ISSN 2074-9414 (Print)
ISSN 2313-1748 (Online)

https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-1-17-28
УДК 637.146

Оригинальная статья
http://fptt.ru

Технологические особенности производства синбиотического кисломолочного продукта

Л. М. Захарова*, М. С. Горбунчикова

Кузбасская государственная сельскохозяйственная академия, Кемерово, Россия

Дата поступления в редакцию: 17.11.2020

Дата принятия в печать: 14.12.2020

**e-mail: zaharova_lm@mail.ru*
© Л. М. Захарова, М. С. Горбунчикова, 2021

Аннотация.
Введение. Многие штаммы микроорганизмов, используемые при выработке кисломолочных продуктов, являются антагонистами по отношению к вредной микрофлоре. Комбинация нескольких культур способна усилить бактерицидный эффект. Стимулирующий эффект на рост заквасочной микрофлоры оказывают пребиотики. Целью данной работы стала разработка кисломолочного напитка с использованием многокомпонентной закваски и пребиотика.
Объекты и методы исследования. Чистые штаммы *Bifidobacterium bifidum* штамма № 791 и *Lactobacillus acidophilus* (ВЗ-АП), а также свекловичная клетчатка «Bio-fi Pro WR 400». В работе использовали комплекс общепринятых и стандартных методов исследований.
Результаты и их обсуждение. На первом этапе установили оптимальные соотношения культур *B. bifidum* штамма № 791 и *L. acidophilus* (ВЗ-АП) для двухкомпонентной закваски, а также оптимальный способ ее производства. Определили антибиотическую активность штаммов культур *B. bifidum* штамма № 791, *L. acidophilus* (ВЗ-АП) и двухкомпонентных закваски. Исследовали функционально-технологические свойства пребиотика – свекловичной клетчатки «Bio-fi Pro WR 400» и ее влияние на развитие микроорганизмов закваски. Определили основные параметры производства и предложили технологическую схему производства кисломолочного продукта, сквашенного *B. bifidum* штамма № 791 и *L. acidophilus* (ВЗ-АП) с добавлением свекловичной клетчатки.
Выводы. Разработана технология производства кисломолочного напитка, выработанного с использованием двухкомпонентной закваски и с добавлением пребиотика. По результатам исследований разработана и утверждена техническая документация на кисломолочный продукт.

Ключевые слова. Пробиотик, пребиотик, закваска, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium*, антибиотическая активность, антагонисты

Для цитирования: Захарова, Л. М. Технологические особенности производства синбиотического кисломолочного продукта / Л. М. Захарова, М. С. Горбунчикова // Техника и технология пищевых производств. – 2021. – Т. 51, № 1. – С. 17–28. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-1-17-28.

Original article

Available online at http://fptt.ru/eng

A New Synbiotic Fermented Dairy Product: Technological Production Features

Lyudmila M. Zakharova*, Marina S. Gorbunchikova

Kuzbass State Agricultural Academy, Kemerovo, Russia

Received: November 17, 2020

Accepted: December 14, 2020

**e-mail: zaharova_lm@mail.ru*
© L.M. Zakharova, M.S. Gorbunchikova, 2021

Abstract.
Introduction. Many strains used in dairy industry are antagonists of harmful microflora. Logically, a successful combination of several cultures can enhance the bactericidal effect. The present research objective was to develop a fermented milk drink using a prebiotic to stimulate a multicomponent starter culture.
Study objects and methods. The research featured pure strains of *Bifidobacterium bifidum* strain No. 791 and *Lactobacillus acidophilus* (VZ-AP), as well as Bio-fi Pro WR 400 beet fiber. The study involved standard and conventional research methods.
Results and discussion. The first stage defined the optimal ratios of *B. bifidum* and *L. acidophilus* for a two-component starter culture,

as well as the optimal production method and their antibiotic activity. The second stage featured the functional and technological properties of the prebiotic beet fiber and its effect on the development of microorganisms in the starter. The study resulted in the main production parameters and a technological scheme for the production of fermented dairy product.
Conclusion. The paper introduces a new technology for production of a functional fermented milk product fortified with probiotics and prebiotics, as well as approved technical documentation. The new functional fermented dairy product was based on a starter culture that combined a liquid concentrate of *B. bifidum* strain No. 791 and a starter culture of *L. acidophilus* (VZ-AP). The optimal ratio of microbial cultures was 5:1, respectively. The starter strain proved to have a high antibiotic activity. Prebiotic beet fiber Bio-fi Pro WR 400 could be recommended as a product stabilizer at the optimal amount of 0.7% by weight of standardized milk.

Keywords. Probiotic, prebiotic, sourdough, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium*, antibiotic activity, antagonists

For citation: Zakharova LM, Gorbunchikova MS. A New Synbiotic Fermented Dairy Product: Technological Production Features. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(1):17–28. (In Russ.). https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-1-17-28.

Введение

В последнее время особое внимание уделяется разработке и внедрению функциональных продуктов, содержащих микроорганизмы, – пробиотиков. Они одновременно выполняют роль поставщиков пищевых веществ в сбалансированных количествах и оказывают положительное воздействие на системы и функции организма человека.

Большой вклад в разработку научных основ создания продуктов функционального назначения внесли российские ученые. Исследования, выполненные А. В. Гудковым, В. Ф. Семенихиной, Б. В. Коршуновым, И. Б. Куваевой, А. М. Шалыгиной, И. С. Хамагаевой, Н. Б. Гавриловой, В. И. Ганиной, Н. А. Тихомировой и Т. М. Эрвольдер, способствовали накоплению убедительных экспериментальных и клинических материалов по изучению и разработке методов селекции и культивирования бифидобактерий, созданию специальных заквасок, а также различных комбинаций культур микроорганизмов и стимуляторов роста бифидобактерий [1–11].

Уникальное сочетание полезных для здоровья качеств, которыми обладают лакто- и бифидобактерии, делает усиление роста и активности этих микроорганизмов желательным как для лечения ряда заболеваний и функциональных расстройств организма, так и для профилактики возможных патологий. Основным способом повышения численности полезной микрофлоры в кишечнике человека является пероральное введение жизнеспособных клеток этих микроорганизмов, содержащихся в составе кисломолочных продуктов. Однако этот путь не всегда дает стабильное улучшение кишечной микрофлоры, поскольку экзогенные бифидобактерии не успевают закрепиться в кишечнике в условиях жесткой конкуренции за питательные субстраты между многочисленными родами обитающих там микроорганизмов и быстро вымываются после прекращения приема пробиотиков. Поэтому в последние годы интенсивно развивается другое направление: использование синбиотиков – комплекса про- и пребиотиков.

Преимущество использования пребиотиков в том, что они, не подвергаясь гидролизу в верхних отделах желудочно-кишечного тракта, транзитом проходят в толстый отдел кишечника, где и используются бифидо- и лактобактериями в качестве источника углерода и энергии. В результате образуются короткоцепочные органические кислоты, которые, снижая pH кишечника, улучшают его функционирование.

Целью данного исследования стала разработка синбиотического кисломолочного продукта, выработанного с использованием закваски из пробиотических культур и пребиотика.

Многие штаммы, широко используемые в молочной промышленности, являются антагонистами по отношению к вредной микрофлоре и обладают антибиотическим действием, а их комплексное применение (при правильном подборе культур) может привести к отличному результату, т. к. усилит бактерицидный эффект в несколько раз. Пребиотики оказывают стимулирующий эффект на рост заквасочной микрофлоры.

Основными задачами при создании синбиотического кисломолочного продукта являлись: подбор штаммов микроорганизмов, обладающих повышенной кислотообразующей способностью; выбор условий культивирования, позволяющих интенсифицировать размножение и кислотообразование пробиотической микрофлоры; определение дозы пребиотика, способствующей оптимальному процессу роста и размножению *Bifidobacterium bifidum* и *Lactobacillus acidophilus*, интенсификации процесса сквашивания, а также формированию однородной плотной консистенции в готовом продукте.

Объекты и методы исследования

В качестве объектов исследования применялись пробиотики – чистые штаммы *Bifidobacterium bifidum* штамма № 791 и *Lactobacillus acidophilus* (ВЗ-АП), а также пребиотик – свекловичная клетчатка «Bio-fi Pro WR 400».

При выполнении экспериментов использовали комплекс общепринятых и стандартных методов исследований.

Для установления соотношения культур в двухкомпонентной закваске определяли кислотообразующую способность по ГОСТ Р 54669-2011, концентрации жизнеспособных микроорганизмов и микроскопирование препаратов образцов – по ГОСТ 33924-2016, а также МР 2.3.2.2327-08.

Определение антоганистической активности проводили методом диффузии в агаре.

Установление антибиотической активности проводили методом перпендикулярных штрихов при посеве на плотную среду с выдержкой 72 ч при 37 °С, а также серийных разведений (по Н. А. Красильникову в модификации М. С. Полонской).

Синергетическую способность исследовали посредством метода центрифугирования: 10 см^3 сгустка помещают в пробирку и центрифугируют 5 мин с установленной частотой вращения, затем измеряют количество отделившейся сыворотки в градуированной пробирке (значение выражают миллиметров сыворотки в 10 см^3, т. е. см^3/10 см^3) и по количеству сыворотки судят о влагоотдаче сгустка.

Титруемую кислотность определяли по ГОСТ Р 54669-2011.

На ротационном вискозиметре «Reotest-2» устанавливали эффективную вязкость (скорость сдвига варьировали в диапазоне от 1,0 до 437,4 с$^{-1}$).

Микробиологические анализы проводили согласно ГОСТ 10444.15-94 и ГОСТ 31747-2012.

Органолептическую оценку заквасок проводили посредством открытых и закрытых дегустаций. Органолептическую оценку кисломолочного продукта проводили по ГОСТ Р ИСО 22935-2-2011.

Результаты и их обсуждение

Кишечная микрофлора – важная экосистема, необходимая человеку для образования различных биологически активных соединений. Ее необходимость подтверждена во многих трудах [12–17]. Ведущая роль среди нормальной микрофлоры кишечника принадлежит бифидобактериям. Поэтому в качестве составляющей закваски выбрали именно культуру *Bifidobacterium bifidum* штамм № 791. Вторая составляющая закваски – ацидофильная палочка (*Lactobacillus acidophilus* (ВЗ-АП)) – является одним из сильнейших антагонистов патогенной микрофлоры. При выборе культур учитывалось их взаимное влияние между собой (отрицательного воздействия штаммов *B. bifidum* штамма № 791 и *L. acidophilus* (ВЗ-АП) друг на друга не наблюдалось).

На первом этапе определяли оптимальные соотношения культур между собой, а также способ производства двухкомпонентной закваски.

Микроорганизмы для производства комплексной закваски готовили отдельно друг от друга двумя способами. Первый вариант предполагал получение производственных заквасок *B. bifidum* штамма № 791 и *L. acidophilus* (ВЗ-АП) по классической технологии с дальнейшим их сочетанием в соотношении 2:1, 4:1, 6:1, 8:1 и 10:1 соответственно. Второй вариант заключался в выработке производственной закваски ацидофильной палочки, а также оживления бифидобактерий из жидкого концентрата с дальнейшим применением их в многокомпонентной закваске в соотношении 1:1, 2:1, 3:2, 4:1 и 5:1. Для установления оптимального соотношения штаммов определяли кислотообразующую способность, количество жизнеспособных клеток в двухкомпонентной закваске, а также проводили исследование микроскопических препаратов (табл. 1).

В ходе исследования выяснено, что активный рост ацидофильной палочки приводит к повышенному кислотообразованию и угнетению жизнедеятельности бифидобактерий, что подтверждено микроскопическими исследованиями. Так, например, при соотношении 2:1 в первом варианте получения закваски и 1:1 при получении закваски по второму варианту в мазках преобладают *L. acidophilus* и наблюдаются только немногочисленные клетки бифидобактерий в виде изогнутых полиморфных палочек с бифуркацией на концах. Соотношения 10:1 и 5:1 в первом и втором варианте производства закваски привели к тому, что в них превалирующую часть составляет *B. bifidum*.

Исходя из всего вышесказанного, наиболее оптимальными являются соотношения *B. bifidum* штамма № 791 и *L. acidophilus* (ВЗ-АП) 10:1 в первом варианте и 5:1 во втором.

Закваска определяет вкус и аромат получаемого продукта, поэтому проводили органолептическую оценку экспериментальных образцов. Все образцы соответствуют ожиданиям (имеют чистый кисломолочный запах и вкус). Однако сгустки, образованные разными сочетаниями указанных микроорганизмов, отличаются. При большом количестве ацидофильной палочки (в варианте 1 при соотношениях 2:1 и 4:1 и во втором варианте при сочетании 1:1) сгусток получался неоднородный и тягучий. Во втором варианте получения закваски при соотношении 2:1 произошел отстой сыворотки; при соотношении 3:2 консистенция была уже однородная и вязкая; при соотношениях 4:1 и 5:1 сгустки имели оптимальную консистенцию: они были достаточно плотные и однородные. Кроме того, было выявлено, что дополнительные пересадки в последнем случае не требуются.

Для дальнейших исследований решено использовать двухкомпонентные закваски, состоящие из бифидобактерий и ацидофильных палочек первого

Таблица 1. Влияние соотношения микроорганизмов в комплексной закваске на кислотообразование и их концентрацию

Table 1. Acidification and concentration depending on the ratio of microorganisms in the complex starter culture

Соотношения *Bifidobacterium bifidum* штамма № 791 и *Lactobacillus acidophilus* (ВЗ-АП)	Энергия кислотообра-зования, °Т	Активная кислотность, ед. pH	Концентрация жизнеспособных клеток, КОЕ/см^3	
			Bifidobacterium bifidum штамма № 791	*Lactobacillus acidophilus* (ВЗ-АП)
1 вариант				
2:1	85 ± 2	4,55 ± 0,05	6×10^6	$5{,}0\times10^9$
4:1	74 ± 2	4,67 ± 0,05	1×10^7	$2{,}0\times10^9$
6:1	68 ± 2	4,76 ± 0,05	9×10^7	$4{,}0\times10^8$
8:1	65 ± 2	4,80 ± 0,05	7×10^8	$2{,}0\times10^8$
10:1	62 ± 2	4,90 ± 0,05	5×10^9	$1{,}0\times10^8$
2 вариант				
1:1	87 ± 2	4,45 ± 0,05	9×10^6	$3{,}0\times10^9$
3:2	80 ± 2	4,57 ± 0,05	7×10^7	$1{,}0\times10^9$
2:1	71 ± 2	4,65 ± 0,05	5×10^8	$8{,}5\times10^8$
4:1	63 ± 2	4,85 ± 0,05	4×10^9	$5{,}0\times10^8$
5:1	60 ± 2	4,95 ± 0,05	2×10^{10}	$3{,}0\times10^8$

варианта в соотношении 10:1 и второго варианта в соотношении 5:1 соответственно.

Качество и пищевая ценность кисломолочных продуктов предопределяется интенсивностью и направленностью микробиологических процессов, обусловленных полезными свойствами производственно-ценных штаммов заквасочной микрофлоры.

Одним из наиболее ценных свойств закваски является антибиотическая активность входящих в ее состав культур по отношению к условно патогенным и патогенным микроорганизмам. Известно, что антибактериальные вещества, вырабатываемые заквасочными микроорганизмами, способствуют увеличению до определенных пределов сроков годности готовых продуктов.

На следующем этапе определяли антибиотическую активность штаммов культур *B. bifidum* штамма № 791, *L. acidophilus* (ВЗ-АП) и двухкомпонентных заквасок, состоящих из *B. bifidum* штамма № 791 и *L. acidophilus* (ВЗ-АП) первого варианта в соотношении 10:1 и второго варианта в сочетании 5:1. Исследования проводили с использованием тест-культур *Escherichia coli* I 53

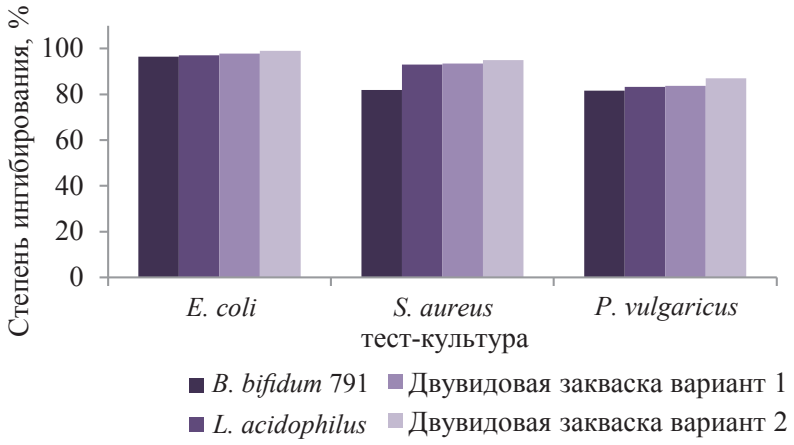

Рисунок 1. Результаты исследования антагонистической активности штаммов по отношению к патогенным и условно патогенным микроорганизмам

Figure 1. Antagonistic activity of strains in relation to pathogenic and opportunistic microorganisms

в трехкратной последовательности на фильтратах, полученных из кисломолочного продукта.

Согласно полученным данным, если сравнивать бифидобактерии и ацидофильную палочку, то более выраженной бактерицидной и бактериостатической активностью обладает штамм *B. bifidum* № 791. Активность проявляется при разведении 1:4, тогда как *L. acidophilus* (ВЗ-АП) – 1:2. Сочетание микроорганизмов многократно усиливает бактериостатический эффект (разведение 1:32). Выраженная задержка роста тест-культуры происходит из-за накопления антибиотических веществ ввиду интенсивного размножения бифидобактерий в закваскаx.

Исследование антибиотической активности к ряду микроорганизмов, таких как гноеродные кокки, шигеллы Зонне и Флекснера, а также энтеропатогенные эшерихии и протей, показало, что зона задержки роста для ацидофильной палочки (*L. acidophilus* (ВЗ-АП)) составляет 11–17 мм; для бифидобактерий (*B. bifidum* штамма № 791) – 12–14 мм. Для закваски первого варианта (1:10) зона задержки роста была от 14 до 18 мм, а закваски второго варианта (соотношение 1:5) – от 14 до 18 мм. Стоит отметить, что, согласно регламентированной документации, задержка роста должна произойти через 72 ч, а в данном случае эффект проявился через 48 ч.

Далее определяли антагонистическую активность в отношении патогенной и условно патогенной микрофлоры, в частности *E. coli*, *Staphilococcus aureus*, *Proteus vulgaricus* (рис. 1).

Степени ингибирования тест-культур штаммами B. *bifidum* № 791 и *L.* a*cidophilus* в отношении к *S. aureus* составили 81,9 и 93,0 %, в отношении к *P. vulgaricus* – 81,6 и 85,3 %, а к *E. coli* – 96,5 и 97,0 % соответственно. Если рассматривать степень ингибирования тест-культур комбинированных заквасок, то более эффективна закваска, приготовленная по второму варианту.

Антагонистическая активность *L. acidophilus* связана с образованием лизоцима, лактоцинов, перекисей и кислот и протеолитической активности в отношении патогенных микроорганизмов. Бифидобактерии имеют несколько иной механизм воздействия за счет образования уксусной и молочной кислот.

Анализируя результаты экспериментальных исследований, подтвердили перспективность составления заквасок из двух видовых культур, в состав которых входят *B. bifidum* штамма № 791 и *L. acidophilus* (ВЗ-АП). Изучение закономерностей проявления антибиотической активности чистыми культурами и их комбинациями, наряду с другими показателями, определяющими характер взаимоотношений этих микроорганизмов, позволило предложить комбинированную закваску, обеспечивающую получение кисломолочного продукта гарантированного качества. При соединении штаммов разных видов бактерий достигнута взаимная сочетаемость и взаимное стимулирование, установлено более стабильное равновесие между штаммами, более быстрое сбраживание лактозы без последующего перекисания, сбалансированного ароматообразования, определенной вязкости, усиление антагонистической активности к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам.

На следующем этапе изучено влияние пребиотика как бифидогенного фактора на рост и развитие бифидобактерий.

Бифидобактерии – строгие анаэробы. В процессе культивирования они приобретают способность существовать в присутствии кислорода, но медленно. Для интенсификации процесса необходимо использовать пребиотики, которые способны стимулировать рост полезной микрофлоры. Наиболее часто используются в качестве пребиотиков олигофруктоза, лактулоза, олигосахариды, пектин, инулин, пищевые волокна и т. д. [18].

В качестве пребиотиков использовали свекловичную клетчатку «Bio-fi Pro WR 400» (Россия), которая имеет высокие показатели водосвязывающей, жиросвязывающей и набухающей способностей [19]. В связи с этим клетчатка может выступать в качестве стабилизатора структуры кисломолочных продуктов.

Данная клетчатка в своем составе имеет пищевые волокна (около 70 %), в составе которых имеется целлюлоза (21 %) и пектин (20 %) [20]. Исходя из этого, можно сделать заключение, что, помимо вышеуказанной функции, «Bio-fi Pro WR 400» будет способствовать росту бифидобактерий.

Исследовали функционально-технологические свойства клетчатки – набухаемость. Исследования набухаемости свекловичной клетчатки показали, что с повышением температуры среды коэффициенты набухания клетчатки увеличиваются. В качестве сред использовались обезжиренное молоко и дистиллированная вода. Следует отметить, что процесс набухания протекает более интенсивно в обезжиренном молоке, чем в дистиллированной воде. Учитывая, что при производстве кисломолочных продуктов требуется пастеризация (в нашем случае при температуре 87 ± 2 °С с выдержкой 10–15 мин), изучили процесс набухаемости при вышеназванной температуре. Коэффициент набухания составил 4,52 ± 0,11, что свидетельствует о термостабильности пищевых волокон. Клетчатка во время набухания становится пастообразной, не имеет посторонних привкусов и запахов.

Таблица 2. Результаты исследования процесса кислотообразования и реологических характеристик

Table 2. Acidification process and rheological characteristics

№	Образец	Титруемая кислотность, °Т	Скорость сдвига γ, $с^{-1}$			
			Напряжение сдвига 0 Па	Напряжение сдвига 20 Па	Напряжение сдвига 40 Па	Напряжение сдвига 60 Па
1	0 % (контрольный)	86,0 ± 1,9	20	61	170	381
2	С добавлением 0,5 % клетчатки	79,0 ± 1,9	15	52	150	379
3	С добавлением 0,7 % клетчатки	86,0 ± 1,9	9	12	44	98
4	С добавлением 0,9 % клетчатки	111,0 ± 1,9	10	15	54	148
5	С добавлением 1,1 % клетчатки	107,0 ± 1,9	9,5	14	53	150
6	С добавлением 1,3 % клетчатки	98,0 ± 1,9	9	13	49	149
7	С добавлением 1,5 % клетчатки	81,0 ± 1,9	7,5	12	45	120

Для разработки технологии кисломолочного напитка необходимо было установить количество вносимой клетчатки. Готовили образцы с разным содержанием клетчатки в количестве от 0,5 до 1,5 % от массы нормализованного молока с интервалом 0,2 %. Предварительно набухшую свекловичную клетчатку «Bio-fi Pro WR 400» вносили в нормализованное молоко. В качестве контроля рассматривали образец без свекловичной клетчатки.

Далее образцы пастеризовали при температуре 87 ± 2 °С с выдержкой 20 с и охлаждали до температуры заквашивания 38 ± 2 °С, вносили закваски *B. bifidum* и *L. acidophilus*. В полученных образцах определяли физико-химические, реологические и органолептические показатели, а также исследовали влияние клетчатки на жизнедеятельность микроорганизмов.

Исследовали процесс кислотообразования и реологические характеристики (напряженность сдвига) синбиотического кисломолочного продукта в зависимости от количества добавленной клетчатки. Данные представлены в таблице 2.

Из данных таблицы видно, что наиболее интенсивно процесс кислотообразования происходил при добавлении 0,9 % клетчатки. Внесение пребиотика в нормализованную смесь свыше 0,9 % приводило к снижению интенсивности кислотообразования, ввиду активного роста микроорганизмов – накопившиеся продукты обмена стали угнетать их жизнедеятельность. С этой позиции наиболее оптимальное значение титруемой кислотности у образца с добавлением 0,7 % свекловичной клетчатки – 86,0 °Т.

Скорость сдвига следует выбирать в том диапазоне, в котором фактически закончилось лавинообразное разрушение структуры продукта.

Далее исследовали вязкость сгустка и объем выделившейся сыворотки (рис. 2, 3).

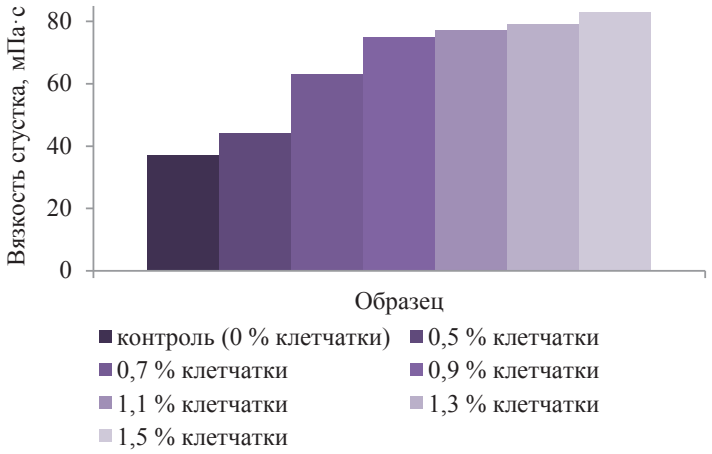

Рисунок 2. Вязкость кисломолочного продукта в зависимости от количества добавляемой клетчатки

Figure 2. Effect of the amount of fiber on the viscosity of fermented dairy product

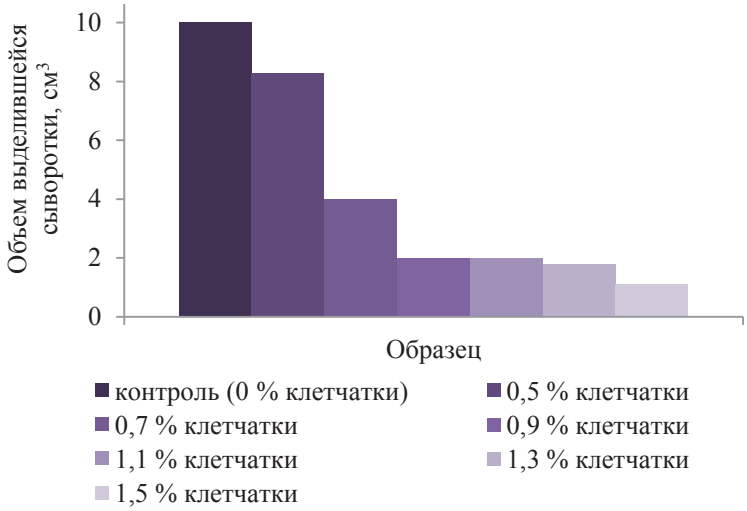

Рисунок 3. Объем выделившейся сыворотки кисломолочного продукта в зависимости от количества добавляемой клетчатки

Figure 3. Effect of the amount of fiber on the whey volume

Таблица 3. Изменение содержания молочнокислых бактерий при внесении различных доз клетчатки в зависимости от продолжительности сквашивания

Table 3. Effect of fermentation time on the content of lactic acid bacteria depending on the amount of fiber

№ п/п	Количество добавляемой клетчатки, %	Общее количество молочнокислых бактерий, КОЕ/см^3			
		Продолжительность процесса сквашивания, ч			
		1	2	3	4
1	0 (контроль)	$8{,}8\times10^5$	$5{,}9\times10^6$	$2{,}3\times10^7$	$15{,}3\times10^7$
2	0,5	$2{,}7\times10^6$	$1{,}8\times10^7$	$2{,}5\times10^7$	$8{,}8\times10^8$
3	0,7	$5{,}4\times10^6$	$7{,}1\times10^7$	$3{,}2\times10^8$	$1{,}7\times10^9$
4	0,9	$5{,}4\times10^6$	$7{,}0\times10^7$	$3{,}1\times10^8$	$1{,}5\times10^9$
5	1,1	$6{,}5\times10^5$	$6{,}3\times10^6$	$3{,}1\times10^7$	$5{,}1\times10^8$
6	1,3	$6{,}8\times10^5$	$5{,}2\times10^6$	$7{,}1\times10^7$	$5{,}2\times10^8$
7	1,5	$6{,}9\times10^5$	$4{,}1\times10^6$	$5{,}1\times10^7$	$5{,}7\times10^8$

Таблица 4. Изменение содержания бифидобактерий при внесении различных доз клетчатки в зависимости от продолжительности сквашивания

Table 4. Effect of fermentation time on the content of bifidobacteria depending on the amount of fiber

№ п/п	Количество добавляемой клетчатки, %	Концентрация *Bifidobacterium bifidum*, КОЕ/см^3			
		Продолжительность сквашивания, ч			
		1	2	3	4
1	0 (контроль)	4×10^3	5×10^4	7×10^6	4×10^7
2	0,5	8×10^3	9×10^5	3×10^7	9×10^7
3	0,7	1×10^5	6×10^7	5×10^8	7×10^8
4	0,9	1×10^6	6×10^7	4×10^8	6×10^8
5	1,1	3×10^6	5×10^7	4×10^8	6×10^8
6	1,3	6×10^6	4×10^7	5×10^8	6×10^8
7	1,5	6×10^6	3×10^7	6×10^8	4×10^8

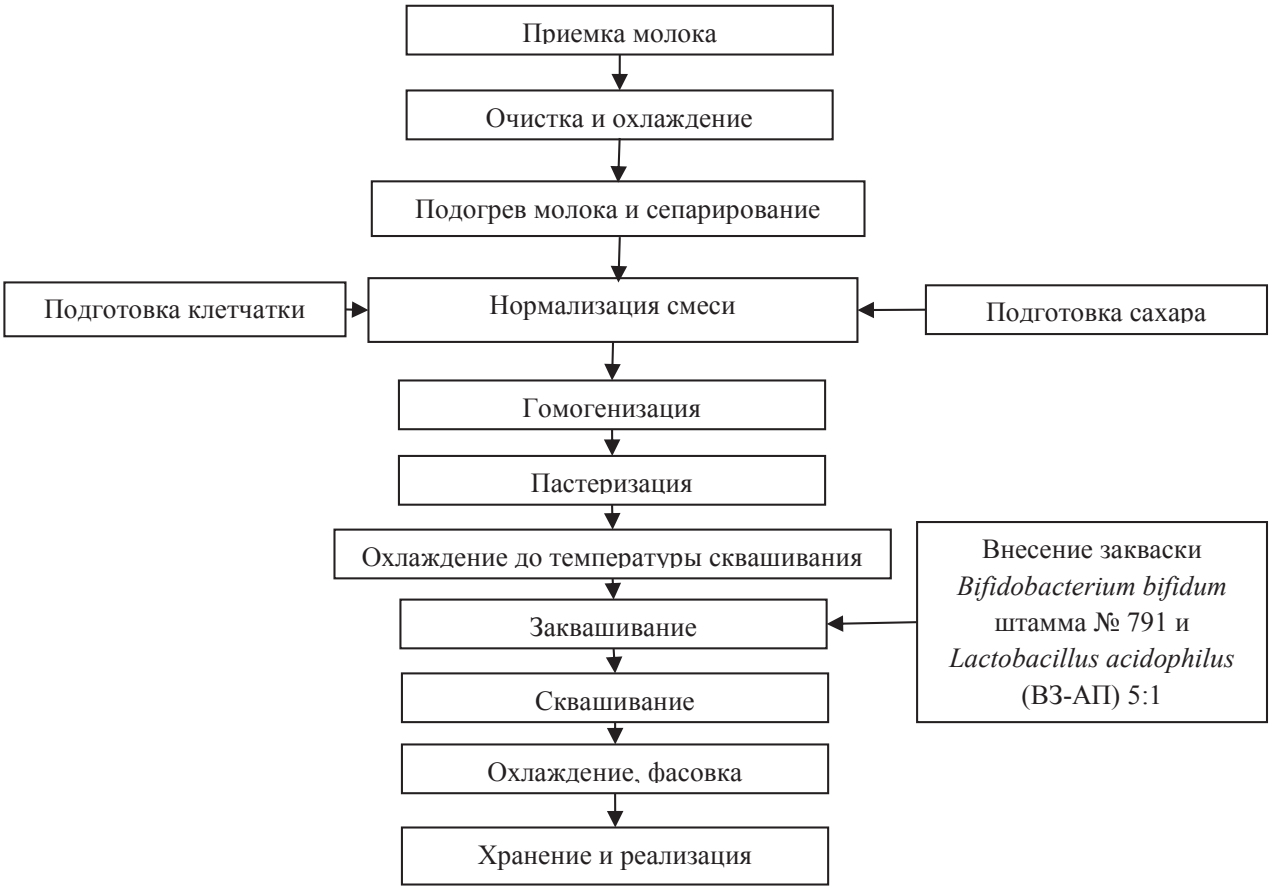

Рисунок 4. Технологическая схема производства синбиотического кисломолочного продукта

Figure 4. Technological scheme for the production of the synbiotic fermented dairy product

Исходя из полученных данных, определили, что внесение клетчатки снижает синерезис практически до нуля, что очень важно при получении кисломолочных напитков. Вязкость продукта возрастает с увеличением дозы добавляемой клетчатки. Происходит стабилизация сгустка, он хорошо удерживает влагу.

Определили, как количество вносимой клетчатки влияет на развитие микроорганизмов в целом (табл. 3).

Из данных таблицы 3 видно, что при добавлении свекловичной клетчатки концентрация микроорганизмов сначала увеличивается, а затем идет уменьшение вследствие накопления продуктов их жизнедеятельности. В результате происходит угнетение бактерий (наиболее оптимальное количество вносимой добавки – образец с добавлением клетчатки в количестве 0,7 % от массы нормализованного молока).

Исследовали каким образом дозировка вносимой клетчатки влияет на развитие бифидобактерий (табл. 4).

Исходя из полученных данных, определили, что концентрация бифидобактерий возрастает с увеличением продолжительности сквашивания. При увеличении дозы добавляемого пребиотика, так же как и в эксперименте определения общего количества молочнокислых микроорганизмов, сначала идет увеличение численности *B. bifidum*, а затем наступает спад. Оптимальное количество пребиотика в данном случае составляет 0,7 % от массы нормализованного молока.

Определили органолептические показатели образцов с различным содержанием клетчатки. Выяснили, что количество добавляемой свекловичной клетчатки свыше 0,7 % приводит к образованию чрезмерно плотного сгустка, плохо выделяющего влагу. Кроме того, вкус и запах продукта становится менее выраженным кисломолочным по сравнению с контролем.

Таким образом, на основании проведенных исследований доказано, что при выработке кисломолочного продукта необходимо использовать закваску, полученную по второму варианту при

соотношении *B. bifidum* штамма № 791 и *L. acidophilus* (ВЗ-АП) 5:1. Данное соотношение обеспечивает высокую антибиотическую активность в отношении патогенных и условно патогенных микроорганизмов, обладает бактерицидными и бактериостатическими свойствами, обеспечивает необходимую титруемую кислотность и высокие органолептические показатели (чистый, выраженный кисломолочный вкус и запах, однородную консистенцию). Установлена доза свекловичной клетчатки «Bio-fi Pro WR 400» в количестве 0,7 % от массы нормализованной смеси. Разработана технологическая схема производства синбиотического кисломолочного продукта с использованием *B. bifidum* и *L. acidophilus* в качестве пробиотиков, а также пребиотика – свекловичной клетчатки «Bio-fi Pro WR 400». Технологический процесс представлен на рисунке 4.

Нормализованную смесь пастеризуют при температуре 87 ± 2 °С в течение 10–15 мин. Затем охлаждают до температуры сквашивания 38 ± 2 °С и заквашивают комбинированной двухкомпонентной закваской, состоящей из *B. bifidum* штамма № 791, полученной из жидкого концентрата бифидобактерий, и производственной закваски *L. acidophilus* (ВЗ-АП) при соотношении 5:1 (количество вносимой закваски 5 % от массы нормализованной смеси), при перемешивании в течение 15 мин.

Сквашивание проводят при температуре 38 ± 2 °С в течение 5–6 ч до получения кисломолочного сгустка кислотностью 75 ± 2 °Т и pH 4,76 ± 0,02. После сквашивания сгусток охлаждают при периодическом перемешивании до температуры 22 ± 2 °С.

В целях расширения ассортимента кисломолочной продукции предложено при выработке разработанного кисломолочного напитка использовать фруктовые наполнители, такие как клубника, зеленое яблоко, вишня, апельсин (производитель «Zuegg») или клубника, черника, банан и другие (производитель «АГРАНА Фрут»), в состав которых входят натуральные фрукты и ягоды. Введение наполнителей позволяет придать готовому продукту привлекательный вид и повысить биологическую ценность.

Перед розливом продукт перемешивают в течение 3–5 мин. Доохлаждение до температуры 4 ± 2 °С проводят в камере готовой продукции.

Выводы

Выполненные исследования позволили подтвердить, что комбинированная закваска при использовании жидкого концентрата *Bifidobacterium bifidum* штамм № 791 и производственной закваски *Lactobacillus acidophilus* (ВЗ-АП) в соотношении 5:1 по органолептическим, физико-химическим и микробиологическим показателям соответствует гигиеническим требованиям к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов. Она обладает высокой степенью антагонистической активности и может быть рекомендована для производства синбиотического кисломолочного напитка. В качестве пребиотика предложено использование свекловичной клетчатки «Bio-fi Pro WR 400» в количестве 0,7 % от массы нормализованного молока, способствующей оптимальному процессу роста и размножению *B. bifidum* и *L. acidophilus*, ускорению процесса сквашивания, а также получению кисломолочного напитка с однородной плотной консистенцией без отстоя сыворотки.

Разработана технология производства синбиотического кисломолочного продукта. По результатам исследований разработана и утверждена техническая документация (технические условия и технологическая инструкция) на кисломолочный продукт.

Критерии авторства

Руководитель проекта Л. М. Захарова. Доли авторства составляют: Л. М. Захарова – 50 %, М. С. Горбунчикова – 50 %.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии потенциального конфликта интересов, требующего раскрытия в данной статье.

Contribution

L.M. Zakharova – 50%, M.S. Gorbunchikova – 50%. L.M. Zakharova supervised the project.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this article.

Список литературы

1. Пат. 2108383C1 Российская Федерация, МПК C12N 1/20, A23C 9/12, C12R 1/01. Штамм бактерий Bifidobacterium bifidum, используемый в составе бактериальных заквасок при производстве ферментированных молочных продуктов и кормовых средств / Эрвольдер Т. М., Гудков А. В., Перфильев Г. Д. [и др.]; заявитель и патентообладатель Всероссийский научно-исследовательский институт маслодельной и сыродельной промышленности. – № 93039309/13; заявл. 12.08.1993; опубл. 10.04.1998. – 6 с.

2. Quasicapsulation of probiotics / I. Polyanskaya, L. Stoyanova, V. Semenikhina [et al.] // Journal of Hygienic Engineering and Design. – 2018. – Vol. 24. – P. 31–38.

3. Khankhalaeva, I. A. Effects of propionic-acid bacteria and bifidobacteria on the quality of raw smoked sausages / I. A. Khankhalaeva, I. S. Khamagaeva, A. P. Nikiforova // Foods and Raw Materials. – 2017. – Vol. 5, № 1. – P. 20–29. https://doi.org/10.21179/2308-4057-2017-1-20-29.

4. Хамагаева, И. С. Создание иммобилизованной формы сухого синбиотика / И. С. Хамагаева, А. Г. Хантургаев, О. Г. Богданова // Вестник ВСГУТУ. – 2019. – Т. 74, № 3. – С. 11–18.

5. Advanced biotechnology of specialized fermented milk products / N. Gavrilova, N. Chernopolskaya, M. Rebezov [et al.] // International Journal of Recent Technology and Engineering. – 2019. – Vol. 8, № 2. – P. 2718–2722. https://doi.org/10.35940/ijrte.B3158.078219.

6. Biotechnology of starting culture capable of cholesterol metabolism / V. I. Ganina, A. T. Vasyukova, I. I. Ionova [et al.] // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. – 2020. – Vol. 548, № 8. https://doi.org/10.1088/1755-1315/548/8/082055.

7. Growth stimulating effect of bovine milk lactoferrin on dermal cells and probiotic bacteria / E. I. Titov, N. A. Tikhomirova, I. I. Ionova [et al.] // Emirates Journal of Food and Agriculture. – 2016. – Vol. 28, № 8. – P. 540–546. https://doi.org/10.9755/ejfa.2015-06-447.

8. Biotechnology application in production of specialized dairy products using probiotic cultures immobilization / N. Gavrilova, N. Chernopolskaya, E. Molyboga [et al.] // International Journal of Innovative Technology and Exploring Engineering. – 2019. – Vol. 8, № 6. – P. 642–648.

9. Producing of bacterial concentrates with high cholesterol lowering activity / I. S. Khamagaeva, A. H. Tsybikova, N. A. Zambalova [et al.] // Foods and Raw Materials. – 2016. – Vol. 4, № 1. – P. 27–35. https://doi.org/10.21179/2308-4057-2016-1-27-35.

10. Свойства единой синбиотической системы бифидобактерий с пребиотиком Fibregum / Э. С. Токаев, В. И. Ганина, А. С. Багдасарян [и др.] // Биотехнология. – 2006. – № 6. – С. 51–62.

11. Влияние пробиотического кисломолочного продукта на микробиоту толстой кишки, гематологические показатели и клеточный иммунитет крыс / Г. Г. Кузнецова, Э. Н. Трушина, О. К. Мустафина [и др.] // Вопросы питания. – 2012. – Vol. 81, № 3. – P. 18–23.

12. Effect of probiotics on metabolic outcomes in pregnant women with gestational diabetes: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials / B. L. Taylor, G. E. Woodfall, K. E. Sheedy [et al.] // Nutrients. – 2017. – Vol. 9, № 5. https://doi.org/10.3390/nu9050461.

13. Молочнокислые микроорганизмы для профилактики инфекций *E. coli* / И. С. Полянская, Г. Н. Забегалова, О. И. Топал [и др.] // Молочная промышленность. – 2016. – № 12. – С. 52–54.

14. Комарова, О. Н. Взаимосвязь стресса, иммунитета и кишечной микробиоты / О. Н. Комарова, А. И. Хавкин // Педиатрическая фармакология. – 2020. – Т. 17, № 1. – С. 18–24. https://doi.org/10.15690/pf.v17i1.2078.

15. Оганезова, И. А. Изменения кишечной микробиоты как причина и потенциальная терапевтическая мишень при синдроме констипации / И. А. Оганезова, О. И. Медведева // Русский Медицинский Журнал. Медицинское обозрение. – 2020. – Т. 4, № 5. – С. 302–307. https://doi.org/10.32364/2587-6821-2020-4-5-302-307.

16. Чащина, В. В. Молочные продукты в питании человека / В. В. Чащина, П. И. Колосова // Проблемы и перспективы развития России: Молодежный взгляд в будущее : сборник научных статей 3-й Всероссийской научной конференции / Юго-Западный государственный университет. – Курск, 2020. – С. 285–288.

17. Тарас, В. А. Изучение процесса активизации закваски концентрированной сухой бифидобактерий перед внесением в молочное сырье / В. А. Тарас, Н. Н. Фурик // Современные подходы к получению и переработке сельскохозяйственной продукции – гарантия продовольственной независимости России: материалы X Международной научно-практической конференции молодых ученых и специалистов / ВНИИМП им. В. М. Горбатова. – Москва, 2016. – С. 365–369.

18. Dietary fiber sources and human benefits: the case study of cereal and pseudocereals / M. Ciudad-Mulero, V. Fern*á*ndez-Ruiz, M. C. Matallana-Gonzalez [et al.] // Advances in Food and Nutrition Research. – 2019. – Vol. 90. – P. 83–134. https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.02.002.

19. Захарова, Л. М. Функционально-технологические свойства клетчатки / Л. М. Захарова, Л. В. Абушахманова // Вестник ВСГУТУ. – 2018. – Т. 70, № 3. – С. 60–66.

20. Абушахманова, Л. В. О возможности использования препаратов клетчатки в качестве функционального ингредиента / Л. В. Абушахманова, Л. М. Захарова // Современная наука и инновации. – 2018. – Т. 23, № 3. – С. 153–157.

References

1. Ehrvol'der TM, Gudkov AV, Perfil'ev GD, Ushakova OL. Strain of bacterium Bifidobacterium bifidum used in composition of bacterial ferments in production of fermented dairy products and food agents. Russia patent RU 2108383C1. 1998.

2. Polyanskaya I, Stoyanova L, Semenikhina V, Valentina P. Quasicapsulation of probiotics. Journal of Hygienic Engineering and Design. 2018;24:31–38.

3. Khankhalaeva IA, Khamagaeva IS, Nikiforova AP. Effects of propionic-acid bacteria and bifidobacteria on the quality of raw smoked sausages. Foods and Raw Materials. 2017;5(1):20–29. https://doi.org/10.21179/2308-4057-2017-1-20-29.

4. Khamagaeva IS, Khanturgaev AG, Bogdanova OG. Creating an immobilized form of dry synbiotic. ESSUTM Bulletin. 2019;74(3):11–18. (In Russ.).

5. Gavrilova N, Chernopolskaya N, Rebezov M, Moisejkina D, Dolmatova I, Mironova I, et al. Advanced biotechnology of specialized fermented milk products. International Journal of Recent Technology and Engineering. 2019;8(2):2718–2722. https://doi.org/10.35940/ijrte.B3158.078219.

6. Ganina VI, Vasyukova AT, Ionova II, Mashintseva NG, Golovin MA. Biotechnology of starting culture capable of cholesterol metabolism. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. 2020;548(8). https://doi.org/10.1088/1755-1315/548/8/082055.

7. Titov EI, Tikhomirova NA, Ionova II, Gorlov IF, Slozhenkina MI, Mosolova NI, et al. Growth stimulating effect of bovine milk lactoferrin on dermal cells and probiotic bacteria. Emirates Journal of Food and Agriculture. 2016;28(8):540–546. https://doi.org/10.9755/ejfa.2015-06-447.

8. Gavrilova N, Chernopolskaya N, Molyboga E, Shipkova K, Dolmatova I, Demidova V, et al. Biotechnology application in production of specialized dairy products using probiotic cultures immobilization. International Journal of Innovative Technology and Exploring Engineering. 2019;8(6):642–648.

9. Khamagaeva IS, Tsybikova AH, Zambalova NA, Choi S-H. Producing of bacterial concentrates with high cholesterol lowering activity. Foods and Raw Materials. 2016;4(1):27–35. https://doi.org/10.21179/2308-4057-2016-1-27-35.

10. Tokaev ES, Ganina VI, Bagdasaryan AS, Grigorova YuG, Perminov SI, Vustina TF, et al. Characteristics of a combined synbiotic system of bifidobacteria and Fibregum prebiotic. Biotechnology. 2006;6:51–62. (In Russ.).

11. Kuznetsova GG, Trushina EN, Mustafina OK, Cherkashin AV, Batishcheva SYu, Semenikhina VF, et al. The influence of probiotic fermented milk product on colon microbiota, hematological parameters and cell immunity in rats. Problems of Nutrition. 2012;81(3):18–23. (In Russ.).

12. Taylor BL, Woodfall GE, Sheedy KE, O'Riley ML, Rainbow KA, Bramwell EL, et al. Effect of probiotics on metabolic outcomes in pregnant women with gestational diabetes: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. Nutrients. 2017;9(5). https://doi.org/10.3390/nu9050461.

13. Polyanskaya IS, Zabegalova GN, Topal OI, Semenihina VF. Lactic acid microorganisms for prophylaxis of the *E. coli* infections. Dairy Industry. 2016;(12):52–54. (In Russ.).

14. Komarova ON, Khavkin AI. Correlation between stress, immunity and intestinal microbiota. Pediatric pharmacology. 2020;17(1):18–24. (In Russ.). https://doi.org/10.15690/pf.v17i1.2078.

15. Oganezova IA, Medvedeva OI. Changes in intestinal microbiota as a cause and potential therapeutic target in constipation syndrome. Russian Medical Inquiry. 2020;4(5):302–307. (In Russ.). https://doi.org/10.32364/2587-6821-2020-4-5-302-307.

16. Chashchina VV, Kolosova PI. Molochnye produkty v pitanii cheloveka [Dairy products in human diet]. Problemy i perspektivy razvitiya Rossii: Molodezhnyy vzglyad v budushchee: sbornik nauchnykh statey 3-y Vserossiyskoy nauchnoy konferentsii [Problems and prospects of development of Russia: Future as seen by the youth: Proceedings of the III All-Russian Scientific Conference]; 2020; Kursk. Kursk: Southwest State University; 2020. p. 285–288. (In Russ.).

17. Taras VA, Furik NN. Izuchenie protsessa aktivizatsii zakvaski kontsentrirovannoy sukhoy bifidobakteriy pered vneseniem v molochnoe syr′e [A study of the activation process of concentrated dry bifidobacteria starter before introducing it into dairy raw materials]. Sovremennye podkhody k polucheniyu i pererabotke sel′skokhozyaystvennoy produktsii – garantiya prodovol′stvennoy nezavisimosti Rossii: materialy X Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii molodykh uchenykh i spetsialistov [Modern approaches to the production and processing of agricultural products as a guarantee of food independence of Russia: materials of the X International Scientific and Practical Conference of Young Scientists and Specialists]; 2016; Moscow. Moscow: V.M. Gorbatov All-Russian Scientific Research Institute of the Meat Industry; 2016. p. 365–369. (In Russ.).

18. Ciudad-Mulero M, Fernández-Ruiz V, Matallana-Gonzalez MC, Morales P. Dietary fiber sources and human benefits: the case study of cereal and pseudocereals. Advances in Food and Nutrition Research. 2019;90:83–134. https://doi.org/10.1016/bs.afnr.2019.02.002.

19. Zakharova LM, Abushakhmanova LV. Functional and technological properties of dietary fiber. ESSUTM Bulletin. 2018;70(3):60–66. (In Russ.).

20. Abushahmanova LV, Zakharova LM. The about the possibility of using fiber preparations as a functional ingredient. Modern Science and Innovation. 2018;23(3):153–157. (In Russ.).