

АО «Алматинский технологический университет»

УДК 637.146.3 (043)

На правах рукописи

НАДИРОВА САНАМ АБДУЛЛАЕВНА

**Биотехнологические подходы к созданию кисломолочных
продуктов на основе козьего молока**

6D070100-Биотехнология

Диссертация на соискание степени
доктора философии (PhD)

Научный консультант:
доктор биологических
наук, профессор,
Синявский Ю.А.
Казахстан, г. Алматы

Зарубежный научный
консультант: доктор
технических наук, профессор
Иванов Г.И.
Болгария, г. Пловдив

Республика Казахстан
Алматы, 2024

СОДЕРЖАНИЕ

	НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ	4
	ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ	6
	ОПРЕДЕЛЕНИЯ	7
	ВВЕДЕНИЕ	8
1	ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1	Анализ современных тенденций в области производства комбинированных продуктов питания на молочной основе	13
1.2	Современное состояние проблемы разработки кисломолочных продуктов из козьего молока	15
1.3	Преимущества применения пробиотических микроорганизмов в пищевой промышленности	19
1.4	Выделение новых штаммов молочнокислых бактерий, перспективных для пищевой промышленности	24
1.5	Полифенольные фитохимические вещества и антиоксидантный потенциал боярышника, шиповника, рябины и винограда	26
2	МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	31
2.1	Постановка эксперимента и схема проведения исследований	31
2.2	Объекты исследований	33
2.3	Методы исследований	34
2.3.1	Стандартные методы исследований	34
2.3.2	Общепринятые методы исследований	37
2.3.3	Методы статистической обработки экспериментальных данных	44
3	РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ	45
3.1	Исследование козьего молока	45
3.2	Выделение и идентификация бактерий	49
3.2.1	Морфологические и биохимические свойства выделенных культур	49
3.2.2	Молекулярно-генетическая идентификация выделенных бактерий	53
3.3	Обоснование подбора заквасочной культуры	58
3.4	Биотехнологические особенности подбора закваски для кисломолочных продуктов	63
3.4.1	Исследование подбора бактериальной композиции	63
3.4.2	Влияние пробиотической закваски на процесс сквашивания кисломолочного продукта	67
3.4.3	Исследование антагонистической активности заквасок	71
3.5	Биотехнологические подходы к созданию кисломолочных продуктов	74
3.5.1	Подбор дозы внесения растительных наполнителей	74
3.5.2	Разработка рецептуры и технологии кисломолочных продуктов	80
3.5.3	Изучение физико-химических показателей	83
3.6	Исследование аминокислотного состава кисломолочных продуктов	84

3.6.1	Продуцирование свободных аминокислот молочнокислыми бактериями	84
3.6.2	Аминокислотный состав кисломолочных продуктов с растительными наполнителями	89
3.7	Обоснование срока годности кисломолочных продуктов из козьего молока	92
3.7.1	Определение срока годности кисломолочных продуктов	92
3.7.2	Исследование микробиологических показателей	94
3.7.3	Влияние антиоксидантной активности на сроки хранения кисломолочных продуктов	96
3.8	Оценка пищевой безопасности кисломолочных продуктов	99
3.9	Влияние кисломолочных продуктов на снижение окислительного стресса крыс при затравке хлоридом кадмия	101
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	111
	СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	113
	Приложение А – Стандар организации	129
	Приложение Б – Свидетельство о депонировании	139
	Приложение В – Протокол испытаний штамма	141
	Приложение Г – Акт лабораторных испытаний	143
	Приложение Д – Акты внедрения в производство	144
	Приложение Е – Патенты на полезную модель	152
	Приложение Ж – Электрофореграммы аминокислотного состава кисломолочных продуктов	155

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В настоящей диссертации применяют следующие нормативные ссылки:

ГОСТ 7.0.5-2008. «Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Библиографическая ссылка. Общие требования и правила составления».

ГОСТ Р 7.0.12-2011 Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Библиографическая запись. Сокращение слов и словосочетаний на русском языке. Общие требования и правила.

ГОСТ 7.32-2017 «Система стандартов по информации, библиотечному и издательскому делу. Отчет о научно-исследовательской работе. Структура и правила оформления».

Технический регламент Таможенного союза «О безопасности молока и молочных продукции» (ТР ТС 033/2013).

СТ РК ИСО 707-2011 Молоко и молочные продукты. Руководство по отбору проб.

ГОСТ 3622-68 Межгосударственный стандарт. Молоко и молочные продукты. Отбор проб и подготовка их к испытанию.

СТ РК 1733-2015 Молоко и молочные продукты. Общие технические условия.

ГОСТ 28283— 2015. Межгосударственный стандарт. Молоко коровье. Метод органолептической оценки запаха и вкуса.

ГОСТ 26809.1-2014 Межгосударственный стандарт. Молоко и молочная продукция. Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу.

ГОСТ 3623-73 Молоко и молочные продукты. Методы определения пастеризации.

ГОСТ 23327-98 Молоко и молочные продукты. Метод измерения массовой доли общего азота по Кьельдалю и определение массовой доли белка.

ГОСТ 5867-90 Молоко и молочные продукты. Методы определения жира.

ГОСТ 8218-89 Межгосударственный стандарт. Молоко. Метод определения чистоты.

ГОСТ 9225-84 Межгосударственный стандарт. Молоко и молочные продукты. Методы микробиологического анализа.

ГОСТ 34372-2017 Закваски бактериальные для производства молочной продукции. Общие технические условия.

ГОСТ 10444.11-2013 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета количества дрожжей и плесневых грибов.

ГОСТ 33566 – 2015 Межгосударственный стандарт Молоко и молочная продукция. Определение дрожжей и плесневых грибов.

ГОСТ 33951-2016 Межгосударственный стандарт. Молоко и молочная продукция. Методы определения молочнокислых микроорганизмов.

ГОСТ ISO11133-2-2011 Межгосударственный стандарт. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководящие указания по приготовлению и производству культуральных сред. Часть 2. Практические

руководящие указания по эксплуатационным испытаниям культуральных сред.

ГОСТ 26670-91 Межгосударственный стандарт. Продукты пищевые. Методы культивирования микроорганизмов.

ГОСТ 3624-92 Межгосударственный стандарт. Молоко и молочные продукты. Титриметрические методы определения кислотности.

ГОСТ 3626-73 Межгосударственный стандарт. Молоко и молочные продукты. Методы определения влаги и сухого вещества.

ГОСТ 32940-2014 Межгосударственный стандарт. Молоко козье сырое. Технические условия.

ГОСТ 31981-2013 Йогурты Общие технические условия.

ГОСТ 32923-2014 Межгосударственный стандарт. Продукты кисломолочные, обогащенные пробиотическими микроорганизмами. Технические условия.

ГОСТ 32901-2014 Молоко и молочные продукты. Методы микробиологического анализа.

ГОСТ EN 12822-2014 Продукты пищевые. Определение содержания витамина Е (α -, β -, γ -, δ -токоферолов) методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

ГОСТ 34151-2017 Межгосударственный стандарт. Продукты пищевые. Определение витамина С с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии.

М-04-38-2009. Корма, комбикорма и сырье для их производства. Методика измерений массовой доли аминокислот методом капиллярного электрофореза с использованием системы капиллярного электрофореза «Капель».

ГОСТ 33526-2015 Молоко и продукты переработки молока. Методика определения содержания антибиотиков методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

ГОСТ 31659-2012 Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Salmonella*.

ГОСТ 30347-97 Молоко и молочные продукты. Методы определения *Staphylococcus aureus*.

ГОСТ 26927-86 Сырье и продукты пищевые. Методы определения ртути.

ГОСТ 26929-94 Сырье и продукты пищевые. Подготовка проб. Минерализация для определения содержания токсичных элементов.

ГОСТ 26932-86 Сырье и продукты пищевые. Методы определения свинца.

ГОСТ 26933-86 Сырье и продукты пищевые. Методы определения кадмия.

ГОСТ 30178-96 Сырье и продукты пищевые. Атомно-абсорбционный метод определения токсичных элементов.

ГОСТ Р 51766-2001 Сырье и продукты пищевые. Атомно-абсорбционный метод определения мышьяка.

ГОСТ 30711-2001 Продукты пищевые Методы выявления и определения содержания афлатоксинов В₁ и М₁.

ГОСТ 23452-2015 Молоко и молочные продукты. Методы определения остаточных количеств хлорорганических пестицидов.

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

В настоящей диссертации применяют следующие обозначения и сокращения:

МКБ	– молочнокислые бактерии
КОЕ	– колониеобразующая единица
ВОЗ	– Всемирная организация здравоохранения
СВЧ	– сверхвысокочастотное излучение
США	– Соединенные Штаты Америки
ПНЖК	– полиненасыщенные жирные кислоты
АОА	– антиоксидантная активность
pH	– водородный показатель
RAPD	– случайно амплифицируемая полиморфная ДНК
ВЗК	– воспалительные заболевания кишечника
ОХС	– общий холестерин
ТГ	– триглицериды
МДА	– малоновый альдегид
АФК	– активные формы кислорода
ТБК	– тиобарбитуровая кислота
ПОЛ	– перекисное окисление липидов
ДК	– диеновые конъюгаты
СОД	– супероксиддисмутаза
ДДТ	– дихлордифенил трихлорметилметан
IGA	– международная ассоциация козоводства
ЭВК	– экстракт виноградной кожуры
КП	– кисломолочный продукт
КЭ	– капиллярный электрофорез
ВЖХ	– высокоэффективная жидкостная хроматография
СПБ	– степень переваривания белка
ТСХ	– тонкослойная хроматография
КРАС	– коэффициенты различий аминокислотного скора
БЦ	– биологическая ценность
ЖМ	– женское молоко
ФОС	– фосфолигосахариды
КСБ	– концентрат сывороточного белка
АК	– аминокислота
НД	– нормативная документация
НПО	– научно-производственное объединение
СОМО	– сухой обезжиренный молочный остаток
СВ	– сухие вещества

ОПРЕДЕЛЕНИЯ

В настоящей диссертации применяют следующие термины и определения:

Закваска – специализированный пищевой бактериальный состав, содержащий молочнокислые бактерии для сквашивания молока.

Термостат – металлический прибор для поддержания равномерной постоянной температуры в ограниченном объеме, используется для создания оптимальной температуры при выращивании культур микроорганизмов.

Пробиотики – это микроорганизмы, которые приносят пользу здоровью за счет улучшения и восстановления микробиоты кишечника: подавляют рост патогенной микрофлоры, обогащают организм витаминами группы В, являются средством профилактики от заболеваний желудочно-кишечного тракта.

Пребиотики — это специализированные растительные волокна, которые улучшают всасывание кишечником полезных веществ, оказывают регенерирующий эффект, содержатся во многих фруктах и овощах, особенно в тех, которые содержат сложные углеводы, такие как клетчатка и резистентный крахмал. Эти углеводы не усваиваются организмом, поэтому они проходят через пищеварительную систему, чтобы стимулировать рост и жизнедеятельность микрофлоры толстого кишечника.

Симбиотики – это пищевые соединения, состоящие из живых микроорганизмов и пищевых волокон, микроорганизмы, благотворно воздействующих на организм: подавляют болезнетворную микрофлору, нормализуют баланс микрофлоры кишечника, защищают организм от воздействия токсических веществ.

Лигнаны — это природные компоненты, синтезированные путем бимолекулярной полимеризации фенилпропаноидов, которые обладают антиоксидантной и противовоспалительной активностью и могут быть новыми, недорогой источник антиоксидантов и ингибиторов воспаления.

Антикоагулянты – это химические вещества и лекарственные средства, препятствующие тромбообразованию за счет воздействия на плазменные факторы свертывания крови.

Фактор свертывания крови X – это белок γ -глобулин, профермент (протеаза), синтезируемый печенью в присутствии витамина К, переводит протромбин в тромбин.

Нутрицевтики – это продукты или их компоненты, выделенные из сырья растительного происхождения, которые помимо питательной ценности имеют также физиологическую пользу; могут применяться для улучшения здоровья, замедления процессов старения, предотвращения хронических заболеваний, увеличения продолжительности жизни или поддержки организма.

ВВЕДЕНИЕ

Общая характеристика работы. Работа направлена на исследование антагонистической активности и технологических характеристик новой бактериальной композиции, а также физико-химических показателей и биологической ценности полученных кисломолочных продуктов.

Актуальность темы исследования. В последние годы в Казахстане, как и во всем мире, наметилась тенденция к созданию пищевых продуктов нового поколения, основными характеристиками которых являются сбалансированный состав, высокое содержание белка, витаминов, макро- и микроэлементов, а также пробиотические свойства [1, р. 9682; 2].

Одними из широко потребляемых в мире продуктов питания являются кисломолочные продукты, биологические свойства которых направлены на ингибирование патогенных микроорганизмов, стимуляцию роста полезной микрофлоры кишечника и повышение иммуностимулирующих свойств [3, р. 106]. Следует отметить, что насколько бы ни был разнообразен ассортимент кисломолочных продуктов, в том числе и йогуртов, наполнителями, в основном, выступают ягоды, фрукты, злаки, а в качестве сырья в 95 % случаев используется коровье молоко [4, с. 105].

В настоящее время в Европе и во всем мире набирают популярность продукты из козьего молока, потребление которых помогает улучшить процессы пищеварения и усвоения полезных веществ. Потребление козьего молока значительно улучшает массу тела и минерализацию скелета, а также повышает уровень витаминов, минералов и гемоглобина в сыворотке крови [5, с. 82, 6, С.144].

Для разработки новых кисломолочных продуктов одним из перспективных направлений является поиск уникального заквасочного материала и разработка технологий синбиотических продуктов на молочной основе, включающих оптимальную совместимость консорциумов пробиотических микроорганизмов. Использование молочнокислых бактерий в составе пробиотических препаратов в продуктах функционального назначения вытесняет существующий рынок химико-лекарственных препаратов [3, Р. 104]. Регулярное употребление кисломолочных продуктов позволяет не только сохранить хорошее самочувствие, но и замедлить процессы старения. Популярность йогурта растет во всем мире, однако живые бактерии в нем сохраняются не более одной-двух недель [7, с. 143].

Модификация молочных продуктов путем введения растительных компонентов позволяет придать традиционным продуктам новые технологические свойства, экономить молочное сырье и регулировать химический состав в соответствии с современными требованиями науки о питании. Перспективным сырьем для создания кисломолочных продуктов являются ягоды. Боярышник, шиповник, рябина относятся к наиболее популярным ягодам, включающим широкий спектр биологически активных ингредиентов, таких как эфирные масла, фенольные соединения, протеолитические ферменты, витамины и микроэлементы [8, р. 89; 9, pp. 2603,

2606; 10, р. 8].

Учитывая эти качества, изучение совместного использования ягодных сиропов, сухого экстракта виноградной кожуры и закваски на пробиотической культуре при производстве новых кисломолочных продуктов представляет практический интерес.

Использование современных биотехнологических приемов в сочетании с традиционными пищевыми технологиями позволяет создавать продукцию из козьего молока с заданными свойствами [11, р. 1095; 6 р. 111] как для детского, так и специализированного питания и может помочь в решении проблемы с переносимостью белков коровьего молока.

В связи с этим, актуальным является разработка кисломолочной продукции из козьего молока, обогащенной растительными наполнителями, с пробиотическими свойствами, сохраняющей живые бактерии до конца срока годности, что дает большие преимущества для поддержания здоровья, микробиоценоза кишечника и позволит расширить ассортимент кисломолочных продуктов отечественного производства на основе козьего молока.

Цель исследования. Разработка биотехнологических подходов к созданию кисломолочных продуктов с антиоксидантными свойствами на основе козьего молока.

Задачи исследования:

1. исследование физико-химических и микробиологических показателей козьего молока;
2. выделение, генетическая идентификация штаммов молочнокислых бактерий из козьего молока местных производителей с использованием праймеров 8F и 806R;
3. подбор и обоснование композиции молочнокислых бактерий с пробиотическими и сбраживающими свойствами;
4. обоснование дозы внесения растительных наполнителей и разработка рецептуры новых кисломолочных продуктов;
5. оценка антиоксидантных свойств кисломолочных продуктов на основе козьего молока.

Объекты исследования. Объектами исследования являлись образцы козьего молока Алматинской области; закваски для йогуртов YOMIX 495 LYO 100 DCU и YOMIX 883 LYO 50 DCU (Danisco, Германия); бактериальная композиция, содержащая *Streptococcus thermophilus TA 45* (Danisco, Германия), *Lactobacillus bulgaricus B6* (университет пищевых технологий, г. Пловдив, Болгария); биологически активные добавки к пище: сироп «КМ – Рябина», сироп «КМ – Шиповник» (ПК «Фирма «Кызыл май», Алматы, Казахстан), сироп из плодов боярышника (ОАО «Кемеровская фармацевтическая фабрика», Россия); пищевой обогатитель «Экстракт виноградной кожуры» (Healthlife Biotechnology Co., Ltd, Китай).

Предмет исследования. Оценка антагонистических и технологических характеристик бактериальной композиции для получения кисломолочных продуктов с оптимальными органолептическими и физико-химическими свойствами на основе козьего молока отечественного производства.

Методы исследования: Методы органолептической оценки сырья и готовой продукции, ареометрический и пикнометрический методы определения плотности, титриметрический и потенциометрический методы определения кислотности, метод измерения массовой доли общего азота и массовой доли общего белка по Кьельдалю, кислотный метод определения жира по Герберу, амперометрический метод определения антиоксидантов, метод капиллярного электрофореза, микробиологические методы анализа, диффузионный метод определения антагонистической активности бактерий, метод секвенирования 16S рРНК гена по Сенгеру, метод высокоэффективной жидкостной хроматографии, атомно-абсорбционный метод определения токсичных элементов, иммунологические методы анализа, метод Корюк для определения каталазной активности в эритроцитах.

Для статистической обработки полученных результатов использовались программы «Statistica», Microsoft Excel.

Научная новизна диссертационной работы. Выделены и идентифицированы новые штаммы молочнокислых бактерий из козьего молока. На основе термофильного стрептококка, болгарской палочки и выделенного из козьего молока штамма с антагонистическими свойствами сконструирована бактериальная композиция, подавляющая рост болезнетворных микроорганизмов. Обосновано соотношение *Lactobacillus bulgaricus* B6, *Streptococcus thermophilus* TA 4, и *Lactobacillus fermentum* 14 для бактериальной закваски. Установлено положительное влияние внесенной закваски на качественные характеристики и стабильность микрофлоры в процессе хранения кисломолочных продуктов. Разработана технология производства кисломолочных продуктов из козьего молока.

Теоретическая значимость работы. Выделены молочнокислые бактерии с антагонистической активностью в отношении бактериальных тестовых культур. Создана композиция бактериальной закваски с наиболее выраженными органолептическими характеристиками и антагонистическими свойствами.

Обосновано применение ПЦР метода (RAPD) для генетической идентификации межвидового и внутривидового полиморфизма и филогенетических отношений у микроорганизмов: удобство в использовании для исследования разных видов при использовании одних и тех же праймеров; отсутствие необходимости в предварительном клонировании и секвенировании фрагментов для подбора праймеров; универсальный набор вводимых образцов и быстрое обнаружение вариативности большого числа локусов по всему геному, а также дешевизна и простота в применении.

Результаты исследования могут быть использованы в учебной программе ВУЗов при подготовке бакалавров, магистрантов и PhD докторантов по образовательной программе «Биотехнология».

Практическая ценность работы. Получен сертификат о депонировании пробиотической культуры *Lactobacillus fermentum* 14, выделенной из козьего молока, в Республиканской коллекции микроорганизмов (г. Астана), коллекционный номер штамма B-RCM 1020.

Проведена промышленная апробация разработанных кисломолочных

продуктов на базе ТОО «ОО Казахская академия питания».

Новизна полученных результатов подтверждается тремя патентами на полезную модель РК №5613, №5614 и №8592.

Основные положения (доказанные научные гипотезы и другие выводы, являющиеся новыми знаниями), выносимые на защиту:

1. выделены и генетически идентифицированы штаммы молочнокислых бактерий с наиболее выраженными кислотообразующими свойствами из козьего молока;

2. по физико-химическим показателям и антагонистической активности обосновано использование пробиотического штамма *Lactobacillus fermentum* 14;

3. составлена бактериальная композиция с высокими органолептическими свойствами и антагонистической активностью;

4. исследованы физико-химические, микробиологические показатели и биологическая ценность готовых кисломолочных продуктов;

5. проведена оценка влияния кисломолочных продуктов на снижение токсического отравления организма животных хлоридом кадмия.

Личный вклад автора. Автор внес вклад в сбор и анализ данных, в определение цели и задач работы, в планирование и проведение экспериментов, в статистическую обработку и анализ полученных результатов, в апробацию результатов исследований, подготовку публикаций, написание и оформление рукописи диссертации. Основные результаты и выводы, изложенные в работе, получены в ходе исследований, проведенных лично автором.

Взаимосвязь работы с программой научных исследований. Диссертационная работа выполнялась в рамках финансируемого проекта по выполнению прикладных научных исследований в области агропромышленного комплекса по научно-технической программе «Разработка инновационных технологий по переработке и хранению животноводческой продукции», №ИРН BR06249327 «Разработка и промышленный выпуск продуктов детского и диетического питания на основе козьего молока», в соответствии с бюджетной программой 267 «Повышение доступности знаний и научных исследований» на 2018-2020 гг. (договор №43/1 от 10.09.2018 года).

Апробация и внедрение результатов исследования. Результаты исследования и основные положения диссертационной работы изложены и обсуждены на следующих международных научных конференциях: «AGRITECH-2019: Agribusiness, Environmental Engineering and Biotechnologies» (2019, Красноярск, Россия); «Инновационное развитие пищевой, легкой промышленности и индустрии гостеприимства» (2023, Алматы, Республика Казахстан); «Биотехнология: взгляд в будущее» (2023, Ставрополь, РФ).

Публикации результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 14 печатных работ: 7 статей, из которых две статьи входят в базу данных Scopus (одна из них с процентилем выше 25), 4 статьи опубликованы в журналах, рекомендованных Комитетом по обеспечению качества в сфере науки и высшего образования Министерства науки и высшего образования РК, получено три патента на полезную модель, опубликовано 4 тезиса в материалах международных конференций.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы по теме диссертации, материалов и методов исследований, результатов собственных исследований, заключения, списка использованных источников и приложений. Результаты работы отражены в 40 рисунках, 46 таблицах. Общий объем диссертации составляет 157 страниц компьютерного текста, в том числе 29 страниц приложений. Список использованной литературы содержит 215 источников.

1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Анализ современных тенденций в области производства комбинированных продуктов питания на молочной основе

Структура питания населения Казахстана в последние годы существенно изменилась: значительно снизилось потребление продуктов животного происхождения, являющихся основным источником жира и белка. Наблюдается мировая тенденция, связанная с созданием продуктов, способствующих улучшению здоровья и профилактики различных заболеваний (анемия, сахарный диабет, ишемическая болезнь сердца и т.д.). Нерациональное питание приводит к увеличению частоты дисбактериоза, диабета, гастроэнтерологических заболеваний у разных возрастных групп населения [12], что свидетельствует о необходимости разработки продуктов, положительно влияющих на восстановление микрофлоры кишечника человека [13].

В Японии впервые была разработана в 1980 году концепция функциональных пищевых продуктов, что инициировало и одобрило разработку продуктов, которые использовались для улучшения здоровья пожилых людей [14]. В состав продуктов входили полезные компоненты пищи (пищевые волокна, каротиноиды, фенольные кислоты, жирные кислоты, растительные стеролы, флавоноиды, полиолы, соевый белок, пре- и пробиотики, фитоэстрогены, витамины и минеральные вещества) [15, р. 62].

Комбинированные продукты могут быть использованы для лечения и профилактики ряда заболеваний, поскольку они могут быть дополнительным средством к медикаментозной терапии. Так, биологически активные компоненты, содержащиеся в продуктах растительного происхождения, представлены различным классом соединений: витаминами, макро- и микроэлементами, пищевыми волокнами, которые благоприятно влияют на состояние здоровья и качество жизни [16, р. 51-56]. Особый интерес представляют биофлавоноиды, источниками которых являются фрукты, ягоды, овощи, среди которых следует выделить лимоны, свежую клюкву, черноплодную рябину, боярышник, красную смородину, черную смородину, малину, шиповник; сушеный орегано, грейпфрут, апельсины, артишок [17, р. 135]. Биофлавоноиды обладают антиаллергическим, антиоксидантным, антибактериальным и противовоспалительным действием [18].

Многие фрукты, плоды и ягоды богаты антиоксидантами, участвуют в нейтрализации свободных радикалов, предотвращают повреждение клеток, ослабляют течение тяжелых неинфекционных заболеваний, и должным образом поддерживают здоровье [19, р. 846; 20, р. 129-131].

Молоко, как сырье для кисломолочных продуктов, является важнейшим источником природных биологически активных ингредиентов. Молоко сельскохозяйственных животных содержит белки, жиры, углеводы, которые определяют пищевую ценность молока. Биологическая ценность определяется уровнем витаминов, макро- и микроэлементов, ПНЖК, иммунных факторов [20, р.

507]. Большинство опубликованных работ связано с поиском биоактивных пептидов в образцах коровьего молока, некоторые из них посвящены исследованиям овечьего или козьего молока [21, р. 137].

Давно известно, что фрукты, овощи и молочные продукты являются полезными компонентами рациона, о чем свидетельствуют их включение во всем мире в государственные стандарты по продуктам питания и рекомендации по питанию [3, р. 9689; 22, р. 173-175]. Традиционный и современный взгляд на роль молока значительно расширился, что привело к появлению комбинированных пищевых продуктов и способствовало увеличению научных знаний о благотворном влиянии рационального питания и конкретных пищевых компонентов на здоровье человека [16, р. 53; 18, р. 130]

Для этой цели растительное сырье представляет собой подходящий источник биоактивных соединений, которые улучшают питательную и биологическую ценность продуктов на основе молока. Комбинированные продукты на молочной основе, обогащенные фитонаполнителями, являются перспективным сегментом молочной промышленности: пользуются все возрастающим спросом, повышают иммунитет и важны для ежедневного потребления с целью пополнения баланса жизненно важных питательных веществ в организме. Известно, что добавление в йогурт продуктов промышленной переработки фруктов и ягод положительно влияет на рост бактерий, характер заквашивания молочной смеси, органолептические свойства и другие физико-химические характеристики. Было показано, что кожура банана и манго обладает замечательными свойствами в отношении их антиоксидантной и пребиотической активности в различных ферментированных молочных продуктах [23, р. 482].

Висенсутто и Кастро (Vicenssuto G.M., Castro R.J.S.) из Государственного университета Кампинаса (UNICAMP, Бразилия) оценивали влияние кожуры манго на скорость роста микроорганизмов кефира в процессе ферментации, а также на антиоксидантные свойства полученных ферментированных продуктов. Значительное увеличение антиоксидантной активности наблюдалось во всех образцах с кожурой манго. Согласно микробиологическому анализу, образцы с добавкой допускали рост микроорганизмов до 3 раз выше, чем в контрольных образцах [24].

Водорастворимый соевый экстракт с добавлением мякоти пальмы макауба (*Acromia aculeata*) и инулин использовали для разработки кефирного напитка. Биомасса плодов пальмы макауба была получена после охлаждения, замораживания и обезвоживания. Заквашивание соевого молока кефирной культурой способствовало увеличению молочнокислых бактерий *Lactococcus lactis* и *Leuconostoc spp.* [25]. Наблюдалось также увеличение изофлавонов в ферментированном кефиром соевом молоке через 4 дня брожения. Повышение фенолов авторы объясняют действием микроорганизмов на β -глюкозидазу, катализирующую гидролиз фенольных соединений, что приводит к их образованию и накоплению. Образец с 3,5% обезвоженной мякотью пальмы макауба и 3,5

инулина оказался наилучшим субстратом для роста пробиотиков. Таким образом, соевое молоко, сквашенное на кефире, можно считать хорошим источником изофлавонов и других фенольных соединений [26, р. 94-95].

В ВГУИТ разработан продукт кефирный, полученный резервуарным способом. В качестве растительных наполнителей использовали сиропы шиповника и облепихи, а также пшеничные хлопья. Срок годности кефирного продукта составляет 7 суток [27].

Милюхина А.К. с соавторами из Федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский университет ИТМО» г. Санкт-Петербург разработали способ производства йогурта с добавлением экстракта чаги с целью обогащения его антиоксидантами. Авторами в работе использован способ получения водной вытяжки чаги с помощью мацерации с СВЧ обработкой. В результате исследования авторами выявлено, что антиоксидантные вещества чаги положительно влияют на хранимоспособность конечного продукта [28].

Полученные данные ряда авторов «демонстрируют пригодность растительных наполнителей в рецептурах кисломолочных продуктов для оптимизации преимуществ таких синбиотических продуктов с более высокой доступностью биоактивных соединений» [29].

1.2 Современное состояние проблемы разработки кисломолочных продуктов из козьего молока

Во всем мире наблюдается спрос на продукты из козьего молока. Козоводство является традиционно и исторически укоренившимся на территории Казахстана направлением животноводства. Козы способны более эффективно использовать такие низкопродуктивные угодья, как пустыни и полупустыни, мелкоконтурные малопродуктивные участки в лесной и лесостепной зонах, а также различные овраги, предгорные и горные пастбища. Козье молоко по структуре больше похоже на женское молоко, поэтому в мире наблюдается тенденция использования козьего молока вместо коровьего для производства продуктов не только детского питания, но и массового потребления. По сравнению с другими домашними животными, козы имеют некоторые преимущества: низкие производственные и кормовые затраты и постоянное производство небольшого количества молока, пригодного для немедленного использования в хозяйстве [30, с.44].

В 1981 году ВОЗ разрешила использование козьего молока для производства детских смесей. В 1988 г. в Новой Зеландии был открыт первый в мире завод «Dairy Goat Co-operative» по производству сухих детских смесей из козьего молока. В 2013 году разрешение по использованию козьего молока для производства детского питания было окончательно внесено в директиву Европейского союза [31, с. 26].

Международная ассоциация козоводства (IGA) с 1982 года является глобальным защитником козоводческого сектора и вносит свой вклад в расширение

теоретических и практических знаний через конференции, академические журналы и социальные сети. Выполняя свою миссию по продвижению исследований и разработок в области козоводства на благо человечества, борьбе с бедностью, содействию процветанию и улучшению качества жизни, она является единственной организацией, которая поддерживает козоводство во всех уголках мира. Это глобальная сеть людей и организаций, которая связывает исследования по производству, переработке и маркетингу; делится информацией, опытом и передовой практикой; выступает за социально справедливое, экологически чистое и экономически выгодное разведение коз и продвигает местные, региональные и международные мероприятия с глобальными и разнообразными перспективами [32, р. 11].

В 2018 году мировое поголовье коз превысило один миллиард, что на 34% больше, чем в 2000 году [32, р. 10]. За тот же период поголовье овец выросло всего на 10%, а глобальное поголовье крупного рогатого скота осталось примерно на одном миллиарде голов. Хотя большая часть доходов от мирового производства коз поступает от продажи мяса, одновременно наблюдается рост производства и потребления молока [32, р. 12].

В козьем молоке больше конъюгированных линолевых кислот, играющих важную роль в стимуляции иммунитета. Средний размер жировых шариков коровьего молока составляет 21,2–31,2 мкм, козьего – всего 2 мкм. Соотношение β -казеин/as1-казеин (70%/30%) в белках козьего молока аналогично грудному человеческому молоку, что приводит к большей усвояемости по сравнению с коровьим молоком в связи с более высокой чувствительностью β -казеина к протеазным ферментам. Благодаря наличию β -казеина в основной фракции молока, козье молоко образует мягкий сгусток, легко перевариваемый в желудке человека. [33, р. 14-16; 34, р. 1219, 1229].

В Казахском национальном университете им. аль-Фараби разработали технологию получения йогурта из сухого козьего молока с пробиотическими свойствами. В качестве закваски использовался термофильный стрептококк (*Streptococcus thermophilus*) компании Danisco. Через 6 часов сквашивания содержание микроорганизмов соответствовало требованиям, т.е. более 10^7 КОЕ в 1 мл [35, с. 34.].

В Павлодарском государственном университете им. С. Торайгырова разработан биойогурт из козьего молока, который содержит в своем составе пробиотики, лактитол, джем из ананасов, манго, киви, и стабилизирующую систему. Авторы включили в технологическую схему стадию гомогенизации, вероятно, для смешивания козьего и коровьего молока в соотношении 70:30 [36, с. 123].

В ОГАУ имени Столыпина П.А. (Омск, РФ) в сотрудничестве с Павлодарским государственным университетом им. С. Торайгырова разработали творожный продукт из смеси коровьего и козьего молока на основе закваски из *Str. thermophilus*, *L. acidophilus*, *B. infantis*, *B. bifidum* и *B. longum*, которую вносили перед сквашиванием. Авторы утверждают, что в продуктах «объем пробиотической

микрофлоры несколько выше, чем в контрольном образце, что можно объяснить наличием более благоприятной питательной среды, в которой присутствует больше сывороточных белков, содержащих незаменимые аминокислоты, необходимые для роста пробиотической микрофлоры» [6, С.146].

В Алматинском технологическом университете разработана технология производства йогурта из козьего молока с добавлением фиников. Срок хранения составляет 5 суток при температуре (4 ± 2) °С. Продукция производится резервуарным методом [37, с. 114].

В ТОО «ОО Казахская академия питания» (Алматы) в сотрудничестве со специализированным домом ребенка (Астана) разработаны рецептуры на жидкие и пастообразные продукты для детского питания. Творог получали кислотным способом, используя бактериальные закваски, включающие следующие штаммы микроорганизмов: *Streptococcus salivarius ssp. thermophilus*, *Lactococcus lactis ssp. cremoris*, *Lactococcus lactis ssp. lactis*, *Lactococcus lactis ssp. lactis biovar. Diacetylactis* и *Leuconostoc mesenteroides ssp. cremoris*. Творожные пасты с фруктовыми наполнителями производили путем предварительной гомогенизации творога, доведения его до однородной массы и внесения соответствующих пищевых добавок. Созданные продукты авторы рекомендуют в качестве прикорма детям первого года жизни, а также в качестве продуктов питания для физического развития, повышения защитных функций и регуляции обменных процессов детям дошкольного и школьного возраста [38, с. 36].

В ТОО «Казахский НИИ перерабатывающей и пищевой промышленности» (Алматы) разработали комбинированный продукт на основе овечьего и козьего молока; получен йогурт специализированного назначения. Закваска при производстве живых йогуртов включала *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* и *Bifidobacterium bifidum*. Авторы утверждают, что полученная продукция будет носить лечебно-профилактический характер для всех возрастных групп населения [39, с. 157].

Гетманец В.Н. с кафедры технологии производства и переработки продукции животноводства Алтайского государственного аграрного университета (РФ) предложила технологию производства йогурта из козьего молока с использованием закваски «Lactoferm ECO», в состав которой входят *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* и *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*. Содержание молочного жира в образцах йогурта находится в пределах 3,9-4,5%, содержание белка – 3,1-3,2%. Титруемая кислотность готового продукта составляла 87-91 °Т [40, с. р. 171.]. Исследование, проведенное Николеттой П. Манджиа и др. из департамента сельского хозяйства (университет Сассари, Италия), показало, что козье молоко, богатое ПНЖК, является хорошим сырьем для производства ферментированного молока, содержащего большое количество полезных лактобактерий. Молоко, обогащенное ПНЖК, получали от коз, в рацион которых поступало, помимо основного корма, 200 г/день экструдированного льняного семени. В этом исследовании штаммы *L. Shirota* и *L. Rhamnosus* смогли расти во время

ферментации, несмотря на медленное подкисление. *L. shirota* показал хорошую устойчивость к кислой среде в течение всего срока хранения [41, р. 530].

Анна Митуневич-Малек с соавторами из Западно-Поморского технологического университета (Щецин, Польша) на основе проведенных исследований с получением кисломолочных продуктов из коровьего и козьего молока сделали следующее заключение: традиционные йогуртовые культуры YЕ-L811 и YС-X16 компании «Chr. Hansen», использованные в эксперименте, можно рекомендовать для производства ферментированных напитков из органического коровьего и козьего молока; жизнеспособность микрофлоры (лактобактерии и стрептококки) в исследуемых йогуртах зависела от типа используемой закваски и времени хранения в холодильнике, а не вида используемого молока [42, р. 1766].

Мартин-Диана с соавторами из института пищевых исследований (Мадрид, Испания) разработали кисломолочный продукт из козьего молока. Оптимальная плотность сгустка была достигнута за счет добавления сухого молока и КСБ. Авторы утверждают, что «добавление КСБ увеличивало содержание белка (1%), а также содержание калия и магния (0,3 и 0,02 г/кг соответственно)» [43, с. 831]

Хамед Мирзаи (Mirzaei H. et. al.) с соавторами из университета Британской Колумбии (Ванкувер, Канада) предлагают добавлять фолиевую кислоту в козье молоко для предотвращения мегалобластной анемии у младенцев. Результаты исследований показали, что ферментированное козье молоко может применяться в качестве профилактики анемии, улучшения антиоксидантного статуса, защиты биомолекул от окислительного повреждения, а также заболеваний сердечно-сосудистой системы [44, р. 9].

Раджив Бхат (Bhat R. et. al.) с соавторами из школы промышленных технологий (Малайзия) разработали новый батончик из козьего молока с добавлением экстрактов цветков розы и двух разных видов натуральных подсластителей (тростниковый сахар и пальмовый сахар). Сообщается, что цветок розы был использован в качестве натурального пищевого консерванта, богатого антиоксидантами и обладающим противомикробным действием [45, р. 2476].

Исследования авторов Эхирим Ф.Н. и Онъенеке Э.Н. из департамента пищевых наук и технологий государственного университета (Оверри, Нигерия) при изучении приблизительного состава образцов йогурта с заменой козьего молока на коровье молоко (100%, 75%, 50% и 25%) показал, что образцы йогурта из козьего молока (100%) имели самое высокое содержание белка (4,2%), жира (4,27%), капроновую (C₆), каприловую (C₈), каприновую (C₁₀) кислоты и общее содержание сухих веществ (16,22%). Образец йогурта с 100 % козьего молока, получил наивысшую оценку вкуса [46, р. 248]. Йогурт из козьего молока был изготовлен с добавлением до 2% обезжиренного сухого козьего молока, казеината натрия, концентрата сывороточного белка, изолята сывороточного белка. Йогурт с казеинатом натрия был наиболее приемлемым среди всех йогуртов. Использование изолята сывороточного белка привело к самой твердой структуре йогурта, что привело к более высоким значениям синерезиса. По сравнению с йогуртом,

приготовленным с использованием обезжиренного сухого козьего молока, другие варианты йогурта из козьего молока имели более высокое содержание белка и более низкие значения кислотности [47, р. 2702].

«Кишк» – традиционный ливанский кисломолочный продукт, представляющий собой сухую смесь йогурта и булгура, приготовленного из козьего молока. Коровье молоко используется отдельно или смешивается с козьим. Было выявлено, что кишк, произведенный на юге Ливана, получил наивысший балл, так как был приготовлен с использованием булгура [48, р. 172].

Серхан М. (Serhan M. et. al.) с соавторами из университета Баламанд (Ливан) разработали концентрированный йогурт (лабне) из коровьего, козьего молока, а также их смеси в различных соотношениях. По утверждению авторов, в составе лабне из козьего молока имелось более высокое содержание жирных кислот с короткой и средней цепью и низкое их содержание с длинной цепью, чем в продуктах, содержащих лишь молоко коровье. Лабне с содержанием козьего молока в количестве 40% и коровьего молока в количестве 60% были наиболее предпочтительными для органолептической оценки [49].

Кефир является кисломолочным продуктом как натуральный пробиотик, не имеет кислого вкуса, дрожжевого аромата и пенится при перемешивании за счет содержания кислоты, спирта и CO₂. Замена козьего молока экстрактом черного риса при закваске кефира не оказывала отрицательного влияния на жизнеспособность микроорганизмов и могла снизить pH смеси. Авторы утверждают, что антиоксидантная активность кефира может быть усилена заменой козьего молока экстрактом черного риса и/или добавлением оринулина. В течение 7 суток хранения при пониженных температурах содержание спирта и общего фенола увеличивалось, а pH кефира снижался. Исследование показывает, что для лечения диабета по крайней мере 2,0 мл дозы кефира в комбинации из козьего молока и экстракта черного риса будут давать эффект, аналогичный эффекту глибенкламида в качестве противодиабетического средства [50, р. 733-734].

Разработан йогурт на основе козьего молока с использованием ароматизатора каджа (*Spondias mombim L.*), типичного фрукта бразильского серрадо, с различной концентрацией мякоти каджа (0% - контроль; 20%; 30% и 40%). Органолептический тест показал, что смеси, содержащие 20% и 30% мякоти каджа, были наиболее приемлемыми [51, р. 110].

Таким образом, ожидается, что по мере того, как люди будут больше заботиться о своем питании и здоровье, козье молоко и его продукты все больше будут привлекать внимание во всем мире.

1.3. Преимущества применения пробиотических микроорганизмов в пищевой промышленности

Многие штаммы культур, используемые в молочной промышленности, относятся к пробиотикам, оказывающим благотворное действие на организм, обладающим антагонистическими свойствами, воздействующими на

болезнетворные микроорганизмы желудочно-кишечного тракта. К ним относятся лактобактерии (лат. *Lactobacillus*) — род грамположительных анаэробных неспорообразующих молочнокислых бактерий [52, р. 5615-17].

Для приготовления кисломолочных продуктов целесообразно использовать специальные виды молочнокислых бактерий, к которым относятся *Lactobacillus bulgaricus* и *Streptococcus thermophilus*. Эти бактерии обоюдно стимулируют друг друга и компенсируют взаимно метаболизм. Именно их сочетание приводит к получению сгустка с кисломолочным ароматом и нежным приятным вкусом [42, р. 1760].

Молочнокислые бактерии (МКБ) являются одними из наиболее важных микробов, которые используются при ферментации пищевых продуктов, а также для улучшения вкуса и текстуры ферментированных пищевых продуктов [53, pp. 676]. Для них характерно производство молочной кислоты в качестве основного продукта из глюкозы и веществ, подавляющих рост, таких как бактериоцины, перекись водорода, диацилы и т. д., которые предотвращают размножение бактерий и патогенов, вызывающих порчу пищевых продуктов [53, р. 677]. Эффективность МКБ в качестве пробиотического агента связана с их способностью выживать в желудочном соке и желчных солях, а также прикрепляться к слизистой оболочке кишечника. Как и многие пробиотические бактерии, молочнокислые бактерии обладают либо бактерицидными, либо бактериостатическими свойствами. Непосредственная антимикробная активность видов *Lactobacillus* обусловлена продукцией органических кислот, бактериоцинов, пероксида водорода и низкомолекулярных соединений [53, р. 672].

По оценке медиков, из-за несбалансированного питания, в Республике Казахстан большая часть населения в той или иной степени страдает дисбактериозом [54, с. 14]. В течение всей жизни каждого человека состав кишечной микробиоты может изменяться под влиянием образа жизни, диеты, антибиотикотерапии и других стрессовых состояний, что может привести к острым и хроническим заболеваниям. Выдающийся русский физиолог И. Мечников был убежден, что процессы старения организма вызываются гнилостными бактериями кишечной микрофлоры и что молочнокислые бактерии, в частности, болгарская палочка, могут благотворно влиять на продолжительность жизни [55, р. 206].

Пробиотики вносятся в различные продукты, в основном в ферментированные молочные продукты. Нормальная микрофлора ограничивает колонизацию кишечника потенциально патогенными микроорганизмами. Сохранение и укрепление этой микрофлоры может быть достигнуто за счет потребления бактерий, используемых перорально в виде добавок. Сегодня формат продаж пробиотиков в качестве пищевых продуктов и пищевых добавок успешно развивается и пользуется хорошим спросом у населения [56, р. 2, 5].

С точки зрения питания особая роль отводится культурам, отнесенным к молочнокислым бактериям; среди них прикладное значение имеют штаммы, которые относятся к родам *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* и *Lactococcus* [56, р. 2],

являются грамположительными каталазоотрицательными бактериями, способными продуцировать молочную кислоту в качестве главного продукта сбраживания углеводов [56, р. 16].

Потенциальный пробиотический штамм, оказывающий полезное действие, должен обладать определенными свойствами, одним из которых является антибиотическая активность в отношении патогенных бактерий.

В отношении конечного пищевого продукта, содержание пробиотиков должно основываться на результатах, которые оказались эффективными в проведенных исследованиях. Несмотря на недостаточное количество информации, о минимальных концентрациях, общепринято, что продукты с заявленными пробиотическими свойствами должны иметь минимум 10^6 КОЕ/мл или грамм продукта, и что для достижения человеком благопроприятного пробиотического эффекта ежедневно следует потреблять от 10^8 до 10^9 КОЕ/мл или грамм пробиотических микроорганизмов. Кроме того, одним из условий является способность штаммов расти в производственных условиях и сохранять жизнеспособность при нормальных условиях хранения [57, р. 59].

Пробиотики, как правило, имеют различные механизмы действия на организм, хотя точный способ их проявления до сих пор не изучен полностью. Эти механизмы варьируются от производства бактериоцина и короткоцепочечных жирных кислот и снижения активной кислотности кишечника до регуляции барьерной функции слизистой оболочки и иммуномодуляции иммунного статуса. Имеются также исследования, доказывающие влияние пробиотиков на некоторые аспекты врожденного и приобретенного иммунного ответа организма, модифицируя ответы Т-клеток лимфоцитов и усиливая функцию Th1-клеток. [58, р.514].

Ассортимент продуктов питания, содержащих пробиотические культуры, довольно разнообразен и широк. На рынке основными продуктами с содержанием пробиотических микроорганизмов, являются молочные продукты: сыры, кисломолочные продукты, мороженое. В последнее время растет также ассортимент немолочных продуктов, содержащих пробиотики, которые представлены продуктами из сои, питательными батончиками, хлопьями из разных злаковых культур и различными ягодными и фруктовыми соками и коктейлями [59, р. 89, 106].

Имеются данные о том, что пробиотики играют роль в снижении заболеваемости онкологических заболеваний: исследования показали, что представители *Bifidobacterium* и *Lactobacillus* могут снизить содержание канцерогенных ферментов, нормализуя проницаемость кишечника и баланс микрофлоры, а также продуцируя антимутагенные органические кислоты. Некоторые данные свидетельствуют о том, что продукты с содержанием пробиотических способствуют профилактике ишемической болезни сердца благодаря снижению количества холестерина в сыворотке крови и контролю артериального давления. Предполагаемые исследователями механизмы включают

прямую ассимиляцию, связывание холестерина и действие конечных продуктов ферментации на системные уровни липидов в крови через антигипертензивный эффект. Известно, что у женщин с бактериальным вагинозом, портебляющих молочные продукты с пробиотиками, улучшается микробиологическая картина за счет нормализации микробиоты [60, с. 663]. Также имеются данные о положительном эффекте использования пробиотических бактерий при лечении острых диарейных заболеваний, профилактике улучшения метаболизма лактозы [56, р. 5].

Профилактика инфекционной диареи, вероятно, является наиболее широко признанным преимуществом пробиотических микроорганизмов для здоровья. Например, во французском исследовании, проведенном среди детей в детских садах, введение пробиотического йогуртового продукта, содержащего *L. casei*, значительно сократило среднюю продолжительность диареи по сравнению с обычным [61, р.183].

Недавние исследования свидетельствуют о том, что воздействие полезных бактерий в раннем возрасте может играть защитную роль для организма против аллергии, и в этом контексте пробиотики могут обеспечить безопасную альтернативную микробную стимуляцию, необходимую для развивающейся иммунной системы у младенцев. В то же время они улучшают барьерную функцию слизистой оболочки, что, способствует смягчению аллергической реакции, например, пищевой аллергии и атопического дерматита [62, р. 5] Антипатогенная активность считается одним из наиболее полезных эффектов пробиотиков, поскольку, в отличие от классических антибиотиков, ингибируется нарушение или изменение состава сложной популяции кишечной микробиоты. Было проведено значительное исследование антипатогенной активности пробиотиков или пробиотических смесей. Техеро-Саринена (Tejero-Sarinena S.) и др. [63, р. 64] исследовали влияние пробиотиков на выживаемость *Salmonella enterica*, *Serovar typhimurium* и *Clostridium difficile* в условиях *in vitro* модели и предположили, что пробиотики ингибируют рост болезнетворных микроорганизмов за счет продукции короткоцепочечных жирных кислот, таких как уксусная и молочная кислоты.

Кисломолочные продукты, особенно йогурт, продолжают оставаться наиболее важным субстратом для пробиотических бактерий: по мере расширения ассортимента новых кисломолочных продуктов с улучшенными органолептическими свойствами, повышается их популярность у потребителей.

Многие исследования были предприняты для изучения роли пищевых компонентов ферментированных функциональных продуктов в кишечной проницаемости для выявления потенциальной корреляции между диетой, проницаемостью, ожирением, воспалительными заболеваниями кишечника и другими заболеваниями. Кроме того, ферментированные молочные продукты идеально подходят для доставки пробиотических бактерий в кишечник человека и обеспечивают оптимальные условия для их роста [56, р. 5].

Lactobacillus, *Bifidobacterium*, *Lactococcus*, *Leuconostoc* и *Streptococcus* являются наиболее распространенными пробиотическими бактериями в кисломолочных продуктах, которые используются в качестве закваски или природных компонентов сырья. Процесс ферментации и коагуляции позволяет сохранять и повышать жизнеспособность и продуцирующие способности микроорганизмов, сохраняя при этом их пробиотические характеристики [53, р. 673; 64, р. 351]. Молекулярные компоненты пробиотиков, связанные с молочными ферментированными продуктами, влияют на механизмы регуляции и течения болезни либо в качестве профилактики, либо терапевтически, и такие продукты часто называют нутрицевтиками, пищевыми добавками, функциональными или лечебными продуктами [52, р. 5616; 56, р. 2].

В исследованиях *in vitro* и *in vivo* наблюдали, что ферментированные молочные продукты помогают поддерживать нормальное состояние слизистой оболочки, гомеостаза и обеспечивают защиту от различных метаболических заболеваний, связанных с нарушениями обмена веществ, через их антиоксидантные, антимикробные, противогрибковые, противовоспалительные, противодиабетические и антиатеросклеротические свойства [52, р. 5628; 56, р. 3-5].

На кафедре судебно-медицинской морфологии и травматологии Кельнского университета разработан йогурт пробиотического действия, представляющий собой комбинированную смесь пробиотиков (*L. rhamnosus* GG) и пребиотиков (пищевые волокна), его потребление помогает в профилактике синдрома воспаления кишечника (ВЗК), при запоре и диарее [65, р. 82].

Кефир производится с использованием молочнокислой культуры, как и кумыс. Кроме того, кумыс и кефир при приготовлении практически идентичны: с использованием дрожжей и молочнокислого брожения [66, р. 86; 67, р. 6422]. Ли с соавторами обнаружили, что кумыс способствует рассасыванию атрофии вилочковой железы и селезенки, увеличивает количество лейкоцитов, лимфоцитов периферической крови у крыс с моделью подавленного иммунитета. Кроме того, он эффективно улучшает структуру тонкой кишки, слизистой оболочки, что указывает на то, что кумыс может служить лечебным средством с положительным влиянием на иммунную функцию кишечника при иммунодефицитных состояниях [68, р. 8-13].

Таким образом, для нормализации работы кишечника важным является ежедневное включение в рацион обоих компонентов: пребиотиков и пробиотиков, что позволит восстановить здоровье за короткое время.

Важно отметить, что, поскольку активность пробиотиков связана со штаммами, рекомендуется их идентификация, чтобы установить их пригодность и эффективность для промышленного применения. Это достигается комбинацией фенотипических тестов с последующей генетической идентификацией с использованием молекулярных методов, таких как гибридизация ДНК/ДНК, секвенирование 16SRNA и т.д.

1.4 Выделение новых штаммов молочнокислых бактерий, перспективных для пищевой промышленности

Одним из факторов, определяющих полезные свойства кисломолочных продуктов, является способность бактерий, используемых в качестве заквасок, к подавлению болезнетворных микроорганизмов. Козье молоко, как отмечается в научной литературе, является ценным субстратом для выделения новых видов микроорганизмов [69, pp. 36, 39].

В частности, в козьем молоке присутствует такая культура молочнокислых бактерий как *Lactobacillus fermentum* (*Lb. fermentum*), которая относится к грамположительным бактериям, принадлежащим к роду *Lactobacillus*, присутствие которых в продукте способствует усилению иммунного ответа, а также предотвращают внебольничные инфекции желудочно-кишечного тракта и верхних дыхательных путей. Кроме того, *Lb. fermentum* продуцирует сильнодействующие противомикробные пептиды, которые можно применять в качестве пищевых консервантов или в качестве альтернативы антибиотикам [70, p. 5].

Бактерии, продуцирующие молочную кислоту, являются наиболее часто используемыми пробиотиками, которые играют важную роль в защите хозяина от вредоносных микроорганизмов в укреплении иммунной системы хозяина, в улучшении усвояемости корма животными и уменьшении нарушений обмена веществ [71, p. 3389].

Лин В.С., Птак С.П. и другие (Lin W.C., Ptak C.P. et. al.) в своем исследовании проанализировали кишечную микробиоту, содержащую *Lactobacillus* (*Lactobacillus gasseri*, *Lactobacillus reuteri* и *Lactobacillus salivarius*). Изоляты молочнокислых бактерий обладали необходимой устойчивостью к росту для пробиотической функциональности, а также проявляли эффективную противомикробную активность в отношении кишечных бактериальных патогенов крупного рогатого скота, включая *Escherichia coli* O157:H7, *Mycobacterium avium subspecies paratuberculosis* и виды *Salmonella* (*Salmonella enteritidis*, *Salmonella typhimurium* и *Salmonella dublin*) [72, p. 250].

Арчер А.С. и другие (Archer A.C. et. al.) исследовали местные изоляты *Lactobacillus fermentum*, отобранные из местных ферментированных молочных продуктов. Изоляты продемонстрировали антибактериальную активность в отношении *Listeria monocytogenes* ScottA и *Micrococcus luteus* ATCC 9341. Изоляты *L. fermentum* MCC 2759 и *L. fermentum* MCC 2760 продемонстрировали наилучшие пробиотические свойства с высокой выживаемостью в имитированных жидкостях желудочно-кишечного тракта, адгезией *in vitro*, снижением уровня холестерина и высоким антиоксидантным потенциалом [73, p. 8120].

Руссо П. и др. (Russo P. et. al.) обнаружили, что культура *Lactobacillus fermentum*, выделенная из хлебной закваски, способна продуцировать рибофлавин. Спонтанно устойчивые к розеофлавинолу мутанты были получены путем воздействия на дикий штамм *L. fermentum* PBCC11 повышающимися концентрациями розеофлавина. Было выделено пятнадцать спонтанно устойчивых к розеофлавинолу

мутантов, уровни витамина В₂ были количественно определены с помощью ВЭЖХ. Семь мутантных штаммов продуцировали концентрацию витамина В₂ выше 1 мг/л. [74, p. 3697; 75, p. 6310, 6317].

Кахоули И. с соавторами (Kahouli I. et.al.) изучили значительную антиоксидантную, антипролиферативную и проапоптотическую активность *Lactobacillus acidophilus* ATCC 314 и *Lactobacillus fermentum* NCIMB 5221 в отношении клеток CRC, особенно при использовании в комбинации (La-Lf). В результате La-Lf продемонстрировал большую защиту от онкогенеза в кишечнике, что подтверждает потенциальное использование в качестве биотерапевтического средства для профилактики болезни [76, p. 2013-2016].

Асан-Озуаглам и Гунякти (Asan-Ozusaglam M., Gunyakti A.) проводили исследование бактерий, выделенных из грудного молока и оценивали их пробиотический потенциал. Авторы пришли к заключению, что штаммы *L. fermentum* МА-7 и МА-8 являются безопасными благодаря гамма-гемолитической активности и устойчивости к низким рН в желудочно-кишечном тракте. В связи с тем, что штаммы *L. fermentum* достигают хорошего эффекта снижения уровня холестерина в желудочно-кишечном тракте, авторы предлагают их в качестве пробиотического препарата в пищевой промышленности [77, p. 507].

Прести И. с соавторами (Presti I. et. al.) исследовали пробиотические свойства новых штаммов *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* путем определения их толерантности к низкому рН и солям желчных кислот, чувствительности к антибиотикам и противомикробной активности. Штаммы, обладающие наиболее эффективными пробиотическими свойствами (*Lactobacillus plantarum* PBS067, *Lactobacillus rhamnosus* PBS070 и *Bifidobacterium animalis subsp. Lactis* PBSO75), оценивали на предмет их воздействия также на клеточную линию кишечника человека HT-29. Полученные результаты подтверждают возможность перехода на другой уровень исследований, а именно: пероральное введение этих пробиотических штаммов пациентам с острыми и хроническими заболеваниями кишечника путем экспериментов *in vivo* [52, p. 5625].

Мело Т.А. с коллегами (Melo T.A. et.al.) исследовали штамм *Lactobacillus fermentum*, выделенный из какао после его ферментации. Авторы утверждают, что «этот штамм демонстрирует профиль чувствительности и устойчивости к антибиотикам, что позволяет использовать его наряду с лекарственной терапией. В совокупности эти характеристики позволяют предположить, что *Lactobacillus fermentum* TCUESC01 имеет большой потенциал в качестве безопасной пробиотической пищевой добавки» [78, p. 6].

Точилина А.Г. с соавторами изучали *Lactobacillus fermentum* 90 TC-4, выделенный от здорового человека. Как заявляют авторы, штамм обладает устойчивостью к таким антибиотикам как цефотаксим, гентамицин, ципрофлоксацин, цефепим, эритромицин, фуразолидон, тетрациклин, сульфаниламиды, «удовлетворяет современным требованиям к производственным штаммам и может использоваться в качестве продуцента пробиотиков» [79, с. 132].

Таким образом, культура *L. fermentum* может быть потенциальным пробиотиком при разработке кисломолочных продуктов.

1.5 Полифенольные фитохимические вещества и антиоксидантный потенциал боярышника, шиповника, рябины и винограда

В течение последних десятилетий поиск и разработка новых высокоценных биоактивных соединений из растений стала актуальной проблемой для исследователей, медицинских работников, производителей и потребителей [80, р. 1476; 81, р. 2]. Фрукты и овощи всегда считались здоровой пищей, главным образом из-за высокого содержания в них ценных питательных веществ, таких как витамины, минералы, полифенольные соединения, антиоксиданты, пищевые волокна и другие. В связи с этим многие хорошо известные и популярные во всем мире ягоды, такие как малина, боярышник, шиповник, клубника, черная смородина, черника, вишня и другие, относятся к числу богатейших источников витаминов и биоактивных фитохимических веществ, особенно полифенолов-антиоксидантов. Вышеупомянутые ягоды также обладают характерными и ценными сенсорными свойствами и, следовательно, потребляются как в виде свежих фруктов, так и в переработанном виде.

Основными требованиями к растительным наполнителям являются безопасность, минимум побочных эффектов, эффективность, большая биодоступность и более низкая стоимость по сравнению с синтетическими препаратами. Одним из таких растений является боярышник, ягоды которого богаты питательными веществами, полезными для здоровья и ценными свойствами, такими как противомикробные, противовоспалительные, антиоксидантные, противораковые и антикоагулянтные свойства [82, р. 1683]. Из-за безопасности этого растения Комитет по лекарственным средствам растительного происхождения и комитет Европейского агентства по лекарственным средствам классифицировали боярышник как «традиционное растительное лекарственное средство» [83, р. 437;291].

Боярышник (*Crataegus*) относится к семейству розоцветных (Rosaceae) и является наиболее ценным видом. Боярышник широко используется в пищу и в медицинских исследованиях. Свежие или сушеные плоды боярышника используют для приготовления варенья, чая и пищевых добавок. Экстракты ягод, листьев и цветков боярышника применяются для профилактики гипертонии и сердечной недостаточности [84, р. 569].

Боярышник обладает высокой биологической ценностью, содержит пищевые волокна, пектин, аскорбиновую кислоту, минералы и антиоксиданты по сравнению со многими фруктами и овощами [85, р. 1-2], его пищевая ценность одобрена в качестве лечебного средства Национальной комиссией по здоровью и благополучию Китая [2]. Исследования подтвердили, что боярышник богат аминокислотами (8 незаменимых аминокислот и в 3–8 раз больше аминокислот, чем во фруктах), белка в 17 раз больше, чем в плодах яблока, по сахарам и

минералами он занимает 1-е место по содержанию кальция среди фруктов, а также по витаминам А, С, В₁, В₂ [82, р. 1685]. Боярышник также богат органическими кислотами. В среднем, боярышник содержит около 7 мг/г белка, 2 мг/г растительных масел, 30–40 мг/г пектина, 30–50 мг/г органических кислот, 3–8 мг/г дубильных веществ, 0,5–1,5 мг/г аминокислот, 0,89 мг/г витамина С, 0,89 мг/г витамина D и 0,65 мг/г флавоноидов [86, р. 103].

Пектин, извлеченный из остатков боярышника, используется для производства йогурта для улучшения стабильности сгустка и органолептических показателей, что позволило разработать новые продукты питания из побочных продуктов на основе боярышника [87, р. 137]. Применение боярышника человеком благоприятно сказывается на пищеварительной и сердечно-сосудистой системе. В Европе боярышник используют как лекарственное средство, т.к. содержит биологически активные компоненты с большим потенциалом для фармацевтической промышленности, в том числе полифенолы и флавоноиды. Ягоды боярышника богаты флавоноидами, которые используются как восстановители и стабилизаторы в синтезе наночастиц в качестве антимикробных агентов [88, р. 13683].

Активные компоненты боярышника – полифенольные соединения, являются хорошими антиоксидантами и иммуномодуляторами [83, р. 440]. Поэтому целесообразно расширять область использования терапевтического потенциала боярышника при создании новых продуктов питания для улучшения и поддержания здоровья населения.

Проантоцианидины, общее количество флавоноидов и другие экстракты, содержащиеся в плодах, листья и цветки боярышника широко используются при лечении сердечно-сосудистых заболеваний из-за их значительного эффекта *in vitro* и очевидного профиля безопасности [89, 2870-2871].

Выявлены антиаритмические свойства высушенного экстракта боярышника с цветущими листьями [90, р. 34]. Экстракт боярышника может повышать активность глутатионпероксидазы и снижать содержание МДА в миокарде, облегчая инфильтрацию воспалительных клеток, миофибриллярные нарушения в структуре миокарда [91, р. 9]. Органические кислоты (лимонная, кофейная и хлорогеновая) и кверцетин в боярышнике также обладают защитным действием против инфаркта миокарда [89, р. 2864].

Фенольные и флавоноидные соединения боярышника считаются важными активными веществами в борьбе с сахарным диабетом. Боярышник способен улучшать гиперлипидемию за счет снижения уровня сахара и триглицеридов в крови, вызванного диетой с высоким содержанием жиров [92, р. 5]. α -глюкозидаза является основным ферментом, катализирующим последнюю стадию гидролиза углеводов пищеварительной системы. Кверцетин в боярышнике может эффективно ингибировать активность фермента альфа-глюкозидазы, приводящий к снижению высвобождения и всасывания глюкозы, тем самым снижая уровень сахара в крови [93, р. 1089]. Сильные антиоксидантные и защитные свойства боярышника против

токсического поражения биологических тканей и липидов клеточных мембран проявляются в дозозависимой активности по поглощению свободных радикалов [81, р. 2; 82, р. 1686].

Что касается полезных свойств рябины, она содержит полезные вещества и используется в лечебных целях в связи с противовоспалительным, противодиарейным, мочегонным и сосудорасширяющим действием. Эти преимущества обусловлены значительным количеством фитохимических веществ, таких как витамины, каротиноиды и фенольные кислоты, а также важными в питании минералами, железом, калием и магнием. Рябина издавна используется в народной медицине как средство, повышающее и улучшающее аппетит, отличный источник витаминов. Чай, сироп, желе или спиртовая настойка ягод рябины применялись для лечения лихорадки, инфекций, простуды, гриппа, ревматизма и подагры. Кроме того, ягоды рябины содержат сладкий на вкус сахарный спирт сорбит, который медленно метаболизируется в организме человека и поэтому подходит в качестве подсластителя для людей, страдающих диабетом [94, р. 817]. Хлорогеновая и неохлорогеновая кислоты являются основными фенолокислотами, составляющими 56–80% от суммы фенолов в ягодах рябины [94, р. 822-23]. В водном экстракте ягод рябины обнаружены и другие фенольные соединения: катехин, эпикатехин, метиловый эфир феруловой кислоты, процианидин В₁, флавонолы (кверцетин, изокверцетин, гиперозид, рутин, катехин, эпикатехин), антоцианы (преимущественно гликозиды цианидина или пеларгонидина), проантоцианидины. Некоторые другие хорошо известные фенольные кислоты и их производные, обнаруженные в следовых количествах в ягодах рябины - коричная, ванилиновая, п-кумаровая, кофейная и бензойная кислоты [94, р. 822].

Ягоды рябины являются богатым источником антиоксидантов, таких как рутин, кверцетин-3-глюкозид и кверцетин-3-D-галактозид. Научными исследованиями доказано противовоспалительное и антидиабетическое действие, которое определяется наличием в их составе аскорбиновой кислоты, органических кислот, фенольных соединений, каротиноидов [82, р. 1687].

Кристи Е. (Elena Cristea et. al.) с соавторами, из технического университета Молдовы, показали, что ягоды рябины содержат в основном полифенолы 1,34–1,47 г/100 г, каротиноиды 21,65 мг/100 г и различные органические кислоты, такие как яблочная, лимонная, и янтарная [95, р. 3788]. Основными каротиноидами рябины являются зеаксантин, криптоксантин и β-каротин (транс-форма) [94, р. 818]. Среди водорастворимых биологически активных веществ, содержащихся в плодах шиповника, выделяются фенольные соединения и аскорбиновая кислота [96, р. 105]. Включение в рацион аскорбиновой кислоты важно, поскольку она обеспечивает окислительно-восстановительный статус и приносит пользу для здоровья. Харрисон (Harrison F.E.) [97, р. 712] обнаружил благотворное влияние этого витамина при ухудшении когнитивных функций и болезни Альцгеймера [96, р. 107]. Тумбас и др. (Tumbas, V.T.) [98, р. 1278] обнаружили, что плоды шиповника демонстрируют высокие концентрации витамина С, кверцетина и эллаговой

кислоты. Эти результаты совпадают с результатами Хосни (Hosni) с соавторами [99, р. 121], которые заметили, что кверцетин и эллаговая кислота являются наиболее распространенными фенольными соединениями в шиповнике. Хуан Ю. (Huan Yi) с соавторами из университета традиционной китайской медицины Чэнду в Китае [100, р. 10, 11] в результате экспериментов на животных сообщили о благотворном влиянии кверцетина на такие заболевания как диабет, гиперлипидемия и неалкогольная жировая болезнь печени [102, р. 5]. Уэргемми и другие (Ouerghemmi S. et. al) [102, р. 174] обнаружили, что экстракты *Rosa canina* включают два фенольных соединения, производных кемпферола (кемпферол-3- О - глюкозид и кемпферол-7- О - глюкозид).

В настоящее время не существует эффективной терапии для лечения ревматоидного артрита. Шиповник традиционно используется для его профилактики и лечения. В клинических испытаниях было показано, что применение шиповника уменьшает симптомы, связанные с ревматоидным воспалением [103, р. 96]. Этот эффект связан с высоким содержанием в молекулах галактолипида (1,2-ди-О- α -линоленоил-3- О - β - D -галактопиранозил-sn-глицерин), имеющего противовоспалительные свойства [104, р. 9].

Ряд исследований показали, что натуральные антиоксидантные компоненты, включая полифенолы, уменьшают потерю костной массы, вызванную окислительным стрессом [105, р. 156]. В результате ягоды шиповника, благодаря высокому содержанию антиоксидантов, представляют собой потенциальное средство для лечения остеопороза за счет синтеза коллагенового матрикса [106, р. 2; 107, р. 11].

Ягоды шиповника обладают бактерицидным и антиоксидантным действием, а введение сиропа боярышника в состав продуктов было связано с тем, что он является важным растительным кардиотоником и применяется при заболеваниях сердца и сосудов [8, р. 74; 91, р. 5; 108, р. 68]. Эти свойства позволяют использовать ягодные сиропы в качестве добавок к кисломолочным продуктам для повышения антиоксидантной активности и улучшения вкусовых качеств.

Основными фенольными соединениями в ягодах винограда являются флавоноиды, включая антоцианы и проантоцианидины, гидроксикоричные кислоты. Кверцетин, который является флавоноидом, и ресвератрол, принадлежащий к группе стильбенов, являются мощными антиоксидантами, и предполагается, что они играют определенную роль в защите от сердечно-сосудистых заболеваний [109, р. 80; 110, р. 1206]. Также имеются данные о том, что конденсированные танины, называемые проантоцианидинами, обладают свойствами снижения уровня ОХС и артериального давления [111, р. 1792]. Виноград также богат фитостеролами и жирными кислотами, которые могут частично ингибировать кишечную абсорбцию эндогенно вырабатываемого холестерина как с пищей, так и с желчью, снижая их уровень в кровотоке и оказывая антиатерогенное и антиатерогенное действие, кардиозащитный эффект [112, р. 3524].

Большинство фенольных соединений, таких как антоцианы, флавонолы, производные гидроксикоричной кислоты и проантоцианидины, сосредоточены в кожуре ягод с минимальным количеством ресвератрола в семенах [113, р. 355]. Кроме того, в семенах преобладает содержание флаван-3-олов и проантоцианидинов, тогда как в мякоти содержатся лишь следовые количества антоцианов и других фенолов.

Экстракт виноградной кожуры (ЭВК) проявляет противовоспалительную, антиапоптотическую, антинекротическую, сердечно-сосудистую и антиканцерогенную активность и оказывает благотворное влияние на ряд заболеваний, включая старение кожи. Присутствие антиоксидантных свойств в экстракте виноградной кожуры оказывает более сильное действие по удалению свободных радикалов кислорода [114, р. 180].

По данным ВОЗ, около 1,28 млрд человек в мире страдают гипертонией. Фрукты и овощи, богатые флавоноидами и полифенолами, можно использовать в качестве естественной терапии для контроля гипертонии [115, р. 588]. Выявлено, что ЭВК богат проантоцианидином и способен оказывать антигипертензивное действие путем подавления окислительного стресса [116, р. 362]. Ресвератрол, обнаруженный в экстракте виноградной кожуры (ЭВК), представляет собой полифенол, который подавляет рост *Helicobacter pylori*, секрецию интерлейкина, индуцированную *H. pylori*, образование активных форм кислорода [117, р. 1933]. ЭВК проявляет также антимикробные свойства и эффективно используется против грамположительных бактерий (*Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus coagulans* и *Bacillus subtilis*), но более эффективен против грамотрицательных бактерий, таких как *Pseudomonas aeruginosa* или *Escherichia coli* [118, р. 1947].

Таким образом, чтобы улучшить полезные свойства кисломолочных продуктов, желательно обогатить их ягодными и овощными наполнителями. Боярышник, шиповник, рябина являются одними из самых популярных ягод, содержащих широкий спектр активных ингредиентов, таких как эфирные масла, фенольные, протеолитические ферменты, витамины и микроэлементы.

2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1 Постановка эксперимента и схема проведения исследований

Экспериментальные исследования в соответствии с поставленными задачами проводились на базе кафедры «Пищевой биотехнологии», в условиях лабораторий научно-исследовательского института пищевой безопасности Алматинского технологического университета, в лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов питания Казахской академии питания, в РГП на ПХВ «Институт генетики и физиологии» КН МНВО РК, а также в лаборатории кафедры «Технологии молока и молочных продуктов» Университета пищевых технологий в г. Пловдив, Болгария.

Первый этап исследований посвящен анализу научно-исследовательской литературы по изучению биотехнологических подходов при создании кисломолочных продуктов из козьего молока. На основе обобщения и систематизации отечественных и зарубежных публикаций представлен анализ современных тенденций в области производства комбинированных продуктов питания на молочной основе. Рассмотрены биотехнологии с использованием наполнителей растительного происхождения, позволяющие повысить технологические и потребительские свойства за счет повышения антагонистической и антиоксидантной активности, а также преимуществ использования пробиотиков в производстве кисломолочных продуктов. Изложены аспекты, касающиеся антиоксидантного потенциала растительных наполнителей, а также выделения молочнокислых бактерий, перспективных для молочной промышленности.

Дано обоснование выбора растительных наполнителей, перспективных в качестве обогащающих компонентов для производства кисломолочной продукции, определены изучаемые факторы и контролируемые параметры экспериментального исследования.

На втором этапе изучены органолептические, физико-химические и микробиологические показатели сырого козьего молока для определения пригодности его к употреблению и дальнейшей переработке. Проведено исследование морфологии колоний выделенных микроорганизмов на среде MRS, определена Грам принадлежность отобранных бактерий с помощью теста Греггерсона. Проведена молекулярно-генетическая идентификация микроорганизмов. По результатам оценки биохимических, физиологических и кислотообразующих свойств отобрали 5 культур молочнокислых бактерий. Выделенные культуры проверяли на антагонистическую активность; определяли биохимические, физиологические, органолептические свойства и кислотообразующую способность. Подобран штамм, обладающий антагонистической активностью для использования в качестве пробиотической культуры. Общая схема проведения исследований представлена на рисунке 1.



Рисунок 1– Общая схема проведения исследований

На третьем этапе были исследованы биотехнологические особенности создания бактериальной композиции для получения кисломолочных продуктов: подбор оптимального соотношения культур *Lactobacillus bulgaricus* B6 (из сухой закваски), *Streptococcus thermophilus* TA 45 (из сухой закваски) и *Lactobacillus fermentum* 14 (выделен из козьего молока) и доза вносимой закваски для получения сгустка с оптимальными технологическими, кислотообразующими, органолептическими характеристиками и антагонистической активностью.

Четвертый этап посвящен исследованию влияния дозы внесения растительных наполнителей на органолептические показатели кисломолочных продуктов, титруемой кислотности и роста молочнокислых бактерий.

На пятом этапе подобрана рецептура, разработана технологическая схема производства кисломолочных продуктов из козьего молока с пробиотическими свойствами; изучены физико-химические показатели, аминокислотный состав, БЦ белковой составляющей кисломолочных продуктов. Обосновано использование козьего молока в качестве питательного субстрата для бактериальной композиции.

Шестой этап посвящен определению срока годности кисломолочных продуктов на основе микробиологических показателей и антиоксидантной активности; проведена оценка пищевой безопасности кисломолочных продуктов.

На седьмом этапе проведена оценка эффективности применения кисломолочных продуктов при токсической загрузке крыс хлоридом кадмия, в отношении состояния системы антиоксидантной защиты, а также уровня белка, ОХС и ТГ в крови и тканях животных.

2.2 Объекты исследований

В диссертационной работе на разных этапах исследования объектами являлись:

1. Молоко натуральное козье.

2. Закваски:

YOMIX 495 LYO 100 DCU, YOMIX 883 LYO 50 DCU (Danisco, Германия);
бактериальная композиция, содержащая *Streptococcus salivarius subspecies thermophilus* TA 45 (Danisco, Германия), *Lactobacillus delbrukii subspecies bulgaricus* B6 (университет пищевых технологий, г. Пловдив, Болгария) и *Lactobacillus fermentum* 14.

3. Растительные наполнители:

- биологически активные добавки к пище сироп (КМ – Рябина) и сироп (КМ – Шиповник), ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции». Стандарт организации СТ 8863-1910-ПрК-06-2014, ПК «Фирма «Кызыл май» (Алматы, Казахстан);

- сироп из плодов боярышника, ОАО «Кемеровская фармацевтическая фабрика» (Россия).

- пищевой обогатитель «Экстракт виноградной кожуры» (сухой экстракт, представляющий собой природную полифенолсодержащую антиоксидантную композицию, растворимую в воде (Healthlife Biotechnology Co. Ltd, Китай)).

В сиропы вводили сухой экстракт, тщательно перемешивали и настаивали 30 мин. Дозу сиропа в количестве 5% устанавливали на основе результатов органолептических показателей готовых продуктов.

4. Кисломолочные продукты из козьего молока:

- кисломолочный продукт с сиропом боярышника и ЭВК;
- кисломолочный продукт с сиропом рябины и ЭВК;
- кисломолочный продукт с сиропом шиповника и ЭВК;
- кисломолочный продукт с ЭВК;

Все компоненты, используемые в процессе работы, отвечают требованиям действующей нормативно-технической документации.

2.3 Методы исследований

2.3.1 Стандартные методы исследований

При проведении экспериментов были использованы стандартные физико-химические, биохимические, микробиологические и молекулярно-генетические методы исследования. Эксперименты проводились с повторением не менее трех раз. Для получения полной характеристики сырья и готовых продуктов в диссертационной работе применяли следующие методы исследования, представленные в таблице 1.

Таблица 1– Основные методы исследований

№	Исследуемые показатели	Объекты исследования	Наименование методов исследования
1	2	3	4
1	Отбор проб и подготовка их к испытанию	Молоко и молочные продукты, закваски	Отбор проб отдельных продуктов и подготовка их к испытанию по ГОСТ 3622-68 [119, 120]
2	Органолептические показатели: внешний вид, цвет, запах, вкус и консистенция	Молоко цельное, молочная смесь: контрольные и опытные образцы	Метод органолептической оценки по ГОСТ 28283-2015 [121]
3	Плотность	Молоко	Ареометрический и пикнометрический методы по ГОСТ 3625-84 [122]
4	Титруемая кислотность	Молоко, образцы кисломолочных продуктов	Титриметрический метод по ГОСТ 3624-92 [123, 124]

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4
5	Активная кислотность	Закваска, образцы кисломолочных продуктов	Определение активной кислотности по ГОСТ Р 53359-2009 [125]
6	Массовая доля белка	Молоко, готовые кисломолочные продукты	Метод измерения массовой доли общего азота и белка по Кьельдалю, ГОСТ 23327-98 [126]
7	Массовая доля жира	Молоко, готовые кисломолочные продукты	Кислотный метод по ГОСТ 5867-90 [127]
8	Массовая доля СВ	Молоко	Метод основан на высушивании навески анализируемого продукта при температуре (102±2) °С, по ГОСТ 3626-73 [128]
9	Определение молочного сахара	Молоко, молочные продукты	Йодометрический метод, по ГОСТ Р 54667-2011 [129]
10	Определение фосфатазы	Молоко и кисломолочные продукты	Метод, основанный на гидролизе фенолфталеинфосфата натрия фосфатазой, по ГОСТ 3623-73 [130]
11	Определение содержания водорастворимых антиоксидантов	Молочные продукты	Амперометрический метод по ГОСТ Р 54037-2010 [131]
12	Определение массовой доли аминокислот	Молоко, молочные продукты	Метод капиллярного электрофореза с использованием системы «Капель 105» [132]
13	Определение чистоты, общей бактериальной обсемененности (проба на редуктазу, определение КМАФАнМ)	Молоко-сырье, образцы кисломолочных продуктов	Микробиологические методы анализа, по ГОСТ 8218-89 [133]
14	Определение характеристик заквасочных микроорганизмов	Закваска	Методы определения количественного и качественного состава микрофлоры ГОСТ 34372-2017 [134]
15	Количество молочнокислых микроорганизмов	Закваска и кисломолочные продукты	Методы выявления и подсчета количества мезофильных молочнокислых микроорганизмов по ГОСТ 10444.11-2013 [135]
16	Содержание дрожжевых и плесневых грибов	Закваска и кисломолочные продукты	Метод основан на способности дрожжей и плесневых грибов образовывать характерные колонии на твердой питательной среде, по ГОСТ 33566-2015 [136]
17	Определение бактерий рода <i>Salmonella</i>	Молоко и молочные продукты	Метод выявления бактерий рода <i>Salmonella</i> в жидкой неселективной среде, ГОСТ 31659-2012 [137]

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4
18	Определение <i>Staphylococcus aureus</i>	Молоко и молочные продукты	Метод, основанный на определении грамположительных, каталазоположительных микроорганизмов, образующих типичные и/или атипичные колонии на селективной питательной среде, дающей положительную реакцию на коагулазу на кроличьей плазме, по ГОСТ 30347-2016 [138]
19	Количество молочнокислых микроорганизмов	Закваски, образцы кисломолочных продуктов	Метод основан на способности микроорганизмов расти на агаризованных селективных питательных средах, определении морфологических и биохимических свойств, по ГОСТ 33951-2016, ГОСТ 9225-84 [139, 140]
20	Приготовление культуральных сред, Проверка характеристик питательных сред	Молоко козье, закваски, КП	Методы проверки характеристик питательных сред, приготовления культуральных сред по ГОСТ ISO 11133-2-2011 [141]
21	Определение количества микроорганизмов соответствующих групп, семейств, родов или видов	Молоко козье, закваски, кисломолочные продукты	Методы, основанные на культивировании для выявления присутствия (отсутствия) или определения соответствующих семейств, родов или видов, по ГОСТ 26670-91 [142]
22	Определение антагонистической активности бактерий	Молоко козье, закваски, кисломолочные продукты	Диффузионный метод, по ГОСТ Р 56201-2014 [143]
23	Содержание токсичных элементов, тяжелых металлов, радионуклидов: Свинец	Готовые кисломолочные продукты	Сан ПиН 2.3.2. 1078–2001 [144], Атомно-абсорбционный метод, по ГОСТ 30178–96 [145]
	Кадмий		Метод, основанный на минерализации продукта смесью кислот и реагентов, по ГОСТ Р 51766-2001 [146]
	Мышьяк		
	Ртуть		Метод, основанный на окислении ртути в двухвалентный ион в кислой среде, восстановлении в металлическую форму и определении атомно-абсорбционным спектрофотометром по ГОСТ 26927-86 [147]

Продолжение таблицы 1

1	2	3	4
24	Определение микотоксинов, афлатоксина М ₁	Кисломолочные продукты	Метод тонкослойной хроматографии, по ГОСТ 30711-2001 [148]
25	Определение пестицидов (в пересчете на жир): гексахлорциклогексан (α , β , γ -изомеры), МГ/КГ ДДТ и метаболиты, МГ/КГ	Кисломолочные продукты	Метод ТСХ, основанный на использовании слоя адсорбента в качестве неподвижной фазы, для разделения веществ в зависимости от сорбционной способности, между сорбирующим слоем и протекающим через него элюентом, по ГОСТ 23452-2015 [149]
26	Оценка концентрации ДНК	Образцы выделенных штаммов	Флуориметрический метод с использованием флуоресцентных красителей (Qubit) [150]

2.3.2 Общепринятые методы исследований

Органолептические показатели (цвет, консистенция, вкус и запах, внешний вид, плотность) образцов и готовой продукции определяли по пятибалльной шкале. *КМАФАнМ* оценивали по количеству выросших колоний на твердой питательной среде после того, как подвергали термостатированию при 37 °С через 24-48 часов [133; 134; 151, р. 198].

Принадлежность бактерий определяли по ГОСТ 10444.11-2013. При раздельном культивировании *Lactobacillus bulgaricus* и *Lactobacillus fermentum* выращивали на селективной среде MRS, *Streptococcus thermophilus* – на селективной питательной среде M17 [135; 142; 152, р. 1025].

Для *лиофилизации* [135; 153, с. 92; 154, с. 32] культуру выращивали на бульоне MRS в течение 24 часов при 39±2 °С. Состав среды MRS (г): ферментативный перевар казеина – 10,0; мясной экстракт – 10,0; дрожжевой экстракт – 4,0; триаммоний цитрат – 2,0; натрия ацетат – 5,0; магния сульфат – 0,2; марганца сульфат – 0,05; калия гидрофосфат – 2,0; глюкоза – 20,0; полисорбат – 1,08; агар-агар – 12,0-18,0; дистиллированная вода – 1 л; pH среды – 6,5.

Перед процедурой лиофилизации проверили культуру на соответствие морфо-культуральным и тинкториальным свойствам. Для этого оценивали рост культуры в жидкой питательной среде: придонный рост с помутнением среды, готовили мазки и окрашивали по Граму. Биомассу культуры собирали центрифугированием при 5000 оборотов/мин 30 минут. После центрифугирования осадок ресуспендировали защитной питательной средой для лиофилизации, имеющей следующий состав: 50 мл 6 %-ного раствора желатина, 10 мл 10 %-ного раствора сахарозы и 50 мл лошадиной сыворотки (Himedia, Индия), после чего встряхивали на шейкере при 1000 оборотах 10 минут до полного гомогенирования. Затем гомогенат разливали по 1 мл в стерильные пенициллиновые флаконы и

помещали в биомедицинский морозильник на 2 часа при -20°C , а затем помещали на ночь в низкотемпературный холодильник (-45°C). На рисунке 2 представлен процесс пробоподготовки к микробиологическому анализу.

Для лиофильной сушки микроорганизмов использовали следующие режимы: основная сушка – температура минус 40°C , вакуум – 0,12 мБар (120 Па), время – 5-6 часов; конечная сушка – температура минус $45 - 60^{\circ}\text{C}$, вакуум – 0,055 – 0,0011 мБар (5,5 Па), время – 6-8 часов.



Рисунок 2 – Настольный лиофилизатор Martin Christ Alpha 1-4 LSCplus

Для контроля жизнеспособности отобрали 2 флакона. В лиофилизат добавили 1 мл стерильной дистиллированной воды и растворили образец. Сделали ряд серийных разведений по Коху, произвели высев по 0,1 мл на 3 чашки Петри со средой MRS для подсчета жизнеспособных клеток. Посевы поместили в инкубатор при $39\pm 2^{\circ}\text{C}$ на 24 часа. По истечению времени инкубации произвели подсчет выросших колоний на чашках с MRS агаром.

Метод микробиологических разведений. В эксперименте для выращивания культур был применен стандартный метод последующих разведений. Первоначальное разведение выполняли следующим образом: 10 г образца или продукта смешивали с 90 г раствора Рингера в стерильном нетканом, микроперфорированном пакете и помещали в гомогенизатор для пробоподготовки образцов «Smasher». Через 30 секунд забирали пакет и из него стерильной пипеткой брали 1 мл пробы и помещали в стерильную пробирку с 9 мл раствора Рингера. Степень разведения исследуемых образцов до 10^9 . Далее, стерильную расплавленную питательную среду MRS (5 мл дрожжевого автолизата, 10 г пептона, 20 г глюкозы, 2 г лимоннокислого аммония, 5 г уксуснокислого натрия, 200 г $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$, 50 мг $\text{MnSO}_4 \times 4\text{H}_2\text{O}$, 2 г K_2PO_4 , 1 мл твин 80, 20 г агар-агара, 1 л. воды, pH 6,2-6,6) разливали по три чашки на каждое разведение по 20-25 мл.

После застывания на поверхность среды наносили по 0,1 мл соответствующего разведения.

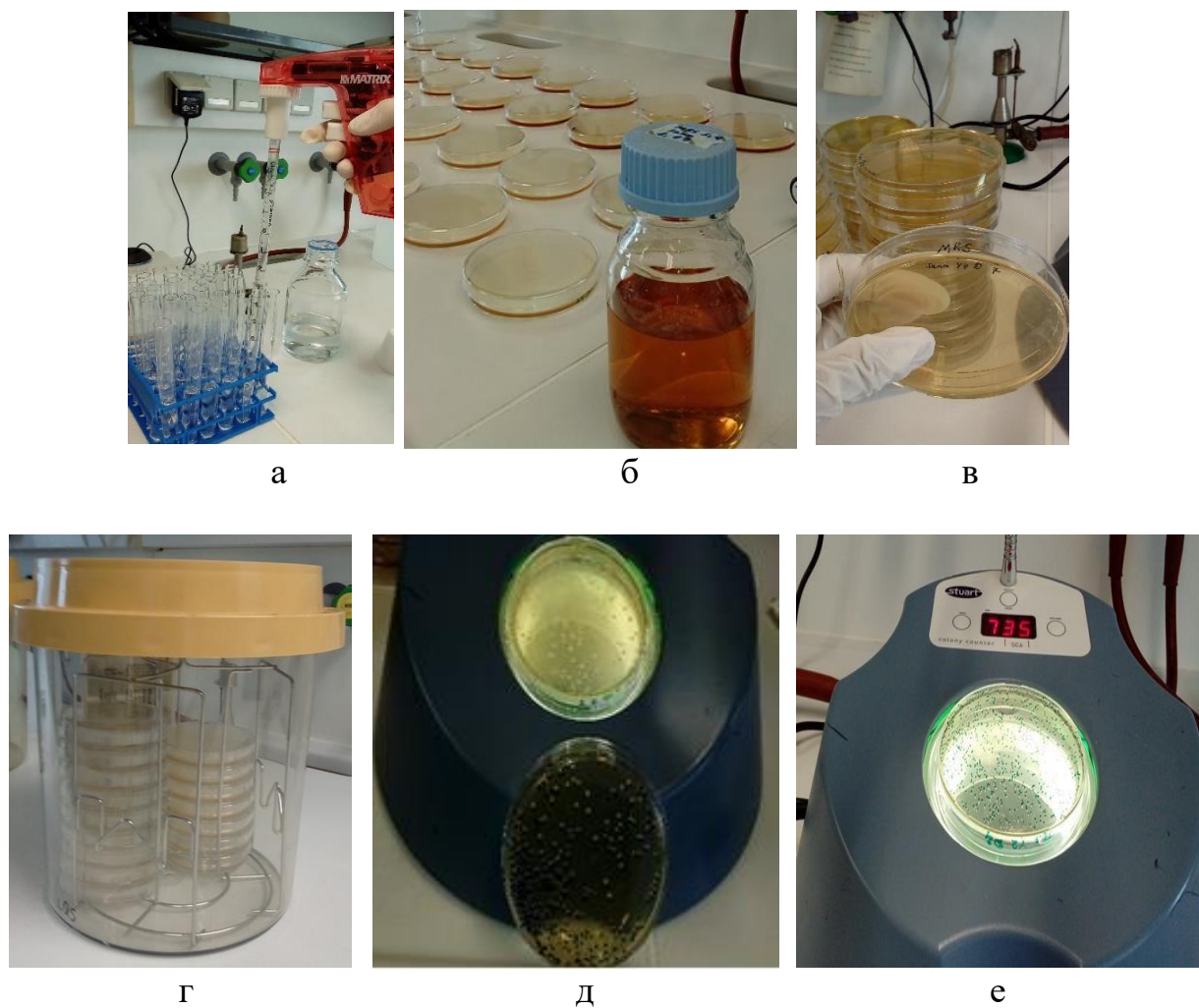


Рисунок 3 – Процесс пробоподготовки



Рисунок 4 – Экстракт виноградной кожуры

Процесс пробоподготовки (рисунок 3) включал в себя следующие этапы: а) метод микробиологических разведений, б) стерильные чашки Петри с твердой питательной средой, в) чашки Петри для посева культур из заквасок и кисломолочных продуктов на твердой питательной среде MRS, г) образцы, помещенные в анаэробную камеру для термостатирования, д) колонии молочнокислых микроорганизмов, е) подсчет выросших колоний. На рисунке 4 представлен экстракт виноградной кожуры в виде порошка.

Молекулярно-генетическая идентификация штаммов микроорганизмов методом секвенирования 16S рРНК гена по Сенгеру. Геномную ДНК выделяли из суточных культур бактерий с помощью набора для выделения ДНК «Pure Link Genomic DNA Kit» согласно протокола производителя (Invitrogen, Carlsbad, USA). Концентрацию ДНК в образцах определяли на флуориметре Qubit® 2.0 с помощью набора «Qubit™ds DNA HS AssayKit» (Life Technologies, Oregon, USA). В качестве генетического маркера был использован участок гена 16S рРНК. Для амплификации участка 16S РНК готовили реакционную смесь в количестве 25 мкл: 12,5 мкл «Q5® Hot Start High-Fidelity 2X Master Mix» (New England Biolabs Ins., USA); пара универсальных праймеров: 8F (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3') и 806R (5'-GGACTACCAGGGTATCTAAT-3') по 1,2 мкл в 10 µМ концентрации; ДНК матрица и вода до 25 мкл. Режим амплификации состоял из следующих циклов: 95°C в течение 5 минут, затем: 95°C – 30 секунд, 55°C – 40 секунд, 72°C – 50 сек - 30 циклов; элонгация при 72°C в течение 10 минут.

Очистку ПЦР–продукта проводили с использованием реагента «CleanSweep™» (Life Technologies, Карлсбад, Калифорния). Фрагменты гена 16S рРНК секвенировали с использованием комплекта Big Dye Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Applied Biosystems, США) согласно протокола производителя, с последующим разделением фрагментов на автоматическом генетическом анализаторе «3500 DNA Genetic Analyzer» (Applied Biosystems, Hitachi, Tokyo Japan) [155, р. 43].

Данные секвенирования обрабатывали в программе «SeqA» (Applied Biosystems). Поиск нуклеотидных последовательностей гомологичных генов 16S рРНК проводился при помощи программы «BLAST» (Basic Local Alignment Search Tool) в базе данных Международного банка генов (Национальный центр США по биотехнологической информации) [156]. В построении филогенетических деревьев использовали программу «MEGA 6» [157, с. 41]. Выравнивание нуклеотидных последовательностей генов проводилось с использованием алгоритма ClustalW. Для определения филогенетических соседей применяли метод BLAST Neighbor-Joining (NJ) [155].

Антибиотики определяли методом ВЖХ по ГОСТ 33526-2015.

Витамины. Витамин Е определяли по ГОСТ EN 12822-2014, Витамин С – по ГОСТ 34151-2017 методом ВЖХ.

Антагонистическую активность выделенных штаммов и микроорганизмов закваски определяли методом диффузии в агар на плотной питательной среде. В

стерильные чашки Петри разливали МПА, предварительно инокулированный соответствующим тест-микроорганизмом. Стерильным цилиндром с внутренним диаметром $6,0 \pm 0,1$ мм из нержавеющей стали на поверхности засеянной среды на одинаковом расстоянии друг от друга и от края чашки вырезали лунки в толще агара с засеянным тест-микроорганизмом. Тест-культуры выращивали на питательных средах с оптимальным составом для каждого вида бактерий: сусло-агар в смеси с МПА в соотношении 1:1. Затем в лунки каждой чашки вносили по 50 мкл жидкой суспензии суточных культур исследуемых молочнокислых бактерий и инкубировали при температуре 38 ± 1 °С в течение 24 часов. Об эффективности штаммов и заквасок судили по диаметрам зон ингибирования роста тест микроорганизма [142; 144; 158, с. 114].

В качестве тестовых культур для выявления антагонистической активности микроорганизмов и продуктов использовали бактериальные и грибковые микроорганизмы: *Mycobacterium citreum*, *Salmonella dublin*, *Micobacterium rubrum*, *Sarcina flava*, *Staphylococcus aureus* 6538p, *Escherichia coli* 25922.

Определение антиоксидантной активности готовых продуктов определяли амперометрическим методом на приборе «ЦветЯуза-01-АА» [159]. Экстракцию антиоксидантов проводили водным, водно-спиртовым и спиртовым путем. Антиоксидантную активность (мг/г) исследуемых продуктов вычисляли по следующей формуле:

$$AOA = CA \cdot V \cdot N \cdot m^{-1} \cdot 10^{-3} \quad (1)$$

где СА – величина АО кверцетина по калибровочному графику, мг/дм³;

V – объем пробы, см³;

m – навеска продукта, г;

N – разбавление образца [151].

Определение аминокислот (АК) методом капиллярного электрофореза, который обеспечивает высокую эффективность разделения, не требуя предварительной дериватизации и позволяет при этом анализировать малые объемы образцов. Массовую долю аминокислот в исследуемых образцах определяли на системе «Капель 105 М» [132].

Отбирали пробу в количестве 0,5 г, к нему приливали 10 мл раствора соляной кислоты в соотношении 1: 1. Далее проводили процесс минерализации при 110 °С в течение 16 ч. Полученный после фильтрации 50 мкл фильтрата высушивали в сухом воздушном потоке в вытяжном шкафу. В высушенный фильтрат добавляли реагент, расщепляющий аминокислоты (карбонат натрия) на 35 минут и снова высушивали. Затем растворяли в 0,5 мл воды и помещали в систему «Капель 105 М», снабженную немодифицированным кварцевым капилляром, внутренний диаметр которого составляет 75 мкм, эффективная длина - 50 см, а общая длина - 60 см. Детектирование проводилось при длине волны УФ спектра 254 нм. В качестве фонового электролита применяли ацетатно-аммиачный буфер с добавлением

CuSO₄ и β-циклодекстрина. Обработку данных проводили с помощью программного обеспечения «Эльфоран».

Массовую долю АК вычисляли по следующей формуле:

$$X = \frac{100 * V_{Г} * V_{кон} * C_{изм}}{1000 * m * V_{ал}} \quad (2)$$

где X – массовая доля АК в анализируемой пробе, % C_{изм} – массовая концентрация АК в растворе, мг/дм³ m – масса навески, мг;

V_Г – объем гидролизата для анализа, см³ V_{кон} – объем исследуемого раствора, см³;

V_{ал} – объем гидролизата для превращения АК в фенилтиокарбамильные производные, см³;

100 – множитель полученного результата, выраженный в процентах;

1000 – коэффициент согласования единиц объема.

Биологическую ценность белка оценивали, используя справочную шкалу аминокислот идеального белка. Формула расчета химического сора каждой аминокислоты (X) с учетом степени переваривания белка приведена ниже:

$$AC = \frac{AK_x}{AK_c} * СПБ \quad (3)$$

где: AC – скор аминокислоты, %;

AK_x – количество аминокислоты в исследуемом белке продукта, мг;

AK_c – количество аминокислоты в стандартном белке ФАО/ВОЗ, мг [160, с. 3].

СПБ - степень перевариваемости белка, %. При расчете химического сора аминокислоты СПБ принимают за 100 %.

При определении биологической ценности использовали КРАС, который определяет среднее значение избытка аминокислотного сора незаменимых АК по сравнению с наименьшим значением сора незаменимой АК. Формула расчета коэффициентов КРАС (%) и БЦ (%) представлена ниже:

$$КРАС = \frac{\sum \Delta PAC}{n}, \quad (4)$$

где ΔPAC – различие значений аминокислотного сора АК;

n – количество незаменимых АК.

Ниже приводится формула расчета ΔPAC:

$$\Delta PAC = C_i - C_{min}, \quad (5)$$

где C_i – скор определенной АК, %,

$C_{\min}$ – наименьшее значение сгора незаменимых АК,
%. Формула определения биологической ценности
белка:

$$\text{БЦ (\%)} = 100 - \text{КРАС} \quad (6)$$

Определение иммуноотропных свойств кисломолочных продуктов. Уровень холестерина, триглицеридов и общего белка в сыворотке крови определяли на автоматическом биохимическом анализаторе «COBAS Integra 400plus» (Швейцария, RocheDiagnostics), используя стандартные наборы «Bio-Lachema-Test» (Чехия) для биохимического анализа [161; 162].

Биохимические исследования. Действие кисломолочных продуктов, обогащенных сиропами шиповника, рябины, боярышника и ЭВК оценивали по биохимическим и гематологическим показателям в тканях крови крыс. Через 30 дней животных выводили из эксперимента одномоментной декапитацией под эфирным наркозом. У животных брали кровь и внутренние органы. В сыворотке крови определяли уровень ОХС, ТГ и общего белка.

Гомогенаты готовили из фрагментов печени и почек животных, для которых навеску образцов печени и почек измельчали и промывали 0,9%-ным солевым раствором до удаления остатков крови. Ткани печени и почек измельчали в десятикратном объеме 10 мМ калий-фосфатный буфер (pH 7,4), содержащий 0,1 мМ ЭДТА, в гомогенизаторе WPW-30 (Польша) тефлоновым пестиком (2000 об/мин, 10 циклов). Соотношение веса к объему было 1:10 (1 часть ткани, 10 частей буферного раствора). Полученный супернатант фильтровали и использовали для определения интенсивности ПОЛ. Для гомогенизации брали две почки (правую и левую) [163, с. 94].

Об интенсивности процессов ПОЛ в гомогенатах печени и почек судили по содержанию уровня ТБК-активных продуктов (продуктов, реагирующих с тиобарбитуровой кислотой). Концентрацию малонового диальдегида (МДА) определяли по методу Окава [164]: 10% гомогената ткани смешивали с додецилсульфатом натрия (лаурилсульфат натрия), ацетатным буфером (pH 3,5) и водным раствором ТБК. После нагревания при 95°C в течение 60 минут красный пигмент элюировали смесью н-бутанола с пиридином, учитывая, что для продукта конденсации ТБК-МДА характерно поглощение при длине волны 532. В качестве внешнего стандарта использовали тетраметоксипропан, уровень ПОЛ выражали по содержанию МДА.

Содержание ДК оценивали по методу Гаврилова и Мишкорудной [165]. Для определения содержания гидроперекисей липидов исследовали диеновые структуры липидов, гидропероксиды выделяли из 10%-ного гомогената смесью гептана и изопропилового спирта в пропорции 1:1. Оптическую плотность определяли на спектрофотометре при длине волны 233 нм.

Активность каталазы в суспензии эритроцитов. Каталазную активность в

эритроцитах определяли по методу Королюк [166], об активности фермента судят по скорости потери перекиси водорода в среде инкубации.

Концентрацию перекиси водорода определяли по реакции с молибдатом аммония, дающим стойкий окрашенный комплекс [167].

Определение активности супероксиддисмутазы (СОД) проводили в гомогенатах печени с помощью набора SOD Assay Kit-WST (фирмы Fluka, Япония), измерительных приборов – спектрофотометра Shimadzu RF-1650 и спектрофлуориметра Shimadzu RF-1501 (Япония) [168]. Для биохимических исследований, использовали реагенты фирм «Ольвекс Диагностикум» (Россия), «Hospitex Diagnostics» (Швейцария) и «Randox» (Великобритания).

2.3.3 Методы статистической обработки экспериментальных данных

Результаты экспериментальных исследований обрабатывались методами вариационной статистики. Статистическая обработка полученных данных проводилась с применением пакета программ «Statistica» (StatSoft Inc., США), по t-критерию Стьюдента, для парных сравнений – по критерию Ньюмена- Кеулса, для кратных, с предварительной проверкой выборок на нормальное распределение – по критерию проверки нормальности наблюдаемых величин Шапиро-Уилка. Все эксперименты проводились с повторением не менее трех раз. Полученные результаты обрабатывались стандартными методами [169]. Данные были представлены в виде средних значений и средних стандартных ошибок. Результаты считались достоверными при $p < 0,05$.

3 РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

3.1 Исследование козьего молока

Микробиологическому качеству козьего молока молочных ферм Алматинской области до настоящего времени уделялось относительно мало внимания. Учитывая возросший спрос на козье молоко, эта проблема в последнее время оказалась в центре внимания санитарных служб РК. Лучшее знание микробиологического качества козьего молока будет способствовать дальнейшим исследованиям, направленным на улучшение качества сырого и пастеризованного козьего молока. Так как на территории Казахстана стада включают в себя несколько пород животных и молоко получают сборное по породам, то были изучены физико-химические показатели по двум основным видам млекопитающих – Тоггенбургской и Зааненской породы [170].

Перед тем как выбрать качественное козье молоко, проводили его органолептическую оценку и определяли класс бактериальной обсемененности сырого молока. Для исследования были взяты пробы козьего молока утреннего удоя, органолептическая оценка которых представлена в таблице 2.

Таблица 2 - Результаты органолептической оценки молока козьего

Наименование показателей	Зааненская порода			Светло-бурая Тоггенбургская порода		
	Проба			Проба		
	№1	№2	№3	№1	№2	№3
Консистенция	Однородная жидкость, хлопья белка и комочки жира отсутствуют					
Вкус, запах	Чистый, не имеет посторонних запахов, привкусов					
Цвет	Белый, имеется слегка желтоватый оттенок					

Исходя из данных таблицы 2, органолептические показатели молока коз [171] находятся в пределах нормы и соответствуют требованиям ГОСТ 32940-2014 для молока высшего сорта.

Результаты общей бактериальной обсемененности молока козьего показаны в таблице 3. Физико-химические показатели молока представлены в таблице 4.

Таблица 3 – Определение класса бактериальной обсемененности молока козьего

Наименование образцов	Метод исследования	Продолжительность исследования, ч	Класс
Молоко козье	Стандартный	Более 5,5	1 класс
Количество бактерий в 1 мл (млн.)			До 0,5

Таблица 4 – Исследование физико-химических показателей молока, n=11

Наименование показателя	Норма	Козы Зааненской породы	Козы Тоггенбургской породы
Массовая доля жира, не менее, %	3,2	4,25±0,14**	4,35±0,12**
Массовая доля белка общего, не менее, %	2,8	3,71±0,08**	3,59±0,11**
Массовая доля лактозы, не менее, %		4,19±0,16**	4,17±0,15**
Массовая доля минеральных веществ, не менее, %		0,87±0,03	0,85±0,02
Массовая доля СВ, не менее, %	11,8	13,02±0,05*	12,96±0,07*
Массовая доля СОМО, не менее, %	8,2	13,0±0,12*	12,9±0,06*
Кислотность, °Т	Не ниже 14,0 и не выше 21,0	16,7±0,13*	17,0±0,12*
Группа чистоты, не ниже	II	I	I
Плотность, г/см ³	От 1,027 до 1,030	1,030±0,005*	1,029±0,005*
Результаты получены на основе расчета средней стандартной ошибки * p≤0,01 и ** p≤0,05			

В соответствии с данными таблицы 4, физико-химические показатели молока находятся в пределах нормы.

Далее проводили сравнительный анализ белкового состава козьего и коровьего молока для определения количества сывороточных (СВ) и казеиновых белков (КБ). В таблице 5 приведена динамика изменения белкового состава козьего и коровьего молока в процессе хранения.

Таблица 5 – Изменение белкового состава козьего и коровьего молока в процессе хранения, n=7

Наименование показателя	Продолжительность хранения при температуре (4±2) °С, ч			
	фон	24	48	72
Козье молоко				
Массовая доля белка, %	3,71±0,05	3,72±0,13	3,72±0,12	3,74±0,14
Содержание ОА, %	0,583±0,014	0,585±0,006	0,585±0,006	0,587±0,008
Содержание НБА, %	0,037±0,0016	0,037±0,0017	0,044±0,0012	0,045±0,0021
Содержание СВ, %	0,78±0,02	0,78±0,02	0,80±0,03	0,86±0,03
Содержание КБ, %	2,84±0,05	2,84±0,05	2,81±0,06	2,80±0,05
Коровье молоко				
Массовая доля белка, %	3,24±0,06	3,23±0,05	3,25±0,07	3,27±0,05
Содержание ОА, %	0,502±0,012	0,502±0,012	0,504±0,005	0,505±0,005
Содержание НБА, %	0,033±0,0015	0,033±0,0015	0,037±0,0017	0,039±0,0016

Продолжение таблицы 5

Содержание СБ, %	0,76±0,03	0,76±0,03	0,78±0,02**	0,80±0,03
Содержание КБ, %	2,45±0,04	2,44±0,05	2,42±0,03**	2,41±0,07
Результаты получены на основе расчета средней стандартной ошибки $p \leq 0,05$				

Данные, представленные в таблице 5, показывают, что соотношение КБ и СБ от общего количества белка после 48 и 72 часов следующее: для козьего молока – 77,9/24,4 и 76,2/25,1, для коровьего молока – 76/25,5 и 75,5/26,2 и для обоих видов молока составляет приблизительно 3:1. В процессе хранения после 48 и 72 часов в козьем молоке содержание СБ относительно контрольного образца увеличилось на 3,7% и 9,3%, соответственно в коровьем молоке – на 2,5 и 5%, соответственно. У всех видов молочного сырья при длительном хранении происходит повышение содержания небелкового азота (НБА), что, по-видимому, связано с нарастанием кислотности молока. В козьем молоке содержание НБА после 48 часов хранения увеличилось на 15,9%, после 72 ч хранения – на 17,7%, в коровьем молоке – на 10,8 и 15,3%, соответственно [172]. В таблице 6 представлен аминокислотный состав козьего молока.

Таблица 6 – Содержание аминокислот в козьем молоке, (мг/100г), n=7

Аминокислоты	Молоко козье
Общая сумма незаменимых аминокислот	1578±19,2
Валин	246±1,5*
Лейцин+изолейцин	576±6,4**
Лизин	287±2,7*
Метионин	95±1,6**
Треонин	164±2,9**
Триптофан	71±2,5**
Фенилаланин	139±1,6**
Общая сумма заменимых аминокислот	1800±30,7
Цистеин	49±0,7**
Аргинин	112±5,4**
Тирозин	105±2,7**
Гистидин	104±1,5**
Пролин	283±2,5*
Серин	142±2,7**
Аланин	117±3,1**
Глицин	47±0,5**
Аспарагиновая кислота	254±5,9**
Глутаминовая кислота	587±5,7*
Сумма аминокислот	3378±49,9
Результаты получены на основе расчета средней стандартной ошибки * $p \leq 0,01$, ** $p \leq 0,05$	

Как видно из данных таблицы 6, в козьем молоке суммарное содержание

незаменимых аминокислот составляет $1578 \pm 22,3$. Максимальное количество незаменимых аминокислот показали лейцин $350 \pm 4,28$ мг/100 г ($p \leq 0,05$) и $226 \pm 2,13$ мг/100 г ($p \leq 0,01$) изолейцин, что в сумме составило $576 \pm 6,41$ мг/100г ($p \leq 0,05$), а минимальное количество показала аминокислота триптофан – $71 \pm 2,58$ мг/100 г ($p \leq 0,05$). При этом максимальное количество замещаемой аминокислоты показал пролин – $283 \pm 2,54$ мг/100 г ($p \leq 0,01$), а минимальное – глицин в количестве $47 \pm 0,46$ мг/100 г ($p \leq 0,01$).

Для количественной оценки биологической ценности белков козьего молока рассчитано значение аминокислотного сора с учетом содержания аминокислоты в исследуемом продукте с идеальным содержанием белка, принятым в качестве эталона по шкале ФАО/ВОЗ, результаты которого представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Аминокислотный скор козьего молока

Аминокислоты	Шкала ФАО/ВОЗ		Козье молоко	
	А, мг/100 г	С, %	А, мг/100 г	С, %
Валин	5,0	100	6,63	132,6
Лейцин	7,0	100	9,51	135,8
Изолейцин	4,0	100	6,9	172,5
Фенилаланин + тирозин	6,0	100	7,53	125,5
Метионин + цистеин	3,5	100	3,64	104
Треонин	4,0	100	4,6	115
Триптофан	1,0	100	1,9	190
Лизин	5,5	100	7,7	140

По данным таблицы 7, аминокислотный скор козьего молока отличался отсутствием лимитирующих аминокислот, наибольший результат по аминокислотному скору показала аминокислота триптофан – 190 %, а минимальный скор составил 104 % (метионин + цистеин). Микробиологические показатели козьего молока представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Микробиологическое исследование сырого козьего молока

Наименование показателей	Норма по НД		Результаты
	ТР ТС 033/2013	Сан ПиН 2.3.2.1078-01	
КМАФАнМ, КОЕ/см ³ (г), не более	$5 \cdot 10^5$	$5 \cdot 10^5$	$1,3 \cdot 10^5$
БГКП (колиформы)	0,01	0,1	Не обнаружено
Патогенные, в т. ч. сальмонеллы и <i>Listeria monocytogenes</i> , в 25 г	Не допускаются	Не допускаются	Не обнаружено
<i>Staphylococcus aureus</i> , в 1,0 г	Не допускаются	Не допускаются	Не обнаружено
Дрожжи, КОЕ/см ³ (г), не более	50	50	Не обнаружено
Плесени, КОЕ/см ³ (г), не более	50	50	Не обнаружено

Как видно из данных таблицы 8, в козьем молоке не наблюдалось высокой бактериальной обсемененности. Исходя из данных таблиц 2 и 4, можно заключить, что обе породы коз являются пригодными для использования в молочном производстве, однако, учитывая большую численность коз Зааненской породы по сравнению с другими породами коз, а также более высокое содержание белка, было решено в качестве сырья использовать молоко коз Зааненской породы.

3.2 Выделение и идентификация бактерий

3.2.1 Морфологические и биохимические свойства выделенных культур

В настоящее время особое внимание в пищевой биотехнологии уделяется выделению новых, полезных штаммов молочнокислых бактерий для разработки кисломолочных продуктов с высокими пробиотическими свойствами. Для получения новых штаммов с заданными свойствами применяются бактерии, обладающие высокой скоростью роста, продуцирующие полисахариды, антимикробные и другие соединения.

Объектом для выделения молочнокислых бактерий служило молоко сырое козье. Выделение чистых культур бактерий проводили многократным пассивированием в стерильное молоко для дальнейшего культивирования при температуре, оптимальной для мезофильных культур (34 ± 2) °С. Идентификацию выделенных культур проводили по культурально-морфологическим и биохимическим признакам. Селекция бактерий включала следующие стадии: отбор образцов для исследования, выделение чистых культур, определение свойств выделенных штаммов с последующим проведением идентификации. Всего в ходе проведения работы было выделено 15 штаммов, которые были исследованы на способность образовывать сгусток на стерильном молоке в течение 24 часов, на морфологокультуральные и на биохимические свойства. Морфология колоний выделенных микроорганизмов на среде MRS представлена на рисунке 5.

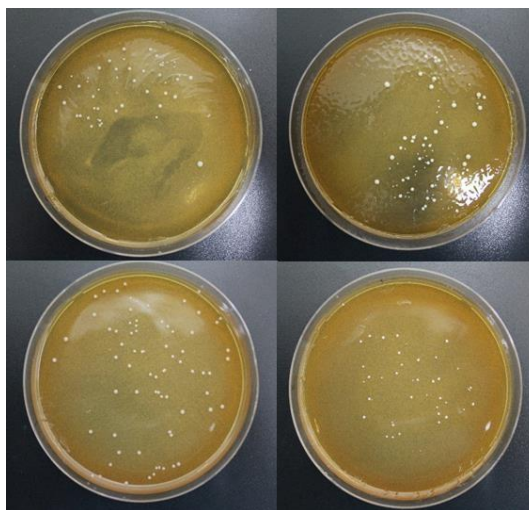


Рисунок 5 – Морфология колоний выделенных культур

Морфологическое и культуральное описание выделенных грамположительных культур, сквашивающих молоко, представлено в таблице 9.

Таблица 9 – Морфологическое и культуральное описание выделенных культур

№	Перечень культур	Морфологическое описание	Морфологические признаки клеток	Сквашивание молока	Каталазная активность
1	2	3	4	5	6
1	3/2	Белые блестящие выпуклые колонии диаметром от 0,5 до 2,5 мм, с ровными краями	Палочки, цепочки из 4-8 сегментов, величина клеток 1,2-1,4 мкм	+	-
2	12 мелкие	Белые, крупные, диаметром 2-3 мм, выпуклые, блестящие, с ровными краями	Цепочки палочковидной формы длиной 2,8- 3,2 мкм, толщиной 0,5-0,8 мкм	+	-
3	11 желтые, крупные	Крупные, диаметром 2-3 мм, желтые, выпуклые, с ровными краями	В виде цепочек из 4-6 палочек, величина клеток 0,8 -1,2 мкм	+	-
4	11 белые	Матовые колонии с ровными краями, от 0,5 до 3 мм в диаметре, по профилю выпуклые	Палочковидные, длиной 4-6 мкм, толщиной 0,5-0,7 мкм	+	-
5	9 мелкие	Полупрозрачные с беловатым оттенком, диаметром 1-1,5 мм с ровными краями, по профилю выпуклые	Цепочки из 5-8 сегментов, величина клеток 0,9-1,3 мкм	+	-
6	5	Белые, крупные, диаметром 2-3 мм, выпуклые, блестящие, с ровными краями	Цепочки из 4-8 палочек, величина клеток 1,1-1,3 мкм	+	-
7	3	Белые, крупные, диаметром 2,5-3 мм, выпуклые, блестящие, с ровными краями	Палочки, в виде цепочек, длиной 5- 10 мкм, толщиной 0,9-1,2 мкм	+	-
8	9 большие	Белые, крупные, диаметром 3 мм, выпуклые, блестящие, с ровными краями	Короткие палочки, соединенные в цепочки, величина клеток: длина 3-5 мкм, ширина 0,7-1,6 мкм	+	-
9	13	Белые, небольшие, около 1,7-2,1 мм, слегка выпуклой формы, с ровными краями	Цепочки из 6-8 палочек, величина клеток: длина – 5-7 мкм, ширина 1,0-1,3 мкм	+	-

Продолжение таблицы 9

1	2	3	4	5	6
10	9 кремовые	Белые с кремовым оттенком колонии диаметром 2 мм, глянцевые, выпуклые, с ровными краями	Короткие палочки, расположены в виде скоплений из 4-6 и 8-11 клеток; длина клеток составляет около 3-4,5 мкм.	+	-
11	16	Колонии белого цвета, крупные, диаметром 2-3 мм, выпуклые, блестящие, с ровными краями	Цепочки из 6-10 сегментов, величина клеток 0,9-1,2 мкм	+	-
12	12 белые, крупные	Колонии с кремовым оттенком, среднего диаметра 1,5 мм, блестящие, выпуклые, с ровными краями	Цепочки из 5-8 сегментов палочек, величина клеток 0,6-1,3 мкм	+	-
13	9 крупные, кремовые	Белые с кремовым оттенком, колоний диаметром 2-4 мм, глянцевые, выпуклые	Диплококки, а также цепочки длиной 0,8-0,9 мкм	+	-
14	4/3	Мелкие, диаметром 0,5-2 мм, округлой формы белого цвета, с ровными краями, поверхность гладкая, по профилю плоские	Короткие палочки с закругленными концами, неподвижны, располагаются в виде коротких или длинных цепочек, размер клеток - 0,5-1,0 x 1,2-3,5 мкм	+	-
15	11 белые	Гладкие колонии белого цвета диаметром 2-3 мм, выпуклые, с ровными краями	Короткие цепочки длиной 3-7 мкм, толщиной 0,5-0,8 мкм	+	-
Примечание: Б – условное обозначение «бактерия».					

Как видно из данных таблицы 9, сквашивание молока было отмечено у всех 15 культур. Грам принадлежность отобранных бактерий выявляли с помощью теста Греггера. Все образцы были грамположительными.

Проведен анализ способности культур к ферментации ряда углеводов, в том числе раффинозы, многоатомных спиртов маннита и сорбита, результаты которого показаны в таблице 10. Технологические свойства выделенных штаммов представлены в таблице 11.

Таблица 10 – Биохимические свойства выделенных культур

№ п/п	Штамм	Целлобиоза	Галактоза	Фруктоза	Сахароза	Лактоза	Мальтоза	Глюкоза	Раффиноза	Арабиноза	Манноза	Рамноза	Ксилоза	Сорбит	Манит	Рибоза	Крахмал
1	Б-1	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-
2	Б-2	±	+	+	±	+	+	+	±	±	+	-	-	-	-	-	-
3	Б-3	±	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
4	Б-4	±	+	+	±	+	+	+	±	-	-	-	-	-	-	-	-
5	Б-5	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-
6	Б-6	+	+	+	-	+	±	+	±	-	-	-	+	-	-	+	-
7	Б-7	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-
8	Б-8	+	+	+	±	+	+	+	+	-	-	-	±	-	-	-	-
9	Б-9	±	+	-	-	+	-	+	-	-	-	-	±	-	-	-	-
10	Б-10	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+	+	+
11	Б-11	-	+	+	-	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+	-	-
12	Б-12	-	+	+	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	+	-
13	Б-13	-	±	+	-	+	-	+	-	-	+	-	-	±	+	-	-
14	Б-14	-	+	+	±	+	+	+	+	±	-	-	±	-	-	-	-
15	Б-15	-	-	-	-	+	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-

Примечание: (+) - результат положителен; (-) - результат отрицателен; (±) – в большинстве случаев реакция проявляется положительно

Таблица 11 – Технологические свойства выделенных штаммов

№ п/п	Условное обозначение штамма	Оптимальное время сквашивания, ч	Кислотообразование, °Т		Температура роста, °С		Температура, роста, °С	
			После 6 ч	После 24 ч	Оптимальная	Предельная	40	45
1	2	3	4	5	6	7	8	9
1	Б-1	4-5	98,5±0,5*	160±4,0**	28-32	10-42	+	-
2	Б-2	4-6	80,5±0,5*	128,5±1,2*	40-45	15-48	+	+
3	Б-3	5,5-6,5	105,5±2,0**	180,6±5,4**	30-34	10-39	-	-
4	Б-4	4-5	85,2±1,6**	137,5±2,7**	35-39	10-48	+	+
5	Б-5	4-6	82,5±0,5*	138,6±5,8**	35-39	15-45	+	+
6	Б-6	3,5-5	100±3,0**	148,2±3,6**	28-32	10-38	-	-
7	Б-7	4-5	110,5±4,5**	230,5±6,5**	28-32	10-39	+	-
8	Б-8	4,5-5,5	86,3±0,7*	140,3±4,7**	40-43	15-50	+	+
9	Б-9	3,5-5	125,6±4,2**	195±6,0**	39-41	15-47	+	+
10	Б-10	4-5	130,4±5,8**	210,4±7,3**	40-45	15-46	+	+
11	Б-11	4-5	98,6±4,1**	163,8±7,4**	28-34	10-39	-	-
12	Б-12	5-6	97,5±4,3**	158,3±5,9	28-32	10-39	-	-
13	Б-13	8-9	123,5±3,7**	180,6±8,5	30-32	10-41	+	-

Продолжение таблицы 11

1	2	3	4	5	6	7	8	9
14	Б-14	4-5,5	75,3±0,6*	130,5±3,7**	38-41	15-50	+	+
15	Б-15	4-5	95,5±2,5**	186,5±7,5**	28-32	10-43	+	-
Результаты получены на основе расчета средней стандартной ошибки * $p \leq 0,01$, ** $p \leq 0,05$								

Как видно из таблицы 11, оптимальной кислотообразующей способностью обладали штаммы Б-2, Б-4, Б-8, Б-14 и Б-5, титруемая кислотность которых в течение 24 суток культивирования увеличилась на 50 °Т, 52 °Т, 54 °Т, 55 °Т и 56 °Т, соответственно. Данные характеристики штаммов учитывали при конструировании бактериальных композиций для получения кисломолочных продуктов со сроком хранения более 7 дней.

3.2.2 Молекулярно-генетическая идентификация выделенных бактерий

По результатам биохимической, морфологической оценки и кислотообразующих свойств отобрали 5 штаммов для проведения молекулярно-генетической идентификации. Из полученной ДНК методом ПЦР был амплифицирован фрагмент 16S рРНК гена, размером около 600 п.н. (пар нуклеотидных оснований). Концентрация ДНК по показаниям флуориметра Quibit представлена в таблице 12. Результаты амплификации образцов отображены на рисунке 6.

Таблица 12 – Концентрация ДНК по показаниям флуориметра Quibit

№ п/п	Наименование пробы	Концентрация, нг/мкл
1	2	44,0
2	4	81,2
3	5	69,0
4	8	78,0
5	10	66,4

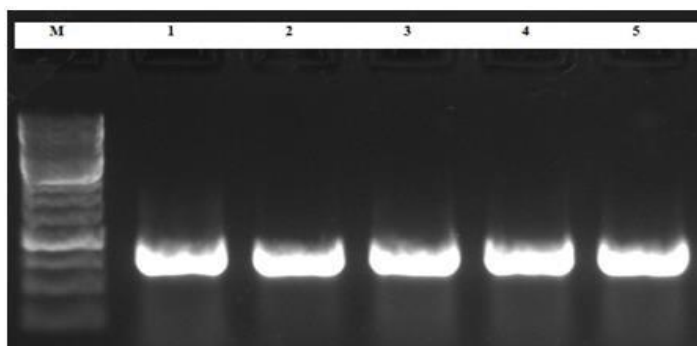


Рисунок 6 – ПЦР – продукт, полученный с универсальными праймерами к участку 16S рРНК гена

Примечание: 1-5 образцы; М - Маркер длин O'GeneRuler 1 kb DNA Ladder

После реакции секвенирования проводили вторую очистку ПЦР-продукта набором для очистки реакций секвенирования BigDye XTerminator Purification Kit и загружали в генетический анализатор ABI 3500 для проведения капиллярного электрофореза.

Нуклеотидные последовательности 16S рРНК гена идентифицируемых штаммов были анализированы и объединены в общую последовательность в программном обеспечении SeqaA (Applied Biosystems). После получения нуклеотидной последовательности протяжённостью около 600 п.н., была проведена идентификация в Международной базе данных GeneBank по алгоритму BLAST.

Последовательность нуклеотидов для определения *Lactobacillus fermentum* 2 выглядела следующим образом:

TGCTTGACCTGATTGATTTTGGTCGCCAACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACG
TAGGTAACCTGCCCAGAAGCGGGGACAACATTTGGAACAGATGCTAATACCGCATAAC
AACGTTGTTTCGCATGAACAACGCTTAAAAGATGGCTTCTCGCTATCACTTCTGGATGGACC
TGCGGTGCATTAGCTTGTTGGTGGGGTAACGGCCTACCAAGGCGATGATGCATAGCCGAG
TTGAGAGACTGATCGGCCACAATGGGACTGAGACACGGCCCATACTCCTACGGGAGGCAG
CAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGCAAGCCTGATGGAGCAACACCGCGTGAGTGAAG
AAGGGTTTCGGCTCGTAAAGCTCTGTTGTTAAAGAAGAACACGTATGAGAGTAACTGTTC
ATACGTTGACGGTATTTAACCAGAAAGTCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAA
TACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGAGAGTGCAGGCGGTTTTTC
TAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTTAACCGGAGAAGTGCATCGGAAACTGGATAACTT
GAGTGCAGAAGAGGGTAGTGGAACCTCCATGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGA
AGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTACCTGGTCTGCAACTGACGCTGAGACTCGAAAGCAT
GGGTAGCGAACAGGA

На рисунке 7 представлено филогенетическое дерево, построенное на основе анализа фрагмента гена 16S рРНК, показывающее родство *Lactobacillus fermentum* 2 со штаммом *Lactobacillus fermentum* CIP 102980.

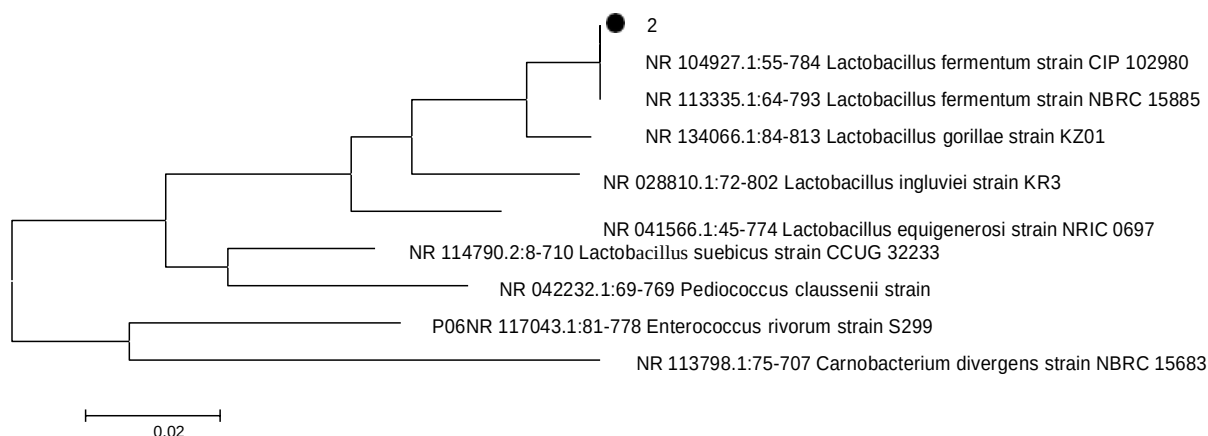


Рисунок 7 – Филогенетическое дерево, показывающее родство *Lactobacillus fermentum* 2 со штаммом *Lactobacillus fermentum* CIP 102980

Степень гомологии с ближайшим штаммом NR 104927.1:55-784 *Lactobacillus*

fermentum strain CIP 102980 составила 100,00%.

Последовательность нуклеотидов для *Lactobacillus fermentum* 4:

TGCTTGCACCTGATTGATTTTGGTCGCCAACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACG
TAGGTAACCTGCCCAGAAGCGGGGGACAACATTTGGAACAGATGCTAATACCGCATAAC
AACGTTGTTTCGCATGAACAACGCTTAAAAGATGGCTTCTCGCTATCACTTCTGGATGGACC
TGCGGTGCATTAGCTTGTGGTGGGGTAACGGCCTACCAAGGCGATGATGCATAGCCGAG
TTGAGAGACTGATCGGCCACAATGGGACTGAGACACGGCCCATACTCCTACGGGAGGCAG
CAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGCAAGCCTGATGGAGCAACACCGCGTGAGTGAAG
AAGGGTTTCGGCTCGTAAAGCTCTATTGTTAAAGAAGAACACGTATGAGAGTAACTGTTT
ATACGTTGACGGTATTTAACCAGAAAGTCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAA
TACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGATTTATTGGGCGTAAAGAGAGTGCAGGCGGTTTTT
TAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTTAACCGGAGAAGTGCATCGGAAACTGGATAACTT
GAGTGCAGAAGAGGGTAGTGGAAGTCCATGTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGA
AGAACACCAGTGGCGAAAGGCGGCTACCTGGTCTGCAACTGACGCTGAGACTCGAAAGC
ATGGGTAGCGAACAGGA

На рисунке 8 представлено филогенетическое дерево, построенное на основе анализа фрагмента гена 16S рРНК, показывающее родство *Lactobacillus fermentum* 4 со штаммом *Lactobacillus fermentum* CIP 102980.

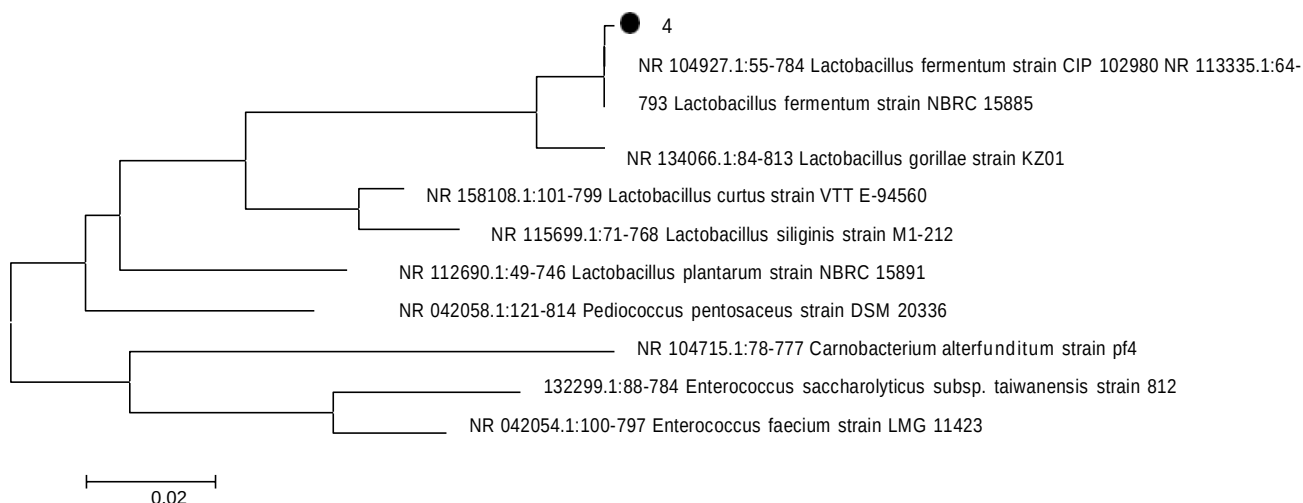


Рисунок 8 – Филогенетическое дерево, показывающее родство *Lactobacillus fermentum* 4 со штаммом *Lactobacillus fermentum* CIP 102980

Степень гомологии с ближайшим штаммом NR 104927.1:55-784 *Lactobacillus fermentum* strain CIP 102980 составила 99,73%.

Последовательность нуклеотидов для *Lactobacillus fermentum* 8:

CAACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTAGGTAACCTGCCAGAAGCGGGGGACAAC
ATTTGGAACAGATGCTAATACCGCATAACAACGTTGTTTCGCATGAACAACGCTTAAAAG
ATGGCTTCTCGCTATCACTTCTGGATGGACCTGCGGTGCATTAGCTTGTGGTGGGGTAAC
GGCCTACCAAGGCGATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACAATGGGACTG
AGACACGGCCCATACTCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGCAAG
CCTGATGGAGCAACACCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAGCTCTGTTGTTA
AAGAAGAACACGTATGAGAGTAACTGTTTCATACGTTGACGGTATTTAACCAGAAAGTCAC

Продолжение последовательности нуклеотидов для *Lactobacillus fermentum* 8:
 GGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGATTAT
 TGGGCGTAAAGAGAGTGCAGGCGGTTTTCTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTTAACCG
 GAGAAGTGCATCGGAAACTGGATAACTTGAGTGCAGAAGAGGGTAGTGGAAGTCCATGTG
 TAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAG

На рисунке 9 представлено филогенетическое дерево, построенное на основе анализа фрагмента гена 16S рНК, показывающее родство *Lactobacillus fermentum* 8 со штаммом *Lactobacillus fermentum* CIP 102980.

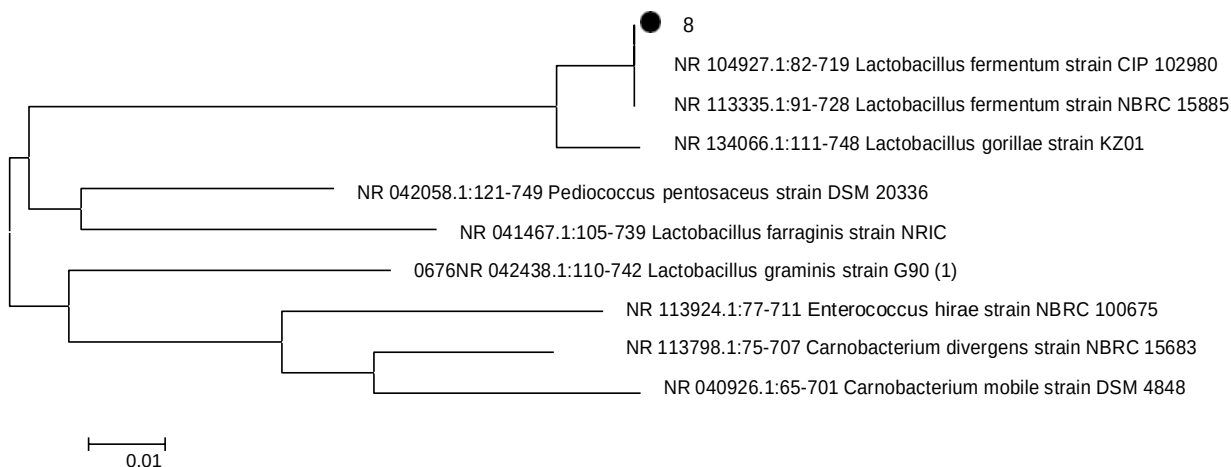


Рисунок 9 – Филогенетическое дерево, показывающее родство *Lactobacillus fermentum* 8 со штаммом *Lactobacillus fermentum* CIP 102980

Степень гомологии с ближайшим штаммом NR 104927.1:82-719 *Lactobacillus fermentum* strain CIP 102980 составила 100,00%.

Последовательность нуклеотидов для *Lactobacillus fermentum* 14:

ACGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTAGGTAACCTGCCCAGAAGCGGGGGACA
 ACATTTGGAACAGATGCTAATACCGCATAACAACGTTGTTCGCATGAACAACGCTTAAA
 AGATGGCTTCTCGCTATCACTTCTGGATGGACCTGCGGTGCATTAGCTTGTGGTGGGGTA
 ATGGCCTACCAAGGCGATGATGCATAGCCGAGTTGAGAGACTGATCGGCCACAATGGGAC
 TGAGACACGGCCCATACCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCACAATGGGCGCA
 AGCCTGATGGAGCAACACCGCGTGAGTGAAGAAGGGTTTCGGCTCGTAAAGCTCTGTTGT
 TAAAGAAGAACACGTATGAGAGTAACTGTTTCATACGTTGACGGTATTTAACCAGAAAGTC
 ACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAATACGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGATT
 ATTGGGCGTAAAGAGAGTGCAGGCGGTTTTCTAAGTCTGATGTGAAAGCCTTCGGCTTAA
 CCGGAGAAGTGCATCGGAAACTGGATAACTTGAGTGCAGAAGAGGGTAGTGGAAGTCCAT
 GTGTAGCGGTGGAATGCGTAGATATATGGAAGAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTACCTGG
 TCTGCAACTGACGCTGAGACTCGAAAGCATGGGTAGCGAAC

На рисунке 10 представлено филогенетическое дерево, построенное на основе анализа фрагмента гена 16S рНК, показывающее родство *Lactobacillus fermentum* 14 со штаммом *Lactobacillus fermentum* NBRC 15885.

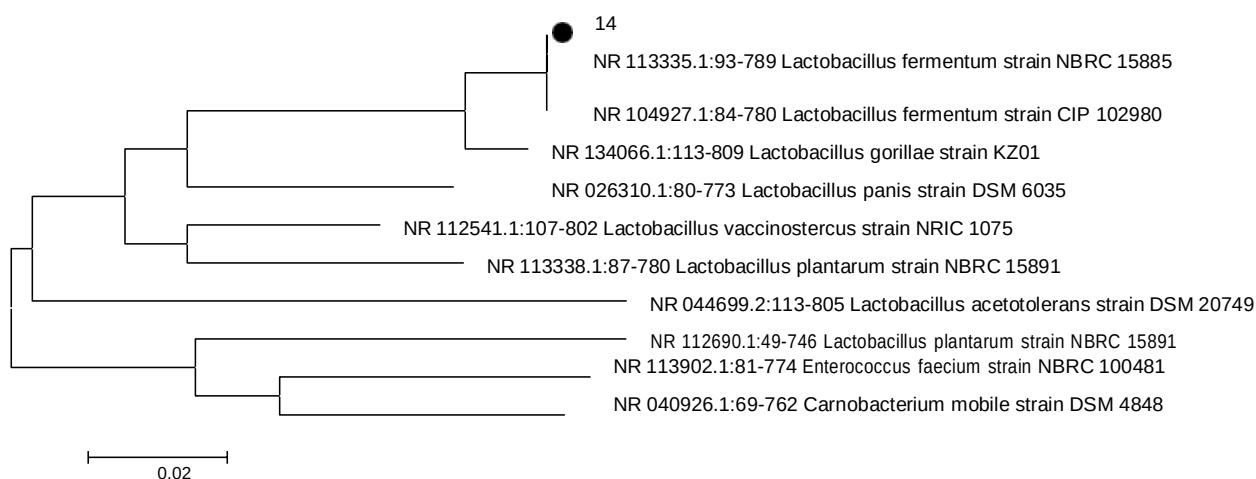


Рисунок 10 – Филогенетическое дерево, построенное на основе анализа фрагмента гена 16S рРНК, показывающее родство *Lactobacillus fermentum* 14 со штаммом *Lactobacillus fermentum* NBRC 15885

Степень гомологии с ближайшим штаммом NR 113335.1:93-789 *Lactobacillus fermentum* strain NBRC 15885 составила 99,86%.

Последовательность нуклеотидов для *Enterococcus faecium* 5:

CCGAGTGCTTGCACTCAATTGGAAAGAGGAGTGGCGGACGGGTGAGTAACACGTG
GGTAACCTACCCATCAGAGGGGGATAACACTTGGAAACAGGTGCTAATACCGCATAACAG
TTTATGCCGCATGGCATAAGAGTGAAAGGCGCTTTCGGGTGTCGCTGATGGATGGACCCG
CGGTGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCCACGATGCATAGCCGACCT
GAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGACTCCTACGGGAGGCAGC
AGTAGGGAATCTTCGGCAATGGACGAAAGTCTGACCGAGCAACGCCGCGTGAGTGAAGA
AGGTTTTTCGGATCGTAAAACTCTGTTGTTAGAGAAGAACAAGGACGTTAGTAACTGAACG
TCCCCTGACGGTATCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGCCAGCAGCCGCGGTAAT
ACGTAGGTGGCAAGCGTTGTCCGGATTTATTGGGCGTAAAGCGAGCGCAGGCGGTTTCTT
AAGTCTGATGTGAAAGCCCCCGGCTCAACCGGGGAGGGTCATTGGAAACTGGGAGACTTG
AGTGCAGAAGAGGAGAGTGGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATGCGTAGATATATGGAG
GAACACCAGTGGCGAAGGCGGCTCTCTGGTCTGTAAGTACGCTGAGGCTCGAAAGCGTG
GGGAGCAAACAGGA

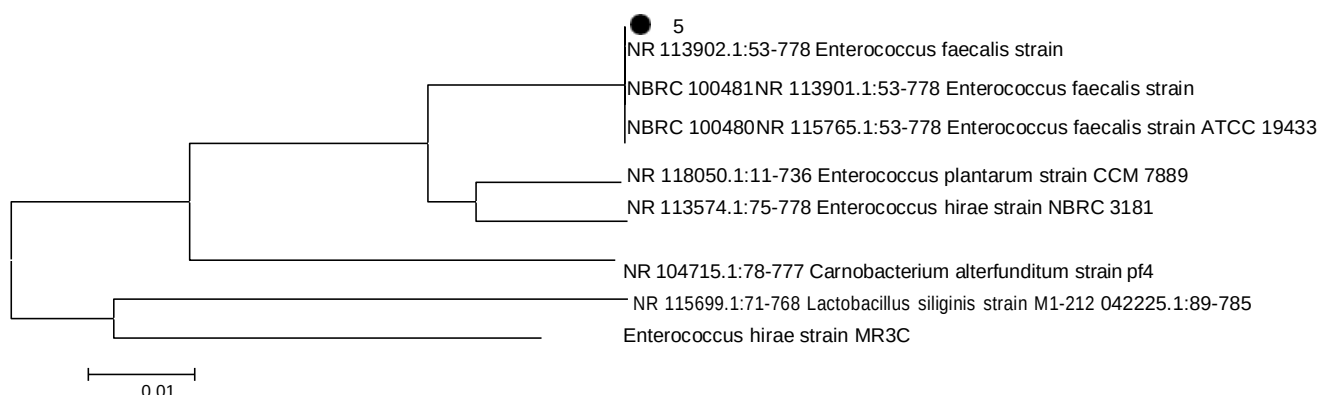


Рисунок 11 – Филогенетическое дерево, построенное на основе анализафрагмента гена 16S рРНК *Enterococcus faecium*

Степень гомологии с ближайшим штаммом *NR 113902.1:53-778 Enterococcus faecalis strain NBRC 100481* составила 100,00%.

В результате молекулярно-генетической идентификации изучаемых штаммов, впервые выделенных из козьего молока Алматинской области определены значения гена 16S рРНК для бактериальных штаммов: для штамма *Lactobacillus fermentum 14* идентичность со штаммом *NR 113335.1:93-789 Lactobacillus fermentum* штамма *NBRC 15885* составила 99,86%; для штамма *Lactobacillus fermentum 8* идентичность со штаммом *NR 104927.1:82-719 Lactobacillus fermentum* штамма *CIP 102980* составила 100,00%; для штамма *Lactobacillus fermentum 4* степень гомологии с ближайшим штаммом *NR 104927.1:55-784 Lactobacillus fermentum* штамма *CIP 102980* составила 99,73%; для штамма *Lactobacillus fermentum 2* степень гомологии с ближайшим штаммом *NR 104927.1:55-784 Lactobacillus fermentum* штамма *CIP 102980* составляла 100,00% [173].

Сравнительный анализ нуклеотидных последовательностей штаммов бактерий показал их высокую идентичность с эталонным штаммом.

3.3 Обоснование подбора заквасочной культуры

На данном этапе исследований подбирали культуры с антагонистической активностью и хорошими органолептическими свойствами. Объектом исследований служили следующие микроорганизмы, отобранные после проведения молекулярно-генетического анализа: *Lactobacillus fermentum 2*, *Lactobacillus fermentum 4*, *Lactobacillus fermentum 8* и *Lactobacillus fermentum 14*. Микроорганизмы исследовали каждый по отдельности, а также для сравнения был составлен консорциум, состоящий из четырех вышеназванных культур в равном соотношении по отношению друг к другу.

В качестве бактериальных тестов были использованы *Escherichia coli*, *Mycobacterium citreum*, *M. rubrum*, *Sarcina flava*, *Sarc. flava (U)*, *Salmonella dublin*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus warneri 10*. Действие антагонистической активности выделенных культур зависел от штамма и тестовой культуры.

Антибактериальная активность консорциума и молочнокислых микроорганизмов представлена в таблице 13.

Таблица 13 – Антибактериальная активность консорциума и молочнокислых бактерий, n=4

Варианты	<i>E.coli</i>	<i>M. citreum</i>	<i>M. rubrum</i>	<i>Sarc.flava</i>	<i>Sarc.flava (U)</i>	<i>S.dublin</i>	<i>St.aureus 16</i>	<i>St.warneri 10</i>
Консорциум из 4 культур	20,23±0,7**	33,58±0,23*	31,34±0,56**	23,62±0,13*	20,51±0,69**	24,75±0,32**	18,27±0,23**	16,58±0,13*
<i>Lb. fermentum 2</i>	13,25±0,15**	13,62±0,14**	-	11,57±0,45**	12,05±0,05*	11,63±0,07*	13,46±0,12*	-

Продолжение таблицы 13

<i>Lb. fermentum</i> 4	-	-	-	12,35±0,07 *	12,43± 0,17**	13,75± 0,15**	12,37± 0,13**	-
<i>Lb. fermentum</i> 8	-	-	-	14,05±0,05 *	12,95± 0,48**	14,20± 0,13*	11,15± 0,19**	-
<i>Lb. fermentum</i> 14	18,0± 0,12*	28,65± 0,35*	28,16± 0,67**	18,35±0,65 **	20,18± 0,9**	22,57± 0,8**	17,18± 0,63**	16,12± 0,45**
Результаты получены на основе расчета средней стандартной ошибки * $p \leq 0,01$ и ** $p \leq 0,05$								

Как видно из таблицы 13, консорциум из 4 культур и *Lb. fermentum*14 показали антагонистическую активность в отношении бактериальных тест-культур *Escherichia coli*, *Mycobacterium citreum*, *M. rubrum*, *Sarcina flava*, *Sarc. flava* (U), *Salmonella dublin*, *Staphylococcus aureus*. Зоны подавления бактериальных тестов варьировали в пределах от 11,15 до 33,58 мм. Наибольшая зона подавления выявлена в отношении *M. citreum* (28,65-33,58 мм) и *M. rubrum* (28,16-31,34 мм).

Зоны подавления роста бактериальных тестов отобранными культурами молочнокислых бактерий представлены на рисунках 12 и 13.

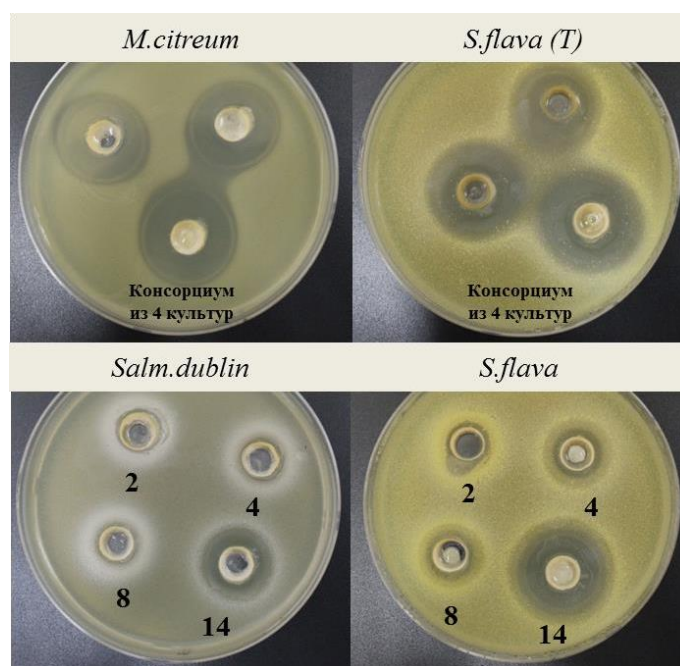


Рисунок 12 – Зоны подавления роста бактериальных тестов отобранными культурами молочнокислых бактерий и консорциумом

На рисунке 13 показаны зоны подавления роста бактериальных тестов консорциумом и *Lb. fermentum* 14.

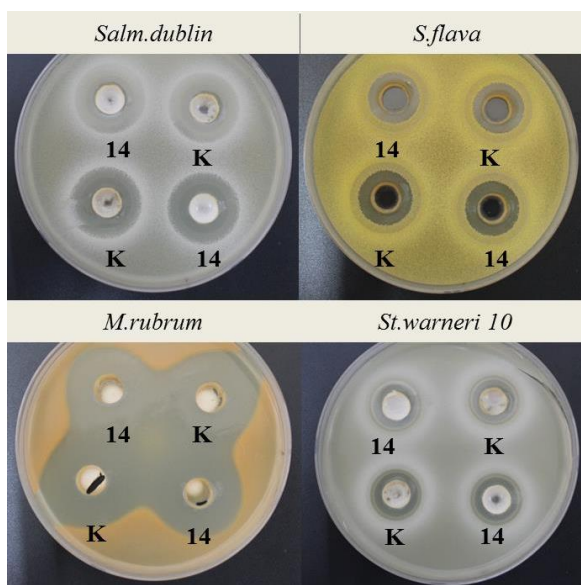


Рисунок 13 – Зоны подавления роста бактериальных тестов консорциумом и *Lb. fermentum*14

На основании органолептических показателей кисломолочных сгустков подобрана культура *Lb. fermentum*14. Для подбора оптимальных режимов культивирования и приготовления лабораторной закваски для с целью лиофилизации культуры *Lb. fermentum*14, выбирали длительность культивирования из трех вариантов (12 часов, 18 часов и 24 часа) для улучшения органолептических характеристик и сохранения антагонистической активности против используемых тестов бактериальных культур (рисунок 14).

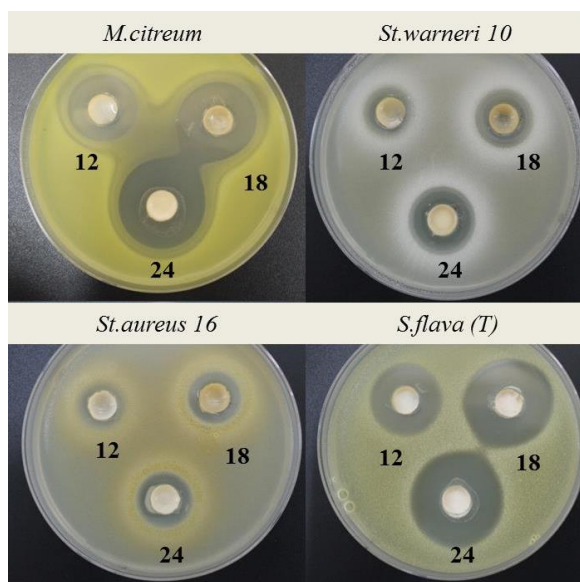


Рисунок 14 - Подавление роста бактериальных тестов *Lb. fermentum* 14 при разной длительности культивирования по времени

Антибактериальная активность *Lb. fermentum* 14 при культивировании в зависимости от времени представлена в таблице 14; органолептические и кислотообразующие свойства *Lb. fermentum* 14 в зависимости от длительности ферментации представлены в таблице 15.

Таблица 14 – Антибактериальная активность *Lb. fermentum* 14 при разной длительности культивирования

№	Варианты	<i>E.coli</i>	<i>M.citreum</i>	<i>M.rubrum</i>	<i>Sarc.flava</i>	<i>Sarc.flava</i> U	<i>S.dublin</i>	<i>S.aureus</i> 16	<i>S.warneri</i> 10
1	<i>Lb. fermentum</i> 14 (12 ч)	17,05±0,13*	27,16±0,17*	26,05±0,16*	17,08±0,19*	18,51±0,61**	20,36±0,48*	15,15±0,12*	14,07±0,13*
2	<i>Lb. fermentum</i> 14 (18 ч)	17,65±0,18*	27,81±1,34**	26,9±1,12*	18,51±1,09*	19,72±0,24*	21,13±0,23**	16,65±0,5*	15,58±0,62**
3	<i>Lb. fermentum</i> 14 (24 ч)	18,1±0,75**	29,05±0,35**	28,74±0,86*	19,73±1,07*	20,34±0,17*	22,57±1,03*	17,13±0,5*	16,57±0,63**
Результаты получены на основе расчета средней стандартной ошибки *p≤0,01 и **p≤0,05									

По полученным результатам видно, что при 12 часовом культивировании закваска значительно теряла активность против тестовых культур. При культивировании в течение 18 24 часов и более культура обладала высокой антибактериальной активностью (таблица 15), оптимальными показателями. После 24 часов культивирования *Lb. fermentum* 14, зона подавления *M. citreum* составила 29,05 мм, *M.rubrum* – 28,74 мм, *Sarc.Flava* U– 19,73 мм.

Таблица 15 - Определение органолептических и кислотообразующих свойств *Lb. fermentum* 14 при разной длительности культивирования по времени

№	Варианты	pH	Тируемая кислотность, °T	Органолептические показатели
1	<i>Lb. fermentum</i> 14 (12ч)	4,05	87	Кисловатый
2	<i>Lb. fermentum</i> 14 (18ч)	3,83	126	Кислотность средняя
3	<i>Lb. fermentum</i> 14 (24ч)	3,72	135	Очень кислый

Органолептические свойства молочнокислых бактерий представлены в таблице 16.

Таблица 16 - Органолептические показатели выделенных культур

Выделенные штаммы	Активность свертывания, ч	Органолептические показатели образующихся сгустков
Консорциум из 4 культур	4,0-4,5	Консистенция плотная, однородная, вязкая, вкус кисломолочный, без отделения сыворотки
<i>Lb. fermentum</i> 2	4,5-5,0	Вязкая, сметанообразная консистенция, вкус чистый кисломолочный
<i>Lb. fermentum</i> 4	6,5-7,0	Консистенция однородная, недостаточно вязкая консистенция, кисломолочный вкус, наблюдается отделение сыворотки, не более 5%,
<i>Lb. fermentum</i> 8	7,5-8,5	Однородная, недостаточно вязкая консистенция, вкус кисломолочный, отделение сыворотки более 5%
<i>Lb. fermentum</i> 14	4,5,0-5,5	Консистенция сгустка нежная, ровная, вкус чистый кисломолочный, без отделения сыворотки

Таким образом, *L. fermentum* является перспективным объектом для дальнейшего исследования его потенциала и возможного применения в конструировании пробиотической закваски. На рисунке 15 представлена лиофилизированная культура *Lactobacillus fermentum* 14.



Рисунок 15 – Лيوфилизированная культура *Lactobacillus fermentum* 14 (RCM 1020)

В результате исследования по антагонистическим показателям и органолептическим свойствам выбрали культуру *Lb. fermentum* 14, которая в дальнейшем использовалась в качестве пробиотической культуры для производства кисломолочных продуктов. Оформлен паспорт на штамм *Lactobacillus fermentum* 14, который депонирован в Республиканской коллекции микроорганизмов (г. Астана) как перспективный штамм для включения в состав бактериальных заквасок при производстве кисломолочных продуктов.

3.4 Биотехнологические особенности подбора закваски для кисломолочных продуктов

3.4.1 Исследование подбора бактериальной композиции

Вследствие отсутствия в анализируемой нами литературе определенных рекомендаций по использованию вышеописанной культуры в кисломолочных продуктах из козьего молока, проведено исследование совместной и отдельной жизнедеятельности данной культуры с готовыми производственными культурами. Определяли pH, титруемую кислотность и титр клеток.

Образцами являлись:

1. *Lactobacillus bulgaricus* B6
2. *Streptococcus thermophilus* TA 45
3. *Lactobacillus fermentum* 14 (выделен из козьего молока).

Морфология колоний микроорганизмов представлена на рисунке 16. Для каждого микроорганизма закваски готовили и анализировали по три пробы из каждого разведения с раствором Рингера.



Lactobacillus bulgaricus B6 *Streptococcus thermophilus* TA 45 *Lactobacillus fermentum* 14

Рисунок 16 – Морфология колоний микроорганизмов

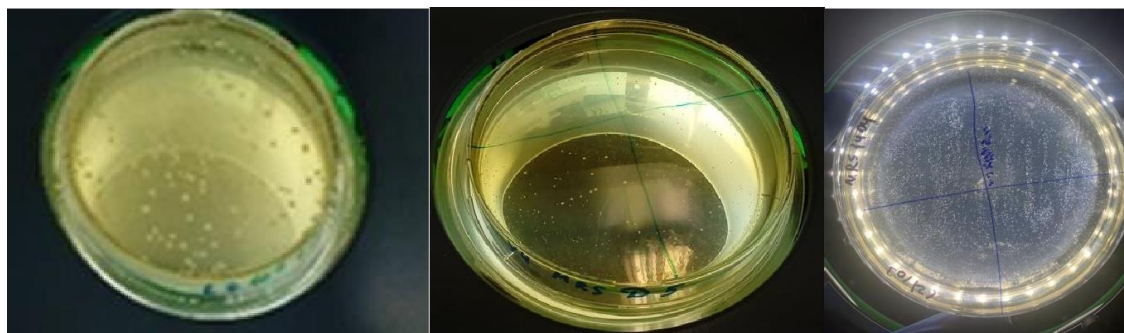


Рисунок 17 – Подсчет колоний микроорганизмов в чашках Петри, разведение 1×10^{-7} : а) *Lb. bulgaricus* B6, б) *Str. thermophilus* TA 45, в) *Lb. fermentum* 14

На рисунке 18 представлена микроскопия результатов культивирования *Lb. bulgaricus*, *Str. thermophilus* и *Lb. fermentum* 14 на питательной среде MRS 5.4 и M17

в разведении $1:10^{-7}$ на среде MRS 5.4.

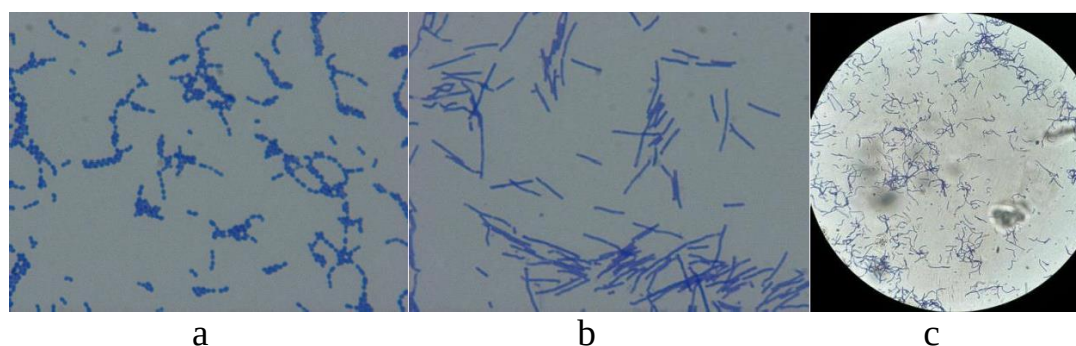
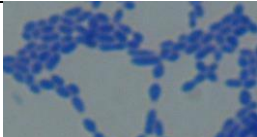
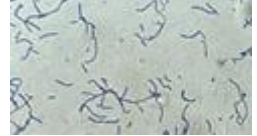


Рисунок 18 – Микроскопия закваски: а) *Str. thermophilus* TA 45, б) *Lb. bulgaricus* B6, в) *Lb. fermentum* 14; увеличение 1000х (а, б), 400х (в).

Микроскопическая картина следующая: отчетливо видны крупные молочнокислые бактерии *Lactobacillus bulgaricus*, скопление мелких палочек *Lactobacillus fermentum* 14 и кокковидные формы, объединенные в цепочки, *Streptococcus thermophilus*.

Технологические характеристики культур бактериальной композиции представлены в таблице 17.

Таблица 17 – Технологические свойства культур

Молочнокислые бактерии	рН	Кислотность, °Т	Количество клеток в КОЕ/см ³ (г)	Микроскопическая картина
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	4,53	103-108	$3,5 \times 10^7$	
<i>Streptococcus thermophilus</i>	4,71	90-95	$2,9 \times 10^7$	
<i>Lactobacillus fermentum</i> 14	4,78	70-75	$3,5 \times 10^7$	

В соответствии с данными таблицы 17, все три культуры молочнокислых бактерий показали хорошие технологические свойства для использования в качестве закваски. Были составлены три варианта бактериальной композиции: *Lactobacillus bulgaricus* B6, *Streptococcus thermophilus* TA 45, и *Lactobacillus fermentum* 14 в следующих соотношениях: 1:2:1, 1:5:1, 1:10:1.

Культуры составленной бактериальной композиции выращивали на

стерильном козьем молоке. Определяли pH, титруемую кислотность и титр клеток, данные представлены в таблице 18.

Таблица 18 – Выбор оптимального соотношения культур в комбинированной закваске

Варианты закваски	Продолжительность сквашивания, ч	pH	Кислотность °Т	Количество клеток в КОЕ/см ³ (г)
1:2:1	6,5-7,0	3,96	120-125	2,7x10 ⁹
1:5:1	4,5-5,5	4,71	75-85	5,2x10 ⁹
1:10:1	3,6-4,5	5,18	65-75	4,1x10 ⁹

Как показывают данные таблицы 18, наиболее благоприятные условия для развития микроорганизмов закваски отмечены во втором варианте (соотношении культур 1:5:1), где наблюдается наибольшее количество жизнеспособных клеток молочнокислых бактерий.

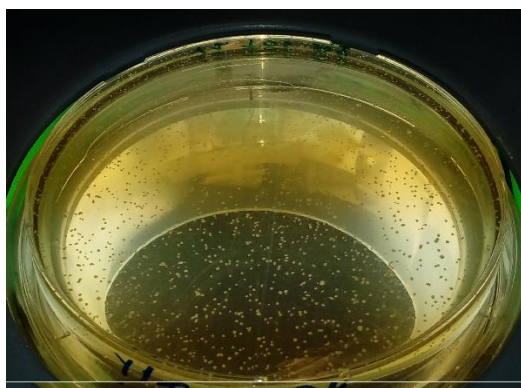


Рисунок 19 – Выросшие колонии бактериальной композиции *Lactobacillus bulgaricus* B6, *Streptococcus thermophilus* TA 45 и *Lactobacillus fermentum* 14 в соотношении 1:5:1

На питательной среде наблюдаются некрупные колонии серовато-белого цвета с ровным краем, поверхность гладкая, по профилю плоские.

В молочнокислых заквасках высокая титруемая кислотность действует подавляюще на развитие болгарской палочки в первые часы ферментации во время совместного роста с другими бактериями, однако невысокая кислотность *Streptococcus thermophilus* TA 45 и *Lactobacillus fermentum* 14 в течение 5-6 ч ферментации обеспечивает хорошие условия культивирования болгарской палочки. Затем исследовали количество вносимой закваски для приготовления кисломолочных продуктов. Сухие штаммы активизировали путем культивирования на козьем молоке.

Для приготовления производственной закваски лабораторную закваску

вносили в стерилизованное молоко в количестве 3%, 5%, 8% и 10% от общего объёма молока. Ферментацию заквасок проводили при температуре 39, 41 и 43 °С для *Lactobacillus bulgaricus* B6, *Streptococcus thermophilus* TA 45 и *Lactobacillus fermentum* 14 соответственно. Измерение активной кислотности производили через каждые 2 ч, и по достижении этого показателя 4,6, закваску направляли на охлаждение. В процессе ферментации определяли активную кислотность и устанавливали время ферментации.

В таблице 19 приведены данные по времени заквашивания молока в зависимости от количества вносимой закваски.

Таблица 19 – Влияние дозы закваски на процесс ферментации

Закваска	Доза закваски, %	Время ферментации, ч		Момент образования сгустка	
		2 ч	4 ч	pH	Продолжительность ферментации, ч
		pH	pH		
<i>Lactobacillus bulgaricus</i> B6, <i>Streptococcus thermophilus</i> TA 45, <i>Lactobacillus fermentum</i> 14 (1:5:1)	3	5,6±0,23**	4,9±0,04*	4,7±0,13**	6,0
	5	5,3±0,05*	5,1±0,29**	4,6±0,05**	5,0
	8	5,0±0,17**	4,8±0,05**	4,5±0,03*	4,0
	10	4,9±0,16**	4,7±0,06**	4,5±0,21**	3,5
Результаты получены на основе расчета средней стандартной ошибки *p≤0,01 и **p≤0,05					

Как видно из таблицы 19, по времени ферментации и активной кислотности, закваска, состоящая из *Lactobacillus delbruki subsp. bulgaricus* B6, *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* TA 45 и *Lactobacillus fermentum* 14 в соотношении 1:5:1, обладает высокой лактобразивающей способностью. Однако при дозе закваски 8-10% происходит очень быстрое нарастание кислотности сгустка, что не является оптимальным для длительного срока хранения продуктов.

Изучена динамика изменения соотношения культур в сгустке в процессе ферментации козьего молока в течение 24 ч, результаты отражены в таблице 20.

Таблица 20 – Изменение соотношения *Lactobacillus bulgaricus* B6, *Streptococcus thermophilus* TA 45 и *Lactobacillus fermentum* 14 в ходе сквашивания молока

Продолжительность культивирования, ч	Фон	3	6	9	24
Соотношение <i>Lactobacillus bulgaricus</i> B6, <i>Streptococcus thermophilus</i> TA 45 и <i>Lactobacillus fermentum</i> 14	1:5:1	1:6,3:1,2	1:7:1,2	1,2:7,3:1,2	1,2:7,5:1,3

В результате изучения органолептических показателей, процесса кислотонакопления, выявлено, что для приготовления производственной закваски

необходимо вносить в нормализованную смесь 3-5 % лабораторной закваски.

Исходя из полученных данных, продолжительность сквашивания в течение 4-6 часов является достаточным для получения продукта с оптимальными технологическими характеристиками. Далее полученный продукт должен быть помещен в камеру для охлаждения во избежание дальнейшего нарастания титруемой кислотности. Выявлено, что при сквашивании смеси в течение данного промежутка времени увеличивается доля *Lactobacillus bulgaricus* и *Lactobacillus fermentum* в сгустке более, чем в 1,4 и 1,2 раза соответственно.

3.4.2 Влияние пробиотической закваски на процесс сквашивания кисломолочного продукта

Классическая закваска для йогурта включает штаммы термофильного молочнокислого стрептококка и болгарской палочки, поэтому далее бактериальную композицию сравнивали с готовыми товарными йогуртовыми заквасками.

Закваска MIX 495 LYO представляет собой культуру с определенной комбинацией штаммов, включающей болгарскую палочку и термофильный стрептококк, включающая в результате коагуляции молока образует вязкий сгусток с ограниченным постокислением [174].

YO MIX 883 LYO является закваской мягкого брожения с высокой степенью вязкости, имеет в составе болгарскую палочку и термофильный стрептококк, которые придают продукту ярко выраженный аромат и вкус; постокисление имеет ограниченное, может наблюдаться синерезис.

Использование заквасок прямого внесения, которые занимают наибольший объем поставок на молочные предприятия, положительно влияет на режимы ферментации и органолептические характеристики КП. Характеристика заквасочных культур для КП представлена в таблице 21.

Таблица 21 – Характеристика заквасочных культур

Наименование закваски	Состав культур	Режимы сквашивания			Органолептические особенности
		Температура, °C	Время, ч	pH	
YOMIX 495	Вязкие культуры <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	43	6,5-7,0	4,5-4,6	Придает мягкий сливочный вкус, умеренный аромат, однородную консистенцию и очень высокую вязкость
YOMIX 883	Невязкие культуры <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Lactobacillus bulgaricus</i>	43	7,0-7,5	4,5-4,7	Придает продукту мягкий сливочный вкус и аромат, немного тянущую густую однородную консистенцию
Бактериальная композиция	Вязкие культуры <i>Lactobacillus bulgaricus</i> B6, <i>Streptococcus thermophilus</i> TA 45, <i>Lb. fermentum</i> 14	41	5,5-6,0	4,5-4,6	Придает продукту мягкий умеренно кислый вкус, выраженный аромат, однородную консистенцию

На рисунке 20 показано влияние продолжительности ферментации заквасок на величину титруемой кислотности.

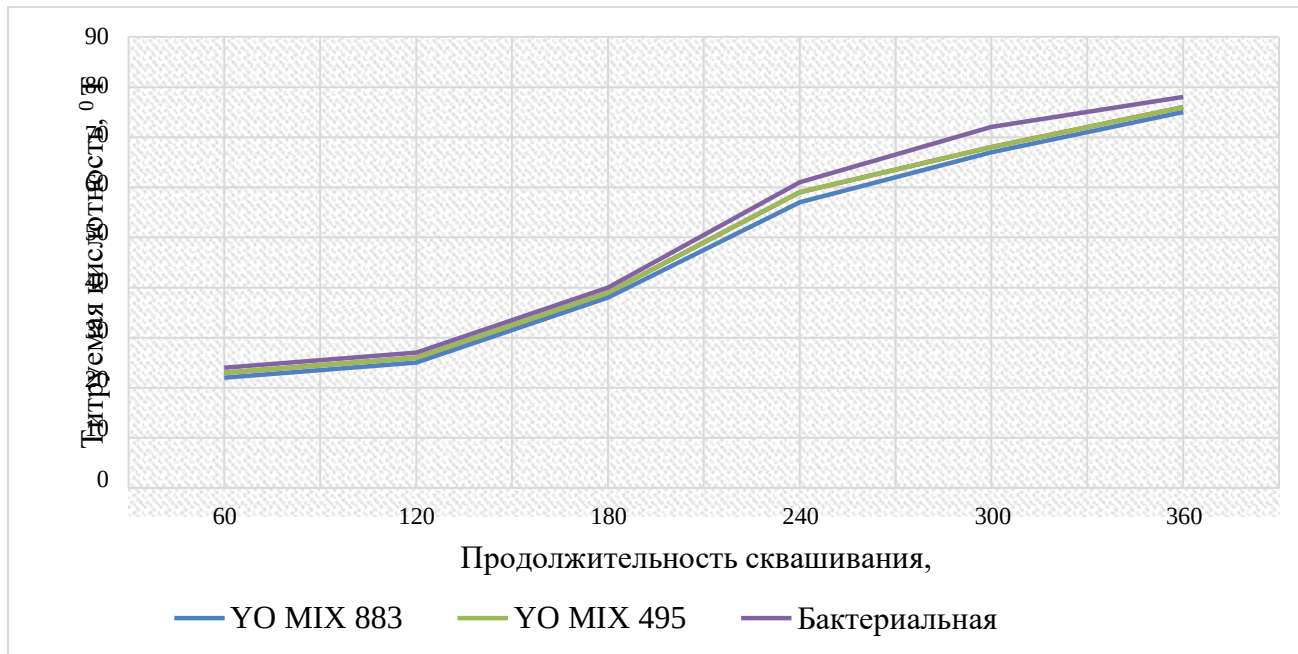


Рисунок 20 – Влияние продолжительности сквашивания на титруемую кислотность

В соответствии с рисунком 20, в течение первого часа ферментации происходила адаптация микроорганизмов бактериальной композиции к условиям среды. Исследуемые закваски образуют сгусток в течение 4-6 часов при температуре сквашивания около 39 ± 2 °C. За это период времени титруемая кислотность достигает 75-77°T, что является оптимальной для образования кисломолочного сгустка.

В таблице 22 представлена зависимость величины синерезиса от продолжительности сквашивания исследуемых заквасок: YO MIX 495, YO-MIX 883 и бактериальной композиции, включающей *Lactobacillus delbruki* B6, *Streptococcus thermophilus* TA 45 и *Lactobacillus fermentum* 14 в соотношении 1:5:1.

Таблица 22 – Зависимость величины синерезиса от продолжительности сквашивания исследуемых заквасок

Время, мин.	Типы заквасок		
	YO MIX 495	YO-MIX 883	Бактериальная композиция
1	2	3	4
60	+	+	+
120	+	+	+
180	+	+	+

Продолжение таблицы 22

1	2	3	4
240	++	+	++
300	++	++	++
360	++	++	+++
Примечание: + отсутствие сгустка; ++ мягкий сгусток без отделения сыворотки; +++ плотный сгусток без отделения сыворотки			

Как видно из таблицы 22, при сравнении с промышленными заквасками бактериальная композиция молочнокислых микроорганизмов *Str. thermophilus*, *Lb. bulgaricus* и *Lb. fermentum* 14 в соотношении 1:5:1 показала наилучший результат отсутствия синерезиса, что можно объяснить наличием в составе данной закваски экзополисахаридов и пробиотической культуры. Данная закваска позволяет получить сгусток с густой и нежной консистенцией, приятным ароматом и низким постокислением.

Органолептический анализ образцов кисломолочных продуктов важен для определения их качественной оценки.

На рисунке 21 представлена органолептическая оценка кисломолочных продуктов (В – YO MIX 495, А – YO- MIX 883 и С – закваска, включающая *Str. thermophilus*, *Lb. bulgaricus* и *Lb. fermentum* 14).

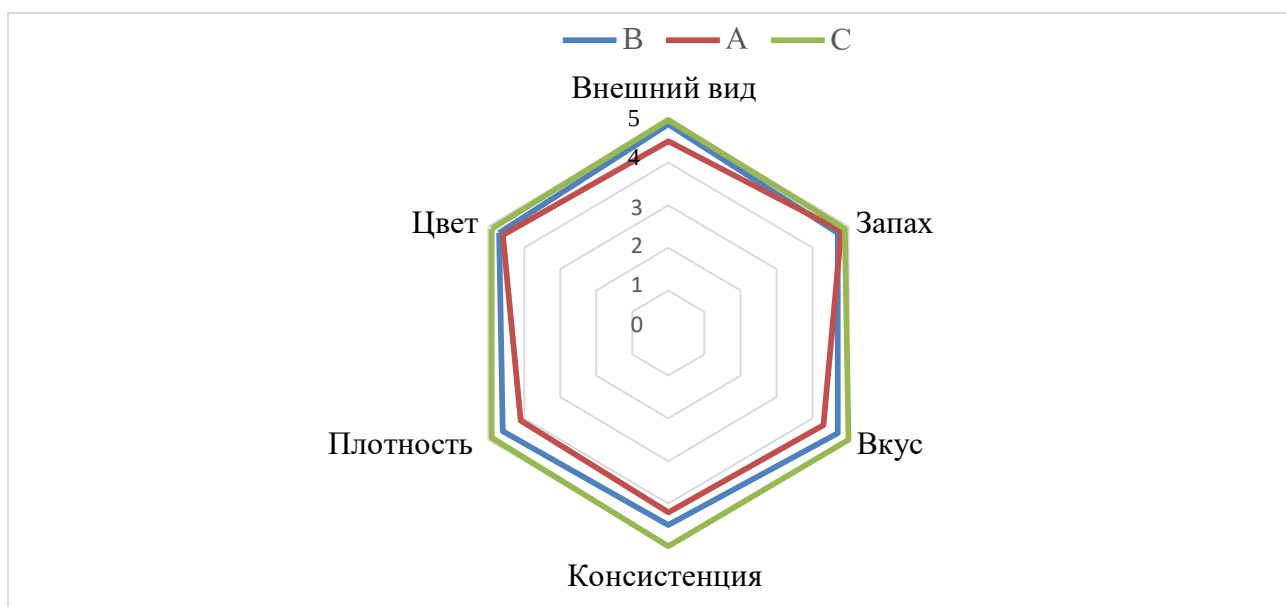


Рисунок 21 – Органолептическая характеристика образцов кисломолочных продуктов

На рисунке 22 представлены образцы кисломолочного продукта с выбранной композицией закваски в соотношении 1:5:1.



Рисунок 22 – Образцы кисломолочного продукта

Образцы ферментированного кисломолочного продукта оценивали органолептически по 5-бальной шкале по следующим показателям: внешний вид; консистенция; плотность; вкус; цвет и запах. В соответствии с рисунком 21, органолептические показатели кисломолочных продуктов на основе заквасок YOMIX 495 LYO 100 DCU, YOMIX 883 LYO 50 DCU, а также бактериальной композиции, были в пределах нормы, при этом лучшие органолептические свойства показал образец на основе закваски, содержащей *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus fermentum* 14 в соотношении 1:5:1. Органолептический анализ образцов КП фактически завершает их качественную оценку. Согласно рисунку 22, образцы КП с наивысшими баллами приемлемости: 4,93 для образца С, затем следуют образцы В(4,69) и А (4,42). Органолептический анализ демонстрирует самый высокий уровень этих показателей у образца С.

Как видно из рисунка 22, консистенция продукта из козьего молока на основе закваски *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus fermentum* 14 в соотношении 1:5:1 имеет ровную нежную консистенцию.

Культуры *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* и *Lactobacillus fermentum* 14 дают быстрое повышение кислотности до pH 4,7-4,6, а затем более медленное повышение кислотности до низкого pH. Эта характеристика способствует хорошей стабилизации pH в конце процесса созревания и во время хранения. Использование данной закваски возможно в диапазоне 43-37 °C [175].

Кисломолочный продукт, сквашенный бактериальной композицией, достиг титруемой кислотности 70-75 °Т за 5-6 часов сквашивания, тем самым превысив продолжительность сквашивания на 1-1,5 часа по сравнению с кисломолочными продуктами, сквашенными только заквасками YO MIX 495 и YO-MIX 883. Полученные результаты свидетельствуют о том, что использование заквасок *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus bulgaricus* на основе пробиотической культуры *Lactobacillus fermentum* 14 при производстве КП способствует сокращению продолжительности технологического цикла кисломолочного продукта. Установлено, что полученная закваска демонстрирует хороший контроль

синерезиса и может также использоваться в рецептурах с использованием сахара.

3.4.3 Исследование антагонистической активности заквасок

Далее закваски проверяли на антагонистическую активность после культивирования в течение 24-48 часов: бактериальные композиции, содержащие культуры *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus fermentum* 14 в соотношениях 1:2:1 (1), 1:5:1 (2), 1:10:1 (3), а также закваску YO MIX 495, показавшую высокие технологические характеристики. Антагонистическую активность заквасок проводили на штаммах *Salmonella dublin*, *Micobacterium rubrum*, *Sarcina flava*, *Bacillus subtilis* 6633, *Pseudomonas aeruginosa* 9027, *Staphylococcus aureus* 6538p, *Salmonella enterica* 14028 и *Escherichia coli* 25922. Результаты антагонистической активности заквасок представлены на рисунке 23.

Зоны подавления роста бактериальных тестов бактериальными композициями представлены на рисунках 24-27.

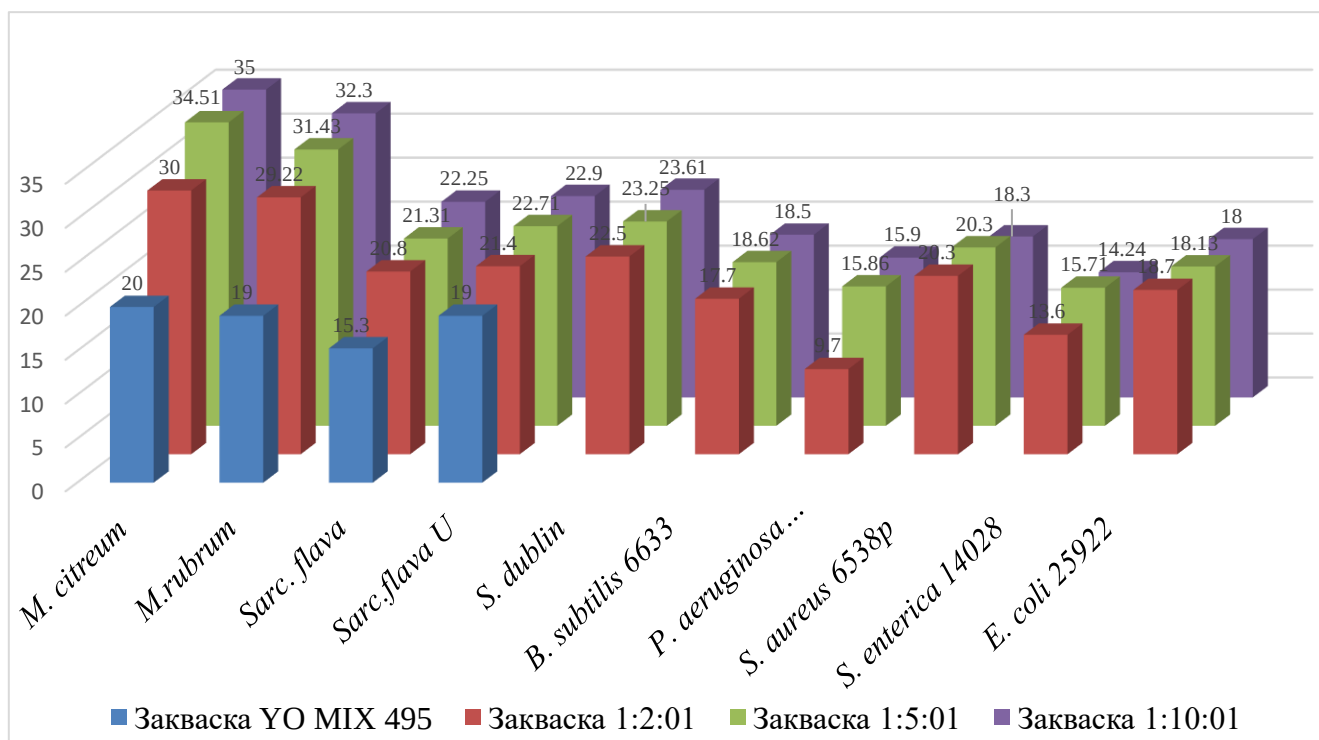


Рисунок 23 –Антагонистическая активность бактериальных композиций из культур *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus fermentum* 14 в соотношениях 1:2:1, 1:5:1, 1:10:1 и закваски YO MIX 495, n=5

В соответствии с рисунком 23, антагонистическую активность проявили все три варианта бактериальной композиции (1:2:1, 1:5:1, 1:10:1) в отношении тест штаммов. Зона задержки роста в отношении *M. citreum* составила 30±0,5 мм, 32,51±0,8 мм, 35,0±0,7 мм; *Sarc. Flava U* – 23,4 мм±0,8 мм; 25,71±0,6 мм; 26,9±1,2 мм; *M. rubrum* – 29,22 мм; 31,43 мм; 32,3 мм соответственно. Микроорганизмы

закваски YO MIX 495 были активны против бактериальных тест-культур *Sarcina flava*, *Sarcina Flava U*, *Mycobacterium citreum* и *M. rubrum*: 15,3 мм, 19,0 мм, 20,0 мм, 19,0 мм [171].

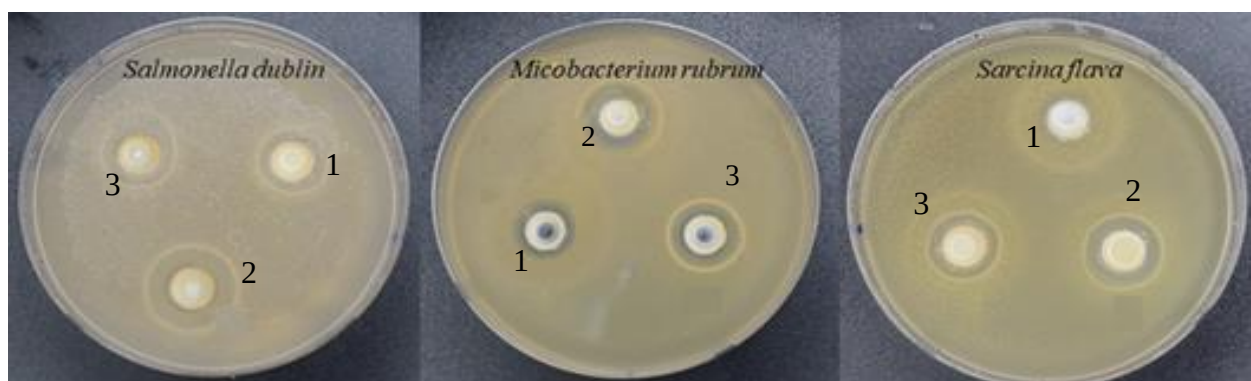


Рисунок 24 – Подавление роста бактериальных тестов *Salmonella dublin*, *Micobacterium rubrum* и *Sarcina flava* бактериальными композициями

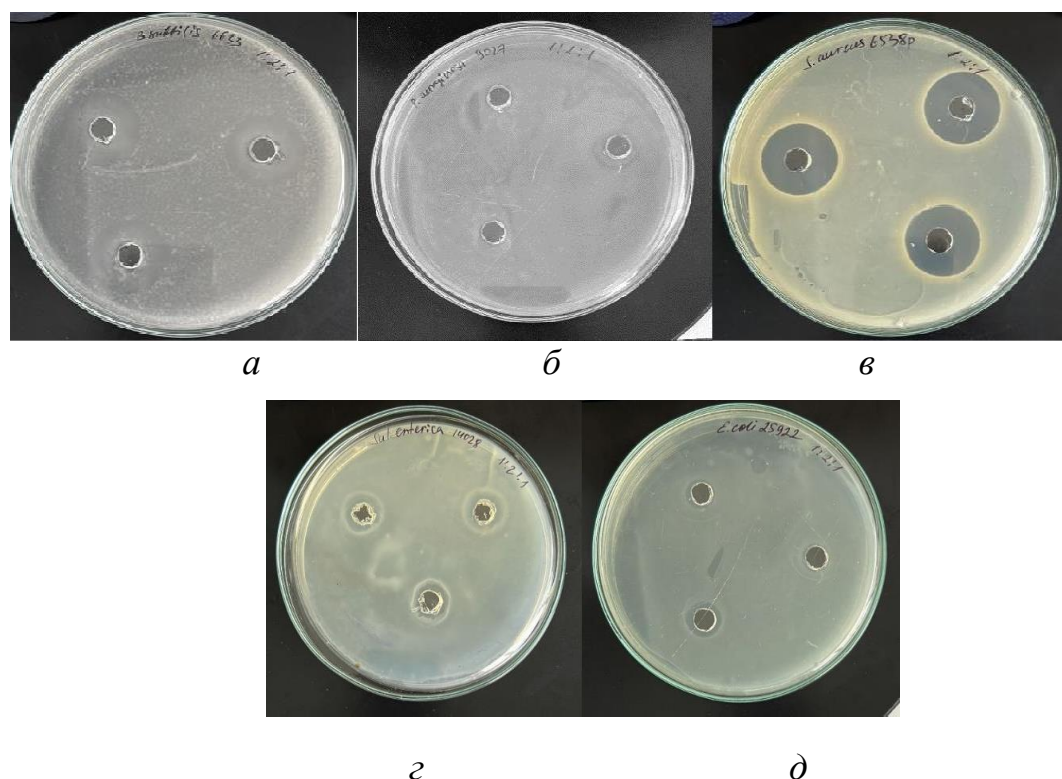


Рисунок 25 – Подавление роста тест-штаммов *B. subtilis* 6633 (а), *P. aeruginosa* 9027 (б), *S. aureus* 6538p, (в) *S. enterica* 14028 (с) и *E. coli* 25922 (д) бактериальной композицией *Lactobacillus bulgaricus* B6, *Streptococcus thermophilus* TA 45 и *Lactobacillus fermentum* 14 в соотношении 1:2:1

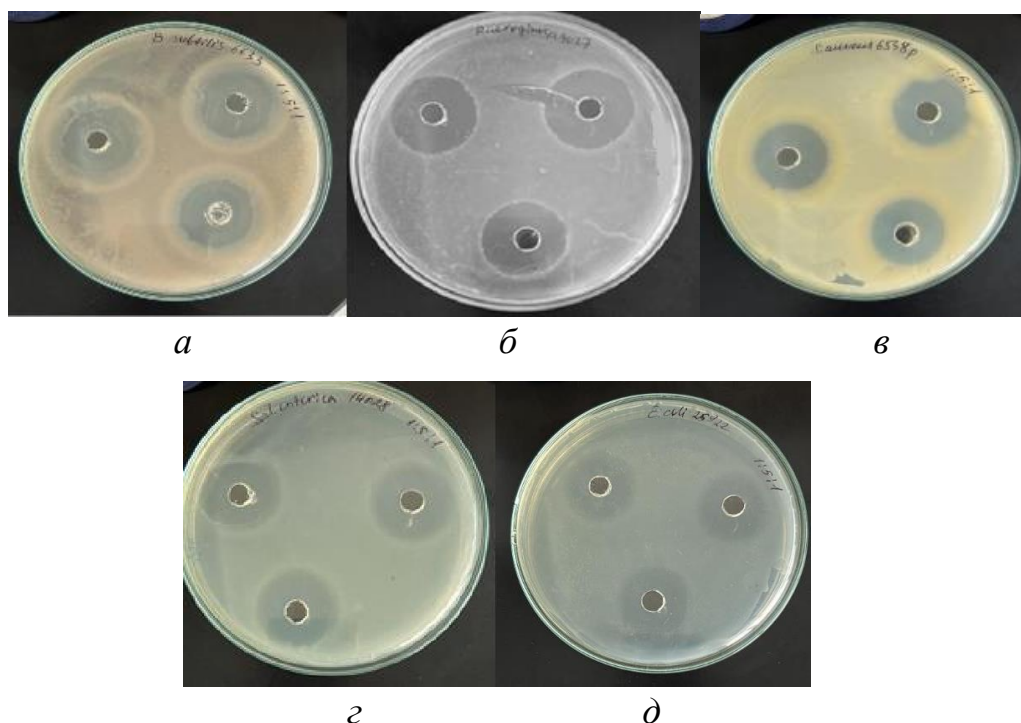


Рисунок 26 – Подавление роста тест-штаммов *B. subtilis* 6633 (а), *P. aeruginosa* 9027 (б), *S. aureus* 6538p, (в) *S. enterica* 14028 (с) и *E. coli* 25922 (д) бактериальной композицией *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus fermentum* 14 в соотношении 1:5:1

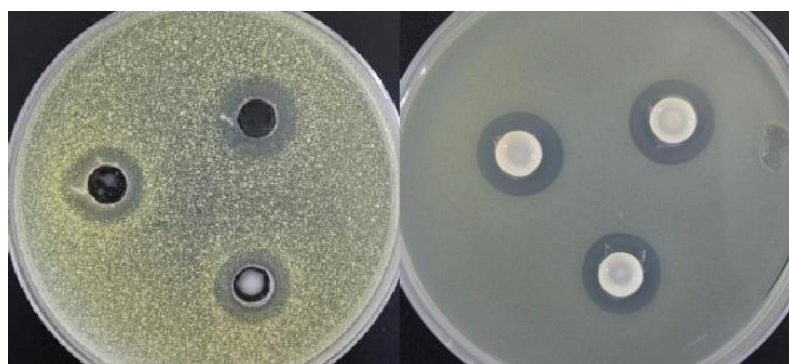


Рисунок 27 – Подавление роста *S. flava* U и *M. citreum* бактериальной композицией *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus fermentum* 14 в соотношении 1:5:1

По результатам технологических, кислотообразующих свойств и антагонистической активности исследуемых бактериальных заквасок была отобрана комбинация микроорганизмов из *Lactobacillus bulgaricus* (из сухой закваски), *Streptococcus thermophilus* (из сухой закваски) и *Lactobacillus fermentum* 14, выделенного из козьего молока, в соотношении 1:5:1. Результаты исследования

получены на основе расчета средней стандартной ошибки $p \leq 0,05$.

Полученные данные согласуются с результатами исследований ряда авторов. По данным Биадала А. с соавторами (Biadała A. et. al.) [176, р. 10], оценка ингибирования индикаторных микроорганизмов показала, что наиболее разносторонними антибактериальными свойствами в отношении оцениваемых *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus* и *Salmonella enteritidis* обладает молочная смесь, ферментированная *Lactobacillus fermentum* или *Lactobacillus acidophilus*. Авторы Абрамов В.М., Хлебников В.С. и др. инокулировали козье молоко и сыворотку из козьего молока, полученную после процесса микрофильтрации, анализируемыми микроорганизмами и выявили, что лактобактерии *L. fermentum* ВКМ В-2793D, *L. reuteri* ВКМ В-3144D, а также их консорциум являются культурами для разработки пробиотического препарата для профилактики и лечения лактационного мастита [177, с. 49].

3.5 Биотехнологические подходы к созданию кисломолочных продуктов

3.5.1 Подбор дозы внесения растительных наполнителей

Для улучшения органолептических и пробиотических свойств продукта использовали комбинацию культур *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* и *Lactobacillus fermentum* 14 в соотношении 1:5:1. Данные микроорганизмы находятся в симбиотических отношениях, так: *Str. thermophilus* образует муравьиную кислоту, необходимую для роста *Lbc. bulgaricus*, а она, в свою очередь, высвобождает аминокислоты, необходимые для роста *Str. thermophilus* и *Lbc. fermentum*.

В результате собственного исследования выявлено, что определенные наполнители (экстракт кожуры винограда, сиропы боярышника, шиповника и рябины), используемые с йогуртовой закваской, оказывают противомикробное действие и даже в значительной степени ингибируют микроорганизмы закваски [171].

На данном этапе исследования была дана оценка влияния концентрации сиропов и ЭВК на органолептические показатели образцов кисломолочных продуктов.

В смесь опытных образцов добавляли наполнители (сиропа) в количестве от 1% до 9% с шагом 2 % и ЭВК в количестве от 0,5 до 1,25 г [178]. Экспериментальные данные по влиянию растительных наполнителей на органолептические показатели кисломолочных продуктов (КП) представлены на рисунках 28-31. На рисунке 28 представлено влияние дозы сиропа боярышника и ЭВК на органолептические показатели образцов КП, на рисунке 29 – влияние дозы сиропа рябины и ЭВК на органолептические показатели образцов КП, на рис. 30 – влияние дозы введения сиропа шиповника и ЭВК на органолептические показатели образцов КП, на рис. 31 – влияние дозы внесения ЭВК на органолептические показатели образцов КП.

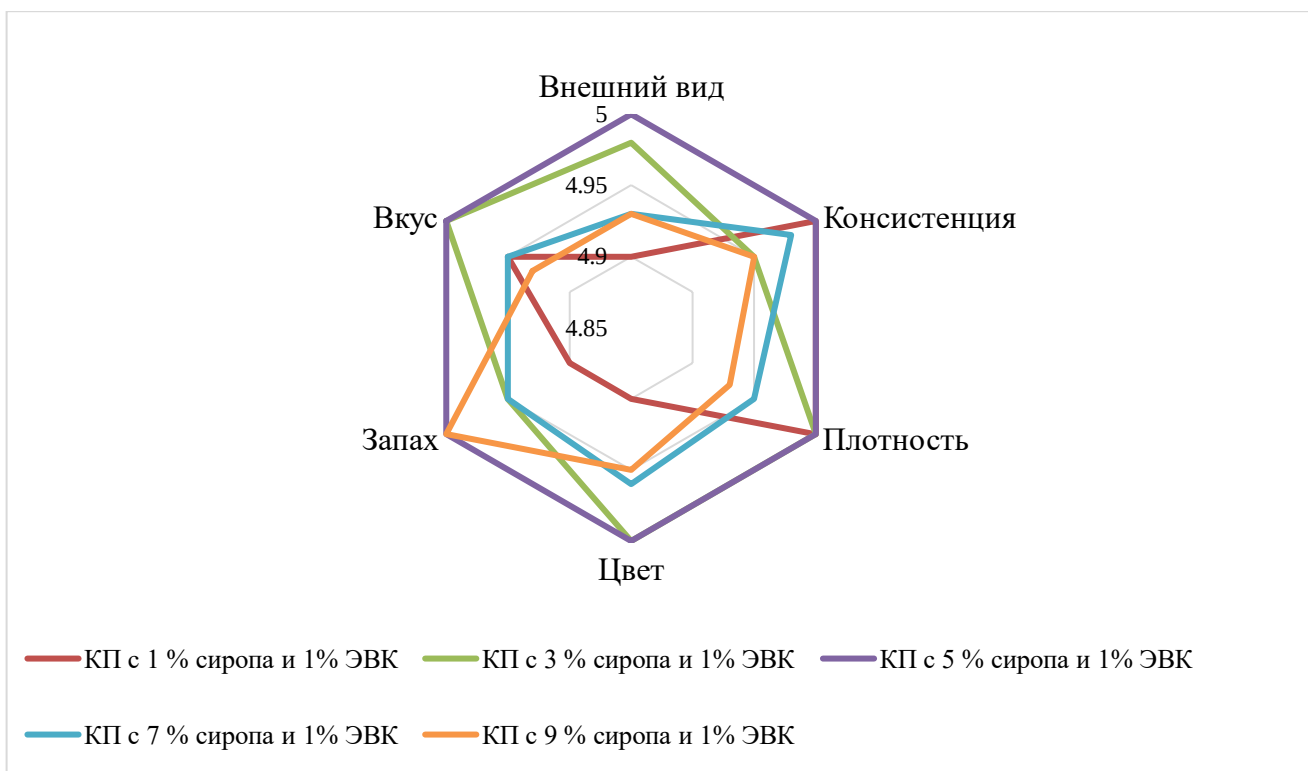


Рисунок 28 – Органолептическая характеристика образцов кисломолочных продуктов с сиропом боярышника и ЭВК

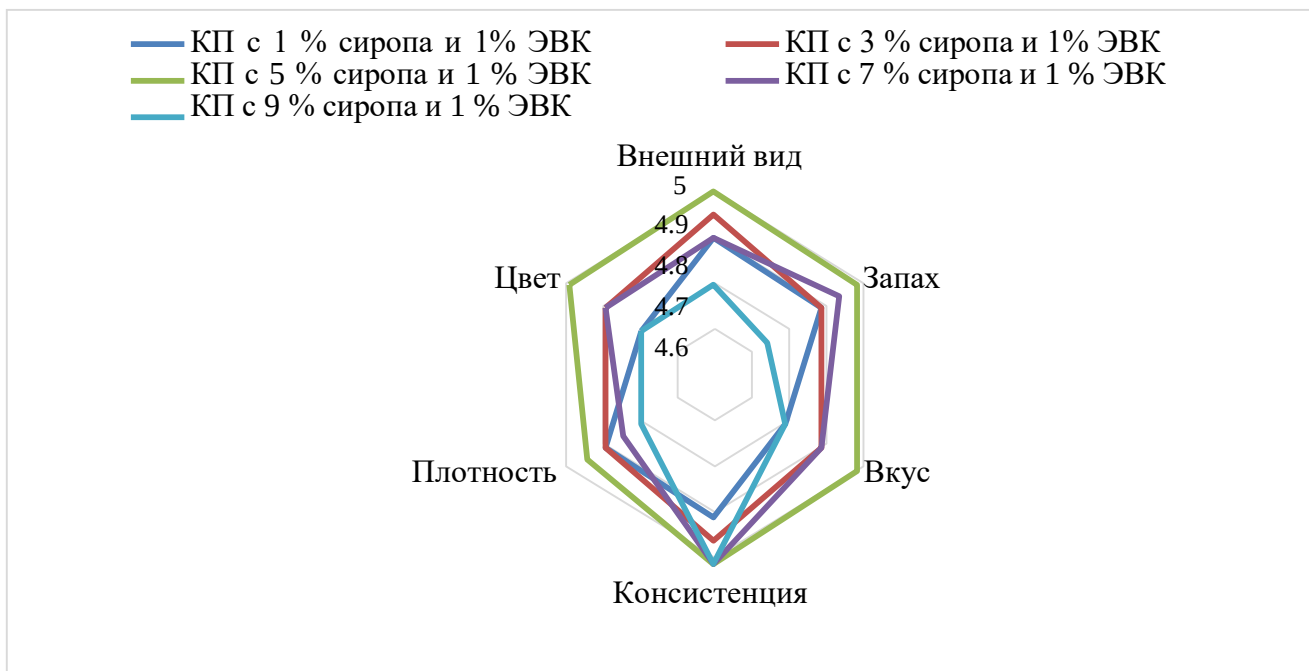


Рисунок 29 – Органолептическая характеристика образцов кисломолочных продуктов с сиропом рябины и ЭВК

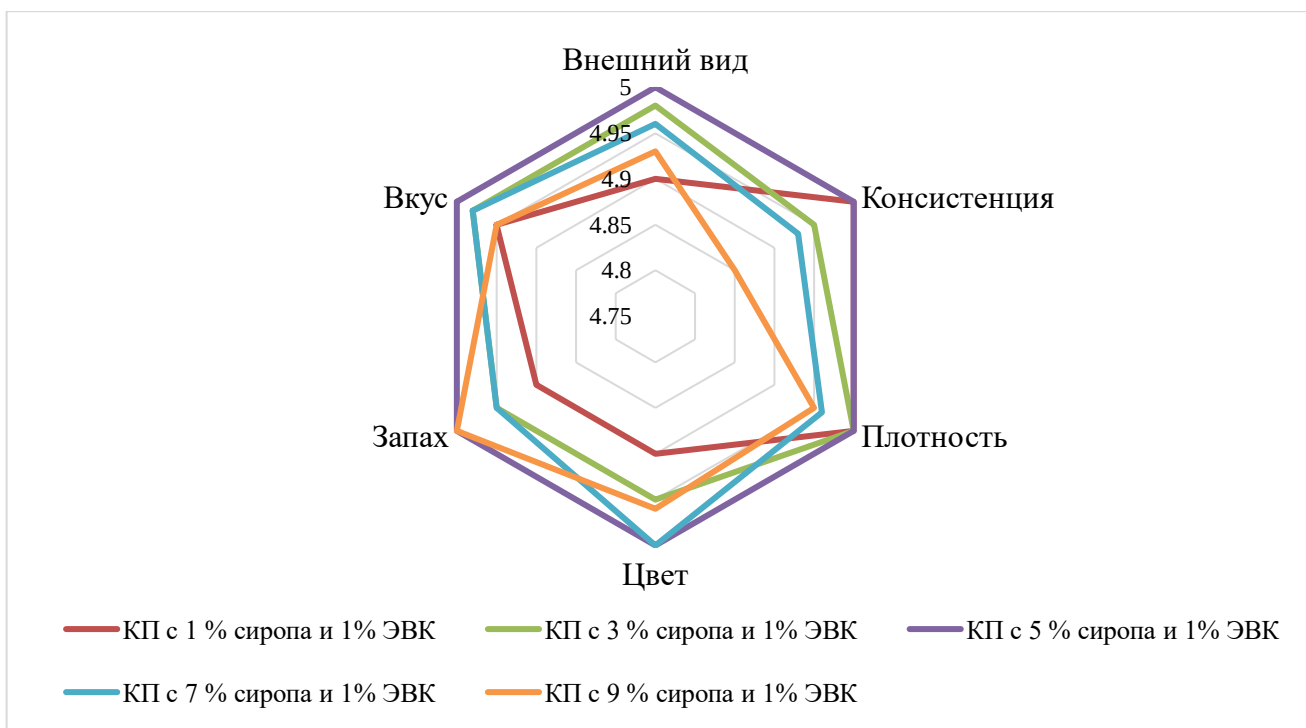


Рисунок 30 – Органолептическая характеристика образцов кисломолочных продуктов с сиропом шиповника и ЭВК

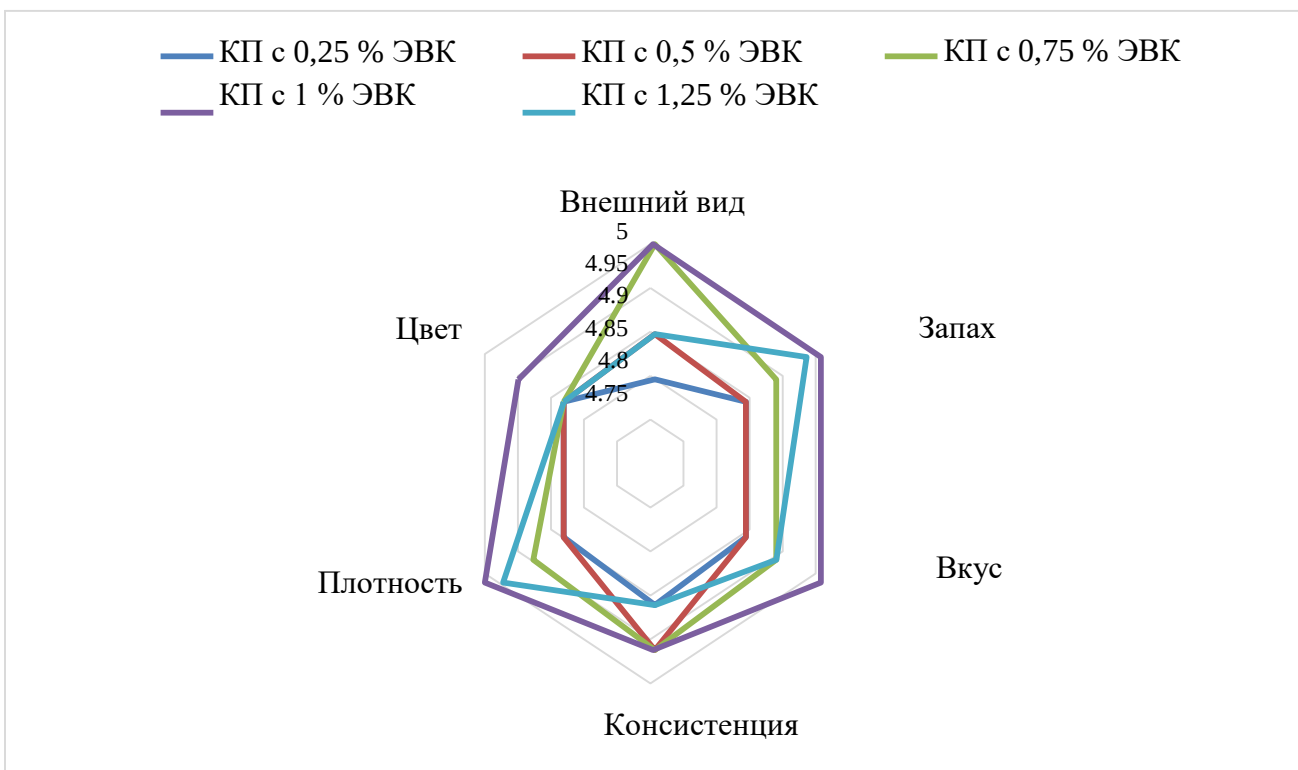


Рисунок 31 – Органолептическая характеристика образцов кисломолочных продуктов с ЭВК

В соответствии с данными, представленными на рисунках 28-30, изменение дозы внесения сиропа от 1 до 9% с шагом 2% привело к оптимальному результату по органолептическим показателям: 5% сиропа, а увеличение дозы до 9% приводит к излишней сладости и нежелательному привкусу. Таким образом, можно сделать вывод о том, что сиропы боярышника, рябины и шиповника достаточно сладкие и не требуют внесения сахара и подсластителей. Доза 5% сиропов боярышника, рябины и шиповника оказалась оптимальной, поскольку ощущался легкий аромат наполнителя.

Как видно из данных рисунка 31, все образцы имели вкус кисломолочного продукта, однородную и вязкую консистенцию, однако по органолептическим показателям, внешнему виду оптимальным решением было добавление 1% растительного наполнителя ЭВК.

Выявлено, что доза внесенного растительного наполнителя не оказывает существенного влияния на консистенцию образцов кисломолочных продуктов. Образцы пастеризовали и ферментировали в стандартных условиях.

Далее исследовали два момента введения растительных наполнителей: перед пастеризацией в нормализованное молоко и после пастеризации перед сквашиванием молочной смеси.

На первом этапе растительные наполнители вносили в нормализованную смесь до пастеризации в количестве 5% ягодного сиропа и 1% ЭВК от массы смеси, во втором – после пастеризации вместе с закваской. Контролем служил образец без наполнителя.

Технологический процесс приготовления кисломолочных продуктов осуществляли традиционным способом. Образцы пастеризовали и ферментировали в стандартных условиях.

Изучена динамика кислотонакопления, определена активная и титруемая кислотность смеси. Результаты изучения динамики накопления кислотности показаны в таблицах 23-26.

Таблица 23 – Динамика накопления кислотности при внесении наполнителей (сиропа боярышника и экстракта виноградной кожуры) до и после пастеризации

Продолжительность процесса сквашивания	Контроль, °Т	Опытный образец с наполнителями, внесенными до пастеризации, °Т	Опытный образец с наполнителями, внесенными после пастеризации, °Т
До заквашивания	20,0±0,4**	20,1±0,3**	20,3±0,4**
Через 1 час	23,1±0,4**	21,2±0,1*	24,0±0,2*
Через 2 часа	27,5±0,2*	25,0±0,2*	29,1±0,2*
Через 3 часа	41,3±0,2*	39,3±0,2*	43,1±0,5**
Через 4 часа	62,0±0,1*	60,5±0,4*	64,3±0,3*
Через 5 часов	73,1±0,2*	71,2±0,3*	74,1±0,4*
Через 6 часов	75,2±1,2**	73,1±1,2**	76,2±1,4**
Результаты получены на основе расчета средней стандартной ошибки *p≤0,01, **p≤0,05			

Таблица 24 – Динамика кислотонакопления при внесении наполнителей (рябинового сиропа и экстракта виноградной кожуры) до и после пастеризации

Продолжительность процесса сквашивания	Контроль, °T	Опытный образец с наполнителями, внесенными до пастеризации, °T	Опытный образец с наполнителями, внесенными после пастеризации, °T
До заквашивания	20,0±0,4**	20,1±0,2**	20,1±0,3**
Через 1 час	23,1±0,4**	22,1±0,1*	26,3±0,2*
Через 2 часа	27,5±0,2*	26,3±0,2*	31,1±0,3*
Через 3 часа	41,3±0,2*	40,3±0,3*	44,6±0,2*
Через 4 часа	62,0±0,1*	61,5±0,5*	65,3±0,4*
Через 5 часов	73,1±0,2*	72,0±0,6*	78,2±0,5*
Через 6 часов	75,2±1,2**	74,2±1,3**	80,5±1,5**
Результаты получены на основе расчета средней стандартной ошибки *p≤0,01, ** p≤0,05			

Таблица 25 – Динамика кислотонакопления при внесении наполнителей (сиропа шиповника и ЭВК) до и после пастеризации

Продолжительность процесса сквашивания	Контроль, °T	Опытный образец с наполнителями, внесенными до пастеризации, °T	Опытный образец с наполнителями, внесенными после пастеризации, °T
До заквашивания	20,0±0,4**	20,1±0,2**	20,3±0,2**
Через 1 час	23,1±0,4**	21,0±0,3**	25,9±0,1*
Через 2 часа	27,5±0,2*	26,3±0,2*	32,4±0,2*
Через 3 часа	41,3±0,2*	38,5±0,2*	43,5±0,2*
Через 4 часа	62,0±0,1*	60,7±0,4*	66,5±0,4*
Через 5 часов	73,1±0,2*	71,2±0,5*	76,2±0,4*
Через 6 часов	75,2±1,2**	73,5±0,6*	81,3±1,5**
Результаты получены на основе расчета средней стандартной ошибки *p≤0,01, ** p≤0,05			

Таблица 26 – Динамика кислотообразования при введении растительного наполнителя (ЭВК) до и после пастеризации

Продолжительность процесса сквашивания	Контроль, °T	Опытный образец с наполнителями, внесенными до пастеризации, °T	Опытный образец с наполнителями, внесенными после пастеризации, °T
До заквашивания	20,0±0,4**	20,0±0,1*	20,2±0,1*
Через 1 час	23,1±0,4**	21,5±0,1*	24,3±0,2*
Через 2 часа	27,5±0,2*	25,3±0,3**	30,8±0,2*
Через 3 часа	41,3±0,2*	38,7±0,2*	42,5±0,5**
Через 4 часа	62,0±0,1*	60,2±0,7**	64,7±0,6*
Через 5 часов	73,1±0,2*	71,0±0,5*	75,6±0,6*
Через 6 часов	75,2±1,2**	73,4±0,5*	78,3±1,5**
Результаты получены на основе расчета средней стандартной ошибки *p≤0,01, ** p≤0,05			

Как видно из данных таблиц 23-26, существенной разницы в динамике кислотонакопления между опытными образцами с наполнителями, внесенными до и после пастеризации, не наблюдалось. За 6 часов сквашивания активная кислотность рН составила $4,57 \pm 0,05$, титруемая кислотность достигла 78 ± 3 °Т [178]. В процессе заквашивания смеси количество заквасочных микроорганизмов определяли по методу Виноградского-Шульгина-Брида [179, с. 5]. Результаты процесса сквашивания смеси в течение 6 часов представлены на рисунке 32.

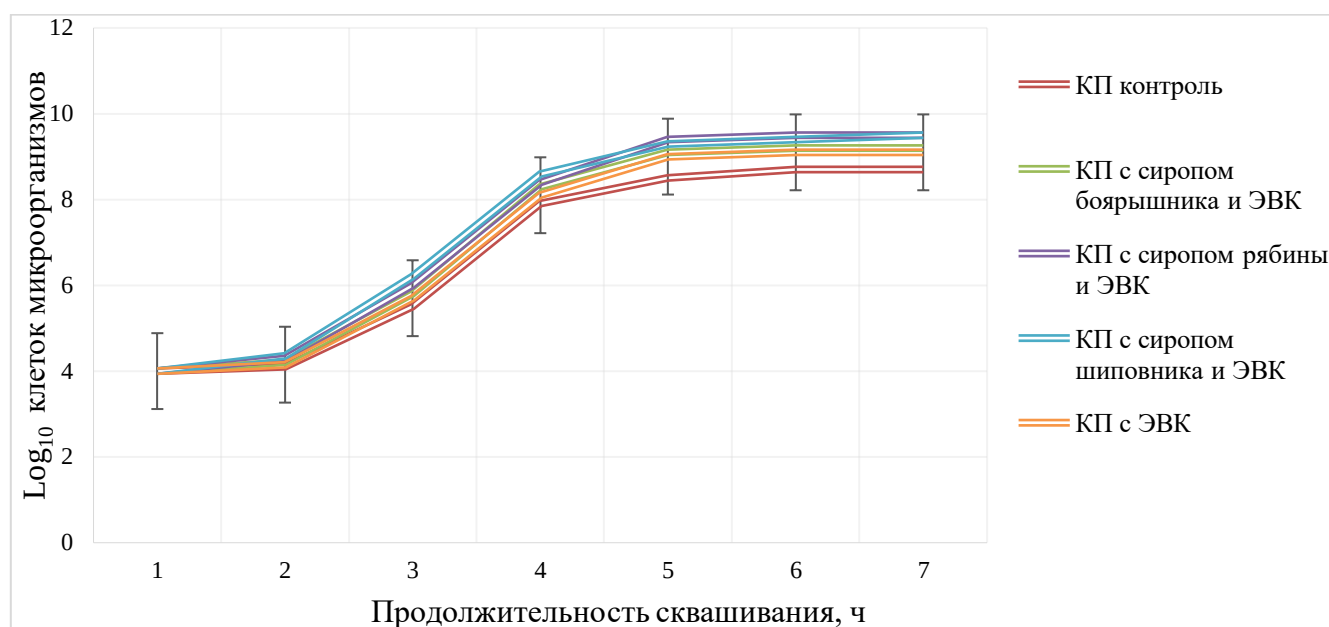


Рисунок 32 – Изменение количества клеток микроорганизмов в ходе сквашивания, $n=5$

Вследствие отсутствия значимых различий в динамике кислотонакопления, подобран вариант внесения растительных наполнителей после пастеризации. В соответствии с данными таблиц 23-26 и рисунка 32 увеличение титруемой кислотности происходило вместе с увеличением количества молочнокислых микроорганизмов. Полученные данные свидетельствуют о том, что наполнители не задерживают рост и развитие молочнокислых бактерий: за 4 часа сквашивания количество клеток микроорганизмов опытных образцов достигло 5×10^8 клеток/г. По сравнению с контрольным образцом, наблюдается несколько более активное размножение бактерий в опытных образцах, что может быть связано с содержанием в составе вводимых компонентов веществ, способствующих росту бактерий. В сиропах содержатся полимеры фруктозы, которые могут использоваться молочнокислыми микроорганизмами в качестве субстрата, способствуя их росту и развитию. Кроме того, очевидно, высокое содержание моносахаридов в ягодных сиропах ускоряет процесс сквашивания.

Результаты исследования показывают, что использование растительных

наполнителей положительно влияет на титруемую кислотность и на органолептические показатели кисломолочных продуктов. Было выявлено, что ягодные сиропы и экстракт виноградной кожуры незначительно ускоряют процесс ферментации.

3.5.2 Разработка рецептуры и технологии кисломолочных продуктов

Неблагоприятная экологическая ситуация в мире, постоянные стрессы, а также несбалансированное питание неблагоприятно воздействуют на организм человека. Поэтому необходимо в питании использовать симбиотические продукты на основе пребиотиков и пробиотических микроорганизмов, позволяющих организму противостоять негативным факторам окружающей среды. Продукты, полученные ферментацией с использованием симбиотических микроорганизмов, положительным образом влияют на здоровье вследствие нормализации обмена веществ и восстановления микрофлоры кишечника, подавления роста и развития гнилостных бактерий, активизации иммунитета, снижения уровня холестерина в крови и лучшего усвоения полезных веществ.

Результаты подбора рецептурных компонентов кисломолочных продуктов представлены в таблицах 27 и 28.

Таблица 27 - Рецепттура кисломолочных продуктов из расчета на 100 кг готового продукта

Компоненты	Количество, кг
Пастеризованное молоко	89-94
Наполнители:	
сироп ягодный	5
экстракт виноградной кожуры (порошок)	1
Бактериальная закваска	5

В состав кисломолочных продуктов входит молоко цельное пастеризованное, наполнитель из ягодных сиропов (боярышника, рябины и шиповника) [180, 181] в количестве 5% и экстракта виноградной кожуры в количестве 1%, закваска – бактериальная композиция молочнокислых культур *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus fermentum* 14 в соотношении 1:5:1.

Таблица 28 – Варианты рецептур приготовления кисломолочного продукта

№ продукта	Используемое сырье, на 100 кг		
	Молоко	Наполнитель	Закваска
1	89	Сироп боярышника, 5	5
2	89	Сироп шиповника, 5	5
3	89	Сироп рябины, 5	5
4	94	ЭВК (порошок), 1	5

Выработку кисломолочных продуктов из козьего молока производили в соответствии с технологической схемой, представленной на рисунке 33.

Технологический процесс производства		Показатели и параметры
Приемка сырья		
Молоко козье		Согласно ГОСТ 32940-2014
Внесение растительных наполнителей		В соответствии с действующим ГОСТ 31981-2013
Сироп (КМ – Рябина)		В соответствии с ТР ТС 021/2011, производитель: ПК «Фирма «Кызыл май»
Сироп (КМ – Шиповник)		В соответствии с ТР ТС 021/2011, производитель: ПК «Фирма «Кызыл май»
Сироп из плодов боярышника		Производитель: Кемеровская фармацевтическая фабрика
Пищевой обогатитель «Экстракт виноградной кожуры»		Производитель: «Healthlife Biotechnology Co. Ltd»
Закваска		В соответствии с действующим ГОСТ 34372-2017
Охлаждение		
		$t = (4 \pm 2) ^\circ C$
Пластинчатый охладитель		
Промежуточное хранение		
		$t = (4 \pm 2) ^\circ C$
Резервуар		Хранение не более 8 часов
Очистка		
		$t = (4 \pm 2) ^\circ C$
Сепаратор-молокоочиститель (фильтр)		
Пастеризация смеси		
		$t = (84 \pm 1) ^\circ C$
Пастеризационная установка		$\tau = (15-20) \text{ сек}$
Охлаждение смеси		
		$t = (41-43) ^\circ C$
Секция рекупирации, охлаждения		
Внесение закваски, перемешивание		
		$K_{\text{закваски}} = 3-5\%$
Резервуар с рубашкой и мешалкой		$\tau_{\text{перемеш}} = (10-15) \text{ мин}$
Сквашивание смеси		
		$t = (39-43) ^\circ C$
		$K = (78 \pm 3) ^\circ T$
Резервуар с рубашкой и мешалкой		$pH = 4,6-4,8$
		$\tau = 4-6 \text{ ч}$
Внесение растительных наполнителей: сиропы боярышника, шиповника, рябины; экстракт виноградной кожуры.		
		$t = (4 \pm 2) ^\circ C$
		$K_{\text{сироп боярышника}} = 5\%$

Перемешивание	$K_{\text{сироп шиповника}}=5\%$
	$K_{\text{сироп рябины}}=5\%$
<i>Резервуар</i>	$K_{\text{ЭВК}}=1\%$
Охлаждение, перемешивание	
<i>Резервуар с рубашкой и мешалкой</i>	$K=75-81\text{ }^{\circ}\text{T}$
Розлив, фасовка, маркировка	$t = (4\pm 2)\text{ }^{\circ}\text{C}$
<i>Упаковочный аппарат</i>	
Хранение и реализация	$t = (4\pm 2)\text{ }^{\circ}\text{C}$
<i>Холодильная камера</i>	

Рисунок 33 – Технологическая схема производства кисломолочных продуктов из козьего молока (с добавлением растительных наполнителей после сквашивания смеси)

Молоко принимали по количеству и качеству, установленному нормативной документацией, затем производили очистку его на центробежных молокоочистителях. Молоко подвергается пастеризации при температуре $(84\pm 1)\text{ }^{\circ}\text{C}$ и выдержке 15-20 секунд для полного уничтожения микрофлоры. После этапа пастеризации молоко охлаждали до температуры сквашивания $(37-43)\text{ }^{\circ}\text{C}$, вносили закваску в количестве 3-5% от массы смеси, которую перемешивали в течении 15-20 минут для полного растворения закваски. На данном этапе производства вносят расчетное количество растительных наполнителей: (5%) сиропа боярышника и 1% ЭВК (продукт 1), (5%) сиропа рябины и 1% ЭВК (продукт 2), (5%) сиропа шиповника (продукт 3), (1%) ЭВК (продукт 4) и перемешивают. Затем молочную смесь сквашивали в течение 4-6 часов до нарастания титруемой кислотности $75-77\text{ }^{\circ}\text{T}$, после чего перемешивали, охлаждали до температуры $10-12\text{ }^{\circ}\text{C}$ и подавали на расфасовку, упаковку и маркировку согласно требованиям технических условий на кисломолочные продукты [182].

Расфасованные кисломолочные продукты направляли на доохлаждение в холодильную камеру до температуры ниже $10\text{ }^{\circ}\text{C}$. После достижения в готовых продуктах температуры $(4\pm 2)\text{ }^{\circ}\text{C}$ технологический процесс считали законченным и кисломолочные продукты готовы к реализации, хранению и транспортировке. При фасовке рекомендуется упаковка типа «Pure Pak» из-за ее барьерных характеристик или стеклянная герметично закрытая тара емкостью 200-250 мл.

Готовые кисломолочные продукты хранят при температуре $(4\pm 2)\text{ }^{\circ}\text{C}$ и влажности 85-87% в условиях строгого санитарно-гигиенического режима, срок хранения составляет 15 дней. Использование полезной модели позволит повысить пищевую и биологическую ценность готового кисломолочного продукта и придать ему функциональных свойств за счет внесения в рецептуру кисломолочного продукта из козьего молока закваски с пробиотической культурой *Lactobacillus*

fermentum 14 и растительных наполнителей [183].

Технология приготовления кисломолочной продукции на основе козьего молока успешно прошла производственное испытание на ТОО «ОО Казахская Академия Питания». Проведенные исследования показывают возможность применения козьего молока при производстве кисломолочных продуктов с высокими потребительскими свойствами. Организация производства новых кисломолочных продуктов возможно на любом действующем молочном заводе, оснащённом необходимым оборудованием.

3.5.3 Изучение физико-химических показателей

Одним из основных факторов, влияющих на качество пищевых продуктов, являются физико-химические показатели. Результаты физико-химического анализа кисломолочных продуктов представлены в таблицах 29 и 30. Наименование кисломолочных продуктов: контроль – КП без растительных наполнителей; продукт 1 – КП с сиропом боярышника в количестве 5% и ЭВК в количестве 1%; продукт 2 – КП с сиропом рябины в количестве 5% и ЭВК (1%); продукт 3 – КП с введением сиропа шиповника в количестве 5% и ЭВК (1%); продукт 4 – КП с внесением ЭВК в количестве 1%.

Таблица 29 – Физико-химические показатели кисломолочных продуктов, n=7

Показатели	Кисломолочные продукты, в 100 г				
	Контроль	Продукт 1	Продукт 2	Продукт 3	Продукт 4
Массовая доля белка, %	4,21±0,05**	4,38±0,05**	4,37±0,07**	4,38±0,06**	4,32±0,03*
Массовая доля жира, %	4,29±0,03*	4,28±0,02*	4,28±0,02*	4,28±0,02*	4,29±0,03*
Массовая доля сухих веществ, %	13,11±0,26**	13,54±0,24**	13,51±0,21**	13,5±0,22**	13,34±0,19*
Углеводы, %	3,81±0,02*	4,29±0,03*	4,37±0,03*	4,35±0,02*	3,92±0,05**
Энергетическая ценность, Ккал	69,73±0,47*	72,13±0,51*	72,38±0,32*	72,35±0,29*	70,59±0,74*
Энергетическая ценность, кДж	291,94	297,8	303,04	302,91	295,54
Фосфатаза	Не обнаружена				
Результаты получены на основе расчета средней стандартной ошибки *p≤0,01, **p≤0,05					

Таблица 30 – Химический состав кисломолочных продуктов, n=5

Показатели	Кисломолочные продукты, содержание в 100 г				
	Контроль	Продукт 1	Продукт 2	Продукт 3	Продукт 4
Витамин С, мг	2,43±0,05**	4,89±0,12**	5,27±0,16**	4,91±0,18**	2,83±0,05**
Витамин Е, мг	0,072±0,002**	0,089±0,003**	0,086±0,002**	0,093±0,003**	0,081±0,003**
Флавоноиды, %	0	0,43±0,015**	0,39±0,012**	0,48±0,016**	0,31±0,0012*
Пектин, г	0	0,087±0,002**	0,052±0,002**	0,092±0,003**	0,062±0,002**
Результаты получены на основе расчета средней стандартной ошибки *p≤0,01, **p≤0,05					

Из результатов проведенного анализа таблицы 29 следует, что в кисломолочных продуктах, по сравнению с контрольным образцом, содержание белка повысилось в 2-2,16 раза. Наблюдается также повышение энергетической ценности на 2,4 Ккал, 11,1 Ккал, 2,65 Ккал, 2,62 Ккал и 0,86 Ккал. Следует отметить, что значительных отличий между образцами кисломолочных продуктов не наблюдается: содержание белка, жира и сухих веществ в кисломолочных продуктах остается в пределах, указанных в нормативной документации.

Как видно из данных таблицы 30, содержание аскорбиновой кислоты в новых кисломолочных продуктах 1, 2, 3 и 4, в сравнении с опытным образцом, повысилось на 101%, 116,8%, 225% и 55,5% соответственно. Уровень токоферола, по сравнению с контрольным образцом КП, повысился на 23,6%, 19,4%, 29% и 12,5%.

Общая сумма флавоноидов в опытных образцах кисломолочных продуктов варьирует в пределах 0,31 – 0,48 %; содержание пектина в КП находится в пределах 0,062-0,092 г.

Отсутствие фосфатазы свидетельствует о правильности проведения процесса пастеризации при получении кисломолочных продуктов.

3.6 Исследование аминокислотного состава кисломолочных продуктов

3.6.1 Продуцирование свободных аминокислот молочнокислыми бактериями

Источником свободных аминокислот в организме человека являются белки пищи либо белки тканей. В отличие от жиров и углеводов, организм не запасается аминокислотами, поэтому в определенных для организма ситуациях распадаются белки органов и тканей. Вследствие этого дефицит отдельных аминокислот нежелателен для здоровья человека, а продукты с повышенной белковой биологической ценностью позволяют восполнить этот дефицит, нормализуя наличие необходимых элементов в организме человека.

Протеолиз в молоке при совместном культивировании штаммов трех видов является решающим фактором для роста закваски и ее метаболизма. Исследования показывают, что взаимосвязь между использованием казеина и ростом двух лактобацилл в молоке еще не полностью охарактеризована. Трудно определить вклад каждой культуры в общий метаболизм.

Данный этап исследования является попыткой охарактеризовать поведение заквасочных штаммов в ассоциированной культуре в отношении использования казеина, т.е. взаимосвязь между высвобождением аминокислот протеолитическими *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus fermentum* 14 [184, р. 324; 185, р. 42] и удовлетворением потребности *Streptococcus thermophilus* в свободных аминокислотах. Эта взаимосвязь является определяющей для роста культур в молоке с одной стороны, а с другой – для пищевой и биологической ценности кисломолочных продуктов. Предполагается, что при удовлетворении потребности культур в аминокислотном азоте между микроорганизмами создается ростовая взаимосвязь, результатом которой является активный рост каждого из них и высокая конечная концентрация жизнеспособных клеток, определяющих

биологическую ценность продукта, что приводит к положительному эффекту.

Показано, что штаммы *Streptococcus thermophilus* обладают значительно более низкой протеолитической активностью, чем *Lactobacillus bulgaricus*. Неспособность *S. thermophilus* метаболизировать галактозу приводит к ее выведению из клетки и может быть причиной дефектов вкуса и текстуры продукта. Однако экзополисахариды, продуцируемые выбранными штаммами, имеют решающее значение для конечной текстуры кисломолочных продуктов [186, p. 144].

Для сравнительного изучения козьего и коровьего молока в качестве субстратов, в таблице 31 представлено количество клеток *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus fermentum* 14 во время совместного культивирования в коровьем и козьем молоке.

Таблица 31 – Содержание клеток *Lactobacillus bulgaricus* B6, *Streptococcus thermophilus* TA 45 и *Lactobacillus fermentum* 14 при сквашивании в козьем и коровьем молоке, n=5

Время роста, ч	Концентрация клеток микроорганизмов, КОЕ/г					
	<i>Lactobacillus bulgaricus</i> B6 + <i>Streptococcus thermophilus</i> TA 45 + <i>Lactobacillus fermentum</i> 14 в козьем молоке			<i>Lactobacillus bulgaricus</i> B6 + <i>Streptococcus thermophilus</i> TA 45 + <i>Lactobacillus fermentum</i> 14 в коровьем молоке		
	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i> 14	<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	<i>Streptococcus thermophilus</i>	<i>Lactobacillus fermentum</i> 14
1	2	3	4	5	6	7
0	1,0x10 ³	5,3x10 ³	1,0x10 ³	1,0x10 ³	5,1x10 ³	1,0x10 ³
3,5	1,0x10 ⁶	6,8 x10 ⁶	1,2x10 ⁶	1,0x10 ⁶	3,9 x10 ⁶	1,0x10 ⁶
5,7	1,7x10 ⁷	8,5x10 ⁷	2,0x10 ⁷	1,5x10 ⁷	6,2x10 ⁷	2,3x10 ⁷
24	1,3x10 ⁸	9,7x10 ⁸	1,9x10 ⁸	1,2x10 ⁸	6,5x10 ⁸	1,7x10 ⁸
168	2,3x10 ⁹	7,6x10 ⁹	3,1x10 ⁹	1,5x10 ⁹	4,7x10 ⁹	2,2x10 ⁹

Катаболизм пептидов инициирует выделение относительно высоких концентраций свободных аминокислот при сквашивании и повышение их концентрации при культивировании от 3 до 168 часов. Уровень аминокислот достигал максимума после 168 часов культивирования *Streptococcus thermophilus* 45, *Lactobacillus bulgaricus* B6 и *Lactobacillus fermentum* 14.

Количество клеток *Lactobacillus bulgaricus* достигал максимального уровня 2,3·10⁹ КОЕ/г в КП из козьего молока и 1,5x10⁹ КОЕ/г в КП на основе коровьего молока после 168 часов культивирования; уровень клеток *Streptococcus thermophilus* достигала максимума при 7,6x10⁹ КОЕ/г после 168 часов свертывания козьего молока и 4,7x10⁹ КОЕ/г после 168 часов свертывания коровьего молока; уровень клеток *Lactobacillus fermentum* 14 достигала максимума при 3,1x10⁹ КОЕ/г после 168 часов свертывания козьего молока и 2,2x10⁹ КОЕ/г после 168 часов

ферментации коровьего молока, что свидетельствует о том, что *Lactobacillus fermentum* 14 более устойчив и хорошо культивируется в козьем молоке.

Следует подчеркнуть, что несмотря на наличие параллельных линий, описывающих процесс накопления свободных аминокислот *Lactobacillus bulgaricus* B6 и *Lactobacillus fermentum* 14 в обоих видах молока, уровень аминокислот в каждой точке динамики в козьем молоке в несколько раз выше, чем в коровьем. Эти данные свидетельствуют об активной атаке казеина протеазами клеточной стенки, а также о действии внутриклеточных пептидаз *Lactobacillus bulgaricus* B6 и *Lactobacillus fermentum* 14. Катаболизм пептидов инициирует выделение относительно высоких концентраций аминокислот при сквашивании козьего молока и повышение их уровня при хранении от 6 до 168 часов.

В поисках подходов к созданию условий в биологической системе «молоко – закваска» для стимуляции роста культур лактобактерий соответственно протеолитической активности *Lactobacillus bulgaricus* и *Lactobacillus fermentum* 14 в бактериальной композиции, проведена оценка влияния фактора высвобождения аминокислот из протеолитических культур *Lactobacillus bulgaricus* B6 и *Lactobacillus fermentum* 14 при выращивании в козьем молоке.

В таблицах 32-34 показано изменение концентрации аминокислот, продуцируемых следующими культурами: технологическим штаммом *Streptococcus thermophilus*; протеолитическими штаммами *Lactobacillus bulgaricus* B6 и *Lactobacillus fermentum* 14 при выращивании и свертывании козьего молока и хранении кисломолочных продуктов при температуре (4±2) °С.

Таблица 32 – Свободные аминокислоты, продуцируемые *Streptococcus thermophilus* TA в козьем молоке во время коагуляции и в процессе хранения, (мг/100г), n=3

Аминокислоты	Время инокуляции, ч					
	1	3	6	24	48	168
Валин	9±0,05*	12±0,06*	29±0,12*	31±0,21*	34±0,18*	36±0,14*
Лейцин + изолейцин	12±0,14**	25±0,17*	41±0,23*	48±1,27**	89±2,34**	214±0,73*
Лизин	44±0,23*	73±0,62*	92±2,17**	127±3,84**	125±3,96**	128±3,89**
Метионин	2±0,01*	6±0,04*	8±0,03*	13±0,15**	10±0,09*	9±0,07*
Треонин	5±0,04*	12±0,5**	30±0,19*	42±0,26*	44±1,78**	46±1,42**
Триптофан	4±0,03*	11±0,06*	13±0,05*	18±0,7**	22±0,15*	21±0,14*
Фенилаланин	1±0,01*	2±0,01*	4±0,15**	5±0,13**	6±0,18**	4±0,17**
Цистеин	3±0,01*	4±0,15**	7±0,25**	9±0,07*	13±0,12*	14±0,16**
Аргинин	4±0,02*	12±0,05*	25±0,08*	43±0,46**	45±0,42*	49±1,83**
Тирозин	7±0,06*	13±0,09*	16±0,14*	21±0,24**	23±0,17*	27±0,19*
Гистидин	14±0,13*	17±0,15*	21±0,23**	29±1,26**	28±1,12**	26±1,27**
Пролин	8±0,05*	16±0,08*	29±1,26**	54±0,42*	31±0,86**	29±0,13*
Серин	8±0,03*	21±0,09*	24±1,15**	28±1,34**	25±1,16**	19±0,8**
Аланин	7±0,06*	13±0,16**	32±1,37**	39±1,85**	43±1,95**	47±1,15**
Глицин	9±0,05*	14±0,25**	21±0,69*	29±1,26**	32±1,27**	35±1,64**
Результаты получены на основе расчета средней стандартной ошибки *p≤0,01, ** p≤0,05						

Таблица 33 – Свободные аминокислоты, продуцируемые *Streptococcus thermophilus* TA 45 и *Lactobacillus bulgaricus* B6 при культивировании на козьем молоке, (мг/100г), n=5

Аминокислоты	Время инокуляции, ч					
	1	3	6	24	48	168
Валин	90±2,58**	120±1,15*	157±2,47*	224±4,23**	259±4,35**	267±2,51*
Лейцин+изолейцин	100±3,5**	230±5,47**	312±4,81**	402±5,18**	501±4,05*	531±4,21*
Лизин	41±0,29*	85±0,84*	149±1,67*	237±4,23**	316±5,14**	359±2,37*
Метионин	28±0,26*	52±2,31*	80±3,42**	113±2,15**	115±3,16**	116±3,62**
Треонин	61±2,82**	83±3,47**	107±4,65**	173±5,84**	196±3,44**	205±2,83**
Триптофан	11±0,43**	12±0,46**	21±0,34**	43±1,26**	68±2,86**	72±2,65**
Фенилаланин	12±0,96**	36±0,23*	58±2,85**	93±1,28**	159±1,54**	219±1,86*
Цистеин	7±0,03*	11±0,07*	18±0,12*	31±0,47**	37±0,51**	38±0,53**
Аргинин	68±0,44*	106±1,12**	129±1,27*	176±1,36*	228±1,82*	265±1,89**
Тирозин	31±1,32**	48±0,37*	69±1,43**	98±1,64**	127±1,87**	132±1,96**
Гистидин	25±0,18*	76±0,87**	83±0,68*	91±0,97**	99±1,45**	94±1,07**
Пролин	98±1,09**	118±1,16*	205±1,64*	384±2,45*	419±3,28*	431±3,35*
Серин	14±0,15*	39±0,73**	62±0,67*	118±1,49*	156±2,13**	141±1,08*
Аланин	43±0,15*	52±0,87**	72±0,38*	93±2,67**	124±2,83**	157±1,27*
Глицин	12±0,26**	14±0,28**	24±1,5**	42±1,06**	63±1,27**	71±1,14**
Результаты получены на основе расчета средней стандартной ошибки *p≤0,01, ** p≤0,05						

Потенциал высвобождения аминокислот *Lactobacillus bulgaricus* B6 и *Lactobacillus fermentum* 14 должен быть направлен не только на потребление свободных аминокислот двумя штаммами в закваске в качестве факторов роста, но и на накопление свободных аминокислот в КП для удовлетворения потребительских потребностей организма. Эта концентрация свободных аминокислот, накопленных после фазы активного роста, является фактором питательной ценности КП.

Таблица 34 – Свободные аминокислоты, продуцируемые *Streptococcus thermophilus* 45, *Lactobacillus bulgaricus* B6 и *Lactobacillus fermentum* 14, при росте в козьем молоке во время коагуляции и в процессе хранения, (мг/100г), n=5

Аминокислоты	Время инокуляции, ч					
	1	3	6	24	48	168
1	2	3	4	5	6	7
Валин	105±0,87*	132±1,12*	196±3,64**	245±4,95**	277±3,06**	283±3,24**
Лейцин+изолейцин	157±1,67**	245±1,56*	370±4,86**	635±5,18*	750±5,26*	765±5,84*
Лизин	48±0,29*	93±0,84*	175±0,67*	278±4,23**	350±4,3**	368±2,26*
Метионин	34±0,27*	63±1,25**	96±2,41**	124±2,84**	156±3,18**	162±3,65**
Треонин	63±1,72**	94±3,06**	119±2,35**	178±2,64**	217±2,89**	223±3,15*
Триптофан	15±0,13*	17±0,56**	37±0,67**	51±0,76**	79±0,94**	81±1,25**

Продолжение таблицы 34

1	2	3	4	5	6	7
Фенилаланин	68±0,79**	126±1,94**	172±2,36**	221±2,78**	256±3,25**	284±2,63*
Цистеин	7±0,05*	12±0,06*	19±0,08*	34±0,49**	39±0,54**	41±0,57**
Аргинин	81±0,94**	135±1,62**	160±2,47**	205±2,16**	261±2,85**	297±3,19**
Гистидин	32±1,15**	89±1,83**	93±2,16**	107±1,86**	113±2,18**	106±2,94**
Тирозин	77±1,32**	106±2,09**	127±2,63**	135±2,24**	143±3,58**	149±2,58*
Пролин	112±2,49**	143±2,87**	225±3,18**	408±3,89*	436±3,35*	447±3,45**
Серин	25±0,67**	82±1,14**	105±1,26**	199±2,39**	220±2,83**	213±2,46**
Аланин	50±0,86**	69±0,78**	97±1,08**	164±2,93**	171±3,07**	189±3,48**
Глицин	14±0,13*	17±0,82**	29±1,07**	58±1,14**	71±1,62**	83±1,26**
Результаты получены на основе расчета средней стандартной ошибки *p≤0,01, **p≤0,05						

Основное количество свободных аминокислот при ферментации козьего молока накапливалось при ферментации *Lactobacillus bulgaricus* B6 и *Lactobacillus fermentum* 14 во время логарифмической фазы роста, т.е. при активном подкислении козьего молока. Полученные результаты свидетельствуют о том, что активная фаза высвобождения аминокислот из *Lactobacillus bulgaricus* B6 и *Lactobacillus fermentum* 14 совпадает по активности как с процессом роста, так и с продуцированием молочной кислоты, независимо от типа молока. Образование свободных аминокислот при ферментации *Lactobacillus bulgaricus* B6 и *Lactobacillus fermentum* 14 протекает одинаково для обоих видов молока, со временем активность процесса снижается.

Свободные аминокислоты в кисломолочном продукте отражают баланс между протеолизом и их усвоением лактобактериями. Столь подробная характеристика роли основного фактора в протосотрудничестве *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* и *Lactobacillus fermentum*, соответственно в протосимбиозе между ними, на основе сравнительного процесса динамики в коровьем и козьем молоке сделана впервые. Результатом протосотрудничества является созданная ростовая связь между *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* и *Lactobacillus fermentum*, выражением которой являются следующие высокие биологические показатели закваски: активность высвобождения аминокислот при гидролизе казеина под действием ферментной системы *Lactobacillus bulgaricus* B6 и *Lactobacillus fermentum* 14 была выше при ферментации козьего молока примерно в 1,5 раза по сравнению с коровьим [34, pp. 14-16; 35, p. 1219, 1229].

В козьем молоке содержится больше небелкового азота, чем в коровьем. Небелковые азотистые соединения – протеозопептоны и низкомолекулярные азотсодержащие вещества, – пептиды, представляющие собой фрагменты белков молока, продукты метаболизма клеток молочной железы, а также свободные аминокислоты. Содержание свободных аминокислот в козьем молоке в 2,5-3 раза выше, чем в коровьем.

3.6.2 Аминокислотный состав кисломолочных продуктов с растительными наполнителями

Аминокислотный состав кисломолочных продуктов представлен в таблице 35. Представленные в таблице продукты: продукт 1 – кисломолочный продукт с сиропом боярышника и ЭВК, продукт 2 – кисломолочный продукт с сиропом рябины и ЭВК, продукт 3 – кисломолочный продукт с сиропом шиповника и ЭВК, продукт 4 – кисломолочный продукт с ЭВК.

Таблица 35 – Аминокислотный состав кисломолочных продуктов (мг/100 г), n=5

Аминокислоты	Время инокуляции				
	Контроль	Продукт 1	Продукт 2	Продукт 3	Продукт 4
<i>Незаменимые АК</i>	2000±19,76*	2155±22,13**	2141±18,88*	2149±20,13*	2049±18,57*
Валин	277±3,58**	298±4,19**	294±3,86**	296±3,15**	284±2,87**
Лейцин+изолейцин	751±5,26*	781±5,94*	776±4,35*	779±5,12*	762±4,95*
Лизин	350±2,34*	379±2,13*	380±2,37*	379±2,42*	355±2,17*
Метионин	156±2,68**	177±3,58**	179±2,25**	173±2,65**	161±2,34**
Треонин	217±2,29**	246±2,49**	241±2,36**	243±2,84**	225±2,46**
Триптофан	77±0,94**	79±1,05**	79±1,08**	81±1,12**	78±1,02**
Фенилаланин	172±2,67**	195±2,75**	192±2,61*	198±2,76**	184±2,76**
<i>Заменимые АК</i>	2296±25,89**	2435±28,99**	2432±24,59**	2437±0,54**	2345±22,55*
Цистеин	39±0,54**	41±0,47**	40±0,59**	41±0,54**	40±0,43**
Аргинин	253±2,65**	275±2,84**	270±1,25*	276±2,85**	264±1,25*
Тирозин	143±2,58**	169±2,37**	165±2,34**	168±2,69**	149±2,43**
Гистидин	114±1,18**	126±1,26**	124±1,32**	123±1,37**	118±1,34**
Пролин	436±3,35*	457±3,87*	458±3,27*	456±3,92*	446±3,15*
Серин	221±1,33*	223±2,05**	224±2,35**	221±2,48*	222±2,42**
Аспарагиновая кислота	237±3,64**	246±4,81**	243±4,67**	245±3,85**	241±3,25**
Аланин	175±1,86**	198±2,34**	204±2,57**	206±2,83**	182±2,67**
Глутаминовая кислота	607±7,14**	625±7,92**	629±5,14*	627±6,08**	611±4,56*
Глицин	71±1,62**	75±1,06**	75±1,09**	74±1,04**	72±1,05**
<i>Всего АК</i>	4296±45,65**	4590±51,12**	4573±43,47*	4586±47,78**	4394±41,12*
Результаты получены на основе расчета средней стандартной ошибки *p≤0,01, **p≤0,05					

Как видно из таблицы 35, общее содержание незаменимых аминокислот в КП следующее: в контрольном образце КП – 2000 мг/100 г, в КП 1 – 2155 мг/100 г, в КП 2 – 2141 мг/100 г, в КП 3 – 2149 мг/100 г и в КП 4 – 2049 мг/100 г; по сравнению с контрольной моделью, количество независимых аминокислот в продукте 1 повысилось на 6,8%, в продукте 2 – на 6,5%, в продукте 3 – на 6,7 %, и в продукте 4 – на 2,3%. Полученные данные свидетельствуют о биологической ценности кисломолочных продуктов из козьего молока, так как в нем содержатся все незаменимые аминокислоты.

Соотношение заменимых и незаменимых аминокислот в кисломолочных продуктах представлено на рисунке 34.

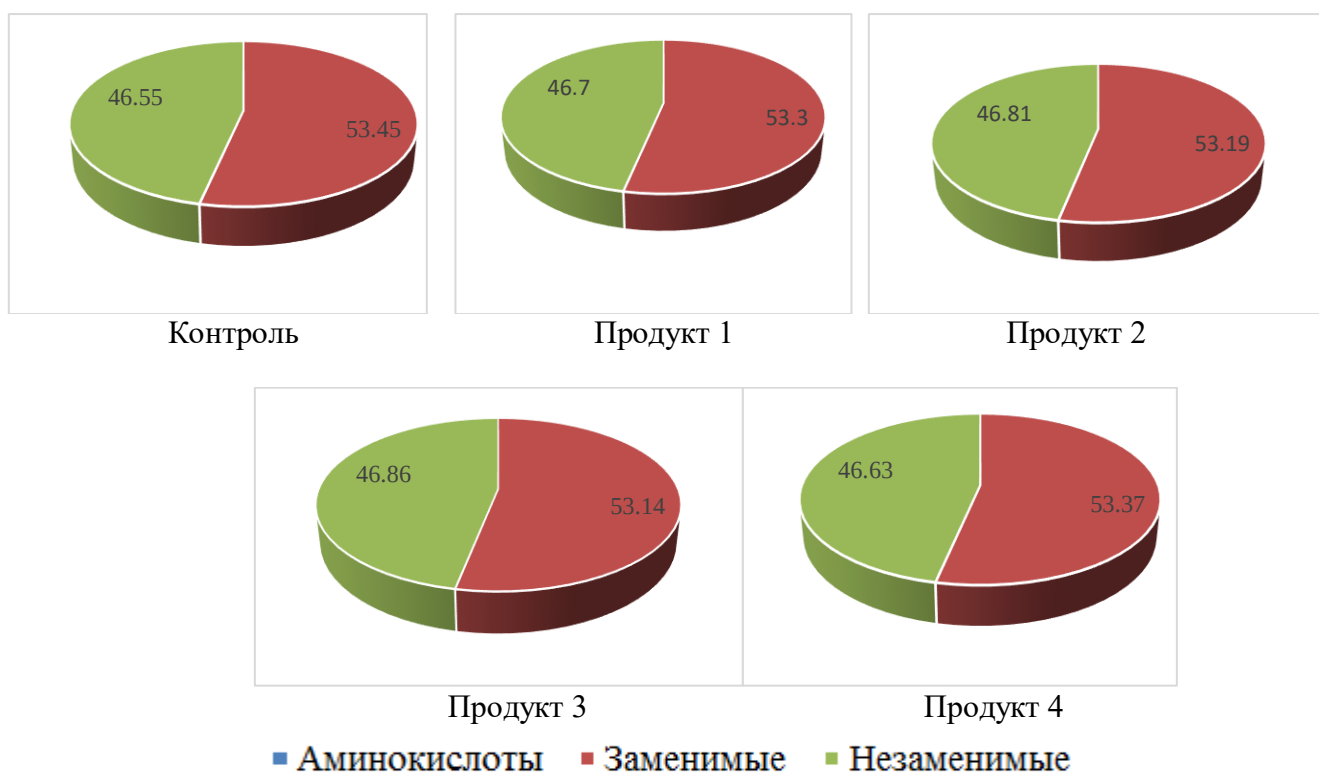


Рисунок 34 – Соотношение заменимых и незаменимых аминокислот в кисломолочных продуктах

Для количественной оценки биологической ценности белков кисломолочных продуктов с пробиотическими свойствами, полученных из козьего молока, рассчитано значение аминокислотного сора с учетом содержания аминокислоты в исследуемом продукте с идеальным содержанием белка, принятым в качестве эталона по шкале ФАО/ВОЗ, результаты которого представлены в таблицах 36 и 37.

Таблица 36 – Аминокислотный скор кисломолочных продуктов 1 и 2

Аминокислоты	Шкала ФАО/ВОЗ		Контрольный образец		Продукт 1		Продукт 2	
	А, мг/100 г	С, %	А, мг/100 г	С, %	А, мг/100 г	С, %	А, мг/100 г	С, %
1	2	3	4	5	6	7	8	9
Валин	5,0	100	6,57	131	7,07	141	6,95	139
Лейцин+изолейцин	11,0	100	17,8	161	18,4	167	18,3	166
Метионин +цистеин	3,5	100	4,5	128	5,0	142	5,3	151
Фенилаланин + тирозин	6,0	100	7,48	124	8,6	143	8,43	140
Треонин	4,0	100	5,1	127	5,6	140	5,3	132
Триптофан	1,0	100	1,83	183	1,86	186	1,83	183

Продолжение таблицы 36

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Лизин	5,5	100	8,4	152	8,95	162	9	163
Гистидин	1,5	100	2,54	169	2,93	195	2,9	193

Таблица 37 – Аминокислотный скор кисломолочных продуктов 3 и 4

Аминокислоты	Шкала ФАО/ВОЗ		Продукт 3		Продукт 4	
	А, мг/100г	С, %	А, мг/100г	С, %	А, мг/100 г	С, %
Валин	5,0	100	7,0	140	6,71	134
Лейцин + изолейцин	11,0	100	18	163	18,0	163
Метионин + цистеин	3,5	100	5,1	145	4,6	131
Фенилаланин + тирозин	6,0	100	8,7	145	7,9	132
Треонин	4,0	100	5,4	135	5,2	130
Триптофан	1,0	100	1,9	190	1,85	185
Лизин	5,5	100	8,9	161	8,4	152
Гистидин	1,5	100	2,9	193	2,64	176

Исследование аминокислотного сора белков кисломолочных продуктов из козьего молока показало, что наибольшее значение валина в контрольном образце – 131% и готовых продуктах в пределах 139-141%, лейцина с изолейцином – 161%, 163-167% и триптофана – 183%, 186-190%, соответственно. Более низкие значения были у аминокислоты треонина, а также фенилаланина с тирозином: в контрольном образце – 127% и 124% соответственно, в готовых кисломолочных продуктах содержание треонина в пределах 130-140%. По-видимому, ягодные сиропы и ЭВК являются благоприятным субстратом для бактерий рода *Lactobacillus bulgaricus* B6, *Streptococcus thermophilus* TA 45 и *Lactobacillus fermentum* 14, что сказывается на продуцировании ими высокого уровня аминокислот в кисломолочных продуктах. В таблице 38 представлены результаты БЦ белковой составляющей кисломолочных продуктов.

Таблица 38 – Определение биологической ценности белков опытных и контрольного образцов

Качественные показатели	Контроль	Продукт 1	Продукт 3	Продукт 2	Продукт 4
КРАС, %	49,5	40	44	44,2	46,5
БЦ, %	50,5	60	56	55,8	53,5

Из данных таблицы 38 видно, что КРАС контрольного образца меньше этого показателя в исследуемых продуктах 1, 2, 3 и 4 на 19,2%, 10,7%, 11,1% и 6,0% соответственно. Биологическая ценность (БЦ) готовых кисломолочных продуктов

1, 2, 3 и 4 выше контрольного образца на 15,8%, 9,4%, 9,8%, 5,6%, соответственно. Аминокислоты являются необходимым материалом для построения белков, соответственно, повышение их биологической ценности позволяет организму использовать аминокислоты в требуемом количестве на пластические нужды.

3.7 Обоснование срока годности кисломолочных продуктов из козьего молока

3.7.1 Определение срока годности кисломолочных продуктов

Кисломолочные продукты были отправлены на хранение при температуре 4 ± 2 °С. В готовых продуктах проводили исследования показателей качества ежедневно в течение хранения. Было оценено пять образцов кисломолочных продуктов: контрольный образец – КП без растительных наполнителей, продукт 1 – КП с добавлением сиропа боярышника в количестве 5% и ЭВК в количестве 1%; продукт 2 – КП с добавлением сиропа рябины в количестве 5% и ЭВК в количестве 1%; продукт 3 – КП с добавлением сиропа шиповника в количестве 5% и ЭВК в количестве 1%, а также продукт 4 – КП с ЭВК в количестве 1%.

Современные тенденции увеличения срока годности продуктов выдвигают требования к сохранению хорошей консистенции при длительном хранении. В связи с этим были проведены исследования влагоудерживающей способности сгустков, которые определяли по объему выделившейся сыворотки при центрифугировании молочных продуктов в течение 10 минут со скоростью 3000 мин⁻¹ [7]. Влагоудерживающая способность опытных образцов в сравнении с контролем представлена на рисунке 35. Динамика изменения титруемой и активной кислотности контрольного и опытных образцов представлена на рисунках 36 и 37.

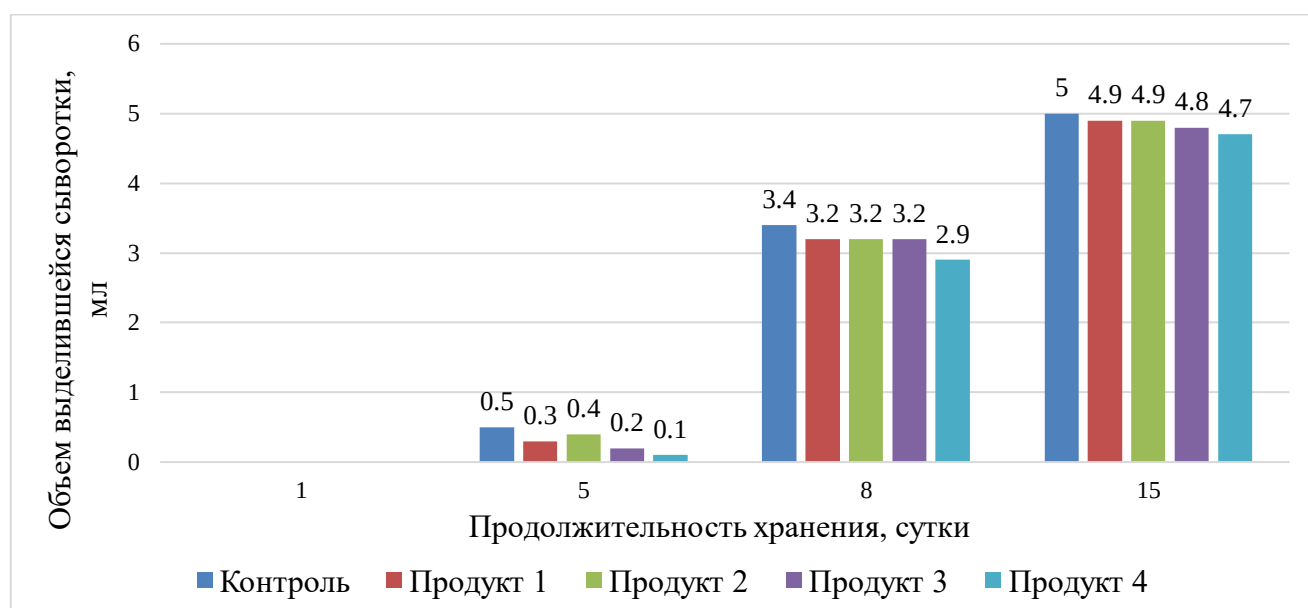


Рисунок 35 – Влагоудерживающая способность КП после центрифугирования

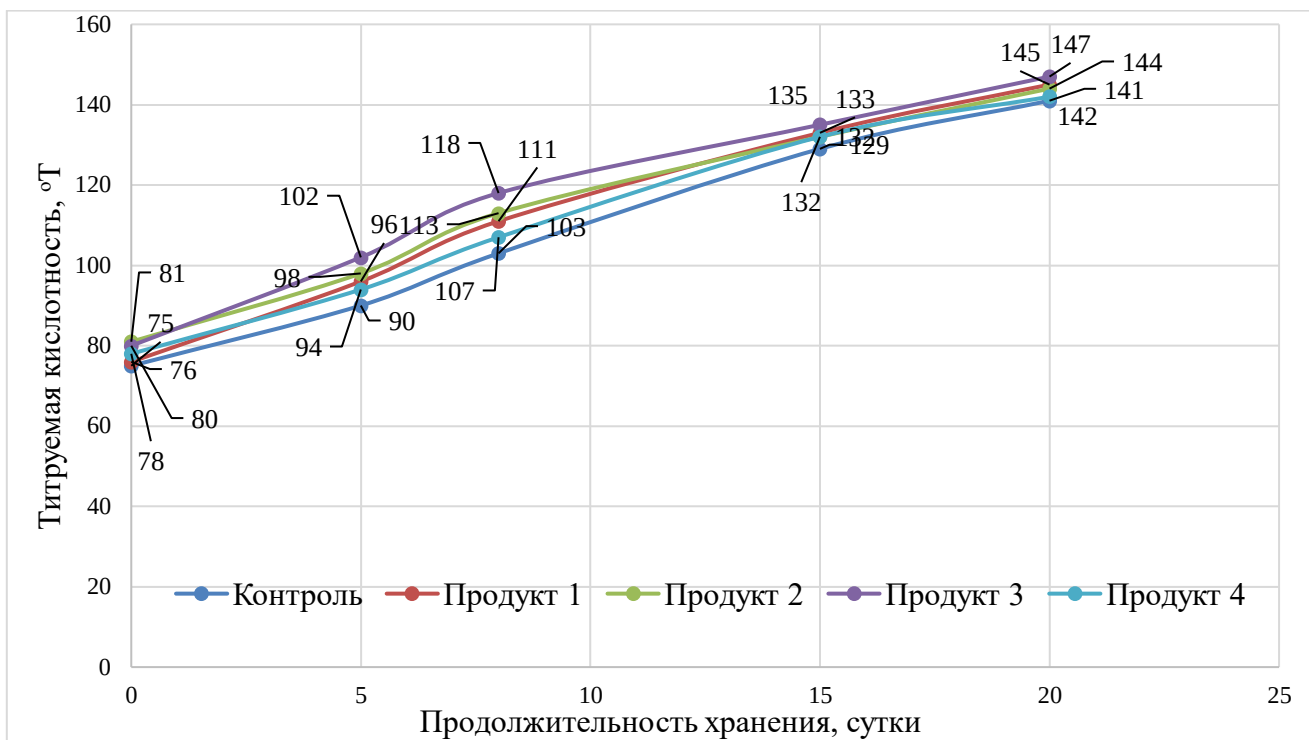


Рисунок 36 – Динамика изменения титруемой кислотности кисломолочных продуктов

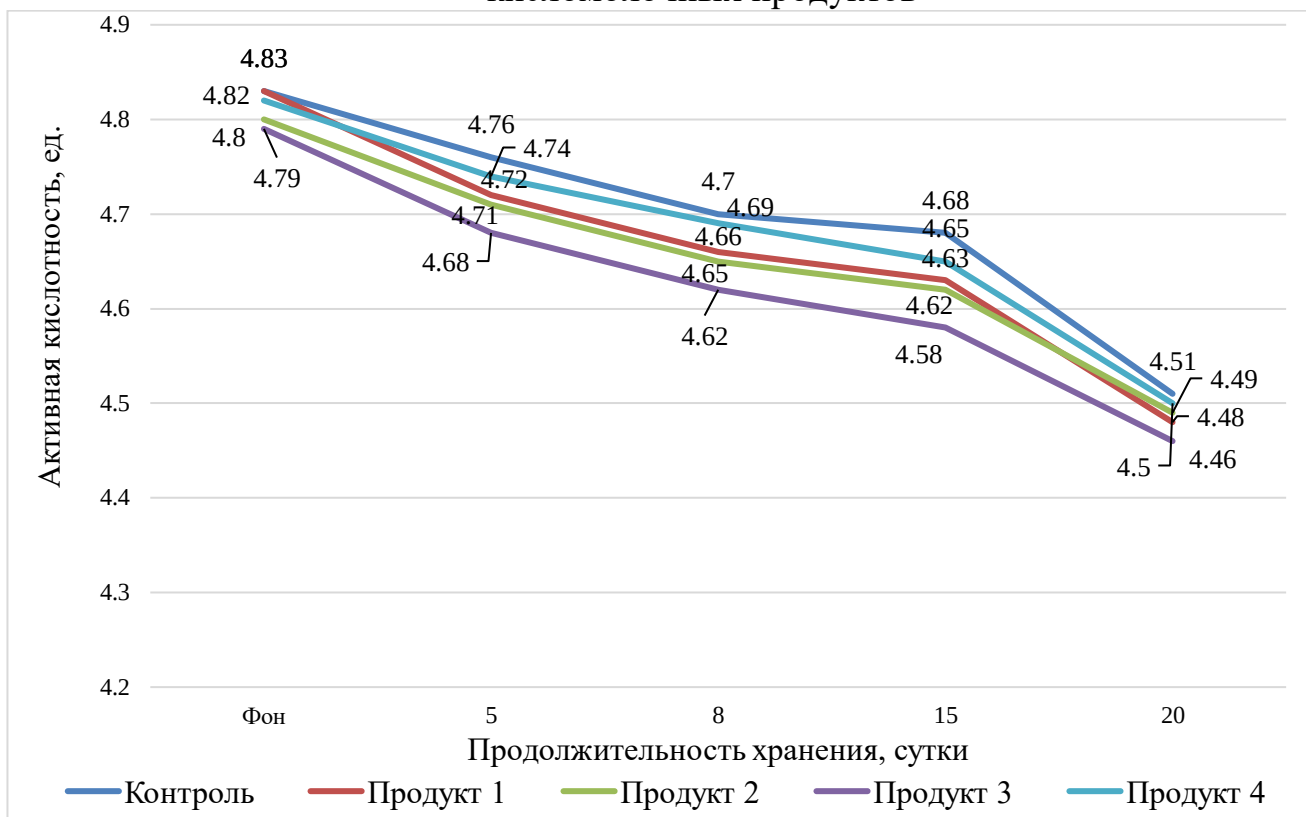


Рисунок 37 – Динамика изменения активной кислотности образцов

Как видно из данных, представленных на рисунке 35, в течение срока хранения существенной разницы в контроле и продуктах при центрифугировании в течение 10 минут и измерении скорости отделения сыворотки не наблюдалось. Объем выделяемой сыворотки в продуктах в конце срока хранения составляет 4,9-4,7 см³/10 см³, разница с контрольным образцом составляет 2-6%.

В соответствии с полученными данными, кисломолочные продукты с наполнителями обладают хорошими влагоудерживающими свойствами, что может быть связано с увеличением содержания пектиновых веществ в сиропах рябины, шиповника и боярышника, а также в ЭВК, которые положительно влияют на влагоудерживающую способность казеина и замедляют процесс отделения сыворотки.

Как видно из данных, представленных на рисунках 36 и 37, накопление титруемой и активной кислотности между контрольным и опытными образцами с растительными наполнителями, введенными после пастеризации, была сходной, при хранении титруемая кислотность достигала 128-140 °Т, активная кислотность составляла рН 4,58-4,68 на 15-е сутки хранения, и 4,46-4,51 на 20-е сутки хранения [187].

Установлено, что введение в смесь наполнителей растительного происхождения способствует интенсификации процесса сквашивания, не ухудшает влагоудерживающую способность сгустков. *Lactobacillus bulgaricus* и *Lactobacillus fermentum* синтезируют специфический фермент пептидогликан-гидролазу, отвечающую за гидролиз важного компонента клеточной стенки бактерий (пептидогликана) и для роста на питательных средах им необходимы витамины на протяжении всего периода развития [184, р. 321]. По-видимому, при обогащении кисломолочных продуктов биологически активными веществами ягодных сиропов, молочнокислые бактерии активно синтезируют внеклеточные полисахариды, улучшающие структуру, повышающие стабильность и предотвращающие синерезис конечных продуктов.

3.7.2 Исследование микробиологических показателей

Важным этапом обоснования срока годности продукта является микробиологическое исследование. Учитывая тот факт, что кислая среда благоприятна для развития дрожжей и плесневых грибов, целесообразно изучить динамику их содержания в процессе хранения кисломолочных продуктов.

Из большого числа микроорганизмов наибольшее эпидемиологическое значение имеют кишечные патогенные бактерии: сальмонеллы, энтеротоксические кишечные палочки [188, р. 522].

Показатель КМАФАнМ является одним из микробиологических показателей качества пищевых продуктов и характеризует общее содержание микроорганизмов в них. Его мониторинг на всех технологических этапах определяет, были ли в достаточной степени выполнены очистка, дезинфекция и контроль температуры во

время производства, транспортировки и хранения.

Известно, что протокооперация йогуртовых бактерий *Lactobacillus bulgaricus* и *Streptococcus thermophilus* заключается в продуцировании муравьиной кислоты, а также аминокислот и малых пептидов *S. thermophilus*. Эти соединения являются лимитирующими субстратами в молоке [189, р. 220]. Однако протокооперация йогуртовых бактерий не может быть полностью объяснена производством этих вышеупомянутых соединений.

Установлено, что *S. thermophilus* в молоке продуцирует избыток углекислого газа, необходимый для оптимального роста *L. bulgaricus*. Установлено, что при термообработке (или вакуумировании) из молочной смеси не удаляется углекислый газ [190, р. 507-508].

Результаты проведенных исследований показали, что количество молочнокислых бактерий в кисломолочных продуктах соответствует нормам, установленным нормативной документацией «О безопасности молока и молочной продукции» [191] и при условии соблюдения условий хранения кисломолочной продукции не развиваются *St. aureus*, БГКП (колиформы), сальмонеллы и *L. monocytogenes*; содержание дрожжей и плесени не превышало допустимого уровня.

Результаты микробиологического исследования кисломолочных продуктов к началу хранения приведены в таблице 39; к концу срока хранения – в таблице 40.

Таблица 39 – Микробиологические показатели КП в начале хранения

Наименование показателей	Требования по НД		Кисломолочные продукты			
	ТР ТС 033/2013	Сан ПиН2.3.2. 1078-01	с сиропом боярышника и ЭВК	с сиропом рябины и ЭВК	с сиропом шиповника и ЭВК	с ЭВК
КМАФАнМ, КОЕ/см ³ (г)	Молочнокислых микроорганизмов не менее 1x10 ⁷		5,7×10 ⁹	5,8×10 ⁹	5,9×10 ⁹	5,0×10 ⁹
БГКП (колиформы), не более	0,01	0,1	-	-	-	-
Патогенные, в том числе сальмонеллы и <i>Listeria monocytogenes</i> (в 25 г продукта)	Не допускаются	Не допускаются	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (в 1,0 г)	Не допускаются	Не допускаются	-	-	-	-
Дрожжи и плесени, КОЕ/ (см ³ , г), не более	50	50	-	-	-	-
Примечание: «-» – не обнаружено						

Таблица 40 – Микробиологические показатели КП на конец срока годности

Наименование показателя	Требования по НД		Кисломолочные продукты			
	ТР ТС 033/2013	СанПиН 2.3.2.1078-01	с сиропом боярышника и ЭВК	с сиропом рябины и ЭВК	с сиропом шиповника и ЭВК	с ЭВК
КМАФАнМ, КОЕ/см ³ (г)	Молочнокислых микроорганизмов не менее 1×10^7		$1,2 \times 10^7$	$1,3 \times 10^7$	$1,3 \times 10^7$	1×10^7
БГКП (колиформы), не более	0,01	0,1	-	-	-	-
Патогенные, в том числе сальмонеллы <i>Listeria monocytogenes</i> (в 25 г)	Не допускаются	Не допускаются	-	-	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i> (в 1,0 г)	Не допускаются	Не допускаются	-	-	-	-
Дрожжи и плесени, КОЕ/ (см ³ , г), не более	50	50	-	-	-	-
Примечание: «-» – не обнаружено						

По данным таблиц 39 и 40, что по истечении срока годности количество молочнокислых бактерий во всех образцах уменьшилось на три порядка следующим образом: в кисломолочном продукте 1 - с от $5,7 \times 10^9$ КОЕ/см³ до $1,2 \times 10^7$ КОЕ/см³, во втором кисломолочном продукте – от $5,8 \times 10^9$ КОЕ/см³ до $1,3 \times 10^7$ КОЕ/см³, в кисломолочном продукте 3 – от $5,9 \times 10^9$ КОЕ/см³ до $1,3 \times 10^7$ КОЕ/см³ и в кисломолочном продукте 4 уменьшилось от $5,0 \times 10^9$ КОЕ/см³ до $1,0 \times 10^7$ КОЕ/см³. Результаты показывают, что наибольшее количество молочнокислых бактерий к началу хранения выросло в кисломолочном продукте 3 (с сиропом шиповника и ЭВК), что составляет $5,9 \times 10^9$ КОЕ/см³. В начале и в конце срока годности дрожжи и плесень в пробах не обнаружены. Количество молочнокислых микроорганизмов во всех образцах при хранении оставалось в пределах допустимой нормы: в кисломолочных продуктах с сиропами и ЭВК содержание молочнокислых микроорганизмов было выше нормы на 16,7-23 % и составляет 0,2-0,3 КОЕ/см³. Это может быть связано с продолжающимся развитием *Lb. bulgaricus* и *Lb. fermentum*, входящим в состав закваски. Показатели безопасности молочной продукции соответствуют требованиям ГОСТ: болезнетворные бактерии, плесень и дрожжи отсутствуют.

Результаты данного исследования, на основе СанПиН 4.01.013-97 «Условия и сроки хранения особо скоропортящихся продуктов» и СанПиН 4.01.056.01, позволили установить срок годности кисломолочной продукции до 15 суток, что является приемлемым для потребления. Таким образом, внесение растительных наполнителей не ухудшает микробиологическую картину продуктов, а позволяет

обогащать их биологически активными веществами, содержащимися в боярышнике, шиповнике, рябине и ЭВК, при этом увеличивает срок годности кисломолочных продуктов. Наблюдается увеличение количества полезных бактерий выше нормируемого в конце срока годности, что соответствует требованиям ГОСТ на кисломолочные продукты [182].

3.7.3 Влияние антиоксидантной активности на сроки хранения кисломолочных продуктов

Повышение антиоксидантной активности продуктов питания является одним из эффективных алиментарных путей предотвращения или ингибирования окислительного процесса. Существует концепция о благотворном действии пробиотиков: устойчивая диета, богатая антиоксидантами, может оказывать последовательное и продолжительное воздействие на организм и его метаболизм [192, р. 724]. На рисунке 38 представлены результаты изменения количественного содержания антиоксидантов в кисломолочных продуктах, полученных на основе YOMIX 495 LYO 100 DCU (Danisco, Германия) в процессе хранения. На рисунке 39 представлены результаты изменения количественного содержания антиоксидантов в кисломолочных продуктах, полученных на основе бактериальной композиции на протяжении хранения [193].

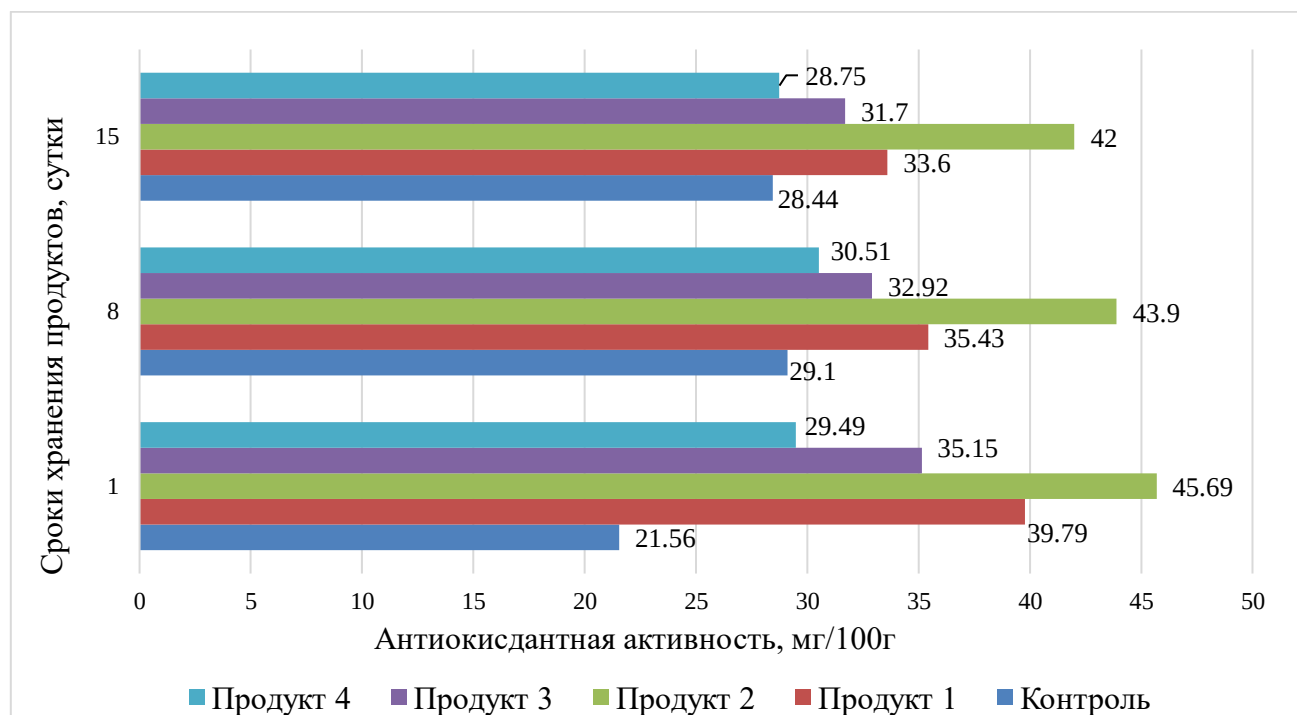


Рисунок 38 – Динамика изменения АОА в процессе хранения кисломолочных продуктов при использовании классической закваски, n=5

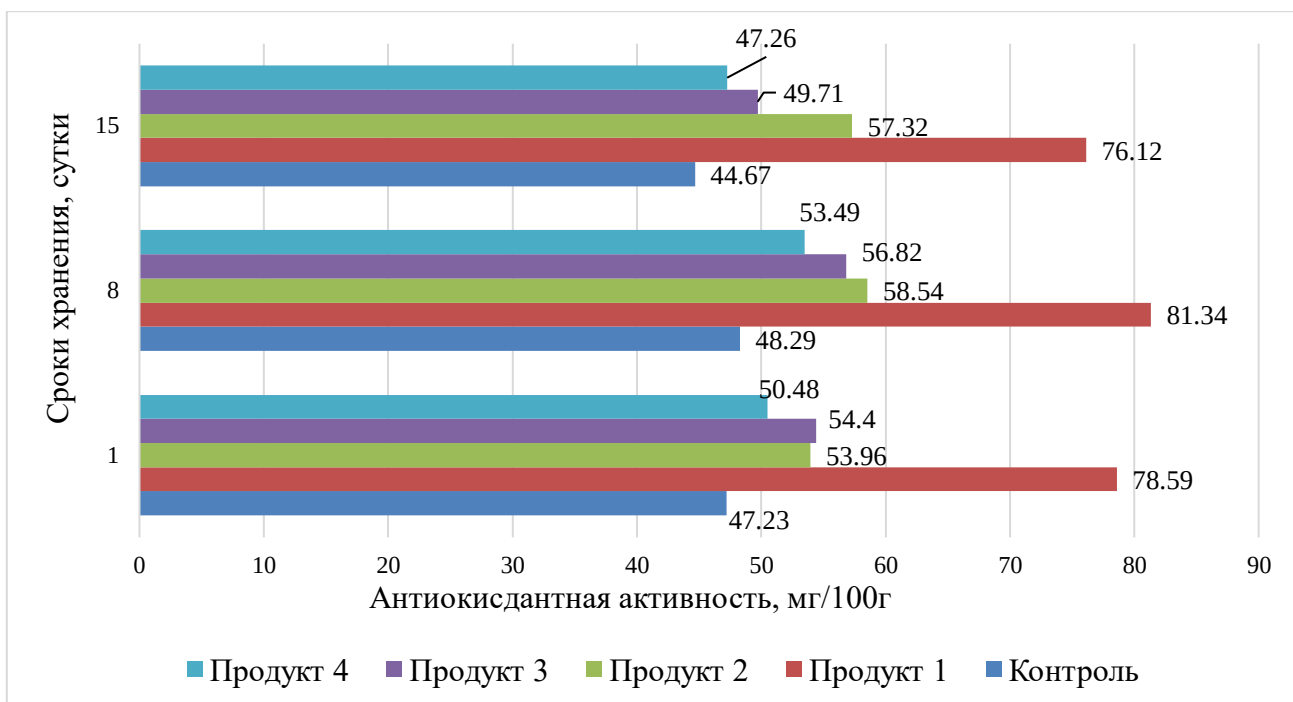


Рисунок 39 – Динамика изменения антиоксидантной активности кисломолочных продуктов в процессе хранения при использовании бактериальной композиции, n=5

Как видно из рисунка 38, АОА кисломолочных продуктов изменилась в течение срока хранения следующим образом: на 8-е сутки в контрольном образце наблюдалось повышение АОА с 21,56 мг/100 г до 29,1 мг/100 г, что составляет 34,97%; в первом продукте наблюдалось снижение АОА с 39,79 до 35,43 мг/100 г, что составляло 10,95%; во втором продукте – с 45,69 до 43,9, что составляет 3,9%, в третьем продукте – с 35,15 до 32,92 мг/100 г, что соответствовало 6,3%, в четвертом продукте наблюдалось повышение АОА на 3,4%; на 15-е сутки динамика изменения АОА в контрольном образце и кисломолочных продуктах была следующей: в контрольном образце – повышение на 31,9%, в первом продукте – снижение на 15,5%, во втором продукте – снижение на 8%, в третьем продукте – снижение на 8%, в четвертом продукте наблюдалось снижение на 2,5% [194].

Как видно из рисунка 39, антиоксидантная активность кисломолочных продуктов, полученных на основе бактериальной композиции, изменилась в течение срока хранения следующим образом: в контрольном образце наблюдалось повышение АОА с 47,23 до 48,29 мг/100 г, что составляло 2,2 %, затем снижение до 44,67 мг/100 г; в первом продукте наблюдается повышение АОА с 78,59 до 81,34 мг/100 г, что составляло 3,4 %, на 15-е сутки снижение до 76,12 мг/100 г; во втором продукте – повышение АОА с 53,96 до 58,54, что составляло 8,5%, далее снижается до 57,32 мг/100 г; в третьем продукте – с 54,4 до 56,82 мг/100 г, что соответствовало 4,3%, далее снижение до 49,71 мг/100 г; в четвертом продукте – с 50,48 до 53,49,

что соответствовало 5,6%, затем снижение АОА до 47,26 мг/100 г.

При сравнении полученных данных выявлено, что антиоксидантная активность контрольной модели и готовых кисломолочных продуктов, полученных на основе бактериальной композиции, выше антиоксидантной активности продуктов, полученных на основе классической йогуртовой закваски, на 54,3%, 49,3%, 15,32%, 35,3% и 41,5 на начало срока годности и 36,3%, 55,8%, 26,7, 36,2% и 39,16% на конец срока годности.

В готовом продукте содержание витаминов, сывороточных белков и полипептидов обеспечивало необходимый уровень антиоксидантной активности. Наблюдая изменения антиоксидантной активности разным составом заквасочной микрофлоры, можно контролировать чувствительность к окислению закваски и продукта на его основе.

В результате исследования АОА кисломолочных продуктов на основе симбиоза *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* и *Lactobacillus fermentum* 14 отмечалось накопление довольно большого количества антиоксидантов, по сравнению с продуктами, полученными на основе классической закваски. Результаты эксперимента показали, что АОА контрольного образца и кисломолочных продуктов, полученных на основе классической закваски, а также контрольного образца и кисломолочных продуктов, полученных при использовании бактериальной композиции в условиях молочнокислого брожения, увеличивалась на восьмые сутки хранения, что может быть связано с процессами созревания и коагуляции под действием молочнокислых бактерий, накоплением ферментов и витаминов, а также с образованием водорастворимых пептидов. Эти данные коррелируют с результатами исследований, показавших взаимосвязь АОА с количеством водорастворимых пептидов, образуемых в процессе созревания и ферментации кисломолочных продуктов [195, р. 69].

Результаты проведенного исследования позволяют сделать вывод о сохранении высокого уровня АОА готовых продуктов, полученных на основе бактериальной композиционной закваски, в течение срока хранения.

3.8 Оценка пищевой безопасности кисломолочных продуктов

В соответствии с нормативной документацией на молоко и молочные продукты, к опасным веществам относят такие токсичные элементы как ртуть, кадмий, мышьяк и свинец; пестициды (гексахлорциклогексан и ДДТ), а также радионуклиды [191].

Свинец, попадая в организм человека, может вызывать хроническое отравление. В разработанной кисломолочной продукции его содержание составляет до 5% от допустимого уровня. Длительное воздействие мышьяка в низких концентрациях может привести к дефектам кожного покрова, а также к нарушениям кровообращения и периферической нервной системы [196, р. 123]. В разработанной продукции содержание мышьяка составляет до 2% от допустимого уровня.

Кадмий влияет на деградацию системы антиоксидантной защиты, разрушает структуру белков, приводит к окислению нуклеиновых кислот и способствует образованию активных форм кислорода и свободных радикалов в организме [197, р. 71]. Чрезвычайно длительный период полураспада кадмия в организме человека составляет около 30 лет, что подчеркивает необходимость поиска эффективных методов профилактики в лечении токсического отравления.

В готовых кисломолочных продуктах фактическое содержание кадмия составил до 3% от допустимого уровня. Соли ртути в основном повреждают слизистую оболочку кишечника и почек, в то время как метилртуть широко влияет на весь организм [193, р. 126]. В готовой продукции концентрация ртути составила до 2% от допустимого уровня. Организм подвергается воздействию пестицидов прямо или косвенно. При использовании пестицидов на сельскохозяйственных культурах люди вступают с ними в непосредственный контакт, вследствие чего они поражают кожу, глаза, рот и дыхательные пути и вызывают острые реакции, такие как головная боль, раздражение, рвота, чихание и сыпь на коже [198, с. 5]. В исследуемых образцах продуктов пестициды отсутствуют.

Цезий (Cs, атомный номер 55) в группе 1 периодической таблицы элементов имеет стандартный атомный вес 132,9. Встречается в виде одновалентного катиона Cs^+ в химических соединениях. Химически Cs имеет сходство с такими элементами группы 1 как натрий и калий. Это мягкий, ковкий, серебристо-белый металл с температурой плавления всего 28,4 °C.

Показатели безопасности готовых кисломолочных продуктов на основе козьего молока представлены в таблице 41.

Таблица 41 – Показатели безопасности кисломолочных продуктов

Показатели	ТР ТС 033/2013	Фактическое содержание			
		Продукт 1	Продукт 2	Продукт 3	Продукт 4
1	2	3	4	5	6
Токсичные элементы, мг/кг:					
Свинец	0,02	Менее 0,001	Менее 0,002	Менее 0,002	Менее 0,002
Кадмий	0,02	Менее 0,002	Менее 0,002	Менее 0,002	Менее 0,001
Мышьяк	0,05	Менее 0,001	Менее 0,001	Менее 0,001	Менее 0,001
Ртуть	0,005	Менее 0,0002	Менее 0,0001	Менее 0,0001	Менее 0,0001
Пестициды, мг/кг					
Гексахлорциклопексан (α -, β -, γ -изомеры)	0,02	Менее 0,0002	Менее 0,0002	Менее 0,0002	Менее 0,0001
ДДТ и его метаболиты	0,01	Менее 0,0001	Менее 0,0001	Менее 0,0001	Менее 0,0001

Продолжение таблицы 41

Микотоксины, мг/кг					
Афлатоксин М ₁	Не допускается (менее 0,00002)	Менее 0,00001	Менее 0,00001	Менее 0,00001	Менее 0,00001
Антибиотики, мг/кг					
Левомицетин	Не допускается (менее 0,0003)	-	-	-	-
Тетрациклиновая группа	Не допускается (менее 0,01)	-	-	-	-
Стрептомицин	Не допускается (менее 0,2)	-	-	-	-
Пенициллин	Не допускается (менее 0,004)	-	-	-	-
Радионуклиды, Бк/кг					
Цезий-137	40	1	2	2	1
Стронций-90	25	1	1	1	1
Примечание: (-) – не обнаружено					

Изотоп ¹³⁷ Cs считается наиболее опасным загрязнителем в радиоактивных осадках. Изотоп ¹³⁷ Cs имеет физический период полураспада около 30 лет [192, р. 276]. Воздействие стронция-90 вызывает изменения в физиологии костей как у людей, так и у мышей, с подавлением кроветворения и иммунной защиты [192, р. 277]. Показатели безопасности кисломолочных продуктов представлены в таблице 41.

Таким образом, содержание свинца, мышьяка и кадмия составило менее 0,001 мг/кг (л), а ртути – менее 0,0001 мг/кг (л); содержание пестицидов, к которым относили гексахлорциклогексан (α-, β-, γ-изомеры), ДДТ и его метаболиты – менее 0,0001 мг/кг (л). Удельная активность радионуклидов в продуктах была следующей: цезия-137 (при допустимом уровне 40 Бк/кг(л)) – от 1 до 2 Бк/кг(л), стронция-90 (при допустимом уровне 25 Бк/кг(л)) – 1 Бк/кг(л). Содержание афлатоксинов, (допустимый уровень – менее 0,00002 мг/кг (л)) составило менее 0,00001 мг/кг (л).

3.9 Влияние потребления кисломолочных продуктов на снижение окислительного стресса крыс при затравке хлоридом кадмия

В условиях интенсивного антропогенного загрязнения окружающей среды изучение влияния поллютантов на живые организмы чрезвычайно актуально [199, р. 1-2]. Источниками техногенного загрязнения, наиболее опасными для популяций любых организмов, являются промышленные предприятия (химические,

металлургические, целлюлозно-бумажные, строительные материалы и др.), транспорт, промышленная теплоэнергетика и сельскохозяйственное производство. Количество загрязняющих веществ постоянно растет с разработкой и внедрением новых технологий [200, р. 4038].

Ежедневно люди подвергаются воздействию различных токсичных соединений, присутствующих в окружающей среде. В этом аспекте кадмий, который широко используется в промышленности, представляет собой серьезную проблему для здоровья человека, флоры и фауны [201, р. 34]. Кадмий поступает в организм человека с пищей, с воздухом, но воздействие через кожу происходит в меньшей степени [202, р. 184]. Многие профессиональные группы рабочих горнодобывающей, лакокрасочной промышленности, компаний по производству аккумуляторных батарей особенно подвержены воздействию значительного количества пыли и паров кадмия. Курильщики также подвержены влиянию кадмия [202, р. 185]. Отравление кадмием наносит прямой вред здоровью и может вызвать тяжелую острую или хроническую интоксикацию человеческого организма. Попадая в организм, кадмий может накапливаться на протяжении всей жизни и негативно влиять как на здоровье человека, так и животных, даже в малых дозах [2202, р. 187]. При длительном воздействии через воду, питание и воздух основные системы жизнедеятельности организма (дыхательная, сердечно-сосудистая, нервная, мочевая и др.) могут быть необратимо повреждены его токсическим действием.

Сообщалось, что токсическое действие кадмия дополнительно можно уменьшить с помощью антиоксидантов. Ученые Тандон с соавторами (Tandon et al.) [203] исследовали действие антиоксиданта (маннитол) на крысах, ранее подвергавшихся воздействию кадмия. Экспериментальные данные показали, что введение антиоксидантов во время хелатирования кадмия может обеспечить положительный эффект за счет снижения окислительного стресса [203, р. 214]. Взаимодействие антиоксиданта системы со свободными радикалами приводит к уменьшению их накопления в организме, восстановлению окислительно поврежденных биологических мембран и предотвращению мутаций [203, р. 189]. Для нейтрализации свободных радикалов в организме используются антиоксиданты (витамины А, Е, С, глутатион и др.); тем не менее, дополнительный прием пищи необходим для снижения степени свободнорадикальных реакций [203, pp. 189, 192]. Фрукты, овощи и некоторые лекарственные растения богаты антиоксидантами, которые можно использовать в качестве добавок в профилактическом питании.

Исследования по оценке влияния кисломолочных продуктов на снижение токсического отравления организма кадмием были проведены на 72 белых лабораторных крысах-самцах линии Вистар (Wistar) с исходной массой тела 230–250 г, которые содержались в условиях вивария в клетках со свободным доступом к воде и корму. В виварии поддерживали влажность 50–65% и температуру воздуха 20–25°C. Животные находились на карантине в течение десяти дней до начала эксперимента. Больных крыс обнаружено не было, шерстяной покров у всех был

ровным и гладким, склеры глаз не воспалены. Животных разделили на шесть групп по 12 крыс в каждой. Все животные содержались на базовом виварном рационе в течение 30 дней; кроме базового рациона подопытные животные получали 10,0 мл на 100 г веса тела кисломолочного продукта, обогащенного соответствующими растительными наполнителями. Модель кадмиевой интоксикации создавалась пероральным приемом 1,5 мг/кг хлорида кадмия (1 раз в день) с питьевой водой в течение 30 дней. Контрольной группе крыс не вводили хлорид кадмия, и они получали дополнительно к общему пищевому рациону 10,0 мл 40%-ного раствора фруктозы на 100 г массы тела, эквивалентному калорийности кисломолочного продукта. В течение эксперимента контролировали прием пищи и общее состояние крыс взвешивали каждые семь дней.

Условия содержания животных, а также проведение экспериментов строго соответствовали «Правилам Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и научных целей», а также Директиве 2010/63/EU Европейского парламента [204]. Распределение подопытных животных на группы представлено в таблице 42.

Таблица 42 – Распределение подопытных животных на группы

Группы	Количество животных	Распределение животных
1	$n=12$	Контрольная группа
2	$n=12$	питьевая вода + хлорид кадмия + КП без добавок
3	$n=12$	питьевая вода + хлорид кадмия + КП с сиропом боярышника и ЭВК
4	$n=12$	питьевая вода + хлорид кадмия + КП с сиропом рябины и ЭВК
5	$n=12$	питьевая вода + хлорид кадмия + КП с сиропом шиповника и ЭВК
6	$n=12$	питьевая вода + хлорид кадмия + КП с ЭВК

Животные содержались в одинаковых условиях кормления и содержания. Все эксперименты проводились в строгом соответствии с правилами, разработанными и утвержденными локальным этическим комитетом Института физиологии человека и животных КН МОН РК, и требованиями директивы Европейского парламента, изложенными в Руководстве по уходу и использованию лабораторных животных.

Потребление молочных продуктов на фоне затравки кадмием способствовало незначительному увеличению массы тела крыс. В то же время, потребление кисломолочных продуктов, обогащенных сиропами ягод и ЭВК на фоне затравки кадмием благоприятно сказалось на приросте массы тела и функционального состояния крыс, произошедших со стороны шерстяного покрова и склеры глаз. На рисунке 40 показано влияние кисломолочных продуктов на изменение веса крыс на фоне интоксикации хлоридом кадмия.

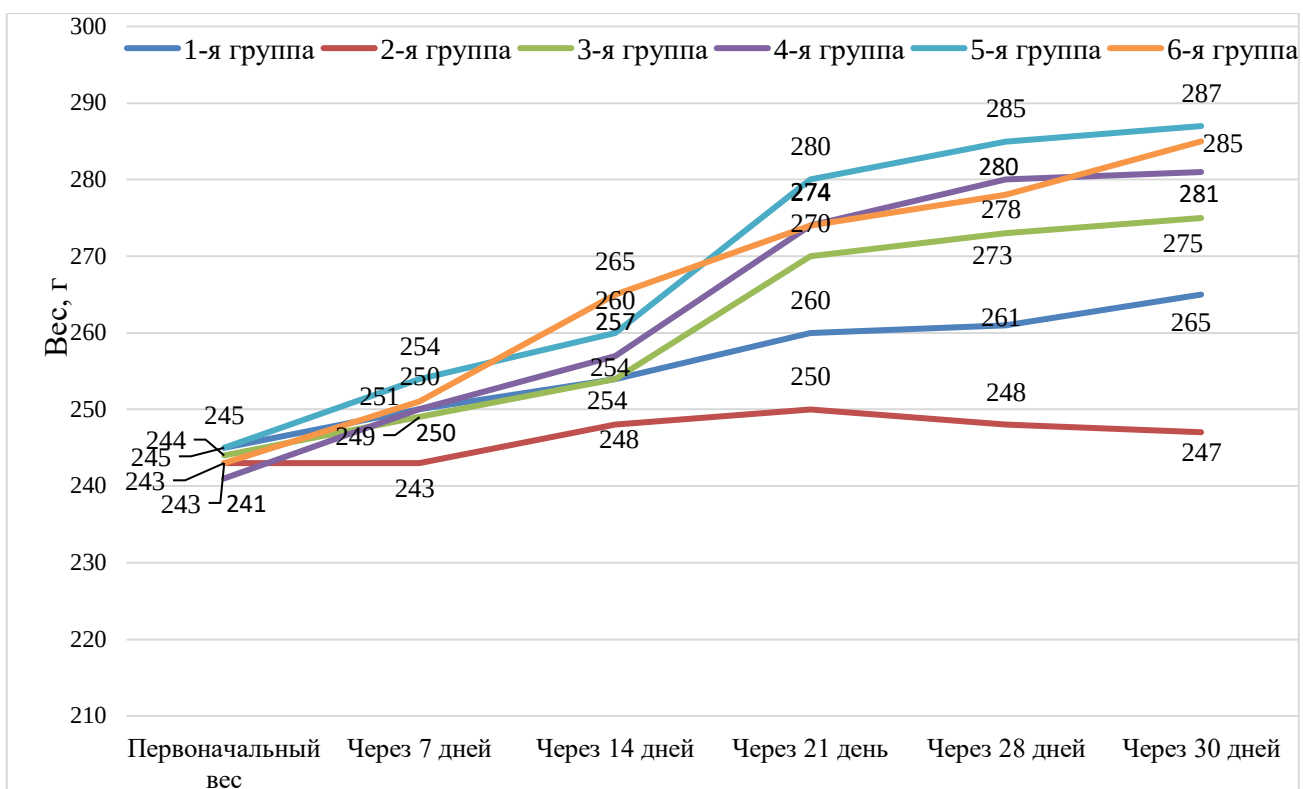


Рисунок 40 – Изменение массы тела крыс в динамике эксперимента

Следует отметить, что на фоне потребления кисломолочных продуктов с растительными наполнителями изменение массы тела крыс было положительным, однако, между группами изменения были практически незначительными.

Исследование печени крыс. При хроническом действии солей кадмия в печени крыс имело место нарастание процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ). Исследование показателей антиоксидантного статуса в гомогенатах печени крыс представлено в таблице 43.

Таблица 43 – Исследование показателей антиоксидантного статуса в гомогенатах печени крыс, n=3

Группы	МДА, мкмоль/л	ДК, мкмоль/л	АОА, %	Каталаза, Е/мин·мг белка	СОД, у.е./мг белка
Группа 1	12,7±0,3	3,0±0,1	75,3±2,6	31,3±1,4	52,1±2,3
Группа 2	*28,9±1,2	*4,5±0,2	*42,5±1,8	*17,5±0,5	*24,6±1,2
Группа 3	16,8±0,6**	3,2±0,1**	59,6±2,7**	27,1±1,2**	45,9±1,8**
Группа 5	18,7±0,5**	*3,5±0,1	57,3±2,4**	24,8±1,2**	42,9±1,9**
Группа 4	19,7±0,8**	*3,6±0,1	55,6±2,2**	24,0±1,0**	38,6±1,7**
Группа 6	21,1±0,7**	*3,8±0,1	*47,6±2,0	22,7±0,9**	33,6±1,2**

Результаты получены на основе расчета средней стандартной ошибки $p \leq 0,05$
Примечание: * – результаты статистически достоверны по отношению к группе 1,
**- результаты статистически достоверны по отношению к 2 группе.

Как видно из таблицы 43, исследование концентрации промежуточного продукта свободнорадикального окисления липидов – диеновых конъюгатов (ДК) показало, что уровень ДК в гомогенатах гепатоцитов крыс на модели хронической интоксикации превышал контрольные значения на 33,3%. При индукции процессов ПОЛ системой Fe^{2+} /аскорбат происходило полное окисление всех промежуточных продуктов до конечного соединения, малоновый диальдегид (МДА) превышал контрольные значения на 56%. Вследствие интенсивного накопления ТБК-активных продуктов обнаружено снижение общей антиоксидантной активности (АОА) по сравнению с интактными животными на 43,5%; активность антиоксидантных ферментов, в частности, СОД, снизилась на 52,7%, а каталазы – на 45,9% соответственно.

Употребление КП, обогащенных растительными наполнителями, на фоне длительной интоксикации кадмием, приводило к снижению токсической нагрузки на паренхиму печени. Так, концентрация МДА и ДК в гомогенатах гепатоцитов у животных на фоне интоксикации кадмием при введении в рацион крыс кисломолочных продуктов с ЭВК и сиропом боярышника (группа 3) снизилась на 72% и 40,6% соответственно. После употребления кисломолочных продуктов содержание МДА и ДК у крыс 4-й группы, по сравнению со 2-й группой, снизилось на 35,3% и 22,2% соответственно.

После употребления кисломолочных продуктов, обогащенных рябиновым сиропом и ЭВК (группа 5) концентрация МДА и ДК относительно группы 2 была ниже на 31,8% и 20,0% соответственно. Уровень МДА и ДК в гомогенатах печени крыс 6-й группы, получавших кисломолочные продукты, обогащенные только ЭВК, по сравнению с группой 2, снизился на 26,99% и 15,55% соответственно. Суммарная АОА в гепатоцитах крыс, получавших КП на фоне токсической нагрузки также имела положительную динамику. Таким образом, общая АОА в гепатоцитах с 3 по 6 групп по отношению к группе 2 увеличилась на 40,2%, 34,8%, 30,8% и 12,0% соответственно. Однако этот показатель был ниже, чем значения в контрольной группе. Оценка активности СОД и каталазы в сравнении с группой 2 свидетельствовала о благотворном влиянии употребления КП, обогащенных сиропом боярышника и ЭВК (группа 3), на повышение активности ферментов на 86,59% и 54,86% соответственно. На фоне приема КП, обогащенных сиропом рябины и ЭВК (группа 4), активность СОД и каталазы повышалась на 74,4% и 41,7% соответственно, при приеме КП, обогащенных сиропом шиповника и ЭВК (группа 5), активность увеличились на 56,9% и 37,1% соответственно. В случае потребления кисломолочного продукта, обогащенного только ЭВК (группа 6), активность СОД и каталазы увеличились на 36,5% и 29,7% соответственно.

Исследование почек крыс. Исследование показателей прооксидантного и антиоксидантного статуса в гомогенатах почек крыс представлено в таблице 44. Исходные значения концентрации МДА и ДК в группе животных при интоксикации кадмием (2-я группа) были значительно выше данных в контрольной группе. При отравлении кадмием общая АОА снизилась на 27%, каталазы на 20,2% и СОД на

20,4%; МДА 3-6-й опытных групп по сравнению со 2-й группой уменьшился на 32,5%, 28,7 %, 26,6 % и 18,3 % соответственно. Уровень ДК в группах, потребляющих КП, по сравнению со 2-й группой, уменьшился на 20,4%, и 18,37%.

Таблица 44 – Исследование показателей прооксидантного и антиоксидантного статуса в гомогенатах почек, n=5

Группы	МДА, мкмоль/л	ДК, мкмоль/л	АОА, %	Каталаза, Е/мин·мг белка	СОД, у.е./мг белка
Группа 1	18,0±0,3**	3,6±0,1**	52,9±2,5**	24,3±0,6**	62,3±2,1**
Группа 2	*28,9±1,2	*4,9±0,2	*38,6±1,4	*19,4±0,4	*49,6±1,7
Группа 3	19,5±0,7**	3,9±0,1**	50,2±2,3**	23,5 ±0,5**	58,6±1,4**
Группа 4	20,6±0,9**	3,9±0,1**	50,8±1,5**	23, 9±0,7**	59,1±1,4**
Группа 5	21,2±0,6**	3,9±0,1**	50,6±1,2**	23,2±0,4**	57,9±1,5**
Группа 6	23,6±0,8**	4,0±0,1**	48,9±1,3**	22,4±0,3**	55,7±1,2**
Результаты получены на основе расчета средней стандартной ошибки $p \leq 0,05$					

Потребление животными КП, по сравнению со 2-й группой, способствовало увеличению АОА на 30% в 3-й группе, на 31,6% в 4-й группе, на 31% в 5-й группе и на 26,4% в шестой опытной группе. Повышение активности каталазы в группах 3–6, по сравнению со 2 группой, составило 21,1%, 23,2%, 19,5% и 15,4% соответственно. Активность СОД в 3-6 группах, по сравнению со 2-й группой, увеличилась на 18,1%, 19,1%, 16,7% и 12,3% соответственно.

Исследование суспензии эритроцитов. В ходе изучения интенсивности процессов ПОЛ было выявлено, что эритроциты также подвергались окислительному стрессу, возникающему при отравлении солями кадмия. Исследование показателей антиоксидантного статуса в суспензии эритроцитов представлено в таблице 45.

Таблица 45 – Исследование антиоксидантного статуса в суспензии эритроцитов, n=5

Группы	МДА, мкмоль/л	ДК, мкмоль/л	АОА, %	Каталаза, Е/мин·мг белка	СОД, у.е./мг белка
Группа 1	28,1±0,3	3,4±0,1	78,9±2,4	35,6±0,7	1,7±0,03
Группа 2	*39,8±0,4	*6,5±0,1	*49,6±0,8	*10,9±0,3	0,6±0,01
Группа 3	*33,9±0,4	*5,4±0,1	71,8±1,5**	28,6±0,8**	1,2±0,02**
Группа 4	*35,1±0,6	*5,8±0,1	62,9±1,2**	*23,0±0,4**	1,1±0,02
Группа 5	*34,9±0,5	*5,7±0,1	63,2±1,4**	*23,4±0,6	1,0±0,01**
Группа 6	37,6±0,9	5,9±0,3	*58,4±1,2	17,3±0,7**	0,8±0,01**
Результаты получены на основе расчета средней стандартной ошибки $p \leq 0,05$					
Примечание: * – результаты статистически достоверны по отношению к группе 1, **- результаты статистически достоверны по отношению к 2 группе.					

У крыс, подвергавшихся токсической нагрузке (группа 2), по сравнению с

контрольной группой, концентрация МДА и ДК в суспензии эритроцитов была выше на 41,6% и 91,2% соответственно, что свидетельствует о высокой степени поражения мембран эритроцитов. Также наблюдалось снижение активности каталазы в 3,2 раза, СОД в 2,8 раза и общей антиоксидантной активности в 1,6 раза. На фоне приема продуктов отмечено снижение концентрации МДА на 14,8% (группа 3), на 11,8% (группа 4), на 14% (группа 5) в суспензии эритроцитов опытных групп по сравнению со второй группой. Концентрация МДА у крыс 6-й группы составила $37,6 \pm 0,9$ нмоль/мг белка, изменение концентрации МДА показало минимальное значение по сравнению со 2-й группой, общая АОА увеличилась в этих группах на 44,7%, 26,8%, 27,4% и 17,7% соответственно. После у потребления КП, обогащенного ЭВК, каталазная активность группы 6, по сравнению со 2-й группой, увеличилась на 58%.

Активность каталазы в группах 3, 4 и 5 увеличилась на 162,4%, 111,0%, 114% соответственно, по сравнению со 2-й группой. Аналогичное изменение наблюдалось и в отношении изменения активности СОД. Увеличение активности СОД во всех группах, по сравнению со 2-й группой, отмечено на 100%, 83,3%, 66,7% и 33,3% соответственно. Самая низкая активность фермента была обнаружена в 6-й группе, которая составляла 33,3% от значения 2-й группы. Таким образом, у крыс, получавших КП, обогащенные растительными наполнителями, наблюдалось улучшение общего состояния после затравки кадмием.

Исследования биохимических показателей крови. Влияние кисломолочных продуктов на антиоксидантный статус, биохимические показатели, содержание триглицеридов и показатели ОХС в сыворотке крови крыс на фоне интоксикации солями кадмия представлено в таблице 46.

Таблица 46 – Влияние потребления кисломолочных продуктов на антиоксидантный статус, биохимические показатели, содержание триглицеридов и показатели ОХС в сыворотке крови крыс на фоне интоксикации солями кадмия, $n=5$

Группы	АОА, %	Каталаза, Е/мин·мг белка	СОД, у.е./мг белка	Общий белок, г/л	Триглицериды, ммоль/л	Холестерол, ммоль/л
Группа 1	$75,6 \pm 1,2$	$20,8 \pm 0,5$	$41,8 \pm 0,5$	$63,1 \pm 1,0$	$0,97 \pm 0,01$	$1,91 \pm 0,02$
Группа 2	$41,2 \pm 0,4$	* $14,7 \pm 0,2$	* $21,6 \pm 0,5$	* $51,5 \pm 0,7$	* $2,01 \pm 0,03$	* $2,87 \pm 0,05$
Группа 3	$63,2 \pm 1,2^{**}$	$19,5 \pm 0,5^{**}$	$38,3 \pm 1,0^{**}$	* $59,8 \pm 1,0$	$1,25 \pm 0,03^{**}$	$2,19 \pm 0,03^{**}$
Группа 4	$55,6 \pm 0,9$	$18,2 \pm 0,4$	$36,6 \pm 0,5^{**}$	* $57,4 \pm 0,7$	$1,41 \pm 0,02^{**}$	* $2,30 \pm 0,05$
Группа 5	$53,9 \pm 1,0$	$17,8 \pm 0,3$	$35,9 \pm 0,5^{**}$	* $56,8 \pm 0,7$	$1,45 \pm 0,3^{**}$	* $2,32 \pm 0,3$
Группа 6	$48,3 \pm 1,0^{*}$	$16,1 \pm 0,5$	$28,5 \pm 0,7^{**}$	$54,6 \pm 1,2$	$1,56 \pm 0,05^{**}$	* $2,40 \pm 0,05$
Результаты получены на основе расчета средней стандартной ошибки $p \leq 0,05$ Примечание: * – результаты статистически достоверны по отношению к группе 1, ** - результаты статистически достоверны по отношению к 2 группе.						

Изучение антиоксидантного статуса в сыворотке крови показало, что

накопление первичных (ДК) и конечных (МДА) продуктов ПОЛ увеличивалось соответственно в 1,95 и 2,43 раза, при отравлении крыс хлоридом кадмия, а АОА в сыворотке крови снижалось на 45,5%, активность СОД – на 51,6 %, а активность каталазы – на 29,3 %.

Прием на фоне рациона питания крыс КП, обогащенных растительными наполнителями, в 3-6-й опытных группах, по сравнению со 2-й группой, способствовал повышению общей АОА в сыворотке крови на 53,4%, 34,9%, 30,8% и 17,2% соответственно.

Активность СОД в сыворотке крови в опытных группах, по сравнению со 2-й группой, увеличилась следующим образом: в группе 3, употреблявшей КП с сиропом боярышника и ЭВК – на 77,3%, в группе 4, имеющей в рационе КП с сиропом рябины и ЭВК – на 69,4%, в группе 5, с введением в рацион КП с сиропом шиповника и ЭВК – на 66,2% и в группе 6 при употреблении КП с ЭВК – на 31,9% соответственно. Аналогичная зависимость выявлена и со стороны каталазы, которая в 3–5-й группах увеличилась на 32,6 %, 23,8 и 21,0 % соответственно. Незначительные изменения наблюдались у крыс 6-й группы: изменение каталазной активности составило $16,1 \pm 0,5$ ммоль/мг белка/мин.

При интоксикации хлоридом кадмия у подопытных крыс наблюдалось снижение уровня общего белка в сыворотке крови на 18,4% по сравнению с контрольной группой.

Введение в рацион животных КП на основе козьего молока, обогащенных растительными наполнителями, способствовало повышению уровня общего белка в сыворотке крови крыс, по сравнению со 2-й группой следующим образом: на 16,1% - в 3-й группе, на 11,45% - в 4-й группе и на 13,7 % - в 5-й группе. Уровень белка в сыворотке крови увеличился на 6,0 % при приеме КП, обогащенных только ЭВК.

Содержание ТГ и холестерина при интоксикации животных хлоридом кадмия, по сравнению с контрольной группой, увеличилось на 107,2% и 50,2%, соответственно.

Содержание ТГ в группах животных 3-6, потреблявших КП обогащенные растительными наполнителями, снизилось на 37,8 %, 29,8 %, 27,8 % и 22,3 % соответственно. Уровень холестерина, по сравнению со 2-й группой, снизился на 23,7%, 19,9%, 11,8% и 16,3% соответственно.

Разные ткани могут демонстрировать разную скорость накопления кадмия и разную восприимчивость к токсичности, вызванной им. В ходе острого отравления кадмий аккумулировался в органах экспериментальных животных. При определении количественного содержания кадмия у контрольных животных наибольшая его концентрация выявлена в почках – органах выделения и печени [205, р. 1014]. Известно, что общий белок крови характеризует состояние белкового обмена в организме и функциональную активность печени. При отравлении кадмием нарушается белоксинтезирующая функция печени, что отражается на его уровне в сыворотке крови [206, р. 137, 139]. Известно, что каталаза является

ключевым ферментом антиоксидантной системы, важнейшей задачей которой является удаление из клеток токсического H_2O_2 . На фоне отравления кадмием у крыс наблюдалось значительное снижение в эритроцитах, почках и печени активности каталазы. Полученные данные активности данного фермента согласуются с результатами исследований других авторов [207, р. 136; 208, р.1583]. СОД, как известно, является важнейшим ферментом, катализирующим превращение супероксида в кислород и пероксид водорода, и ее ингибирование свидетельствует о нарушении ферментативного звена антиоксидантной системы. Выявлено также снижение активности СОД в эритроцитах, почках и печени у животных при отравлении хлоридом кадмия. Наши исследования и экспериментальные данные других авторов подтверждают ключевую роль нарушения активности СОД в условиях интоксикации кадмием [207, р. 136, 137; 208, р. 1583-1584; 209, р. 117].

Повышение антиоксидантных свойств организма при употреблении КП, было связано с повышенным содержанием в них антиоксидантов, что свидетельствует о неферментативных и ферментативных механизмах антиоксидантной защиты, играющих ведущую роль в ингибировании процессов ПОЛ [207, р. 141]. Это коррелирует с полученными данными некоторых авторов, чьи результаты показали, что антиоксиданты обладают защитным действием против токсичности, вызванной кадмием, у различных экспериментальных животных [206, р. 141; 210].

Изменение активности антиоксидантных ферментов было выражено в 6-й группе, потреблявшей КП с ЭВК, что, по-видимому, связано с высоким уровнем содержащихся в нем биофлавоноидов и антиоксидантов. Таким образом, в проведенных исследованиях интенсивность ПОЛ в печени, почках и эритроцитах снижается, а активность каталазы, общая АОА и СОД возрастают. Предыдущие исследования также показали, что отходы виноделия, в частности, экстракт виноградных косточек, помогает уменьшить окислительное повреждение, вызванное солями кадмия в почках, и играет защитную роль в митохондриальных мембранах [211, р. 221; 212, р. 5]. Антиоксиданты позволяют предотвратить возникновение ПОЛ, предотвращая образование исходного алкильного радикала, который может привести к возникновению цикла распространения триггерных механизмов [213, р. 1307].

Во всех экспериментальных группах у животных, получавших КП, отмечена положительная динамика изменений процессов ПОЛ и ключевых ферментов антиоксидантной защиты. Однако наиболее выраженное повышение активности каталазы, общей АОА и СОД, снижение интенсивности процессов перекисного окисления липидов в печени, почках и эритроцитах отмечено в группе крыс, получавших КП, обогащенные ЭВК и сиропом боярышника (группа 3). Это было связано с богатым химическим составом и профилактическими свойствами последнего, что также коррелирует с результатами исследований некоторых авторов [82, р. 1681; 214, р. 173].

Экспериментальные исследования подтвердили эффективность применения кисломолочных продуктов, обогащенных ягодными сиропами и ЭВК, при

токсической заправке крыс хлоридом кадмия, в отношении состояния системы антиоксидантной защиты, а также уровня белка, ОХС и ТГ в крови и тканях животных.

Результаты исследований свидетельствуют о том, что потребление кисломолочных продуктов, обогащенных ягодными сиропами и ЭВК, позволяют повысить антиоксидантные возможности организма и улучшить физиологическое состояние. Также рекомендуется обогатить рацион контактировавших с вредными факторами (в частности, кадмием), антиоксидантными веществами, детоксицирующими факторами (пектин, пищевые волокна), а также иммуномодулирующими компонентами (микробные липополисахариды молочнокислых бактерий) [215].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Сравнительный анализ белкового состава козьего и коровьего молока показал следующее соотношение казеиновых белков и сывороточных белков от общего количества белка после 48 и 72 часов хранения: для козьего молока – 77,9/24,4 и 76,2/25,1, для коровьего молока – 76/25,5 и 75,5/26,2, и для обоих видов молока составляет приблизительно 3:1, что демонстрирует превосходство козьего молока перед коровьим по содержанию белка и белковому составу.

2. В результате молекулярно-генетического анализа видов нуклеотидных последовательностей определены значения для гена 16S рРНК, подтверждены данные идентификации для молочнокислых бактерий, которые проявляли лучшие кислотообразующие свойства при сквашивании молока.

3. Антагонистическую активность проявили бактериальные композиции *Lactobacillus bulgaricus* B6, *Streptococcus thermophilus* TA 45 и *Lactobacillus fermentum* 14 в соотношениях 1:5:1 и 1:10:1 в отношении тест культур *Micobacterium citreum* (32,51-35,0 мм), *Micobacterium rubrum* (31,43-32,3 мм), *Sarcina flava* U (25,71-26,9 мм), *Salmonella dublin* (23,25-23,6 мм), а также в отношении кишечной палочки.

Однако по результатам технологических и кислотообразующих свойств исследуемых бактериальных заквасок была отобрана комбинация вышеназванных микроорганизмов в соотношении 1:5:1.

Подобрана доза внесения закваски в количестве 3-5% от массы смеси, способствующая хорошей стабилизации pH в конце процесса созревания и во время хранения полученных продуктов. Сгусток на основе данной закваски имел нежную и однородную консистенцию.

4. Обоснована доза внесения растительных наполнителей на основе органолептических показателей и кислотообразующих свойств кисломолочных продуктов: вкус кисломолочного продукта с приятным ароматом и хорошим внешним видом имели образцы с концентрацией ягодных сиропов до 5 % и экстрактом виноградной кожуры 1%; увеличение дозы сиропов более до 10 % и более приводило к появлению специфического сахаристого вкуса с запахом растительного наполнителя. Выявлено, что доза внесенного растительного наполнителя не оказывает существенного влияния на консистенцию образцов кисломолочных продуктов. Образцы пастеризовали и ферментировали в стандартных условиях. Подобрана рецептура, составлена технологическая схема получения кисломолочных продуктов на основе козьего молока.

5. Антиоксидантная активность контрольного и опытных образцов кисломолочных продуктов, полученных на основе бактериальной композиции, была выше антиоксидантной активности опытных образцов кисломолочных продуктов, полученных на основе классической йогуртовой закваски, на 15,32% - 54,3% на начало срока годности и на 26,7% - 55,8% в конце срока годности, что может быть связано с процессами созревания и коагуляции под действием

молочнокислых бактерий, накоплением ферментов и витаминов, а также с образованием водорастворимых пептидов.

5.1 На фоне отравления крыс хлоридом кадмия кисломолочные продукты, обогащенные растительными наполнителями (сиропами боярышника, шиповника, рябины и ЭВК), на основе козьего молока, оказывали благотворное влияние на общее состояние животных. Подопытные крысы, получавшие кисломолочные продукты, были более активны, имели хороший шерстяной покров и нормальное дыхание. Положительный эффект кисломолочных продуктов был связан с нормализацией кишечной микрофлоры и улучшением работы перистальтики кишечника, о чем свидетельствовало восстановление процесса дефекации, отсутствие жидкого стула и повышение аппетита.

5.2 Общая антиоксидантная активность в гепатоцитах животных, потреблявших кисломолочные продукты, по отношению к группе 2, которая после токсического отравления не имела в рационе кисломолочные продукты, увеличилась на 12%–40,2%. Прием на фоне рациона питания крыс кисломолочных продуктов в 3-6-й опытных группах, способствовал повышению общей антиоксидантной активности в сыворотке крови на 17,2% – 53,4%, а также снижению уровня холестерина на 16,3% - 23,7%.

5.3 Активность супероксиддисмутаза в сыворотке крови в опытных группах, по сравнению со 2-й, группой, увеличилась на 31,9% – 77,3%. Аналогичная зависимость выявлена и со стороны каталазы, которая увеличилась на 21 – 32,6 %.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Givens D.I. Milk Symposium review: The importance of milk and dairy foods in the diets of infants, adolescents, pregnant women, adults, and the elderly // Journal of Dairy Science. – 2020. – Vol. 103, Issue 11. – P. 9681-9699.
- 2 Syzdykova D.N., Serikuly Zh., Konarbaeva Z. K., Kumisbekov S.A., Tassybayeva Sh. B. The use of cherry fruit as a fruit filler to produce yogurt // Web of Scholar. – 2018. – Vol. 1, № 19. – P. 74-75.
- 3 Żukiewicz-Sobczak W., Wróblewska P., Adamczuk P., Silny W. Probiotic lactic acid bacteria and their potential in the prevention and treatment of allergic diseases. Cent Eur J Immunol. 2014. – Vol. 39, №1. – P. 104-8.
- 4 Канарейкина С.Г., Арсланова А.М., Канарейкин В.И. Применение растительного компонента при производстве йогурта // Животноводство и кормопроизводство. –2016. –№4 (96). – С. 100-104.
- 5 Pacinovski, N., Dimitrovska, G., Koèoski, L., Cilev, G., Menkovska1, M., Petrovska, B. and Pacinovski, A. 2015. Nutritive advantages of goat milk and possibilities of its production in republic of Macedonia // Macedonian Journal of Animal Science. – №5. – P. 81–88.
- 6 Гаврилова Н.Б., Темербаева М.В. Биотехнологические аспекты производства творожного продукта на основе козьего молока // Вестник ОмГАУ. – 2017. – №3. – С. 143-149.
- 7 Острецова Н.Г., Салыкина Л.С. Обоснование срока годности йогурта на основе концентрата обезжиренного молока // Молочнохозяйственный вестник. – 2021. –№1 (41). – С. 141-147.
- 8 Sixt M., Strube J. Systematic Design and Evaluation of an Extraction Process for Traditionally Used Herbal Medicine on the Example of Hawthorn (*Crataegus monogyna* JACQ) // Processes. –2018. – Vol. 6, №7. – P. 73-92.
- 9 Zymone K., Raudone L., Raudonis R., Marksa M., Ivanauskas L., Janulis V. Phytochemical Profiling of Fruit Powders of Twenty *Sorbus* L. Cultivars // *Molecules*. – 2018. – Vol. 23, №10. – P. 2593-2610.
- 10 Peña F, Valencia S., Tereucán G., et. al. Bioactive Compounds and Antioxidant Activity in the Fruit of Rosehip (*Rosa canina* L. and *Rosa rubiginosa* L.) // *Molecules*. – 2023. – Vol. 28, №8. – P. 1-14.
- 11 I., Xiong Z., Hanguo X., Khalid N., Khan R.S. Formulation and characterization of yogurt prepared with enzymatically hydrolyzed potato powder and whole milk powder // J Food Sci Technol. – 2022. – Vol. 59, № 3. –P. 1087-1096.
- 12 Solomon A.M. (2020). Fermented milk products using vegetable fillings // Colloquium-journal. – Vol. 28, №80. – P. 64-69.
- 13 Balthazar C., Santillo A., Guimarães J., Capozzi, V., Russo P., Caroprese M., Marino R., Esmerino E., Raices R.S.L., Silva M.C. et al. Novel milk–juice beverage with fermented sheep milk and strawberry (*Fragaria* × *ananassa*): Nutritional and functional characterization // J. Dairy Sci. – 2019. – Vol. 102. – P. 10724–10736.

- 14 Arai S. Studies on functional foods in Japan—State of the art. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*. – 1996. – Vol. 60. – P. 9-15.
- 15 John R. and Singla Ankit. Functional Foods: Components, health benefits, challenges, and major projects // *DRC Sustainable Future: Journal of Environment, Agriculture and Energy*. –2021. – Vol. 2, №1. – P. 61-72.
- 16 Murano PS. *Phytochemicals and Phytonutrients in Understanding Food Science & Technology* // Bemont: Wadsworth, 2003. – 449 p.
- 17 Beecher G.R. Overview of dietary flavonoids: Nomenclature, occurrence and intake. *The Journal of Nutrition*. – 2003. – Vol. 133.– №10. – P. 3248-3254
- 18 Friedman M. Overview of antibacterial, antitoxin, antiviral, and antifungal activities of tea flavonoids and teas // *Molecular Nutrition & Food Research*. – 2007. – Vol. 51, №1. – P. 116-134.
- 19 Michels KB, Holmberg L, Bergkvist L, Ljung H, Bruce A, Wolk A. Dietary antioxidant vitamins, retinol, and breast cancer incidence in a cohort of Swedish women // *International Journal of Cancer*. – 2001. – Vol. 91, №4. – P. 563-567.
- 20 Galanakis CM. *Functionality of Food Components and Emerging Technologies// Foods*. – 2021. – Vol. 10, №1. – P. 128-153.
- 21 FrancescoVisioli, AndreaStrata. Milk, Dairy Products and Their Functional Effects in Humans: A Narrative Review of Recent Evidence // *Advances in Nutrition*.– 2014. – Vol. 5, Issue 2. – P. 131–143.
- 22 Tuohy KM, Fava F, Viola R. ‘The way to a man’s heart is through his gut microbiota’— dietary pro- and prebiotics for the management of cardiovascular risk // *Proc Nutr Soc*. – 2014. – Vol. 73, №2. – P. 172–185.
- 23 Zahid Hafza Fasiha and Ranadheera Chaminda Senaka, et al. Functional and Healthy Yogurts Fortified with Probiotics and Fruit Peel Powders // *Fermentation-Basel*. – 2022. – Vol. 8, №9. – P. 469-485.
- 24 Vicenssuto G.M. Development of a novel probiotic milk product with enhanced antioxidant properties using mango peel as a fermentation substrate // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. – 2020. – Vol. 24, №4. – Article 101564.
- 25 Da Silva Fernandes M., Sanches Lima F., Rodrigues D., Handa C., Guelfi M., Garcia S., Ida E.I. Evaluation of the isoflavone and total phenolic contents of kefir-fermented soymilk storage and after the in vitro digestive system simulation // *Food Chem*. – 2017. – Vol. 229. – P. 373–380.
- 26 Aiello F., Restuccia D., Spizzirri U.G., Carullo G., Leporini M., Loizzo M.R. Improving Kefir Bioactive Properties by Functional Enrichment with Plant and Agro-Food Waste Extracts // *Fermentation*. – 2020. – Vol. 6, №3. – P. 83-99.
- 27 Долматова О.И., Дошина А.В, Печенкина И.Н., Выклинец Л.В. Современные технологии кисломолочного продукта со вкусовыми компонентами // *Пищевая промышленность*. – 2019. – № 4. – С. 38-39.
- 28 Милюхина А.К., Кыздарбек У., Ромазяева И.Р., и др. Разработка йогурта с антиоксидантами растительного происхождения // *Молочнохозяйственный вестник*. – 2020. –№ 1(37). – С. 103-114.

- 29 Надирова С.А., Синявский Ю.А. Анализ современных тенденций в области производства комбинированных продуктов питания на молочной основе // Материалы IX международной научно-практической конференции «Биотехнология: взгляд в будущее». – Ставрополь; Россия, 2023, 30 марта. – С. 127-128.
- 30 Оспанов А.Б., Щетинина Е.М., Кулжанова Б.О., Макеева Р.К. Перспективное направление развития молочной промышленности Казахстана: получение и переработка молока мелкого рогатого скота // Ползуновский вестник. – 2021. – №4. – С. 41–46.
- 31 Захарова И.Н., Дмитриева Ю.А., Бережная И.В., Сугян Н.Г. Вопросы вскармливания детей раннего возраста (обзор научно-практического семинара) // Педиатрия (Прил. к журн. Consilium Medicum). – 2018. – №4. – С. 25–31.
- 32 Lohani, Mahendra and Bhandari, Dilip. The Importance of Goats in the World // Professional Agricultural Workers Journal. – 2021. – Vol. 6, № 2, 4. P. 8-21.
- 33 Boyazoglu J., Hatziminaoglou Y., Morand-Fehr P. The role of the goat in society: Past, present and perspectives for the future // Small Ruminant Research. – 2005. – Vol. 60, №10. – P. 13–23.
- 34 Miller B. A., Lu C. D. Current status of global dairy goat production: An overview // Asian-Australasian Journal of Animal Science. – 2019. – Vol. 32, №8. – P. 1219–1232.
- 35 Елубай Р., Мырзабек К., Болат А., Досимова, Ж. Биотехнология получения йогурта из сухого козьего молока с пробиотическими свойствами // Izdenister Natigeler. – 2021. №4 (92). – С. 29–37.
- 36 Темербаева М.В., Бексеитов Т.К. Разработка технологии биойогурта для функционального питания на основе козьего молока // Вестник ОмГАУ. 2017. №1 (25). – С. 120-126.
- 37 Шадьярова Ж.К., Юсупова Г.Т., Курмангалиева Д.Б. Ешкі сүтінен жасалған құрма қосылған йогурт өндіру технологиясы // Алматы технологиялық университетінің хабаршысы. – 2023. – №1. – С. 107-116.
- 38 Синявский Ю.А., Дерипаскина Е.А., Кучербаева М.М., и др. Разработка продуктов детского питания на основе козьего молока // Журнал «Педиатрия и детская хирургия». – 2020. – №1 (99). – С. 32-38.
- 39 Оспанов А.Б., Щетинина Е.М., Велямов Ш.М., Макеева Р.К. Оценка возможности использования козьего и овечьего молока в производстве йогуртов // Ползуновский вестник. – 2022. – №4. – С. 154-159.
- 40 Гетманец В.Н. Кисломолочные напитки из козьего молока // Вестник АГАУ. – 2016. – №11 (145). – P. 169-172.
- 41 Mangia NP, Carta S, Murgia MA, Montanari L, Nudda A. Fermented Milk Produced with Goat Milk Enriched with PUFA Omega-3 by Supplementation of Diet with Extruded Linseed // Fermentation. – 2023. – Vol. 9, №6. – P. 522-533. 12 pages.
- 42 A. Mituniewicz-Małek, Ziarno M., Dmytrów I., et. Al. Properties of drinking yogurt obtained from cow's and goat's organic milk fermented by traditional yogurt

cultures // Infrastructure and ecology of rural areas. Polish academy of sciences, Cracow Branch. – 2017. – №4/3. – P. 1755–1771.

43 A.B. Martín-Diana, C. Janer, C. Peláez, T. Requena, Development of a fermented goat's milk containing probiotic bacteria // International Dairy Journal. –2003. –Vol. 13, – № 10. – P. 827-833.

44 Mirzaei H, Sharafati Chaleshtori R. Role of fermented goat milk as a nutritional product to improve anemia. J Food Biochem. – 2022. –Vol. 46, №6, e13969. – P. 1-12.

45 Bhat R., Ismail N. H. B. and Yeoh T. K. Exploring the food industry potential of novel goat milk bar produced by supplementing with rose flower extracts. International Food Research Journal. –2016. –Vol. 23, – №1. – P. 2472-2478.

46 Ehirim F. N. and Onyeneke E. N. Physico-chemical and organoleptic properties of yoghurt manufactured with cow milk and goat milk // Academic Research International. – 2013. – №4. – P. 245-252.

47 Gursel A., Gursoy A., Anli E.A.K., et. al. Role of milk protein-based products in some quality attributes of goat milk yogurt // J Dairy Sci. – 2016.99. –Vol. 4. – P. 2694-2703.

48 Salameh C. and Hosri C.. Evaluation of the hygienic quality and nutritional value of traditional Lebanese “Kishk”, a dried fermented goat milk product // Options Méditerranéennes. Série A. – 2016. –№6. – P. 169-174.

49 Serhan M., Mattar J. and Debs L. Concentrated yogurt (Labneh) made of a mixture of goats' and cows' milk: physicochemical, microbiological and sensory analysis // Small Ruminant Research. – 2016. –Vol. 138. – P. 46-52.

50 Nurliyani N., Sadewa A. H. and Sunarti. Kefir properties prepared with goat milk and Black Rice (*Oryza sativa L.*) extract and its influence on the improvement of Pancreatic α -Cells in diabetic rats. Emirates Journal of Food and Agriculture. – 2015. – Vol. 27, №10. – P. 727-735.

51 Keily A.M.O., Luciana S.R., Glaucio V.O. and Cristina T.R.V. Goat Milk Frozen Yogurt Cajá (*Spondias mombin L.*) Flavor: Development and Sensory Acceptance of an Exotic Food // Current Nutrition and Food Science. – 2016. – Vol. №12, №2. – P. 105-112.

52 Presti I., D'Orazio, G., Labra, M. et al. Evaluation of the probiotic properties of new Lactobacillus and Bifidobacterium strains and their in vitro effect // Appl Microbiol Biotechnol. – 2015. – Vol. 99, №13. – P. 5613–5626.

53 Bintsis T. Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics // AIMS Microbiol. – 2018. –Vol. 4, №4. – P. 665-684.

54 Балтабаева А.К., Койшебаева К.Б., Алтаева М.Т. и др. Микробиоценоз кишечника при дерматитах // Астана медициналық журналы. Материалы Республиканской конференции «Микробиом: фундаментальные и прикладные аспекты», посвященной 70-летию доктора медицинских наук, профессора Алмагамбетова Каиртай Хамитовича. – Астана, 2020. – №1. – С. 11-15.

55 Stambler I.S. [Elie Metchnikoff - The founder of longevity science and a founder of modern medicine: in honor of the 170th anniversary]. Adv Gerontol. –2015. –Vol.

28(2). – P. 207-17.

56 Kaur H., Kaur G., Ali S.A. Dairy-Based Probiotic-Fermented Functional Foods: An Update on Their Health-Promoting Properties // *Fermentation*. – 2022. –Vol. 8, №9. – P. 1-25.

57 Sanders M.E. Probiotics: definition, sources, selection, and uses // *Clinical Infectious Diseases*. – 2008. –Vol. 46, №2. – P. 58–61.

58 Guarner F., Malagelada J.R. Gut flora in health and disease. *The Lancet*. –2003. –Vol. 361, №9356. – P. 512–519.

59 Ewe J.A., Wan Nadiyah W.A., Liong M.T. Viability and growth characteristics of *Lactobacillus* in soymilk supplemented with B-vitamins // *International Journal of Food Sciences and Nutrition*. – 2010. –Vol. 61, №1. – P. 87–107.

60 Falagas M.E., Betsi G.I., Athanasiou S. Probiotics for the treatment of women with bacterial vaginosis // *Clinical Microbiology and Infection*. – 2007. –Vol. 13, №7. – P. 657–664.

61 Pedone C.A., Bernabeu A.O., Postaire E.R., Bouley C.F., Reinert P. The effect of supplementation with milk fermented by *Lactobacillus casei* (strain DN-114 001) on acute diarrhoea in children attending day care centres // *International Journal of Clinical Practice*. –1999. –Vol. 53, №3. – P. 179–184.

62 Aziz Q. , Dore J., Emmanuel A., Guarners F. , Quigley E.M.M. . Gut microbiota and gastrointestinal health: current concepts and future directions // *Neuro Gastroenterol Motil*. – 2013. –Vol. 25, №1. – P. 4-15.

63 Tejero-Sarinena S., Barlow J., Costabile A., Gibson G.R., Rowland I. Antipathogenic activity of probiotics against *Salmonella Typhimurium* and *Clostridium difficile* in anaerobic batch culture systems: is it due to synergies in probiotic mixtures or the specificity of single strains? // *Anaerobe*. – 2013. –Vol. 24. – P. 60-65.

64 Marco, M. L., and Golomb, B. L. Fermented Foods, *Lactobacillus*, and Health: *Lactobacillus* bacteria serve as a gateway for understanding transitory host-microbe interactions in the digestive tract // *Microbe* . – 2016. –Vol. 11, №8. – P. 349–354.

65 Lorentz A., Müller L. Probiotics in the Treatment of Inflammatory Bowel Disease in Adulthood: A Systematic Review // *Gastrointestin. Liver Dis*. – 2022. –Vol. 31, №1. – P. 74–84.

66 Tang H., Ma H., Hou Q., et. al. Profiling of koumiss microbiota and organic acids and their effects on koumiss taste // *BMC Microbiol*. – 2020. –Vol. 20, №1. – P. 85-96.

67 Afzaal M., Saeed F., Anjum F., et. al. Nutritional and ethnomedicinal scenario of koumiss: A concurrent review // *Food Sci. Nutr*. – 2021. –Vol. 9, №11. – P. 6421–6428.

68 Li Q., Zhang C., Xilin T., Ji M., et. al. Effects of Koumiss on Intestinal Immune Modulation in Immunosuppressed Rats // *Front Nutr*. – 2022. № 9. – P. 14 p.

69 Castorena-Alba M.M., Vázquez-Rodríguez J.A., López-Cabanillas Lomelí M., González-Martínez BE. Cholesterol assimilation, acid and bile survival of probiotic bacteria isolated from food and reference strains // *Cyta J. Food*. – 2018. –№16. – P. 36–

41.

70 Marquez A., Andrada E., Russo M., et. al. Characterization of autochthonous lactobacilli from goat dairy products with probiotic potential for metabolic diseases // Heliyon. – 2022. – Vol. 8, №9. – P. 1-12.

71 Karim Naghmouchi, Yanath Belguesmia, Farida Bendali, Giuseppe Spano, Bruce S. Seal, Djamel Drider. *Lactobacillus fermentum*: a bacterial species with potential for food preservation and biomedical applications // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. – 2020. – Vol.60, №20. – P. 3387-3399.

72 Lin W.C., Ptak C.P., Chang C.Y., et. al. Autochthonous Lactic Acid Bacteria Isolated From Dairy Cow Feces Exhibiting Promising Probiotic Properties and in vitro Antibacterial Activity Against Foodborne Pathogens in Cattle // Front Vet Sci. – 2020. – №7. – P. 239-252.

73 Archer, A.C., Halami, P.M. Probiotic attributes of *Lactobacillus fermentum* isolated from human feces and dairy products // Appl Microbiol Biotechnol. – 2015. – Vol. 99, №19. – P. 8113–8123.

74 Russo, P., Capozzi, V., Arena, M.P. et al. Riboflavin-overproducing strains of *Lactobacillus fermentum* for riboflavin-enriched bread // Appl Microbiol Biotechnol – 2014. – Vol. 98, №8. – P. 3691–3700.

75 Stropfová V., Kubašová I., Lauková A. Health benefits observed after probiotic *Lactobacillus fermentum* CCM 7421 application in dogs // Appl Microbiol Biotechnol. – 2017. – Vol. 101, №16. – P. 6309–6319.

76 Kahouli, I., Malhotra, M., Westfall, S. et al. Design and validation of an orally administrated active *L. fermentum*-*L. acidophilus* probiotic formulation using colorectal cancer *Apc*^{Min/+} mouse model. Appl Microbiol Biotechnol. – 2017. – Vol. 101, №5. – P. 1999–2019.

77 Asan-Ozusaglam M, Gunyakti A. *Lactobacillus fermentum* strains from human breast milk with probiotic properties and cholesterol-lowering effects // Food Sci Biotechnol. – 2018. – Vol. 28, №2. – P. 501-509.

78 Melo T.A., Dos Santos T.F., Pereira L.R. et.al. Functional Profile Evaluation of *Lactobacillus fermentum* TCUESC01: A New Potential Probiotic Strain Isolated during Cocoa Fermentation // Biomed Res Int. – 2017. – Vol. 2017. – P. 1-7.

79 Точилина А.Г., Белова И.В., Соловьева И.В., Иванова Т.П., Жирнов В.А. Биоинформатический анализ генома производственного штамма *Lactobacillus fermentum* 90 TC-4. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2019. – Vol. 37, – №3. – P. 128-133.

80 Donno D., Turrini F. Plant Foods and Underutilized Fruits as Source of Functional Food Ingredients: Chemical Composition, Quality Traits, and Biological Properties // Foods. – 2020. – Vol. 9, №10. – P. 1474-1477.

81 Gundogdu M., Ozrenk K., Ercisli S., Kan T., Kodad O., Hegedus A. Organic acids, sugars, vitamin C content and some pomological characteristics of eleven hawthorn species (*Crataegus* spp.) from Turkey // Biol Res. – 2014. – Vol. 47, №1. – P. 1-5.

82 Lou X., Yuan B., Wang L., Xu H., Hanna M., Yuan L. Evaluation of

Physicochemical Characteristics, Nutritional Composition and Antioxidant Capacity of Chinese Organic Hawthorn Berry (*Crataegus pinnatifida*) rev // Int. J. Food Sci. Technol. – 2020. – Vol. 55, Issue 4. – P. 1679–1688.

83 Alirezalu, A., Ahmadi, N., Salehi, P., et. al. Physicochemical Characterization, Antioxidant Activity, and Phenolic Compounds of Hawthorn (*Crataegus* spp.) Fruits Species for Potential Use in Food Applications. Foods –2020. –Vol. 9, №4. – P. 436-450.

84 Nazhand A., Lucarini M., Durazzo A., et. al. Hawthorn (*Crataegus* spp.): An Updated Overview on Its Beneficial Properties. Forests –2020. –Vol. 11, №5. – P. 564-510.

85 Li T., Fu S., Huang X., Zhang X., et. al. Biological Properties and Potential Application of Hawthorn and Its Major Functional Components: A Review // J. Funct. Foods.–2022, –Vol. 90. – P. 1-7.

86 Yalçın Dokumacı K., Uslu N., Hacıseferoğulları H., Örnek N. Determination of Some Physical and Chemical Properties of Common Hawthorn (*Crataegus monogyna* Jacq. Var. *Monogyna*) // Erwerbs-Obstbau. –2021. –Vol. 63, №1.–P. 99–106.

87 Jiang Y., Du J., Zhang L. Textural Characteristics and Sensory Evaluation of Yogurt Fortified with Pectin Extracted from Steeped Hawthorn Wine Pomace // Int. J. Food Eng. –2021. –Vol. 17. – P. 131–140.

88 Özdemir, G.B.; Özdemir, N.; Ertekin-Filiz, B.; Gökırmaklı, Ç.; Kök-Taş, T.; Budak, N.H. Volatile Aroma Compounds and Bioactive Compounds of Hawthorn Vinegar Produced from Hawthorn Fruit (*Crataegus tanacetifolia* (Lam.) Pers.) // J. Food Biochem. –2022. –Vol. 46, №3. – P. 13676-13689, 14 p.

89 Zhang J., Chai X., Zhao F., Hou G., Meng Q. Food Applications and Potential Health Benefits of Hawthorn. Foods. –2022. –Vol. 11, №18. – P. 2861-2881, 21 p.

90 Holubarsch C.J.F., Colucci W.S., Eha J. Benefit-Risk Assessment of *Crataegus* Extract WS 1442: An Evidence-Based Review // Am. J. Cardiovasc Drugs. –2018. –Vol. 18, №1. – P. 25–36.

91 Cheng F, Jiang W, Xiong X, Chen J, Xiong Y, Li Y. Ethanol Extract of Chinese Hawthorn (*Crataegus pinnatifida*) Fruit Reduces Inflammation and Oxidative Stress in Rats with Doxorubicin-Induced Chronic Heart Failure. Med Sci Monit. –2020. –Vol. 26. – P. e926654-1 – e926654-10.

92 Wang, J.; Xiong, X.; Feng, B. Effect of *Crataegus* Usage in Cardiovascular Disease Prevention: An Evidence-Based Approach. Evid.-Based Complement. Altern. Med. –2013. –Vol. 2013. –Article ID 149363. – P. 1-16.

93 Shi G., Li Y., Cao Q., Wu H., Tang X., Gao X., Yu J., Chen Z., Yang Y. In Vitro and In Vivo Evidence That Quercetin Protects against Diabetes and Its Complications: A Systematic Review of the Literature // Biomed. Pharmacother. –2019. –Vol. 109. – P. 1085–1099.

94 Sarv V., Venskutonis P.R., Bhat R. The *Sorbus* spp. - Underutilised Plants for Foods and Nutraceuticals: Review on Polyphenolic Phytochemicals and Antioxidant Potential // Antioxidants.–2020. –Vol. 9, №9. – P. 813-835, 23 p.

95 Cristea E., Ghendov-Mosanu A., Patras A., et.al. The Influence of Temperature,

Storage Conditions, pH, and Ionic Strength on the Antioxidant Activity and Color Parameters of Rowan Berry Extracts // *Molecules*. – 2021. – Vol. 26, №13. – P. 3786-4000, 14 p.

96 Adamczak A., Buchwald W., Zieliński J., Mielcarek S. Flavonoid and organic acid content in rose hips (*Rosa L.*, sect. *Caninae* dc. Em. Christ.) // *Acta Biol. Cracov. Ser. Bot.* –2012. –Vol. 54, №1. – P. 105–112.

97 Harrison F.E. A critical review of vitamin C for the prevention of age-related cognitive decline and Alzheimer's disease // *J. Alzheimers Dis.* –2012. –Vol. 29, №4.– P. 711–726.

98 Tumbas, V.T.; Canadanovic-Brunet, J.M.; Cetojevic-Simin, D.D.; Cetkovic, G.S.; Ethilas, S.M.; Gille, L. Effect of rosehip (*Rosa canina L.*) phytochemicals on stable free radicals and human cancer cells // *J. Sci. Food Agric.* –2012. –Vol. 92. – P. 1273–1281.

99 Hosni, K.; Chrif, R.; Zahed, N.; et al. Fatty acid and phenolic constituents of leaves, flowers and fruits of tunisian dog rose (*Rosa canina L.*) // *Riv. Ital. Sostanze Gr.* – 2010. –Vol. 87, №2. – P. 117–123.

100 Yi H, Peng H, Wu X, Xu X, Kuang T, Zhang J, Du L, Fan G. The Therapeutic Effects and Mechanisms of Quercetin on Metabolic Diseases: Pharmacological Data and Clinical Evidence // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. –2021. – Vol. 2021. – Article ID 6678662. – P. 1-16.

101 Ansari P., Choudhury S.T., Seidel V., et. al. Therapeutic Potential of Quercetin in the Management of Type-2 Diabetes Mellitus // *Life (Basel)*. –2022. –Vol. 12(8). –P. 1146 (1-18).

102 Ouerghemmi, S.; Sebei, H.; Siracusa, L.; Ruberto, G.; Saija, A.; Cimino, F.; Cristani, M. Comparative study of phenolic composition and antioxidant activity of leaf extracts from three wild *Rosa* species grown in different tunisia regions: *Rosa canina L.*, *Rosa moschata* Herrm. and *Rosa sempervirens L.* // *Ind. Crops Prod.* –2016. –Vol. 94. – P. 167–177.

103 Акбаров Н.А. Шиповник для остеоартрита и артрита // *Наука и образование сегодня*. – 2020. – №7 (54). – С. 95-97.

104 Mármol I, Sánchez-de-Diego C, Jiménez-Moreno N, Ancín-Azpilicueta C, Rodríguez-Yoldi MJ. Therapeutic Applications of Rose Hips from Different *Rosa* Species // *Int J Mol Sci.* – 2017. – Vol. 18, №6. – P. 1137. 1-37.

105 Hubert P.A., Lee S.G., Lee S.-K., Chun O.K. Dietary polyphenols, berries, and age-related bone loss: A review based on human, animal, and cell studies // *Antioxidants*. –2014, –Vol. 3, №1. –P. 144–158.

106 Pinho LC, Garbieri TF, Grenho L, Alves MM, Sousa Gomes P, Santos CF, Fernandes MH, Santos C, Colaço B. Rosehip Extract-Functionalized Magnesium Hydroxide Nanoparticles and Its Effect on Osteoblastic and Osteoclastic Cells // *Materials (Basel)*. –2021. –Vol. 14, №15. – P. 1- 16.

107 Ru, Q., Li, Y., Xie, W. *et al.* Fighting age-related orthopedic diseases: focusing on ferroptosis // *Bone Res.* – 2023. –Vol. 11, №12. –P. 1-20.

- 108 Djordjević S., Nikolić N.Ć. Hawthorn (*Crataegus* spp.) from botanical source to phytopreparations // *Lekovite Sirovine*. –2021. – Vol. 41. – P. 63-71.
- 109 Wang L., Waltenberger B., Pferschy-Wenzig E.M., Blunder M., Liu X., ets. Natural product agonists of peroxisome proliferator-activated receptor gamma (PPAR γ): A review // *Biochemical Pharmacology*. – 2014. – Vol. 92, №1. – P. 73–89.
- 110 Gupta M, Dey S, Marbaniang D, Pal P, Ray S, Mazumder B. Grape seed extract: having a potential health benefits // *J Food Sci Technol*. – 2020. – Vol. 57, №4. – P. 1205-1215.
- 111 Kumar A., Mosa K.A., Ji L., Kage U. et al. Metabolomics-assisted biotechnological interventions for developing plant-based functional foods and nutraceuticals // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. – 2018. – Vol. 58, №11. – P. 1791–1807.
- 112 Caligiuri S.P.B., Pierce G.N. A review of the relative efficacy of dietary, nutritional supplements, lifestyle, and drug therapies in the management of hypertension // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. –2017. –Vol. 57, №16. – P. 3508–3527.
- 113 Gomes R.L.P., Silva L.E., Teixeira B.M., et. al. Phenolic composition of the berry parts of hybrid grape cultivar BRS Violeta (BRS Rubea $\times$ IAC 1398–21) using HPLC–DAD–ESI-MS/MS // *Food Research International*. –2013. –Vol. 54, №1. – P. 354–366.
- 114 Hosseinzadeh F. The healing effect of Grape seed oil enema with or without sesame oil in acetic acid induced ulcerative colitis of rats // *World J Plast Surg*. –2017. – Vol. 6, №2. – P. 176–182.
- 115 Quinones M., Guerrero L., Suarez M, et al. Low molecular procyanidin rich grape seed extract exerts antihypertensive effect in males spontaneously hypertensive rats // *Food Res Int*. –2013. –Vol. 51, №2. – P. 587–595.
- 116 Gonzalez J., Valls N., Brito R., et al. Essential hypertension and oxidative stress: new insights // *World J Cardiol*. –2014. –Vol. 6, №6. – P. 353–366.
- 117 Zaidi S.F.H, Ahmed K., Yamamoto T., et al. Effect of resveratrol on *Helicobacter pylori*-induced interleukin-8 secretion, reactive oxygen species generation and morphological changes in human gastric epithelial cells // *Biol Pharm Bull*. –2009.– Vol. 32, №11. – P. 1931–1935.
- 118 Park K., Elias P.M., Hupe M. Resveratrol stimulates sphingosine-1-phosphate signaling of cathelicidin production // *J Invest Dermatol*. –2013. –Vol. 133, №8. – P. 1942–1949.
- 119 ГОСТ 3622-68 Молоко и молочные продукты. Отбор проб и подготовка их к испытанию. – М.: Стандартинформ, 2009. 10 с.
- 120 ГОСТ 32940 – 2014. Межгосударственный стандарт. Молоко козье сырое. Технические условия. – М.: Стандартинформ, 2018. –9 с.
- 121 ГОСТ 28283 – 2015. Межгосударственный стандарт. Молоко коровье. Метод органолептической оценки запаха и вкуса. – М.: Стандартинформ, 2019. – 12 с.
- 122 ГОСТ 3625-84 Молоко и молочные продукты. Методы определения

плотности. – М.: Стандартинформ, 2009. – 15 с.

123 ГОСТ 3624-92. Молоко и молочные продукты. Титриметрические методы определения кислотности. – М.: Изд-во стандартов, 2001. – 10 с.

124 ГОСТ 31976 – 2012 Йогурты и продукты йогуртные. Потенциометрический метод определения титруемой кислотности. – М.: Стандартинформ, 2018. – 9 с.

125 ГОСТ 26781-85 Молоко. Метод измерения pH. – М.: Стандарт-информ, 2009. – 4 с.

126 ГОСТ 23327-98. Молоко и молочные продукты. Метод измерения массовой доли общего азота по Кьельдалю и определение массовой доли белка. – М.: Стандартинформ, 2009. – 10 с.

127 ГОСТ 5867-90. Молоко и молочные продукты. Методы определения жира. – М.: Стандартинформ, 2009. – 14 с.

128 ГОСТ 3626-73 Молоко и молочные продукты. Методы определения влаги и сухого вещества. – М.: Стандартинформ, 2008. – 14 с.

129 ГОСТ Р 54667-2011. Молоко и продукты переработки молока. Методы определения массовой доли сахаров. – М.: Стандартинформ, 2012. – 27 с.

130 ГОСТ 3623-73. Молоко и молочные продукты. Методы определения пастеризации. – М.: Изд-во стандартов, 2003. – 14 с.

131 ГОСТ Р 54037-2010 Продукты пищевые. Определение содержания водорастворимых антиоксидантов амперометрическим методом в овощах, фруктах, продуктах их переработки, алкогольные и безалкогольные напитки. – М.: Стандартинформ, 2009. – 11 с.

132 М-04-38-2009. Корма, комбикорма и сырье для их производства. Методика измерений массовой доли аминокислот методом капиллярного электрофореза с использованием системы капиллярного электрофореза «Капель». – С-Пб.: ООО «Льюмэкс», 2009.- 36 с.

133 ГОСТ 8218-89 Молоко. Метод определения чистоты. – М.: Стандартинформ, 2009. – 5 с.

134 ГОСТ 34372-2017 Закваски бактериальные для производства молочной продукции. Общие технические условия. – М.: Стандартинформ, 2015. – 19 с.

135 ГОСТ 10444.11-2013. Продукты пищевые. Методы определения молочнокислых микроорганизмов. – М.: ФГУП «Стандартинформ», 2014. – 21 с.

136 ГОСТ 33566 – 2015 Межгосударственный стандарт Молоко и молочная продукция. Определение дрожжей и плесневых грибов. – М.: Стандаринформ, 2016. – 16 с.

137 ГОСТ 31659-2012 Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Salmonella*. – М.: Изд-во стандартов, 2014. – 25 с.

138 ГОСТ 30347-2016 Молоко и молочная продукция. Методы определения *Staphylococcus aureus*. – М.: Стандартинформ, 2016. – 16 с.

139 ГОСТ 33951-2016 Межгосударственный стандарт. Молоко и молочная продукция. Методы определения молочнокислых микроорганизмов. – М.:

Стандартинформ, 2016. – 13 с.

140 ГОСТ 9225-84. Молоко и молочные продукты. Методы микробиологического анализа. – М.: Стандартинформ, 2015. – 16 с.

141 ГОСТ ISO 11133-2-2011 Межгосударственный стандарт. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Руководящие указания по приготовлению и производству культуральных сред. Часть 2. Практические руководящие указания по эксплуатационным испытаниям культуральных сред. – М.: Стандартинформ, 2013. – 32 с.

142 ГОСТ 26670-91 Межгосударственный стандарт. Продукты пищевые. Методы культивирования микроорганизмов. – М.: Стандартинформ, 2008. – 8 с.

143 ГОСТ Р 56201 — 2014 Продукты пищевые функциональные. Методы определения бифидогенных свойств. – М.: Стандартинформ, 2015. – 32 с.

144 СанПиН 2.3.2.1078-01 Продовольственное сырье и пищевые продукты. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. – М.: Центрмг, 2023. – 448 с.

145 ГОСТ 30178-96 Сырье и продукты пищевые. Атомно-абсорбционный метод определения токсичных элементов. – М.: Стандартинформ, 2010. – 10 с.

146 ГОСТ Р 51766-2001 Сырье и продукты пищевые. Атомно-абсорбционный метод определения мышьяка. – М.: Стандартинформ, 2011.-10 с.

147 ГОСТ 26927-86 Сырье и продукты пищевые. Методы определения ртути. М.: ИПК Издательство стандартов, 2002. – 14 с.

148 ГОСТ 30711-2001 Продукты пищевые Методы выявления и определения содержания афлатоксинов В₁ и М₁. – Минск: Межгосударственный совет по стандартизации, метрологии и сертификации, 2001. – 16 с.

149 ГОСТ 23452-2015 Молоко и молочные продукты. Методы определения остаточных количеств хлорорганических пестицидов. – М.: Стандартинформ, 2009. – 17 с.

150 Балановский О.П., Кагазежева Ж.А., Олькова М.В. Методы измерения концентрации ДНК: совпадение относительных величин и различия абсолютных // Вестник РГМУ. 2019. №3. – С. 27-33.

151 Aycicek H., Oguz U., Karci K. Determination of total aerobic and indicator bacteria on some raw eaten vegetables from wholesalers in Ankara, Turkey // International Journal of Hygiene and Environmental Health. –2006. –Vol. 209, № 2. –P. 197-201.

152 Süle J, Kőrösi T, Hucker A, Varga L. Evaluation of culture media for selective enumeration of bifidobacteria and lactic acid bacteria // Braz J Microbiol. – 2014. –Vol. 45, №3. –P. 1023-30.

153 Кривушина А.А., Бобырева Т.В., Яковенко Т.В., Николаев Е.В. Методы хранения микроорганизмов-деструкторов в коллекции ФГУП "ВИАМ" (обзор) // Авиационные материалы и технологии. – 2019. – №3 (56). – С. 89-94.

154 Кригер О.В., Носкова С.Ю. Разработка приемов длительного сохранения свойств молочнокислых микроорганизмов // Техника и технология пищевых производств. 2018. №4. – С. 30-38.

- 155 Hall B. G. Phylogenetic trees made easy: A how-to manual / 5th Edition. -New York, USA: Oxford University Press, – 2018. – 372 p.
- 156 Altschul S.F., Madden T.L., Schäffer A.A., Zhang J, Zhang Z., Miller W., Lipman D.J. Gapped BLAST and PSI-BLAST: A New Generation of Protein Database Search Programs // Nucleic Acids Research. –1997. – Vol. 25, №17. –P. 3389-3402.
- 157 Смирнова И.Э., Баймаханова Г.Б., Файзулина Э.Р., Даугалиева С.Т., Татаркина Л.Г. Выделение и идентификация ризобий, перспективных для создания биоудобрения для культуры сои (*Glycine max* (L.) Merr.) // Научное обозрение. Биологические науки. – 2022. – № 1. – С. 38-43.
- 158 Иркитова А.Н., Яценко Е.С. Оптимизация метода определения антагонистической активности пробиотических бактерий // ТППП АПК. 2017. –№5. – С. 113-117.
- 159 Рябина Е. И., Зотова Е. Е., Ветрова Е. Н. и др. Сравнение химико-аналитических методов определения танидов и антиоксидантной активности растительного сырья // Аналитика и контроль. –2011. – № 2. – С. 202-208.
- 160 Надточий Л.А., Арсеньева Т.П., Букачакова Л.Ч. Витаминный состав и биологическая ценность алтайского кисломолочного напитка чеген // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств». – 2014. –№ 4. – С. 1-6.
- 161 Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике [Текст] / В. С. Камышников. - 3-е изд. Москва: МЕДпресс-информ, 2009. - 889 с.
- 162 Петелина Т.И., Мусихина Н.А., Гапон Л.И., Еменева И.В., Дьячков С.М. Использование клинико-anamnestических данных и лабораторно-биохимических параметров в оценке риска развития индексного события у пациентов с ишемической болезнью сердца, прошедших в рамках «регистра чрескожных коронарных вмешательств» в тюменском кардиологическом научном центре // Научное обозрение. Медицинские науки. – 2017. – № 5. – С. 58-64.
- 163 Бондарев Е.В., Штрыголь С.Ю. Антигипотермические и антиоксидантные свойства глюкозамина гидрохлорида и ацетилсалициловой кислоты в условиях острой холодовой травмы // Вестник фармации. –2016. №3 (73) С. 92-97.
- 164 Ohkawa, H.O., Ohishi, N. and Yagi, K. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction // Analytical Biochemistry. –1979. –Vol. 95 № 2. – P. 351-358.
- 165 Гаврилов В.Б. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови / В.Б.Гаврилов, М.И.Мишкорудная //Лабораторное дело. - 1983.- №3. - С.33-36.
- 166 Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г., Токарев В.Е. Метод определения активности каталазы // Лабораторное дело. –1988. –№ 1. –С. 16-18.
- 167 Воронкова, Н. А. Качественные реакции в химии [Электронный ресурс]: практикум / Омск: Изд-во ОмГТУ, 2019. –170 с.

- 168 Патент на полезную модель 54787 Российская Федерация, А61К 33/00. Система лабораторной диагностики окислительного стресса / Павлюченко И.И., Басов А.А., Федосов С.Р. 27.07.2006. Бюл. № 21. – 2с.
- 169 Гребенникова И.В. Методы математической обработки экспериментальных данных: учебно-методическое пособие / И.В. Гребенникова. – Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2015. –124 с.
- 170 Щетинина Елена Михайловна, Ходырева Зоя Рафаиловна Исследования состава и свойств молока, полученного от разных пород коз // Вестник АГАУ. 2014. №4 (114). –С. 159-163.
- 171 Nadirova S., Sinyavskiy Y., Lessova Zh., Saltybayev A. and Alybayeva A. Antagonistic activity of goat milk and fermented milk products on its basis enriched with biologically active additives // Eco. Env. & Cons. –2019. – Vol. 25, №2. –P. 176-180.
- 172 Nadirova S.A., Sinyavskiy Yu.A., Ivanov G.Y. Comparative analysis of the protein composition of goat and cow milk. Материалы международной научно-практической конференции «Инновационное развитие пищевой, легкой промышленности и индустрии гостеприимства». – Алматы; Республика Казахстан, 2023, 26-27 октября. – С. 36-37.
- 173 Nadirova S.A., Sinyavskiy Yu.A., Utegaliyeva R.S., E.Zh. Gabdullina, Abdreshov S.N. Molecular genetic identification of bacteria isolated from goat milk // Scientific Journal «Experimental biology»: Al-Farabi Kazakh National University. –2023. –Vol. 94, №1. –P. 101-110.
- 174 Надирова С.А., Синявский Ю.А., Кулажанов Т.К., Симов И.Ж. Влияние заквасочных культур на процесс сквашивания йогуртов. «Известия» НАН РК, №1, 2017. –С. 14-18.
- 175 Nadirova S.A., Sinyavskiy Yu.A., Lessova Zh.T., Alibayeva B.N., Darmenkulova Zh.B. The effect of probiotic starter culture on the fermentation process of yogurt // Microbiology and virology. –2023. –№1 (40). –P. 154-164.
- 176 Biadała A., Szablewski T., Cegielska-Radziejewska R., Lasik-Kurdyś M., Adzahan N.M. The Evaluation of Activity of Selected Lactic Acid Bacteria for Bioconversion of Milk and Whey from Goat Milk to Release Biomolecules with Antibacterial Activity // *Molecules*. –2023. –Vol. 28, №9. –P. 3696-4007, 12 pages.
- 177 Абрамов В.М., Хлебников В.С., Косарев И.В. и др. Антагонистическая активность консорциума штаммов *Lactobacillus fermentum* ВКМ в-2793d и *Lactobacillus reuteri* ВКМ в-3144d, выделенных из женского молока, к мастит-индуцирующим патогенам // Биомедицина. –2018. – №3. – С. 46-54.
- 178 Nadirova S., & Sinyavskiy Y. Biotechnological approaches to the creation of new fermented dairy products // Eurasian Journal of Applied Biotechnology. –2023. –№4. –P. 128–136.
- 179 Аверьянова Е.В. Биохимия микроорганизмов: методические рекомендации/– Бийск: Изд-во Алт. гос. техн. ун-та, 2018. – 36 с.
- 180 Патент на полезную модель №5613. Способ производства йогурта / Синявский Ю.А., Абжанова Ш.А., Габдуллина Е.Ж., Жапаркулова Н.И.,

Дәрменқұлова Ж.Б., Салтыбаев А.Д.; опубликован 04.12.2020. Бюл. №48

181 Патент на полезную модель №5614. Способ производства йогурта / Синявский Ю.А., Абжанова Ш.А., Габдуллина Е.Ж., Жапаркулова Н.И., Дәрменқұлова Ж.Б., Салтыбаев А.Д.; опубликован 04.12.2020. Бюл. №48

182 ГОСТ 31981-2013. Межгосударственный стандарт. Йогурты. Общие технические условия. – М.: Стандартинформ, 2014. – 12 с.

183 Надирова С.А., Синявский Ю.А. и др. Способ получения кисломолочного напитка. Патент №8592 на полезную модель. Заявка 2023/0616.2. Дата публикации: 03.11.2023. Бюл. №44.

184 Hou J.C., Liu F., Ren D.X., Han W.W., Du Y.O. Effect of culturing conditions on the expression of key enzymes in the proteolytic system of *Lactobacillus bulgaricus* // J Zhejiang Univ Sci B. –2015. –Vol. 16, №4. –P. 317-326.

185 Fangda Sun, Yingying Hu, Xiaoyu Yin et al. Production, purification and biochemical characterization of the microbial protease produced by *Lactobacillus fermentum* R6 isolated from Harbin dry sausages // Process Biochemistry. –2020. –Vol. 89. – P. 37-45.

186 Harnett J., Davey G., Patrick A. et al. Lactic Acid Bacteria: *Streptococcus thermophilus*: Encyclopedia of Dairy Sciences (Second Edition) / Editor(s): John W. Fuquay. Academic Press, –2011. – 4068 p. Pages 143-148.

187 Nadirova Sanam A., Sinyavskiy Yuriy A. Justification of the shelf life of dairy products based on goat's milk. Eurasian Journal of Applied Biotechnology.–2023. –№2. –P.29–37.

188 Bielaszewska M., Aldick T., Bauwens A., Karch H. Hemolysin of enterohemorrhagic *Escherichia coli*: structure, transport, biological activity and putative role in virulence // Int J Med Microbiol. –2014. –Vol. 304, №5-6. –P. 521-9.

189 Crittenden R.G., Martinez N.R., Playne M.J. Synthesis and utilisation of folate by yoghurt starter cultures and probiotic bacteria // Int J Food Microbiol. –2003. –Vol. 80, №3. –P. 217-22.

190 Paz D., Aleman R.S., Cedillos R., et. al. Probiotic characteristics of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* as influenced by Carao (*Cassia grandis*) // Fermentation. –2022. –Vol. 8, №10. –P. 499-509. –11 pages.

191 Технический регламент Таможенного союза «О безопасности молока и молочных продукции» (ТР ТС 033/2013) с приложениями. Принят 9.10.2013 г. № 67.

192 Deledda A., Annunziata G., Tenore G.C. et al. Diet-Derived Antioxidants and Their Role in Inflammation, Obesity and Gut Microbiota Modulation // Antioxidants (Basel). – 2021. –Vol. 10, №5. – P. 708-730.

193 Nadirova S., Sinyavskiy Y., Lessova Zh., et al. The antioxidant properties of fermented milk products enriched with resveratrol and syrups of hawthorn // IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science «AgriTech-2019: Agribusiness, Environmental Engineering and Biotechnologies». –20-22 June 2019. Krasnoyarsk, Russian Federation. –P. 315-319.

- 194 Надирова С.А., Синявский Ю.А. Влияние антиоксидантной активности на сроки хранения кисломолочных продуктов //Материалы IX международной научно-практической конференции «Биотехнология: взгляд в будущее». – Ставрополь: Ставропольский государственный медицинский университет, РФ. 30 марта, 2023. –С. 129-132
- 195 Dullius, A., Goettert, M. I., deSouza, C. F. V. Whey protein hydrolysates as a source of bioactive peptides for functional foods –Biotechnological facilitation of industrial scale-up // Journal of Functional Foods. –2018. –Vol. 42. –P. 58-74.
- 196 Berlin M., Zalups R.K., Fowler B.A. et. al. Handbook on the Toxicology of Metals // 3rd edition. Chapter 33. –New York, NY, USA: Elsevier. –2007. 943 p.
- 197 Filipič M. Mechanisms of cadmium induced genomic instability // Mutat Res. –2012. –Vol. 733, №1-2. – P. 69-77.
- 198 Авдеева К.С. Экологическая роль пестицидов // Научный журнал молодых ученых. 2015. №1 (4). С.3-7.
- 199 Briggs,D. Environmental pollution and the global burden of disease // British Medical Bulletin. –2003. –Vol.68, №1. – P. 1-24.
- 200 Abbas B.F.K., Al-Jubori W.M., Abdullah A.M. et al. Environmental pollution with the heavy metal compound // Research Journal of Pharmacy and Technology. – 2018. –Vol.11, №9. – P. 4035-4041.
- 201 Attia A.M.M., Ibrahim F.A.A., El-Latif A. et al. Antioxidant effects of curcumin against cadmium chloride-induced oxidative stress in the blood of rats”, Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy. – 2014. –Vol. 6, №3. – P. 33-40.
- 202 Unsal V., Dalkıran T., Çiçek M. et al. The role of natural antioxidants against reactive oxygen species produced by cadmium toxicity: a review // Advanced Pharmaceutical Bulletin. – 2020. –Vol.10, №2. – P. 184-202.
- 203 Tandon S.K., Singh S., Prasad S. et al Reversal of cadmium induced oxidative stress by chelating agent, antioxidant or their combination in rat // Toxicology Letters. – 2003. – Vol. 145, №3. – P. 211-217.
- 204 Anna I. Olsson S, Pinto Sandra da Silva, et.al. Protecting Animals and Enabling Research in the European Union: An Overview of Development and Implementation of Directive 2010/63/EU // ILAR Journal. – 2016. – Vol. 57, Issue 3. – P. 347–357.
- 205 Фазлыева А.С., Усманова Э.Н., Даукаев Р.А. и др. Распределение кадмия и экспрессия металлотионеина в органах крыс при острой интоксикации // Гигиена и санитария. –2020. – Vol. 99, № 9. – С. 1011-1015.
- 206 Rafati Rahimzadeh M, Rafati Rahimzadeh M, Kazemi S, Moghadamnia AA. Cadmium toxicity and treatment: An update. Caspian J Intern Med. 2017 Summer;8(3):135-145.
- 207 Rafati Rahimzadeh M. et al. Cadmium toxicity and treatment: An update // Caspian J Intern Med. –2017. – Vol. 8, №3. – P. 135-145.
- 208 Jawad Hassan M., Ali Raza M., Ur Rehman S. et al. Effect of Cadmium Toxicity on Growth, Oxidative Damage, Antioxidant Defense System and Cadmium Accumulation in Two Sorghum Cultivars // Plants (Basel). – 2020. – Vol. 9, №11. – P.

1575-1588, 14 pages.

209 Ogunrinola O.O., Wusu D.A., Fajana O.O. et al. Effect of Low Level Cadmium Exposure on Superoxide Dismutase Activity in Rat // Tropical Journal of Pharmaceutical Research. –2016. – Vol. 15, №1. – P. 115-119.

210 Flora SJ, Mittal M, Mehta A. Heavy metal induced oxidative stress & its possible reversal by chelation therapy. Indian J Med Res 2008; 128: 501-23.

211 Nazima B, Manoharan V, Miltonprabu S. Grape seed proanthocyanidins ameliorates cadmium-induced renal injury and oxidative stress in experimental rats through the up-regulation of nuclear related factor 2 and antioxidant responsive elements // Biochem Cell Biol. –2015. – Vol. 93, №3. – P. 210-26.

212 Sochorova L., Baron M., Dadakova K. et al. Health Beneficial Properties of Grapevine Seed Extract and Its Influence on Selected Biochemical Markers in the Blood, Liver and Kidneys of *Rattus norvegicus* // Molecules. –2021. – Vol. 26, №7. – P. 1-17.

213 Valgimigli L. Lipid Peroxidation and Antioxidant Protection // Biomolecules. –2023. – Vol. 13(9). – P. 1291-1323. 33 pages.

214 Cloud A., Vilcins D., McEwen B. The effect of hawthorn (*Crataegus* spp.) on blood pressure: A systematic review // Advances in Integrative Medicine. – 2020. – Vol. 7, №8. – P. 167-175.

215 Nadirova S.A., Sinyavskiy Y.A., Abdreshov S.N. et al. The effect of enriched yoghurt on the antioxidant activities of rats poisoned with cadmium salts //Nutrition & Food Science. – 2021. – Vol. 52, №2. – P. 320-333.

Приложение А

СТ АО 990840000359-06-2024

СТАНДАРТ ОРГАНИЗАЦИИ

АО «АЛМАТИНСКИЙ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

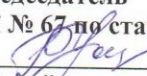
УДК 637.146 (043)
КП ВЭД 10.51.52

МКС 67.100.99

СОГЛАСОВАНО

Председатель

ТК № 67 по стандартизации

 Р.У. Уажанова
"08" 04 2024 г.

УТВЕРЖДАЮ:

Ректор АО «АТУ»



 Т.К. Кулажанов
"08" 04 2024 г.

КИСЛОМОЛОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ ПРОБИОТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НА ОСНОВЕ КОЗЬЕГО МОЛОКА

СТ АО 990840000359-06-2024

(Вводится впервые)

*Настоящий стандарт организации распространяется только с разрешения АО АТУ и не
подлежит применению до его принятия*

Срок действия с 01.04.2024
до 02.04.2029

Алматы, ТК 67 «Технология, качество и безопасность пищевых продуктов»
2024

СОДЕРЖАНИЕ

1	Область применения.....	3
2	Нормативные ссылки.....	3
3	Термины и определения.....	4
4	Классификация	5
5	Общие технические требования	5
6	Правила приемки	8
7	Методы контроля.....	8
8	Транспортирование и хранение	9
9	Гарантии изготовителя.....	9
	Библиография.....	10

СТАНДАРТ ОРГАНИЗАЦИИ

КИСЛОМОЛОЧНЫЕ ПРОДУКТЫ ПРОБИОТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ НА ОСНОВЕ КОЗЬЕГО МОЛОКА

1 Область применения

Настоящий стандарт распространяется на кисломолочные продукты с пробиотическими свойствами, вырабатываемые из пастеризованного козьего молока, с внесением симбиотической закваски молочнокислых бактерий и предварительно подготовленных растительных наполнителей, с последующим сквашиванием молочно-растительной смеси, созреванием молочного сгустка и охлаждением. Продукты предназначены для непосредственного потребления в пищу и реализации в торговой сети.

Требования, обеспечивающие безопасность кисломолочных продуктов, изложены в 5.1.5, 5.1.6, требования к качеству – в 5.1.3, 5.1.4, 5.1.5, к маркировке – в 5.3.

Настоящий стандарт пригоден для целей подтверждения соответствия.

Настоящий стандарт распространяется только с разрешения АО «Алматинский технологический университет».

2 Нормативные ссылки

Для применения настоящего стандарта необходимы следующие ссылочные нормативные документы:

- СТ РК ИСО 707-2011 Молоко и молочные продукты. Руководство по отбору проб
- СТ РК 1733-2015 Молоко и молочные продукты. Общие технические условия
- СТ РК 1734-2007 Молоко и молочные продукты. Правила приемки и методы испытаний
- СТ РК 2019-2010 Молоко и продукты переработки молока. Термины и определения
- ГОСТ 32940-2014 Межгосударственный стандарт. Молоко козье сырое. Технические условия
- ГОСТ 32259-2013 Межгосударственный стандарт. Молоко цельное питьевое козье
- ГОСТ 31981-2013. Межгосударственный стандарт. Йогурты. Общие технические условия.
- ГОСТ 1732 – 2007 Молоко и молочные продукты. Общие технические условия. Органолептический метод определения показателей качества
- ГОСТ 3622-68 Межгосударственный стандарт. Молоко и молочные продукты. Отбор проб и подготовка их к испытанию
- ГОСТ 31976 – 2012 Йогурты и продукты йогуртные. Потенциометрический метод определения титруемой кислотности.
- ГОСТ 3623-73 Молоко и молочные продукты. Методы определения пастеризации
- ГОСТ 3624-92 Межгосударственный стандарт. Молоко и молочные продукты. Титриметрические методы определения кислотности
- ГОСТ 3626-73 Межгосударственный стандарт. Молоко и молочные продукты. Методы определения влаги и сухого вещества
- ГОСТ 5867-90 Молоко и молочные продукты. Методы определения жира
- ГОСТ 23327-98 Молоко и молочные продукты. Метод измерения массовой доли общего азота по Кьельдалю и определение массовой доли белка
- ГОСТ 3625-84 Молоко и молочные продукты. Методы определения плотности
- ГОСТ 26781-85 Молоко. Метод измерения pH.
- ГОСТ 26668 – 85 Продукты пищевые и вкусовые. Методы отбора проб для микробиологических анализов.

ГОСТ 26669 – 85 Продукты пищевые и вкусовые. Подготовка проб для микробиологических анализов.

ГОСТ 26670-91 Межгосударственный стандарт. Продукты пищевые.

Методы культивирования микроорганизмов.

ГОСТ 26809.1-2014 Межгосударственный стандарт. Молоко и молочная продукция.

Правила приемки, методы отбора и подготовка проб к анализу.

ГОСТ 9225-84. Молоко и молочные продукты. Методы микробиологического анализа

ГОСТ 10444.11-2013 Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных.

Методы выявления и подсчета количества дрожжей и плесневых грибов

ГОСТ 33951-2016 Межгосударственный стандарт. Молоко и молочная продукция.

Методы определения молочнокислых микроорганизмов

ГОСТ 33566 – 2015 Межгосударственный стандарт Молоко и молочная продукция.

Определение дрожжей и плесневых грибов.

ГОСТ 30347-97 Молоко и молочные продукты. Методы определения *Staphylococcus aureus*.

ГОСТ 30518 – 97 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий).

ГОСТ 30711-2001 Продукты пищевые Методы выявления и определения содержания афлатоксинов В₁ и М₁.

ГОСТ 31659-2012 Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Salmonella*

ГОСТ 32031 – 2012 Продукты пищевые. Методы выявления и определения бактерий *Listeria monocytogenes*.

ГОСТ 26929-94 Сырье и продукты пищевые. Подготовка проб. Минерализация для определения содержания токсичных элементов.

ГОСТ Р 51766-2001 Сырье и продукты пищевые. Атомно-абсорбционный метод определения мышьяка.

ГОСТ 26927-86 Сырье и продукты пищевые. Методы определения ртути.

ГОСТ 30178-96 Сырье и продукты пищевые. Атомно-абсорбционный метод определения токсичных элементов.

ГОСТ 33526-2015 Молоко и продукты переработки молока. Методика определения содержания антибиотиков методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

ГОСТ 32164—2013 Продукты пищевые. Метод отбора проб для определения стронция Sr-90 и цезия Cs-137

Примечание - При пользовании настоящим стандартом целесообразно проверить действие ссылочных стандартов и классификаторов по ежегодно издаваемому информационному каталогу «Документы по стандартизации» состоянию на текущий год и соответствующим ежемесячно издаваемым информационным указателям, опубликованным в текущем году. Если ссылочный документ заменен (изменен), то при пользовании настоящим стандартом следует руководствоваться замененным (измененным) документом. Если ссылочный документ отменен без замены, то положение, в котором дана ссылка на него, применяется в части, не затрагивающей эту ссылку.

3 Термины и определения

В настоящем стандарте применяются термины по СТ РК 2019, ГОСТ 17164, а также следующие термины с соответствующими определениями:

3.1 Кисломолочный продукт, обогащенный пробиотическими бактериями, на основе козьего молока – кисломолочный продукт на основе козьего молока, произведенный с добавлением растительных наполнителей и штаммов молочнокислых микроорганизмов *Lactobacillus bulgaricus* B6, *Streptococcus thermophilus* TA 45 и *Lactobacillus fermentum* 14 в соотношении 1:5:1, концентрация которых должна составлять не менее 10⁷ КОЕ в 1 г продукта.

3.1 Йогурт, обогащенный пробиотическими бактериями, на основе козьего молока – кисломолочный продукт с растительными наполнителями на основе козьего молока, произведенный с добавлением штаммов молочнокислых микроорганизмов *Lactobacillus bulgaricus* B6, *Streptococcus thermophilus* TA 45 и *Lactobacillus fermentum* 14 в соотношении 1:5:1, концентрация которых должна составлять не менее 10^7 КОЕ в 1 г продукта.

Примечание – допускается добавление пищевых добавок и/или пищевкусовых продуктов: сахара, пектина. В качестве пищевых добавок допускается использовать подсластители, ароматизаторы, пищевые красители, стабилизаторы консистенции.

4 Классификация

4.1 Продукты в зависимости от используемого сырья производят:

- из цельного молока;
- нормализованного молока;
- восстановленного молока;
- смесей вышеуказанного сырья.

4.1.1 Йогурт в зависимости от применения и вида используемых пищевкусовых продуктов и/или пищевых добавок производят:

- без добавления немолочных компонентов;
- с растительными наполнителями (сиропы боярышника, шиповника, рябины, экстракт виноградной кожуры);
- ароматизатизированный (с ароматизаторами).

5 Общие технические требования

5.1 Кисломолочные продукты, обогащенные пробиотическими бактериями, на основе козьего молока, должны вырабатываться в соответствии с требованиями настоящего стандарта, санитарных норм и правил по рецептуре и технологической инструкции, утвержденных в установленном порядке.

5.1 Характеристики

5.1.1 Кисломолочные продукты, обогащенные пробиотическими бактериями, на основе козьего молока, должны быть изготовлены в соответствии с требованиями настоящего стандарта по рецептурам и технологическим инструкциям изготовителя, утвержденным в установленном порядке, с соблюдением требований ТР ТС 021/2011.

5.1.2 Кисломолочные продукты, обогащенные пробиотическими бактериями, на основе козьего молока, группы чистоты не ниже I с применением симбиотической закваски молочнокислых микроорганизмов, внесением растительных наполнителей.

5.1.3 По органолептическим показателям кисломолочные продукты, обогащенные пробиотическими бактериями, на основе козьего молока, должны соответствовать требованиям, указанным в таблице 1.

Таблица 1- Органолептические показатели кисломолочных продуктов

Наименование показателя	Характеристика
Консистенция и внешний вид	Однородная, с нарушенным сгустком при резервуарном способе производства, с ненарушенным сгустком - при термостатном

	способе производства, в меру вязкая; при добавлении загустителей - желеобразная или кремообразная.
Вкус и запах	Чистые, кисломолочные, без посторонних привкусов и запахов. Допускается привкус восстановленного молока, с соответствующим вкусом и ароматом внесенных компонентов
Цвет	Молочно-белый, кремовый или обусловленный цветом внесенных растительных наполнителей, равномерный по всей массе, однородный

5.1.4 По физико-химическим показателям кисломолочные продукты, обогащенные пробиотическими бактериями, на основе козьего молока, должны соответствовать требованиям, указанным в таблице 2.

Таблица 2- Физико-химические показатели кисломолочных продуктов

Наименование показателя	Норма
Кислотность °Т	75 – 140
Массовая доля жира, %	1,0 – 6,0;
Массовая доля белка, %, не менее	3,2
Фосфатаза	отсутствует
Температура при выпуске с предприятия, °С	(4 ± 2) °С
Примечание — Для продукта с регламентированной нормой массовой доли жира, массовую долю жира устанавливают в технологической инструкции в виде диапазона фактических значений («от....до....», %). Фактическое значение массовой доли жира должно быть указано при маркировке потребительской упаковки. Допускается отклонение в отдельных единицах упаковок в массовой доле жира ±0,1%.	

5.1.5 По микробиологическим показателям кисломолочные продукты, обогащенные пробиотическими бактериями, на основе козьего молока, должны соответствовать требованиям, указанным в таблице 3.

Таблица 3 - Микробиологические показатели кисломолочных продуктов на основе козьего молока

Наименование показателя	Норма
КМАФАнМ, КОЕ/см ³ (г), не менее	1x10 ⁷
Бактерии группы кишечной палочки в 0,1 мл продукта	не допускаются
Патогенные микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы в 25 мл продукта	не допускаются

5.1.6 Остаточные количества пестицидов, микотоксинов, антибиотиков, радионуклидов, токсичных элементов не должны превышать допустимых уровней, установленных ТР ТС 021/2011, ТР ТС 033/2013.

5.1.7 По микробиологическим показателям кисломолочные продукты из козьего молока с растительными наполнителями, должны соответствовать требованиям ТР ТС 021/2011, ТР ТС 033/2013.

5.2 Требования к сырью

5.2.1 При производстве кисломолочных продуктов из козьего молока с растительными наполнителями, применяют следующее сырье и материалы:

- молоко козье сырое, по ГОСТ 32940— 2014;
- молоко козье цельное питьевое, по ГОСТ 32259-2013;

- вода питьевая, по ГОСТ 2874;
- закваски бактериальные *Lactobacillus bulgaricus* B6, *Streptococcus thermophilus* TA 45 и *Lactobacillus fermentum* 14 в соотношении 1:5:1;
- сироп боярышника;
- сироп шиповника;
- сироп рябины;
- экстракт виноградной кожуры.

5.2.2 Сырье, применяемое для изготовления продуктов, по качеству и безопасности должно соответствовать требованиям, установленным ТР ТС 021/2011.

5.2.3 Молоко, продукты переработки молока, применяемые для приготовления кисломолочных продуктов, по показателям безопасности не должны превышать допустимые уровни, установленные ТР ТС 033/2013.

5.2.4 Не допускается использовать генетически модифицированные молочнокислые микроорганизмы, дрожжи и другие микроорганизмы технологической микрофлоры.

5.2.5 Допускается использование аналогичного сырья, по качеству и безопасности не уступающих требованиям, изложенным в 4.2.2 и удовлетворяющих требованиям ТР ТС 021/2011, ТР ТС 029/2012.

5.3 Маркировка

5.3.1 Маркировка потребительской упаковки продуктов должна соответствовать ТР ТС 021/2011.

5.3.2 На транспортной таре должна быть нанесена маркировка на государственном, русском языках, и при необходимости, на других языках, с указанием следующих данных:

- наименование кисломолочного продукта;
- наименование, местонахождение изготовителя;
- товарный знак (при наличии);
- масса нетто, брутто;
- штрих код (при наличии);
- количество единиц потребительской упаковки;
- дата выработки;
- пищевая ценность;
- условия хранения;
- обозначение настоящего стандарта;
- информацию о наличии компонентов из генетически модифицированных источников, когда содержание их превышает норму, установленную ТР ТС 022/2011, ТР ТС 029/2012;
- единый знак обращения на рынке государств-членов Таможенного союза.

5.3.3 Дополнительно могут быть нанесены знаки и надписи информационного и рекламного характера.

5.4 Упаковка

5.4.1 Тара и материалы отечественного или зарубежного производства, используемые для упаковки кисломолочных продуктов, должны соответствовать требованиям ТР ТС 005/2011, нормативных и технических документов, устанавливающих возможность их применения для контакта с пищевыми продуктами, обеспечивать сохранность и товарный вид продуктов при транспортировке и хранении.

5.4.2 Масса нетто кисломолочных продуктов в одной упаковочной единице должна соответствовать номинальной массе, указанной в маркировке потребительской упаковки, с учетом допускаемых отклонений.

Пределы допускаемых отрицательных отклонений массы нетто в одной упаковочной единице номинальной массы — по ГОСТ 8.579.

5.4.3 Продукт упаковывают в потребительскую упаковку с последующей укладкой в групповую и/или в транспортную упаковку.

5.4.4 Формирование групповой упаковки проводят в соответствии с ГОСТ 25776.

5.4.5 Транспортные пакеты формируют по ГОСТ 23285 и ГОСТ 26663.

5.4.6 Укладку транспортного пакета осуществляют так, чтобы была видна маркировка не менее одной единицы групповой упаковки и/или транспортной упаковки с каждой боковой стороны транспортного пакета. Укладку транспортного пакета осуществляют способами, обеспечивающими сохранность нижних рядов групповой и/или транспортной упаковки без их деформации.

Пределы допускаемых отрицательных отклонений массы нетто в одной упаковочной единице номинальной массы — по ГОСТ 8.579.

6 Правила приемки

6.1 Правила приемки осуществляются по ГОСТ 26809, СТ РК 1734.

6.2 Контроль качества и безопасности применяемых сырья и материалов осуществляется при входном контроле на соответствии установленным требованиям по ГОСТ 24297.

6.3 Контроль органолептических и физико-химических показателей проводят в каждой партии.

6.4 Продукты принимают партиями. Партией считают определенное количество единиц продуктов одного наименования в одинаковой упаковке с однородными физико-химическими и органолептическими показателями, произведенных на данном предприятии в соответствии с требованиями настоящего стандарта на одном технологическом оборудовании в течение одного технологического цикла по единому производственному режиму, одной даты изготовления и оформленную одним сопроводительным документом.

6.5 Продукты контролируют по показателям качества и безопасности, указанным в разделе 5, в соответствии с программой производственного контроля, утвержденной в установленном порядке.

7 Методы контроля

7.1 Отбор проб и подготовка к анализу — по ГОСТ 26809, СТ РК 1734.

7.2 Внешний вид, консистенция, вкус, запах, цвет, определяют органолептическим контролем по ГОСТ 28283, ГОСТ 32940.

7.3 Определение массовой доли жира — по ГОСТ 5867.

7.4 Определение массовой доли влаги — по ГОСТ 3626.

7.5 Определение кислотности — по ГОСТ 3624.

7.6 Определение фосфатазы — по ГОСТ 3623.

7.7 Определение температуры и массы продукта — по ГОСТ 26754.

7.8 Определение микробиологических показателей — по ГОСТ 9225, ГОСТ 32901.

7.9 Определение токсичных элементов:

- мышьяка — по ГОСТ 26930, ГОСТ Р 51766, ГОСТ 31266, ГОСТ 30538;

- ртути — по ГОСТ 26927;

- свинца — по ГОСТ 26932, ГОСТ 30178, ГОСТ 30538;

- кадмия — по ГОСТ 26933, ГОСТ 30178, ГОСТ 30538;

7.10 Определение пестицидов — по ГОСТ 23452;

7.11 Определение микробиологических показателей:

- Определение молочнокислых микроорганизмов — по ГОСТ 10444.11;

- бактерии группы кишечных палочек — по ГОСТ 32901;

- *Staphylococcus aureus* — по ГОСТ 30347;

УДК 637.146.3

МКС 67.100.99

Ключевы слова: молоко козье, растительные наполнители, экстракт, сироп, пробиотические свойства, молочнокислые бактерии

РАЗРАБОТЧИК

ТК 67 «Технология, качество и безопасность пищевых продуктов» на базе АО «Алматинский технологический университет»

Докторант



С.А. Надирова

д.б.н., профессор



Ю.А. Синявский

Библиография

- [1] Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 005/2011 «О безопасности упаковки», утвержденный решением Комиссии Таможенного союза от 16 августа 2011 г. № 769.
- [2] Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции», утвержденный решением Комиссии Таможенного союза от 9 декабря 2011 г. № 880.
- [3] Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 022/2011 «Пищевая продукция в части ее маркировки», утвержденный решением Комиссии Таможенного союза от 9 декабря 2011 г. № 881.
- [4] Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 029/2012 «Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств», утвержденный решением Комиссии Таможенного союза от 20 июля 2012 г. № 58.
- [5] Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 033/2013 «О безопасности молока и молочной продукции», утвержденный решением Комиссии Таможенного союза от 9 декабря 2013 г. № 67.

Приложение Б

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
БІЛІМ ЖӘНЕ ҒЫЛЫМ МИНИСТРЛІГІ
ҒЫЛЫМ КОМИТЕТІНІҢ
«МИКРООРГАНИЗМДЕРДІҢ РЕСПУБЛИКАЛЫҚ
КОЛЛЕКЦИЯСЫ» ШАРУАШЫЛЫҚ ЖҮРГІЗУ
ҚҰҚЫҒЫНДАҒЫ РЕСПУБЛИКАЛЫҚ
МЕМЛЕКЕТТІК КӨСІПОРНЫ



РЕСПУБЛИКАНСКОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
ПРЕДПРИЯТИЕ НА ПРАВЕ ХОЗЯЙСТВЕННОГО
ВЕДЕНИЯ «РЕСПУБЛИКАНСКАЯ
КОЛЛЕКЦИЯ МИКРООРГАНИЗМОВ»
КОМИТЕТА НАУКИ МИНИСТЕРСТВА
ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

010000, Нұр-Сұлтан қ., Ш. Уәлиханов, 13/1
тел./факс: + 7 (7172) 20 10 32
E-mail: rcm-info@mail.ru; www.rcm.kz
БСН 061140003586

010000, г. Нур-Султан, ул. Ш. Уәлиханова, 13/1
тел./факс: + 7 (7172) 20 10 32
E-mail: rcm-info@mail.ru; www.rcm.kz
БИН 061140003586

01.10.2022 № 09-12/231
№ _____ ге

СВИДЕТЕЛЬСТВО О ДЕПОНИРОВАНИИ МИКРООРГАНИЗМА

Кому: Надировой С.А., Синявский Ю.А.

(имя и/или наименование организации и адрес депозитора, которым выдается свидетельство о депонировании)

ТОО «ОО Казахская академия питания»

1. НАЗВАНИЕ МИКРООРГАНИЗМА

Lactobacillus fermentum

Опознавательная ссылка (номер, ссылка т.п.,
присвоенный штамму депозитором)

14

Коллекционный номер,
присвоенный коллекцией

B- RKM 1020

2. НАУЧНОЕ ОПИСАНИЕ И/ЛИ ТАКСОНОМИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МИКРООРГАНИЗМА

Род: *Lactobacillus*

Вид: *fermentum*

Микроорганизмы, поименованные в пункте 1, сопровождаются ходатайством о депонировании, включающем



¹ Паспорт



¹ Заключение об исследовании
класса опасности

3. ПОЛУЧЕНИЕ И ПРИНЯТИЕ

Настоящим утверждается, что микроорганизм бактериальной культуры, поименованный в пункте 1, депонирован в Республиканской коллекции микроорганизмов с целью патентного депонирования.

Дата депонирования
31.10.2022 г.

002236

4. КОЛЛЕКЦИЯ

РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов»

Название коллекции:

**РГП «Республиканская коллекция
микроорганизмов» МЗ РК**

**Заведующий Биобанком
промышленных микроорганизмов**

И.о. генерального директора

Подпись лица, уполномоченного,
представлять коллекцию, или
полномочного должностного лица:



Алмагамбетов К.Х.

Айткалиев А.К.

«31» 10 2022 г.

Адрес коллекции:

010000, г. Астана,
ул. Ш. Уәлиханова, 13/1
факс 8 (7172) 20-10-32
e-mail: rcm-info@mail.ru

Печать организации (гербовая)

Приложение В



KZ.T.02.E0177
TESTING

Испытательная лаборатория ТОО «НУТРИТЕСТ»

Республика Казахстан, 050008, г. Алматы, ул. Ключкова, 66,
телефон/факс: (727) 375 82 23, (727) 375 00 34

Аттестат аккредитации № KZ T.02.E0177 от 06 мая 2021 г.

ПРОТОКОЛ № 3684 К от « 14 » января 2022г

Всего страниц 2
Страница 1

Дата поступления в лабораторию: 06.12.2021 г.

Наименование и адрес заявителя: **Надирова С.А.**

Наименование и обозначение испытываемого образца(штамма): **штамм Lactobacillus fermentum**

Изготовитель (страна, фирма): **Республика Казахстан**

Количество образцов, поступивших на исследование: **1 штамм**

Обозначение НД на продукцию: **ЕСЭГТ, утв. Реш. КТС № 299 от 28.05.2010г. гл. II**

Дата начала испытаний: **16.12.2021 г.**

Дата окончания проведения испытаний: **14.01.2022 г.**

Вид испытаний: **контрольный**

Условия проведения испытаний: **Температура 21-23 °С; влажность 68-74%**

Культурально-морфологические особенности Lactobacillus fermentum: Факультативные анаэробы. Клетки представляют собой грамм положительные имеют палочковидную форму с закругленными концами, неподвижны, размеры клеток 0,5-1,5 мкм. На агаризованной среде образует средние круглые колонии с ровными краями, белые. Идентифицированы методом анализа фрагментов 16S r RNA гена.

Область применения Биотехнология и пищевая промышленность.

Изучение потенциально-патогенных признаков штамма in vitro: В опытах, проведенных in vitro на плотной питательной среде с добавлением яичного желтка (желточный агар) и крови (кровяной агар) установлено, что культура Lactobacillus fermentum не проявила признаков лецитиназной и гемолитической активности.

Изучение вирулентности штамма (ЛД₅₀): Исследование вирулентности штамма Lactobacillus fermentum проводилось общепринятым методом /Биргер М.О., 1982/ на 8 группах животных (по 12 белых мышей в каждой, 6 самок и 6 самцов весом 16-18 г) в концентрациях от 10³ до 10¹¹ КОЕ/см³ (Табл.).

Таблица - Результаты исследования острой токсичности культуры
Lactobacillus fermentum при внутрибрюшинном и пероральном введении

№№	К-во животных в опыте	Способ введения	Доза КОЕ/мл	Заболело животных	Пало животных	Выжило животных
1	12	внутри-брюшинно	10 ³	0	0	12
2	12	внутри-брюшинно	10 ⁵	0	0	12
3	12	внутри-брюшинно	10 ⁷	0	0	12
4	12	внутри-брюшинно	10 ⁹	0	0	12
Контроль	12	внутри-брюшинно	физ.раствор	0	0	12
5	12	перорально	10 ⁵	0	0	12
6	12	перорально	10 ⁷	0	0	12
7	12	перорально	10 ⁹	0	0	12
8	12	перорально	10 ¹¹	0	0	12
Контроль	12	перорально	физ.раствор	0	0	12

Результаты опытов показали, что как при внутрибрюшинном, так и при пероральном введении все исследованные дозы культуры Lactobacillus fermentum гибели подопытных животных не вызывали. Все они оставались активными и здоровыми.

Морфологические изменения внутренних органов: Результаты вскрытия животных показали: печень темно-красного цвета, поверхность гладкая. «Рисунок» мозгового и коркового вещества четкий. Легкие по строению долей и объему обычные, поверхности гладкие, легко отделяются друг от друга, спаяк не отмечено.

Способность к десимициации внутренних органов:

Десимициация внутренних органов имеет место только в течение первых 24 часов после введения культуры.

Аллергенное действие по сенсибилизирующему эффекту: Установление среднеаллергенной дозы проводилось на морских свинках, которым вводилась исследуемая культура в дозах 10^3 , 10^4 , 10^5 , 10^6 КОЕ/на одно животное. Контролем служил физиологический раствор. Учет реакции проводился через 10 дней по диаметру эритемы. Среднеаллергенная доза исследуемой культуры составила $8,0 \times 10^5$ КОЕ на одно животное. Таким образом, этот штамм практически не обладает аллергенным действием.

Местно раздражающее действие: При введении исследуемой культуры в конъюнктиву глаза кроликов в дозе 1×10^9 КОЕ/см³ наблюдалась слабая положительная реакция в виде инъекции сосудов склеры и роговицы, слизистых выделений в углах глаз. На вторые сутки наблюдений вышеуказанные явления у всех животных полностью купировались и последующие 5 суток отклонений от физиологической нормы не наблюдалось. Таким образом, исследуемый штамм *Lactobacillus fermentum* обладает слабовыраженным местно-раздражающим действием.

Заключение:

Согласно существующей классификации штаммов (Предельно допустимые концентрации (ПДК) микроорганизмов-продуцентов, бактериальных препаратов и их компонентов в воздухе рабочей зоны Гигиенические нормативы ГН 2.2.6.709-98), культура *Lactobacillus fermentum* принадлежит к 4-му классу опасности.

P.S. Исследования патогенности штамма проводили согласно «Методическим рекомендациям к постановке исследований по оценке вирулентности штаммов-продуцентов микроорганизмов, предназначенных для получения продуктов микробиологического синтеза» (М., 1982), МУ 5789/1-91 «Методическим указаниям по экспериментальному обоснованию ПДК микроорганизмов-продуцентов и содержащих их готовых форм препаратов в объектах окружающей среды» (М., 1993), Биргер М.О. «Справочник по микробиологическим и вирусологическим методам исследования» (М., 1982).

Заведующая ИЛ



И.Хаджибаева

Заключение распространяется только на образец, подвергнутый испытаниям
Полная или частичная перепечатка заключения без разрешения испытательной лаборатории
запрещена

Приложение Г

«УТВЕРЖДАЮ»
Ген. директор Института физиологии
человека и животных КН МОН РК
Е.К.Макашев
2021 г

АКТ лабораторных испытаний

Мы, нижеподписавшиеся, сотрудники РГП на ПХВ «Институт физиологии человека и животных» КН МОН РК, зав. лабораторией физиологии лимфатической системы д.м.н. Г.А. Демченко, ведущий научный сотрудник лаборатории физиологии лимфатической системы к.б.н., асс. профессор Абдрешов С.Н. и представители Алматинского технологического университета зав. кафедрой Ш.А. Абжанова, лектор С.А. Надирова составили настоящий акт о том, что с 11.01.2021 г. по 01.03.2021 г. были проведены лабораторные испытания по экспериментальному отравлению токсикантами белых крыс и их коррекции.

В эксперименте были использованы 72 белые лабораторные крысы-самцы линии Wistar с исходной массой тела 240–250 г с содержанием в виварии влажностью 50–65% и температурой воздуха 20–25°C со свободным доступом к воде и корму. Животные находились в виварии в течение десяти дней до начала эксперимента. Перед отравлением больных крыс обнаружено не было: шерсть ровная, склеры глаз не воспалены. Животные были разделены на шесть групп по 12 крыс в каждой: 1 группа – контрольная, 2 группа – под действием интоксикации хлоридом кадмия, 3 группа – под действием интоксикации хлоридом кадмия с получением кисломолочного продукта с сиропом боярышника и экстрактом кожуры винограда, 4 группа – под действием интоксикации хлоридом кадмия с получением кисломолочного продукта с сиропом шиповника и экстрактом кожуры винограда, 5 группа – под действием интоксикации хлоридом кадмия с получением кисломолочного продукта с рябиновым сиропом и экстрактом кожуры винограда, 6 группа – под действием интоксикации хлоридом кадмия с получением кисломолочного продукта с экстрактом кожуры винограда. Все животные содержались на общем пищевом рационе в течение 30 дней; кроме рациона подопытные животные получали 10,0 мл кисломолочного продукта (молочного продукта) на 100 г тела. Модель кадмиевой интоксикации создавалась пероральным введением 1,5 мг/кг хлорида кадмия (1 раз в сутки) с питьем воды на 30 дней. В течение эксперимента контролировали прием пищи и общее состояние животных; взвешивание крыс проводили каждые семь дней.

Животных наблюдали в течение 30 дней. Результаты экспериментов показали, что животные 1 группы находились без изменения. У животных 2-6 групп в первый же день наблюдалось ухудшение состояния: вялость, снижение аппетита. При интоксикации хлоридом кадмия имело место снижение ОАО (общей антиоксидантной активности). На фоне интоксикации хлоридом кадмия прием кисломолочных продуктов благотворно влиял на общее состояние животных в 3-6 группах: они были более активны, имели хорошую шерсть и нормальное дыхание и повышенный аппетит. Суммарная АОО в гепатоцитах крыс 3-6 групп, получавших кисломолочные продукты, на фоне токсической нагрузки также имела положительную динамику.

Члены комиссии:

от Института физиологии
человека и животных КН МОН РК

Демченко Г.А.
Абдрешов С.Н.

от Алматинского технологического
университета

Абжанова Ш.А.
Надирова С.А.

Приложение Д

«СОГЛАСОВАНО»
Проректор по НИИ АТУ
д.ф.-м.н., доцент
Алиев Б.А.
«28» февраля 2022 г.



«УТВЕРЖДАЮ»
Президент ТОО «Казахская академия питания»
Шарманов Т.Ш.
«28» февраля 2022 г.

АКТ

внедрения в промышленное производство ТОО «Казахская академия питания» пробной партии кисломолочного продукта, приготовленного на основе закваски с пробиотической культурой *Lactobacillus fermentum 14* с растительными наполнителями (сироп боярышника, экстракт виноградной кожуры) на основе козьего молока

Мы, нижеподписавшиеся, ТОО «Казахская академия питания» зав. лабораторией биотехнологии специализированных продуктов и биологически активных добавок Синяевский Ю.А., технолог Туйгунов Д.Н. и представители АТУ зав. кафедрой «Пищевая биотехнология» Абжанова Ш.А., ассоциированный профессор кафедры Асембаева Э.К., лектор кафедры Надирова С.А. составили настоящий акт о том, что с 10 января по 15 марта 2022 года были выработаны опытно-промышленные партии кисломолочного продукта, приготовленного на основе закваски с пробиотической культурой *Lactobacillus fermentum 14* с растительными наполнителями (сироп боярышника, экстракт виноградной кожуры) из козьего молока.

Получение кисломолочного продукта, приготовленного на основе закваски с пробиотической культурой *Lactobacillus fermentum 14* с растительными наполнителями (сироп боярышника, экстракт виноградной кожуры) из козьего молока осуществляли следующим образом: нормализованное молоко подвергали пастеризации при температуре $(84 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ с выдержкой 15-20 секунд, охлаждали до температуры $(39 \pm 2)^{\circ}\text{C}$, вносили наполнители, инокулировали молочную смесь бактериальной закваской, добавляли пектин в количестве 0,1%, перемешивали, ферментацию проводили при температуре $(38-41)^{\circ}\text{C}$ в течение 6-8 часов до образования сгустка кислотностью $(76 \pm 0,47)^{\circ}\text{T}$.

Для приготовления закваски использовали консорциум, состоящий из *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* и *Lactobacillus fermentum 14* в соотношении 1:5:1. В качестве наполнителя добавляли сироп боярышника и экстракт виноградной кожуры.

Соотношение ингредиентов, масс. %

Пастеризованное козье молоко	89,0
Наполнители:	
сироп боярышника	5,0
экстракт виноградной кожуры	1,0
Бактериальная закваска	5,0

Полученный продукт имеет приятный кисломолочный вкус и аромат, однородную вязкую консистенцию с карамельным оттенком и ароматом ягодного сиропа.

На основании проведенных исследований дегустационная комиссия пришла к следующим выводам:

- 1 комиссия дает положительную оценку органолептических показателей представленных образцов кисломолочного продукта, приготовленного из козьего молока.
- 2 продукция по физико-химическим, микробиологическим характеристикам и показателям безопасности соответствует требованиям технических регламентов.
- 3 утвердить рецептуру и инновационную технологию на кисломолочный продукт, приготовленный из козьего молока.
- 4 рекомендовать в промышленное производство на предприятиях молочной отрасли кисломолочный продукт, приготовленный с добавлением сиропа боярышника и экстракта виноградной кожуры на основе козьего молока.

Члены комиссии:

**От ТОО «Казахская
академия питания»**

Синявский Ю.А.
Туйгунов Д.Н.

от АТУ

Абжанова Ш.А.
Асембаева Э.К.
Надирова С.А.

«СОГЛАСОВАНО»
 Проректор по НИИ АТУ
 д.ф.-м.н., доцент
 Алиев Б.А.
 «08» марта 2022 г.

«УТВЕРЖДАЮ»
 Президент ТОО «Казахская
 академия питания»
 Шарманов Т.Ш.
 «03» марта 2022 г.

АКТ

внедрения в промышленное производство ТОО «Казахская академия питания» пробной партии кисломолочного продукта, приготовленного на основе закваски с пробиотической культурой *Lactobacillus fermentum 14* с растительными наполнителями (сироп рябины, экстракт виноградной кожуры) на основе козьего молока

Мы, нижеподписавшиеся, ТОО «Казахская академия питания» зав. лабораторией биотехнологии специализированных продуктов и биологически активных добавок Синявский Ю.А., технолог Туйгунов Д.Н. и представители АТУ зав. кафедрой «Пищевая биотехнология» Абжанова Ш.А., ассоциированный профессор кафедры Асембаева Э.К., лектор кафедры Надирова С.А. составили настоящий акт о том, что с 10 января по 15 марта 2022 года были выработаны опытно-промышленные партии кисломолочного продукта, приготовленного на основе закваски с пробиотической культурой *Lactobacillus fermentum 14* с растительными наполнителями (сироп рябины, экстракт виноградной кожуры) из козьего молока.

Получение кисломолочного продукта, приготовленного на основе закваски с пробиотической культурой *Lactobacillus fermentum 14* с растительными наполнителями (сироп рябины, экстракт виноградной кожуры) из козьего молока осуществляли следующим образом: нормализованное молоко подвергали пастеризации при температуре $(84 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ с выдержкой 15-20 секунд, охлаждали до температуры $(39 \pm 2)^{\circ}\text{C}$, вносили наполнители, инокулировали молочную смесь бактериальной закваской, добавляли пектин в количестве 0,1%, перемешивали, ферментацию проводили при температуре $(38-41)^{\circ}\text{C}$ в течение 6-8 часов до образования сгустка кислотностью $(80 \pm 0,53)^{\circ}\text{T}$.

Для приготовления закваски использовали консорциум молочнокислых бактерий, состоящий из *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* и *Lactobacillus fermentum 14* в соотношении 1:5:1. В качестве наполнителя добавляли сироп рябины и экстракт виноградной кожуры.

Соотношение ингредиентов, масс. %

Пастеризованное козье молоко	89,0
Наполнители:	
сироп рябины	5,0
экстракт виноградной кожуры	1,0
Бактериальная закваска	5,0

Полученный продукт имеет приятный кисломолочный вкус и аромат, однородную, вязкую консистенцию и нежно-кремовый оттенок.

На основании проведенных физико-химических, микробиологических исследований по показателям безопасности и исследований на подтверждение сроков годности, дегустационная комиссия пришла к следующим выводам:

- 1 по органолептическим показателям полученный продукт соответствует требованиям стандартов к кисломолочным продуктам;
- 2 по физико-химическим, микробиологическим характеристикам и показателям безопасности продукция соответствует требованиям технических регламентов;
- 3 утвердить рецептуру и инновационную разработку биотехнологии кисломолочного продукта;
- 4 рекомендовать в промышленное производство на предприятиях молочной отрасли кисломолочный продукт на основе козьего молока, приготовленный с растительными наполнителями (сироп рябины и экстракт виноградной кожуры).

Члены комиссии:

**От ТОО «Казахская
академия питания»**

Синявский Ю.А. 

Туйгунов Д.Н. 

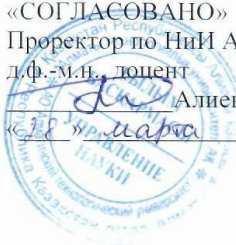
от АТУ

Абжанова Ш.А. 

Асембаева Э.К. 

Надирова С.А. 

«СОГЛАСОВАНО»
Проректор по НИИ АТУ
д.ф.-м.н., доцент
Алиев Б.А.
«18» марта 2022 г.



«УТВЕРЖДАЮ»
Президент ТОО «Казахская
академия питания»
Шарманов Т.Ш.
«23» марта 2022 г.

АКТ

внедрения в промышленное производство ТОО «Казахская академия питания» пробной партии кисломолочного продукта, приготовленного на основе закваски с пробиотической культурой *Lactobacillus fermentum 14* с растительными наполнителями (сироп шиповника, экстракт виноградной кожуры) на основе козьего молока

Мы, нижеподписавшиеся, ТОО «Казахская академия питания» зав. лабораторией биотехнологии специализированных продуктов и биологически активных добавок Синяевский Ю.А., технолог Туйгунов Д.Н. и представители АТУ зав. кафедрой «Пищевая биотехнология» Абжанова Ш.А., ассоциированный профессор кафедры Асембаева Э.К., лектор кафедры Надирова С.А. составили настоящий акт о том, что в период с 10 января по 15 марта 2022 года были выработаны опытно-промышленные партии кисломолочного продукта, приготовленного на основе закваски с пробиотической культурой *Lactobacillus fermentum 14* с растительными наполнителями (сироп шиповника, экстракт виноградной кожуры) из козьего молока.

Получение кисломолочного продукта с растительными наполнителями (сироп шиповника, экстракт виноградной кожуры) на основе козьего молока осуществляли следующим образом: нормализованное молоко подвергали пастеризации при температуре $(84 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ с выдержкой 15-20 секунд, охлаждали до температуры $(39 \pm 2)^{\circ}\text{C}$, вносили наполнители, тщательно перемешивали, инокулировали молочную смесь бактериальной закваской, добавляли пектин в количестве 0,1%, ферментацию проводили при температуре $(38-41)^{\circ}\text{C}$ в течение 6-8 часов до образования сгустка кислотностью $(81 \pm 0,52)^{\circ}\text{T}$.

Для приготовления закваски использовали консорциум, состоящий из *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* и *Lactobacillus fermentum 14* в соотношении 1:5:1. В качестве растительного наполнителя добавляли сироп шиповника и экстракт виноградной кожуры.

Соотношение ингредиентов, масс. %

Пастеризованное козье молоко	89,0
Наполнители:	
сироп шиповника	5,0
экстракт виноградной кожуры	1,0
Бактериальная закваска	5,0

Полученный продукт имеет приятный кисломолочный вкус и аромат, однородную, вязкую консистенцию и насыщенным розоватым оттенком.

На основании проведенных исследований по показателям безопасности и исследований на подтверждение сроков годности, дегустационная комиссия пришла к следующим выводам:

- 1 полученный продукт по органолептическим показателям соответствует требованиям, предъявляемым к кисломолочным продуктам;
- 2 по микробиологическим, физико-химическим характеристикам и показателям безопасности продукция соответствует требованиям технических регламентов;
- 3 утвердить рецептуру и инновационную разработку биотехнологии кисломолочного продукта;
- 4 рекомендовать в промышленное производство на предприятиях молочной отрасли кисломолочный продукт на основе козьего молока, приготовленный с растительными наполнителями (сироп рябины и экстракт виноградной кожуры).

Члены комиссии:

**От ТОО «Казахская
академия питания»**

Синявский Ю.А. 

Туйгунов Д.Н. 

от АТУ

Абжанова Ш.А. 

Асембаева Э.К. 

Надирова С.А. 

«СОГЛАСОВАНО»
Проректор по НИИ АТУ
д.ф.-м.н., доцент
 Алиев Б.А.
« 28 » марта 2022 г.



УТВЕРЖДАЮ
Президент ТОО «Казakhская
академия питания»
 Шарманов Т.Ш.
« 03 » 2022 г

АКТ

внедрения в промышленное производство ТОО «Казakhская академия питания» пробной партии кисломолочного продукта, приготовленного на основе закваски с пробиотической культурой *Lactobacillus fermentum 14* с растительным наполнителем

Мы, нижеподписавшиеся, ТОО «Казakhская академия питания» зав. лабораторией биотехнологии специализированных продуктов и биологически активных добавок Синявский Ю.А., технолог Туйгунов Д.Н. и представители АТУ зав. кафедрой «Пищевая биотехнология» Абжанова Ш.А., ассоциированный профессор кафедры Асембаева Э.К., лектор кафедры Надирова С.А. составили настоящий акт о том, что в период с 10 января по 15 марта 2022 года были выработаны опытно-промышленные партии кисломолочного продукта, приготовленного на основе закваски с пробиотической культурой *Lactobacillus fermentum 14* с растительным наполнителем на основе козьего молока.

На предприятии получение кисломолочного продукта с растительным наполнителем осуществляли следующим образом: козье молоко подвергали пастеризации при температуре $(84 \pm 2)^{\circ}\text{C}$ с выдержкой 15-20 секунд, охлаждали до температуры $(39 \pm 2)^{\circ}\text{C}$, вносили экстракт, тщательно перемешивали, инокулировали молочную смесь бактериальной закваской, добавляли пектин в количестве 0,1%, ферментацию проводили при температуре $(38-41)^{\circ}\text{C}$ в течение 6-8 часов до образования сгустка кислотностью $(78 \pm 0,57)^{\circ}\text{T}$.

Для приготовления закваски использовали консорциум, состоящий из *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus bulgaricus* и *Lactobacillus fermentum 14* в соотношении 1:5:1. В качестве растительного наполнителя добавляли экстракт виноградной кожуры.

Соотношение ингредиентов, масс. %

Пастеризованное козье молоко	94,0
Наполнители:	
экстракт виноградной кожуры	1,0
Бактериальная закваска	5,0

Полученный продукт имеет приятный кисломолочный вкус и аромат, однородную, вязкую консистенцию и насыщенным розоватым оттенком.

На основании проведенных исследований по показателям безопасности и исследований на подтверждение сроков годности, дегустационная комиссия пришла к следующим выводам:

- 1 полученный продукт по органолептическим показателям соответствует требованиям, предъявляемым к кисломолочным продуктам;
- 2 по микробиологическим, физико-химическим характеристикам и показателям безопасности продукция соответствует требованиям технических регламентов;
- 3 утвердить рецептуру и биотехнологию получения кисломолочного продукта;
- 4 рекомендовать в промышленное производство на предприятиях молочной отрасли кисломолочный продукт на основе козьего молока, приготовленный с добавлением экстракта виноградной кожуры.

Члены комиссии:

**От ТОО «Казахская
академия питания»**

Синяевский Ю.А. 

Туйгунов Д.Н. 

от АТУ

Абжанова Ш.А. 

Асембаева Э.К. 

Надирова С.А. 

Приложение Е

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ **РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН**

REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

ПАТЕНТ
PATENT

№ 5613

ПАЙДАЛЫ МОДЕЛЬГЕ / НА ПОЛЕЗНУЮ МОДЕЛЬ / FOR UTILITY MODEL



(21) 2020/0857.2

(22) 23.09.2020

(45) 04.12.2020

(54) Йогурт өндіру тәсілі
Способ производства йогурта
Method of yoghourt production

(73) «Алматы технологиялық университеті» акционерлік қоғамы (KZ)
Акционерное общество «Алматинский технологический университет» (KZ)
«Almaty Technological University» Joint-Stock Company (KZ)

(72) Надирова Санам Абдуллаевна (KZ)	Nadirova Sanam Abdullayevna (KZ)
Синявский Юрий Александрович (KZ)	Sinyavskiy Yuriy Aleksandrovich (KZ)
Абжанова Шолпан Аманкелдықызы (KZ)	Abzhanova Sholpan Amankeldykyzy (KZ)
Габдуллина Ельзада Жумагалиевна (KZ)	Gabdullina Yelzada Zhumagaliyevna (KZ)
Жапаркулова Назгуль Иксановна (KZ)	Zhaparkulova Nazgul Iksanovna (KZ)
Дәрменқұлова Жадыра Бақтыбайқызы (KZ)	Darmenkulova Zhadyra Baktybaykyzy (KZ)
Салтыбаев Арсен Демосфенович (KZ)	Saltybayev Arsen Demosfenovich (KZ)



ЭЦҚ қол қойылды
Подписано ЭЦП
Signed with EDS

Е. Оспанов
Е. Оспанов
Y. Ospanov

«Ұлттық зияткерлік меншік институты» РМК директоры
Директор РІП «Национальный институт интеллектуальной собственности»
Director of the «National Institute of Intellectual Property» RSE

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

ПАТЕНТ PATENT

№ 5614

ПАЙДАЛЫ МОДЕЛЬГЕ / НА ПОЛЕЗНУЮ МОДЕЛЬ / FOR UTILITY MODEL



(21) 2020/0858.2

(22) 23.09.2020

(45) 04.12.2020

(54) Йогурт өндіру тәсілі
Способ производства йогурта
Method of yoghourt production

(73) «Алматы технологиялық университеті» акционерлік қоғамы (KZ)
Акционерное общество «Алматинский технологический университет» (KZ)
«Almaty Technological University» Joint-Stock Company (KZ)

(72) Надирова Санам Абдуллаевна (KZ)	Nadirova Sanam Abdullayevna (KZ)
Синявский Юрий Александрович (KZ)	Sinyavskiy Yuriy Aleksandrovich (KZ)
Абжанова Шолпан Аманкелдықызы (KZ)	Abzhanova Sholpan Amankeldykyzy (KZ)
Габдуллина Ельзада Жумагалиевна (KZ)	Gabdullina Yelzada Zhumagaliyevna (KZ)
Жапаркулова Назгуль Иксановна (KZ)	Zhaparkulova Nazgul Iksanovna (KZ)
Дәрменқұлова Жадыра Бактыбайқызы (KZ)	Darmenkulova Zhadyra Baktybaykyzy (KZ)
Салтыбаев Арсен Демосфенович (KZ)	Saltybayev Arsen Demosfenovich (KZ)



ЭЦҚ кол қойылды
Подписано ЭЦП
Signed with EDS

Е. Оспанов
Е. Оспанов
Y. Ospanov

«Ұлттық зияткерлік меншік институты» РМК директоры
Директор РГП «Национальный институт интеллектуальной собственности»
Director of the «National Institute of Intellectual Property» RSE

ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

ПАТЕНТ
PATENT

№ 8592

ПАЙДАЛЫ МОДЕЛЬГЕ / НА ПОЛЕЗНУЮ МОДЕЛЬ / FOR UTILITY MODEL



(21) 2023/0616.2

(22) 07.06.2023

(45) 03.11.2023

(54) Сүт қышқылды сусын алу тәсілі
Способ получения кисломолочного напитка
Method for obtaining a fermented milk drink

(73) «Алматы технологиялық университеті» акционерлік қоғамы (KZ)
Акционерное общество «Алматинский технологический университет» (KZ)
«Almaty Technological University» Joint stock company (KZ)

(72) Надирова Санам Абдуллаевна (KZ)	Nadirova Sanam Abdullayevna (KZ)
Синявский Юрий Александрович (KZ)	Sinyavskiy Yuriy Aleksandrovich (KZ)
Абжанова Шолпан Аманкедықызы (KZ)	Abzhanova Sholpan Amankedykyzy (KZ)
Габдуллина Ельзада Жумагалиевна (KZ)	Gabdullina Elzada Zhumagaliyevna (KZ)
Жапаркулова Назгуль Иксановна (KZ)	Zhaparkulova Nazgul Iksanovna (KZ)
Алибаева Бахит Насихатовна (KZ)	Alibayeva Bakhit Nasikhatovna (KZ)



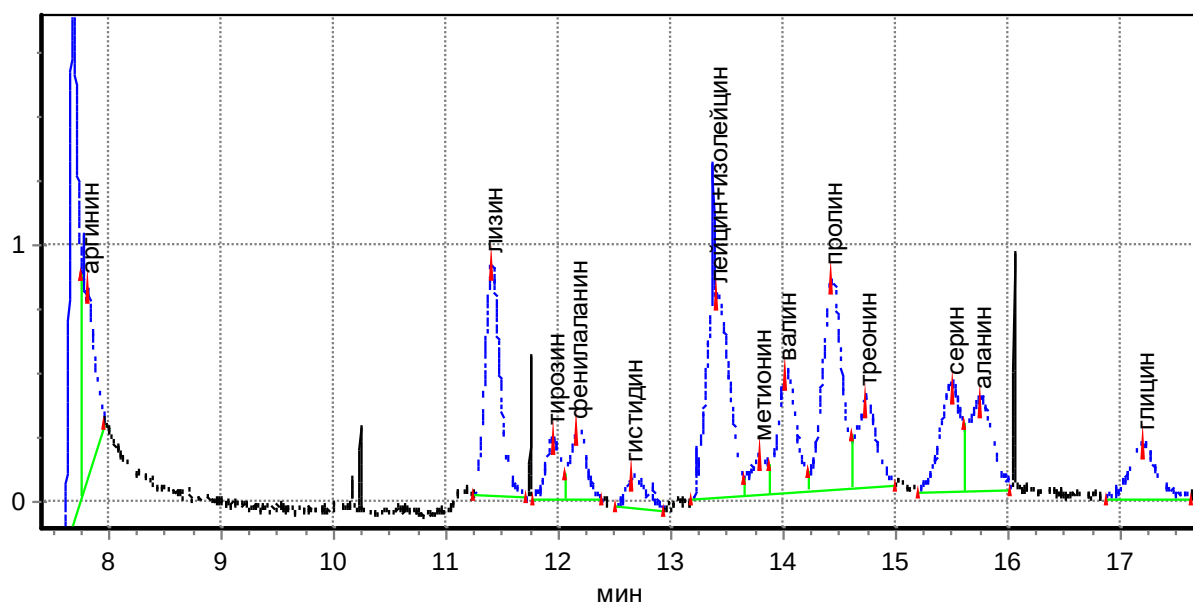
ЭЦҚ қол қойылды
Подписано ЭЦП
Signed with EDS

Е. Оспанов
Е. Оспанов
Y. Ospanov

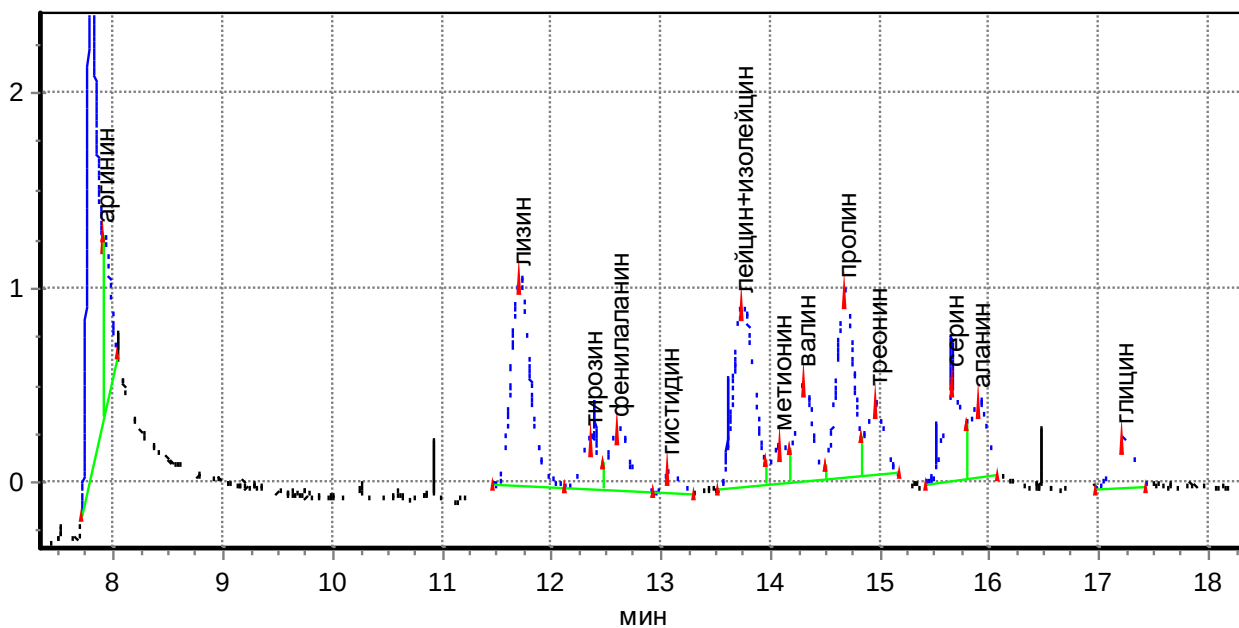
«Ұлттық зияткерлік меншік институты» РМК директоры
Директор РГП «Национальный институт интеллектуальной собственности»
Director of RSE «National institute of intellectual property»

Приложение Ж

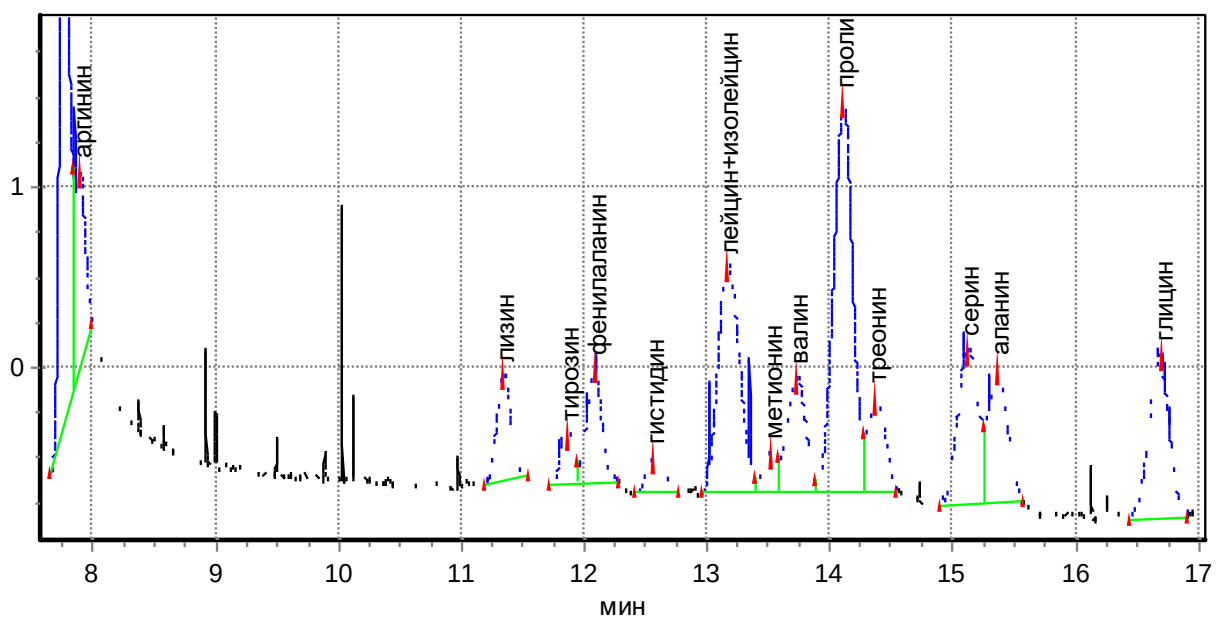
Электрофореграммы аминокислотного состава кисломолочных продуктов



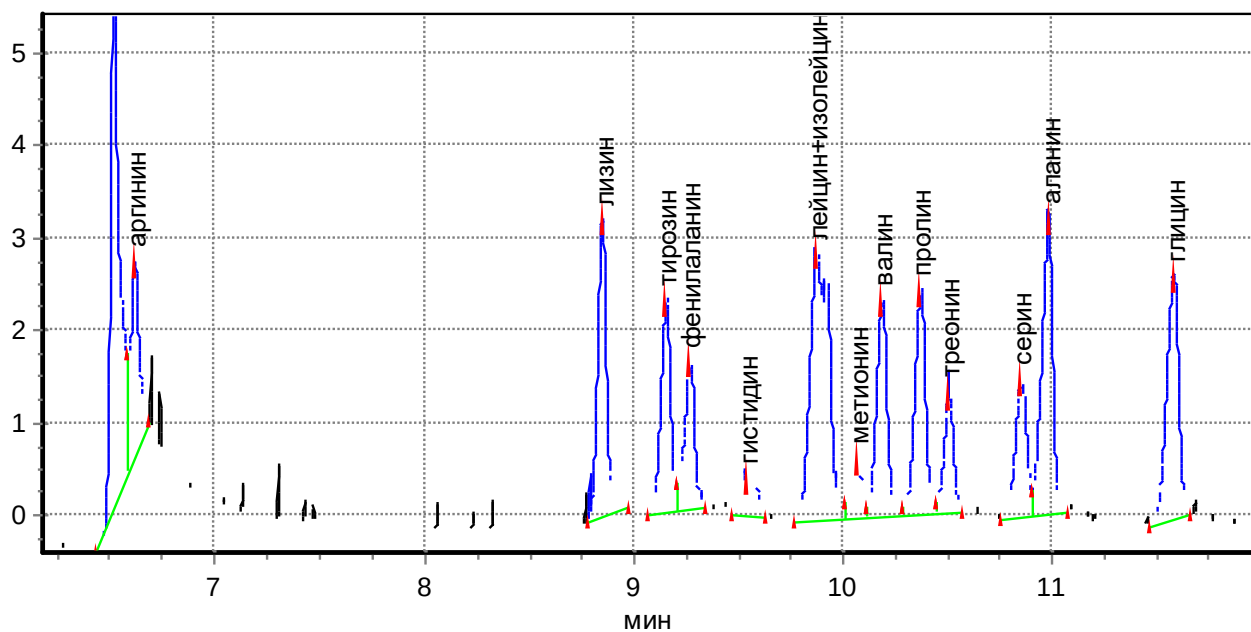
Рисунов Ж.1 – Электрофореграмма кисломолочного продукта с сиропом боярышника и ЭВК



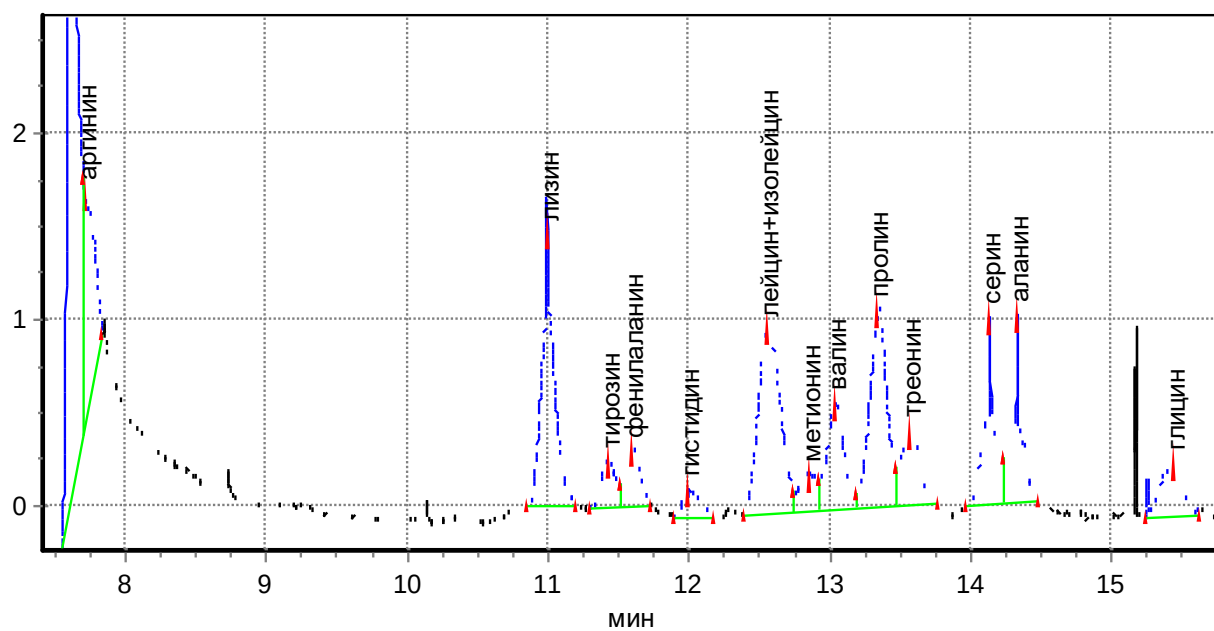
Рисунов Ж.2 – Электрофореграмма кисломолочного продукта с сиропом рябины и ЭВК



Рисунов Ж.3 – Электрофореграмма кисломолочного продукта с сиропом шиповника и ЭВК



Рисунов Ж.4 – Электрофореграмма кисломолочного продукта с ЭВК



Рисунов Ж.5 – Электрофореграмма КП на основе бактериальной композиции на 7-е сутки хранения