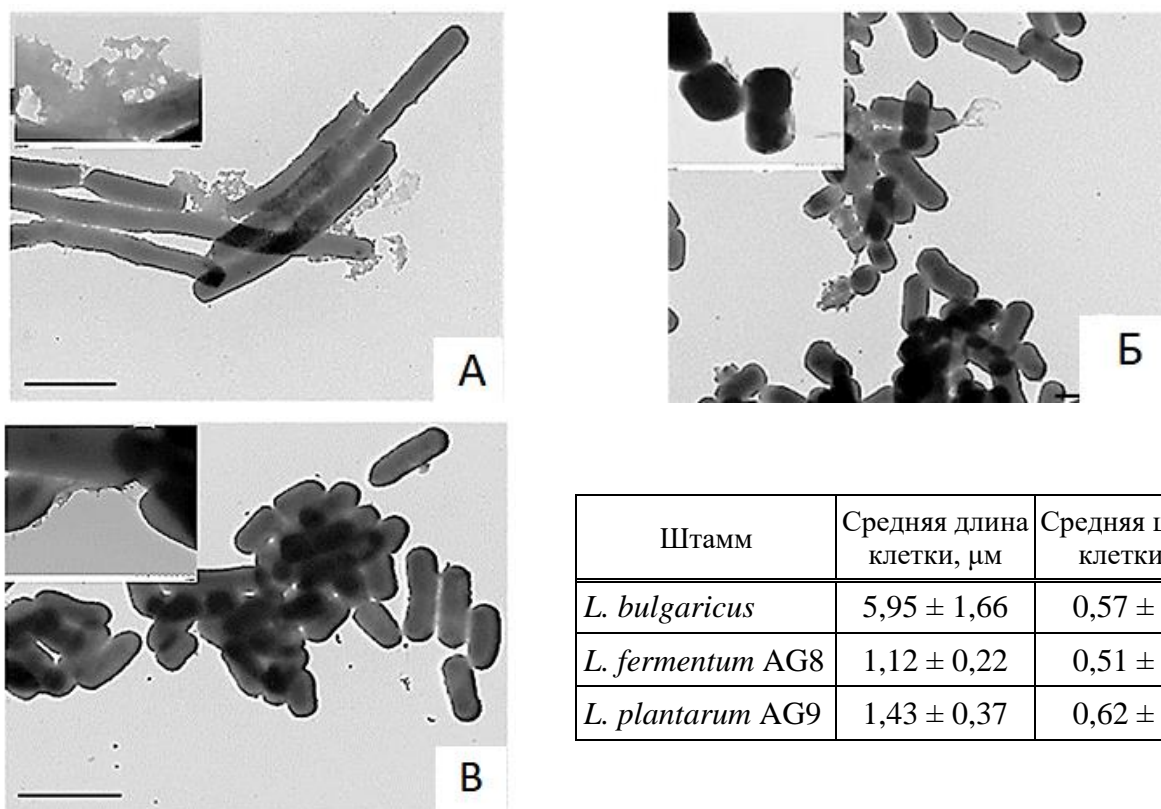


Рисунок 2 – Микрофотографии тоннельной электронной микроскопии клеток молочнокислых бактерий после 48 ч роста на среде MPC:
 а – *L. bulgaricus*; б – *L. fermentum* AG8; в – *L. plantarum* AG9

Кроме внешнего вида, с помощью сканирующей силовой микроскопии изучены структурные свойства клеток (рисунок 3).

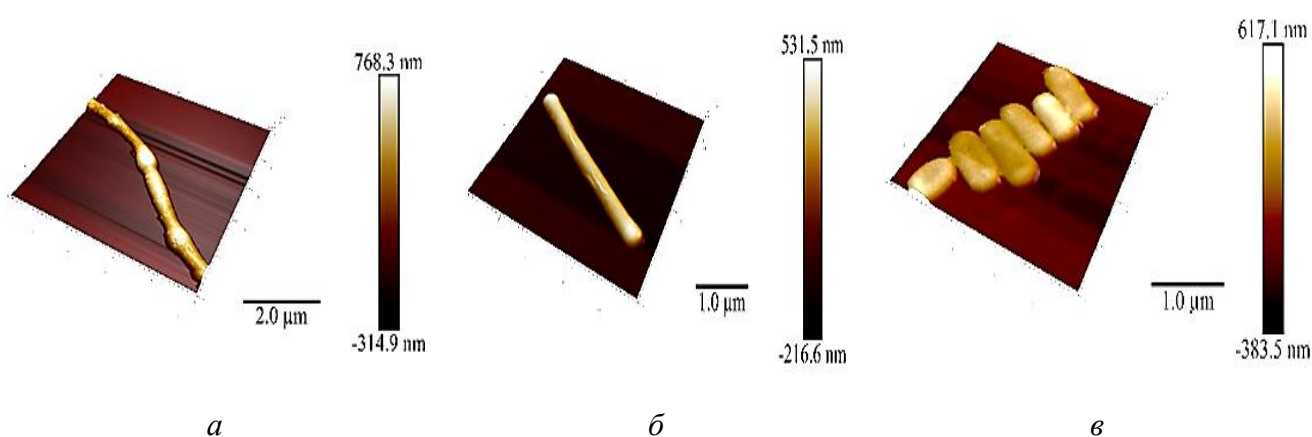


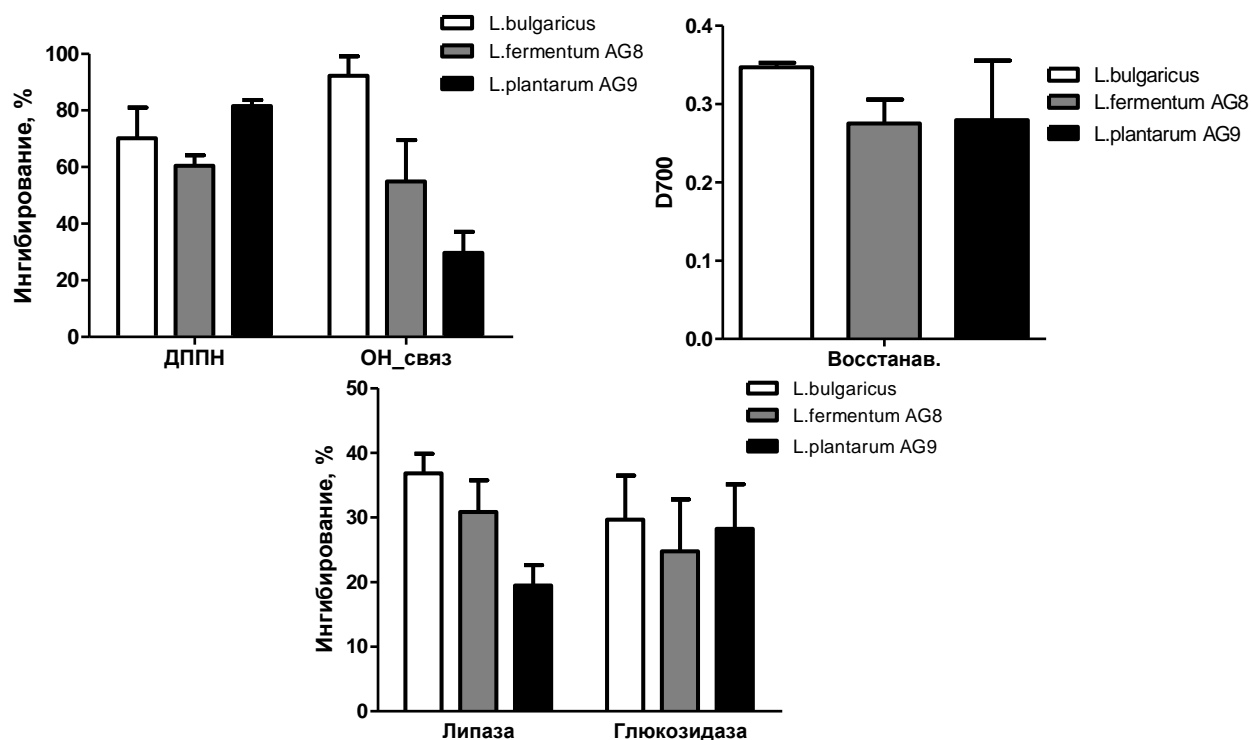
Рисунок 3 – Микрофотографии сканирующей силовой микроскопии клеток *Lactobacillus* после культивирования на MPC:
 а – *L. bulgaricus*; б – *L. fermentum* AG8; в – *L. plantarum* AG9

Выявлены различия в адгезивных и деформационных показателях у разных штаммов (таблица 2). У клеток *L. bulgaricus* сила адгезии 3,34 нН, у клеток AG8 и AG9 – 0,472 и 0,630 нН соответственно. Твердость клеток: *L. bulgaricus* – 5,4 нм; *L. fermentum* AG8 – 0,36 нм; *L. plantarum* AG9 – 2,4 нм. Различия в адгезии и твердости сказываются на пробиотических свойствах (гидрофобности и автоагрегации).

Таблица 2 – 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

Клетки лактобацилл обладают антиоксидантным потенциалом (рисунок 4). Наибольшие значения ДФПГ-активности имеют клетки AG9. Гидроксилрадикальная активность клеток AG8 и AG9 от 30 % до 60 %. Активность хелатирования ионов железа клетками AG8 и AG9 незначительно ниже в сравнении с *L. bulgaricus*.



Примечание – ДППН – ДФПГ-активность; ОН_связ. – гидроксилрадикальная активность; Восстанав. – восстановительная сила.

Рисунок 4 – Антиоксидантный потенциал и способность ингибировать ферменты клеток лактобацилл, полученных после культивирования штаммов на среде МРС

Клетки МКБ проявили способность ингибировать липазу и глюкозидазу, причем клетки AG9 в меньшей степени были способны ингибировать липазу, чем клетки AG8 и *L. bulgaricus*. В отношении глюкозидазы штаммы проявили схожий уровень ингибирования фермента.

Пробиотические свойства. Исследовали гидрофобность и автоагрегацию клеток (параметры, характеризующие способность прикрепляться к стенкам кишечника), а также влияние различных факторов на выживаемость клеток и антибиотикорезистентность.

Высокая гидрофобность поверхности AG8 и AG9 (30–60 %) в сравнении с *L. bulgaricus* (25 %) может напрямую характеризовать их высокую способность к прикреплению к стенкам кишечника (рисунок 5). Автоагрегация штаммов AG8 и AG9 через 24 ч составила 50–65 %. Автоагрегация и гидрофобные свойства связаны с адгезией. Адгезионная способность считается одним из критериев отбора пробиотических штаммов.

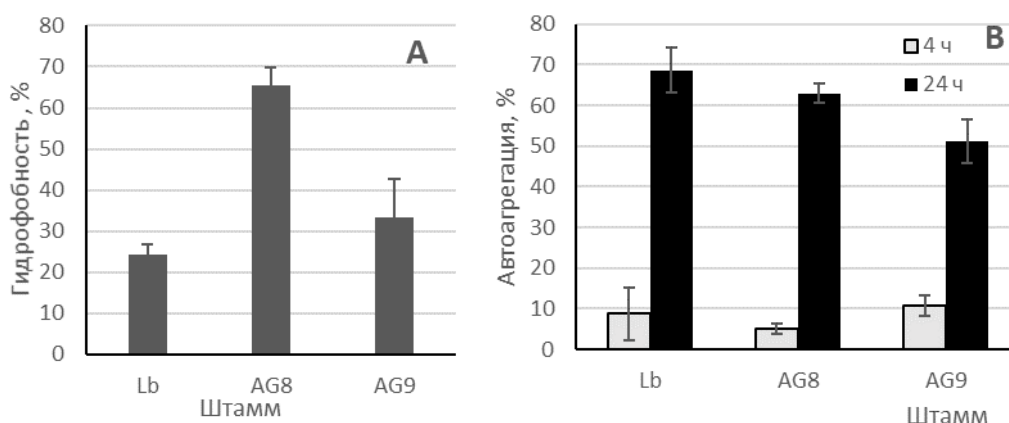


Рисунок 5 – Гидрофобность (а) и автоагрегация (б) клеток *Lactobacillus*, выращенных на среде МРС

Пробиотические свойства штаммов характеризуются их выживаемостью при различных условиях. Выживаемость AG8 и AG9 при 3 % концентрации хлорида натрия составляет 80–90 %, при 7 % концентрации хлорида натрия – 70–80 % (рисунок 6). Толерантность штаммов к кислоте и желчи необходима для их доставки в тонкую кишку, где они оказывают положительное влияние [115]. Вы-

живаемость штаммов AG8 и AG9 при pH 2 составила 60–80 %, при концентрации желчи 0,2 % – 70–80 %, в условиях желудочного сока – 80–90 %.

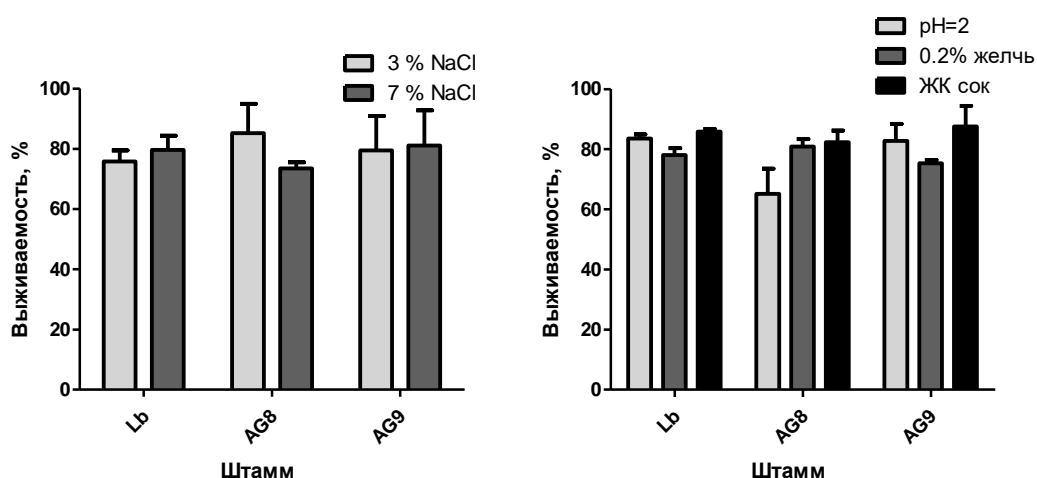


Рисунок 6 – Влияние различных факторов на выживаемость штаммов молочнокислых бактерий, выращенных на среде МРС

Среду с молочной сывороткой использовали для моделирования условий сквашивания молока. При 3 % концентрации хлорида натрия выживаемость штаммов превышала 80 %, максимальная отмечалась у AG9 (рисунок 7). Увеличение концентрации хлорида натрия до 7 % уменьшало выживаемость на 10 %. При pH 2 выживаемость штаммов достигала 70–80 %, наибольшая отмечалась у AG9. При концентрации желчи 0,2 % выживаемость составляла около 80 %, в условиях желудочного сока – превышала 80 %.

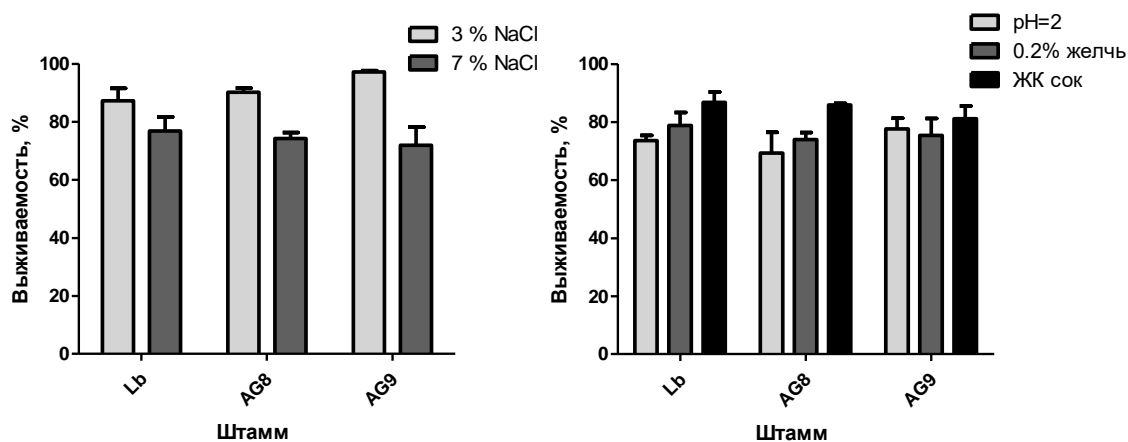


Рисунок 7 – Влияние различных факторов на выживаемость штаммов молочнокислых бактерий, выращенных на среде с молочной сывороткой

Внутренняя антибиотикорезистентность позволяет пробиотическим бактериям выживать при терапии антибиотиками и предотвращать диарею [58; 71]. Цефтриаксон и цефокситин препятствуют синтезу клеточной стенки [123]. Амоксициллин способствует лизису клеточной стенки [74]. Клиндамицин может проявлять как бактериостатические, так и бактерицидные свойства [121]. Эритромицин – бактериостатический антибиотик, т. е. предотвращающий рост бактерий [104]. Стрептомицин препятствует синтезу рибосомальных пептидов (бактерицидное действие) [147]. Данные об антибиотикорезистентности клеток молочнокислых бактерий после культивирования представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Антибиотикорезистентность клеток молочнокислых бактерий после культивирования на среде МРС ($n = 3$)

Антибиотик	Дозировка, мкг	Диаметр зоны ингибирования (среднее значение \pm SD), мм		
		<i>L. bulgaricus</i>	<i>L. fermentum</i> AG8	<i>L. plantarum</i> AG9
Цефтриаксон	30	9,5 \pm 1,3	11,0 \pm 2,9	8,0 \pm 0,8
Цефокситин	30	6,0 \pm 1,8	4,0 \pm 0,0	2,1 \pm 0,1
Амоксициллин	25	14,8 \pm 1,3	10,0 \pm 1,2	12,0 \pm 1,8
Клиндамицин	2	10,5 \pm 2,4	13,5 \pm 2,4	7,8 \pm 1,7
Эритромицин	15	8,8 \pm 2,1	11,0 \pm 1,8	12,5 \pm 1,3
Стрептомицин	300	1,9 \pm 0,6	2,3 \pm 1,0	1,6 \pm 0,5

Диаметр зоны ингибирования штаммов AG8 и AG9 антибиотиками цефтриаксоном, цефокситином и амоксициллином был меньше в сравнении с *L. bulgaricus*. Иными словами, синтез и устойчивость клеточной стенки штаммов AG8 и AG9 были ингибированы в меньшей степени. К клиндамицину (бактериостатическое и (или) бактерицидное воздействие) наиболее устойчивы AG9 и *L. bulgaricus*. К эритромицину (бактериостатическое воздействие) наиболее устойчив *L. bulgaricus*. К стрептомицину (бактерицидное действие) наиболее устойчив AG9. Таким образом, клетки AG8 и AG9 устойчивы к разрушению клеточной стенки, к бактериостатическому, бактерицидному воздействию.

Метаболические свойства. МКБ разлагают макромолекулярные вещества в пищевых продуктах и производят короткоцепочечные ЖК, амины, бактериоци-

ны, витамины и ЭПС. Эти продукты используются для улучшения вкуса ферментированных продуктов, повышения их питательности, снижения содержания вредных веществ, увеличения срока годности и т. д. [150]. Поэтому оценивали синтез ряда метаболитов при культивировании на разных средах.

На обеих средах метаболизм глюкозы штаммами AG8 и AG9 происходит активнее в сравнении с *L. bulgaricus* (рисунок 8), о чем свидетельствует большее накопление молочной кислоты. На среде МРС образовалось в 2 раза больше молочной кислоты, чем на среде с молочной сывороткой.

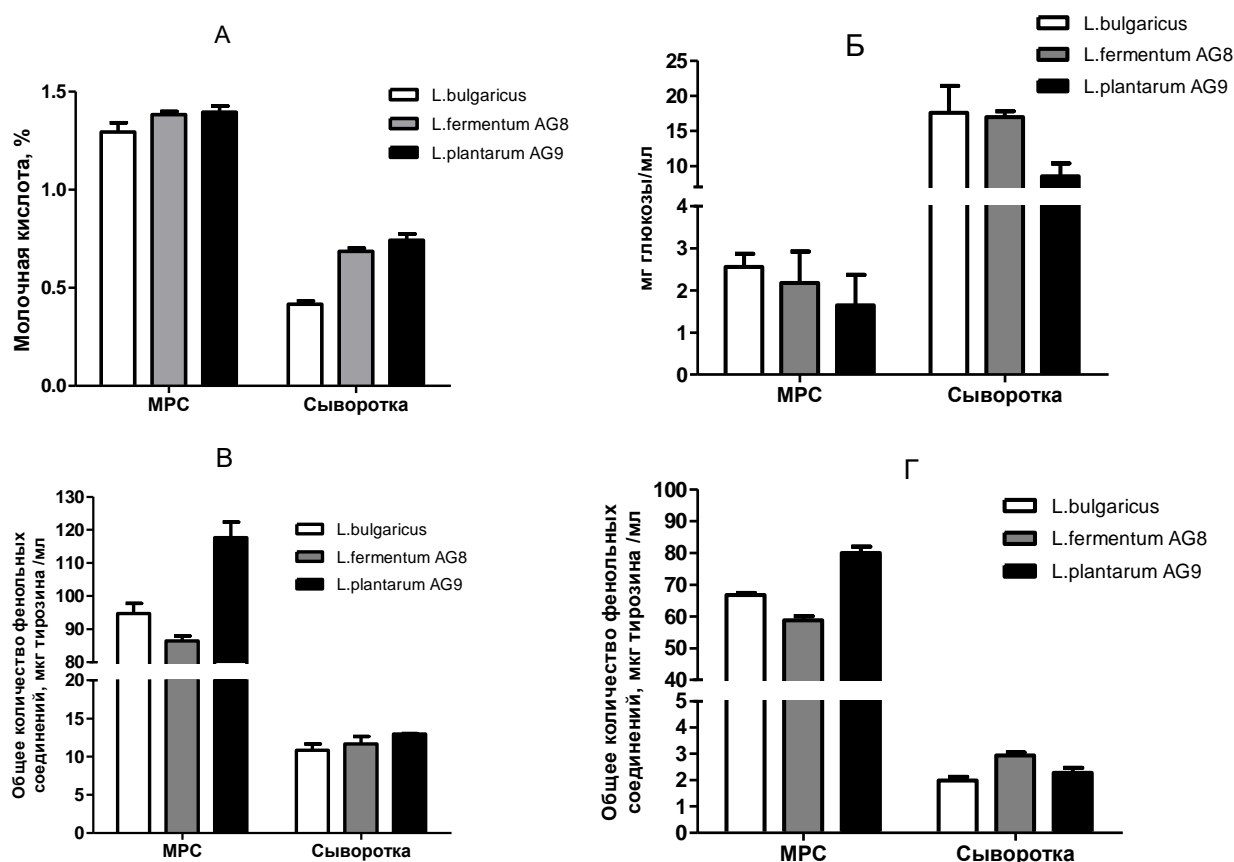


Рисунок 8 – Сравнительная характеристика метаболитов, образуемых лактобактериями при культивировании на среде МРС или среде с молочной сывороткой:

- a* – количество молочной кислоты; *б* – количество экзополисахаридов;
в – общее количество фенольных соединений (ОКФС) в культуральной жидкости;
г – ОКФС в безбелковом экстракте культуральной жидкости

Количество ЭПС, выделяемых на среде с молочной сывороткой, в несколько раз выше по сравнению со средой МРС. На обеих средах наибольшее количество ЭПС продуцировали AG8 и *L. bulgaricus*.

Фенольные соединения являются антиоксидантами и влияют на органолептические свойства. В КМП данные соединения представлены ароматическими аминокислотами, которые высвобождаются из молочного матрикса [37], а также синтезируются пробиотическими микроорганизмами [17; 60]. Аминокислотный состав КМП зависит от протеолитической активности заквасочных культур [16].

Наибольшее количество фенольных соединений продуцировали штаммы на среде МРС, максимальное количество – AG9; аналогичную тенденцию видим и в безбелковом экстракте.

МКБ продуцируют липолитические ферменты, формирующие вкус и аромат КМП, расщепляющие жиры в организме человека до глицерина и ЖК [63]. Липолитическая активность проявлялась во внеклеточной фракции (рисунок 9) и была выше у AG8 и AG9.

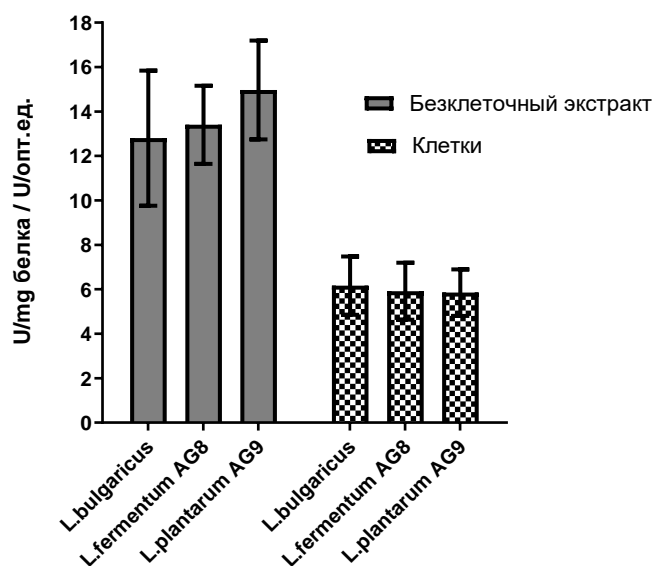


Рисунок 9 – Липолитическая активность бесклеточного экстракта и клеток МКБ после выращивания на МРС

Клетки AG8 и AG9 ассимилировали около 70 % холестерина, тогда как клетки *L. bulgaricus* – только 45 % (рисунок 10).

Антиоксидантные свойства продуктов метаболизма и клеток МКБ. Культуральная жидкость штаммов имеет антиоксидантный потенциал (рисунок 11).

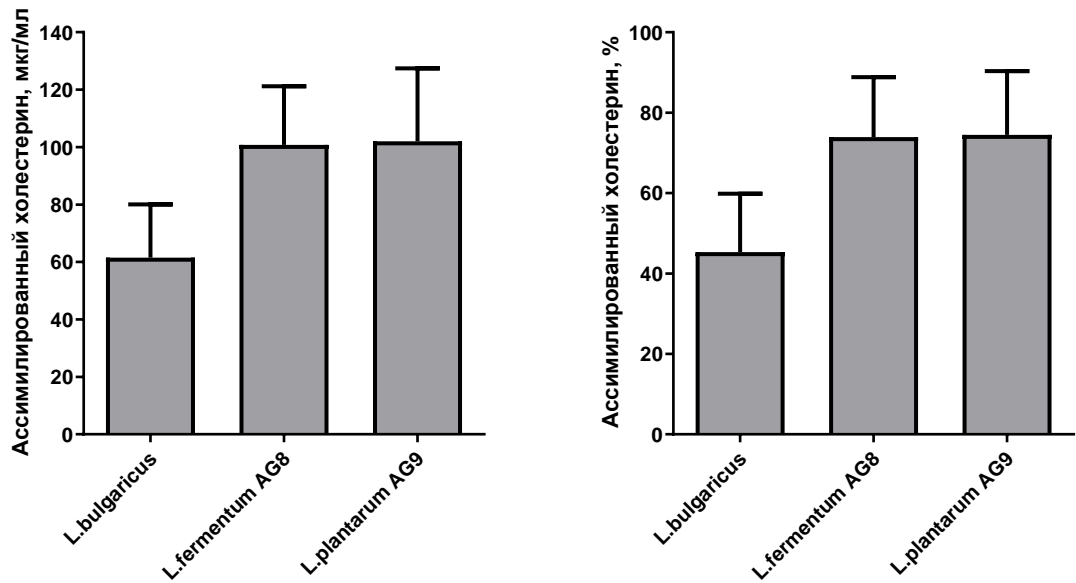


Рисунок 10 – Холестерин-ассимилирующая активность клеток молочнокислых бактерий при росте на среде MPC

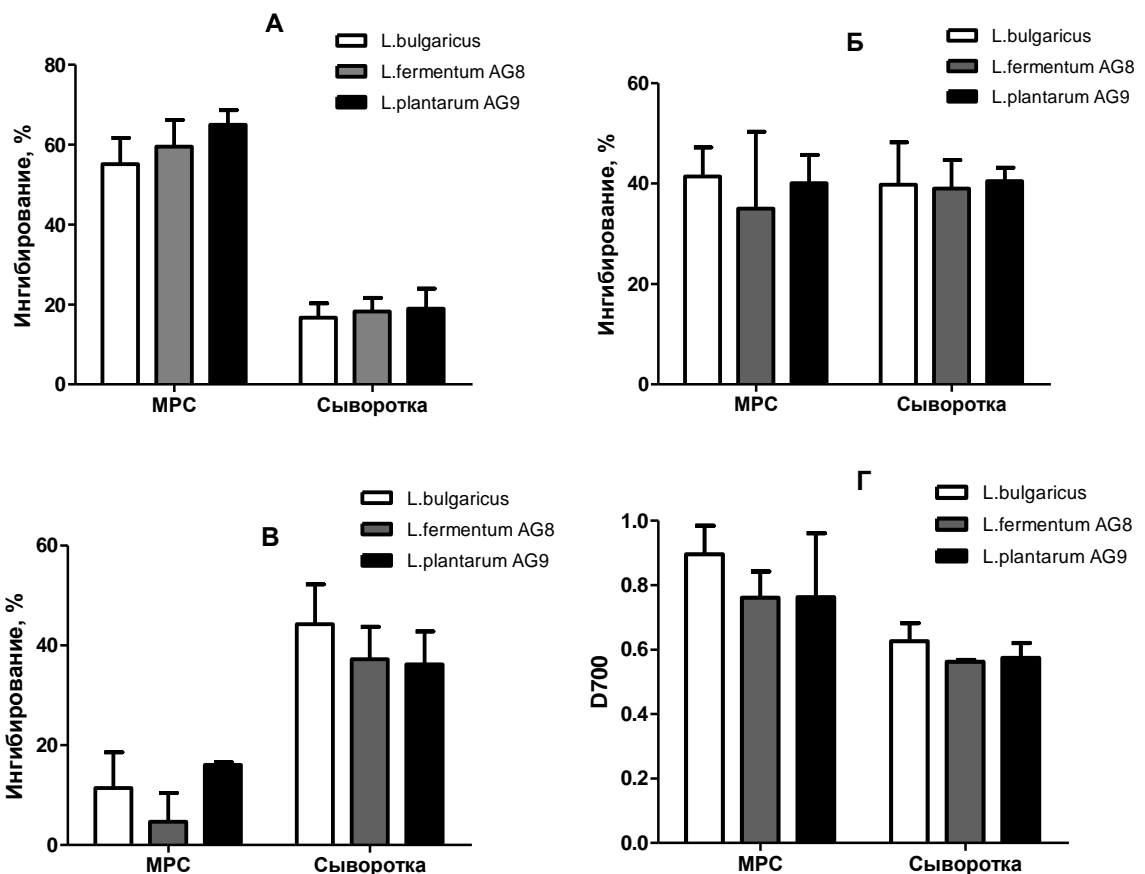


Рисунок 11 – Антиоксидантный потенциал культуральной жидкости, полученной после культивирования штаммов на среде MPC или среде с молочной сывороткой:

a – радикал-связывающая активность; *б* – гидроксилрадикальная активность; *в* – активность хелатирования ионов железа; *г* – восстановительная активность

ИнгибированиеДФПГ на среде МРС составляло от 60 % до 70 %, на среде с молочной сывороткой – до 20 % (максимально для AG9 на обеих средах). Максимальная гидроксилрадикальная активность на обеих средах отмечалась у AG9. Активность хелатирования ионов железа на среде МРС составила до 20 % (максимальная у AG9), на среде с молочной сывороткой – от 40 %. Максимальная восстановительная сила у *L. bulgaricus* на обеих средах.

Ингибирование всасывания энергетических веществ – стратегия лечения ожирения и сахарного диабета [142]. Актуален поиск ингибиторов липазы без побочных эффектов. На среде МРС наиболее активно ингибировала липазу культуральная жидкость AG8, на среде с молочной сывороткой – AG9 (рисунок 12). Ингибирование глюкозидазы на среде МРС культуральной жидкостью AG8 и AG9 составляло около 80 %, на среде с молочной сывороткой не поднималось выше 40 %.

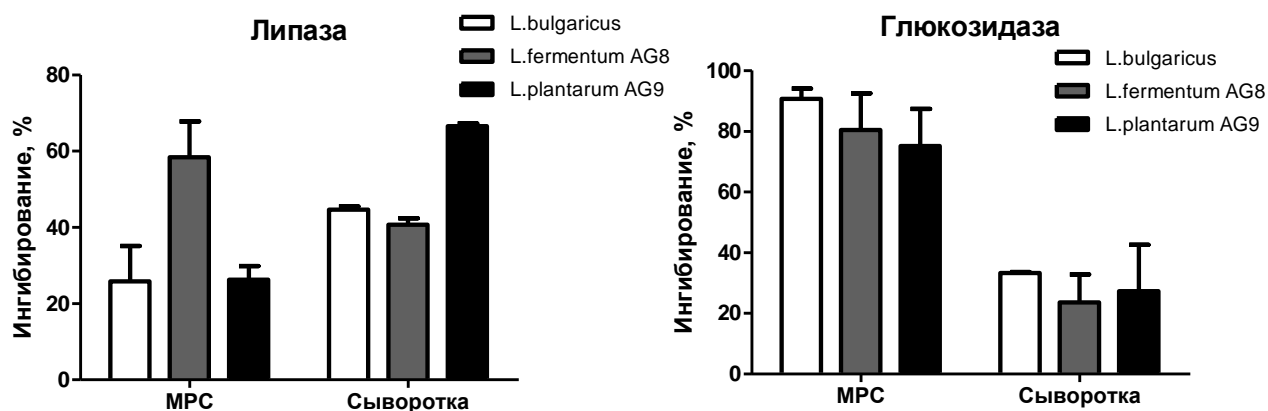


Рисунок 12 – Ингибирование ферментов культуральной жидкостью, полученной после культивирования штаммов *Lactobacillus* на среде МРС или среде с молочной сывороткой

Ранее выявили высокий уровень синтеза ЭПС, на этом этапе провели анализ антиоксидантного потенциала (рисунок 13).ДФПГ-активность ЭПС была максимальной на среде МРС у AG8 и AG9. Гидроксилрадикальная активность ЭПС была максимальной на среде с молочной сывороткой у AG8 и AG9. Активность хелатирования ионов железа ЭПС у штаммов AG8 и AG9 была выше, чем у *L. bulgaricus*, на обеих средах.

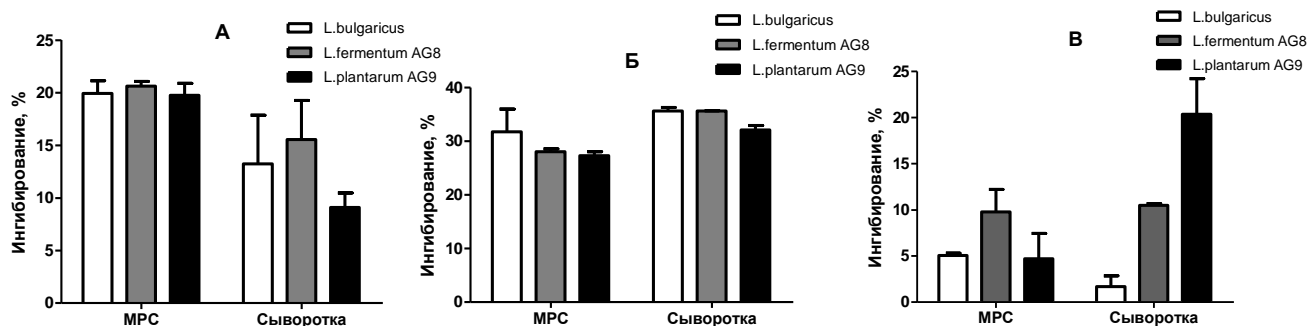


Рисунок 13 – Антиоксидантный потенциал экзополисахаридов, полученных после культивирования штаммов на среде MPC или среде с молочной сывороткой: *a* – радикал-связывающая активность; *б* – гидроксилрадикальная активность; *в* – активность хелатирования ионов железа

Выводы по параграфу 3.1. Выявлены различия клеток разных видов лактобактерий: в частности, средний размер *L. bulgaricus* около 6 мкм, клетки AG8 и AG9 короче более чем в 4 раза и более темные, что говорит о большей электронной плотности.

Клетки лактобацилл обладают антиоксидантным потенциалом. Наибольшие значенияДФПГ-активности у клеток AG9. Гидроксилрадикальная активность клеток AG8 и AG9 варьировала от 30 % до 60 %. Активность хелатирования ионов железа клетками AG8 и AG9 была незначительно ниже в сравнении с *L. bulgaricus*. Клетки МКБ проявили способность ингибировать липазу и глюкозидазу: клетки AG9 в меньшей степени были способны ингибировать липазу, чем клетки AG8 и *L. bulgaricus*. В отношении глюкозидазы штаммы проявили схожий уровень ингибирования фермента.

Гидрофобность клеток AG8 и AG9 на 5–35 % выше, чем у *L. bulgaricus*; автоагрегация через 24 ч составила 50–65 %. Различия в гидрофобности и автоагрегации можно объяснить разной силой адгезии и твердостью: у клеток AG8 и AG9 сила адгезии меньше в 5–7 раз, а твердость клеток меньше в 2–15 раз в сравнении с *L. bulgaricus*.

Выживаемость AG8 и AG9 на среде MPC при 3 % концентрации хлорида натрия составила 80–90 %, при 7 % концентрации – 70–80 %, при 0,2 % желчи – 70–80 %, в условиях желудочного сока – 80–90 %. Схожие результаты получены при исследовании выживаемости клеток на среде с молочной сывороткой.

Клетки AG8 и AG9 антибиотикорезистентны к цефтриаксону, цефокситину, амоксициллину. Клетки AG9 также устойчивы к клиндамицину и стрептомицину. Иными словами, клетки AG8 и AG9 устойчивы к разрушению клеточной стенки, к бактериостатическому, бактерицидному воздействию.

На обеих средах (MPC и среде с молочной сывороткой) метаболизм глюкозы штаммами AG8 и AG9 происходил активнее в сравнении с *L. bulgaricus*, о чем свидетельствует большее накопление молочной кислоты. Количество ЭПС, выделяемых на среде с молочной сывороткой, в несколько раз выше в сравнении со средой MPC. На обеих средах наибольшее количество ЭПС продуцировали AG8 и *L. bulgaricus*. Наибольшее количество фенольных соединений продуцировали штаммы на среде MPC, максимальное количество – AG9; аналогичная тенденция в безбелковом экстракте.

Липолитическая активность проявлялась во внеклеточной фракции и была выше у AG8 и AG9. Клетки AG8 и AG9 ассимилировали около 70 % холестерина.

Культуральная жидкость штаммов имеет антиоксидантный потенциал. Ингибирование ДФПГ на среде MPC – от 60 % до 70 %, на среде с молочной сывороткой – до 20 % (максимально для AG9 на обеих средах). Максимальная гидроксилрадикальная активность на обеих средах отмечена у AG9. Активность хелатирования ионов железа на среде MPC составила до 20 % (максимальная у AG9), на среде с молочной сывороткой – от 40 %. Максимальная восстановительная сила у *L. bulgaricus* на обеих средах.

На среде MPC наиболее активно ингибировала липазу культуральная жидкость AG8, на среде с молочной сывороткой – AG9. Ингибирование глюкозидазы на среде MPC культуральной жидкостью AG8 и AG9 составляло около 80 %, на среде с молочной сывороткой не поднималось выше 40 %.

ДФПГ-активность ЭПС максимальна на среде MPC у AG8 и AG9. Гидроксилрадикальная активность ЭПС максимальна на среде с молочной сывороткой у AG8 и AG9. Активность хелатирования ионов железа ЭПС у AG8 и AG9 выше, чем у *L. bulgaricus*, на обеих средах.

Выявленный пробиотический и метаболический потенциал, высокая холестерин-ассимилирующая и антиоксидантная активность штаммов *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9 послужили основанием для приготовления сквашенного молока на их основе.

3.2 Исследование потенциала штаммов *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9 сквашивать обезжиренное молоко

Традиционно для получения йогуртов используют закваску, состоящую в равных долях из *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* и *Streptococcus thermophilus*. Однако в составе йогуртов в качестве пробиотических культур могут применяться *Lactobacillus casei*, *L. rhamnosus*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *L. paracasei*. Совместное культивирование штаммов заквасочного и незаквасочного направления улучшает пробиотические и функционально-технологические свойства КМП [33]. На данном этапе исследований изучали особенности формирования кисломолочного геля-матрицы под действием незаквасочных пробиотических штаммов *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9. В качестве матрицы для роста выбрали обезжиренное молоко, чтобы устранить влияние молочного жира на выявление закономерностей изменения белковых компонентов.

3.2.1 Характеристика состава и физических свойств сквашенного молока

Результаты исследований показали, что штаммы *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9 способны вырабатывать молочную кислоту в условиях роста на обезжиренном молоке, о чем свидетельствуют значения рН и титруемой кислотности.

При закладке на хранение обезжиренное молоко, сквашенное AG8 и AG9, характеризовалось более высоким значением pH и меньшей титруемой кислотностью в сравнении с *L. bulgaricus* (таблица 4). Данная особенность прослеживалась в течение всего периода хранения. На 14-е сутки значение pH образцов AG8 и AG9 было на 0,5 ед. меньше, а титруемая кислотность – на 37 °Т больше в сравнении с *L. bulgaricus*. Это свидетельствует о меньшем производстве молочной кислоты AG8 и AG9 и меньшей скорости подкисления в сравнении с *L. bulgaricus*.

Таблица 4 – Изменение pH и титруемой кислотности сквашенного молока в процессе хранения

Штамм	Время хранения, сут	pH, ед.	Титруемая кислотность, °Т
<i>L. bulgaricus</i>	1	4,55 ± 0,28	122,0 ± 7,8
	7	4,54 ± 0,13	130,0 ± 5,7
	14	4,48 ± 0,17	135,5 ± 4,2
AG8	1	4,98 ± 0,13	93,0 ± 4,0
	7	4,89 ± 0,19	101,5 ± 6,4
	14	4,94 ± 0,14	98,5 ± 2,8
AG9	1	4,97 ± 0,06	92,8 ± 3,9
	7	4,94 ± 0,02	100,5 ± 3,5
	14	4,99 ± 0,11	98,3 ± 1,1

В молоке, сквашенном штаммами AG8 или AG9, в сравнении с *L. bulgaricus* общее количество белка существенно не отличалось (таблица 5), тогда как количество сывороточных белков было меньше в течение всего времени хранения, что можно объяснить активным метаболизмом доступных сывороточных белков новыми штаммами. Не отличались существенно количество солей, сухого вещества, жира и плотность образцов.

Углеводов в образцах AG8 и AG9 меньше в сравнении с *L. bulgaricus* на протяжении всего периода хранения: в начале хранения на 0,46–0,49 %, на 14-е сутки – на 0,28–0,56 %. При хранении уменьшалась глюкоза: в образце AG8 – от (5,6 ± 0,28) до (4,8 ± 0,85), в образце AG9 – от (5,6 ± 0,28) до (4,3 ± 0,71) ммоль/л.

Таблица 5 – Химический состав и физические свойства обезжиренного сквашенного молока в процессе хранения

Штамм	Время хранения, сут	Белки, %	Белки сыворотки, %	Углеводы, %	Глюкоза, ммоль/л	Соли, %	Плотность, кг/м ³	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 ± 0,5	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
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	9,2 ± 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

Это свидетельствует об активном потреблении углеводов штаммами AG8 и AG9. Данные штаммы инициируют гетероферментативное брожение; таким образом, лактоза не является единственным субстратом для брожения.

Сохранение жизнеспособности штаммов до момента потребления – проблема пробиотических продуктов [91]. Количество МКБ в образцах с AG8 и AG9 на протяжении всего времени хранения на один порядок выше, чем в варианте с *L. bulgaricus*, закономерно незначительное уменьшение численности через 14 сут хранения (рисунок 14).

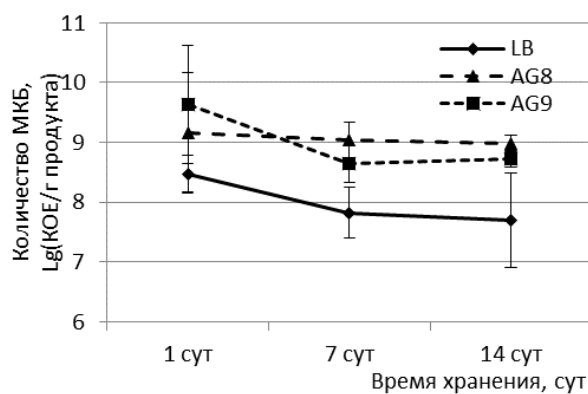


Рисунок 14 – Динамика количества молочнокислых бактерий разных штаммов в процессе хранения сквашенного молока

ЭПС накапливались до 14 сут, максимальное количество отмечено в образцах AG8 и AG9: к концу хранения – на 1–3,5 мг/мл больше, чем в образцах с *L. bulgaricus* (рисунок 15).

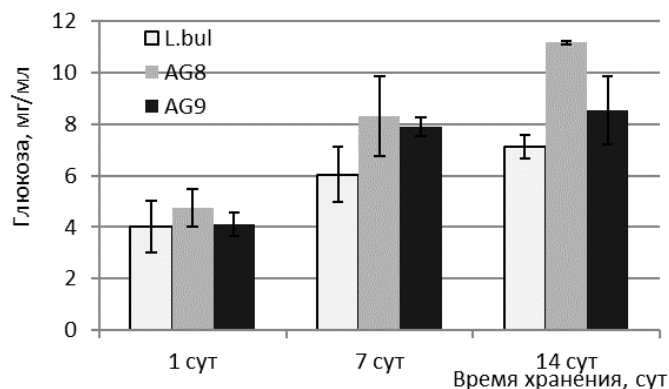


Рисунок 15 – Динамика накопления экзополисахаридов в сквашенном молоке в процессе хранения

3.2.2 Текстурные свойства сквашенного молока

Реологические и текстурные параметры влияют на качество пищевых продуктов и их оценку.

Вязкость кисломолочных сгустков уменьшалась с течением времени при постоянном напряжении сдвига (рисунок 16). На 14-е сутки хранения вязкость образцов с AG8 и AG9 была выше в сравнении с *L. bulgaricus*.

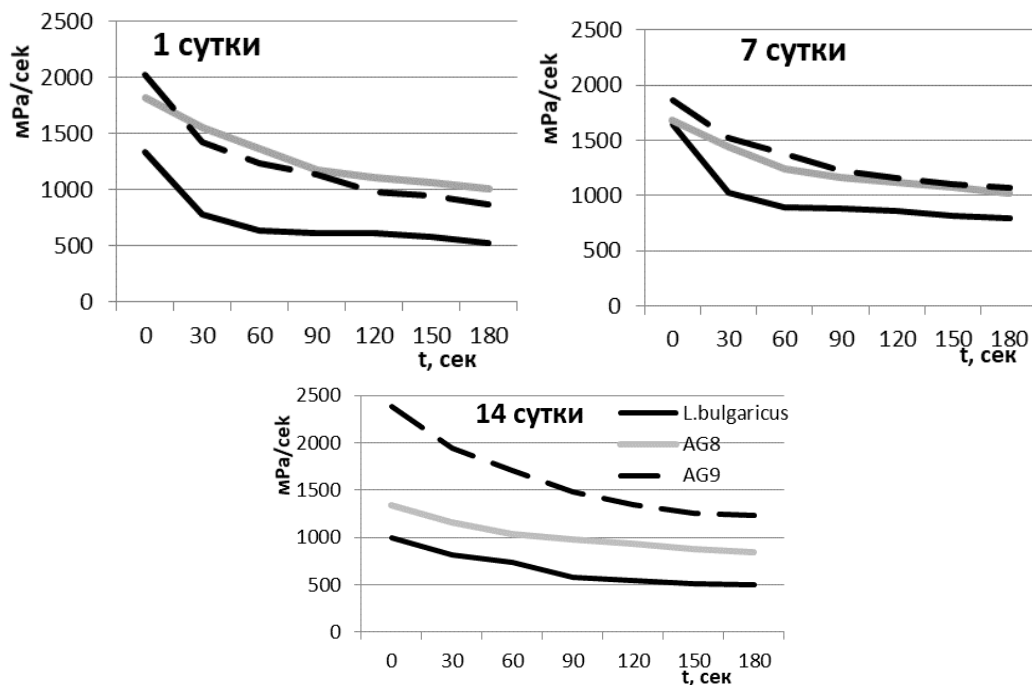


Рисунок 16 – Изменение сопротивления молочного сгустка при измерении в течение 180 с

Эффективная вязкость неразрушенного сгустка образцов с AG8 и AG9 на протяжении эксперимента значительно была выше в сравнении с образцом *L. bulgaricus* (таблица 6), к 14-м суткам – выше на 400–700 мПа·с. Коэффициент потери вязкости образцов уменьшался при хранении, при этом на 14-е сутки хранения минимальные значения имели образцы с AG8 и AG9. Коэффициент механической стабильности образцов с AG8 и AG9 через 14 сут хранения был на 0,3–0,4 % выше в сравнении с *L. bulgaricus*.

Таблица 6 – Структурно-механические свойства сквашенного молока

Штамм	Время хранения, сут		
	1	7	14
Эффективная вязкость неразрушенного сгустка, мПа·с			
<i>L. bulgaricus</i>	1180 ± 255	1140 ± 198	1160 ± 226
<i>L. fermentum</i> AG8	1770 ± 269	1510 ± 113	1590 ± 99
<i>L. plantarum</i> AG9	1770 ± 467	1800 ± 71	1820 ± 481
Коэффициент потери вязкости, %			
<i>L. bulgaricus</i>	60,6 ± 15,2	51,8 ± 6,2	50,0 ± 11,3
<i>L. fermentum</i> AG8	44,5 ± 9,4	39,3 ± 5,8	37,3 ± 0,3
<i>L. plantarum</i> AG9	56,9 ± 2,7	42,5 ± 9,5	48,3 ± 1,2
Коэффициент механической стабильности			
<i>L. bulgaricus</i>	2,5 ± 1,1	2,1 ± 0,3	1,6 ± 0,5
<i>L. fermentum</i> AG8	1,8 ± 0,3	1,6 ± 0,2	1,9 ± 0,0
<i>L. plantarum</i> AG9	2,3 ± 0,1	1,7 ± 0,3	2,0 ± 0,0

Далее исследовали ВУС и синерезис (таблица 7). ВУС – способность молекул улавливать большие количества воды таким образом, чтобы ингибировать эксудацию [100]. Синерезис (отделение сыворотки) – дефект текстуры йогурта, возникающий из-за перестройки сети мицелл казеина и вытеснения воды из сети.

Таблица 7 – Структурно-механические свойства (синерезис и влагоудерживающая способность) сквашенных обезжиренных молочных сгустков

Показатель	Штамм	Время хранения, сут		
		1	7	14
Синерезис	<i>L. bulgaricus</i>	21,42 ± 6,40	21,54 ± 1,33	22,66 ± 9,36
	<i>L. fermentum</i> AG8	11,62 ± 7,23	14,07 ± 6,30	15,21 ± 6,20
	<i>L. plantarum</i> AG9	10,88 ± 0,79	11,60 ± 8,55	14,43 ± 7,34
ВУС	<i>L. bulgaricus</i>	34,86 ± 3,09	35,84 ± 2,59	35,53 ± 1,09
	<i>L. fermentum</i> AG8	32,28 ± 3,62	37,62 ± 7,83	34,15 ± 2,37
	<i>L. plantarum</i> AG9	30,96 ± 0,72	37,82 ± 4,45	38,01 ± 3,11

Синерезис закономерно увеличивался при хранении, однако у образцов AG8 и AG9 были наименьшие значения, на 14-е сутки хранения – в 1,5 раза меньше в сравнении с *L. bulgaricus*. ВУС образцов с AG8 и AG9 выше, чем у образца с *L. bulgaricus*, в течение всего времени хранения.

Продукты с AG8 и AG9 имели меньшую твердость в начале хранения, однако после 14 сут значения данного показателя возрастали и превосходили твердость продукта с *L. bulgaricus* (таблица 8).

Таблица 8 – Инструментальный текстурный профиль сквашенных обезжиренных молочных сгустков

Показатель	Время хранения, сут	<i>L. fermentum</i> AG8	<i>L. plantarum</i> AG9	<i>L. bulgaricus</i>
Твердость, г	1	31,5	32,1	32,6
	14	33,1	33,3	32,5
Эластичность	1	0,662	0,595	0,496
	14	0,549	0,542	0,537
Адгезия, г·с	1	24,065	24,440	29,265
	14	23,778	26,582	22,471
Когезия	1	0,033	0,028	0,019
	14	0,024	0,025	0,023
Скорректированная когезия	1	-0,116	-0,091	-0,082
	14	-0,070	-0,051	-0,055
Липкость, г	1	1,029	0,903	0,614
	14	0,809	0,822	0,755
Упругость, мм	1	4,30	3,91	3,00
	14	3,32	3,50	3,21
Тягучесть, мм	1	7,00	7,08	7,92
	14	6,79	7,50	6,89
Разжевываемость, г	1	4,423	3,530	1,843
	14	2,686	2,877	2,423

Эластичность определяет органолептические свойства продукта при ощущении на языке. Эластичность продуктов с AG8 и AG9 была выше на протяжении всего срока хранения. Высокая адгезия образца *L. bulgaricus* свидетельствует о механической прочности сгустка, что соотносится с твердостью. Повышенная когезия образцов AG8 и AG9 характеризует прочность, способность противостоять механическому воздействию, соотносится с упругостью и эластичностью. Высокая упругость и липкость коррелируют с разжевываемостью. Продукты с AG8

и AG9 по текстурным свойствам могут создавать ощущение продукта с полным вкусом, который можно разжевывать несмотря на то, что это жидкий продукт.

3.2.3 Антиоксидантные и антимикробные свойства сквашенного молока

Антиоксидантная активность – важный показатель, обеспечивающий полезные свойства кисломолочного напитка, который важно сохранять на высоком уровне в течение всего срока годности. Это обеспечивает высокое качество продуктов, а также защиту от избыточного образования свободных радикалов кислорода в организме человека. Известно, что консорциумы МКБ, в отличие от чистых культур, способны более выраженно проявлять проантиоксидантный эффект [26].

Восстановительная сила безбелкового экстракта всех образцов уменьшалась на протяжении хранения (рисунок 17), оставаясь больше в 2–3 раза у образцов AG8 и AG9 в сравнении с *L. bulgaricus*.

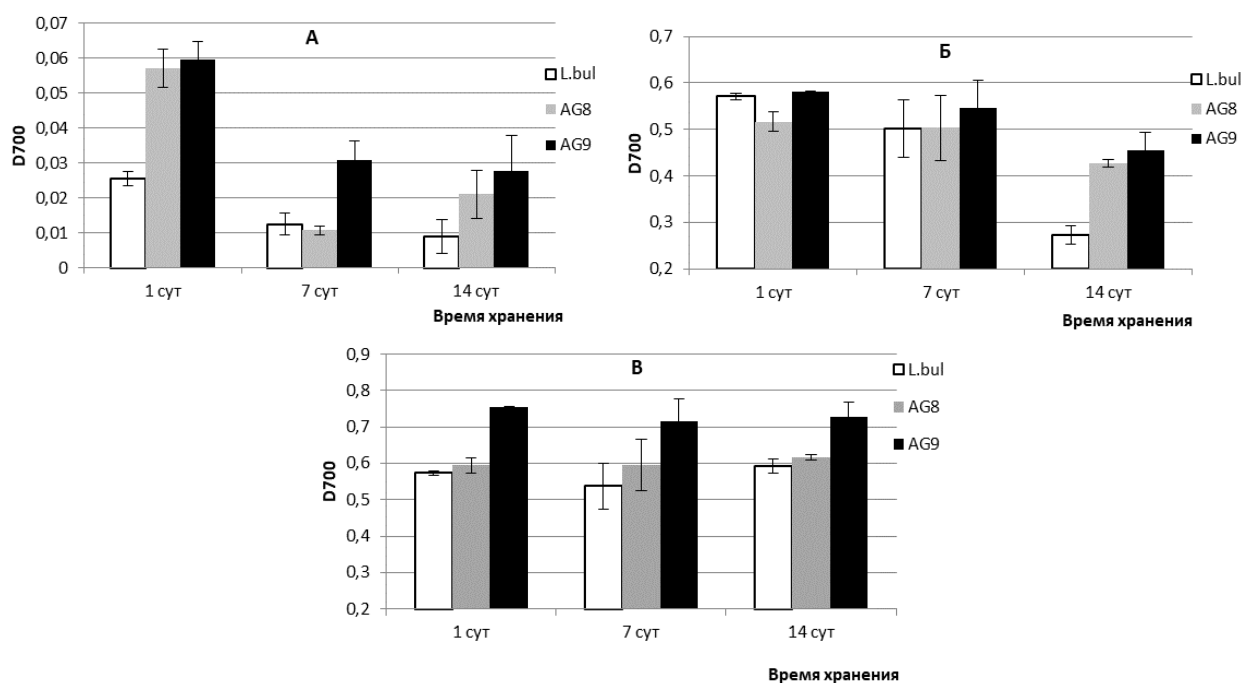


Рисунок 17 – Восстановительная сила фракций сквашенного обезжиренного молочного сгустка: безбелкового экстракта (а), сыворотки (б), продукта (в)

Восстановительная сила сыворотки всех образцов до 7-х суток хранения сохраняла стабильность, к 14-м суткам уменьшалась и у образцов AG8 и AG9 была больше в сравнении с *L. bulgaricus* в 3 раза.

Восстановительная сила продукта всех образцов изменялась незначительно в течение хранения и была максимальной у образца AG9. У AG8 и AG9 восстановительная активность всех фракций выше в сравнении с *L. bulgaricus*, наибольшие значения у AG9.

Радикал-связывающая активность различных фракций всех образцов сохраняла стабильность до 7-х суток хранения и уменьшалась к 14-м суткам (рисунок 18). В безбелковом экстракте и сыворотке максимальные значения выявили у AG9 на 7-е сутки хранения. Радикал-связывающая активность продукта с AG8 и AG9 была выше в сравнении с *L. bulgaricus* на 5–10 % в течение всего времени хранения.

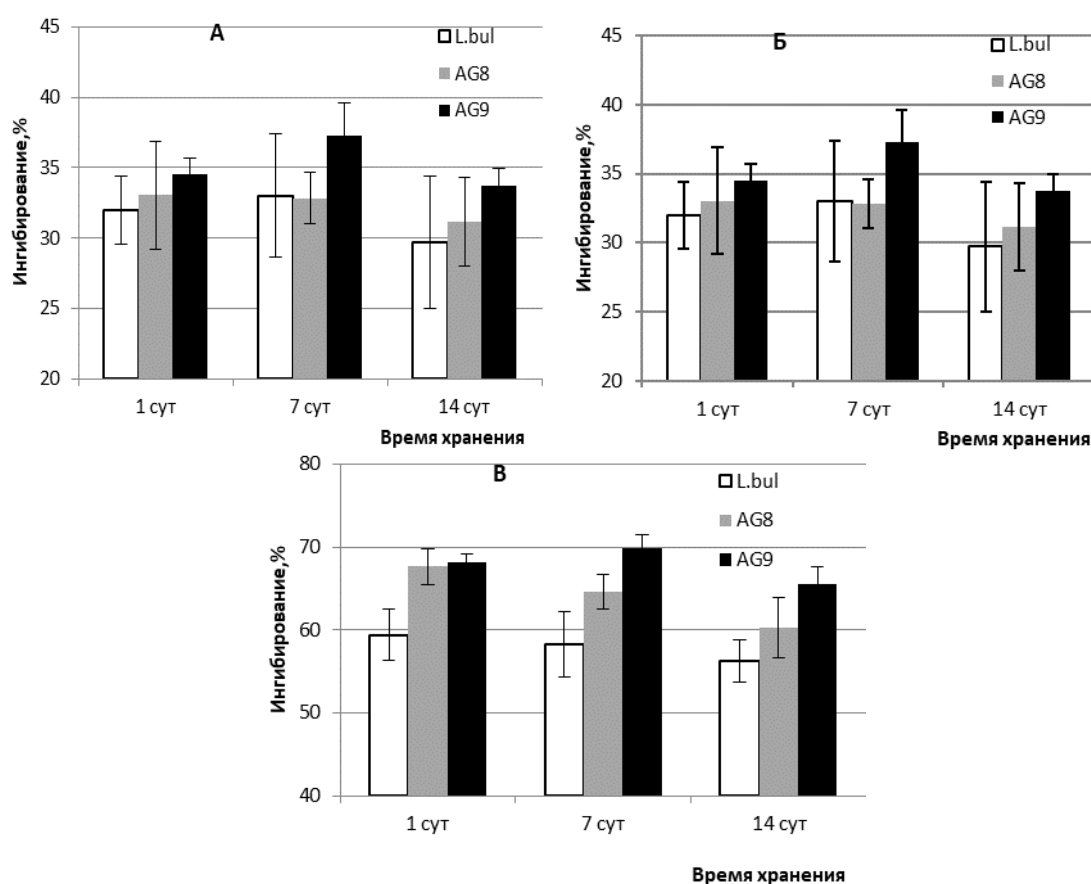


Рисунок 18 – Радикал-связывающая активность фракций сквашенного обезжиренного молочного сгустка: безбелкового экстракта (а), сыворотки (б), продукта (в)

Получение штаммов с антибактериальной активностью может решить проблему порчи продуктов питания [9]. МКБ проявляют антимикробную активность за счет выделения перекиси водорода, двуокси углерода, диацетила, бактериоцинов [42]. У исследуемых штаммов антибактериальная активность проявлялась в отношении *E. coli* и *S. aureus*, однако у штамма AG8 активность уменьшалась через 14 сут хранения продукта (таблица 9). У продукта, сквашенного AG9, выявлена способность подавлять *S. typhimurium* на 7-е и 14-е сутки хранения.

Таблица 9 – Антимикробная активность обезжиренного молока, сквашенного разными видами молочнокислых бактерий, в процессе хранения

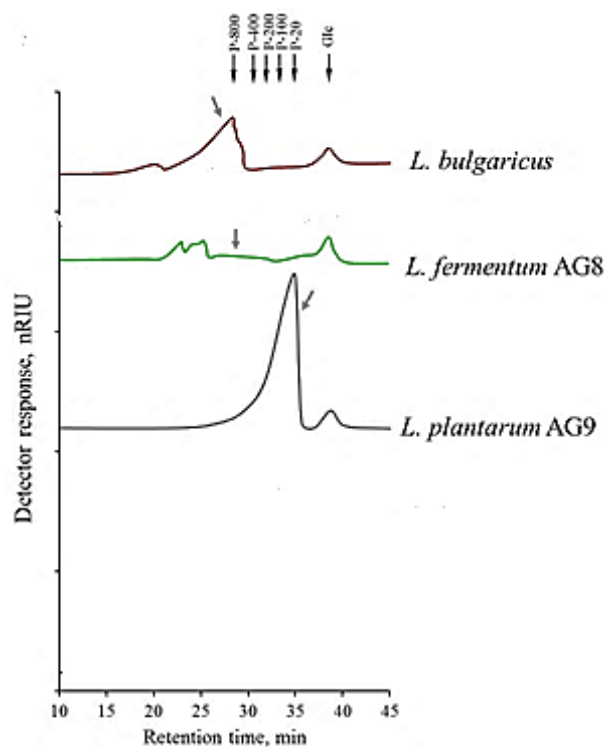
Штамм	Время хранения, сут	Антимикробная активность сквашенного молока		
		<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. typhimurium</i>
<i>L. bulgaricus</i>	1	++	++	–
	7	++	++	–
	14	++	++	–
AG8	1	+	+	–
	7	+	+	–
	14	–	–	–
AG9	1	++	++	–
	7	++	++	+
	14	++	++	+

Примечание – «++» – радиус зоны ингибирования более 5 мм; «+» – радиус зоны ингибирования менее 5 мм; «–» – зона ингибирования отсутствует.

3.2.4 Особенности экзополисахаридов, синтезированных молочнокислыми бактериями при сквашивании молока

При разделении ЭПС методом эксклюзионной хроматографии углеводы обнаруживали только в пиках с молекулярной массой более 10 кДа, что подтверждает полимерную форму ЭПС. Молекулярно-массовое распределение ЭПС раз-

ных штаммов различалось (рисунок 19). Среднее число (Mn) и средний вес (Mw) молекулярных масс приведены для пиков, обозначенных серыми стрелками. Пуллуланы с низким индексом полидисперсности и глюкоза использовались в качестве маркеров молекулярного веса при гель-фильтрации. ЭПС, продуцируемые AG9, представлены одним выраженным пиком с молекулярной массой около 35 кДа. Для ЭПС, продуцируемых *L. bulgaricus* и AG8, кроме этого, наблюдалась серия пиков с высокой молекулярной массой (более 1500 кДа).



Образец ЭПС	Mn , кДа	Mw , кДа	PD
<i>L. bulgaricus</i>	675	1530	2,3
<i>L. fermentum</i> AG8	135	390	2,9
<i>L. plantarum</i> AG9	12	35	2,9

Рисунок 19 – Молекулярно-массовое распределение экзополисахаридов, синтезированных изучаемыми штаммами МКБ при сквашивании обезжиренного молока

Моносахаридный состав высокомолекулярных пиков (таблица 10) близок к составу низкомолекулярных пиков (данные не приведены), что свидетельствует о том, что высокомолекулярные пики содержат агрегаты молекул ЭПС.

В ЭПС, полученных из *L. bulgaricus*, преобладали галактоза и глюкоза (($46,9 \pm 1,6$) и ($17,9 \pm 0,7$) моль% соответственно). Такой состав ЭПС коррелирует с повышенной склонностью к агрегации (рисунок 20), выражающейся в появлении более высокомолекулярного пика на профиле элюирования.

Таблица 10 – Моносахаридный состав экзополисахаридов, продуцируемых изучаемыми штаммами

Моносахарид	Содержание ЭПС в образцах, моль%			
	<i>L. bulgaricus</i>	<i>L. bulgaricus</i>	<i>L. fermentum</i> AG8	<i>L. plantarum</i> AG9
Фукоза	3,6 ± 0,1	3,6 ± 0,1	0,7 ± 0,0	0,3 ± 0,0
Рамноза	7,3 ± 0,2	7,3 ± 0,2	0,3 ± 0,0	2,9 ± 0,1
Арабиноза	4,9 ± 0,1	4,9 ± 0,1	1,4 ± 0,0	3,3 ± 0,1
N-ацетил-галактозамин	1,3 ± 0,0	1,3 ± 0,0	0,0 ± 0,0	0,2 ± 0,0
N-ацетил-глюкозамин	4,2 ± 0,1	4,2 ± 0,1	2,4 ± 0,1	2,1 ± 0,1
Галактоза	46,9 ± 1,6	46,9 ± 1,6	0,3 ± 0,0	13,1 ± 0,6
Глюкоза	17,9 ± 0,7	17,9 ± 0,7	0,1 ± 0,0	69,1 ± 2,8
Ксилоза	7,1 ± 0,2	7,1 ± 0,2	0,0 ± 0,0	2,6 ± 0,1
Манноза	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	2,6 ± 0,1
Фруктоза	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	69,9 ± 2,1	0,0 ± 0,0
Галактуроновая кислота	3,2 ± 0,1	3,2 ± 0,1	18,2 ± 0,5	2,9 ± 0,1
Глюкуроновая кислота	2,6 ± 0,1	2,6 ± 0,1	6,7 ± 0,2	0,9 ± 0,0

В ЭПС из AG9 также преобладали галактоза и глюкоза, однако в противоположных соотношениях: (13,1 ± 0,6) и (69,1 ± 2,8) моль% соответственно. Такой ЭПС не образовывал крупных агрегатов. В ЭПС из AG8 преобладали фруктоза ((69,9 ± 2,1) моль%) и галактуроновая кислота ((18,2 ± 0,5) моль%). Кроме того, в высоких долях содержалась глюкуроновая кислота.

С помощью сканирующей электронной микроскопии проанализированы различия в микроструктуре лиофилизированных ЭПС. ЭПС, продуцируемый *L. bulgaricus* (рисунок 20), имеет неровную, мелкопористую губчатую структуру с вкраплениями пустот и некоторой слоистостью в пространственном сечении, поверхность гладкая.

Углеводы ЭПС, синтезированных с помощью *L. fermentum* AG8, представлены фруктозой, содержат галактуроновою кислоту, склонны к агрегации в растворе и образованию губчатых структур из рыхлого вещества с крупными порами. ЭПС *L. plantarum* AG9, наиболее обогащенные глюкозой, образуют участки губчатого и нитевидного строения. Губчатые участки мелкозернистые, но с крупными пустотами без слоистости. Имеются участки в виде зернисто упакованных тя-

жей, которые переходят в мелкозернистые. По-видимому, при подготовке образцов зафиксирована стадия формирования ЭПС, когда полисахаридные цепи начинают формировать сеть. Это происходит при обезвоживании, так как в растворе этот тип ЭПС не образует крупных агрегатов.

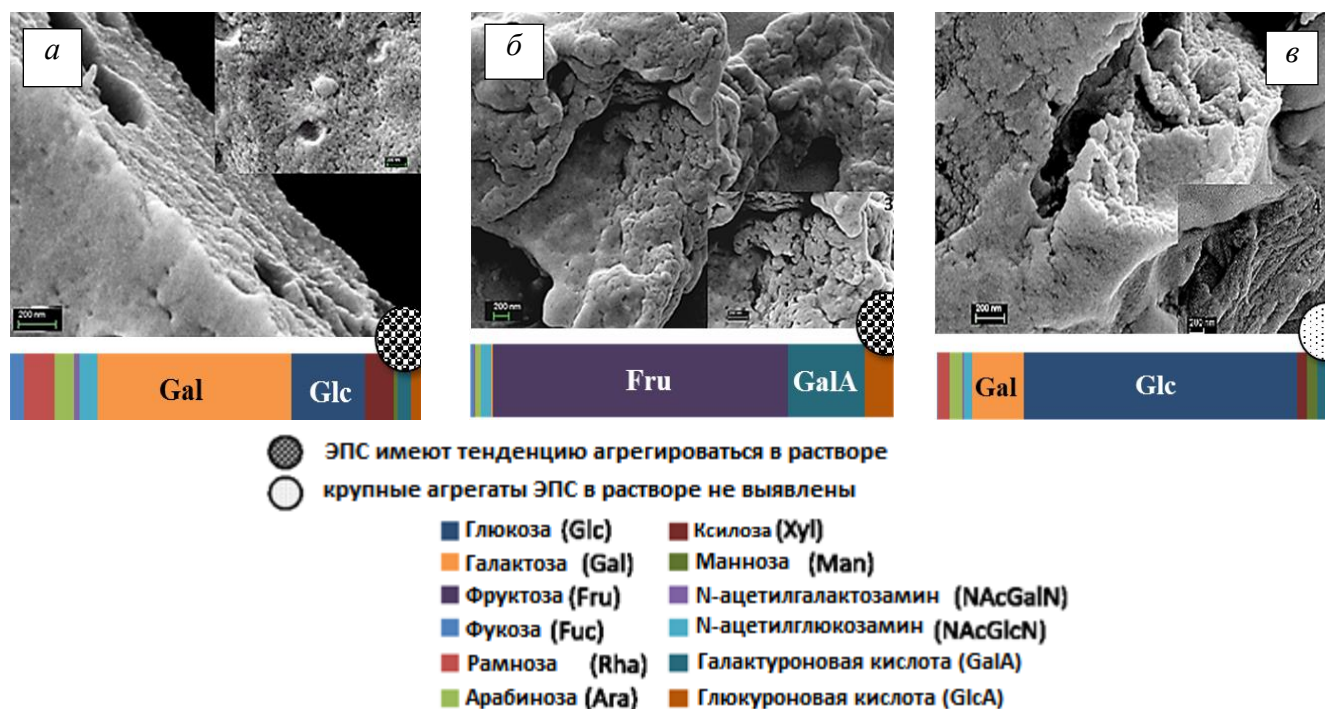


Рисунок 20 – Микрофотографии сканирующей электронной микроскопии экзополисахаридов, выделенных из обезжиренного молока, сквашенного различными штаммами МКБ: *L. bulgaricus* (а), *L. fermentum* AG8 (б), *L. plantarum* AG9 (в)

ЭПС из сквашенного обезжиренного молока обладают антиоксидантными и хелатирующими свойствами (рисунок 21). Радикал-связывающая активность исследуемых образцов аналогична, однако при концентрации ЭПС 1 и 2,5 мг/мл наибольшая активность проявлялась у образца AG8.

Гидроксилрадикал-связывающая активность при концентрации ЭПС 5 мг/мл у AG9 выше 60 %, активность AG8 и *L. bulgaricus* – ниже. Супероксиданион-связывающая активность при концентрации ЭПС 5 мг/мл наибольшая у AG8; активность AG9 выше, чем у *L. bulgaricus*. Железохелатирующая активность при концентрации ЭПС 5 мг/мл наибольшая у AG9; активность AG8 выше, чем у *L. bulgaricus*.

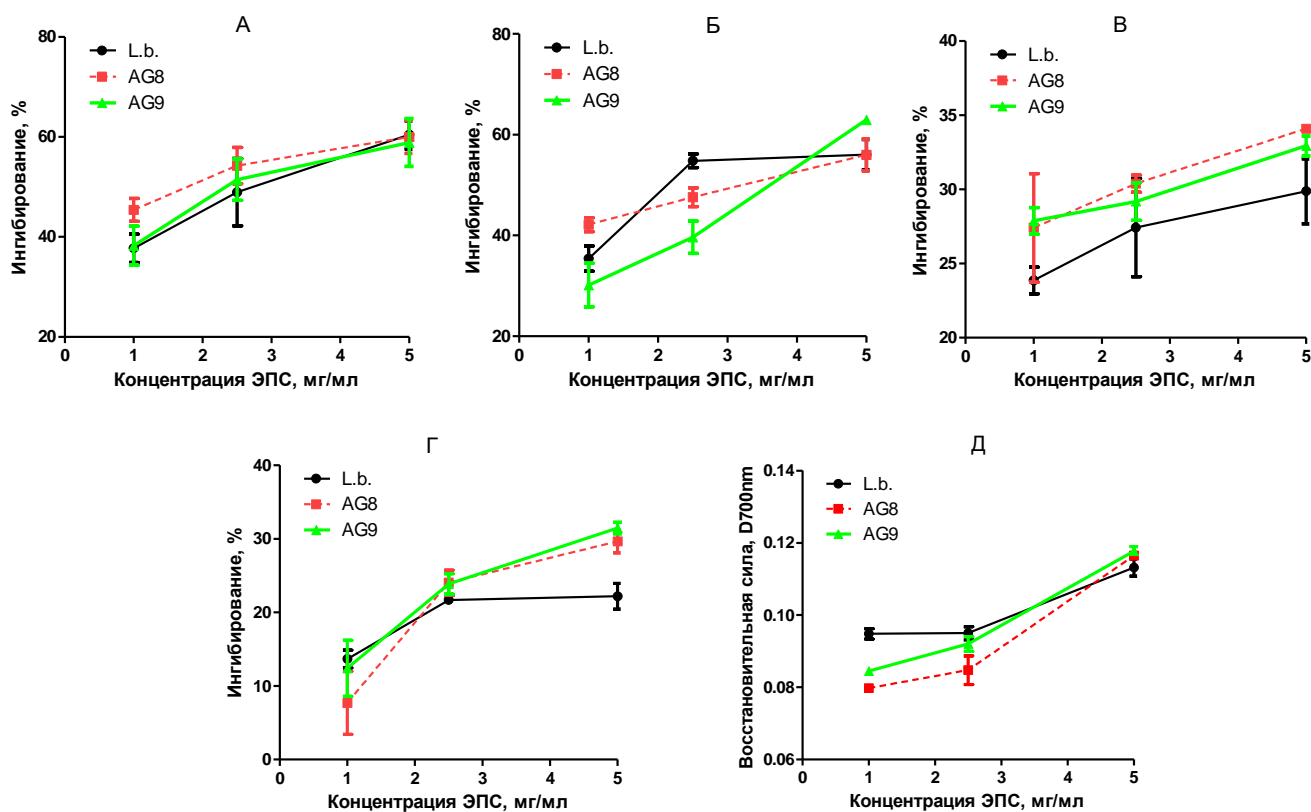


Рисунок 21 – Антиоксидантные и хелатирующие свойства экзополисахаридов, выделенных из обезжиренного молока, сквашенного различными штаммами МКБ: *a* – радикал-связывающая активность (ДППН); *б* – гидроксилрадикал-связывающая активность; *в* – супероксиданион-связывающая активность; *г* – железохелатирующая активность; *д* – восстановительная сила

Восстановительная активность при концентрации ЭПС 1 мг/мл наибольшая у *L. bulgaricus*, при повышении концентрации ЭПС значительных различий между образцами не обнаружено. Различие в проявлении разных аспектов антиоксидантных свойств должно означать различие в структурной организации разных ЭПС.

Выводы по параграфу 3.2. В течение хранения у обезжиренного молока, сквашенного AG8 и AG9, в сравнении с образцом, сквашенным *L. bulgaricus*, pH выше, а титруемая кислотность ниже (на 14-е сутки хранения pH выше на 0,5 ед., титруемая кислотность ниже на 37 °Т соответственно), что свидетельствует о меньшем производстве молочной кислоты и меньшей скорости подкисления. Углеводов в образцах AG8 и AG9 меньше в сравнении с *L. bulgaricus* на протяжении всего периода хранения. Кроме того, в образцах AG8 и AG9 уменьшалось со-

держание глюкозы. Данные факты свидетельствуют об активном потреблении углеводов штаммами AG8 и AG9.

В молоке, сквашенном штаммами AG8 или AG9, в сравнении со сквашенным *L. bulgaricus* молоком количество сывороточных белков меньше в течение всего времени хранения, что можно объяснить активным метаболизмом доступных сывороточных белков новыми штаммами.

Количество МКБ в образцах с AG8 и AG9 на протяжении всего времени хранения на один порядок выше, чем в варианте с *L. bulgaricus*, закономерно незначительное уменьшение численности через 14 сут хранения.

ЭПС накапливались до 14-х суток, максимальное количество было в образцах, сквашенных штаммами AG8 и AG9: к концу хранения – на 1–3,5 мг/мл больше, чем в образцах с *L. bulgaricus*. Кроме того, для образцов AG8 и AG9 в сравнении с *L. bulgaricus* на 14-е сутки хранения характерны: наибольшая вязкость, эффективная вязкость и коэффициент механической стабильности; наименьший коэффициент потери вязкости; синерезис в 1,5 раза меньше; более высокое значение ВУС.

По результатам исследования инструментального текстурного профиля выявлено, что продукты с AG8 и AG9 в сравнении с *L. bulgaricus* на 14-е сутки хранения более твердые и эластичные, с более высокой когезией (более прочны и способны противостоять механическому воздействию), более упругие и липкие, что коррелирует с разжевываемостью. Продукты с AG8 и AG9 по текстурным свойствам могут создавать ощущение продукта с полным вкусом, который можно разжевывать несмотря на то, что это жидкий продукт. Продукт с *L. bulgaricus* характеризовался более высокой адгезией, т. е. был более прочным механически.

Восстановительная активность всех фракций образцов AG8 и AG9 выше в сравнении с *L. bulgaricus*, наибольшие значения у AG9. Радикал-связывающая активность продуктов с AG8 и AG9 выше в сравнении с *L. bulgaricus* на 5–10 % в течение всего времени хранения.

Антимикробная активность проявлялась в отношении *E. coli* и *S. aureus*. Продукт, сквашенный *L. plantarum* AG9, подавлял *S. typhimurium*.

ЭПС из обезжиренного молока, сквашенного AG8 и AG9, проявляли бóльшую активность в связывании радикалов, восстановительную активность и хелатирующую активность в сравнении с *L. bulgaricus*. Данные различия объяснили различиями в структуре: в ЭПС из *L. bulgaricus* преобладали галактоза и глюкоза; из AG9 – галактоза и глюкоза в противоположных соотношениях; из AG8 – фруктоза и галактуроновая кислота.

Положительные изменения текстурных, антиоксидантных, антимикробных свойств молока, сквашенного штаммами AG8 и AG9, и способность данных штаммов накапливать ЭПС, проявляющие антиоксидантные свойства, послужили основанием для проведения доклинических исследований в системе *in vivo*.

3.3 Доклинические исследования обезжиренного молока, сквашенного штаммами *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9, в системе *in vivo*

Показатели роста крыс в опытных группах, получавших молоко, сквашенное штаммами AG8 и AG9, улучшились на 40–60 % в сравнении с животными, не получавшими сквашенное молоко (таблица 11).

Таблица 11 – Изменение показателей роста животных при введении в рацион молока, сквашенного штаммами *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9

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
Печень, %	5,53 ± 0,74	5,40 ± 1,15	5,62 ± 0,59
Почки, %	0,86 ± 0,10	0,90 ± 0,16	0,90 ± 0,05
Селезенка, %	0,46 ± 0,11	0,47 ± 0,08	0,42 ± 0,08

Коэффициент усвоения корма в группах со сквашенным молоком ниже. При сравнении массы печени, почек и селезенки существенных различий для разных групп питания не выявлено.

Установлено, что при введении в рацион крыс молока, сквашенного штаммами *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9, гематологические показатели крови оставались в пределах физиологической нормы.

Обращает на себя внимание изменение гематологических показателей: лейкоцитов, гемоглобина, тромбоцитов.

У исследуемых групп крыс концентрация лейкоцитов увеличивалась до 28-х суток и уменьшалась к 42-м суткам эксперимента (таблица 12). До наступления половой зрелости животных количество лейкоцитов растет, а затем изменяется мало [31]. В группе, получавшей молоко, сквашенное штаммом AG8, концентрация лейкоцитов на 42-е сутки больше в сравнении с контрольной, в группе AG9 – меньше на $3-4 \cdot 10^9/L$, что может свидетельствовать об уменьшении воспалительного стресса.

В группе AG9 отмечалось большее количество тромбоцитов и эритроцитов в течение эксперимента в сравнении с контрольной группой, что не превышало физиологической нормы. Кроме того, с 28-х суток в обеих опытных группах гемоглобин выше, чем в контрольной группе, но в пределах нормы.

ЛПВП собирают излишки холестерина с поверхности клеток и сплавляют его в печень, где он разрушается. Холестерин ЛПВП не приводит к атеросклерозу [137]. В группах, получавших молоко с AG8 и AG9, на 14-е сутки эксперимента ЛПВП меньше в сравнении с контрольной на 5–7 мг/дл (рисунок 22). К 42-м суткам эксперимента количество ЛПВП уменьшалось и в обеих опытных группах было меньше контроля на 10–17 мг/дл.

ЛПНП доставляют холестерин от печени и кишечника к клеткам организма. Холестерин откладывается в артериях, приводит к атеросклерозу [148]. В течение эксперимента у животных исследуемых групп количество ЛПНП менялось незначительно, однако на 42-е сутки выявили уменьшение ЛПНП в группах AG8 и AG9. В группе AG8 количество ЛПНП меньше на 3 мг/дл в сравнении с контрольной.

Таблица 12 – Изменение гематологических показателей крыс при введении в рацион молока, сквашенного штаммами *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9

Показатель	Контроль				AG8				AG9			
	Продолжительность эксперимента, сут											
	1	14	28	42	1	14	28	42	1	14	28	42
Лейкоциты, 10 ⁹ /L	7,18±1,54	13,29±3,15	12,94±4,07	8,73±1,16	7,18±1,54	10,79±3,37	12,86±2,66	9,85±3,89	7,18±1,54	12,12±3,92	14,48±4,28	5,68±4,77
Лимфоциты, 10 ⁹ /L	6,34±1,58	8,62±3,97	10,12±4,2	6,7±1,42	6,34±1,58	7,21±1,53	10,44±2,98	7,3±2,31	6,34±1,58	7,62±3,0	10,52±3,9	5,51±3,42
Сумма: нейтрофилы, моноциты, эозинофилы, базофилы, 10 ⁹ /L	0,17±0,13	0,77±0,37	0,76±0,12	0,52±0,38	0,17±0,13	0,52±0,38	0,52±0,26	0,94±0,4	0,17±0,13	0,9±0,56	1,23±0,67	0,34±0,32
Гранулоциты, 10 ⁹ /L	0,66±0,24	3,29±1,55	2,06±0,43	1,52±0,64	0,66±0,24	2,88±1,76	1,9±0,52	2,99±0,8	0,66±0,24	3,6±2,4	2,72±0,47	1,63±0,97
Лимфоциты %	87,78±6,31	68,98±15,07	76,5±7,1	76,46±10,43	87,78±6,31	70,44±9,17	80,16±6,97	73,18±5,93	87,78±6,31	64,34±15,88	71,58±6,2	72,08±6,29
Сумма: нейтрофилы, моноциты, эозинофилы, базофилы, %	2,7±2,43	5,82±2,75	6,12±1,4	5,86±3,97	2,7±2,43	4,52±2,46	4,3±2,65	5,92±4,12	2,7±2,43	5,06±4,22	7,98±3,43	5,9±4,08
Гранулоциты, %	9,48±3,94	25,18±12,44	17,38±5,98	17,68±7,69	9,48±3,94	25,06±7,12	15,6±6,22	21,42±4,58	9,48±3,94	29,02±16,45	20,46±7,28	22±4,33
Эритроциты, 10 ¹² /L	6,82±1,09	6,57±1,59	7,56±1,97	7,86±1,62	6,82±1,09	6,04±0,91	9,13±1,86	7,98±2,48	6,82±1,09	6,04±0,87	9,59±1,56	8,8±1,58
Гемоглобин, g/L	92±45,66	115,8±21,56	125,2±21,12	115,6±12,97	92±45,66	104,4±13,83	156,2±26,75	129,2±32,66	92±45,66	106±13,21	165,2±23,42	124,6±19,02
Гематокрит, %	44,89±7,85	43,73±9,38	48,17±8,43	48,51±8,94	44,89±7,85	39,17±5,06	53,75±6,65	42,27±12,88	44,89±7,85	38,09±4,66	57,33±7,81	49,81±6,82
Средний объем эритроцитов, ft	65,8±3,42	67,2±4,21	65±6,08	60,6±4,22	65,8±3,42	65,2±6,61	59,2±5,81	55,2±4,15	65,8±3,42	63,4±4,16	60±4,3	57,2±3,9
Средняя концентрация гемоглобина в крови, pg	16,58±1,36	17,58±1,88	17,08±2,99	14,64±1,72	16,58±1,36	17,34±0,88	17,22±0,67	15,66±1,44	16,58±1,36	17,62±1,09	17,3±0,77	14,22±0,98
Средняя концентрация гемоглобина в эритроцитах, g/l	253,4±28,81	262,2±16,39	223,28±113,1	241,2±23,51	253,4±28,81	267,0±14,18	291,4±20,27	284,6±29,05	253,4±28,81	278,2±2,05	288,6±7,33	249,6±9,18

Продолжение таблицы 12

Показатель	Контроль				AG8				AG9			
	Продолжительность эксперимента, сут											
	1	14	28	42	1	14	28	42	1	14	28	42
Широта распределения популяции эритроцитов, %	16,18±1,54	18,1±2,97	17,84±1,84	17,92±1,52	16,18±1,54	18,5±1,82	20,06±1,55	18,52±1,07	16,18±1,54	17,66±1,67	19,2±1,33	18,82±0,88
Тромбоциты, 10 ⁹ /L	271,0±41,3	397,6±80,92	445,8±99,45	272,8±100,82	271,0±41,3	381,4±111,82	454,8±76,09	326,4±133,25	271,0±41,3	440,4±102,67	476,8±158,56	505,2±242,58
Тромбокрит, %	0,21±0,09	0,28±0,08	0,29±0,07	0,19±0,09	0,21±0,09	0,25±0,07	0,3±0,05	0,18±0,12	0,21±0,09	0,29±0,08	0,33±0,14	0,42±0,21
Средний объем тромбоцитов, ft	6,26±0,42	6,8±0,72	6,56±0,15	6,7±0,81	6,26±0,42	6,44±0,46	6,62±0,61	6,6±0,58	6,26±0,42	6,46±0,26	6,9±0,62	6,86±0,44
Широта распределения популяции тромбоцитов, %	30,74±1,4	32,12±1,93	32,02±1,04	32,14±0,89	30,74±1,4	31,62±1,81	33,7±3,28	32,38±1,28	30,74±1,4	31,44±1,27	32,39±1,43	33,82±2,77

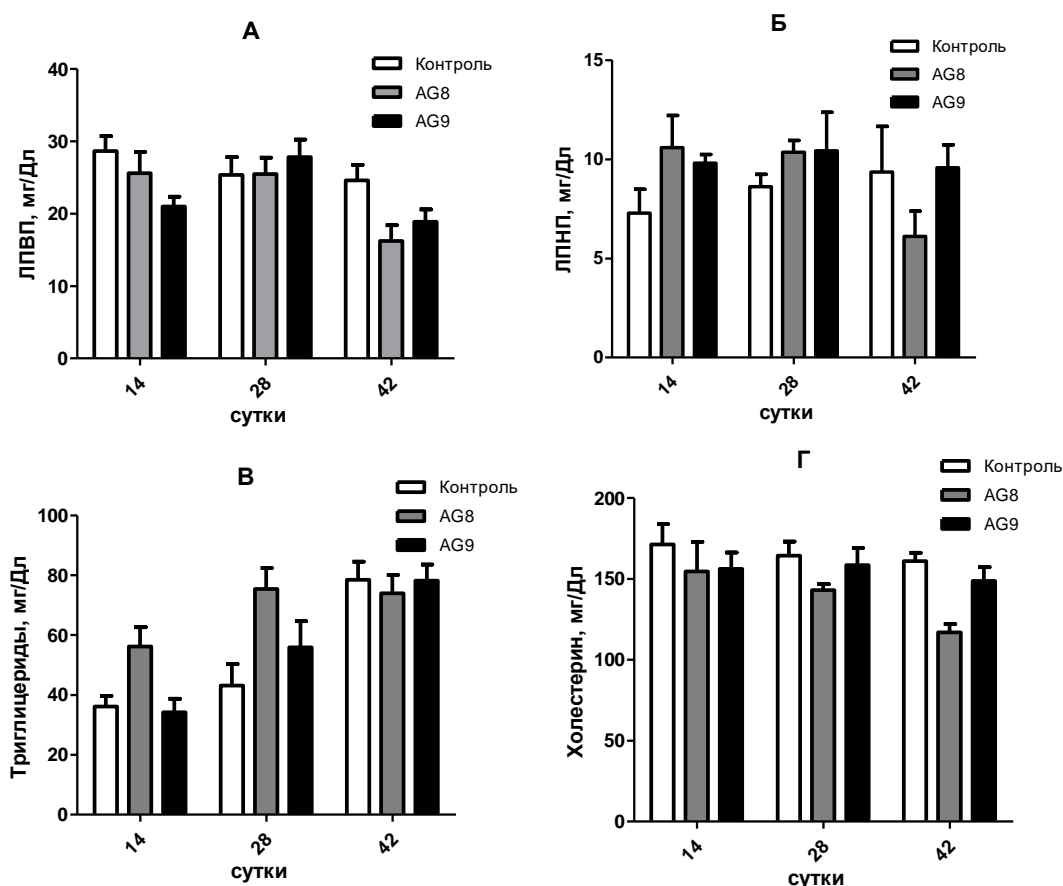


Рисунок 22 – Биохимические показатели липидного обмена крыс при введении в рацион молока, сквашенного штаммами *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9:
 а – липопротеиды высокой плотности; б – липопротеиды низкой плотности;
 в – триглицериды; г – холестерин

Триглицериды – запасной источник энергии, их увеличение повышает риск сердечно-сосудистых заболеваний [93]. Количество триглицеридов увеличивалось в ходе эксперимента, при этом в группе AG8 увеличение происходило в меньшей степени в сравнении с остальными группами. На 42-е сутки существенной разницы между группами не обнаружено. Содержание в крови общего холестерина уменьшалось в течение эксперимента в группе AG8. К 42-м суткам в группах AG8 и AG9 холестерина меньше, чем в контрольной, на 30–40 мг/дл.

Повышение в крови ферментов аланинаминотрансферазы (АЛТ) и аспаратаминотрансферазы (АСТ) говорит о повреждении тканей или органов [151]. Количество АЛТ и АСТ понижалось в течение 42 сут (рисунок 23). Минимальное значение АЛТ на 42-е сутки отмечено в группы AG8 (ниже контрольной на 10 ед/дл), минимальное значение АСТ – на 42-е сутки в группах AG8 и AG9 (ниже контрольной на 20–25 ед/дл).

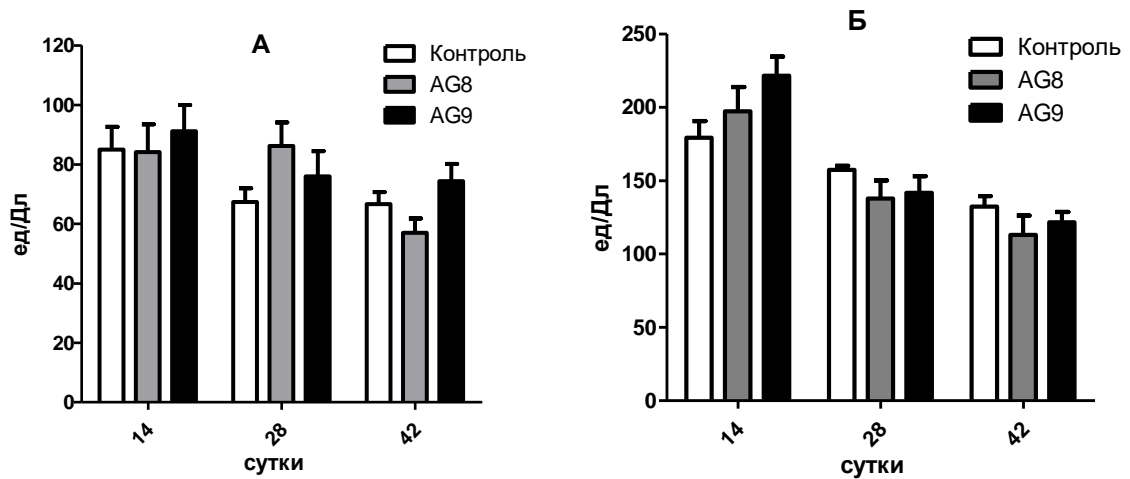


Рисунок 23 – Содержание ферментов в крови крыс при введении в рацион молока, сквашенного штаммами *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9: а – аланинаминотрансферазы; б – аспартатаминотрансферазы

Количество белка в сыворотке крови в группах AG8 и AG9 уменьшалось в сравнении с контрольной на 0,3–0,7 г/дл (таблица 13). Следовательно, такие КМП можно рекомендовать для лечебных диет, понижающих уровень белка в крови. Билирубин – желчный пигмент, образующийся при распаде белков, маркер дисфункции печени [130]. В крови животных группы AG8 количество билирубина было меньше на 0,5 мг/дл в сравнении с контрольной.

Таблица 13 – Содержание белка и билирубина в крови крыс при введении в рацион молока, сквашенного штаммами *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9 (42 сут эксперимента)

Показатель	Контроль	AG8	AG9
Общий белок, г/дл	4,0 ± 0,3	3,7 ± 0,3	3,3 ± 0,3
Билирубин, мг/дл	1,0 ± 0,3	0,5 ± 0,3	1,5 ± 0,2

Кислотное число печени разных групп крыс не различалось (рисунок 24), тогда как перекисное число в группах AG8 и AG9 ниже в сравнении с контрольной на 0,1 мэкв/кг.

Тиобарбитуровое число – масса малонового диальдегида, характеризующая окисление ненасыщенных ЖК; маркер оксидативного стресса [94]. Значение данного показателя в группах AG8 и AG9 было на 0,2–0,3 мг МА/кг меньше в сравнении с контрольной.

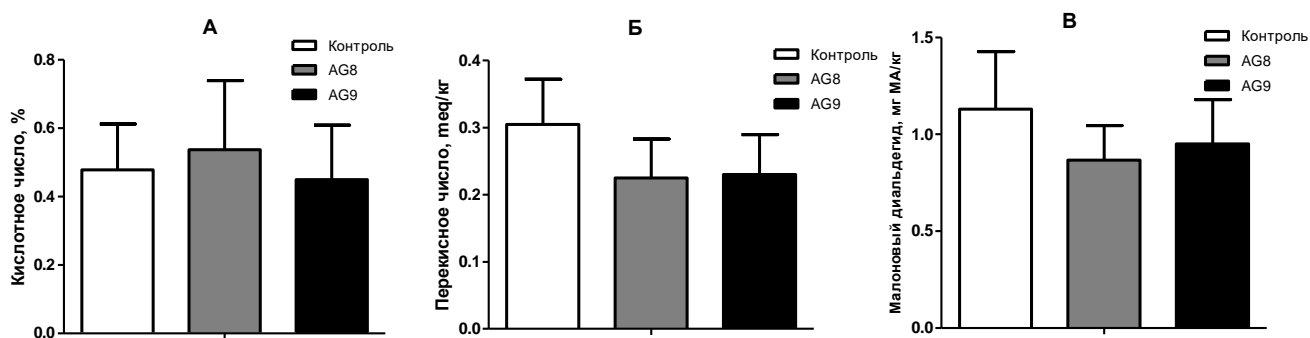


Рисунок 24 – Показатели окисленности печени крыс:

а – кислотное число; *б* – перекисное число (свободные ЖК); *в* – тиобарбитуровое число

Концентрация глюкозы в крови животных групп AG8 и AG9 ниже, чем в контрольной, на 2,5–5 ммоль/л (рисунок 25). Таким образом, можно заключить, что употребление КМП с данными штаммами может служить вариантом профилактики сахарного диабета. Количество малонового диальдегида в крови в группах AG8 и AG9 не отличалось от контрольной группы.

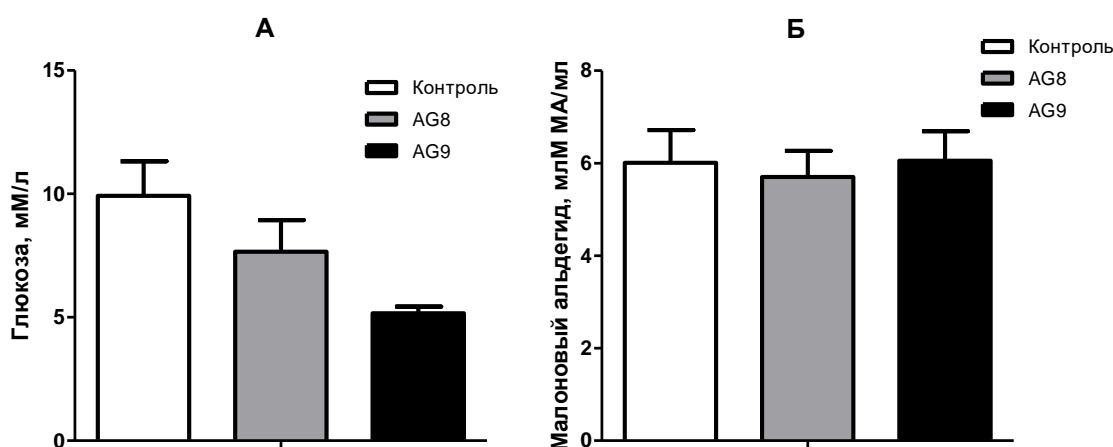


Рисунок 25 – Концентрация глюкозы (*а*) и концентрация малонового диальдегида (*б*) в сыворотке крови крыс через 42 сут эксперимента

Выводы по параграфу 3.3. Показатели роста крыс в группах, получавших молоко, сквашенное AG8 и AG9, улучшились на 40–60 %. Гематологические показатели крови исследуемых групп животных оставались в пределах физиологической нормы. В группе AG9 содержание лейкоцитов на 42-е сутки на $3\text{--}4 \cdot 10^9/\text{L}$ меньше в сравнении с контрольной, что может свидетельствовать об уменьшении

воспалительного стресса. В группе AG9 отмечено большее количество тромбоцитов и эритроцитов в течение эксперимента. Гемоглобин с 28-х суток в группах AG8 и AG9 выше, чем в контрольной группе.

В группах AG8 и AG9 на 42-е сутки эксперимента в сравнении с контрольной количество ЛПВП было меньше на 10–17 мг/дл, количество ЛПНП уменьшалось (у группы AG8 – меньше контрольной на 3 мг/дл).

Количество триглицеридов увеличивалось в течение эксперимента, при этом в группе AG8 увеличение происходило в меньшей степени в сравнении с остальными группами. Содержание общего холестерина к 42-м суткам в группах AG8 и AG9 меньше, чем в контрольной, на 30–40 мг/дл.

Количество АЛТ и АСТ снижалось в течение 42 сут, при этом к концу хранения минимальное значение АЛТ отмечалось в группе AG8 (ниже контрольной на 10 ед/дл), минимальное значение АСТ – в группах AG8 и AG9 (ниже контрольной на 20–25 ед/дл).

В группах AG8 и AG9 количество белка в сыворотке крови уменьшалось в сравнении с контрольной на 0,3–0,7 г/дл. В крови группы AG8 количество билирубина было меньше на 0,5 мг/дл в сравнении с контрольной.

В группах AG8 и AG9 перекисное число печени ниже на 0,1 мэкв/кг по сравнению с контрольной группой, тиобарбитуровое число печени – меньше на 0,2–0,3 мг МА/кг.

Концентрация глюкозы в крови животных групп AG8 и AG9 ниже контрольной на 2,5–5 ммоль/л.

Штаммы *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9 позволяют получить безопасное для здоровья млекопитающих сквашенное молоко с улучшенными текстурными и антиоксидантными свойствами. При регулярном потреблении такое сквашенное молоко снижает показатели окисленности печени млекопитающих, снижает концентрацию глюкозы в крови. В связи с этим было решено внедрить пробиотические незаквасочные штаммы *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9 в состав классической закваски для йогурта.

4 Разработка технологии пробиотических йогуртов и сметаны с новыми штаммами *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9

4.1 Влияние *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9 на йогурты

Большинство культур для сквашивания представляют собой микробные консорциумы из нескольких штаммов. В йогурте с классической закваской (*L. bulgaricus* и *Streptococcus thermophilus*) могут применяться *L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. plantarum*, *L. fermentum*, *L. paracasei*, улучшающие пробиотические, функционально-технологические свойства [33]. Изменение комбинации штаммов может раскрыть метаболический потенциал, обусловить желательные изменения продукта. На данном этапе проведены исследования изменений комплекса параметров пробиотических йогуртов при добавлении штаммов *L. fermentum* AG8 или *L. plantarum* AG9 в качестве сокультуры.

4.1.1 Состав и физические свойства йогуртов

При закладке на хранение йогурты с добавлением AG8 или AG9 характеризовались более высокими значениями pH и меньшей титруемой кислотностью в сравнении с классическим вариантом (рисунок 26).

На 21-е сутки хранения pH йогуртов с AG8 или AG9 было выше, чем у классического, на 0,1 ед., а титруемая кислотность – меньше на 5–10 °Т. Такие изменения схожи с сквашенным молоком (таблица 14) и говорят о меньшей скорости подкисления и меньшем производстве молочной кислоты.

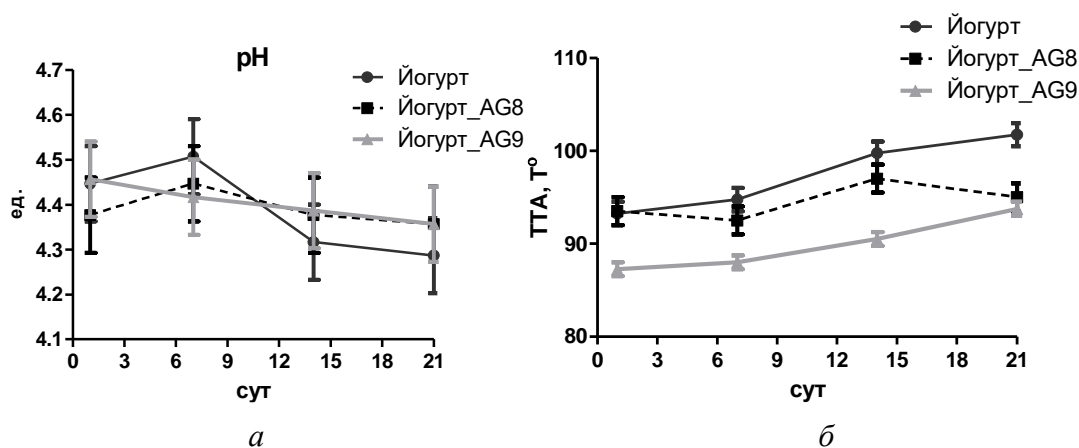


Рисунок 26 – Изменение pH (а) и титруемой кислотности (б) в йогуртах в процессе хранения в зависимости от используемой пробиотической культуры бактерий

Таблица 14 – Динамика химических параметров йогуртов в процессе хранения в зависимости от вносимой пробиотической культуры бактерий

Вариант	Время хранения, сут	Белки, %	Сывороточные белки, %	Лактоза, %	Глюкоза, ммоль/л	Соли, %	Плотность, кг/м ³	Сухие вещества, %
Йогурт	1	3,92 ± 0,59	3,29 ± 0,04	4,86 ± 0,13	1,3 ± 0,12	0,77 ± 0,03	1043,7 ± 0,52	10,35 ± 0,40
	7	3,91 ± 0,55	2,99 ± 0,20	4,41 ± 0,33	1,1 ± 0,20	0,70 ± 0,02	1042,2 ± 0,35	9,82 ± 0,27
	14	3,88 ± 0,50	3,01 ± 0,11	4,38 ± 0,35	0,9 ± 0,28	0,73 ± 0,01	1040,6 ± 0,91	9,49 ± 0,33
	21	3,88 ± 0,04	2,94 ± 0,15	4,34 ± 0,37	0,9 ± 0,28	0,69 ± 0,03	1038,1 ± 0,72	9,71 ± 0,26
Йогурт с AG8	1	3,99 ± 0,21	3,24 ± 0,03	4,78 ± 0,07	1,1 ± 0,10	0,75 ± 0,01	1039,6 ± 1,39	10,32 ± 0,15
	7	3,88 ± 0,17	3,02 ± 0,02	4,46 ± 0,29	1,1 ± 0,10	0,70 ± 0,02	1043,4 ± 0,81	9,84 ± 0,31
	14	3,91 ± 0,13	3,07 ± 0,08	4,44 ± 0,20	0,7 ± 0,16	0,76 ± 0,01	1038,3 ± 0,67	9,61 ± 0,42
	21	3,90 ± 0,08	3,00 ± 0,07	4,43 ± 0,28	0,9 ± 0,27	0,7 ± 0,03	1038,2 ± 0,58	9,83 ± 0,37
Йогурт с AG9	1	3,89 ± 0,02	3,21 ± 0,09	4,74 ± 0,08	1,2 ± 0,12	0,75 ± 0,03	1039,4 ± 0,43	10,18 ± 0,19
	7	3,82 ± 0,04	3,05 ± 0,08	4,50 ± 0,23	1,1 ± 0,11	0,71 ± 0,03	1039,1 ± 0,89	9,82 ± 0,23
	14	3,97 ± 0,03	3,07 ± 0,09	4,49 ± 0,22	0,9 ± 0,19	0,74 ± 0,01	1039,2 ± 0,63	10,00 ± 0,11
	21	3,95 ± 0,05	3,00 ± 0,06	4,43 ± 0,25	0,8 ± 0,29	0,70 ± 0,02	1036,7 ± 0,59	9,88 ± 0,23

В течение хранения в йогуртах с добавлением AG8 или AG9 в сравнении с классическим отмечали более высокие значения общего количества белка, что может говорить о понижении протеолитической активности заквасочных микроорганизмов при добавлении незаквасочных штаммов AG8 или AG9 (см. таблицу 14). Кроме того, в йогуртах с AG8 или AG9 содержание белков в сыворотке

меньше в сравнении с классическим, что говорит об интенсификации процессов гидролиза сывороточных белков в йогуртах с новыми штаммами.

Количество лактозы закономерно уменьшалось в течение хранения. При этом на 21-е сутки хранения значение данного показателя в йогуртах с AG8 или AG9 больше, чем в классическом варианте, на 0,09 %. Этот факт коррелирует с меньшим количеством молочной кислоты в опытных образцах.

Количество глюкозы, солей, плотность и количество сухих веществ закономерно уменьшались при хранении. При этом содержание сухих веществ на 21-е сутки в йогуртах с AG8 или AG9 больше в сравнении с классическим на 0,12–0,17 %. Этот показатель коррелирует с бóльшим количеством общего белка и бóльшим количеством углеводов в опытных образцах по сравнению с классическим йогуртом. Такие изменения состава свидетельствуют об активации процессов метаболизма в йогуртах с AG8 или AG9.

При закладке на хранение накопление ЭПС в разных вариантах йогуртов было одинаковым (рисунок 27), однако уже через 14 сут количество ЭПС в вариантах пробиотического йогурта с AG8 или AG9 превышало значение контрольного образца, а через 21 сут было больше примерно в два раза. Положительная динамика накопления ЭПС свидетельствует о синергизме штаммов AG8 или AG9 с бактериальными культурами классической йогуртовой закваски.

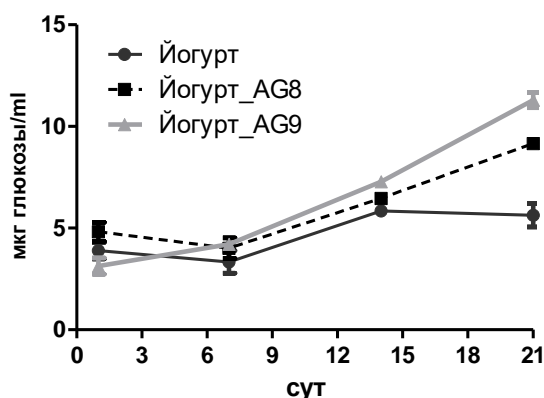


Рисунок 27 – Изменение количества экзополисахаридов в йогуртах в процессе хранения в зависимости от используемой пробиотической культуры бактерий

Увеличение количества низкомолекулярных пептидов в безбелковом экстракте (ББЭ) свидетельствует об протеолитической активности. Существенной разницы в общем количестве низкомолекулярных пептидов между тестируемыми образцами не выявлено, на всем протяжении хранения (рисунок 28, *а*) протеолитические процессы проходят с одинаковой скоростью. Однако выявлено увеличение общего количества фенольных соединений в ББЭ, особенно в вариантах пробиотических йогуртов с AG8 или AG9, в течение всего срока хранения (рисунок 28, *б*). Такое увеличение, возможно, является следствием синтеза новых специфических метаболитов молочнокислыми бактериями. На фоне увеличения количества фенольных соединений в ББЭ наблюдается их снижение в продукте независимо от используемой закваски (рисунок 28, *в*). Такое снижение может быть следствием метаболизма части фенолсодержащих соединений бактериями.

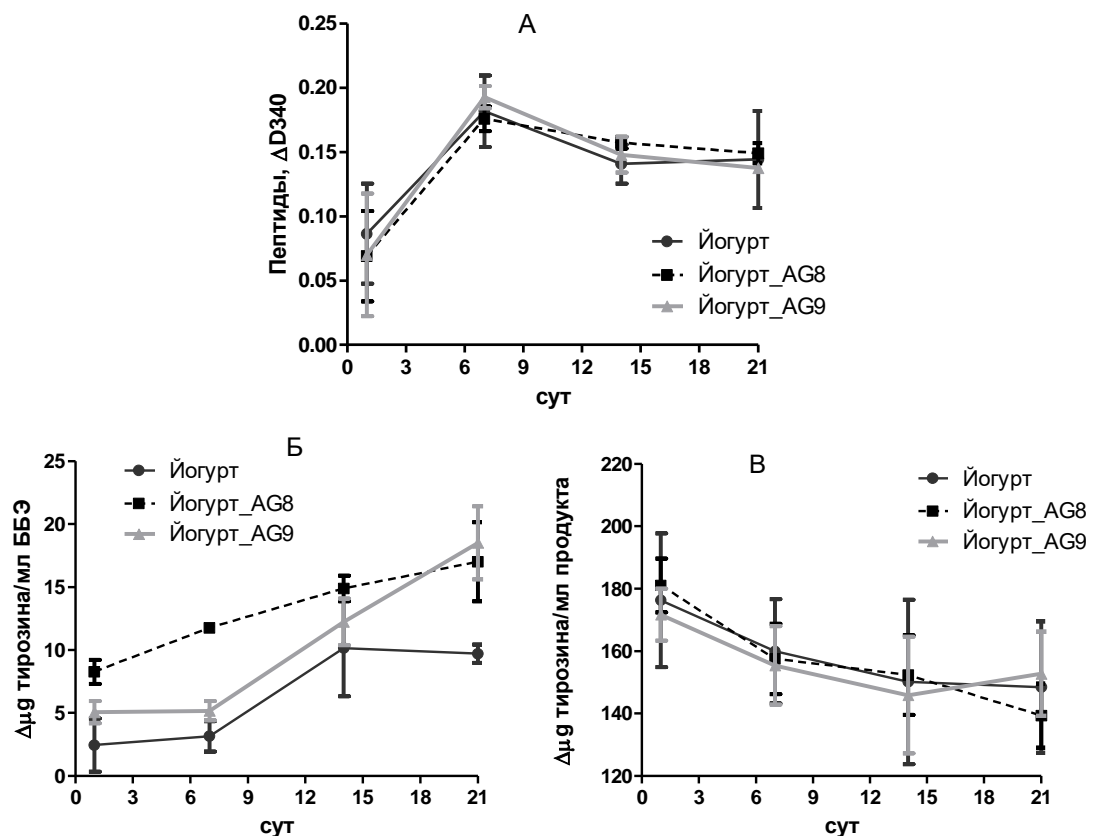


Рисунок 28 – Увеличение количества низкомолекулярных пептидов (*а*), общего количества фенольных соединений в безбелковом экстракте (*б*) и в продукте (*в*) за вычетом начального значения в молоке

4.1.2 Текстурные свойства йогуртов

На всем протяжении хранения минимальные значения синерезиса установлены в йогурте с добавлением AG9. Синерезис уменьшался при хранении с 7-х до 14-х суток у всех йогуртов, а с 14-х до 21-х суток – только у классического йогурта и йогурта с AG9 (рисунок 29, а).

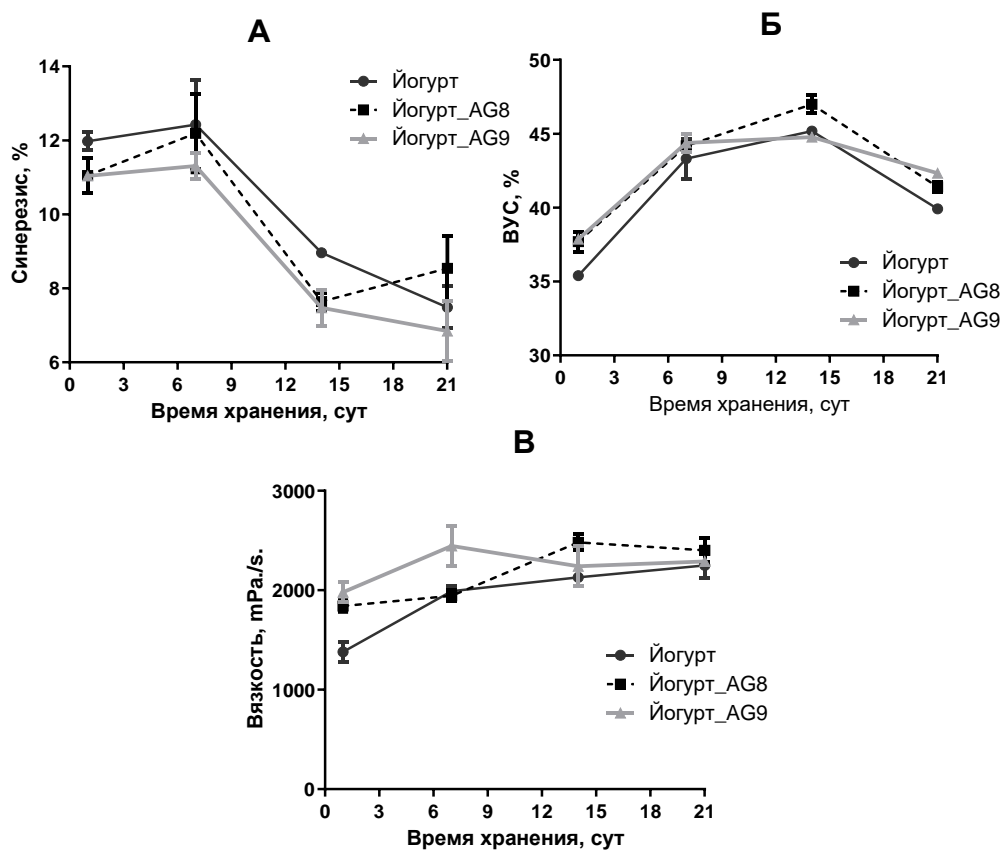


Рисунок 29 – Изменение синерезиса (а), влагоудерживающей способности (б) и вязкости (в) молочного геля йогуртах в процессе хранения в зависимости от используемой пробиотической культуры бактерий

ВУС йогуртов увеличивалась до 14-х суток хранения, затем уменьшалась. На всем протяжении хранения наибольшие значения ВУС отмечались у йогуртов с добавлением AG8 или AG9.

Вязкость йогуртов при закладке на хранение была выше у йогуртов с добавлением AG8 или AG9. К концу хранения значимых различий в образцах не обнаружено, йогурты одинаково вязкие.

В процессе хранения проводили тестирование текстурного профиля с помощью структурометра СТ-2 (таблица 15).

Таблица 15 – Инструментальный текстурный профиль йогуртов в процессе хранения в зависимости от вносимой пробиотической культуры бактерий

Параметр	Йогурт		Йогурт с AG8		Йогурт с AG9	
	Продолжительность хранения, сут					
	1	21	1	21	1	21
Твердость, г	32,4 ± 0,1	32,5 ± 0,2	32,6 ± 0,2	31,0 ± 0,2	31,1 ± 0,2	32,3 ± 0,1
Коэффициент разрушения сгустка	5,75 ± 0,25	5,96 ± 0,27	6,35 ± 0,12	4,29 ± 0,28	4,73 ± 0,21	5,48 ± 0,18
Эластичность	0,574 ± 0,012	0,577 ± 0,031	0,525 ± 0,042	0,869 ± 0,056	0,706 ± 0,025	0,607 ± 0,072
Адгезия, г·с	1,265 ± 0,102	1,013 ± 0,090	1,142 ± 0,114	1,436 ± 0,056	1,383 ± 0,026	0,902 ± 0,129
Когезия	0,280 ± 0,065	0,242 ± 0,025	0,268 ± 0,55	0,391 ± 0,089	0,335 ± 0,045	0,238 ± 0,045
Клейкость, г	9,07 ± 0,12	7,87 ± 0,09	8,73 ± 0,32	12,12 ± 1,01	10,41 ± 0,99	7,69 ± 1,25
Разжевываемость, г	27,30 ± 1,25	23,53 ± 2,01	26,18 ± 0,98	36,37 ± 2,56	41,10 ± 1,29	23,22 ± 0,75

Твердость йогуртов независимо от используемого штамма в течение хранения не различалась и составляла в среднем 31–32 г. Коэффициент разрушаемости сгустка йогурта на протяжении хранения не изменялся. Что касается пробиотических йогуртов, то применение в закваске AG8 приводило к повышению разрушаемости по сравнению с контрольным образцом, но в процессе хранения этот показатель значительно уменьшался и был меньше контроля. В случае образцов йогурта с AG9 ситуация обратная: в начале хранения коэффициент разрушаемости был ниже контроля и увеличивался в процессе хранения. Аналогичные тенденции были характерны и для показателя когезии. Эти показатели коррелируют, так как описывают прочность связей внутри объекта. Эластичность контрольного йогурта была стабильной при хранении, тогда как в образце с AG8 эластичность увеличивалась, а в варианте с AG9 – уменьшалась, но в обоих случаях значения были выше контроля.

Показатели адгезии, клейкости и разжевываемости в контрольном йогурте снижались при хранении. Йогурт с AG8 в начале хранения по указанным пара-

метрам не отличался от контроля, однако после 21 сут хранения наблюдалось значимое увеличение этих показателей. Йогурт с AG9 в начале хранения имел значительно более высокие значения адгезии, клейкости и разжевываемости, чем контроль и йогурт с AG8, но после 21 сут хранения эти показатели снизились до уровня контроля или даже ниже.

Таким образом, такие текстурные свойства, как адгезия, клейкость и разжевываемость, возникающие как отображение связей с разными соприкасающимися поверхностями (например, рот, зубы, язык), будут влиять на ощущения во рту, на нёбе, отражать разницу ощущений при потреблении йогуртов при варьировании пробиотических штаммов.

4.1.3 Органолептические свойства йогуртов

Согласно ГОСТ Р ИСО 22935-2-2011 оценивали органолептические показатели йогуртов (таблица 16).

Таблица 16 – Органолептические свойства йогуртов

Образец	Период хранения, сут	Органолептическая оценка, балл			
		Внешний вид (0–5)	Вкус и запах (0–10)	Консистенция (0–5)	Сумма (0–20)
Йогурт	1	4,77 ± 0,44	6,89 ± 0,60	3,77 ± 0,44	15,43 ± 1,48
	21	4,89 ± 0,33	6,44 ± 0,53	3,44 ± 0,53	14,77 ± 1,39
Йогурт с AG8	1	4,89 ± 0,33	7,11 ± 0,78	4,55 ± 0,53	16,55 ± 1,64
	21	4,89 ± 0,33	7,88 ± 0,93	4,22 ± 0,44	16,99 ± 1,70
Йогурт с AG9	1	4,77 ± 0,44	8,44 ± 0,53	4,88 ± 0,33	18,00 ± 1,30
	21	4,77 ± 0,44	8,11 ± 0,78	4,70 ± 0,44	17,58 ± 1,66

Внешний вид классических йогуртов и образцов со штаммами AG8 и AG9 получил максимальные баллы на 1-е и на 21-е сутки хранения. Цвет образцов рав-

номерный молочно-белый, внешний вид без пузырьков газа, хлопьев, примесей и комочков. Не обнаружили мраморность, клейкость, разделение фаз и отделение сыворотки. Вкус и запах йогуртов со штаммами AG8 и AG9 респонденты оценили выше, чем аналогичные показатели классического йогурта. В частности, для классического варианта был более выражен кислый аромат и вкус, особенно на 21-е сутки хранения. Вкус и запах всех образцов охарактеризовали как молочный, йогуртовый, без нехарактерных примесей (без аромата пастеризации, без прогорклого, животного, вяжущего, металлического аромата). Консистенцию исследуемых йогуртов респонденты описали как густую, гелевую, не хлопьевидную, не песчаную. Консистенцию йогуртов со штаммами AG8 и AG9 описали как вязкую, гладкую в сравнении с классическим йогуртом на 1-е и 21-е сутки хранения. Также при распределении на нёбе ощущался более полный вкус за счет высокой вязкости. По итогам органолептической оценки йогуртам со штаммами AG8 и AG9 присвоили 17–18 баллов, что соответствует хорошей и отличной оценкам.

Отсутствие влияния на внешний вид подтвердилось результатами тестирования цветности (таблица 17). Показатель белизны L во всех случаях составлял 100 ед.

Таблица 17 – Изменение цветовых характеристик обезжиренных йогуртов в процессе хранения

Образец	Время хранения, сут	L	a	b
Йогурт	1	100 ± 0	-6,38 ± 0,26	21,81 ± 0,48
	7		-3,32 ± 1,21	19,44 ± 1,08
	14		-3,82 ± 0,85	10,96 ± 2,03
	21		-7,77 ± 1,25	20,98 ± 0,98
Йогурт с AG8	1		-6,13 ± 0,11	22,69 ± 0,61
	7		-4,37 ± 0,57	17,90 ± 0,24
	14		-2,90 ± 1,25	11,16 ± 1,01
	21		-3,59 ± 1,06	20,34 ± 0,99
Йогурт с AG9	1		-7,64 ± 0,56	19,61 ± 0,24
	7		-7,37 ± 1,85	20,17 ± 1,58
	14		-5,57 ± 1,25	12,28 ± 2,44
	21		-4,33 ± 0,39	13,95 ± 1,25

4.1.4 Оценка соответствия йогуртов нормативной документации

Количество МКБ в образцах с AG8 и AG9 на протяжении всего времени хранения было выше, чем в варианте с *L. bulgaricus*, закономерно незначительное уменьшение численности бактерий через 14 сут хранения (рисунок 30).

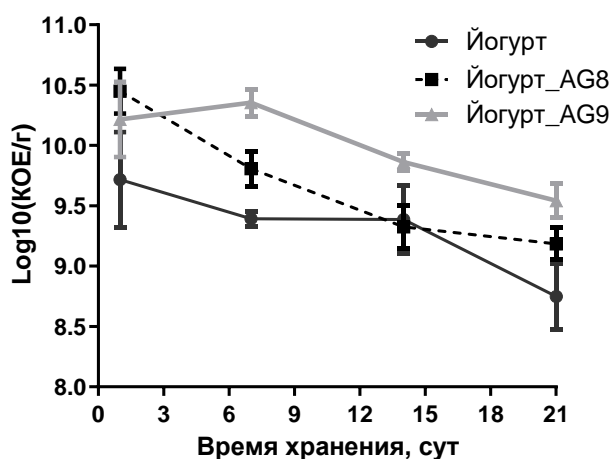


Рисунок 30 – Изменение численности МКБ в пробиотических йогуртах при хранении в зависимости от используемой пробиотической культуры

Внесение новых штаммов МКБ *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9 не привело к ухудшению микробиологических показателей продукта через 21 сут хранения при 5 °С (таблица 18).

Таблица 18 – Микробиологические показатели йогуртов

Группа микроорганизмов	Масса продукта, в которой не допускается присутствие бактерий, г (ТР ТС 033/2013)	Образец сквашенного продукта		
		Йогурт	Йогурт с AG8	Йогурт с AG9
БГКП (колиформы)	3	Не обнаружены		
<i>E. coli</i>	10			
<i>Salmonella sp.</i>	50			
<i>Staphylococcus aureus</i>	10			
Дрожжи	10			

Микрофлора продуктов отражает качество закваски, санитарно-гигиеническое состояние оборудования для приготовления йогуртов. Микробиологические показатели качества находились в пределах нормы, что говорит о высоком качестве и безопасности сквашенных продуктов.

Физико-химические показатели выработанных йогуртов соответствовали требованиям ГОСТ 31981-2013 «Йогурты. Общие технические условия» (таблица 19).

Таблица 19 – Соответствие физико-химических показателей йогуртов требованиям ГОСТ 31981-2013 (на 21-е сутки хранения)

Показатель	Норма	Йогурт	Йогурт с AG8	Йогурт с AG9
Массовая доля белка, %	Не менее 3,2	$3,88 \pm 0,04$	$3,90 \pm 0,08$	$3,95 \pm 0,05$
Массовая доля сухого обезжиренного молочного остатка, %	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	Отсутствие	Отсутствие
Температура продукта при выпуске с предприятия, °С	4 ± 2	3	3	3

4.1.5 Антиоксидантные свойства йогуртов

Восстановительная активность ЭПС увеличивалась до 7-х суток хранения (рисунок 31), резко уменьшалась на 14-е сутки и вновь увеличивалась на 21-е сутки. На всем протяжении хранения восстановительная активность образцов с AG8 или AG9 была выше.

Восстановительная активность ББЭ классического йогурта равномерно снижалась в течение хранения. У образцов с AG8 или AG9 значение данного показателя снижалось до 7-х суток эксперимента, увеличивалось к 14-м суткам и вновь

уменьшалось к 21-м суткам. При этом на 1-е и 14-е сутки хранения активность образцов AG8 или AG9 была выше. Это коррелирует с ранее полученными увеличенными значениями фенольных соединений, продуцируемых данными штаммами на среде с молочной сывороткой (см. рисунок 28). Кроме того, в безбелковом экстракте присутствуют ЭПС, проявляющие восстановительную активность.

Восстановительная активность сыворотки образцов уменьшалась в течение хранения. При этом активность образцов с AG8 и AG9 выше классического на всем протяжении хранения. Белки молочной сыворотки характеризуются самым высоким антиоксидантным потенциалом среди белков других пищевых продуктов. Это связано с высоким содержанием серосодержащих аминокислот, особенно цистеина [140]. Восстановительная активность сыворотки образцов AG8 и AG9 коррелирует с наибольшим количеством сывороточных белков (см. таблицу 13).

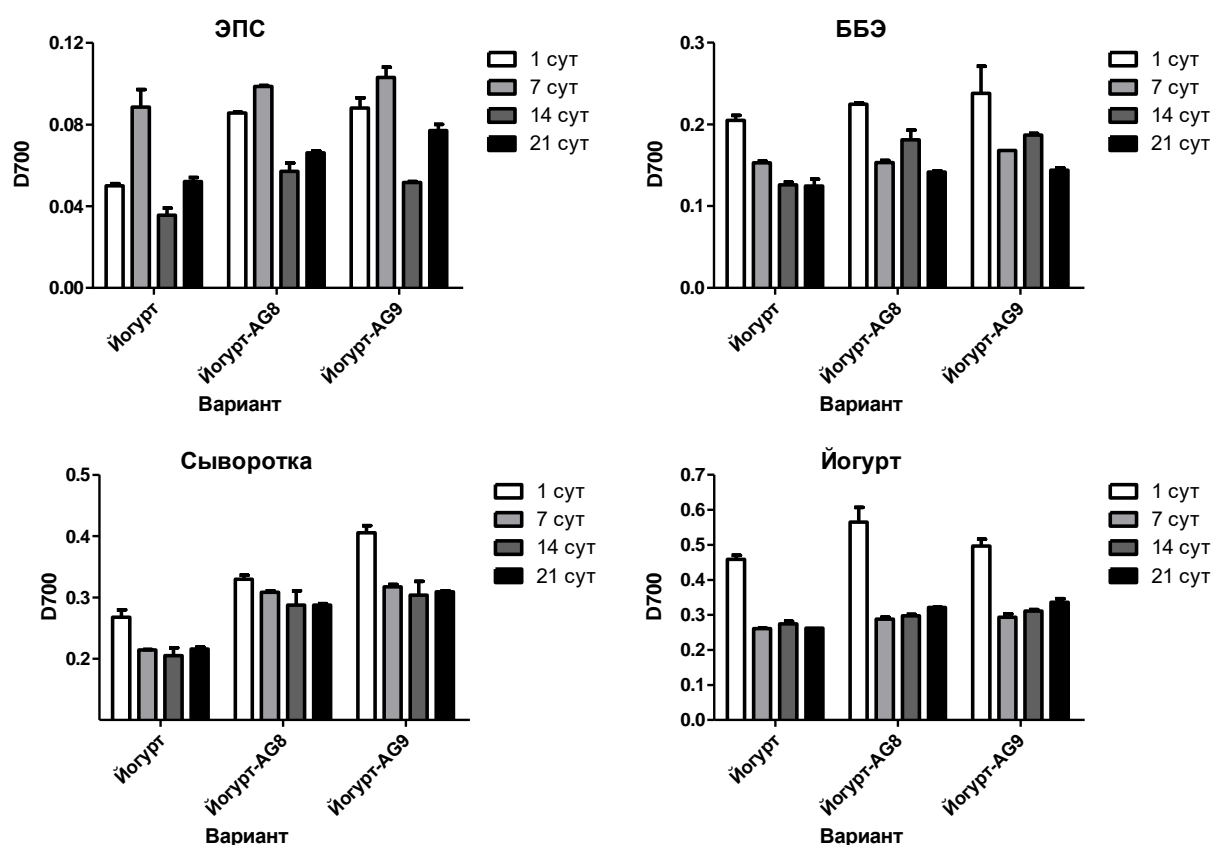


Рисунок 31 – Изменение восстановительной активности разных фракций кисломолочного продукта в процессе хранения в зависимости от используемой пробиотической культуры бактерий

Кроме того, в сыворотке находятся ЭПС, обладающие антиоксидантными свойствами. Аналогично изменялась восстановительная активность йогуртов. Вероятно, данный факт подтверждает высокий антиоксидантный потенциал белков сыворотки.

На 1-е сутки хранения радикал-связывающая активность ЭПС йогуртов с AG8 и AG9 была выше, чем у классического варианта, в 2 раза (ингибирование более 25 %, рисунок 32). В течение хранения активность уменьшалась и к 21-м суткам составляла менее 10 %. Радикал-связывающая активность безбелковых экстрактов нарастала до 14-х суток (ингибирование более 50 %) и уменьшалась к 21-м суткам (ингибирование около 40 %). Аналогично изменялась активность сыворотки. Радикал-связывающая активность йогуртов уменьшалась до 7-х суток (ингибирование менее 50 %), увеличивалась к 14-м суткам (ингибирование более 60 %), уменьшалась к 21-м суткам (ингибирование около 50 %).

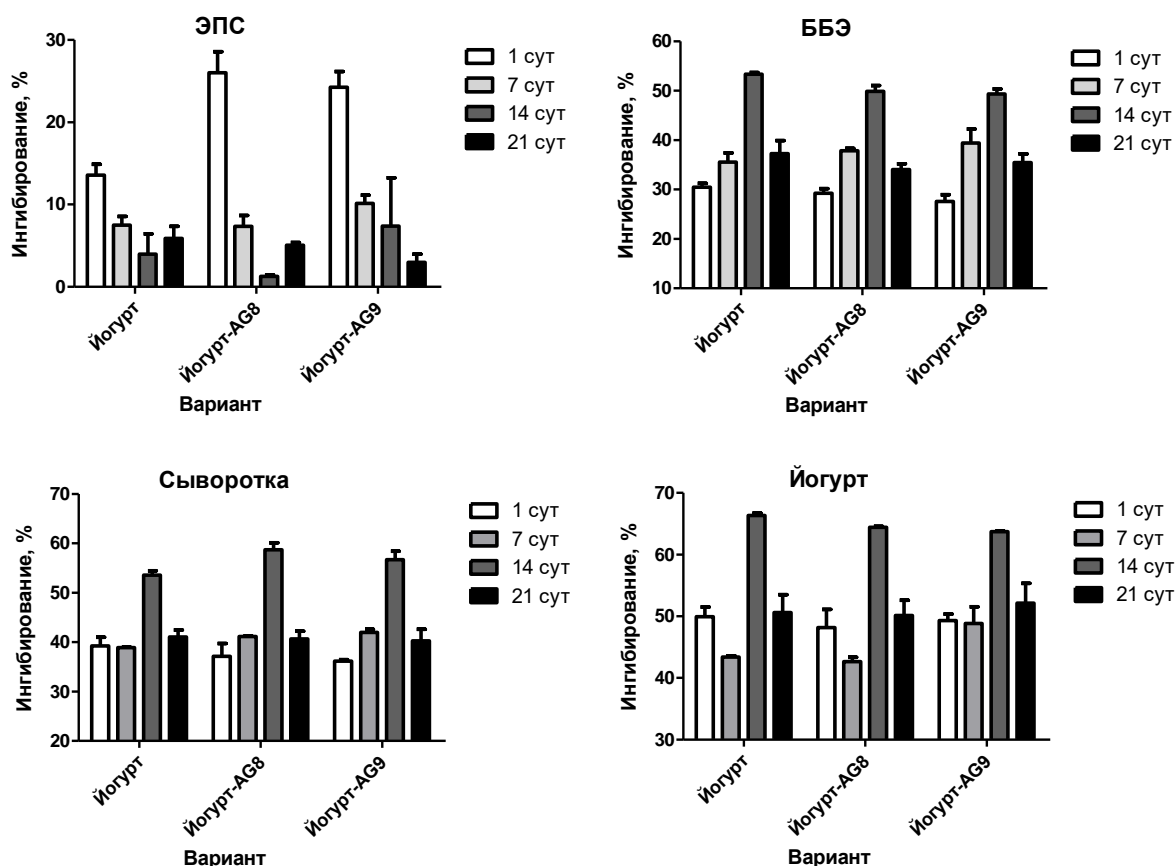


Рисунок 32 – Изменение радикал-связывающей активности различных фракций кисломолочного продукта в процессе хранения в зависимости от используемой пробиотической культуры бактерий

4.1.6 Разработка принципиальной схемы производства йогурта с *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9 с учетом требований ХАССП

Результатом проведенных исследований стала разработка принципиальной схемы получения пробиотического продукта на основе закваски для йогурта, но с добавлением пробиотического штамма *L. fermentum* AG8 или *L. plantarum* AG9. Название такого продукта было выбрано «Пробиойогурт», что отличает его от традиционного названия «Биойогурт», используемого при производстве йогурта с добавлением бифидобактерий (рисунок 33).

Из молока, которое поступило на завод в автоцистерне, берут пробы. Определяют массовую долю жира в молоке, содержание белка, соматических клеток, определяют степень чистоты, кислотность, плотность, делают анализ на термостойкость, определяют органолептические свойства. Молоко насосами подают на весы, его принимают в соответствии с товарно-транспортной накладной, учитывают физический вес и зачетный вес по жиру. При помощи насоса молоко по трубопроводам поступает в охладители, охлаждается до 2–6 °С, перекачивается в танк и хранится не более 5–6 ч.

Далее молоко по трубам направляют в аппаратный цех, где подогревают до 40–45 °С. Молоко очищают в сепараторе-молокоочистителе при 40–45 °С и нормализуют в сепараторе-нормализаторе до жирности 0,05 %. Очищенную смесь гомогенизируют при давлении $(15,0 \pm 2,5)$ МПа и температуре 60–65 °С, пастеризуют в пастеризационно-охладительной установке в течение 10 с при 95–99 °С для уничтожения микрофлоры и ферментов, придания вкуса и аромата, продления сроков хранения. Затем молоко охлаждают до 38–42 °С и вводят закваску. Объемная доля закваски по отношению к объему заквашиваемой смеси составляет 3–5 %. Перед внесением в смесь закваску перемешивают до однородной консистенции. Закваску подают самотеком или насосом одновременно с подачей смеси (в потоке). Во время внесения закваски молоко перемешивают для равномерного распределения закваски в объеме продукта и недопущения образования хлопьев белка.

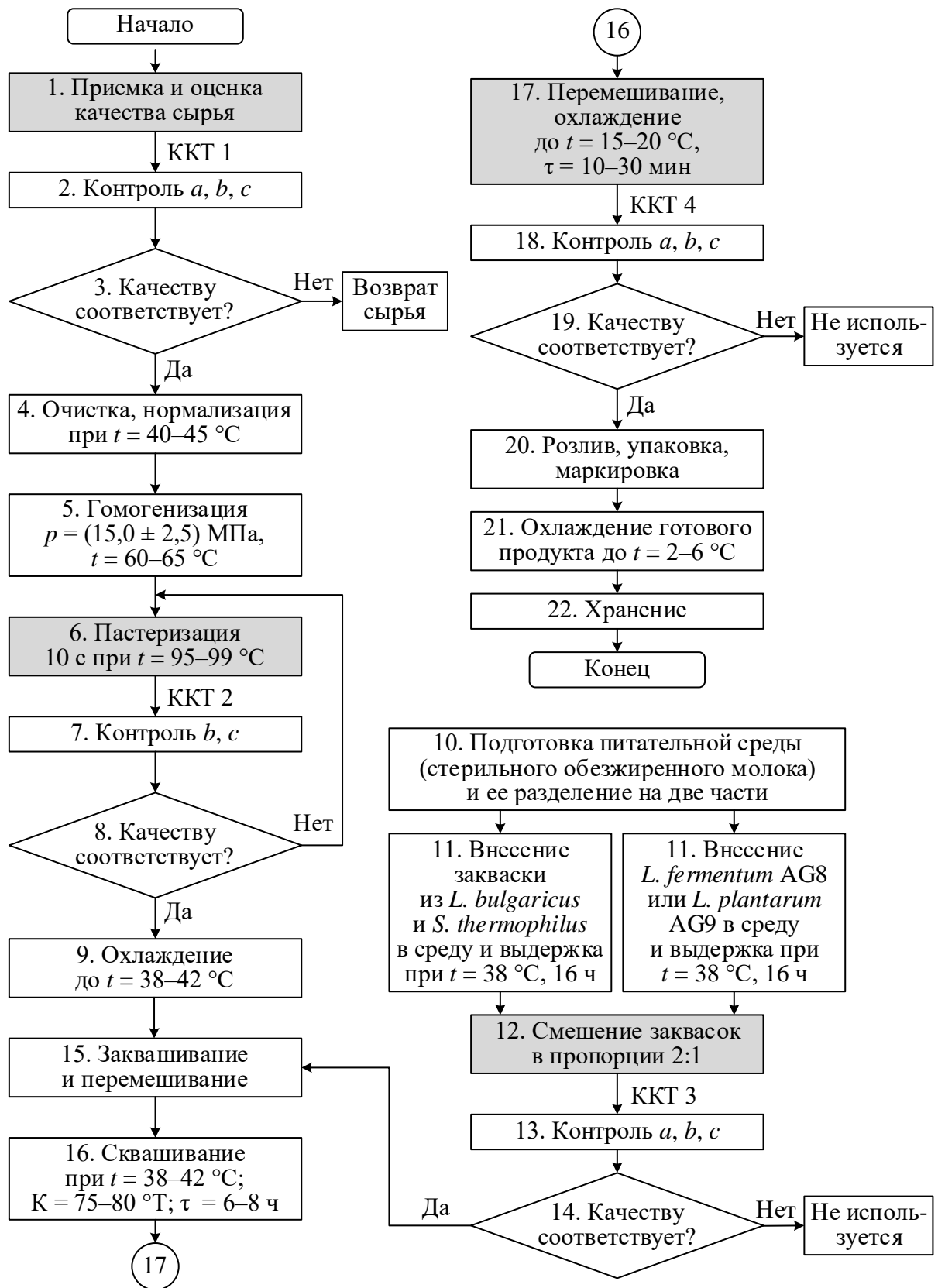


Рисунок 33 – Принципиальная схема производства обезжиренного продукта «Пробиойогурт» со штаммом *L. fermentum* AG8 или *L. plantarum* AG9 с учетом требований ХАССП

Заквашенную смесь перемешивают 10–15 мин и оставляют в покое. Допускается производить повторное перемешивание через 1–1,5 ч после заквашивания.

Для приготовления закваски готовят питательную среду, т. е. обезжиренное молоко. Для этого его нагревают до 90–95 °С и выдерживают при этой температуре 30–45 мин. Затем охлаждают до 38–42 °С.

На основе полученной среды готовят две разные стартовые закваски. Одну готовят из классической йогуртовой закваски, состоящей из *L. bulgaricus* и *S. thermophilus*, т. е. вносят бактериальную культуру в дозировке 0,5 % в среду и выдерживают при 38 °С в течение 16 ч. Вторую стартовую культуру готовят из штамма *L. fermentum* AG8 или *L. plantarum* AG9 таким же образом.

Две полученные закваски смешивают в пропорции 2:1 и производят сквашивание в резервуаре при температуре 38–42 °С в течение 6–8 ч до образования сгустка, кислотностью 75–80 °Т. Количество вносимой закваски составляет 5 % от объема заквашиваемой смеси. Сущность сквашивания заключается в повышении кислотности вследствие молочнокислого брожения, возбудителями которого являются молочнокислые стрептококки. Окончание сквашивания определяют по плотности сгустка, времени и кислотности. Продукт охлаждают до температуры 15–20 °С.

Далее готовый продукт упаковывают в потребительскую тару и отправляют на хранение при 2–6 °С.

Выявили факторы, необходимые для учета: органолептические – цвет, запах, консистенция, вкус (*a*); физико-химические – температура, кислотность, плотность, вязкость и другие (*b*); микробиологические – количество КМАФАнМ, БГКП (колиформы), патогенных микроорганизмов *Salmonella*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* (*c*).

Критические контрольные точки определялись методом «дерева принятия решений». В таблице 20 приведен перечень контрольных точек.

Таблица 20 – Перечень контрольных точек для производства йогурта и сметаны с новыми штаммами

Контрольная точка	Номер операции технологического процесса	Наименование контрольных параметров
ККТ 1	2	Внешний вид и консистенция, цвет, вкус, запах; титруемая кислотность, плотность, группа чистоты, температура заморозки, содержание сухих веществ, массовая доля жира; КМАФАнМ, соматические клетки, БГКП, патогенные микроорганизмы (в том числе сальмонеллы, стафилококки <i>S. aureus</i> , листерии <i>L. monocytogenes</i>)
ККТ 2	7	Температура пастеризации, время выдержки, определение фосфатазы и пероксидазы; КМАФАнМ, БГКП
ККТ 3	13	Внешний вид и консистенция, цвет, вкус, запах; определение кислотообразующей активности по титруемой и активной кислотности
ККТ 4	17 (сметана), 18 (йогурт)	Внешний вид и консистенция, цвет, вкус, запах; титруемая кислотность, содержание сухих веществ, массовая доля жира; массовая доля белка; количество МКБ, БГКП, дрожжи, плесени, патогенные микроорганизмы (в том числе сальмонеллы, стафилококки <i>S. aureus</i>)

Выводы по параграфу 4.1. В йогуртах с AG8 и AG9 в сравнении с классическим на 21-е сутки хранения рН выше на 0,1 ед., титруемая кислотность ниже на 5–10 °Т (меньшая скорость подкисления и меньшее производство молочной кислоты); белка больше на 0,02–0,07 %, сывороточных белков больше на 0,06 %; углеводов больше на 0,09 %; количество сухих веществ выше на 0,12–0,17 %. Различия в составе связали с гетеротрофным брожением штаммов AG8 и AG9. Кроме того, в йогуртах с AG8 и AG9 в сравнении с классическим ЭПС больше в 2 раза (на 21-е сутки хранения), больше фенольных соединений в ББЭ, меньше фенольных соединений в продукте.

В период хранения минимальные значения синерезиса отмечались у йогурта с добавлением AG9, наибольшие значения ВУС – у йогуртов с добавлением AG8 или AG9. Вязкость йогуртов при закладке на хранение была выше у йогуртов с добавлением AG8 или AG9.

Текстурный профиль: применение AG8 повышает разрушаемость, но при хранении значения данного показателя уменьшались и были меньше контроля.

В йогурте с AG9 ситуация обратная. Аналогичные тенденции характерны для когезии. Эти показатели коррелируют, так как описывают прочность связей внутри объекта. Эластичность йогуртов с AG8 и AG9 выше, чем у контроля. Йогурт с AG8 в начале хранения по адгезии, клейкости и разжевываемости не отличался от контроля. У йогурта с AG9 после 21 сут хранения значения данных показателей снизились до уровня контроля или ниже.

Органолептические показатели йогуртов с AG8 и с AG9 оценили на $(16,99 \pm 1,7)$ и $(17,58 \pm 1,66)$ балла соответственно, что соответствует хорошей и отличной оценкам. В сравнении с контролем вкус и запах, а также консистенцию йогуртов с AG8 и AG9 оценили выше. Внесение новых штаммов МКБ *L. fermentum* AG8 и *L. plantarum* AG9 не привело к ухудшению микробиологических показателей продукта через 21 сут хранения при 5 °С.

Количество МКБ в образцах с AG8 и AG9 на протяжении всего времени хранения оставалось выше, чем в варианте с *L. bulgaricus*; закономерно незначительное уменьшение численности бактерий через 14 сут хранения.

Восстановительная активность фракций йогуртов с AG8 и AG9 в сравнении с классическим на 21-е сутки хранения: активность ЭПС больше (связали с активным синтезом ЭПС); активность безбелкового экстракта больше (связали с ранее полученными увеличенными значениями фенольных соединений и ЭПС); активность сыворотки выше (белки молочной сыворотки характеризуются высоким антиоксидантным потенциалом); активность йогуртов больше.

Радикал-связывающая активность фракций йогуртов AG8 и AG9: активность ЭПС на 1-е сутки для AG8 и AG9 выше классического в 2 раза (ингибирование более 25 %), к 21-м суткам ингибирование менее 10 %. Активность безбелковых экстрактов нарастала до 14-х суток (ингибирование более 50 %), менее 40 % – к 21-м суткам. Аналогичны изменения сыворотки. Активность йогуртов уменьшалась к 7-м суткам – ингибирование менее 50 %, к 14-м суткам ингибирование более 60 %, к 21-м суткам – около 50 %.

Синергизм классической закваски для йогурта со штаммами AG8 и AG9 благоприятно влияет на снижение постзакислительных процессов, а также на уве-

личение продуцирования ЭПС, что благоприятно сказывается на органолептических показателях продукта. Исследуемые штаммы не ухудшают микробиологическую оценку йогуртов. При этом наилучшие свойства продукта были выявлены для йогурта со штаммом AG9. В связи с этим было решено внедрить данный штамм в рецептуру жирного кисломолочного продукта – сметаны, с целью исследовать влияние *L. plantarum* AG9 на изменение состояния молочного жира.

4.2 Разработка технологии пробиотической сметаны со штаммом *L. plantarum* AG9

Сметана усваивается легче сливок за счет изменений белковой части при сквашивании. В ней сохраняются витамины молока, а некоторые МКБ синтезируют витамины группы В [39]. Для сметаны используют смешанные штаммы мезофильных МКБ, синтезирующих кислоту (*Lactococcus lactis* подвида *lactis* и *L. lactis* подвида *cremoris*) и ароматические вещества (*L. lactis* подвида *lactis* biovar. *diacetylactis* (или *Cit + Lactococci*) и *Leuconostoc mesenteroides* подвида *cremoris*) [110]. Для выполнения этого блока исследований в качестве пищевой матрицы использовали стерилизованные нормализованные по жирности 15 % сливки. Были изготовлены: сливки, сквашенные монозакваской *L. plantarum* AG9 (далее – AG9), сметана на основе классической закваски (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*) (далее – СМ) и сметана на классической закваске с добавлением *L. plantarum* AG9 в соотношении 4:1 (далее – СМ + AG9). Для изготовления продуктов применяли стерилизованные сливки (м.д.ж. 15 %).

4.2.1 Состав и физические свойства сквашенных сливок и сметаны

Титруемая кислотность образцов увеличивалась в результате функционирования МКБ, синтеза молочной кислоты при сбраживании лактозы (рисунок 34). Этот показатель для СМ + AG9 оставался стабильным при хранении и на 14-е сутки был ниже остальных на 10–20 °Т. Применение классической сметанной закваски, смешанной с AG9, снижает постзакислительные процессы КМП при хранении.

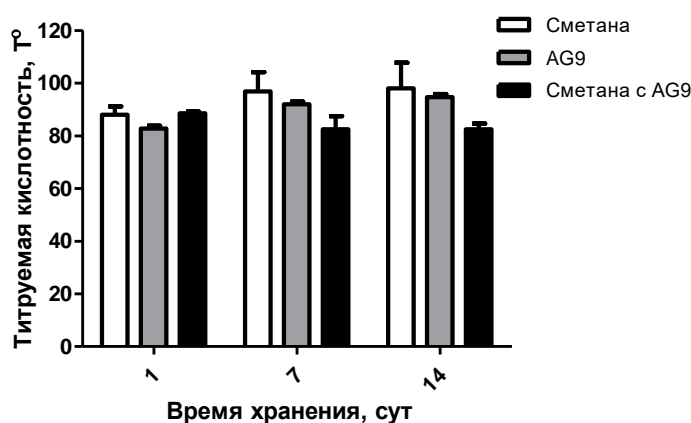


Рисунок 34 – Динамика титруемой кислотности сквашенных сливок и сметаны в процессе хранения

Количество белка в СМ + AG9 на 1-е сутки хранения больше в сравнении с другими на 0,11–0,1 %, что, вероятно, связано с ингибированием протеолитических процессов, происходящих при добавлении AG9 к закваске для сметаны (таблица 21). К 14-м суткам количество белков уменьшалось и было одинаковым для образцов. На количество углеводов и соли использование штамма AG9 существенно не влияет.

Метаболизм глюкозы был максимальным в образцах с AG9, на 14-е сутки в СМ + AG9 глюкозы меньше контроля (СМ) на 1,66 ммоль/л. Можно предположить об активации жизнедеятельности классической закваски и AG9 при синергизме.

Таблица 21 – Содержание основных компонентов в водном экстракте сквашенных сливок и сметаны в процессе хранения

Показатель	Вариант закваски	Время хранения, сут		
		1	7	14
Белок, %	СМ	1,44 ± 0,05	1,43 ± 0,04	1,41 ± 0,02
	AG9	1,43 ± 0,06	1,42 ± 0,05	1,42 ± 0,03
	СМ + AG9	1,54 ± 0,03	1,44 ± 0,03	1,42 ± 0,01
Углеводы, %	СМ	1,76 ± 0,10	1,74 ± 0,15	1,71 ± 0,12
	AG9	1,75 ± 0,11	1,75 ± 0,09	1,70 ± 0,11
	СМ + AG9	1,79 ± 0,11	1,76 ± 0,15	1,71 ± 0,10
Соли, %	СМ	0,28 ± 0,01	0,27 ± 0,01	0,28 ± 0,01
	AG9	0,27 ± 0,01	0,25 ± 0,01	0,28 ± 0,02
	СМ + AG9	0,30 ± 0,00	0,27 ± 0,01	0,28 ± 0,01
Глюкоза, ммоль/л	СМ	10,20 ± 0,50	9,35 ± 0,50	8,03 ± 0,30
	AG9	9,90 ± 0,20	7,80 ± 0,20	5,50 ± 0,50
	СМ + AG9	8,90 ± 0,10	7,07 ± 0,30	6,37 ± 0,60

ЭПС накапливались в процессе хранения, в варианте СМ + AG9 на 7-е сутки хранения их количество было наибольшим (рисунок 35). После 14 сут различий между образцами не наблюдалось. Использование сметанной закваски с внесением штамма *L. plantarum* AG9 позволяет интенсифицировать синтез ЭПС, видимо, за счет синергизма действия штаммов.

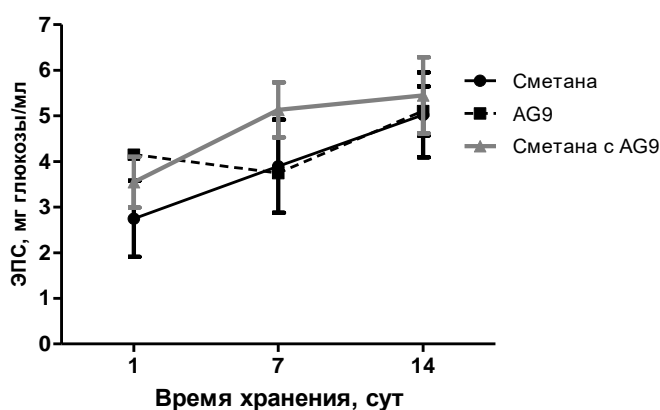


Рисунок 35 – Динамика накопления экзополисахаридов в сквашенных сливках и сметане в процессе хранения

В безбелковом экстракте к 7-м суткам фенольные соединения активно накапливались в образцах СМ + AG9 (рисунок 36), к 14-м суткам – во всех образ-

цах. Максимальное количество сохранялось в СМ + AG9 и к 14-м суткам было выше остальных. В водном экстракте к 7-м суткам уменьшилось количество фенольных соединений, к 14-м суткам – увеличилось. Максимальные значения отмечались у СМ + AG9.

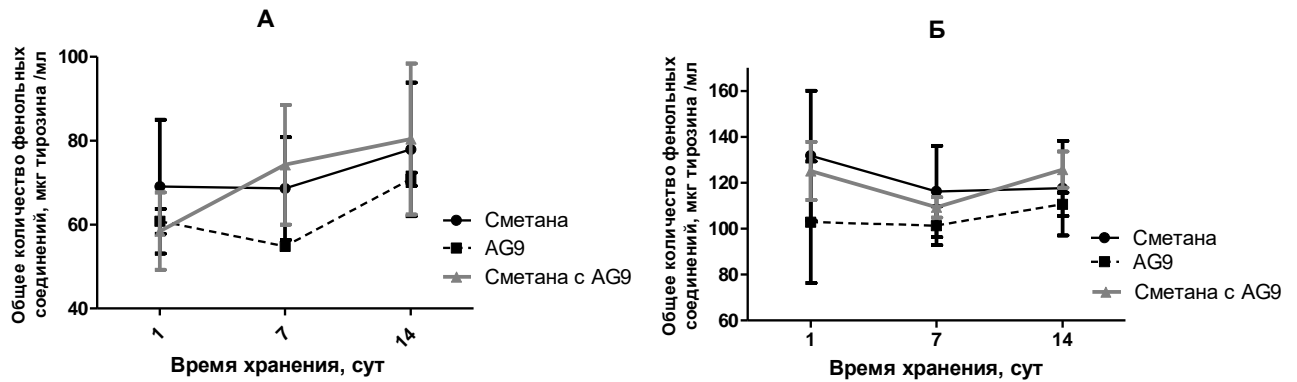


Рисунок 36 – Динамика накопления фенольных соединений в безбелковом экстракте (а) и водном экстракте (б) сквашенных сливок и сметаны в процессе хранения

Наименьшее количество пептидов в течение хранения отмечалось в безбелковом экстракте СМ + AG9 (меньше остальных в 2 раза), наибольшее – в образце AG9 (рисунок 37). В AG9 и СМ + AG9 значение этого показателя изменялось без резких перепадов, в экстракте СМ уменьшалось. Полученные результаты говорят об усилении протеолитической активности для сметаны и штамма *L. plantarum* AG9 при совместной жизнедеятельности.

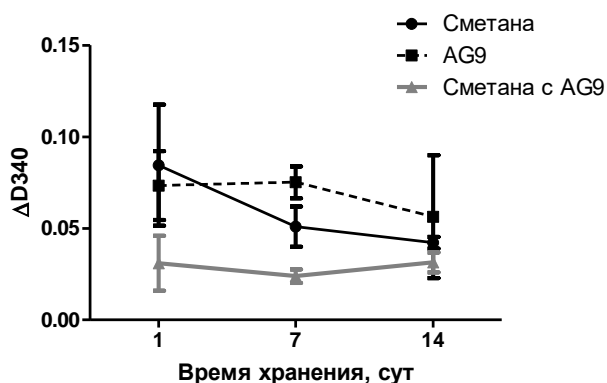


Рисунок 37 – Динамика изменения количества пептидов в безбелковом экстракте как продуктов действия протеолитических ферментов

4.2.2 Органолептические свойства сквашенных сливок и сметаны

Согласно ГОСТ Р ИСО 22935-2-2011 оценивали органолептические показатели сквашенных сливок и сметаны на 1-е и 14-е сутки хранения (таблица 22). Во внешнем виде исследуемых образцов не обнаружены пороки в виде сливочного слоя, сливочных пробок, комочков сливок, свертываемости, хлопьев, пенообразования, примесей, мраморности, клейкости, осадения, разделения фаз, отделения сыворотки, усадки. Вкус и запах образцов оценили как чистые, кисломолочные, без посторонних привкусов (без животного, вяжущего, горького, горелого, карамельного, картонного, химического привкусов, привкуса пастеризации, металлического, маслянистого, затхлого, прогорклого, сывороточного привкусов). Вкус и запах сметаны с добавлением штамма AG9 описали как более приемлемый и менее кислотный в сравнении с остальными образцами в течение всего времени хранения. В консистенции исследуемых образцов не обнаружили текучесть, хлопья, клейкость. Однако консистенцию сливок, сквашенных монозакваской, охарактеризовали как песчанистую, а консистенцию сметаны с AG9 – как более густую в сравнении с классической сметаной. По итогам балльной оценки сметане со штаммом AG9 присвоили 18 баллов, что соответствует отличной оценке.

Таблица 22 – Органолептические свойства сквашенных сливок и сметаны, изготовленных с *L. plantarum* AG9

Образец	Период хранения, сут	Органолептическая оценка, балл			
		Внешний вид (0–5)	Вкус и запах (0–10)	Консистенция (0–5)	Сумма (0–20)
Сметана	1	4,77 ± 0,44	7,33 ± 0,50	4,11 ± 0,60	16,21 ± 1,54
	14	4,77 ± 0,44	7,11 ± 0,60	3,88 ± 0,33	16,76 ± 1,37
AG9	1	4,77 ± 0,44	6,11 ± 0,60	3,33 ± 0,50	14,21 ± 1,54
	14	4,66 ± 0,50	5,77 ± 0,44	3,11 ± 0,33	13,54 ± 1,27
Сметана + AG9	1	4,89 ± 0,33	8,11 ± 0,60	4,77 ± 0,44	17,77 ± 1,37
	14	4,77 ± 0,44	8,00 ± 0,50	4,66 ± 0,50	17,43 ± 1,44

Об отсутствии влияния штамма AG9 на внешний вид свидетельствуют также результаты тестирования цветности изделий (таблица 23). Показатель белизны L во всех случаях равнялся 100 ед.

Таблица 23 – Изменение цветовой характеристики сквашенных сливок и сметаны, изготовленных с *L. plantarum* AG9

Образец	Время, сут	L	a	b
Сметана	1	100 ± 0	$-5,38 \pm 0,26$	$19,81 \pm 0,48$
	7	100 ± 0	$-5,32 \pm 1,21$	$17,44 \pm 1,08$
	14	100 ± 0	$-4,82 \pm 0,85$	$11,96 \pm 2,03$
AG9	1	100 ± 0	$-6,13 \pm 0,11$	$22,69 \pm 0,61$
	7	100 ± 0	$-5,37 \pm 0,57$	$16,90 \pm 0,24$
	14	100 ± 0	$-3,90 \pm 1,25$	$10,16 \pm 1,01$
Сметана + AG9	1	100 ± 0	$-5,64 \pm 0,56$	$21,61 \pm 0,24$
	7	100 ± 0	$-5,37 \pm 1,85$	$20,17 \pm 1,58$
	14	100 ± 0	$-5,57 \pm 1,25$	$12,28 \pm 2,44$

4.2.3 Оценка соответствия сквашенных сливок и сметаны нормативной документации

Внесение штамма *L. plantarum* AG9 не привело к ухудшению микробиологических показателей продукта через 14 сут хранения при температуре 5 °С (таблица 24). В тестируемых продуктах микробиологические показатели были в пределах нормы, что говорит о высоком качестве и безопасности сквашенных продуктов.

Физико-химические показатели выработанных сквашенных сливок и сметаны соответствовали требованиям ГОСТ 31452-2012 «Сметана. Технические условия» (таблица 25).

Таблица 24 – Микробиологические показатели сквашенных сливок и сметаны

Группа микроорганизмов	Масса продукта, г, в которой не допускается присутствие бактерий (по ТР ТС 033/2013)	Образец сквашенного продукта		
		Сметана	AG9	Сметана + AG9
БГКП (колиформы)	3	Не обнаружены		
<i>E. coli</i>	10			
<i>Salmonella</i> sp.	50			
<i>Staphylococcus aureus</i>	10			
Дрожжи	10			

Таблица 25 – Соответствие физико-химических показателей сквашенных сливок и сметаны требованиям ГОСТ 31452-2012 (на 14-е сутки хранения)

Показатель	Норма	Сметана	AG9	Сметана с AG9
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 ± 1,25	94,6 ± 1,2	82,5 ± 2,1
Фосфатаза или пероксидаза	Отсутствие	Отсутствие	Отсутствие	Отсутствие
Температура продукта при выпуске с предприятия, °С	4 ± 2	3	3	3

4.2.4 Антиоксидантные свойства сквашенных сливок и сметаны

Радикал-связывающая активность КМП не менялась при хранении (рисунок 38).

В образцах с *L. plantarum* AG9 более высокая радикал-связывающая активность, ингибирование AG9 – около 80 %, остальных – 60–70 %. Радикал-связывающая активность водозэкстрагируемых веществ увеличивалась до 7-х суток для СМ и СМ + AG9 и уменьшалась к 14-м суткам для всех образцов. К 14-м суткам ингибирование СМ выше 40 %, остальных – ниже.

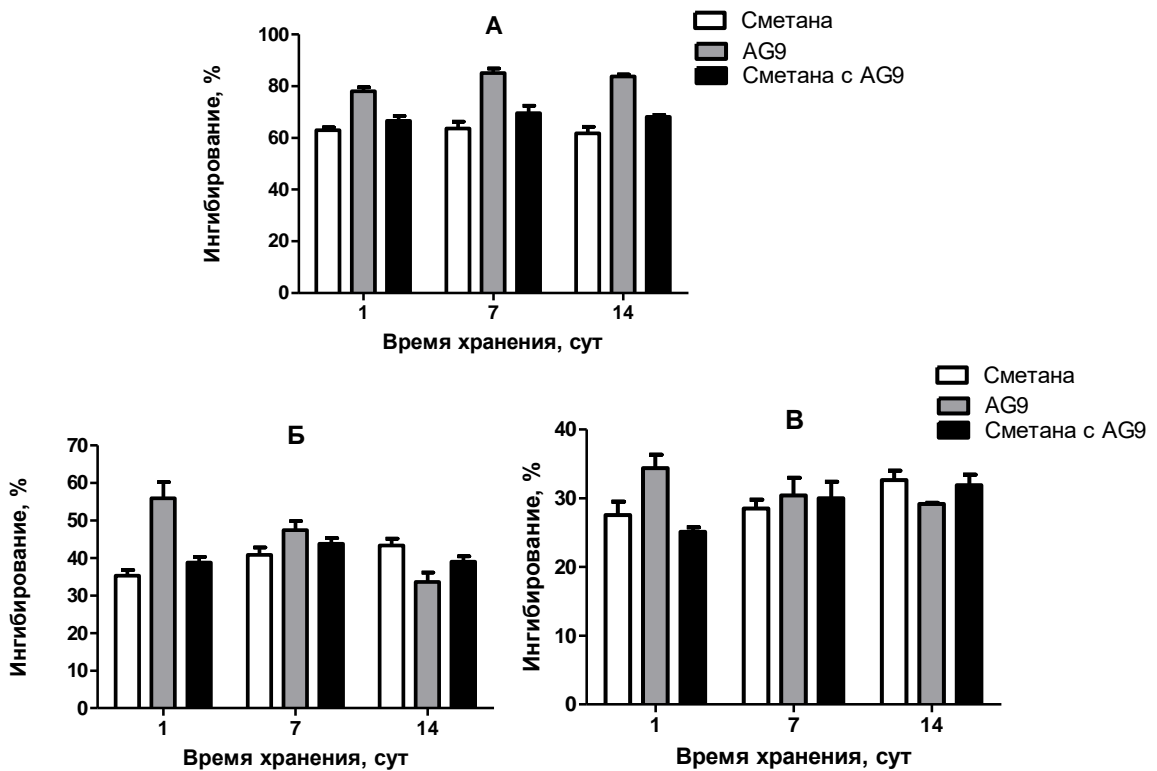


Рисунок 38 – Изменение радикал-связывающей активности разных фракций сквашенных сливок в процессе хранения: сквашенные сливки (а), водозэкстрагируемые вещества (б), безбелковый экстракт (в)

Радикал-связывающая активность безбелкового экстракта на 14-е сутки была наибольшей у всех образцов (ингибирование более 30 %). Поскольку в безбелковом экстракте отсутствуют белки, однако присутствуют пептиды, ароматические аминокислоты, фенольные соединения, ЭПС, короткоцепочечные ЖК, витамины и минералы, очевидно, эти компоненты и проявляют радикал-связывающую активность. Корреляции с ароматическими кислотами (см. рисунок 36) и с динамикой изменения пептидов (см. рисунок 37) не обнаружено.

Радикал-связывающая активность водозэкстрагируемых веществ и безбелкового экстракта на 7-е сутки увеличивалась у СМ и СМ + AG9 и уменьшалась для AG9. Это коррелирует с изменениями количества ЭПС с 1-х по 7-е сутки (см. рисунок 35). Можно предположить, что ключевая роль в изменении радикал-связывающей активности принадлежит ЭПС.

При хранении одновременно с ростом восстановительной активности фракции продукта AG9 уменьшалась восстановительная активность других образцов

(рисунок 39). Так, на 14-е сутки активность AG9 была значительно выше остальных. В водозэкстрагируемой фракции наибольшие значения у AG9. В безбелковой фракции активность AG9 при хранении увеличивалась в два раза и более, тогда как остальные образцы сохраняли значение данного показателя на одинаковом уровне.

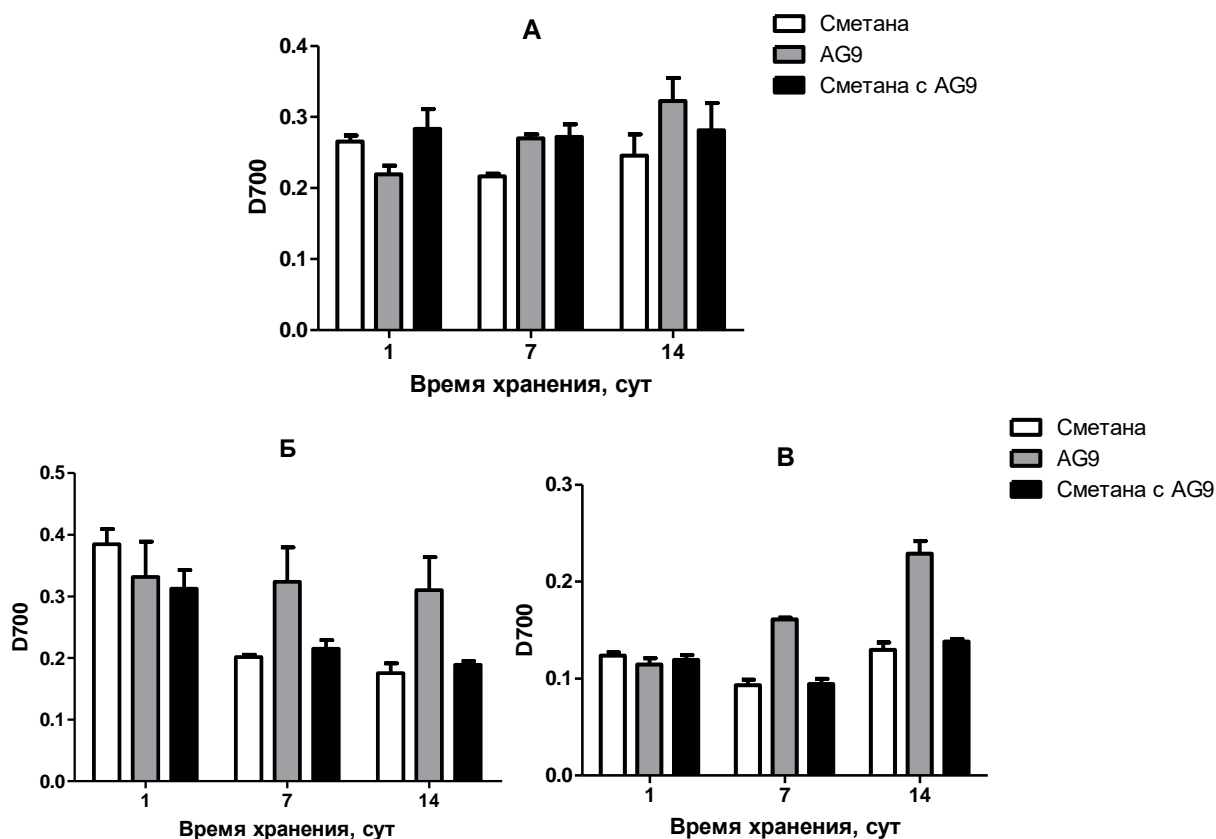


Рисунок 39 – Изменение восстанавливающей активности разных фракций сквашенных сливок в процессе хранения: сквашенные сливки (а), водозэкстрагируемые вещества (б), безбелковый экстракт (в)

В завершение подраздела можно сделать вывод, что штамм *L. plantarum* AG9 увеличивает радикал-связывающую активность сквашенных сливок как в синергизме с классической сметанной закваской, так и при применении в качестве монозакваски, а также увеличивает восстанавливающую активность сквашенных сливок при применении в качестве монозакваски.

4.2.5 Изменения молочного жира сквашенных сливок и сметаны в процессе хранения

Перекисное число, концентрация свободных ЖК, тиобарбитуровое число (концентрация малонового диальдегида) характеризуют степень устойчивости жира к окислительному стрессу [135].

Значения перекисного числа в свежесквашенных и хранившихся 7 сут сливках значимо не различались, тогда как через 14 сут в варианте сметаны с AG19 были почти в два раза меньше, чем в классической сметане (рисунок 40, а).

Кислотное число указывает на накопление свободных жирных кислот, как продукта гидролиза молочного жира. На всем протяжении срока хранения наименьший уровень свободных жирных кислот отмечался в образце пробиотической сметаны с AG9 (рисунок 40, б).

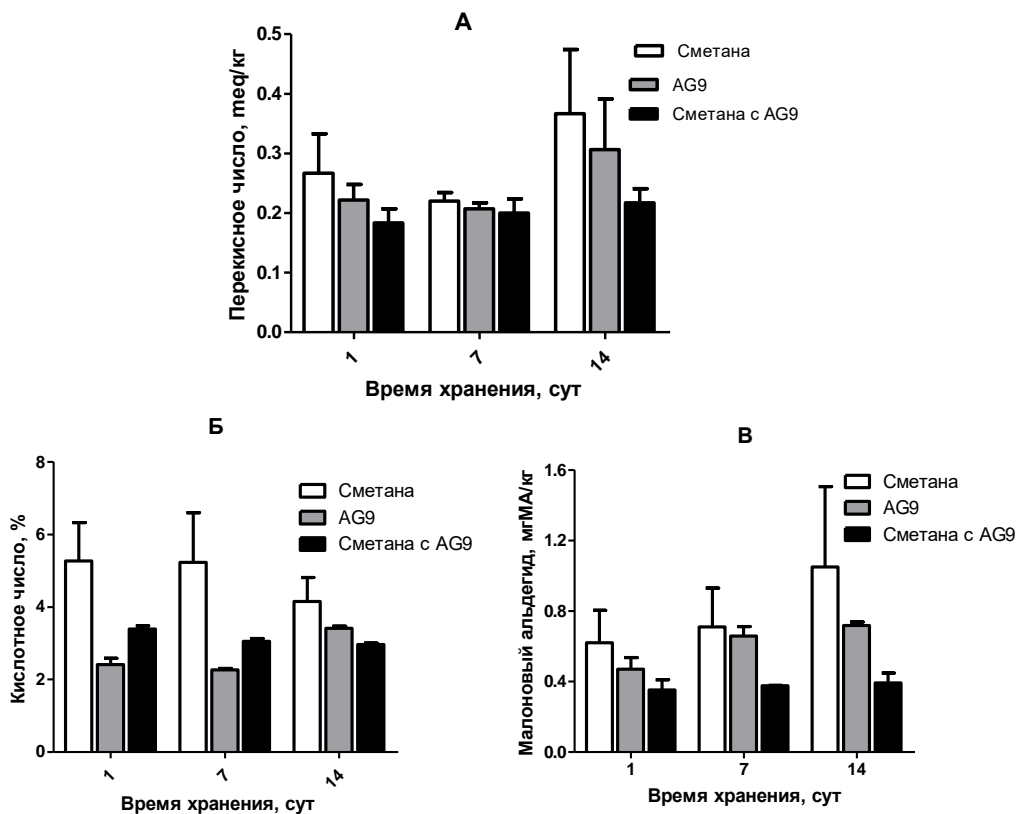


Рисунок 40 – Изменение состояния молочного жира сквашенных сливок:
а – перекисное число; б – свободные жирные кислоты; в – малоновый диальдегид

Малоновый диальдегид образуется при распаде полиненасыщенных жирных кислот под действием свободных радикалов, свидетельствуя о перекисном окислении жиров. Интенсивное накопление малонового диальдегида в сметане при хранении происходило в классической сметане. В то же время в образце с монокультурой *L. plantarum* AG9 этот показатель был значимо ниже. Наименьшее количество диальдегида накапливалось в пробиотической сметане с *L. plantarum* AG9 на всем протяжении срока хранения (рисунок 40, в).

Таким образом, применение штамма *L. plantarum* AG9, обладающего комплексом антиоксидантных свойств, положительно сказывается на сохранности молочного жира в продукте с высоким содержанием жира, что является перспективным для увеличения срока хранения продукта.

4.2.6 Разработка принципиальной схемы производства сметаны с *L. plantarum* AG9 с учетом требований ХАССП

Разработана принципиальная схема производства продукта типа сметаны «Пробиосметана» (с массовой долей жира 15 %) со штаммом *L. plantarum* AG9 (рисунок 41). Используется молоко коровье не ниже второго сорта. Приемка и подготовка молока описаны в п. 4.1.6. После сепарирования получают сливки с массовой долей жира не менее 22 %, нормализуют обезжиренным молоком до 15 % при 40–45 °С, затем гомогенизируют при 14–18 МПа и 70 °С, пастеризуют при 85–95 °С с выдержкой от 15–20 с, охлаждают до 18–22 °С и добавляют закваску.

Для получения новой сметаны готовят две разные стартовые закваски. Одну готовят из классической сметанной закваски, состоящей из *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar. *diacetylactis*, т. е. вносят в среду бактериальную культуру в дозировке 0,5 % и выдерживают при температуре 35–38 °С в течение 16 ч. Вторую стартовую культуру готовят из штамма *L. plantarum* AG9 таким же образом.

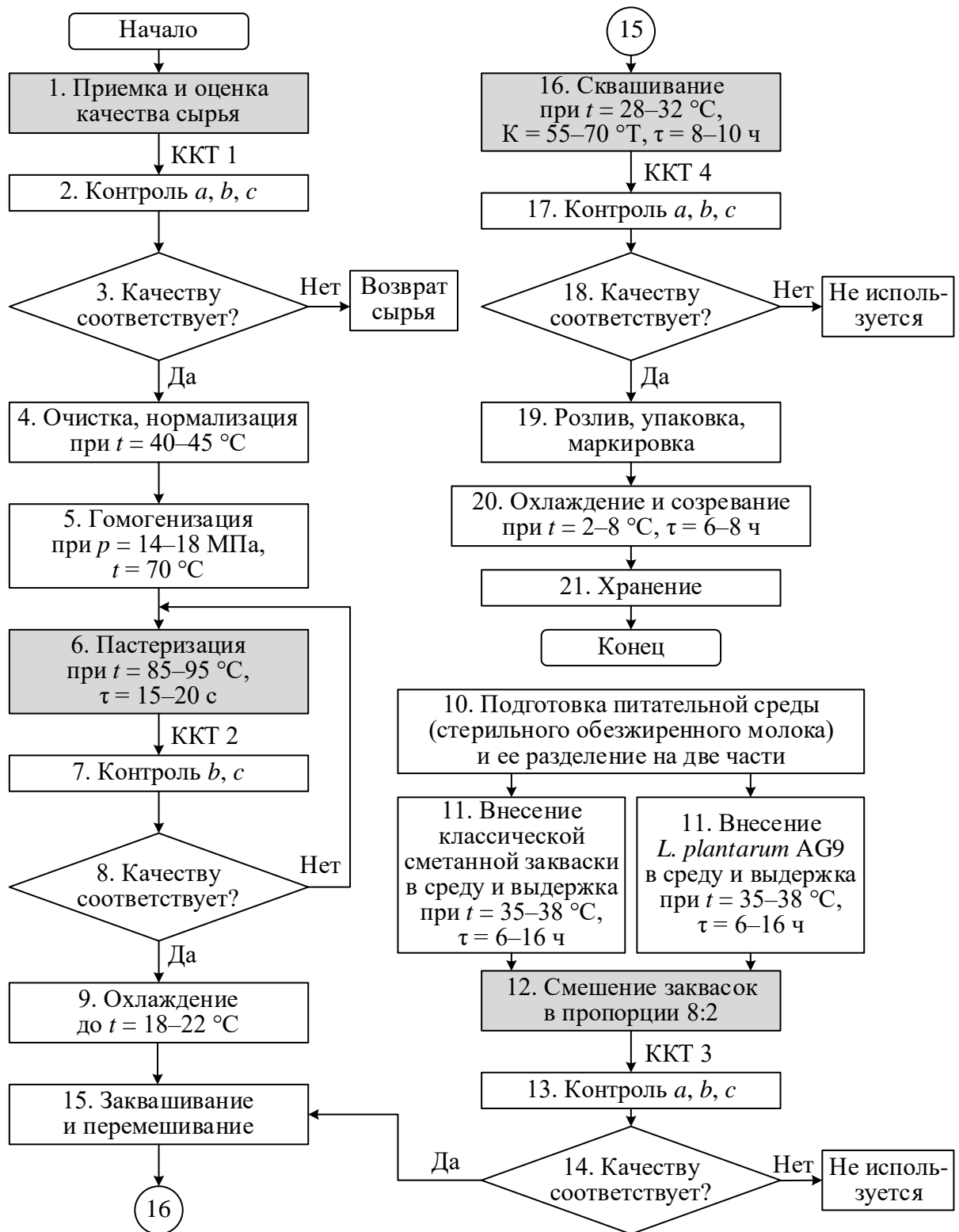


Рисунок 41 – Принципиальная схема производства продукта типа сметаны «Пробиосметана» (с массовой долей жира 15 %) со штаммом *L. plantarum* AG9 с учетом требований ХАССП

Две закваски смешивают в пропорции 8:2 и проводят сквашивание в резервуаре при 28–32 °C в течение 8–10 ч. Количество вносимой закваски – 5 % от объ-

ема заквашиваемой смеси. Во время внесения закваски сливки перемешивают для равномерного распределения закваски и недопущения образования хлопьев белка.

При резервуарном способе производства сливки сквашивают в той же емкости, где их заквашивали. Через 1–1,5 ч сливки повторно перемешивают, затем оставляют в покое до конца сквашивания, образования плотного сгустка и нарастания необходимой кислотности 55–70 °Т. Продолжительность сквашивания сливок при использовании ускоренной закваски составляет не более 6 ч.

Фасование сметаны при резервуарном способе проводят при температуре сквашивания сразу по окончании перемешивания, не допуская отделения сыворотки. При необходимости торможения молочнокислого процесса допускается охлаждение сквашенных сливок до 16–18 °С путем подачи ледяной воды в межстенное пространство резервуара. Сквашенные сливки рекомендуются подавать на фасовку самотеком, что обеспечивает менее значительное разрушение структуры сгустка. Сметану после фасования направляют в холодильные камеры для созревания при 2–8 °С на 6–8 ч. После созревания сметана готова к реализации.

Срок хранения сметаны на заводе не более 18 ч с окончания технологического процесса при 2–6 °С. В соответствии с ГОСТ 31452-2012 «Сметана. Технические условия» сроки годности и условия хранения устанавливает изготовитель. Срок годности сметаны, упакованной в потребительскую тару с негерметичной укупоркой, – не более 3 сут, сметаны с герметичной укупоркой – не более 7–14 сут. Количество МКБ на конец срока годности должно быть не менее 10^7 КОЕ/г.

Выводы по параграфу 4.2. В образце СМ + АG9 в сравнении с другими титруемая кислотность стабильна при хранении, на 14-е сутки ниже на 10–20 °Т; содержание белка на 1-е сутки больше на 0,11–0,1 %; ЭПС к 7-м суткам больше. Метаболизм глюкозы максимальный в образцах с АG9, на 14-е сутки в образце СМ + АG9 глюкозы меньше контроля на 1,66 ммоль/л. В безбелковом экстракте к 7-м суткам фенольные соединения активно накапливались в СМ + АG9; максимальное количество сохранялось в образцах СМ + АG9 и к 14-м суткам было выше остальных. В водном экстракте к 7-м суткам уменьшилось количество фенольных соединений, к 14-м суткам – увеличилось. Максимальные значения в СМ + АG9.

Количество пептидов в безбелковом экстракте СМ + AG9 в сравнении с другими к 14-м суткам меньше в 2 раза.

Вкус и запах сметаны с добавлением штамма AG9 описали как более приемлемый и менее кислотный в сравнении с остальными образцами в течение всего времени хранения. В консистенции исследуемых образцов не обнаружили текучесть, хлопья, клейкость. Однако консистенцию сливок, сквашенных монозакваской, охарактеризовали как песчанистую, а консистенцию сметаны с AG9 – как более густую по сравнению с классической. По итогам балльной оценки сметане со штаммом AG9 присвоили $(17,43 \pm 1,44)$ балла, что соответствует отличной оценке.

Внесение штамма *L. plantarum* AG9 не привело к ухудшению микробиологических показателей продукта через 14 сут хранения при 5 °С.

Штамм *L. plantarum* AG9 увеличивает радикал-связывающую активность сквашенных сливок как в синергизме с классической сметанной закваской, так и при применении в качестве монозакваски; увеличивает восстанавливающую активность сквашенных сливок при применении в качестве монозакваски.

К 14-м суткам у образца СМ + AG9 перекисное число, содержание свободных жирных кислот и малонового диальдегида ниже остальных образцов.

Штамм *L. plantarum* AG9 положительно влияет на сохранность молочного жира в продукте с высоким содержанием жира, что является перспективным для увеличения срока хранения продукта и позволяет получить продукт с улучшенными полезными свойствами для здоровья человека.

4.3 Разработка аппаратурно-процессовой схемы йогурта и сметаны с новыми штаммами

Для разработки аппаратурно-процессовой схемы необходимо в соответствии с принципиальной схемой производства йогурта и сметаны подобрать оборудование. На основе режимов производства составлена аппаратурно-процессовая схема йогурта и сметаны (рисунок 42).

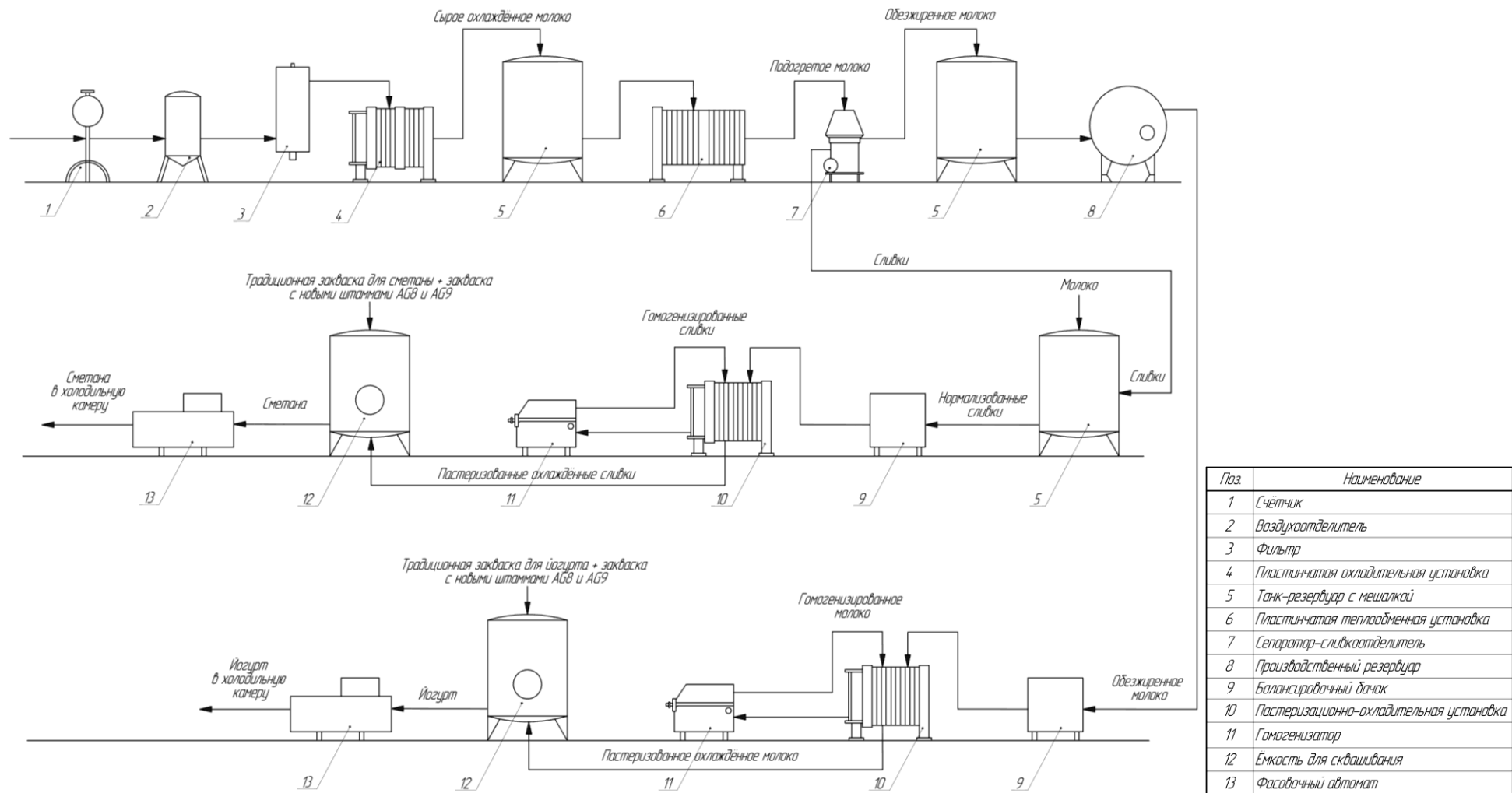


Рисунок 42 – Аппаратурно-процессовая схема производства йогурта и сметаны

4.4 Экономические аспекты технологии производства

Для производства сметаны и йогурта необходимо оборудование (линия получения кисломолочных напитков), производственный и хозяйственный инвентарь и пр. Расчет суммы амортизационных отчислений оборудования и инвентаря ($E_{амс}$) представлен в таблице 26.

Таблица 26 – Расчет суммы амортизационных отчислений ($E_{амс}$)

Элемент основных средств	Стоимость основных средств, р.	Норма амортизационных отчислений за год, %	Сумма амортизационных отчислений, р.
Оборудование (линия получения кисломолочных напитков)	1 900 000	0,4	7 600
Производственный и хозяйственный инвентарь, инструменты и прочее	90 000	0,4	360
Итого за год	–	–	7 960

Расчет расходов на сырье, материалы и транспорт ($E_{мат}$) представлен в таблице 27. Расчет производился для производства 1 л готовой продукции. Для производства йогурта и сметаны предполагается закупка цельного коровьего молока по оптовой цене 40 р. за 1 л. Предполагаемая цена заквасок с новыми штаммами составляет 20 р. за 1 г.

Таблица 27 – Расчет расходов на сырье, материалы и транспорт ($E_{мат}$)

Наименование	Количество	Цена единицы, р.	Стоимость, р.
Цельное коровье молоко, л	1,00	40	40,0
Закваска, г	0,25	20	5,0
Итого	–	–	45,0
Транспортные расходы (10 %)	–	–	4,5
Итого на 1 л готового продукта ($E_{мат}$)	–	–	49,5

Расчет заработной платы персонала. На предприятии предполагается задействовать пять работников в смену при 8-часовом рабочем дне. Тарифная ставка за 1 ч работы – 150 р. Норма выработки готовой продукции (йогурта и сметаны суммарно) – 1 т в сутки. Цельное пастеризованное молоко после сепарирования разделяют на две фракции – обезжиренное молоко и сливки, из обезжиренного молока готовят йогурт, из сливок – сметану. Предприятие работает 365 дней в году. Технологическую трудоемкость T_p производства 1 т напитка определяем по формуле

$$T_p = (P_p \cdot Ч) / O, \quad (1)$$

где P_p – продолжительность смены, ч; $Ч$ – численность рабочих, чел.; O – объем производства продукции в сутки, т.

$$T_p = (8 \cdot 5) / 1 = 40 \text{ чел.-ч.}$$

Расценку на 1 т продукции $P_{ц}$ рассчитываем по формуле

$$P_{ц} = T_{\text{час}} \cdot T_p, \quad (2)$$

где $T_{\text{час}}$ – часовая тарифная ставка, р.; T_p – технологическая трудоемкость производства, чел.-ч.

$$P_{ц} = 150 \cdot 40 = 6000 \text{ р.}$$

Сдельный фонд заработной платы $Z_{сд}$ определяли по формуле

$$Z_{сд} = O_{г} \cdot P_{ц}, \quad (3)$$

где $O_{г}$ – годовой объем производства продукции, т, который определяли по формуле

$$O_{г} = O \cdot Дн, \quad (4)$$

где $D_{\text{н}}$ – число дней работы предприятия в год.

$$O_{\text{г}} = 1 \cdot 300 = 300 \text{ т.}$$

$$Z_{\text{сд}} = 300 \cdot 6000 = 1800 \text{ тыс. р.}$$

Величину доплат D принимаем равной 20 % от сдельного фонда:

$$D = 0,2 \cdot 1\,800\,000 = 360 \text{ тыс. р.}$$

Тогда основной фонд заработной платы $Z_{\text{осн}}$ рассчитывается по формуле

$$Z_{\text{осн}} = Z_{\text{сд}} + D, \quad (5)$$

где $Z_{\text{сд}}$ – сдельный фонд заработной платы, тыс. р.; D – величина доплат, тыс. р.

$$Z_{\text{осн}} = 1800 + 360 = 2160 \text{ тыс. р.}$$

Дополнительная заработная плата $Z_{\text{доп}}$ составляет 10 % от основного фонда:

$$Z_{\text{доп}} = 0,1 \cdot 2160 = 216 \text{ тыс. р.}$$

Общий фонд заработной платы $Z_{\text{общ}}$, тыс. р., рассчитывается по формуле

$$Z_{\text{общ}} = Z_{\text{осн}} + Z_{\text{доп}}. \quad (6)$$

$$Z_{\text{общ}} = 2\,160 + 216 = 2\,376 \text{ тыс. р.}$$

В пересчете на 1 т продукции $Z_{\text{общ}} = 2\,376\,000 / 365 = 6\,509 \text{ р.}$

Расчет прочих расходов и затрат. К прочим расходам ($E_{\text{пр}}$) относят расходы на информационные материалы, телефонную связь и т. д. Прочие расходы составляют 80 % от фонда заработной платы на 1 т готового КМП:

$$E_{\text{пр}} = 6509 \cdot 0,8 = 5207 \text{ р.}$$

Затраты на хозяйственное обслуживание и управленческую деятельность ($E_{\text{нр}}$) составляют 125 % от фонда заработной платы на 1 т готового КМП:

$$E_{\text{нр}} = 6\,509 \cdot 1,25 = 8\,136 \text{ р.}$$

Отчисления и взносы ($E_{\text{соц}}$) составляют 30,2 % от фонда заработной платы на 1 т продукции: $E_{\text{соц}} = 6509 \cdot 0,302 = 1965,7 \text{ р.}$ Производственная себестоимость ($E_{\text{пр}}$) получения 1 т КМП в таблице 28.

Таблица 28 – Производственная себестоимость 1 т КМП ($E_{пр}$)

Показатель	Сумма, р.
$E_{амс}$	7 960,0
$E_{мат}$	49 500,0
$Z_{общ}$	6 509,0
$E_{соц}$	1 965,7
$E_{пр}$	5 207,0
$E_{пр}$	8 136,0
<i>Итого</i>	79 277,7

Коммерческие расходы ($E_{ком}$) составляют 10 % от производственной себестоимости 1 т КМП ($E_{пр}$):

$$E_{ком} = 79277,7 \cdot 0,1 = 7927,77 \text{ р.}$$

Полная себестоимость 1 т КМП ($S_{п}$, р.) рассчитывается по формуле

$$S_{п} = E_{пр} + E_{ком}, \quad (7)$$

где $E_{пр}$ – производственная себестоимость 1 т КМП, р.; $E_{ком}$ – коммерческие расходы, р.

$$S_{п} = 79 277,7 + 7 927,77 = 87 205,47 \text{ р.}$$

Затраты на 1 р. КМП ($E_{р}$, р.) рассчитывается по формуле

$$E_{р} = S_{п} / C, \quad (8)$$

где $S_{п}$ – полная себестоимость КМП, р.; C – оптовая цена за 1 т продукта, равная 100 000 р.

$$E_{р} = 87 205,47 / 100 000 = 0,87 \text{ р.}$$

Прибыль от реализации 1 т КМП рассчитывается по формуле

$$\Pi_{р} = C - S_{п}, \quad (9)$$

где C – оптовая цена за 1 т продукта (100 000 р.), р.; $S_{п}$ – полная себестоимость КМП, р.

$$\Pi_p = 100\,000 - 87\,205,47 = 12\,794,53 \text{ р.}$$

Уровень рентабельности производства R определяли по формуле

$$R = \Pi_p / S_{п} \cdot 100 \%, \quad (10)$$

где Π_p – прибыль от реализации 1 т КМП, р; $S_{п}$ – полная себестоимость КМП, р.

$$R = (12\,794,53 / 87\,205,47) \cdot 100 = 14,6 \, \%.$$

Результаты приведенных расчетов показаны в таблице 29.

Таблица 29 – Экономические показатели производства КМП

Показатель	Значение
Годовой объем производства, т	365
Полная себестоимость 1 т продукции, р.	87 205,47
Прибыль от реализации 1 т продукции, р.	12 794,53
Затраты на 1 рубль КМП, р.	0,87
Уровень рентабельности производства, %	14,6

Анализ экономических показателей определения эффективности от внедрения в реальный сектор экономики технологии йогурта и сметаны с пробиотическими штаммами показал, что 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 кон-

троля) 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 $(0,67 \pm 0,07)$ 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 сокращений и условных обозначений

- АЛТ – аланинаминотрансфераза
АСТ – аспаргатаминотрансфераза
АФК – активные формы кислорода
БГКП – бактерии группы кишечной палочки
ВУС – влагоудерживающая способность
ДФПГ – 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил
ЖК – жирная кислота
ЖКТ – желудочно-кишечный тракт
КМАФАнМ – количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов
КМП – кисломолочный продукт
КОЕ – колониеобразующие единицы
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
ТХУ – трихлоруксусная кислота
ЭПС – экзополисахариды

Список литературы

1. Андреева, А. Д. Продовольственная безопасность России: состояние, тенденции, угрозы / А. Д. Андреева, О. С. Медведева // Экономика и бизнес: теория и практика. – 2024. – № 6-1 (112). – С. 32–36.
2. Андросова, Н. Л. Подбор заквасочных культур для производства ферментированного молочно-зернового продукта детского питания / Н. Л. Андросова, Т. А. Антипова, С. В. Фелик [и др.] // Пищевая промышленность. – 2023. – № 9. – С. 128–130.
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. Бояринева, И. В. Исследование внеклеточных метаболитов, продуцируемых микробным консорциумом на основе молочнокислых и пропионовокислых бактерий / И. В. Бояринева, Н. А. Замбалова, Л. М. Качанина // Пищевая промышленность. – 2023. – № 3. – С. 42–45.
6. Бояринева, И. В. Пробиотики в функциональном питании / И. В. Бояринева // Вестник Хабаровского государственного университета экономики и права. – 2020. – № 3 (104). – С. 160–163.
7. 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.
8. 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.

9. Волкова, Г. С. Изучение фунгицидных свойств метаболитов молочнокислых бактерий / Г. С. Волкова, Е. В. Куксова // Успехи медицинской микологии. – 2019. – Т. 20. – С. 470–475.

10. Волкова, Г. С. Использование комплекса метаболитов пропионовокислых и молочнокислых бактерий с высоким антимикробным действием для защиты пищевых продуктов / Г. С. Волкова, Е. В. Куксова // Международная научно-практическая конференция, посвященная памяти Василия Матвеевича Горбатов. – 2013. – № 1. – С. 25–28.

11. Гавва, Е. С. Функциональные продукты питания как новый тренд инноваций в молочной промышленности / Е. С. Гавва, И. А. Родионова // Аграрная наука и образование: проблемы и перспективы : сб. ст. Нац. науч.-практ. конф. (Саратов, 28 марта – 1 апр. 2022 г.). – Саратов : Центр социальных агроинноваций СГАУ, 2022. – С. 81–85.

12. 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.

13. Ганина, В. И. Бифидобактерии и лактобактерии - компоненты продуктов персонализированного питания / В. И. Ганина, А. Н. Пахомова // Низкотемпературные и пищевые технологии в XXI веке : материалы IX Междунар. науч.-техн. конф. (Санкт-Петербург, 13–15 нояб. 2019 г.). – Санкт-Петербург : С.-Петерб. нац. исслед. ун-т информ. технологий, механики и оптики, 2019. – Т. 2. – С. 143–146.

14. Головастикова, А. В. Долгосрочная стратегия развития пищевой и перерабатывающей промышленности здорового питания / А. В. Головастикова // Инновационные подходы в индустрии питания и товароведении в современных условиях цифровизации : материалы Междунар. науч.-практ. конф. (Курск, 6 апр. 2021 г.). – Курск : Курский институт кооперации (филиал) БУКЭП, 2021. – С. 12–19.

15. Дорофеев, Р. В. Выделение лактококков, перспективных для молочной промышленности / Р. В. Дорофеев, Т. Н. Кузнецова, Е. Ф. Отт, И. А. Функ // Ползуновский вестник. – 2023. – № 4. – С. 24–28.

16. Занданова, Т. Н. Влияние замораживания на протеолитическую активность бактериального концентрата / Т. Н. Занданова // Вестник КрасГАУ. – 2022. – № 11. – С. 165–170.

17. Захарова, Ю. В. Аминокислотный состав кисломолочного пробиотического препарата и компонентов закваски прямого внесения / Ю. В. Захарова, Т. В. Котова, Л. А. Леванова, А. С. Сухих // Индустрия питания. – 2024. – Т. 9, № 2. – С. 68–76.

18. 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.

19. 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.

20. 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.

21. 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.

22. 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.

23. Качалова, Е. Ш. Управление логистическими рисками молочной промышленности / Е. Ш. Качалова, М. Н. Миляев // Прогрессивная экономика. – 2023. – № 12. – С. 136–149.

24. Китаевская, С. В. Изучение способности молочнокислых бактерий продуцировать липолитические ферменты / С. В. Китаевская // Вестник Казанского технологического университета. – 2015. – Т. 18, № 18. – С. 256–258.

25. Коденцова, В. М. Обогащенные молочные продукты как перспективный носитель дефицитных микронутриентов в рационе россиян / В. М. Коденцова, Д. В. Рисник // Молочная промышленность. – 2021. – № 8. – С. 58–61.

26. Креккер, Л. А. Антиоксидантная активность как функциональное преимущество кисломолочного продукта в процессе хранения / Л. А. Креккер, Е. В. Колосова // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2022. – № 2. – С. 147–160.

27. 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.

28. Милентьева, И. С. Антимикробная, антиоксидантная и адгезивная активность некоторых штаммов лактобактерий / И. С. Милентьева // Молочная промышленность. – 2021. – № 3. – С. 46–48.

29. Милентьева, И. С. Исследование пробиотических свойств бактерий рода *Propionibacterium* / И. С. Милентьева, О. В. Козлова, Н. И. Еремеева // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. – 2021. – Т. 9, № 2. – С. 83–92.

30. Мусина, О. Н. Технологический потенциал пантовых гидролизатов в производстве кисломолочных напитков / О. Н. Мусина, Н. И. Бондаренко, Д. А. Усатюк, Т. В. Филимонова // Молочная промышленность. – 2021. – № 10. – С. 47–48.

31. Мустафина, О. К. Гематологические показатели у крыс Вистар разного возраста, содержащихся на полусинтетическом полноценном виварном рационе / О. К. Мустафина, Э. Н. Трушина, А. А. Шумакова [и др.] // Вопросы питания. – 2013. – Т. 82, № 2. – С. 10–16.

32. 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.

33. 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.

34. 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.

35. Огнева, О. А. Стандартизация и экспертиза молока и молочных продуктов : методические рекомендации / О. А. Огнева, Н. Н. Забашта. – Краснодар : КубГАУ, 2020. – 84 с.

36. Остроумов, Л. А. Пробиотические консорциумы для поддержания микробиологического статуса организма человека / Л. А. Остроумов, И. С. Миленцева, А. М. Осинцев // Пищевая промышленность. – 2021. – № 7. – С. 67–73.

37. Панков, М. Н. Бета-казеин коровьего молока и его влияние на организм человека (обзор) / М. Н. Панков, В. С. Смолина, А. О. Ступина [и др.] // Журнал медико-биологических исследований. – 2024. – Т. 12, № 3. – С. 411–418.

38. 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.

39. Петрова, Т. А. Влияние штамма *Lactobacillus plantarum* AG9 на химические показатели и текстуру сметаны 2 / Т. А. Петрова, Г. А. Бахитова // 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.

40. Петрова, Т. А. Влияние штаммов *Lactobacillus fermentum* AG8 и *Lactobacillus plantarum* AG9 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 студен-

тов с междунар. участием (Казань, 20–23 апр. 2021 г.). – Казань : КНИТУ, 2021. – С. 653–658.

41. Петрова, Т. А. Перспектива использования штамма *Lactobacillus fermentum* AG16 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. (Саратов, 24–25 марта 2021 г.). – Саратов : Центр социальных агроинноваций СГАУ, 2021. – С. 399–402.

42. 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.

43. Полянская, И. С. Иммунопрофилактика инфекционных заболеваний с помощью кисломолочных продуктов / И. С. Полянская, В. Ф. Семенихина // Молочная промышленность. – 2015. – № 8. – С. 40–42.

44. Полянская, И. С. Классификация функциональных пищевых продуктов на молочной основе / И. С. Полянская, В. Ф. Семенихина // Молочная промышленность. – 2017. – № 2. – С. 56–58.

45. Пономарев, А. Н. Применение молочной сыворотки в функциональном питании : монография / А. Н. Пономарев, Е. И. Мельникова, Е. В. Богданова. – Воронеж : ВГУИТ, 2013. – 180 с. – ISBN 978-5-89448-990-2.

46. Попова, Н. В. Влияние состава заквасочной микрофлоры на формирование и сохраняемость антиоксидантных свойств ферментированных растительных напитков / Н. В. Попова, А. К. Васильев, К. С. Каменева // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. – 2024. – Т. 12, № 3. – С. 56–64.

47. Просеков, А. Ю. Иммобилизация бифидобактерий для повышения их жизнеспособности при пероральной доставке в матрице пищевых продуктов // А. Ю. Просеков, Т. В. Вобликова // Современная наука и инновации. – 2018. – №3. – С. 141–146.

48. Родионова, Н. С. Разработка технологии низколактозного сквашенного пробиотического продукта / Н. С. Родионова, Т. А. Разинкова, Е. С. Попов [и др.] // Современные достижения биотехнологии. Глобальные вызовы и актуальные проблемы переработки и использования вторичных сырьевых ресурсов агропромышленного комплекса России : материалы VIII Междунар. науч.-практ. конф. (Ставрополь, 21–24 июня 2021 г.). – Ставрополь : Бюро новостей, 2021. – С. 258–261.

49. Рябцева, С. А. Микробиология молока и молочных продуктов / С. А. Рябцева, В. И. Ганина, Н. М. Панова. – 3-е изд., стер. – Санкт-Петербург : Лань, 2020. – 192 с. – ISBN 978-5-8114-5285-9.

50. 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 [и др.] // Вопросы питания. – 2018. – Т. 87, № 5. – С. 52–62.

51. Скрипкина, Е. В. Финансовое положение и пути развития предприятий молочной промышленности России / Е. В. Скрипкина, С. П. Кузьмина, М. Н. Наджафова, Н. С. Бушина // Вестник НГИЭИ. – 2024. – № 4 (155). – С. 111–123.

52. Сорокина, Н. П. Выбор бактериальных заквасок для ферментированной молочной продукции / Н. П. Сорокина, И. В. Кучеренко // Молочная промышленность. – 2016. – № 7. – С. 24–26.

53. Сорокина, Н. П. Способы применения бактериальных заквасок и концентратов / Н. П. Сорокина, Е. В. Кураева // Сыроделие и маслоделие. – 2015. – № 3. – С. 31–32.

54. Стандартизация, технология переработки и хранения продукции животноводства / Г. С. Шарафутдинов, Ф. С. Сibaгатуллин, Н. А. Балакирев [и др.]. – 5-е изд., стер. – Санкт-Петербург : Лань, 2020. – 624 с. – ISBN 978-5-8114-3954-6.

55. Станиславская, Е. Б. Применение микропартикулята сывороточных белков в технологии кефира / Е. Б. Станиславская, Е. И. Мельникова // Молочная промышленность. – 2018. – № 8. – С. 49–51.

56. Степанова, А. А. Ферментированные напитки: источники их получения и видовой состав микробных сообществ (обзор) / А. А. Степанова, Л. К. Асякина, Т. А. Ларичев, Е. В. Остапова // АПК России. – 2023. – Т. 30, № 5. – С. 703–711.

57. Технический регламент Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции» (ТР ТС 033/2013). – Введ. 2013-12-09. – Москва : Изд-во стандартов, 2013. – 129 с.

58. Тимощук, В. А. Устойчивость микроорганизмов к противомикробным препаратам и механизмы ее формирования / В. А. Тимощук, Н. А. Соловьева // Биоразнообразие, биоресурсы, вопросы биотехнологии и здоровье населения Северо-Кавказского региона : материалы VII (64-й) Ежегод. науч.-практ. конф. «Университетская наука – региону» Северо-Кавказского федерального университета (Ставрополь, 3–29 апр. 2019 г.). – Ставрополь : СКФУ, 2019. – С. 350–353.

59. Титов, С. А. Кисломолочные напитки с частичной заменой молока пастеризованной сывороткой / С. А. Титов, К. К. Полянский, Д. В. Ключникова [и др.] // Сыроделие и маслоделие. – 2021. – № 2. – С. 41–44.

60. Хавкин, А. И. Место кисломолочных продуктов в структуре флекситарианской диеты / А. И. Хавкин, А. Н. Завьялова, В. П. Новикова // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2022. – Т. 67, № 1. – С. 39–46.

61. Чигасов, А. И. Особенности использования системы менеджмента качества в контроле производства функциональных молочных продуктов / А. И. Чигасов // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2021. – № 7 (172). – С. 178–184.

62. Шаркаева, Г. А. Россия в производстве молока в мире / Г. А. Шаркаева // Теория и практика современной науки. – 2024. – № 8 (110). – С. 23–31.

63. Ширяева, О. Ю. Активность некоторых ферментных препаратов / О. Ю. Ширяева // Известия ОГАУ. – 2015. – Т. 5, № 55. – С. 196–198.

64. 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.

65. Abarquero, D. Study of exopolysaccharides from lactic acid bacteria and their industrial applications: a review / D. Abarquero, E. Renes, J. M. Fresno, M. E. Tornadijo // *International journal of food science and technology*. – 2022. – Vol. 57. – P. 16–26.
66. Abdi-Moghadam, Z. Functional yogurt, enriched and probiotic: a focus on human health / Z. Abdi-Moghadam, M. Darroudi, M. Mahmoudzadeh [et al.] // *Clinical Nutrition ESPEN*. – 2023. – Vol. 57. – P. 575–586.
67. Adelekan, A. O. Antioxidant activities of exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria isolated from commercial yoghurt samples / A. O. Adelekan, T. O. Olurin, A. O. Ezeani // *Advances in microbiology*. – 2020. – Vol. 10, no. 8. – P. 359–374.
68. Aguirre-Garcia, Y. L. Lactic acid fermentation in the food industry and bio-preservation of food / Y. L. Aguirre-Garcia, S. D. Nery-Flores, L. G. Campos-Muzquiz [et al.] // *Fermentation*. – 2024. – Vol. 10, no. 168. – P. 1–18.
69. Aleman, R. S. Systematic review of probiotics and their potential for developing functional nondairy foods / R. S. Aleman, A. Yadav // *Applied microbiology*. – 2024. – Vol. 4. – P. 47–69.
70. 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. – P. 1-10.
71. Anisimova, E. Alarming antibiotic resistance of lactobacilli isolated from probiotic preparations and dietary supplements / E. Anisimova, I. Gorokhova, G. Kari-mullina, D. Yarullina // *Antibiotics*. – 2022. – Vol. 11, no. 11. – P. 1–12.
72. Ayivi, R. D. Lactic acid bacteria: food safety and human health applications / R. D. Ayivi, R. Gyawali, A. Krastanov [et al.] // *Dairy*. – 2020. – Vol. 1. – P. 202–232.
73. Bao, Y. Screening of potential probiotic properties of *Lactobacillus fermentum* isolated from traditional dairy products / Y. Bao, Y. Zhang, Y. Zhang [et al.] // *Food control*. – 2010. – Vol. 21, no. 5. – P. 695–701.

74. Bernatova, S. Following the mechanisms of bacteriostatic versus bactericidal action using Raman spectroscopy / S. Bernatova, O. Samek, Z. Pilat [et al.] // *Molecules*. – 2013. – Vol. 18, no. 11. – P. 13188–13199.

75. Biadala, A. Storage stability of antioxidant in milk products fermented with selected kefir grain microflora / A. Biadala, N. M. Adzahan // *Molecules*. – 2021. – Vol. 26. – P. 1-10.

76. Bintsis, T. The evolution of fermented milks, from artisanal to industrial products: a critical review / T. Bintsis, P. Papademas // *Fermentation*. – 2022. – Vol. 8. – P. 1–24.

77. Brand-Williams, W. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity / W. Brand-Williams, M. E. Cuvelier, C. Berset // *LWT – Food science and technology*. – 1995. – Vol. 28, no. 1. – P. 25–30.

78. Cizeikiene, D. Investigation of antibacterial activity and probiotic properties of strains belonging to *Lactobacillus* and *Bifidobacterium* genera for their potential application in functional food and feed products / D. Cizeikiene, J. Jagelaviciute // *Probiotics and antimicrobial proteins*. – 2021. – Vol. 13. – P. 1387–1403.

79. Constantinescu, M. A. Study on milk and dairy products consumers behavior and preferences in Sibiy country from Romania / M. A. Constantinescu, M. A. Tita, O. Tita [et al.] // *Management of sustainable development Sibiu, Romania*. – 2018. – Vol. 10, no. 2. – P. 1–3.

80. Cui, Y. New Insights into various production characteristics of *Streptococcus thermophilus* strains / Y. Cui, T. Xu, X. Qu [et al.] // *International journal of molecular sciences*. – 2016. – Vol. 17, no. 10. – P. 1–17.

81. Dinev, T. Antimicrobial activity of *Lactobacillus acidophilus* against pathogenic and food spoilage microorganisms: a review / T. Dinev, G. Beev, S. Denev [et al.] // *Agricultural science and technology*. – 2017. – Vol. 8. – P. 3–9.

82. Divyashree, S. Probiotic properties of *Lactobacillus casei* – MYSRD 108 and *Lactobacillus plantarum* – MYSRD 71 with potential antimicrobial activity against *Salmonella paratyphi* / S. Divyashree, P. G. Anjali, R. Somashekaraiah, M. Y. Sreenivasa // *Biotechnology reports*. – 2021. – Vol. 32. – P. 1–12.

83. Falah, F. Evaluation of adherence and anti-infective properties of probiotic *Lactobacillus fermentum* strain 4-17 against *Escherichia coli* causing urinary tract infection in humans / F. Falah, A. Vasiee, B. A. Behbahani [et al.] // Microbial pathogenesis. – 2019. – Vol. 131. – P. 246–253.

84. Fazilah, N. F. Microencapsulation of *Lactococcus lactis* GH1 with gum arabic and *Synsepalum dulcificum* via spray drying for potential inclusion in functional yogurt / N. F. Fazilah, N. H. Hamidon, A. B. Ariff [et al.] // Molecules. – 2019. – Vol. 24. – P. 1–21.

85. Garcia, A. Characterization of *Lactobacillus fermentum* UCO-979C, a probiotic strain with a potent anti-*Helicobacter pylori* activity / A. Garcia, K. Navarro, E. Sanhueza [et al.] // Electronic journal of biotechnology. – 2017. – Vol. 25. – P. 75–83.

86. Gasparri, C. Is vitamin D-fortified yogurt a value-added strategy for improving human health? A systematic review and meta-analysis of randomized trials / C. Gasparri, S. Perna, D. Spadaccini [et al.] // Journal of Dairy science. – 2019. – Vol. 102, no. 10. – P. 8587–8603.

87. Gavrilova, E. Newly isolated lactic acid bacteria from silage targeting biofilms of foodborne pathogens during milk fermentation / E. Gavrilova, E. Anisimova, A. Gabdelkhadieva [et al.] // BMC Microbiology. – 2019. – Vol. 19. – Art. no. 248.

88. Gutierrez-Zamoranoa, C. Increased anti-*Helicobacter pylori* effect of the probiotic *Lactobacillus fermentum* UCO-979C strain encapsulated in carrageenan evaluated in gastric simulations under fasting conditions / C. Gutierrez-Zamoranoa, M. Gonzalez-Avila, G. Diaz-Blas [et al.] // Food research international. – 2019. – Vol. 121. – P. 812–816.

89. Haile, M. The role of microbes in coffee fermentation and their impact on coffee quality / M. Haile, W. H. Kang // Journal of food quality. – 2019. – Vol. 2019. – P. 1–6.

90. Hameed, A. M. Amino acids, solubility, bulk density and water holding capacity of novel freeze-dried cow's skimmed milk fermented with potential probiotic *Lactobacillus plantarum* Bu-Eg5 and *Lactobacillus rhamnosus* Bu-Eg6 / A. M. Hameed,

E. Elkhtab, M.S. Mostafa [et al.] // Arabian journal of chemistry. – 2021. – Vol. 14, no. 8. – P. 1–8.

91. Hoxha, R. Physicochemical, rheological, and sensory characteristics of yogurt fermented by lactic acid bacteria with probiotic potential and bioprotective properties / R. Hoxha, Y. Evstatieva, D. Nikolova // Foods. – 2023. – No. 12. – P. 1–15.

92. Huang, T. Genomic analysis revealed adaptive mechanism to plant-related fermentation of *Lactobacillus plantarum* NCU116 and *Lactobacillus* spp. / T. Huang, T. Xiong, Z. Peng [et al.] // Genomics. – 2020. – Vol. 112, no. 1. – P. 703–711.

93. Jadhav H. B. Triglycerides of medium-chain fatty acids: a concise review / H. B. Jadhav, U. S. Annapure // Journal of food science and technology. – 2022. – Vol. 60, no. 8. – P. 1–10.

94. Janion, K. Evaluation of malondialdehyde level, total oxidant/antioxidant status and oxidative stress index in colorectal cancer patients / K. Janion, J. K. Strzelczyk, K. W. Walkiewicz [et al.] // Metabolites. – 2022. – Vol. 12. – P. 1–10.

95. Jawan, R. *In vitro* evaluation of potential probiotic strain *Lactococcus lactis* GH1 and its bacteriocin-like inhibitory substances for potential use in the food industry / R. Jawan, S. Abbasiliasi, S. Mustafa [et al.] // Probiotics and antimicrobial proteins. – 2021. – Vol. 13. – P. 422–440.

96. Juraskova, D. Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: from biosynthesis to health-promoting properties // D. Juraskova, S. C. Ribeiro, C. C. G. Silva // Foods. – 2022. – Vol. 11, no. 156. – P. 1–11.

97. Kaveh, S. Bio-preservation of meat and fermented meat products by lactic acid bacteria strains and their antibacterial metabolites / S. Kaveh, S. M. B. Hashemi, E. Abedi [et al.] // Sustainability. – 2023. – Vol. 15. – P. 1–17.

98. Khushboo. Characterization and selection of probiotic lactic acid bacteria from different dietary sources for development of functional foods / Khushboo, A. Karnwal, T. Malik // Frontiers in microbiology. – 2023. – Vol. 14. – P. 1–14.

99. Korcz, E. Exopolysaccharides from lactic acid bacteria: techno-functional application in the food industry / E. Korcz, L. Varga // Trends in food science and technology. – 2021. – Vol. 110. – P. 375–384.

100. Kpodo, F. M. K. Effect of ingredient variation on microbial acidification, susceptibility to syneresis, water holding capacity and viscosity of soy-peanut-cow milk yoghurt / F. M. K. Kpodo, E. O. Afoakwa, B. B. Amoa [et al.] // *Journal of nutritional health and food engineering*. – 2014. – Vol. 1, no. 2. – P. 74–79.

101. Lang, F. Evaluation of probiotic yoghurt by the mixed culture with *Lactobacillus plantarum* A3 / F. Lang, J. Wen, Z. Wu [et al.] // *Food science and human wellness*. – 2022. – Vol. 11, no. 2. – P. 323–331.

102. Lavermicocca, P. Editorial: lactic acid bacteria within the food industry: what is new on their technological and functional role / P. Lavermicocca, C. Reguant, J. Bautista-Gallego // *Frontiers in microbiology*. – 2021. – Vol. 12. – P. 1–3.

103. Le, B. Rice bran fermentation by lactic acid bacteria to enhance antioxidant activities and increase the ferulic acid, ρ -coumaric acid, and γ -oryzanol content / B. Le, P. T. N. Anh, J.-E. Kim [et al.] // *Journal of applied biological chemistry*. – 2019. – Vol. 62, no. 3. – P. 257–264.

104. Liang, J. H. Structure-activity relationships and mechanism of action of macrolides derived from erythromycin as antibacterial agents / J. H. Liang, X. Han // *Current topics in medicinal chemistry*. – 2013. – Vol. 13, no. 24. – P. 3131–3164.

105. Lim, S.-M. Probiotic *Lactobacillus fermentum* KU200060 isolated from watery kimchi and its application in probiotic yogurt for oral health / S.-M. Lim, N.-K. Lee, K.-T. Kim, H.-D. Paik // *Microbial Pathogenesis*. – 2020. – Vol. 147. – P. 1–7.

106. Linares, D. M. Lactic acid bacteria and bifidobacteria with potential to design natural biofunctional health-promoting dairy foods / D. M. Linares, C. Gomez, E. Renes [et al.] // *Frontiers in microbiology*. – 2017. – Vol. 8. – Art. no. 846.

107. Liu, D. Analysis of the probiotic characteristics and adaptability of *Lactiplantibacillus plantarum* DMDL 9010 to gastrointestinal environment by complete genome sequencing and corresponding phenotypes / D. Liu, Y.-Y. Huang, M.-H. Liang // *Food science and technology*. – 2022. – Vol. 158. – P. 1–12.

108. Maldonado, N. C. Lactic acid bacteria isolated from young calves – characterization and potential as probiotics / N. C. Maldonado, C. S. Ruiz, M. C. Otero [et al.] // *Research in veterinary science*. – 2012. – Vol. 92, no. 2. – P. 342–349.

109. Masoumi, S. J. The effect of yogurt fortified with *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium sp.* probiotic in patients with lactose intolerance / S. J. Masoumi, D. Mehrabani, M. Saberifiroozi [et al.] // Food science and nutrition. – 2021. – Vol. 9. – P. 1704–1711.

110. Meunier-Goddik, L. Sour cream and creme fraiche / L. Meunier-Goddik // Handbook of animal-based fermented food and beverage technology / ed. by Y. H. Hui, E. Ö. Evranuz. – 2nd ed. – Boca Raton : CRC Press, 2012. – P. 235–246.

111. 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 (1). – P. 1–40.

112. 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.

113. Munteanu-Ichim, R.-A. Tradition and innovation in yoghurt from a functional perspective – a review / R.-A. Munteanu, C.-M. Canja, M. Lupu [et al.] // Fermentation. – 2024. – Vol. 10. – P. 1–32.

114. Naghmouchi, K. Lactobacillus fermentum: a bacterial species with potential for food preservation and biomedical applications / K. Naghmouchi, Y. Belguesmia, F. Bendali [et al.] // Critical reviews in food science and nutrition. – 2020. – Vol. 60. – P. 3387–3399.

115. Nagyzbekkyzy, E. Investigation of acid and bile tolerance, antimicrobial activity and antibiotic resistance of *Lactobacillus* strains isolated from Kazakh dairy foods / E. Nagyzbekkyzy, G. Abitayeva, S. Anuarbekova [et al.] // Journal of applied sciences. – 2016. – Vol. 9, no. 4. – P. 143–156.

116. Nemati, V. Exopolysaccharides isolated from fermented milk-associated lactic acid bacteria and applied to produce functional value-added probiotic yogurt / V. Nemati, R. Mozafarpour // LWT. – 2024. – Vol. 199. – P. 1–11.

117. Nikitina E. Effect of fermented modified potato starches to low-fat yogurt / E. Nikitina, R. Rifqi Ahmad, A. Vafina [et al.] // Journal of food and nutrition research. – 2019. – Vol. 7, no. 7. – P. 549–555.

118. 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, V. Adel [et al.] // Fermentation. – 2022. – Vol. 8, no. 290. – P. 1–15.

119. 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. 197. – P. 1–19.

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

121. Nodzo, S. R. Nationwide organism susceptibility patterns to common pre-operative prophylactic antibiotics: what are we covering? / S. R. Nodzo, K. K. Boyle, N. B. Frisch // The journal of arthroplasty. – 2019. – Vol. 34, no. 7. – P. 302–306.

122. Pavlova, A. Whole genome sequence data of *Lactobacillus fermentum* AG8, the producer of antibacterial peptides / A. Pavlova, G. Ozhegov, M. N. Yahia [et al.] // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. – 2021. – Vol. 715. – P. 1–4.

123. Phillips, I. Importance of beta-lactamase induction / I. Phillips, K. Shannon // European journal of clinical microbiology and infectious diseases. – 1993. – Vol. 12, no. 1. – P. 19–26.

124. Pimentel, T. C. Health benefits and technological effects of *Lacticaseibacillus casei*-01: an overview of the scientific literature / T. C. Pimentel, L. R. Brandao, M. P. de Oliveira [et al.] // Trends in food science and technology. – 2021. – Vol. 114. – P. 722–737.

125. Qin, S. Probiotic potential of *Lactobacillus* isolated from horses and its therapeutic effect on DSS-induced colitis in mice / S. Qin, Z. Huang, Y. Wang [et al.] // Microbial pathogenesis. – 2022. – Vol. 29, no. 14. – P. 2078–2101.

126. Rabetafika, H. N. Probiotics as antibiotic alternatives for human and animal applications / H. N. Rabetafika, A. Razafindralambo, B. Ebenso, H. L. Razafindralambo // Encyclopedia. – 2023. – Vol. 3. – P. 561–581.

127. Raissa, G. S. The probiotic *Lactobacillus fermentum* 296 attenuates cardiometabolic disorders in high fat diet-treated rats / G. S. Raissa, M. R. Cavalcante, T. M. R. Albuquerque [et al.] // Nutrition, metabolism and cardiovascular diseases. – 2019. – Vol. 29, no. 12. – P. 1408–1417.

128. Rajta, P. Bio-production of fermented dairy products and health benefits: a review of the current scenario and prospects / P. Rajta, A. Bajaj, S. Sharma [et al.] // International journal of agricultural sciences and technology. – 2023. – Vol. 3. – P. 18–38.

129. Ramos, I. M. Screening of lactic acid bacteria strains to improve the properties of non-fat set yogurt by *in situ* EPS production / I. M. Ramos, S. Sesena, J. M. Poveda, M. L. Palop // Food and bioprocess technology. – 2023. – Vol. 16. – P. 2541–2558.

130. Ruiz, A. R. G. Measurement and clinical usefulness of bilirubin in liver disease / A. R. G. Ruiz, J. Crespo, R. M. L. Martinez [et al.] // Advances in laboratory medicine. – 2021. – Vol. 2, no. 3. – P. 352–361.

131. 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. – No. 75. – P. 563–568.

132. 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, no. 8 – P. 849–855.

133. 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. – N. 66. – P. 813-817.

134. Sharma, P. Antioxidant potential of exopolysaccharides from lactic acid bacteria: a comprehensive review / P. Sharma, A. Sharma, H.-J. Lee // International journal of biological macromolecules. – 2024. – Vol. 277. – P. 1–22.

135. Siddique, A. Evaluation of correlation between acid degree value and peroxide value in lipolysis of control and iron fortified caprine milk cheeses during 4 months storage / A. Siddique, Y. W. Park // *Open journal of animal sciences*. – 2019. – Vol. 9. – P. 1–11.

136. Siddiqui, S. A. An overview of fermentation in the food industry – looking back from a new perspective / S. A. Siddiqui, Z. Erol, J. Rugji [et al.] // *Bioresources and bioprocessing*. – 2023. – Vol. 10, no. 85. – P. 1–47.

137. Sirtori, C. R. The role of high-density lipoprotein cholesterol in 2022 / C. R. Sirtori, A. Corsini, M. Ruscica // *Current atherosclerosis reports*. – 2022. – No. 24. – P. 1–13.

138. Slizewska, K. Growth kinetics of probiotic *Lactobacillus* strains in the alternative, cost-efficient semi-solid fermentation medium / K. Slizewska, A. Chlebicz-Wojcik // *Biology*. – 2020. – Vol. 9, no. 423. – P. 1–13.

139. Stefanovic, E. Advances in the genomics and metabolomics of dairy lactobacilli: a review / E. Stefanovic, G. Fitzgerald, O. McAuliffe // *Food microbiology*. – 2017. – Vol. 61. – P. 33–49.

140. Stobiecka, M. Antioxidant activity of milk and dairy products / M. Stobiecka, J. Krol, A. Brodziak // *Animals*. – 2022. – Vol.12. – P. 245–272.

141. 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, no. 486. – P. 1–18.

142. 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, no. 2. – P. 148–155.

143. Tarannum, N. Antioxidant, antimicrobial and emulsification properties of exopolysaccharides from lactic acid bacteria of bovine milk: insights from biochemical and genomic analysis / N. Tarannum, T. J. Hossain, F. Ali [et al.] // *LWT*. – 2023. – Vol. 186. – P. 1–11.

144. 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. – P. 1–9.

145. Trinh, T. On the texture profile analysis test / T. Trinh, K. Tuoc, S. Glasgow // Chemeca. – 2012. – P. 1–12.

146. 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. – P. 1–13.

147. Vianna, J. F. Binding energies of the drugs capreomycin and streptomycin in complex with tuberculosis bacterial ribosome subunits / J. F. Vianna, K. S. Bezerra, J. I. N. Oliveira [et al.] // Physical chemistry chemical physics: PCCP. – 2019. – Vol. 21, no. 35. – P. 19192–19200.

148. Wadhera, R. K. A review of low-density lipoprotein cholesterol, treatment strategies, and its impact on cardiovascular disease morbidity and mortality / R. K. Wadhera, D. L. Steen, I. Khan [et al.] // Journal of clinical lipidology. – 2016. – Vol. 10, no. 3. – P. 472–489.

149. Wang, B. Probiotic *Paenibacillus polymyxa* 10 and *Lactobacillus plantarum* 16 enhance growth performance of broilers by improving the intestinal health / B. Wang, L. Gong, Y. Zhou [et al.] // Animal nutrition. – 2021. – V. 7ol, no. 3. – P. 829–840.

150. Wang, Y. Metabolism characteristics of lactic acid bacteria and the expanding applications in food industry / Y. Wang, J. Wu, M. Lv [et al.] // Frontiers in bioengineering and biotechnology. – 2021. – Vol. 9. – P. 1–19.

151. Yadav, S. Current advancement in biosensing techniques for determination of Alanine aminotransferase and Aspartate aminotransferase – a mini review / S. Yadav, R. Jangra, B. R. Sharma, M. Sharma // Process biochemistry. – 2022. – Vol. 114. – P. 71–76.

152. Yerlikaya, O. Evaluation of antimicrobial activity and antibiotic susceptibility profiles of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* and *Streptococcus thermo-*

philus strains isolated from commercial yoghurt starter cultures / O. Yerlikaya, D. Saygili, A. Akpinar // Food science and technology (Campinas). – 2021. – Vol. 41, no. 2. – P. 418–425.

153. Yetiman, A. E. Characterization of genomic, physiological, and probiotic features *Lactiplantibacillus plantarum* DY46 strain isolated from traditional lactic acid fermented shalgam beverage / A. E. Yetiman, A. Keskin, B. N. Darendeli [et al.] // Food bioscience. – 2022. – Vol. 46. – P. 1–13.

154. Yuan, X. Recent advances of fermented fruits: a review on strains, fermentation strategies, and functional activities / X. Yuan, T. Wang, L. Sun [et al.] // Food chemistry: X. – 2024. – Vol. 22. – P. 1–16.

155. Zhang, J. Lactic acid bacteria-derived exopolysaccharide: formation, immunomodulatory ability, health effects, and structure-function relationship / J. Zhang Y. Xiao, H. Wang [et al.] // Microbiological research. – 2023. – Vol. 274. – P. 1–12.

156. Zhao, X. Exploring the role of lactic acid bacteria involved in bread fermentation in improving flavor via intelligent sensory technologies and GC×GC-ToF-MS / X. Zhao, Y. Yang, J. Cui [et al.] // LWT. – 2024. – Vol. 199. – P. 1–10.

157. Zielinska, D. Food-origin lactic acid bacteria may exhibit probiotic properties: review / D. Zielinska, D. Kolozyn-Krajewska // BioMed research international. – 2018. – Vol. 2018. – P. 1–15.

УТВЕРЖДАЮ

Индивидуальный предприниматель
Шишканова Альбина 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 разработанные 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

Приложение Б
(справочное)

Технологический регламент по производству пробиотического йогурта
«Пробиойогурт»

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор института пищевых
производств и биотехнологий
КНИТУ



Сироткин А.С.

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ РЕГЛАМЕНТ

По производству пробиотического йогурта «Пробиойогурт»

ТР 10.51.52. – 002 – 02069639 - 2025

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

1. Вводная часть

Настоящий регламент распространяется на производства пробиотического йогурта «Пробиойогурт», вырабатываемого из молока коровьего разной жирности (м.д.ж. 0,5-7 %), на основе йогуртовой закваски *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* с добавлением пробиотического штамма *Lactiplantibacillus plantarum* AG9. Штамм *Lactiplantibacillus plantarum* AG9, был выделен из силоса. Выпускается на молокоперерабатывающих заводах, малых предприятиях соответствующего профиля. Технология изготовления термостатным или резервуарным способом. За основу изготовления взята рецептура йогурта, с добавлением штамма *L. plantarum* AG9.

2. Характеристика изготавливаемой продукции

- 2.1 По органолептическим, физико-химическим и микробиологическим показателям «Пробиойогурт» должен соответствовать требованиям указанным в ТУ10.51.52. – 002 – 02069639 - 2025 (таблица 1,2).
- 2.1 Информационные сведения об энергетической ценности, содержании белков, углеводов и жиров приведены в проекте рецептуры.

3 Описание технологического процесса

- 3.1 Приемка сырья. Молоко, попадая на предприятие, проверяется по физико-химическим, органолептическим свойствам. После проверки качества на соответствие ГОСТ 31449-2013 Молоко коровье сырое. Технические условия, с помощью насосов отбирается через трубопровод, с установленным на нем счетчиком-расходомером и фильтром, и перекачивается в емкость для хранения. При необходимости молоко-сырье охлаждают на пластинчатой охлаждающей установке до 4 °С.
- 3.2 Очистка. Очистку, предварительно подогретого молока, от механических загрязнений проводят на сепараторах-молокоочистителях при температуре равной 40±5°С.
- 3.3 Сепарирование-нормализация. Подогретое до 40±5°С подвергается нормализации. В зависимости от жирности конечного продукта проводят нормализацию двумя способами. Нормализацию можно проводить методом смешения, тогда сначала проводится сепарирование с использованием сепаратора с получением обраты и сливок, и последующая нормализация с помощью смешивания ингредиентов до нужной жирности. В случае использования метода в потоке, сразу получаем молоко нужной жирности на сепараторе-нормализаторе.
- 3.4 Гомогенизация. Нормализованная смесь нагревается до 60-65°С во второй секции регенерации пастеризационно-охлаждающей установки и проводится гомогенизацию при давлении 12,5 ± 2,5 МПа. Гомогенизация обеспечивает однородный состав готового продукта, предупреждает

отстой жира, если продукт жирный. Для обезжиренных продуктов тоже рекомендуется гомогенизация для улучшения консистенции продукта, йогурт получается более плотной консистенции. Во время хранения из сгустка не выделяется сыворотка.

- 3.5 Пастеризация. Гомогенизированное молоко возвращается в пастеризационно-охладительную установку в секцию пастеризации и охлаждения. Пастеризацию проводят при температуре 90 °С без выдержки, в целях предотвращения бактериальной обсемененности.
- 3.6 В отделе закваски готовится производственная закваска на основе обезжиренного молока, полученного при сепарировании и бактериальной закваски. Обрат стерилизуют в автоклаве при температуре 120 °С 20 мин. После чего охлаждают до 35 °С и вносят концентрат бактериальной йогуртовой закваски лиофилизированной (согласно инструкции производителя). Далее смесь перебивают и оставляют сквашиваться на протяжении 12-14 часов в заквасочнике, поддерживая постоянную температуру. Закваску пробиотика *L. plantarum* AG10 готовят отдельно при тех же условиях.
- 3.7 Подготовка закваски. Готовую закваску смешивают в пропорциях 70% йогуртовой и 30 % пробиотика *L. plantarum* AG9, перемешивают 5 минут, это является закваской пробиотической для «Пробиойогурт».
- 3.8 Пастеризованную смесь охлаждают до температуры заквашивания, которая для термостатной простокваши должна быть 40 °С. При включенной мешалке в емкость для заквашивания вносят закваску в количестве 2-5 % массы заквашиваемой смеси.
- 3.9 Для термостатного «Пробиойогурта» после заполнения емкости нормализованной смесью ее перемешивают в течение 15 мин, после чего смесь с внесенной закваской немедленно направляют на фасовку в тару вместимостью 0,25-0,50 л. В процессе фасовки, укупоривания заквашенную смесь периодически перемешивают. Сквашивание молока происходит в термостатных камерах в укупоренном виде. Продолжительность образования сгустка для термостатной простокваши составляет 7-8 ч при температуре 40 °С. Окончание сквашивания определяют по консистенции сгустка и его кислотности, которая 70-80 °Т. Пробиойогурт перевозят в холодильную камеру с температурой воздуха не выше 6 °С. Любые механические воздействия при транспортировании (удары, сотрясения) могут легко нарушить однородность сгустка и вызвать в нем отделение сыворотки.
- 3.10 Для резервуарного «Пробиойогурта» после заполнения емкости нормализованной смесью ее перемешивают в течение 15 мин, после чего смесь с внесенной закваской сквашивают при периодическом перемешивании. Окончание сквашивания определяют по консистенции сгустка и его кислотности, которая 70-80 °Т. Пробиойогурт охлаждают и направляют на расфасовку в тару 0,5-1 л и укупоривают.

3.11 После достижения продукта температуры 8 °С технологический процесс считается окончанным и продукт можно отправлять в камеру хранения или на реализацию.

4. Упаковка и маркировка

Упаковка, маркировка и транспортирование осуществляется согласно ГОСТ и проекта технических условий.

Приложение В
(справочное)

Технические условия по производству пробиотического йогурта
«Пробиойогурт»

«УТВЕРЖДАЮ»

Директор института пищевых
производств и биотехнологий
КНИТУ



Сироткин А.С.

ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ УСЛОВИЯ

По производству пробиотического йогурта «Пробиойогурт»

ТУ 10.51.52. – 002 – 02069639 - 2025

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

1. Область применения

Настоящие технические условия распространяются на Пробиойогурт (далее по тексту продукт), с добавочными пробиотическими свойствами, вырабатываемый из молока коровьего цельного, нормализованного с жирностью от 0,5 до 7 %, обезжиренного, сухого обезжиренного, путем сквашивания с использованием заквасок для йогурта *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* с добавлением пробиотического штамма *Lactiplantibacillus plantarum* AG9. Продукт выпускается в охлажденном виде. Продукт предназначен для непосредственного потребления в пищу.

Пример записи продукта в другой документации «Пробиотический йогурт «Пробиойогурт»». Изготовлен по ТУ 10.51.52. – 002 – 02069639 – 2025.

Настоящие технические условия разработаны в соответствии с ГОСТ 51740.

2. Требования к качеству и безопасности

2.1 Продукт должен соответствовать требованиям настоящих технических условий, Техническим регламентам Таможенного союза РТ ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции», ТР ТС 033/2013 «Безопасность молока и молочной продукции», санитарных норм и правил, по рецептурам и технологическим инструкциям, утвержденным в установленном порядке.

2.2. По органолептическим показателям продукт должен соответствовать требованиям, приведенным в таблице 1.

Таблица 1 - Органолептические показатели Пробиойогурта

Показатели	Характеристика
Внешний вид и консистенция	Однородная, с нарушенным сгустком при резервуарном способе производства, с ненарушенным сгустком — при термостатном способе производства, в меру вязкая, кремообразная. Допускается наличие включений нерастворимых частиц, характерных для внесенных компонентов
Вкус и запах	Чистые, кисломолочные, без посторонних привкусов и запахов, в меру сладкий вкус (при выработке с подслащивающими компонентами), с соответствующим вкусом и ароматом внесенных компонентов
Цвет	Молочно-белый или обусловленный цветом внесенных компонентов, однородный или с вкраплениями нерастворимых частиц

2.3. По физико-химическим показателям продукт должен соответствовать требованиям, приведенным в таблице 2.

Таблица 2 - Физико-химические показатели

Наименование показателя	Норма	
	Массовая доля жира, %	Менее 0,5
Массовая доля белка, %, не менее:	3,2	
Массовая доля сухого обезжиренного молочного остатка (СОМО), %, не менее:	9,5	
Кислотность, °Т	От 75 до 140 включ.	
Фосфатаза или пероксидаза	Отсутствие	
Температура продукта при выпуске с предприятия, °С	4 ±2	

2.4. Содержание токсичных элементов, пестицидов, радионуклидов в продукте не должно превышать допустимые уровни, установленные нормативно правовыми актами Российской Федерации, ТР ТС 021/2011, приведены в таблице 3.

Таблица 3 - Гигиенические требования безопасности

Показатели	Допустимые уровни, мг/кг, не более
Токсичные элементы	
- свинец	0,1
- мышьяк	0,05
- кадмий	0,03
- ртуть	0,005
Пестициды	
- ГХЦГ (изомеры)	0,05
- ДДТ и его метаболиты	0,05
Микотоксины	
- афлатоксин М	0,0005
Диоксины	0,000003 (в пересчете на жир)
Меламин	не допускаются (<1,0 мг/кг)
Антибиотики	не допускаются
Радионуклиды	
- Цезий-137	100
- Стронций-90	25

2.5. Количество молочнокислых микроорганизмов *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* и пробиотического штамма *Lactiplantibacillus plantarum* AG9 в 1 г продукта на конец срока годности - не менее 10^7 КОЕ.

Микробиологические показатели продукта не должны превышать предельно допустимые уровни, установленные нормативно правовыми актами Российской Федерации, ТР ТС 033/2013, приведены в таблице 4.

Таблица 4 - Микробиологические показатели

	Объем (масса) продукта, см (г), в которой не допускаются	Дрожжи (Д), плесени (П),
	которой не допускаются	

КМАФАнМ*, КОЕ**/см (г)	БГКП (коли- формы)	Патогенные, в том числе сальмонеллы	Стафилокок ки S.aureus	КОЕ/см (г), не более
Молочнокислые микроорганизмы не менее 10 ⁷	0,1	25	1	50

3 Требования к сырью

3.1. Сырье и материалы, используемые при производстве продукта, должны быть разрешены к применению органами Роспотребнадзора. Качество сырья должно соответствовать требованиям действующей нормативной и технической документации и правовыми актами Российской Федерации

3.2. Для изготовления продукта применяют следующее сырье:

- молоко коровье сырое цельное, обезжиренное ГОСТ 31449-2013
- молоко сухое обезжиренное по ГОСТ 52791
- вода питьевая по СанПин 2.1.1074
- закваска бактериальная по НД поставщика

4. Маркировка

4.1. Маркировка потребительской тары производится в соответствии с требованиями ГОСТ Р 51074 и ТР ТС 022/2011 «Пищевая продукция в части ее маркировки». Маркировка должна быть четкой, средства для нее не должны влиять на показатели качества продукта и должны быть изготовлены из материалов, допущенных для контакта с пищевыми продуктами.

4.2. На каждую упаковочную единицу продукта в потребительской таре должны быть нанесены типографским способом или несмываемой непахнущей краской, разрешенной для применения органами Роспотребнадзора, следующие обозначения:

- наименование продукта;
- норма массовой доли жира в %;
- наименование и местонахождение изготовителя;
- масса нетто;
- состав продукта;
- пищевая ценность;
- условиях хранения;
- срок годности;
- дата изготовления;
- обозначение настоящих технических условий;
- информация о подтверждении соответствия.

4.3. Маркировка транспортной тары производится по ГОСТ 14492 с нанесением манипуляционных знаков: «Беречь от солнечных лучей», «Ограничение температуры» с указанием минимального и максимального значений температуры.

4.4. На одной из торцевых сторон транспортной тары с продуктом в потребительской таре или наклеиванием этикетки, наносится маркировка, характеризующая продукцию:

- наименование продукта с указанием массовой доли жира в %;
- наименование и местонахождение изготовителя (юридический адрес);
- масса нетто упаковочной единицы, г;
- количество упаковочных единиц;
- условиях хранения;
- срок годности;
- дата изготовления;
- обозначение настоящих технических условий;
- информация о подтверждении соответствия.

5. Упаковка

5.1 Упаковочные материалы, потребительская и транспортная упаковка, используемые для упаковывания продукта, должны соответствовать требованиям ТР ТС 05/2011 «О безопасности упаковки», в соответствии с которыми они изготовлены, и обеспечивать сохранность качества, безопасности и заявленных в маркировке потребительских свойств продукта при их перевозках, хранении и реализации.

Упаковку продукта проводят в потребительскую тару с последующей укладкой в транспортную или без нее.

5.2. В качестве потребительской тары используют:

- стаканы из полимерного материала;
- пакеты из полимерного материала;
- бутылки из полимерного материала.

5.3. При производстве и расфасовки продукта допускаемые отрицательные отклонения содержимого нетто от номинального количества не должны превышать требований ГОСТ 8.579. Предел допускаемых положительных отклонений содержимого нетто упаковочных единиц от номинального количества не ограничивается.

5.4. Продукт, упакованный в потребительскую тару, укладывается в транспортную тару: ящики из гофрированного картона по ГОСТ 9142, ГОСТ 13511.

5.5. Транспортную тару формируют по ГОСТ 23285.

5.6. Укладку транспортной тары осуществляют так, чтобы была видна маркировка не менее одной единицы потребительской тары с каждой боковой стороны. Укладку осуществляют способ, обеспечивающим сохранность нижних рядов потребительской тары без дефектов.

6. Правила приемки

6.1. Правила приемки – по ГОСТ 26809.

6.2. Сдача-приемка продукта производится партиями. Партией считается количество продукта одноименного наименования, однородное по качеству, предназначенное к одновременной приемке, отгрузке или хранению, в упаковке одного вида или без неё.

6.3. Каждая партия должна быть проверена лабораторией предприятия на соответствие требованиям настоящих условий и контролируется по

показателям качеств и безопасности, установленным в разделе 2 с периодичностью, установленной в программе производственного контроля.

6.4. Порядок и периодичность производственного контроля продукта по показателям безопасности устанавливаются в соответствии с СП 1.1.1058 и СП 1.1.2193.

6.5. Каждая партия должна быть проверена на соответствие требованиям настоящих технических условий и оформлена удостоверением о качестве, в котором указывается:

- номер и дата выдачи удостоверения;
- наименование и местонахождения предприятия-изготовителя;
- полное наименование продукта с учетом массовой доли жира;
- дата изготовления;
- номер партии;
- срок годности;
- условия хранения;
- число единиц транспортной тары и масса нетто;
- данные результатов анализов качественных показателей;
- информация о подтверждении соответствия (знак соответствия по ГОСТ 5050460).

Подлинник удостоверения о качестве хранится в экспедиции предприятия-изготовителя.

7. Правила транспортирования и хранения

7.1. Транспортирование продукции проводят в соответствии с СанПиН 2.3.2.1324-03

7.2. Продукцию транспортируют и хранят при температуре от 2°C до 6°C.

7.3. Срок годности продукции с момента окончания технологического процесса, при температуре от 2°C до 6 °C и относительной влажности воздуха не более 75%:

- для произведенных резервуарным способом не более 14 суток.
- для произведенных термостатным способом не более 30 суток.

8. Нормативно техническая документация предназначена для проведения практических, лабораторных и научно-исследовательских работ бакалавров, магистров и аспирантов по направлениям подготовки «Биотехнология», «Продукты питания животного происхождения», а также приготовления кисломолочных продуктов функционального назначения.

Приложение Г
(справочное)

Дегустационный лист

Дата оценки _____ Фамилия, инициалы _____

№ пробы	Органолептические свойства	Балл

Подпись