

УДК 663.8

Создание функциональных кисломолочных продуктов на основе новых штаммов молочнокислых бактерий с высокими органолептическими показателями

¹ Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ), г. Москва, Россия

² Общество с ограниченной ответственностью «Микробные нутриенты иммунокорректоры», г. Москва, Россия

³ ФИЦ питания и биотехнологии, г. Москва, Россия

КОРРЕСПОНДЕНЦИЯ:

Каночкина Мария Сергеевна
E-mail: kanoch@yandex.ru

ЗАЯВЛЕНИЕ О ДОСТУПНОСТИ ДАННЫХ:
данные текущего исследования доступны по запросу у корреспондирующего автора.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ:

Каночкина, М.С., Шипарева, М.Г., Билялова, А.С., & Смирнов, Н.Б. (2023). Создание функциональных кисломолочных продуктов на основе новых штаммов молочнокислых бактерий с высокими органолептическими показателями. *Хранение и переработка сельхозсырья*, (2), 176-186.
<https://doi.org/10.36107/spfp.2023.369>

ПОСТУПИЛА: 15.03.2023

ПРИНЯТА: 03.07.2023

ОПУБЛИКОВАНА: 30.07.2023

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ:

авторы сообщают об отсутствии конфликта интересов.



М. С. Каночкина^{1,2}, М. Г. Шипарева¹, А. С. Билялова³, Н. Б. Смирнов¹

АННОТАЦИЯ

Введение: В статье рассматриваются современные проблемы раздела функционального питания и продуктов, способствующих профилактике дисбиотических состояний организма. Актуальным направлением является расширение функциональных свойств кисломолочных продуктов за счет скрининга новых штаммов заквасочных культур, оптимизации технологических приемов, в том числе подбора эффективных матриц-носителей для пробиотических микроорганизмов, и сохранения их жизнеспособности. При этом необходимые для профилактического действия уровни колониеобразующих единиц молочнокислых бактерий встречаются достаточно редко в пищевых продуктах, представленных на российском рынке, также необходимо обратить внимание на органолептические характеристики вновь создаваемых продуктов в связи с высокими титрами микроорганизмов, образующих молочную кислоту и другие подкисляющие pH метаболиты.

Цель: Создать образцы биопродукта с функциональными свойствами на основе молочнокислых бактерий с высокими органолептическими характеристиками, соответствующими требованиями ТР ТС 033/2013, и уровнем жизнеспособных клеток микроорганизмов не менее 10^{11} КОЕ/см³.

Материалы и методы: Объектом исследования были вышеуказанные образцы кисломолочных продуктов. При этом в первую очередь был произведен скрининг пробиотических штаммов из коллекции ФГБОУ ВО «РОСБИОТЕХ», на основе отобранных штаммов изготовлены образцы кисломолочного пробиотического продукта по стандартной методике с использованием в качестве матрицы-носителя — молока пастеризованного, с массовой долей жира — 1,5 %, далее были оценены органолептические свойства полученных образцов и уровень жизнеспособности клеток пробиотических микроорганизмов.

Результаты: Количество колониеобразующих единиц пробиотических микроорганизмов в приготовленных напитках составило от $2,8 \times 10^{12}$ до $1,5 \times 10^{13}$ КОЕ/см³, что является высокими значениями и способствует увеличению профилактического воздействия на макроорганизм. Лучшими органолептическими показателями обладали образцы 2407 (6), 6769, 2523, то есть в 2-х вариантах из 3-х использован штамм вида *Lactococcus lactis*, при этом все образцы соответствовали требованиям ТР ТС 033/2013.

Выводы: Получены образцы функциональных пробиотических напитков на основе 5 штаммов молочнокислых бактерий, разрешенных и предлагаемых к использованию в пищевой промышленности согласно СанПиН 2.3.2.1078-01. «Гигиенические требования к безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов», с уровнем жизнеспособных клеток не ниже 10^{12} КОЕ/см³, что позволяет рассматривать образцы в качестве прототипов функциональных пищевых продуктов для применения в реальной практике.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА

микробиота кишечника, пробиотик, молочнокислые бактерии (МКБ), функциональный продукт, кисломолочный продукт, органолептические свойства, качество продукции, пищевая биотехнология

Creation of Functional Fermented Milk Products Based on New Strains of Lactic Acid Bacteria with High Organoleptic Characteristics

¹ Russian Biotechnological University (BIOTECH University), Moscow, Russia

² Limited liability company «Microbial nutrients immunocorrectors», Moscow, Russia

³ Federal State Budgetary Institution of Science «Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety», Moscow, Russia

CORRESPONDENCE:

Marya S. Kanochkina

E-mail: kanoch@yandex.ru

FOR CITATIONS:

Kanochkina, M.S., Shipareva, M.G., Bilyalova, A.S., & Smirnov, N.B. (2023). Creation of Functional Fermented Milk Products Based on New Strains of Lactic Acid Bacteria with High Organoleptic Characteristics. *Storage and Processing of Farm Products*, (2), 176-186. <https://doi.org/10.36107/spfp.2023.369>

RECEIVED: 15.03.2023

ACCEPTED: 03.07.2023

PUBLISHED: 30.07.2023

DECLARATION OF COMPETING

INTEREST: none declared.



Marya S. Kanochkina^{1,2}, Marya G. Shipareva¹, Anastasia S. Bilyalova³, Nikolay B. Smirnov¹

ABSTRACT

Background: The article deals with modern problems of functional nutrition and products that contribute to the prevention of dysbiotic conditions of the body. The current direction is to expand the functional properties of fermented milk products by screening new strains of starter cultures, optimizing technological techniques, including the selection of effective carrier matrices for probiotic microorganisms, and preserving their viability. At the same time, the levels of colony-forming units of lactic acid bacteria necessary for preventive action are quite rare in food products presented on the Russian market, it is also necessary to pay attention to the organoleptic characteristics of newly created products due to the high titers of microorganisms forming lactic acid and other pH-acidifying metabolites.

Purpose: The aim of the study is to create samples of a biological product with functional properties based on lactic acid bacteria with high organoleptic characteristics that meet the requirements of TR CU 033/2013, and the level of viable microbial cells of at least 10^{11} CFU/cm³.

Materials and Methods: The object of the study were the above samples of fermented milk products. At the same time, first of all, probiotic strains from the collection of ROSBIOTECH were screened, samples of fermented milk probiotic product were made on the basis of the selected strains according to the standard procedure using pasteurized milk with a mass fraction of fat – 1.5 % as a carrier matrix, then the organoleptic properties of the samples obtained and the level of cell viability were evaluated probiotic microorganisms.

Results: The number of colony-forming units of probiotic microorganisms in the prepared beverages ranged from 2.8×10^{12} to 1.5×10^{13} CFU/cm³, which is high values and contributes to an increase in the preventive effect on the macroorganism. Samples 2407 (b), 6769, 2523 had the best organoleptic characteristics, that is, in 2 variants out of 3, a strain of the species *Lactococcus lactis* was used, while all samples met the requirements of TR CU 033/2013.

Conclusion: Samples of functional probiotic drinks based on 5 strains of lactic acid bacteria, approved and offered for use in the food industry according to sanitary norms and rules 2.3.2.1078-01, were obtained. «Hygienic requirements for the safety and nutritional value of food products», with a level of viable cells not lower than 10^{12} CFU/cm³, which allows us to consider samples as prototypes of functional food products for use in real practice.

KEYWORDS

gut microbiota, probiotics, lactic acid bacteria, functional product, fermented milk product, organoleptic properties, product quality, food biotechnology

ВВЕДЕНИЕ

Современная наука о медицине и здоровьесбережении опирается на понятие оптимального питания, подразумевающее наличие в ежедневном рационе функциональных продуктов питания, способствующих профилактике заболеваний и улучшению самочувствия. Функциональные продукты создаются для восстановления микробиологического баланса человека, дисбиотических нарушений и повышения иммунитета. Наибольшей ценностью с точки зрения физиологии питания, обладают молочные продукты с функциональными свойствами (Trush et al., 2020; Zommiti et al., 2020). Увеличение функциональной составляющей этих продуктов из-за использования при производстве различных штаммов заквасочных и других микроорганизмов считается направлением, имеющим большие перспективы (Wang et al., 2021; Wang et al., 2012).

В этой связи пробиотические микроорганизмы все чаще включаются в пищевые продукты, чтобы обеспечить потребителю предполагаемую пользу для здоровья путем модулирования микробиома кишечника. Микробиота кишечника и/или взаимодействие между микробиотой и иммунной системой хозяина участвуют в патогенезе воспалительного заболевания кишечника (Abraham & Quigley, 2017). В США проведены исследования роли кишечной микробиоты в патогенезе функциональных расстройств кишечника при инфекционных заболеваниях и изучена клиническая эффективность бактерий рода *Lactobacillus*, *Lactococcus* и *Bifidobacterium* (Ringel-Kulka et al., 2011). По полученным данным в ходе двойного слепого плацебо-контролируемого клинического исследования пробиотических бактерий, при применении вышеуказанных бактериальных культур в течение 8-ми недель два раза в день в общей дозе не менее 2×10^{11} КОЕ/день достигается улучшение симптомов вздутия живота у пациентов, облегчение желудочно-кишечных симптомов и удовлетворенность лечением. Необходимо отметить, что такие значения содержания жизнеспособных МКБ встречаются достаточно редко в пищевых продуктах, представленных на российском рынке.

Технико-функциональные ограничения, такие как контроль жизнеспособности, препятствуют полному потенциальному применению пробиотических микроорганизмов в пищевой отрасли. В этом

контексте одной из основных проблем является обеспечение выживания пробиотических клеток при физических и химических воздействиях во время их приема и последующего прохождения через желудочно-кишечный тракт в кишечник или соответствующее увеличение дозы пробиотика. При этом, применяемые в фармацевтической отрасли технологии инкапсулирования (Centurion et al., 2021, Gao et al., 2021), «капсула в капсуле» (Venema et al., 2020), «рН чувствительных таблеток» (Jiang et al., 2017; Jalc et al., 2015), не могут использоваться при производстве продуктов питания.

В этой области исследования сосредоточены на улучшении традиционных методов культивирования и технологии получения пищевых пробиотических продуктов для достижения высокой жизнеспособности клеток, а также более длительного срока хранения. Основными направлениями могут быть использование высокопродуктивных штаммов МКБ и соответствующих матриц-носителей, оказывающих значительное влияние на качество пробиотических продуктов. Показано (Flach et al., 2018; Mozaffarian, 2019), что компоненты матрицы пищевого продукта, такие как белки, углеводы, изменяют эффективность и жизнеспособность пробиотиков. Кроме того, исследования *in vivo* выявили зависимость выживаемости пробиотических бактерий в желудочно-кишечном тракте от основного компонента продукта.

Одним из главных пунктов при создании биопрепаратов с функциональными свойствами остается подбор правильных штаммов МКБ и их последующая непрерывная селекция для максимально эффективного сквашивания молока. Представители индигенной микрофлоры, полученные из естественных источников, прошедшие стабилизирующий отбор, являются самыми подходящими для этих целей (Квасников & Нестеренко, 1975; Квасников & Нестеренко, 1966). Именно по этой причине нами были отобраны 5 штаммов из коллекции Российского биотехнологического университета (РОСБИОТЕХ), выделенные из коровьего молока. К современным технологиям, обеспечивающим видовую идентификацию, относят протеомный анализ, включающий в себя матрично-активированную лазерную десорбционную/ионизационную время пролетную масс-спектрометрию — MALDI-TOF MS (Duskova et al., 2012). На данный момент существуют технологии выделения бел-

ковых масс-спектров на уровне видов и подвидов микроорганизмов, это позволяет создать базис для применения масс-спектрометрии как метода идентификации и типирования микроорганизмов по белковому рибосомальному профилю (Jones et al., 2003; Ильина, 2009).

Цель данного исследования — создать образцы биопродукта с функциональными свойствами на основе МКБ с высокими органолептическими характеристиками, соответствующими требованиями ТР ТС 033/2013, и уровнем жизнеспособных клеток микроорганизмов не менее 10^{11} КОЕ/см³. Исследовательские задачи:

- (1) Провести скрининг штаммов МКБ из коллекции ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)», подходящих для получения пробиотического продукта;
- (2) Изготовить образцы кисломолочного пробиотического продукта функционального назначения с использованием отобранных микроорганизмов.
- (3) Оценить уровень жизнеспособных клеток пробиотических микроорганизмов и органолептические показатели полученного продукта.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Научно-исследовательская работа проводилась на базе кафедры «Биотехнология и технология продуктов биоорганического синтеза» ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)» и научно-исследовательской организации ООО «Микробные нутриенты иммунокорректоры».

Материалы

Субстраты, среды

В качестве жидкой среды для накопления микроорганизмов было использовано молоко пастеризованное, с массовой долей жира — 1,5%. В качестве плотной питательной среды для разделения отдельных колоний был использован MRS-агар для лактобактерий.

Штаммы

В качестве продуцентов пробиотических микроорганизмов использовались штаммы родов *Enterococcus*, *Lactococcus*, *Lactobacillus* из коллекции ФГБОУ ВО РОСБИОТЕХ.

Методы и процедура исследования

Приготовление пищевого продукта (напитка)

В колбы объемом 500 см³ было добавлено 50 см³ молока коровьего, стерилизация осуществлялась в паровом автоклаве при 1,0 атм в течение 15 мин. Затем в колбу вносили 5 см³ суспензии суточных пробиотических микроорганизмов в стерильном молоке. Посевная доза микроорганизмов составила не менее 1×10^6 КОЕ/см³. Затем полученный напиток помещали в термостат для культивирования на 72 ч при температуре 30 ± 2 °C или 37 ± 2 °C в зависимости от используемого штамма микроорганизма и условий его оптимального роста.

Исследование органолептических показателей готового продукта

Для оценки качества и органолептических показателей была проведена оценка профильным методом с привлечением экспертов на кафедре «Биотехнология и технология продуктов биоорганического синтеза» ФГБОУ ВО РОСБИОТЕХ, а также методом потребительской оценки.

Исследование свойств готового продукта

рН продукта определяли по стандартной методике на рН-метре HANNA pH 211. Титруемую кислотность определяли по стандартной методике, согласно ГОСТ 3624–92. путем титрования пробы продукта 0,1 Н раствором едкого натра в присутствии фенолфталеина в качестве индикатора¹.

Анализ данных

Количественный подсчет МКБ осуществляли методом предельных разведений по стандартной методике, разведения повторяли до 10^{11} раз, из 3 последних проводили пересев на агаризован-

¹ ГОСТ 3624–92. (1992). *Молоко и молочные продукты: Титриметрические методы определения кислотности*. М.: Госстандарт.

ную среду MRS и культивировали при температуре $30 \pm 2^\circ\text{C}$ или $37 \pm 2^\circ\text{C}$ в зависимости от используемого штамма микроорганизма и условий его оптимального роста. Для количественного определения молочнокислых микроорганизмов в единице продукта, среднее значения числа выросших колоний умножали на степень разведения².

Эксперимент проводился в 3-х повторностях. Статистическую обработку результатов исследований проводили с применением методов математического анализа и определения среднего значения искомой величины из 3-х повторностей, среднеквадратичного отклонения и доверительного интервала. Использовали программный пакет Microsoft Excel.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для достижения поставленной в исследовании цели — создать образцы биопродукта с функциональными свойствами на основе МКБ с высокими органолептическими характеристиками, соответствующими требованиями ТР ТС 033/2013³, и уровнем жизнеспособных клеток микроорганизмов не менее 10^{11} КОЕ/см³ — необходимо провести скрининг коллекционных штаммов, способных к активному росту на молочных средах и относящихся к разным видам МКБ. В этой связи данная секция разбита на следующие тематические блоки: скрининг коллекционных штаммов, показатели КОЕ пробиотического биопродукта, органолептическая и потребительская оценка биопродукта.

Скрининг коллекционных штаммов

Было отобрано 5 штаммов микроорганизмов, относящихся к разным видам МКБ, соответствующих цели исследования и идентифицированных методом MALDI-TOF MS. Все отобранные штаммы являются облигатными представителями микрофлоры животных — выделены из коровьего молока. Наименование используемых штаммов представлены в Таблице 1.

Таблица 1

Видовая идентификация отобранных микроорганизмов

№ штамма	Видовая принадлежность
6769	<i>Enterococcus faecium</i>
2407	<i>Lactococcus lactis</i>
2407 (6)	<i>Lactobacillus plantarum</i>
65062	<i>Lactococcus lactis</i>
2523	<i>Lactococcus lactis</i>

Многочисленные исследования (Battistini et al., 2018; Ouzari et al., 2002, Gaudu et al., 2019; Haghshenas et al., 2015; Nagaoka, 2019) показывают, что данные виды пробиотических микроорганизмов применяются для разработки инновационных синбиотических и пробиотических продуктов, при этом зафиксированы специфический вкус, текстура получаемого продукта и высокая пищевая ценность. Кроме того, вид *Lactococcus lactis* применяется для создания новейших медицинских и профилактических биопрепаратов с использованием цельных клеток микроорганизмов в качестве вектора доставки в реальном времени для введения терапевтических средств как против инфекционных, так и неинфекционных заболеваний (Song et al., 2017), что также обосновывает перспективность нашего выбора.

Необходимо отметить, что различные штаммы всех видов идентифицированных микроорганизмов используются в качестве пробиотических культур в пищевой промышленности, в том числе в виде комплексных заквасочных культур, и входят в перечень микроорганизмов, разрешенных и предлагаемых к использованию в пищевой промышленности согласно СанПиН 2.3.2.1078–01. «Гигиенические требования к безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов», что подтверждает возможность их использования для изготовления функционального продукта.

² ГОСТ 33951–2016. (2016). *Продукты пищевые. Методы определения молочнокислых микроорганизмов*. М.: Стандартинформ.

³ ТР ТС 033/2013. (2013). *Технический регламент Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции»*. <https://docs.cntd.ru/document/499050562>

Показатели КОЕ пробиотического биопродукта

Пробиотические продукты были изготовлены стандартным методом сквашивания МКБ стерильного молока. При этом количество колониеобразующих единиц (далее — КОЕ) в готовом продукте имеет важное значение, поскольку определяет больший процент возможности пролиферации жизнеспособных клеток пробиотического микроорганизма в кишечнике после экстремальных условий желудка. Соответственно, при попадании МКБ в кишечник в жизнеспособном состоянии и достаточном количестве для пролиферации, они способны восстанавливать микрофлору макроорганизма.

Подсчет количества живых бактериальных клеток осуществлялся методом предельных разведений, данные по концентрации КОЕ/см³ в каждом из образцов напитка представлены в Таблице 2.

Таблица 2

Количество колониеобразующих единиц пробиотического микроорганизма в приготовленных напитках

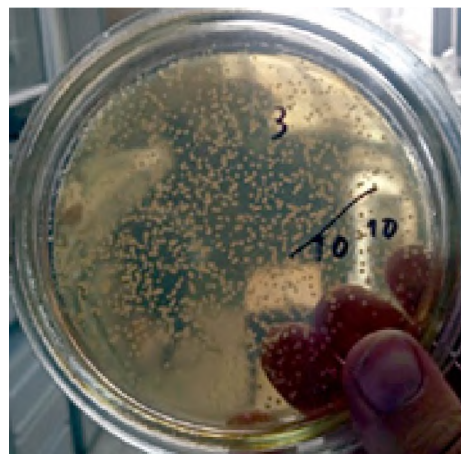
№ образца	Количество клеток, КОЕ/см ³
6769	$1,5 \times 10^{13}$
2407 (6)	$2,8 \times 10^{12}$
2407	$5,2 \times 10^{12}$
65062	$2,9 \times 10^{12}$
2523	$4,5 \times 10^{12}$

На Рисунке 1 представлен рост колоний на MRS-среде, высеванный с образца 2407 с разведения 10^{10} .

Данные показатели свидетельствуют об активном росте отобранных штаммов в молоке, наиболее высокие значения достигнуты при использовании образцов 2407, 2436 и 2523. Полученные результаты коррелируют с данными исследований (Sanders & Marco, 2012), в которых показано, что компоненты молока или полностью молочная основа, могут улучшить выживаемость пробиотиков в течение срока годности пищевых продуктов и повысить эффективность пробиотиков за счет увеличения их дозы. Необходимо отме-

Рисунок 1

Рост колоний штамма МКБ № 2407, разведение 10^{10}



тить, что на российском рынке пробиотических продуктов в основном представлены промышленными образцы с содержанием лакто и бифидобактерий — не более 10^9 КОЕ/см³. Всё это позволяет рассматривать отобранные новые штаммы микроорганизмов как пробиотики, потенциально пригодные для использования в пищевой промышленности.

Органолептическая и потребительская оценка биопродукта

Создание напитков с пробиотическими свойствами на основе отобранных МКБ требует соблюдения соответствия органолептических показателей идентификации продуктов переработки молока в соответствии с требованиями ТР ТС 033/2013⁴. Исследователи (Гусева и соавт., 2021; Яннаева & Солдатов, 2015) отмечают особенности органолептической оценки кисломолочной продукции и необходимость разработки специальных критериев. Все 5 вариантов напитков, с использованием различных отобранных культур микроорганизмов, использовали для проведения органолептической оценки по 5-балльной шкале с применением различных дескрипторов, разработанных на кафедре «Биотехнология и технология продуктов биотехнологического синтеза» РОСБИОТЕХ для оценки функциональных кисломолочных напитков.

⁴ ТР ТС 033/2013. (2013). *Технический регламент Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции»*. <https://docs.cntd.ru/document/499050562>

Таблица 3

Шкала оценки качества

Дескриптор	Не воспринимается	Слабо	Довольно слабо	Средне	Довольно сильно	Сильно
	0	1	2	3	4	5

Положительные дескрипторы: молочный вкус, цвет, однородность.

Нейтральные дескрипторы: вязкость.

Отрицательные дескрипторы: пузырьки газа, комочки, разделение фаз.

Значения дескрипторов для оценки качества пробиотического продукта представлены в Таблице 3.

С целью установления характеристик изготовленных напитков была проведена органолептическая оценка указанных напитков методом открытой дегустации. Результаты оценки специфических характеристик изготовленных пробиотических напитков представлена в Таблице 4.

Экспертами было отмечено что образцы №2407 (б) и №2523 по своим свойствам наиболее соответствуют густому кефиру, и обладают удовлетворительными органолептическим показателям. Образец №6769 обладает наиболее приятными органолептическим показателями за исключением однородности.

Помимо экспертной дегустации проводилась также и потребительская оценка. На основании полученных данных по каждому образцу рассчитывалась средние значения желательности показателей:

цвет, вкус, запах, текстура, внешний вид. Оценка проводилась по 5-ти бальной шкале. В результате была составлена профильная диаграмма для образцов функционального напитка представленная на Рисунке 2.

Исходя из имеющихся данных лучшими органолептическими показателями обладали образцы 2407 (б), 6769, 2523, то есть в 2-х вариантах из 3-х использован штамм вида *Lactococcus lactis*. Проведенные в США исследования (Kleerebezem et al., 2020; Cavanagh et al., 2015; Cesselin et al., 2018) показывают, что этот вид пробиотического микроорганизма преимущественно используется в пищевой

Рисунок 2

Профильная диаграмма органолептических показателей полученных функциональных напитков

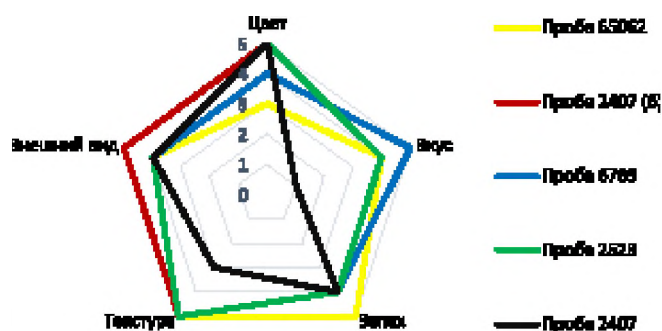


Таблица 4

Оценка специфических характеристик проб напитков

Характеристики	№ 65062	№ 2407 (б)	№ 6769	№ 2523	№ 2407
Молочный вкус	3	3	5	3	0
Цвет	4	5	3	3	2
Комочки	0	0	3	1	1
Вязкость	0	4	2	4	0
Разделение фаз	0	1	2	1	0
Однородность	5	5	2	4	3

Рисунок 3

Зависимость pH напитков от времени сквашивания

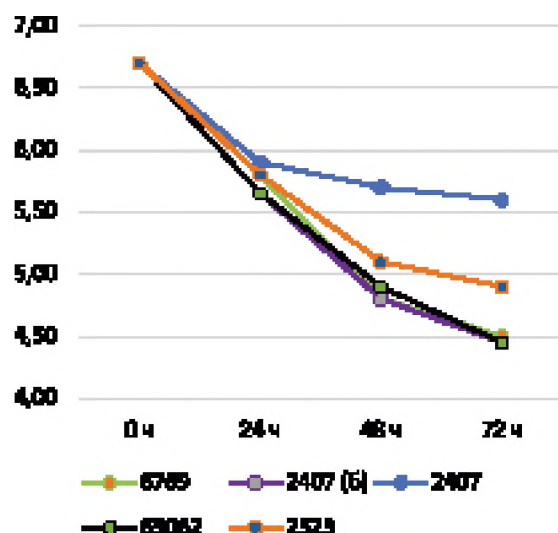
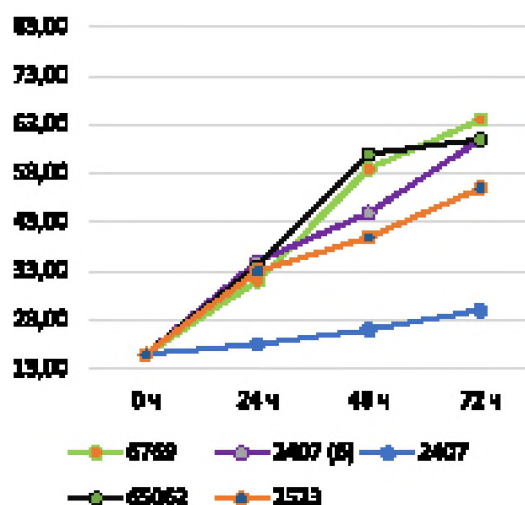


Рисунок 4

Зависимость активной кислотности (в градусах Тернера) от времени сквашивания



и биотехнологической промышленности из-за его способности в процессе ферментации производить молочную кислоту и соответствующий аромат в получаемых продуктах. Вышеуказанные данные подтверждают полученные нами результаты органолептической оценки напитков.

В готовых напитках измеряли также pH и титруемую кислотность, графики динамического изменения значений представлены на Рисунках 3 и 4.

Полученные данные свидетельствуют, что уже через 24 часа начинается падение pH, что соответствует закислению среды в процессе развития культур МКБ, и росту активной кислотности. При этом конечные значения для всех образцов отвечают требованиям ТР ТС 033/2013⁵.

ВЫВОДЫ

В результате проведенных исследований выявлены высокопродуктивные МКБ, способные активно расти на молочной среде и достигать уровня жизнеспособных клеток пробиотического микроорганизма не ниже 10^{12} КОЕ/см³. Получены образцы функци-

ональных пробиотических напитков на основе 5 штаммов молочнокислых бактерий. Произведена оценка физико-химических и органолептических свойств напитков, все образцы отвечают требованиям ТР ТС 033/2013⁶, однако наиболее приятными для потребителя органолептическими показателями обладают образцы 2407 (б), 6769, 2523.

Необходимо отметить ограничения исследования, которые могут влиять на выбор дальнейших шагов по коммерциализации полученных результатов: использование в скрининге только определенных оптимальных видов МКБ, молочная субстратная матрица без добавок и стандартные условия культивирования. Учитывая вышеуказанные параметры дальнейшие исследования могут быть направлены на подбор оптимальных условий культивирования и функциональную модификацию субстратной матрицы, а также изучение выживаемости отобранных штаммов микроорганизмов, показавших наилучшие результаты, в условиях, моделирующих все отделы желудочно-кишечного тракта: кислая среда в течение первых 4-х часов и щелочная далее, наличие соответствующих концентраций солей, желчных кислот, ферментов.

⁵ ТР ТС 033/2013. (2013). Технический регламент Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции». <https://docs.cntd.ru/document/499050562>

⁶ Там же.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают подлинную благодарность за помощь в проведении исследований, организационную и методическую поддержку кафедре «Биотехнология и технология продуктов биорганического синтеза» РОСБИОТЕХ и научно-исследовательской организации Обществу с ограниченной ответственностью «Микробные нутриенты иммунокорректоры».

АВТОРСКИЙ ВКЛАД

Каночкина Мария Сергеевна: концептуализация, разработка методологии исследования, научное

руководство исследованием, проведение исследования, создание рукописи и её редактирование

Шипарева Марья Герасимовна: валидация данных, создание черновика рукописи, курирование данных, работа с программным обеспечением, визуализация

Билялова Анастасия Сергеевна: проведение исследования, валидация данных, редактирование рукописи, создание черновика рукописи

Смирнов Николай Борисович: проведение исследования, создание черновика рукописи

ЛИТЕРАТУРА

- Гусева, Т. Б., Солдатова, С. Ю., & Караньян, О. М. (2021). Органолептическая оценка молочных консервов: Особенности проведения и интерпретации результатов. *Товаровед продовольственных товаров*, (10), 726–729. <https://doi.org/10.33920/igt-01-2110-01>
- Ильина, Е. Н. (2009). Прямое МАЛДИ масс-спектрометрическое профилирование бактериальных белков для индикации и характеристики патогенов. *Acta naturae*, (1), 115–121.
- Квасников, Е. И., & Нестеренко, О. А. (1966). *Некоторые вопросы систематики молочнокислых бактерий. Успехи микробиологии*. М.: Наука.
- Квасников, Е. И., & Нестеренко, О. А. (1975). *Молочнокислые бактерии и пути их использования*. М.: Наука.
- Яннаева, О. С., & Солдатова, С. Ю. (2015). Система оценки качества кисломолочной продукции на примере йогурта натурального. В *День науки: Общеуниверситетская научная конференция молодых учёных и специалистов, сборник материалов* (с. 298–301). Орехово-Зуево: Государственный гуманитарно-технологический университет.
- Abraham, B. P., & Quigley, E. M. (2017). Probiotics in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology Clinics of North America*, 46(4), 769–782. <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2017.08.003>
- Battistini, C., Gullón, B., Ichimura, E. S., Gomes, A. M. P., Ribeiro, E. P., Kunigk, L., Moreira, J. U. V., & Jurkiewicz, C. (2018). Development and characterization of an innovative symbiotic fermented beverage based on vegetable soybean. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49(2), 303–309. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.08.006>
- Cavanagh, D., Fitzgerald, G. F., & McAuliffe, O. (2015). From field to fermentation: the origins of *Lactococcus lactis* and its domestication to the dairy environment. *Food Microbiology*, 47, 45–61. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.11.001>
- Centurion, F., Basit, A. W., Liu, J., Gaisford, S., Rahim, M. A., & Kalantar-Zadeh, K. (2021). Nanoencapsulation for probiotic delivery. *ACS Nano*, 15(12), 18653–18660. <https://doi.org/10.1021/acsnano.1c09951>
- Cesselin, B., Garrigues, C., Pedersen, M. B., Roussel, C., Gruss, A., & Gaudu, P. (2018). Task distribution between acetate and acetoin pathways to prolong growth in *Lactococcus lactis* under respiration conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(18), Article e01005–18. <https://doi.org/10.1128/AEM.01005-18>
- Duskova, M., Sedo, O., Ksicova, K., Zdrahal, Zb., & Karpiskova, R. (2012). Identification of lactobacilli isolated from food by genotypic methods and MALDI-TOF MS. *International Journal of Food Microbiology*, 159, 107–114. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.07.029>
- Flach, J., van der Waal, M. B., van den Nieuwboer, M., Claassen, E., & Larsen, O. A. (2018). The underexposed role of food matrices in probiotic products: Reviewing the relationship between carrier matrices and product parameters. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(15), 2570–2584. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1334624>
- Gao, Y., Wang, X., Xue, C., & Wei, Z. (2021). Latest developments in food-grade delivery systems for probiotics: A systematic review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 8, Article 1640. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.2001640>
- Gaudu, P., Yamamoto, Y., Jensen, P. R., Hammer, K., Lechardeur, D., & Gruss, A. (2019). Genetics of lactococci. *Microbiology Spectrum*, 7(4), Article 035. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0035-2018>
- Haghshenas B., Nami Y., Haghshenas M., Abdullah N., Rosli R., Radiah D., & Khosroushahi, A. Y. (2015). Bioactivity characterization of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products. *Microbiology Open*, 4(5), 803–813. <https://doi.org/10.1002/mbo3.280>

- Jalc, D., Varadyova, Z., Mihalikova, K., & Laukova, A. (2015). Nutritional status of corn silage after probiotic conservation. *Journal of Applied Animal Research*, 43(2), 141–146. <https://doi.org/10.1080/09712119.2014.928629>
- Jiang, T., Li, H., Han, G. G., Singh, B., Kang, S., Bok, J., Kim, D., Hong, Z., Choi, Y., & Cho, C. (2017). Oral delivery of probiotics in poultry using PH-sensitive tablets. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(4), 739–746. <https://doi.org/10.4014/jmb.1606.06071>
- Jones, J. J., Stump, M. J., Fleming, R. C., Lay, J. O., & Wilkins, C. L. (2003). Investigation of MALDI-TOF and FT-MS techniques for analysis of *Escherichia coli* whole cells. *Science Journal of Analytical Chemistry*, 75(6), 1340–1347. <https://doi.org/10.1021/ac026213j>
- Kleerebezem, M., Bachmann, H., van Pelt-Kleinjan, E., Douwenga, S., Smid, E. J., Teusink, B., & van Mastrigt, O. (2020). Lifestyle, metabolism and environmental adaptation in *Lactococcus lactis*. *FEMS Microbiology Reviews*, 44(6), 804–820. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuaa033>
- Mozaffarian, D. (2019). Dairy foods, obesity, and metabolic health: The role of the food matrix compared with single nutrients. *Advances in Nutrition*, 10(5), 917S–923S. <https://doi.org/10.1093/advances/nmz053>
- Nagaoka, S. (2019). Yogurt production. *Methods in Molecular Biology*, 1887, 45–54. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8907-2_5
- Ouzari, H., Cherif, A., & Mora, D. J. (2002). Autolytic phenotype of *Lactococcus lactis* strains isolated from traditional Tunisian dairy products. *Journal of Applied Microbiology*, 92(5), 812–820. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2002.01585.x>
- Ringel-Kulka, T., Palsson, O. S., Maier, D., Carroll, I., Galanko, J. A., Leyer, G., & Ringel, Y. (2011). Probiotic bacteria *Lactobacillus acidophilus* NCFM and *Bifidobacterium lactis* Bi-07 versus placebo for the symptoms of bloating in patients with functional bowel disorders: A double-blind study. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 45(6), 518–525. <https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e31820ca4d6>
- Sanders, M. E., & Marco, M. L. (2010). Food formats for effective delivery of probiotics. *Annual Review of Food Science and Technology*, 1, 65–85. <https://doi.org/10.1146/annurev.food.080708.100743>
- Song, A. A., In, L. L. A., Lim, S. H. E., & Rahim, R. A. (2017). A review on *Lactococcus lactis*: From food to factory. *Microbial Cell Factories*, 16(1), Article 55. <https://doi.org/10.1186/s12934-017-0669-x>
- Trush, E. A., Poluektova, E. A., Beniashvili, A. G., Shifrin, O. S., Poluektov, Y., & Ivashkin, V. T. (2020). The evolution of human probiotics: Challenges and prospects. *Probiotics Antimicrobial Proteins*, 12(4), 1291–1299. <https://doi.org/10.1007/s12602-019-09628-4>
- Venema, K., Verhoeven, J., Beckman, C., & Keller, D. (2020). Survival of a probiotic-containing product using capsule-within-capsule technology in an in vitro model of the stomach and small intestine (TIM-1). *Beneficial Microbes*, 11(4), 403–409. <https://doi.org/10.3920/BM2019.0209>
- Wang, J., Zhong, Z., Zhang, W., Bao, Q., Wei, A., Meng, H., & Zhang, H. (2012). Comparative analysis of the gene expression profile of probiotic *Lactobacillus casei* Zhang with and without fermented milk as a vehicle during transit in a simulated gastrointestinal tract. *Research in Microbiology*, 163(5), 357–365. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2012.04.002>
- Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., Bai, X., Xie, J., Wang, Y., & Geng, W. (2021). Metabolism characteristics of lactic acid bacteria and the expanding applications in food industry. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 12(9), Article 612285. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.612285>
- Zommiti, M., Chikindas, M. L., & Ferchichi, M. (2020). Probiotics-live biotherapeutics: A story of success, limitations, and future prospects-not only for humans. *Probiotics Antimicrobial Proteins*, 12(3), 1266–1289. <https://doi.org/10.1007/s12602-019-09570-5>

REFERENCES

- Guseva, T. B., Soldatova, S. Yu., & Karan'yan, O. M. (2021). Organolepticheskaya otsenka molochnykh konservov: osobennosti provedeniya i interpretatsii rezul'tatov [Organoleptic evaluation of canned milk: Features of conducting and interpreting the results]. *Tovaroved prodovol'stvennykh tovarov [Commodity Specialist of Food Products]*, (10), 726–729. <https://doi.org/10.33920/igt-01-2110-01>
- Il'ina, E. N. (2009). Pryamoe MALDI mass-spektrometricheskoe profilirovaniye bakterial'nykh belkov dlya indikatsii i kharakteristiki patogenov [Direct MALDI mass spectrometric profiling of bacterial proteins for indication and characterization of pathogens]. *Acta naturae [Journal Nature]*, (1), 115–121.
- Kvasnikov, E. I., & Nesterenko, O. A. (1966). *Nekotorye voprosy sistematiki molochnokislykh bakterii. Uspekhi mikrobiologii [Some questions of the systematics of lactic acid bacteria. Advances in microbiology]*. Moscow: Nauka.
- Kvasnikov, E. I., & Nesterenko, O. A. (1975). *Molochnokislye bakterii i puti ikh ispol'zovaniya [Lactic acid bacteria and ways of their use]*. Moscow: Nauka.
- Yannaeva, O. S., & Soldatova, S. Yu. (2015). Sistema otsenki kachestva kislomolochnoi produktsii na primere iogurta natural'nogo [A system for assessing the quality of fermented milk products on the example of natural yogurt]. In *Den' nauki: Obshcheuniversitetskaya nauchnaya konferentsiya molodykh uchenykh i spetsialistov, sbornik materialov [The day of science: University-wide scientific conference of young scientists and specialists, collection of materials]* (pp. 298–301). Orehovo-Zuevo: Gosudarstvennyi gumanitarno-tehnologicheskii universitet.
- Abraham, B. P., & Quigley, E. M. (2017). Probiotics in inflammatory bowel disease. *Gastroenterology Clinics of North America*, 46(4), 769–782. <https://doi.org/10.1016/j.gtc.2017.08.003>

- Battistini, C., Gullón, B., Ichimura, E. S., Gomes, A. M. P., Ribeiro, E. P., Kunigk, L., Moreira, J. U. V., & Jurkiewicz, C. (2018). Development and characterization of an innovative symbiotic fermented beverage based on vegetable soybean. *Brazilian Journal of Microbiology*, 49(2), 303–309. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2017.08.006>
- Cavanagh, D., Fitzgerald, G. F., & McAuliffe, O. (2015). From field to fermentation: the origins of *Lactococcus lactis* and its domestication to the dairy environment. *Food Microbiology*, 47, 45–61. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2014.11.001>
- Centurion, F., Basit, A. W., Liu, J., Gaisford, S., Rahim, M. A., & Kalantar-Zadeh, K. (2021). Nanoencapsulation for probiotic delivery. *ACS Nano*, 15(12), 18653–18660. <https://doi.org/10.1021/acsnano.1c09951>
- Cesselin, B., Garrigues, C., Pedersen, M. B., Roussel, C., Gruss, A., & Gaudu, P. (2018). Task distribution between acetate and acetoin pathways to prolong growth in *Lactococcus lactis* under respiration conditions. *Applied and Environmental Microbiology*, 84(18), Article e01005–18. <https://doi.org/10.1128/AEM.01005-18>
- Duskova, M., Sedo, O., Ksicova, K., Zdrahal, Zb., & Karpiskova, R. (2012). Identification of lactobacilli isolated from food by genotypic methods and MALDI-TOF MS. *International Journal of Food Microbiology*, 159, 107–114. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2012.07.029>
- Flach, J., van der Waal, M. B., van den Nieuwboer, M., Claassen, E., & Larsen, O. A. (2018). The underexposed role of food matrices in probiotic products: Reviewing the relationship between carrier matrices and product parameters. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(15), 2570–2584. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1334624>
- Gao, Y., Wang, X., Xue, C., & Wei, Z. (2021). Latest developments in food-grade delivery systems for probiotics: A systematic review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 8, Article 1640. <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.2001640>
- Gaudu, P., Yamamoto, Y., Jensen, P. R., Hammer, K., Lechardeur, D., & Gruss, A. (2019). Genetics of lactococci. *Microbiology Spectrum*, 7(4), Article 035. <https://doi.org/10.1128/microbiolspec.GPP3-0035-2018>
- Haghshenas B., Nami Y., Haghshenas M., Abdullah N., Rosli R., Radiah D., & Khosroushahi, A. Y. (2015). Bioactivity characterization of *Lactobacillus* strains isolated from dairy products. *Microbiology Open*, 4(5), 803–813. <https://doi.org/10.1002/mbo3.280>
- Jalc, D., Varadyova, Z., Mihalikova, K., & Laukova, A. (2015). Nutritional status of corn silage after probiotic conservation. *Journal of Applied Animal Research*, 43(2), 141–146. <https://doi.org/10.1080/09712119.2014.928629>
- Jiang, T., Li, H., Han, G. G., Singh, B., Kang, S., Bok, J., Kim, D., Hong, Z., Choi, Y., & Cho, C. (2017). Oral delivery of probiotics in poultry using PH-sensitive tablets. *Journal of Microbiology and Biotechnology*, 27(4), 739–746. <https://doi.org/10.4014/jmb.1606.06071>
- Jones, J. J., Stump, M. J., Fleming, R. C., Lay, J. O., & Wilkins, C. L. (2003). Investigation of MALDI-TOF and FT-MS techniques for analysis of *Escherichia coli* whole cells. *Science Journal of Analytical Chemistry*, 75(6), 1340–1347. <https://doi.org/10.1021/ac026213j>
- Kleerebezem, M., Bachmann, H., van Pelt-Kleinjan, E., Douwenga, S., Smid, E. J., Teusink, B., & van Mastriigt, O. (2020). Lifestyle, metabolism and environmental adaptation in *Lactococcus lactis*. *FEMS Microbiology Reviews*, 44(6), 804–820. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuaa033>
- Mozaffarian, D. (2019). Dairy foods, obesity, and metabolic health: The role of the food matrix compared with single nutrients. *Advances in Nutrition*, 10(5), 917S–923S. <https://doi.org/10.1093/advances/nmz053>
- Nagaoka, S. (2019). Yogurt production. *Methods in Molecular Biology*, 1887, 45–54. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8907-2_5
- Ouzari, H., Cherif, A., & Mora, D. J. (2002). Autolytic phenotype of *Lactococcus lactis* strains isolated from traditional Tunisian dairy products. *Journal of Applied Microbiology*, 92(5), 812–820. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2002.01585.x>
- Ringel-Kulka, T., Palsson, O. S., Maier, D., Carroll, I., Galanko, J. A., Leyer, G., & Ringel, Y. (2011). Probiotic bacteria *Lactobacillus acidophilus* NCFM and *Bifidobacterium lactis* Bi-07 versus placebo for the symptoms of bloating in patients with functional bowel disorders: A double-blind study. *Journal of Clinical Gastroenterology*, 45(6), 518–525. <https://doi.org/10.1097/MCG.0b013e31820ca4d6>
- Sanders, M. E., & Marco, M. L. (2010). Food formats for effective delivery of probiotics. *Annual Review of Food Science and Technology*, 1, 65–85. <https://doi.org/10.1146/annurev.food.080708.100743>
- Song, A. A., In, L. L. A., Lim, S. H. E., & Rahim, R. A. (2017). A review on *Lactococcus lactis*: From food to factory. *Microbial Cell Factories*, 16(1), Article 55. <https://doi.org/10.1186/s12934-017-0669-x>
- Trush, E. A., Poluektova, E. A., Beniashvilli, A. G., Shifrin, O. S., Poluektov, Y., & Ivashkin, V. T. (2020). The evolution of human probiotics: Challenges and prospects. *Probiotics Antimicrobial Proteins*, 12(4), 1291–1299. <https://doi.org/10.1007/s12602-019-09628-4>
- Venema, K., Verhoeven, J., Beckman, C., & Keller, D. (2020). Survival of a probiotic-containing product using capsule-within-capsule technology in an in vitro model of the stomach and small intestine (TIM-1). *Beneficial Microbes*, 11(4), 403–409. <https://doi.org/10.3920/BM2019.0209>
- Wang, J., Zhong, Z., Zhang, W., Bao, Q., Wei, A., Meng, H., & Zhang, H. (2012). Comparative analysis of the gene expression profile of probiotic *Lactobacillus casei* Zhang with and without fermented milk as a vehicle during transit in a simulated gastrointestinal tract. *Research in Microbiology*, 163(5), 357–365. <https://doi.org/10.1016/j.resmic.2012.04.002>
- Wang, Y., Wu, J., Lv, M., Shao, Z., Hungwe, M., Wang, J., Bai, X., Xie, J., Wang, Y., & Geng, W. (2021). Metabolism characteristics of lactic acid bacteria and the expanding applications in food industry. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 12(9), Article 612285. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.612285>
- Zommiti, M., Chikindas, M. L., & Ferchichi, M. (2020). Probiotics-live biotherapeutics: A story of success, limitations, and future prospects-not only for humans. *Probiotics Antimicrobial Proteins*, 12(3), 1266–1289. <https://doi.org/10.1007/s12602-019-09570-5>