МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
НАУКИ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ПИТАНИЯ,
БИОТЕХНОЛОГИИ И БЕЗОПАСНОСТИ ПИЩИ

(НИИ ДЕТСКОГО ПИТАНИЯ – ФИЛИАЛ ФГБУН «ФИЦ ПИТАНИЯ И БИОТЕХНОЛОГИИ

На правах рукописи

СИМОНЕНКО ЕЛЕНА СЕРГЕЕВНА

РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ КИСЛОМОЛОЧНОГО ПРОДУКТА ФУНКЦИОНАЛЬНОЙ НАПРАВЛЕННОСТИ НА ОСНОВЕ КОБЫЛЬЕГО МОЛОКА

Специальность 05.18.04 – Технология мясных, молочных и рыбных продуктов и холодильных производств

Диссертация на соискание ученой степени
Кандидата технических наук

Научный руководитель –
доктор технических наук,
академик РАН

А.Н. Петров

МОСКВА 2022

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ ……...4
ВВЕДЕНИЕ ……....5
ГЛАВА 1. Состояние вопроса…….10
1.1. Перспективы использования кобыльего молока для создания продуктов функциональной направленности ….....10
1.2. Современные кисломолочные продукты на основе кобыльего молока ……21
1.3. Пробиотические и молочнокислые микроорганизмы: потенциал и влияние на человека ……..25
Заключение……31
ГЛАВА 2. Организация работы, объекты и методы исследования……33
2.1. Организация проведения исследований ……33
2.2. Объекты исследований ……33
2.3. Методы исследований …….35
ГЛАВА 3. Оценка потребительских предпочтений и разработка медико-биологических требований на кисломолочные продукты……...47
3.1. Изучение потребительских предпочтений ……47
3.2. Разработка медико-биологических требований ……...….53
ГЛАВА 4. Разработка системы идентификации кобыльего молока……..56
4.1. Органолептические критерии ……57
4.2. Физико-химические критерии ……...61
4.3. Биохимические критерии ……...63
ГЛАВА 5. Исследования режимов термической обработки кобыльего молока……70

5.1. Соотношение кислотности и pH кобыльего молока ……70
5.2. Определение термоустойчивости кобыльего молока
по алкогольной и тепловой пробе…… 71
5.3. Разработка режима пастеризации……. 73
ГЛАВА 6. Исследование ферментативных процессов
в кобыльем молоке под действием микрофлоры закваски…76
6.1. Изучение кислотообразующей активности *Lactobacillus rhamnosus* F, *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus, Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus*…….. 76
6.2. Обоснование комбинации бактериальной закваски
и режимов ферментации ……. …….…80
6.3. Исследование хранимоустойчивости продуктов
……..91
ГЛАВА 7. Разработка технологии кисломолочных продуктов на
основе кобыльего молока …….…94
7.1. Технологические режимы производства
…….….94
7.2. Опытно-промышленная апрбация ……96
7.3. Исследование функциональных свойств кисломолочных
продуктов методами *in vitro* и *in vivo* ……..…98
Основные результаты и выводы ……109
Список литературы ……..…….111
Приложение 1. …….….135
Приложение 2. …….….136
Приложение 3……138
Приложение 4. ……..139
Приложение 5……141
Приложение 6. …… ……142

Список сокращений

МБТ – медико-биологические требования;

КП – кисломолочный продукт;

КобМ – кобылье молоко;

ККобМ – кобылье молоко с повышенным содержанием сухих веществ

КобМ/КорМ – кобылье молоко с добавлением коровьего молока;

КорМ – коровье молоко;

ЭВМ – электронно-вычислительная машина;

АПФ – ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента;

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения;

ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты;

НЖК – насыщенные жирные кислоты;

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография;

БГКП – бактерии группы кишечной палочки;

WD – «западная» диета;

Сух.в. – сухое вещество;

KD – стандартный рацион вивария;

ОАЕ – общая антиоксидантная емкость;

ЛПВП – липопротеины высокой плотности;

ЛПНП – липопротеины низкой плотности;

АЛТ – аланинаминотрансфераза;

АСТ – аспартатаминотрансфераза;

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт;

ИА – индекс атерогенности.

ВВЕДЕНИЕ

В соответствии с принятыми в Российской Федерации Стратегиями повышения качества пищевой продукции до 2030 года (Распоряжение Правительства Российской Федерации от 29 июня 2016 г № 1364-р) и формирования здорового образа жизни населения, профилактики и контроля неинфекционных заболеваний на период до 2025 года (Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 15 января 2020 года № 8), приоритетным направлением государственной политики является разработка и производство продуктов функциональной направленности, с целью увеличения продолжительности и повышения качества жизни. В связи с чем продукты данной категории приобретают крайне актуальное значение [151, 152].

Особый интерес представляет кобылье молоко, обладающее ценными свойствами для жизнедеятельности человека, обусловленными его уникальным составом, отличающимся от других видов молока, что делает его привлекательным для использования в технологиях специализированных пищевых продуктов. Состав кобыльего молока существенно отличается от коровьего молока высокой концентрацией полиненасыщенных жирных кислот, особенно линолевой и линоленовой, более низкой концентрацией коротко- и длинноцепочечных насыщенных жирных кислот; соотношением ненасыщенных к насыщенным жирным кислотам в липидной фазе (1,3, тогда как у коровьего – 0,45); сбалансированным аминокислотным составом и, как следствие, высокой усвояемостью белков [1, 2].

Сегодня практически не производят промышленно кисломолочные продукты на основе кобыльего молока; самый известный выпускаемый продукт – это кумыс. Повышение функциональных свойств продуктов на основе кобыльего молока возможно за счет обогащения молочнокислыми и пробиотическими микроорганизмами, используемыми при производстве кисломолочных продуктов.

Среди пробиотических культур большое внимание исследователей уделяется *Lactobacillus rhamnosus (Lacticaseibacillus rhamnosus),* который обладает антимикробной активностью, антиоксидантными и гипотензивными свойствами [3– 6], а также *Lactobacillus bulgaricus и Lactobacillus thermophilus,* с доказанными гепатопротекторными и противовоспалительными эффектами [7].

В этой связи исследования, направленные на разработку технологии таких продуктов с использованием пробиотических и молочнокислых микроорганизмов являются актуальными и перспективными, так как позволят расширить ассортимент молочных продуктов функциональной направленности.

Исследованиям свойств кобыльего молока посвящены работы ряда отечественных ученых: Т.А. Антиповой [8], С.Г. Канарейкиной [9–12], Ю.А. Синявского [13–20], а вопросы использования пробиотических молочнокислых культур при производстве кисломолочных продуктов рассмотрены в работах таких ученых, как А.В. Бегуновой [21–24], Н.Р. Ефимочкиной [26–29], И.В. Рожковой [21–24], В.Ф. Семенихиной [21, 22, 24], Г.М. Свириденко [30–34], С.А. Шевелевой [26–29] и других.

Целью работы является научное обоснование и разработка технологии кисломолочных продуктов функциональной направленности на основе кобыльего молока.

Задачи исследования:

– выявить потребительские предпочтения и разработать медико-биологические требования к кисломолочным продуктам на основе кобыльего молока;

– сформировать критерии идентификации кобыльего молока на основе органолептических, физико-химических, биохимических показателей;

– изучить влияние режимов термической обработки кобыльего молока, кобыльего молока с повышенным содержанием сухих веществ до 15%, кобыльего молока с добавлением коровьего на физико-химические,

микробиологические и органолептические показатели и определить рациональный режим пастеризации;

– изучить процесс ферментации кобыльего молока, кобыльего молока с повышенным содержанием сухих веществ, кобыльего молока с добавлением коровьего под действием подобранной бактериальной закваски, обладающей технологическими и пробиотическими свойствами;

– разработать технологию и нормативную документацию на кисломолочные продукты на основе кобыльего молока, определить сроки годности продукта, провести апробацию разработанной технологии;

– доказать функциональную направленность разработанных кисломолочных продуктов на основе кобыльего молока и кобыльего с добавлением коровьего методами *in vitro* и *in vivo*.

Научная новизна:

– разработана система идентификации кобыльего молока, основанная на органолептических, физико-химических, биохимических показателях;

– определено влияние режимов пастеризации на комплекс физико-химических, органолептических, микробиологических показателей кобыльего молока, кобыльего молока с повышенным содержанием сухих веществ, кобыльего молока с добавлением коровьего;

– получены новые знания о закономерностях ферментирования под действием подобранной бактериальной закваски в кобыльем молоке с повышенным содержанием сухих веществ и кобыльего молока с добавлением коровьего;

– доказаны функциональные свойства кисломолочных продуктов на основе кобыльего молока и кобыльего с добавлением коровьего методами *in vitro* и *in vivo*.

Практическая значимость:

– выявлены потребительские предпочтения в отношении кисломолочных продуктов на основе кобыльего молока;

– разработаны медико-биологические требования на кисломолочные продукты на основе кобыльего молока;

– обоснован режим пастеризации и ферментации кобыльего молока с повышенным содержанием сухих веществ и кобыльего молока с добавлением коровьего;

– обоснована комбинация бактериальной закваски, состоящая из комбинации молочнокислых (*Streptococcus salivarius subsp. thermophilus, Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*) и пробиотических *(Lactobacillus rhamnosus* F*)* микроорганизмов;

– разработана технология производства кисломолочных продуктов на основе кобыльего молока и кобыльего с добавлением коровьего, нормативная документация ТУ 10.51.52-162-00419006-2021;

– осуществлена опытно-промышленная апробация разработанной технологии на ООО «Мясокомбинат «Дороничи», Волковысское ОАО «Беллакт», ГКУ Республики Башкортостан «Управление социального питания».

Основные положения и результаты работы представлены и доложены на научных конференциях, форумах, конгрессах: III Бизнес-Форум «Развитие производства обогащенной и специализированной пищевой продукции. Новый формат взаимодействия индустрии и медицины» (Москва, 2021), XII Молочная олимпиада (Новороссийск, 2021), XV Всероссийская научно-практическая конференция «Доверие потребителей к Российской молочной продукции через обеспечение единства и открытости отрасли» (Адлер, 2019), XXVII Международная конференция «Новые технологии в медицине, биологии, фармакологии и экологии» (Ялта-Гурзуф, 2019), XVII Всероссийский конгресс диетологов и нутрициологов «Фундаментальные и прикладные аспекты нутрициологии и диетологии. Профилактическое, лечебное и спортивное питание» (Москва, 2018).

Публикации. По теме диссертационной работы опубликовано 15 печатных работ в изданиях, рекомендованных ВАК РФ, в том числе 2 статьи в журналах, индексируемых в Scopus, 1 патент.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, методической части, экспериментальной части, основных результатов и выводов, списка использованной литературы, содержащего 182 отечественных и зарубежных источников. Работа изложена на 142 страницах, включает 20 таблиц, 36 рисунка.

ГЛАВА 1. Состояние вопроса

1.1. Перспективы использования кобыльего молока для создания продуктов функциональной направленности

В настоящее время, с развитием индустрии пищевой промышленности, обилием ассортимента пищевых продуктов, у современного человека встает вопрос здоровья и здорового питания – появляетсяя потребность в полезных продуктах, благоприятно влияющих на здоровье и улучшающих качество жизнии за счет функциональной направленности.

В соответствии с данными Государственного доклада «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия Российской Федерации в 2020 году», около 45,5% населения, в субъектах Российской Федерации подвержено воздействию факторов нездорового образа жизни. К основным показателям можно отнести следующие: несбалансированное питание, употребление алкоголя и табакокурение. Основными причинами смертности остаются в последнее десятилетие: болезни системы кровообращения, новообразования, внешние причины, болезни органов пищеварения, болезни органов дыхания, некоторые инфекционные и паразитарные болезни [150].

Согласно результатам исследований, [166] кобылье молоко (КобМ) и продукты на его основе обеспечивают ценные питательные вещества для организма человека. Такие продукты могут использоваться в качестве продуктов функциональной направленности, в период лечения болезней и восстановительной терапии, а также для лиц с невосприимчивостью к белкам коровьего молока [135, 136]. Широкий спектр возможностей использования КобМ дает основания предположить, что с развитием научных исследований и разработкой продуктов питания на его основе, спрос потребителей будет увеличиваться.

В последние годы заметно возрос интерес к использованию КобМ в питании человека, а также для лечения и профилактики ряда заболеваний, как

например: гепатит, хронические патологии желудочно-кишечного тракта, туберкулез и пр. По данным исследований установлена приближенность его аминокислотного состава к грудному молоку, что делает КобМ привлекательным сырьем для создания продуктов на его основе для детей раннего возраста, в том числе адаптированный молочных смесей [36-–41, 46].

В гастроэнтерологии КобМ применяют для восстановления нарушенной микрофлоры кишечника. Его используют в качестве диетотерапии при лечении заболеваний кишечника, таких как болезнь Крона, неспецифический язвенный колит, синдром раздраженного кишечника, при лечении хронического панкреатита с внешнесекреторной недостаточностью [42].

В гепатологии КобМ используют для профилактики заболеваний печени при лечении неалкогольного стеатогепатита, хронических вирусных гепатитов в качестве базисной терапии, при циррозе печени вирусного и алкогольного генеза в качестве вспомогательной терапии [43].

КобМ уменьшает нагрузку на печень, позволяя ей активировать свои внутренние резервы на регенерацию. Возмещение дефицита альбумина при выраженном нарушении белково-синтетической функции печени снижает темпы прогрессирования фиброза [44].

Сопоставление состава КобМ и коровьего молока (КорМ) [45] выявляет расхождения, выраженные в пониженном содержании жира (12,1 г/кг в сравнении с 36,1 г/кг у коров) и более высоком содержании лактозы (63,7 и 48,8 г/кг соответственно). В КобМ содержится меньшее количество белков (21,4 г/кг по сравнению с 32,5 г/кг с коровьим) и минеральных веществ (4,2 г/кг по сравнению с 7,6 г/кг у коров) [45, 46].

Липиды КобМ имеет низкую температуру плавления (21–23)°С и небольшой размер жировых шариков, благодаря чему жир КобМ обладает нежной текстурой. Доказано [35, 38, 46], что высокая биологическая ценность и легкая усвояемость жира КобМ обусловлены почти десятикратным превосходством его над КорМ по содержанию полиненасыщенных жирных кислот, в особенности линолевой, линоленовой, арахидоновой, и

мононенасыщенных жирных кислот, таких как пальмитолеиновая и олеиновая, а также гораздо более низкой концентрацией насыщенных жирных кислот с короткой и длинной цепью [35, 38, 46]. Соотношение ненасыщенных и насыщенных жирных кислот в липидной фазе КобМ составляет примерно 1,3 по сравнению с 0,45 в КорМ.

Исследования [47] различных видов молока показали, что по индексу атерогенности и тромбогенности КобМ значительно отличается от других анализируемых видов молока. По содержанию ПНЖК КобМ превосходит козье, коровье и верблюжье молоко в 6,7 и 9,6 раза. КобМ характеризуется высоким содержанием ω-6 жирных кислот и по их содержанию превышает их уровень у коровьего, козьего и верблюжьего молока в 5,4; 7,0 и 9,4 раза. Характерной особенностью КобМ является высокий уровень ω-3 жирных кислот; их уровень превышает аналогичные показатели в козьем, коровьем и верблюжьем молоке в 13,0; 42,0 и 9,7 раза [47].

Белковая составляющая КобМ отличается не только меньшей концентрацией протеинов в сравнении с КорМ, но, прежде всего, соотношением казеинов и сывороточных белков, долями казеиновых и сывороточных фракций и размерами мицелл казеина. Казеин КобМ состоит из равного количества фракций β- и αS1-казеина, в то время как в КорМ преобладает фракция αS1-казеина. По некоторым данным [45] доля фракций казеина в КорМ составляет 77,7% при общем количестве белка 3,36% и представлена для αS1-, αS2-, β- и κ-казеинов в 25,5; 9,6; 22,8 и 7,0% соответственно, тогда как в КобМ содержание казеиновых фракций исчисляется 42,1% от исходного белка 2,06%, а распределение по фракциям αS1-, αS2-, β-и κ-казеинов насчитывает 5,7; 4,5; 12,9; 2,0%. Сывороточные белки в КорМ составляют до 22,4% с массовой долей фракций β-лактоглобулина – 0,8%, α-лактальбумина – 4,4%, а в КобМ содержание сывороточных белков до 57,9%, включая 17,6% β-лактоглобулина и 5,3% α-лактальбумина. Количество αS1-казеина в нем почти в 5,0 раз меньше, чем в КорМ, а содержание κ-, γ-, s-фракций в 1,5–2,0

раза ниже аналогичных показателей в КорМ. Также в 1,5–2,0 раза выявлено его превосходство по содержанию β-лактоглобулина, α-лактальбумина и иммуноглобулина. Именно благодаря составу белковых компонентов КобМ относят к альбуминовой группе [45], что является его идификационным показателем.

Белки КобМ хорошо сбалансированы по незаменимым аминокислотам, что значительно повышает его биологическую ценность, а усвояемость казеинов значительно легче, чем у КорМ. Коагуляция протеинов КобМ проходит без образования плотного казеинового сгустка, а проявляется в виде осаждения мелких хлопьев [38]. Показатель активной кислотности в 4,6 единиц pH характерен для изоэлектрического осаждения белков КобМ, однако мицеллы казеина имеют более крупные размеры и менее пористую структуру, чем у КорМ [46]. Сывороточные белки также денатурируют при подкислении до pH 4,6 или в результате нагревания до (90±1)°C, выпадая в осадок вместе с казеином [48].

Именно поэтому в разработке продуктов на основе КобМ первостепенное значение приобретает сохранение физико-химических и органолептических характеристик в процессе проведения термической обработки с целью соблюдения санитарно-гигиенических норм. Немаловажным показателем в этом аспекте является его термоустойчивость. Данный термин в практике молочного производства подразумевает способность молока оставлять в неизмененном виде коллоидно-дисперсные свойства белков при высокотемпературной обработке, сохраняя казеин в коллоидной суспензии, а сывороточные белки – в растворе [49–51].

Казеиновая фракция молока обладает достаточно высокой термоустойчивостью, выдерживая воздействие температур до (140±1)°C [156]. Влияние термической обработки может привести к целому ряду физико-химических изменений в казеинаткальцийфосфатном комплексе, негативно влияющих на органолептические, технологические свойства, снижающих пищевую ценность продукта. Спровоцированный термическим воздействием

гидролиз пептидных связей приводит к дегидратации мицелл казеина и образованию его комплексов с сывороточными белками (в основном с β-лактоглобулином). При этом количество сывороточных белков, связывающихся с казеином, обусловлено продолжительностью термической обработки и может достигать 48–62%, коррелируя с размером казеиновых мицелл [52]. Термическое дефосфорилирование казеина, т.е. удаление из β- и αS1-казеинов части органического фосфора в результате гидролиза фосфоэфирных связей, потенциально снижает суммарный отрицательный заряд мицелл, ухудшая их способность к связыванию кальция, тем самым провоцируя дестабилизацию и снижая термоустойчивость белков молока [53].

В отличие от молока коров, КобМ показывает значительное ослабление термоустойчивости, обусловленное преобладанием сывороточных белковых фракций.

Так β-лактоглобулин уже при нагревании до (40±1)°C способен распадаться на мономеры, агрегирующие при дальнейшем нагревании с образованием дисульфидных связей. По достижении температуры молока 85–100°C, денатурация β-лактоглобулина приводит к полной коагуляции агрегированных частиц, выпадению в осадок в составе молочного камня с фосфатом кальция, а также образованию комплексов с κ-казеиновой фракцией казеиновых мицелл. В составе термоустойчивых мицелл казеина β-лактоглобулин сохраняет некоторую устойчивость в растворе и, по различным данным, может влиять как на повышение, так и на снижение термоустойчивости протеиновой фазы. При этом нагревание молока до невысоких температур позволяет отдельной части денатурированных молекул β-лактоглобулина восстанавливать свою нативную структуру [159].

Некоторые работы [52], проведенные с применением дифференциально-сканирующей колориметрии для изучения коагуляции β-лактоглобулина в температурном диапазоне от 40 до 140°C, показали, что при нагревании молока до 70°C система этой фракции способна к частичной стабилизации посредством повторного скручивания цепей с образованием дисульфидных мостиков.

Температурная обработка в (130–140)°С приводит к разрушению образовавшихся дисульфидных связей и полной деградации остаточной структуры β-лактоглобулина, выраженной необратимым развертыванием полипептидов белка. Таким образом, предполагается, что обратимость денатурации β-лактоглобулина зависит от температуры нагревания и продолжительности выдержки. Помимо этого, характер поведения β-лактоглобулина во многом зависит как от присутствия ионов кальция, так и от его взаимодействия с α-лактальбумином [53].

α-лактальбумин, являясь вторым по содержанию сывороточным белком, считается наиболее устойчивым к нагреванию в протеиновом сегменте в отличие от β-лактоглобулина и иммуноглобулинов, отличающихся низкой термоустойчивостью. В процессе нагревания до (70±1)°С, α-лактальбумин не проявляет признаков коагуляции при показателях активной кислотности 6,7–7,0 или более единиц pH, однако весьма нестабилен в кислой среде. Несмотря на то, что температура его денатурации составляет (62±1)°С, этот белок обладает высокой способностью к восстановлению нативной структуры (ренатурации) посредством обратного сворачивания полипептидных цепей при охлаждении. Из всей сывороточнобелковой группы у α-лактальбумина способность к ренатурации выражена наиболее сильно, и при pH в диапазоне 6,0–7,0 единиц может составлять до 90% [173]. Высокая степень обратимости термически денатурированного α-лактальбумина обусловлена его способностью к стабилизации своей третичной структуры с понижением температуры посредством повторного связывания ионов кальция, частично утрачиваемых при термическом развертывании. Полная необратимая коагуляция α-лактальбумина происходит лишь по достижении 100°С и выше.

В целом же термоустоустойчивость протеинового комплекса молока, помимо количественного и качественного содержания белковых фракций, определяется совокупностью биохимических и физических факторов, таких как титруемая и активная кислотность, концентрация свободных ионов (Ca^{2+}, Mg^{2+}, P, цитратов), массовая доля сухих веществ, степень гидратации белков

и пр. Механизм данного процесса на сегодняшний день полностью не установлен, и не существует единого метода для определения термической стойкости молочного сырья, способного учесть все нюансы изменчивости системы [54–56]. Предложены различные методы оценки термоустойчивости, между которыми не установлено полного соответствия или корреляции [57, 58]. К наиболее известным и применяемым можно отнести следующие [160, 162, 163]:

а) алкогольная проба – выявление коагуляции белков молока под действием растворов этилового спирта с различной концентрацией в течение определенного времени. Коагуляция белков в виде визуально фиксируемых хлопьев для конкретной концентрации спиртового раствора позволяет оценить степень термоустойчивости исследуемого образца;

б) тепловая проба – сравнительный анализ продолжительности коагуляции белков в пробах молока, помещенных в масляную глицериновую баню при заданной температуре. Для КорМ наиболее распространенный температурный режим составляет (115–140)°С;

в) тигловая проба – основана на установлении отсутствия признаков коагуляции в образцах молока, подвергнутых нагреванию в ультратермостате (135±1)°С с выдержкой 5 мин;

г) хлоркальциевая проба – исследование стабильности белковых фракций молока при совокупном воздействии раствора хлористого кальция и высокой температуры в течение определенного времени;

д) фосфатная проба – оценка устойчивости молочных протеинов, основанный на внесении в молоко раствора однозамещенного фосфорнокислого калия с последующей выдержкой в кипящей водяной бане в течение определенного времени;

е) RAMSDEL – модификация фосфатной пробы, где к навеске молока добавляют различные количества однозамещенного фосфорнокислого калия;

ж) кислотно-кипятильная проба – сравнение устойчивости молока при совместном влиянии ранжированного ряда объемов соляной или серной кислоты и высокой температуры в течение определенного времени.

Во всех вышеперечисленных методах оценка термоустойчивости базируется на визуальном контроле процесса коагуляции, что может несколько искажать результаты ввиду субъективности их интерпретации [59].

На сегодняшний день наибольшее распространение получил анализ термоустойчивости молока посредством алкогольной пробы благодаря его доступности, информативности и простоте исполнения. Немаловажное значение имеет и то, что данное исследование регламентировано стандартизированной методикой и является достаточно быстрым и репрезентативным способом [155].

Одним из самых объективных методов, сочетающим высокую чувствительность и достоверность результатов, считается тепловая проба. Данное исследование позволяет определять стабильность протеинового комплекса молока при непосредственном температурном воздействии, исключая влияние добавленных денатурирующих веществ. Постановка тепловой пробы слабо реализуема в производственных условиях из-за специфики аппаратурного оформления и длительности процесса измерения, однако распространена в научных исследованиях [52, 139].

Тем не менее для объективной оценки стабильности мицелл казеина в КобМ целесообразно осуществлять контроль термоустойчивости посредством нескольких разнонаправленных методик, из которых самыми информативными можно считать алкогольную и тепловую пробы. Сопоставление данных, полученных по результатам нескольких исследований, позволяет наиболее точно определять температурные параметры обработки сырого молока, необходимые для сохранения качественных характеристик [53].

Учитывая, что нативное молоко представляет собой сложную биосистему, его термоустойчивость изменяется не только под влиянием

физико-химических факторов. Хранение полученного молока перед технологической обработкой инициирует множество микробиологических и ферментативных процессов, способных ощутимо ухудшать не только стабильность системы, но и качественные показатели, в первую очередь органолептические. Наряду с нежелательным нарастанием кислотности, к наиболее значимым изменениям приводит активность липаз и протеаз как нативного, так и бактериального происхождения. Результатом действия липолитических ферментов является образование свободных жирных кислот, моно- и диглицеридов, а также нарастание кислотности молочного жира. Протеолитические ферменты воздействуют на увеличение пептонной фракции, изменяют дисперсность казеина, снижают содержание сывороточных белков и влияют на соотношение растворимых и коллоидных фосфатов. Охлаждение молока не приводит к инактивации или подавлению активности данных ферментов, а продукты ферментирования, провоцирующие органолептические пороки, невозможно исправить посредством технологических манипуляций. Наиболее эффективными средствами предотвращения нежелательного воздействия липаз, протеаз, а также бактериальных клеток в сыром молоке, наряду с соблюдением санитарно-гигиенических условий его получения, являются процессы очистки и пастеризации [52, 53, 60, 61].

Центробежная очистка и бактофугирование сырого молока способствуют не только удалению механических примесей, но и значительному снижению бактериальной нагрузки, так что в результате предварительного удаления микроорганизмов, ощутимо повышается эффективность последующей термической обработки в результате влияния на остаточную микрофлору. Процесс бактофугирования может быть заменен многоступенчатой микрофильтрацией, в результате которой задерживается до 99,5% бактерий и споровых форм, присутствующих в сыром молоке [53, 58, 60].

Помимо очистки, для повышения стойкости протеинового комплекса молока ведущими предприятиями пищевой промышленности используется дополнительная технологическая операция, стабилизирующая исходные качества сырья. Она заключается в проведении двухступенчатого режима, включающего предварительную термизацию сырого молока с последующим охлаждением для прекращения или замедления ферментативных, микробиологических и физико-химических процессов, с последующей пастеризацией. Процедуру термизации рекомендуется выполнять при (58±1)°С, охлаждении до (6±2)°С, затем пастеризацию (70–72)°С. Установлено[156, 161], что предварительная термизация сырья оказывает положительное влияние на сохранение структуры и термоустойчивости белковых компонентов, снижение вязкости, уменьшение молекулярной массы казеиновых мицелл и стабилизацию молочного жира. Изучение показателей перекисных чисел в термизованном молоке показало увеличение продолжительности индукционного периода в 2–2,6 раза в результате элиминации липолитически активных микроорганизмов и инактивации окислительных процессов в хранении пастеризованного молока [161].

К другому направлению повышения термоустойчивости молока можно отнести различные физико-химические способы регулирования белкового, кислотного и солевого баланса посредством внесения специальных пищевых добавок и компонентов. Так, например, доказана [60] эффективность применения молочных белковых концентратов (МБК) или обогащения молока белковыми составляющими (сухое обезжиренное молоко, фосфоказеины, казеинаты натрия и кальция и др.) для обеспечения стабильности, повышения сухих веществ и буферности молочнобелковых систем [60, 62]. Внесение этих ингредиентов в определенных пропорциях способствует ощутимому повышению термоустойчивости молочного сырья при pH в области 6,7–7,2 за счет изменения агрегационных свойств, перераспределения казеинов и кальция в осаждаемой и неседиментируемой фазах, изменения фракционного состава белков и солевого баланса [63].

В целом для повышения термоустойчивости молока практический интерес может представлять совокупное воздействие нескольких технологических приемов, таких как предварительная термизация молока, контроль активной кислотности и внесение различных молочнобелковых компонентов (для повышения сухих веществ) [64, 176].

Использование КобМ в качестве сырья для создания новых видов кисломлочной продукции, связано с необходимостью обязательной стабилизации его протеинового комплекса для последующей термической обработки, являющейся важнейшим технологическим этапом, обеспечивающим качество готового продукта. На сегодняшний день не имеется достаточных данных о применении пастеризации в переработке КобМ ввиду неустойчивости его сывороточных фракций, составляющих около половины протеинового комплекса. Термическая обработки такого сырья приводит не только к нежелательным структурным нарушениям продукта, но и значительным изменениям органолептических свойств, появлению горького, салистого привкусов и т.п. Информации об использовании пастеризации в переработке КобМ мало, и она носит разнонаправленный характер. Некоторые проведенные исследования [35, 38, 65] показали нежелательное применение термической обработки к КобМ, например, в производстве кумыса, отмечая появление негативных органолептических признаков.

В других исследованиях [36] по производству кисломолочных продуктов на основе КобМ, наряду с непастеризованным сырьем, был использован режим пастеризации (90±1)°С с выдержкой 3 мин для нативного КобМ или его смеси с КорМ и (65±1)ºС с выдержкой 15 мин для КобМ, предварительно обогащенного казеинатом натрия. Термическая обработка при (90±1)°С, необходима с целью частичной инактивации высокой лизоцимной активности сырого молока. По результатам исследований [36] получены удовлетворительные микробиологические показатели, однако не отмечена

степень влияния температурного фактора на структуру и органолептические показатели продукта.

Проведенные исследования [65] пастеризации КобМ выше (85±1)ºС признано неприемлемым, а оптимальные режимы рекомендованы при температурах (63-65)°С с выдержкой 30 мин или (72-75)°С с выдержкой 15-20 с. Указанные температурные диапазоны наиболее эффективны для сохранения нативных органолептических и физико-химических показателей с удовлетворительными микробиологическими характеристиками [65].

1.2. Современные кисломолочные продукты на основе кобыльего молока

С каждым годом растет рынок производства продуктов на основе КобМ. Относительно мирового рынка, где КорМ наиболее распространено (85% всего молока), КобМ все еще составляет меньше, чем 0,1% мирового производства [66, 153]. Однако перспективы рынка КобМ положительные, учитывая научные открытия, показывающие, что молоко богато биологически активными компонентами и веществами [166]. КобМ наиболее приближено по своему составу к грудному женскому молоку, что позволяет его рассматривать в качестве перспективного сырья для создания специализированных продуктов для детей раннего возраста и продуктов функциональной направленности [8, 82].

В Российской Федерации около 100 предприятий, занимающихся переработкой КобМ. Получаемое КобМ используется для производства одного продукта – кумыса. Переработка КобМ в промышленных масштабах не удовлетворяет и десятой доли внутренней потребности россиян. В настоящее время потребность только лечебно-профилактических учреждений в кумысе и составляет около 30 тыс. т в год, но удовлетворяется примерно на 10% [153].

Увеливающаяся потребность в КобМ обосновывает организацию массового производства и переработки КобМ [67, 68].

Произвдство КобМ имеет зональный характер размещения и составляет свыше 6 тыс. т в год. Первое место среди субъектов Российской Федерации занимает Республика Башкортостан – 2,9 тыс. т в год, фактически это составляет 50% КобМ в стране. Второе месте по производству КобМ занимает Омская область – 2,3 тыс. т. КобМ также производят в Республике Марий Эл, Тверской, Оренбургской и Челябинской областях, Республике Алтай, Республике Крым, Республике Саха (Якутия), Волгоградской области и Республике Татарстан [137].

Единственным продуктом, изготавливаемым из КобМ, до недавнего времени считался кумыс, обладающий лечебными свойствами и используемый при лечении больных туберкулезом. Более широкое использование КобМ было ограничено низким содержанием белка, а также высоким содержанием альбумина. Основными технологическими приемами для преодоления этих ограничений являются дополнительное обогащение кисломолочных продуктов на стадии ферментации источниками полноценного белка, а также использование пищевых добавок, усиливающих вязкость и изменяющих реологические свойства продуктов в сторону их загустения [138].

Кумыс обладает антибактериальной активностью [154, 157], оказывает бактерицидное и бактериостатическое действие на возбудителей туберкулёза и кишечных инфекций. Научные и клинические исследования свидетельствуют о высокой активности кумыса при лечении язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, хронического гастрита и хронического энтероколита, функциональных расстройств желчного пузыря и толстой кишки, хронических неспецифических заболеваний лёгких, атеросклероза, гипертонии [154, 157]. Башкирия является районом исторически сложившегося кумысоделия и кумысолечения, где функционируют климатокумысолечебные противотуберкулезные санатории: им. Аксакова, Алкино, Глуховская, Шафраново, Юматово. Санатории имеют собственные конефермы и цеха по производству кумыса, который, используется круглый

год. Кумысолечение применяют также в противотуберкулезных санаториях в Воронежской, Челябинской, Волгоградской, Курганской, Новосибирской, Ульяновской областях, Республике Марий Эл [153].

Учитывая уникальный состав и свойства КобМ, нерационально использовать это сырьё только на производство кумыса. Актуальным является проведение исследований по разработке специализированных продуктов для детского питания, а также продуктов функциональной направленности [67, 68].

КобМ обладает рядом лечебных свойств и является незаменимым продуктом для человека. В Германии, например, существует практика по улучшению общего состояния организма за счет проведения курса лечебного питания КобМ [69].

В последние годы возрос интерес к использованию КобМ в производстве продуктов общего назначения. Разработаны технологии кисломолочных продуктов общего и лечебно-профилактического назначения, а также творожных продуктов для детского питания [70, 71, 73]. В Казахстане запущено производство «Улытау» по производству продуктов на основе КобМ[72].

В России производством продуктов из КобМ занимаются несколько крупных предприятий, такие как ООО «Экопродукт» (Республика Башкортостан), Ростовский завод плавленых сыров (Ростовская область), NEO Product (Московская область), ООО «Полезные напитки» (Самарская область), ООО «Снайп» (Тверская область). На данный момент их ассортимент ограничивается кумысом или кумысными продуктами [137]. Недостатками продукта является жидкая консистенция и специфический вкус. Вторая категория продуктов обладает более приемлемыми органолептически свойствами и може быть использована для потребителей, для которых вкус КобМ не является традиционным. Данные продукты производятся из комбинации кобыльего молока с добавлением коровьего (КобМ/КорМ), где последнее выступает для повышения сухих веществ, необходимых для

формирования сгустка. Помимо этого, продукт может быть использован в качестве заправки для салатов или для изготовления иных блюд и напитков [74].

Среди молочных продуктов становится все популярнее мороженое. КобМ/КорМ может использоваться, чтобы сделать мороженое с пониженным содержанием жира и оптимизировать аминокислотный, витаминный и минеральный состав. Комбинация двух видов молока обогатила мороженое метионином, глицином, гистидином, пролином, треонином и валином. Пищевая ценность мороженого позволяет использовать его для диетического питания, как обезжиренного продукта. Для производства мороженого КорМ и КобМ используются в соотношении 60 на 40% [75].

Интересна разработанная технология [76] изготовления мягкого сыра из смеси коровьего, козьего и кобыльего молока с повышенной пищевой ценностью. Однако в России таких сыров практически нет. В ходе исследованийюыло установлено, что сыры, в рецептуре которых присутствуют три вида молока – коровье, кобылье и козье, по органолептическим показателям являются лучшими [76].

Разработана технология [179, 180] кисломолочного продукта функциональной направлености на основе КобМ с использованием растительных компонентов (семен льна, пшеницы и тыквы). Использование растительных компонентов повышает потребительские свойства КобМ и спрос на такие продукты. Поэтому разработка технологии производства кисломолочного продукта, на основе КобМ/КорМ с растительными компонентами, является актуальным направлением научных исследований. Это наиболее важно в свете повышающегося интереса к использованию КобМ в специализированном питании [77].

Актуальным направлением является разработка продуктов комбинированного сырьевого состава (КобМ и КорМ), что придает продуктам дополнительные свойства [78, 177].

Применение комбинации КобМ/КорМ для получения кисломолочных

продуктов приводит к изменению содержания непредельных жирных кислот в сторону увеличения и уменьшению количества предельных кислот и непредельных кислот с одной кратной связью. Полученные данные об отличительных чертах жирнокислотного состава продуктов с содержанием КобМ дают основание для разработки новых кисломолочных продуктов, благоприятно влияющих на здоровье человека [79].

Разработка кисломолочных продуктов комбинированного состава является перспективным направлением и имеет практическую значимость для молочной промышленности [80]. Эти продукты могут быть использованы в питании спортсменов, работников промышленности с вредными условиями труда [81, 178].

Такие продукты отличаются от аналогов на основе КорМ меньшим содержанием жира и белка, при этом более высоким содержанием углеводов. Такие продукты содержат достаточно высокие уровни ω-6 и ω-3 жирных кислот и аскорбиновой кислоты [81].

1.3. Пробиотические и молочнокислые микроорганизмы: потенциал и влияние на человека

Употребление кисломолочных продуктов позволяет поддерживать или улучшать конкретные физиологические функции и метаболические реакции человека [83, 84]. Доказано, что употребление кисломолочных продуктов, содержащих пробиотические штаммы более эффективно по сравнению с приемом лекарств, содержащих пробиотики [85], поэтому кисломолочные продукты с пробиотическими культурами в настоящее время чаще используются для профилактики и лечения различных заболеваний желудочно-кишечного тракта [86, 87].

Лечебные свойства *Lactobacillus* регулируются метаболитами, образующимися во время ферментации, которые обладают уникальными функциональными свойствами [88]. Многие лактобактерии, присутствующие

в широком спектре ферментированных продуктов, выживают при прохождении через желудочно-кишечный тракт. Например, *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus* были обнаружены в образцах двенадцатиперстной кишки от интубированных субъектов в течение 15 мин после употребления свежего кисломолочный продукта [89].

Изменения микробиоты кишечника после лечения антибиотиками могут привести к дисбактериозу, создавая возможности для роста патогенных микробов и возникновения заболеваний и воспалений [90]. Один из способов вылечить или исправить дисбактериоз – употребление пробиотиков, ферментированных продуктов и других пищевых источников полезных микроорганизмов [91]. При производстве кисломолочных продуктов, используют *L. acidophilus*, бифидобактерии, пропионовокислые бактерии, *L. rhamnosus, L. bulgaricus, L. casei* и др, обладающие пробиотическими свойствами.

Анализ влияния употребления кисломолочных продуктов на частоту возникновения различных заболеваний показал снижение риска заболеваний или улучшение здоровья. Диета, богатая кисломолочными продуктами, снижает риски метаболического синдрома [92], развития рака мочевого пузыря [93], сердечно-сосудистых заболеваний [94], развития колоректального рака [95].

В соответствии с традициями и различными национальными и международными стандартами идентичности кисломолочные продукты изготавливается из культуры, содержащей штаммы *S. thermophilus* и *L. bulgaricus*. Существует большое количество клинических исследований, в которых изучались пробиотические кисломолочные продукты, содержащие пробиотики [96–99]. Результаты исследований показали, что такие продукты более эффективны для улучшения показателей здоровья [100].

Большинство людей с непереносимостью лактозы могут употреблять в пищу кисломолочные продукты без развития симптомов, и их потребление рекомендуется в качестве диетической терапии [101]. Это говорит о том, что

микробы в кисломолочном продукте обладают защитным действием против лактозы [102, 103]. В частности, микроорганизмы закваски для кисломолочных продуктов *S. thermophilus* и *L. bulgaricus* продуцируют β-галактозидазу как часть своего пути утилизации лактозы и потенциально могут улучшить переваривание лактозы *in vivo* [104–106]. *S. thermophilus* обладает низкой липолитической активностью, а протеолитическая активность ниже, чем у болгарской палочки (от 2 до 4%) и продуктами протеолиза являются аргинин, гистидин, тирозин, фенилаланин и лейцин [107]. Характерным свойством *S. thermophilus* является способность сбраживать сахарозу, лактозу, глюкозу, фруктозу и отсутствие ферментаций мальтозы, глицерина, инулина, салицина. Некоторые штаммы образуют диацетил, что улучшает качество молочных продуктов [108].

При температуре (45±1)°С *S. thermophilus* сквашивает молоко за 6–8 ч, при внесении 1% закваски и образует L (+) молочную кислоту в количестве от 0,9 до 1,1%. Чаще всего он придает сгустку молока слабозернистую структуру и приятный кисломолочный вкус, который более ярко выражен при его совместном культивировании с болгарской палочкой. При этом *S. thermophilus* стимулирует рост *L. bulgaricus*. Стимулирующим фактором является муравьиная кислота, которая образуется в достаточном количестве в микроаэрофильных условиях [108].

Европейское управление по безопасности пищевых продуктов провело клинические исследования, в которых оценивалась эффективность кисломолочных продуктов в улучшении переваривания лактозы и уменьшении симптомов непереносимости лактозы. [109] Было выявлено, что сметана и простокваша, при производстве которых используют закваски, содержащие *Lactococcus* и *Leuconostoc*, содержат сопоставимые уровни лактозы, но ни один из этих продуктов не переносится людьми с непереносимостью лактозы [110, 112]. Очевидно, потому, что эти бактерии не экспрессируют β-галактозидазу.

У *L. bulgaricus* были показаны иммуностимулирующая и противовоспалительная активность. *L. delbrueckii* продемонстрировал противовоспалительный эффект как *in vitro*, так и *in vivo*. Этот штамм проявил защитные эффекты на модели колита, вызванного декстраном и сульфатом натрия [111]. Штаммы *L. bulgaricus, Enterococcus spp*. и *S. thermophilus*, которые были выделены из кустарного греческого кисломолочный продукта и ферментированного молока, проявляли антигипертензивную активность. Антигипертензивная активность – одно из важнейших биофункциональных свойств. Ангиотензинпревращающий фермент (АПФ) регулирует кровяное давление путем преобразования ангиотензина-I в ангиотензин-II, который является сильным сосудосуживающим средством [113]. Было обнаружено, что N- или C-концевой участок пептида рацидина αS1-казеина и два внутренних пептидных фрагмента κ-казеин и β-казеин ответственны за ингибирующую активность ACE-I [114]. Также было продемонстрировано производство пептидов-ингибиторов АПФ *L. bulgaricus* LB6 во время ферментации козьего молока [115].

Сообщалось также о потенциале некоторых штаммов *L. bulgaricus* к нейтрализации токсинов. Мутант *L. bulgaricus* DUC3-17 продемонстрировал разложение уремией токсинов, таких как креатинин, гомоцистеин, фосфор, паратиреоидного гормона азота мочевины и мочевой кислоты. Эти свойства разложения токсинов могут быть полезны при лечении хронической почечной недостаточности [116].

Антимикробная активность является одним из наиболее важных свойств штаммов, используемых при создании кисломолочных продуктов с пробиотическими свойствами [117, 118].

L. bulgaricus обладает антимикробной активностью ко многим патогенным бактериям, включая *Escherichia coli, Listeria monocytogenes, Shigella* и т. д [119, 120].

Lactobacillus rhamnosus – это короткие грамположительные гетероферментативные факультативно-анаэробные неспорообразующие палочки, которые часто образуют цепочки [121]. Несмотря на то, что *L. rhamnosus* выдерживает воздействие кислоты и желчи [122], колонизирует пищеварительный тракт и балансирует микрофлору кишечника, данные свидетельствуют о том, что *L. rhamnosus*, является временным обитателем, а не автохтонным [123]. Тем не менее *L. rhamnosus* относят к пробиотикам, полезным для лечения различных заболеваний, так как показывает положительный эффект на разных уровнях ЖКТ. Пробиотические штаммы, используемые для производства, исследуют на наличие функциональных свойств, потенциально полезных для применения пробиотиков, которые включают желательные и нежелательные признаки, такие как образование биопленок, способность подавлять кишечные патогены, чувствительность к антибиотикам и активность ферментов. Проведенные исследования [124], показали, что большинство штаммов, выделенных из молочных продуктов, были чувствительны к определенным антибактериальным препаратам (стрептомицин, гентамицин, клиндамицин, эритромицин, тетрациклин), за исключением трех штаммов *L. rhamnosus*.

Lactobacillus rhamnosus может легко прилипать к слизистой оболочке эпителиальных клеток кишечника и играет важную роль в гомеостазе кишечной микробиоты [125]. Это свойство адгезии *L. rhamnosus* дополнительно способствует развитию врожденного иммунного ответа и усиливает адаптивный иммунитет. Он также производит антибактериальные соединения и некоторые другие биологически активные соединения, способствующие укреплению здоровья. Все эти свойства *L. rhamnosus* в совокупности способствуют барьерным функциям кишечника.

Также есть данные о биологической активности *L. rhamnosus* NCDC17 при лечении ожирения и различных типов диабета. *Lactobacillus rhamnosus* NCDC17 улучшил пероральный тест на толерантность к глюкозе и многие другие биохимические параметры, такие как уровень глюкозы в крови

натощак, свободные жирные кислоты, гликозилированный гемоглобин и уровень холестерина [126].

Антибактериальный потенциал *L. rhamnosus* GG связан с образованием небелкового, термоустойчивого бактерицидного вещества с низким молекулярным весом, которое проявляет активность в условиях низкой кислотности против патогенных микроорганизмов. *Lactobacillus fermentum* 202, *L. gallinarum* 7001, *L. rhamnosus* 183, и *L. plantarum* L2-1 демонстрируют большой потенциал *in vitro* в отношении подавления некоторых кишечных патогенов, включая *Escherichia* coli и *Salmonella* spp. [124].

Была доказана польза *L. rhamnosus* в профилактике ротавирусной диареи у детей, а также антибиотик-ассоциированной и внутрибольничной диареи как у детей, так и у взрослых [127, 128].

Также некоторые штаммы *L. rhamnosus* используют в качестве модельных штаммов для вагинальных пробиотиков. Установлено, что лектиноподобный белок *L. rhamnosus* предотвращает инфицирование уропатогенной *E. coli*, подавляя ее адгезию к эпителиальным клеткам и нарушая образование биопленок [129].

Штамм *L. rhamnosus* F из коллекции ФГАНУ «ВНИМИ» обладает выраженной антимикробной активностью к *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 и *Salmonella typhimurium*, которые нормируются в продуктах питания [3], а также к *Klebsiella pneumoniae* [4]. Он обладает относительной устойчивостью к антибактериальным препаратам различных групп, применяемым при лечении бактериальных инфекций [5].

Эти свойство *L. rhamnosus* F позволяет использовать его в разработке продуктов функциональной направленности.

Закваска для кисломолочных продуктов (*S. thermophilus* и *L. bulgaricus*) используемая в этой работе обладает низкой постокислительной активностью и производственно-ценными свойствами [130, 131].

Заключение

Состав КобМ дает основание причислять продукты на его основе к продуктам функциональной направленности [158]. Оно обладает высокой биологической ценностью и усвояемостью, применяется для лечения язвенной болезни желудка, кишечника, кожных заболеваний, при нарушении работы иммунной системы, в лечении больных хроническим гепатитом [165].

Обзор литературы показал, что ценность белкового комплекса КобМ является весомым аргументом к применению его в качестве сырья при при проведении исследований по разработке пищевых продуктов функциональной направленности. В то же время значительная низкая термоустойчивость превалирующих протеиновых компонентов вызывает определенные трудности в процессе термической обработки [132]. В целях повышения термоустойчивости КобМ необходим комплексный подход, включающий контроль органолептических, физико-химических, микробиологических показателей КобМ, осуществление его предварительной термизации с последующей пастеризацией, а также возможное обогащение высокобелковыми компонентами для стабилизации структуры и определение эффективных режимов пастеризации.

Учитывая вышеизложенное, представляется перспективным проведение исследований КобМ, как нативного, так и с повышенным содержанием сухих веществ, при различных режимах пастеризации, включая двухступенчатый режим с предварительной термизацией, с целью установления наиболее оптимальных параметров, обеспечивающих получение продукта высокого качества по органолептическим и физико-химическим характеристикам при соблюдении санитарно-гигиенических требований по микробиологическим показателям.

Использование культур *S. thermophilus, L. bulgaricus* и *L. rhamnosus* F при производстве кисломолочных продуктов, помимо улучшения функционально-технологических свойств продукта, может способствовать

повышению сроков хранения [174] и биологической активности продукта. Так, штамм *L. rhamnosus F* обладает выраженной антимикробной активностью против *E. coli, S. aureus* и *S. typhimurium, K. pneumoniae* [3, 4]; характеризуется природной устойчивостью к широкому спектру антибактериальных препаратов [5]; при сквашивании молока способен высвобождать биоактивные пептиды, обладающие антиоксидантными и гипотензивными свойствами [6]. В клинических исследованиях показано, что прием *L. rhamnosus* (в капсулах) улучшает чувствительность к инсулину [133].

В исследованиях *in vitro* [134] установлено, что штаммы лактобацилл *L. acidophilus, L. bulgaricus* и *L. casei.* ATCC 393 при внесении в среду холестерина снижают его уровень в среде, что сопровождается повышением концентрации копростанола. Выявленный гипохолестеринемический эффект обусловлен наличием внутриклеточной и внеклеточной холестеринредуктазы, которая превращает холестерин в копростанол [134]. Также установлено, что *L. bulgaricus* и *L. rhamnosus* обладают гепатопротекторными эффектами и подавляют воспалительные реакции; *L. bulgaricus* способствует улучшению почечной дисфункции и может подавлять секрецию воспалительных факторов, регулируя сигнальный путь NF-κB, предотвращая воспалительное повреждение [7].

Для разработки кисломолочных продуктов функциональной направленности на основе КобМ для исследований были выбраны *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus, Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* и *Lactobacillus rhamnosus* F из коллекции пробиотических и молочнокислых бактерий Центральной лаборатории микробиологии ФГАНУ «ВНИМИ».

Низкая частота потребления КобМ во многом связана с отсутствием информации о его возможном использовании и полезных свойствах. Актуальным является проведение исследований по созданию кисломолочных продуктов функциональной направленности на основе КобМ.

ГЛАВА 2. Организация работы, объекты и методы исследования

2.1 Организация проведения исследований

Экспериментальная часть работы проведена на базе Научно-исследовательского института детского питания – филиала Федерального государственного бюджетного учреждения науки Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи (НИИ детского питания – филиала ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»). Опытно-промышленную апробацию разработанной технологии кисломолочных продуктов на основе КобМ осуществляли на предприятиях ООО «Мясокомбинат «Дороничи», Волковысское ОАО «Беллакт», ГКУ Республики Башкортостан «Управление социального питания», что подтверждено актами опытно-промышленной выработки.

Исследование функциональных свойств кисломолочных продуктов на основе КобМ проводили *in vivo* на мышах самках C57BL/6J.

Исследования выполняли в соответствии со схемой, представленной на рисунке 1.

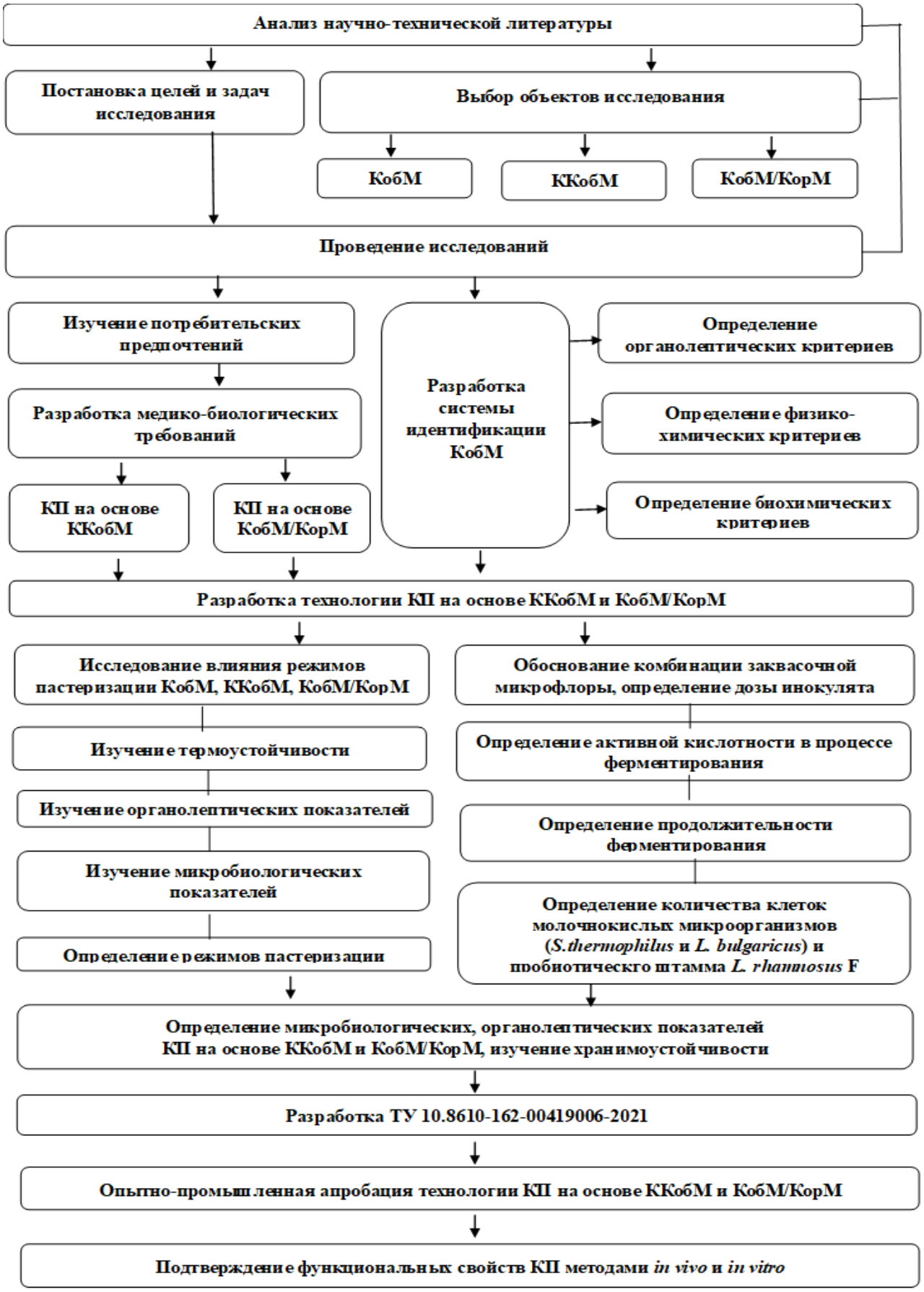


Рисунок 1 – Схема проведения исследований

2.2. Объекты исследований

Объектами исследований являлись:

– КобМ сырое по ГОСТ Р 52973-2008;

– КобМ с повышенным содержанием сухих веществ (КобМ сырое с добавлением кобыльего молока сухого (ККобМ) по ГОСТ Р 52975-2008);

– КобМ сырое с добавлением коровьего молока сырого (КобМ/КорМ) по ГОСТ 31449-2013;

– закваска для кисломолочный продукта СТБп (*Streptococcus salivarius subsp. thermophilus, Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus);*

– пробиотический штамм *Lactobacillus rhamnosus* F (GenBank MN994629) из коллекции молочнокислых бактерий и заквасок Центральной лаборатории микробиологии ФГАНУ «ВНИМИ»;

– кисломолочный продукт на основе КобМ с повышенным содержанием сухих веществ (ККобМ);

– кисломолочный продукт на основе КобМ с добавлением коровьего (КобМ/КорМ).

2.3. Методы исследований

При проведении исследований использовали общепринятые физико-химические, микробиологические, математические, органолептические, исследовательские и др. методы.

Изучение потребительских предпочтений разрабатываемого продукта проводили с использованием поискового социологического исследования методом опроса [142]. Опрос проведен одноразово, путем анкетирования. В качестве технического оснащения использовали средства ЭВМ и телефона.

При выполнении работы использовали микробиологические методы по определению молочнокислых микроорганизмов (ГОСТ 33951-2016 «Молоко и молочная продукция. Методы определения молочнокислых

микроорганизмов»), КМАФАнМ и БГКП (ГОСТ 32 901–2014 «Молоко и молочная продукция. Методы микробиологического анализа»), дрожжей и плесневых грибов (ГОСТ 33566-2015 «Молоко и молочная продукция. Определение дрожжей и плесневых грибов»), *S. aureus* (ГОСТ 30347-2016 «Молоко и молочная продукция. Методы определения *Staphylococcus aureus*»), *Salmonella* (ГОСТ 31 659–2012 (ISO 6579:2002) «Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Salmonella*»), комплексно обеспечивающие выполнение поставленных экспериментальных задач.

Определение активной кислотности проводили потенциометрическим методом в соответствии с ГОСТ 32892-14 «Молоко и молочная продукция. Метод измерения активной кислотности» с использованием лабораторного pH-метра InoLab pH Level 1, оснащенного комбинированным pH-электродом Sen Tix 61 («WTW Wissenschaftlich-Technische Werkstatten GmbH», Германия). Активность кислотообразования определяли с использованием биореакторов для параллельного культивирования (DASGIP, Германия).

Определение термоустойчивости по алкогольной пробе выполняли в соответствии с ГОСТ 25228-82. Метод основан на выявлении коагуляции белков молока под действием этилового спирта различных концентраций в течение определенного времени. К 2 $см^3$ исследуемого образца в чашке Петри пипеткой прибавляли 2 $см^3$ спирта определенной концентрации и перемешивали круговыми движениями. Через 2 мин проверяли изменение консистенции полученной смеси. Коагуляция белков в виде визуально фиксируемых хлопьев означала низкую термоустойчивость.

Исследование термоустойчивости объектов по тепловой пробе при режимах 65°C, 68°C, 72°C, 75°C, 78°C, 82°C проводили с использованием опытного образца устройства контроля термоустойчивости УКТ-150 (рисунок 2), разработанного специалистами ФГАНУ «ВНИМИ» [139].

Рисунок 2 – Устройство контроля термоустойчивости УКТ-150

Принцип метода состоит в сравнительном анализе продолжительности коагуляции белков в пробах молока, помещенных в глицериновую баню при заданной температуре (±1)°С.

В пробирки объемом 8 мл, из термоустойчивого молибденового стекла отмеривали по 3 мл исследуемого молока и плотно закрывали каждую резиновой пробкой. Пробирки помещали в металлическую кассету-держатель устройства УКТ-150 и зажимали винтами в блоке крепления так, чтобы пробки не выскакивали в процессе нагревания (рисунок 3).

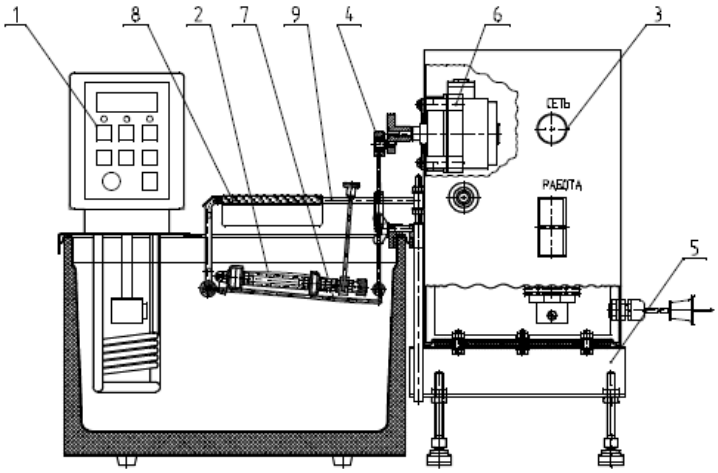


Рисунок 3 – Ультратермостат LOIPLT-316a; 2 – блок крепления пробирок; 3 – шкаф электрооборудования; 4 – шатунный механизм; 5 – опора; 6 – привод; 7 – подставка; 8–экран; 9 – кронштейн

Ультратермостат LOIPLT-316a, наполненный глицерином, последовательно разогревали до каждого из заданных температурных режимов: (65±1)°С, (68±1)°С, (72±1)°С, (75±1)°С, (78±1)°С, (82±1)°С. Кассету-держатель с пробирками вручную устанавливали в горизонтальном положении на подставку блока крепления и манипулирования пробирок в ванне термостата. После установки кассеты-держателя пробирки оказывались погруженными в нагретую жидкость ультратермостата. Одновременно начинали отсчет времени, секунды, при помощи секундомера.

Образцы выдерживали в ультратермостате при температурах (65±1)°С, (68±1)°С, (72±1)°С, (75±1)°С, (78±1)°С, (82±1)°С до начала коагуляции протеиновой фракции молока, которое фиксировали визуально. При появлении первых признаков коагуляции в виде выпадения осадка или хлопьев белка отсчет времени прекращали для той пробы, в которой отмечена коагуляция. После фиксации коагуляции протеиновой фазы во всех исследуемых пробах, шатунный механизм выключали, кассету-держатель с пробирками извлекали из УКТ-150 и охлаждали. Содержимое пробирок переносили в чашки Петри для оценки состояния их белковой фазы визуально, а также посредством микроскопирования.

Микроскопирование образцов для оценки сенсорных характеристик (наличие агломератов молочного белка) осуществляли при увеличении в 600 раз с использованием микроскопа «МИКМЕД-6» с камерой ТСА-5.0С фирмы ЛОМО.

В рамках физико-химического анализа образцов исследовались показатели массовой доли СОМО в соответсвии с ГОСТ Р 54761-2011, массовой доля белка путем определения массовой доли общего азота по методу Кьельдаля с последующим пересчетом на белок по ГОСТ 23327-98 на анализаторе белка Kjeltec-2400 Auto Analyzer, «Foss Electric», Дания. Содержание небелкового азота исследовали методом осаждения белковых азотистых веществ трихлоруксусной кислотой с последующим измерением общего азота в фильтрате по ГОСТ Р 55246-2012, содержание казеиновых белков по ГОСТ 34536-2019, содержание сывороточных белков по ГОСТ 33600-2015. Массовую долю жира исследовали по методу Гербера в

соответствии с ГОСТ 5867-90, массовую долю лактозы поляриметрическим методом в соответствии ГОСТ Р 54667-2011.

Состав сывороточных белков КобМ и КорМ анализировали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) на колонке Machinery Nagel C18 4.6x250, 5 мкм (США). Разделение проводили при комнатной температуре в ВЭЖХ-системе (Agilent 1100, Agilent Technologies) в потоке 1,0 мл/мин; поглощение элюата измеряли при 214 и 280 нм. Объем пробы составил 10 мл с концентрацией белка, эквивалентной 2 мг/мл [147, 162].

При использовании ВЭЖХ для определения видовой принадлежности КобМ и его доли в комбинации с КорМ необходимо удалить казеин. Он удаляется путем кислотной коагуляции. Для этого в пронумерованные пробирки Эппендорфа вносили по 1 мл объектов исследования. В каждую пробирку добавляли по 30 мкл 2 Н раствора соляной кислоты, тщательно перемешивали, инкубировали при комнатной температуре в течение 30 мин и центрифугировали 10 мин при 10 тыс. об/мин. Перед нанесением на колонку с сорбентом C18 все пробы пропускали через шприц с фильтром 0,45 мкм. Полученные образцы хранили при (5±1)°С и использовали для ВЭЖХ-анализа.

Условия, при которых происходит эффективное хроматографическое разделение α-лактоальбуминов КобМ и КорМ: объем пробы для инжекции составляет 10 мкл; температура колонки (25±1)°С; скорость элюции 1 мл/мин; градиент концентрации ацетонитрила от 0% фазы В до 50%; время хроматографического разделения составляет 60 мин. Колонка Machinery Nagel C 18 4.6x250, 5 мкм. Фаза А – 0,1% трифторуксусная кислота в воде, фаза В – 0,1% трифторуксусная кислота в ацетонитриле.

Все работы, связанные с приготовлением инокулята, выполняли с соблюдением асептических условий: в микробиологическом боксе и соблюдением правил работы с микроорганизмами. Приготовление инокулята *Streptococcus thermophilus, Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus. Lactobacillus rhamnosus* F проводили заквашиванием 1% закваски стерилизованного обезжиренного молока и термостатировании при

температуре (37±1)°С до образования сгустка (pH = 4,8±0,1 ед. pH, КОЕ в 1 см^3 – 10^8-10^9).

Определение кислотообразующей активности выполняли следующим образом:

– инокулирование исследуемых основ для сквашивания 1% чистых культур (комбинации культур) и культивирование в течение 24–48 ч при температуре (37±1)°С на приборе параллельных биореакторов фирмы DAS GIP (рисунок 4) с автоматическим измерением активной кислотности.

Рисунок 4 – Установка параллельных биореакторов DASGIP (Германия)

При обосновании комбанации бактериальной закваски изучали изменение активной кислотности во время сквашивания, продолжительность сквашивания, количество клеток молочнокислых микроорганизмов, в том числе *Lactobacillus rhamnosus* F. Количество клеток молочнокислых бактерий и *L. rhamnosus* F определяли по ГОСТ 33 951–16.

Рекомендуемые сроки годности определяли по МУК 4.2.1847-04 «Санитарно-эпидемиологическая оценка обоснования сроков годности и условий хранения пищевых продуктов» [164]. Образцы кисломолочных продуктов исследовали в процессе хранения в холодильнике при температуре

(4±2)°С, с последующем определением количества клеток молочнокислых бактерий, *Lactobacillus rhamnosus* F по ГОСТ 33 951–16, бактерий группы кишечных палочек по ГОСТ 32901, дрожжей и плесневых грибов по ГОСТ 33566, патогенных микроорганизмов, в т.ч. сальмонелл по ГОСТ 31659, *S. aureus* по ГОСТ 30347.

При изучении спектра антимикробной активности разработанного кисломолочного продукта в качестве тест-культур использовали *S. aureus* ATCC 6538, *E. coli* ATCC 25922, *Salmonella typhimurium*. Антимикробную активность определяли по МУК 4.2.1890-04 [169] диско-диффузионным методом.

Тестируемые штаммы *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 6538, *S. typhimurium* ATCC 14028 культивировали при температуре (37±1)°С в течение 24 ч на скошенном питательном агаре НПЦ «Биокомпас-С», (Россия), затем готовили суспензию клеток, которую в количестве 1% вносили в регенерированный питательный агар НПЦ «Биокомпас-С», (Россия) при температуре (45±2)°С, тщательно перемешивали и разливали в стерильные чашки Петри так, чтобы высота слоя питательной среды составляла 5 мм. После застывания питательной среды делали лунки стеклянной трубочкой диаметром 5 мм, в которые вносили 50 мкл кисломолочного продукта. Чашки выдерживали при комнатной температуре в течение 3 ч, затем термостатировали при температуре (37±1)°С в течение 24 ч.

Антиоксидантный потенциал образцов кисломолочных продуктов измеряли методом DPPH (the DPPH radical scavenging activity, RSA %) и методом FRAP (Ferric Reducing/Antioxidant Power) с использованием спектрофотометра СФ-2000 (Спектр, Россия).

Для получения экстрактов образцы кисломолочного продукта тщательно перемешивали до получения гомогенной субстанции, после чего отбирали 10 г образца и смешивали с 10 мл 96% этанола, тщательно перемешивали и выдерживали в течение 20 ч при 22±2°С. Полученный экстракт пропускали через фильтровальную бумагу для количественных

анализов с массовой долей золы до 0,03% (ФБ-III, ГОСТ 12026-76). Экстракты хранили при минус 40°С.

ОАЕ образцов кисломолочных продуктов определяли методом на спектрофотометре СФ-2000 (Спектр, Россия) по методу Бензи и Штамма с авторской модификацией, описанной в [140].

Реактив FRAP готовили посредством смешивания 0,3 М ацетатного буфера (pH 3,6), 10 мМ раствора фотометрического реагента 2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine (Sigma-aldrich, Швейцария), растворенного в 40 мМ соляной кислоты и 20 мМ водного раствора хлорида железа (III) (PanReac AppliChem, Испания) в соотношениях 10:1:1.

Для измерения ОАЕ экстрактов кисломолочных продуктов готовили реакционную смесь: 1,45 мл свежеприготовленного реактива FRAP и 50 мкл образца или дистиллированной воды (в качестве контрольной пробы/blank). Реакционную смесь инкубировали в течение 30 мин при 37ºС в темноте, после чего регистрировали оптическую плотность при длине волны 594 нм.

ОАЕ рассчитывали по градуировочному графику (R2 = 0,9988), для построения которого использовали раствор кверцетина (Sigma-aldrich, Индия) в диапазоне концентраций 1–250 мкМ, выражая результат в нмоль-экв. кверцетина / г продукта.

Антирадикальную активность образцов кисломолочных продуктов определяли методом DPPH в соответствии с [170]. Для проведения анализа к 1,45 мл 75 мкМ раствора DPPH - 2,2-diphenyl-1picrylhydrazyl (ChemCruz, Santa Cruz Biotechnology, США) приливали 50 мкл экстракта или метанола (в качестве контрольной пробы/blank).

Реакционную смесь инкубировали в течение 30 мин в темноте при температуре (22±2)ºС. Оптическую плотность регистрировали при длине волны 517 нм, используя в качестве контрольной пробы blank.

Антирадикальную активность рассчитывали по формуле, выражая в процентах активность улавливания свободных радикалов DPPH (RSA %).

$$\text{DPPH RSA (\%)} = \frac{D_k - D_o}{D_k} * 100\%,$$

где D_k – оптическая плотность контрольной пробы, D_o – оптическая плотность образца.

На основании данных о жирнокислотном составе сырья и продуктов на основе ККобМ и КобМ/КорМ был рассчитан индекс атерогенности (IA) [171, 172], указывающий на связь между суммой проатерогенных жирных кислот и суммой неэтерифицированных жирных кислот по формуле:

$$\text{ИА} = \frac{[\text{C12:0} + (4 \times \text{C14:0}) + \text{C16:0}]}{\Sigma\text{НЭЖК}}.$$

Исследование функциональных свойств кисломолочных продуктов *in vivo* проведены на 40 мышах самках C57BL/6J, полученных из питомника ООО «Кролинфо» (Орехово-Зуевский район), случайным образом отобранных, индивидуально промаркированных и прошедших адаптацию на протяжении пяти суток, возрастом 5–6 недель и массой (15,2 ± 0,9) г на начало эксперимента.

Исследования поведены следующих образцов кисломолочных продуктов:

- кисломолочный продукт на основе ККобМ (образец 1);

- кисломолочный продукт на основе КобМ/КорМ (образец 2);

-кисломолочный продукт на основе КорМ с термофильными бактериями (образец 3).

За семь суток до начала эксперимента животные распередедиди на группы:

группа 1 – опытные животные (*n*=8), потребляющие «западную» диету (WD) и образец №1 на протяжении 24 суток (1_O1+WD);

группа 2 – опытные животные (*n*=8), потребляющие WD и образец №2 на протяжении 24 суток (2_O2+WD);

группа 3 – опытные животные (*n*=8), потребляющие WD и образец №3 на протяжении 24 суток (3_O3+WD);

группа 4 – контрольные животные (*n*=8), потребляющие WD на протяжении 24 суток (4_WD);

группа 5 – интактные животные (*n*=8), потребляющие стандартный рацион вивария на протяжении 24 суток (5_KD).

Мыши групп 1, 2, 3 и 4 получали рацион с повышенным содержанием насыщенных жиров («Western Diet», WD) – аналог D12079Bi ResearchDiets (США), составленный из отечественных компонентов [141], животные группы 5 получали полнорационный комбикорм по ТУ 9296-002-70941247.

Содержание, питание, уход за животными, манипуляции, выведение их из эксперимента осуществляли в соответствии с требованиями ГОСТ 33215, ГОСТ 33216, Международными правилами гуманного обращения с животными – Директивой 1 000/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза.

Животных содержали в клетках из поликарбоната Т-4\2 (Лабораторкорм, Россия), с использованием гигиенического подстила для лабораторных животных Лигноцель БК 8-15/LIGNOCEL (J.Rettenmaier & Sohne GMBH + CO KG, Германия) в контролируемых условиях окружающей среды: температура воздуха (21±3)°С, относительная влажность - (50-60) %. Освещение – искусственное, 12 часов – день, 12 часов – ночь.

Питьевую воду для поения животных получали на установке водоподготовки EMD Millipore RiOs™ 50 (Merc Millirore, Германия), минерализацию осуществляли путем добавления минеральных солей для получения физиологически полноценного минерального состава (минерализация 314–382 мг/л: гидрокарбонаты – 144–180, сульфаты – <1, хлориды – 60–76, кальций – 6, магний – 3, натрий – 50–58, калий – 50–58). Температура воды для поения составляла 10-12 °С.

До начала исследования и каждые 2-е сутки после начала эксперимента проводили взвешивание животных на лабораторных электронных весах (Ohaus, США). Общие клинические наблюдения проводили каждые 2-е сутки, перед взвешиванием.

Состояние здоровья животных фиксировали в протоколе наблюдения для каждого животного, отмечали такие признаки как: изменение кожи и шерсти, глаз и слизистых оболочек, дыхательной, кровеносной, вегетативной и центральной нервных систем, а также соматомоторную активность и характер поведения.

Всех животных по истечение 24-х суток выводили из эксперимента путем усыпления в камере для эвтаназии (VetTech, Великобритания) с помощью углекислого газа, после чего проводили отбор крови и общую аутопсию.

Содержание лимфоцитов (LYM), гранулоцитов (GRA) и моноцитов (MON) определяли на проточном цитометре Guava Easy Cyte (Merck Millipore, Germany) посредством детектирования размера и гранулярности клеток. Содержание лейкоцитов определяли расчетным путем по формуле:

$$\mathrm{WBC} = \mathrm{LYM} + \mathrm{GRA} + \mathrm{MON}$$

где WBC – общее количество лейкоцитов;

LYM – общее количество лимфоцитов;

GRA – общее количество гранулоцитов;

MON – общее количество моноцитов.

Относительное содержание лимфоцитов (%LI), гранулоцитов (%GRA) и моноцитов (%MON) определяли расчетным путем по формулам:

$$\%LI = \frac{LYM}{WBC} * 100\%$$

$$\%GRA = \frac{GRA}{WBC} * 100\%$$

$$\%MON = \frac{MON}{WBC} * 100\%$$

Биохимические показатели плазмы крови определяли на автоматическом биохимическом анализаторе BioChem FC-360 ("HTI", США), используя наборы реактивов (HighTechnology, США), включая общий белок, альбумин, креатинин, мочевина, глюкоза, общий холестерин, ХС ЛПВП, ХС ЛПНП, триглицериды, активности аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы и щелочной фосфатазы.

Индекс атерогенности плазмы (ИА) крови определяли по формуле [173]:

$$ИА = \frac{(ОХ - ХС\ ЛПВП)}{ХС\ ЛПВП}$$

где: ИА – индекс атерогенности;

ОХ – общий холестерин, мМоль/л;

ХС ЛПВП – холестерин липопротеинов высокой плотности, мМоль/л;

Остаточный холестерин определяли по формуле:

$$ХСост = ОХС - ХС\ ЛПВП - ХС\ ЛПНП$$

где: $ХС_{ост}$ – остаточный холестерин, мМоль/л;

ЛПНП – холестерин липопротеинов низкой плотности, мМоль/л.

Аутопсия животных всех групп включала тщательное исследование внешней поверхности тела, отверстий, внутричерепной, грудной и брюшной полостей и их содержимого. Печень, почки, вилочковая железа (тимус), селезенка, легкие, мозг и сердце животных надлежащим образом отделяли от всех прилегающих тканей, в зависимости от конкретного случая, и взвешивали во влажном состоянии – сразу после вскрытия во избежание высыхания.

Гистологические исследования и анализ полученных данных проводили в соответствии с протоколом [175].

Подготовка образцов включала отбор наружной левой доли печени (*lobus ext. sin.*), который переносили на замораживавший столик (минус 20°С). Срезы толщиной 10 мкм (с каждого образца печени по 2 среза) готовили на микротоме Microm HM-525 (Carl Zeiss, Германия), окрашивали Oil Red O (Sigma-Aldrich, США) без докраски ядер гематоксилином Эрлиха и заключали в монтирующую среду (Leika, Германия).

Изучение гистологических препаратов осуществляли на световом микроскопе «AxioImaiger A1» (Carl Zeiss, Германия) с применением системы анализа изображений «AxioVision 4.7.1.0». Анализировали не менее 5 полей зрения каждого среза при увеличении 20Х.

Количественную оценку проводили с использованием программы ImageJ (США).

Для эффективной постановки опытов и выбора рациональных параметров использовали метод математического планирования эксперимента. Обработку результатов, полученных экспериментальных данных осуществляли с помощью пакета программ «Microsoft Office», «Statistica 10.0», «IBM SPSS Statistics 10» по результатам 3–5 повторностей.

ГЛАВА 3. Оценка потребительских предпочтений и разработка медико-биологических требований на кисломолочные продукты

3.1. Изучение потребительских предпочтений в отношении кобыльего молока и продуктов на его основе

КобМ в большей степени продукт со специфическими органолептическими свойствами. В этой связи разработан системный подход к разработке продуктов на его основе (рисунок 5).

Рисунок 5 – Методические подходы к разработке продукта

На первом этапе исследований системный подход включает в себя оценку потребительских предпочтений разрабатываемого продукта с учетом его специфических органолептических свойств.

Проведено социологическое исследование по методике опроса с целью определения актуальности разработки и внедрения кисломолочных продуктов на основе КобМ на российском рынке пищевой продукции.

Исследование потребительских предпочтений включало следующие этапы:

– формулировка вопроса;

– определение цели и задач социологического исследования;

– формирование инструментария исследования: составление анкеты и логика построения вопросов;

– проведение опроса путем анкетирования респондентов двух групп (телефон, компьютер);

– обработка и анализ полученной статистической информации.

Простая случайная выборка респондентов проводилась на основе списков работников предприятий и учебных заведений двух регионов Росийской Федерации (Московская область и Республика Башкортостан). Всего было опрошено 200 респондентов.

Были определены две целевые группы:

I группа – население, традиционно потребляющее КобМ (Республика Башкортостан);

II группа – население, для которого КобМ не является традиционным продуктом потребления (Московская область).

Основную группу опрошенных составляли лица трудоспособного возраста от 18 до 45 лет. В ходе проведения опроса каждому респонденту была предоставлена информация об опросе и получено согласие на участие в нём.

При проведении анкетирования использовались различного типа вопросы с многовариантными ответами. Вопросы касались оценки вкусовых

характеристик КобМ и продуктов на его основе, а также предпочтений при выборе молочной и кисломолочной продукции.

Составление анкеты соответствовало ряду правил:

- вопросы были заданы в вежливой форме, этичны и грамматически верны;
- вопросы были четкими и ясными;
- ответы должны были давать конкретный результат.

Анкета содержала в себе следующие вопросы:

1) Какую молочную продукцию Вы предпочитаете?

А) молоко

Б) творог

В) кисломолочные продукты

Г) другое

2) На что Вы обращаете внимание при покупке молочной продукции?

А) цена

Б) качество

В) вкус

Г) полезность

3) Отношение ко вкусу кобыльего молока?

А) положительное

Б) отрицательное

4) Отношение к кобыльему молоку с полезными свойствами?

А) положительное

Б) отрицательное

5) Отношение к продукту на основе кобыльего молока с полезными свойствами?

А) положительное

Б) отрицательное

Общее число респондентов, принимавших участие в социологическом опросе составляло три возрастные категории, среди которых к первой «От 18

лет до 25 лет» относятся 25% респондентов, к категории «от 25 до 35 лет» относятся 43%, и к последней категории «от 35 лет до 45 лет» 32% от общего количества участников (рисунок 6).

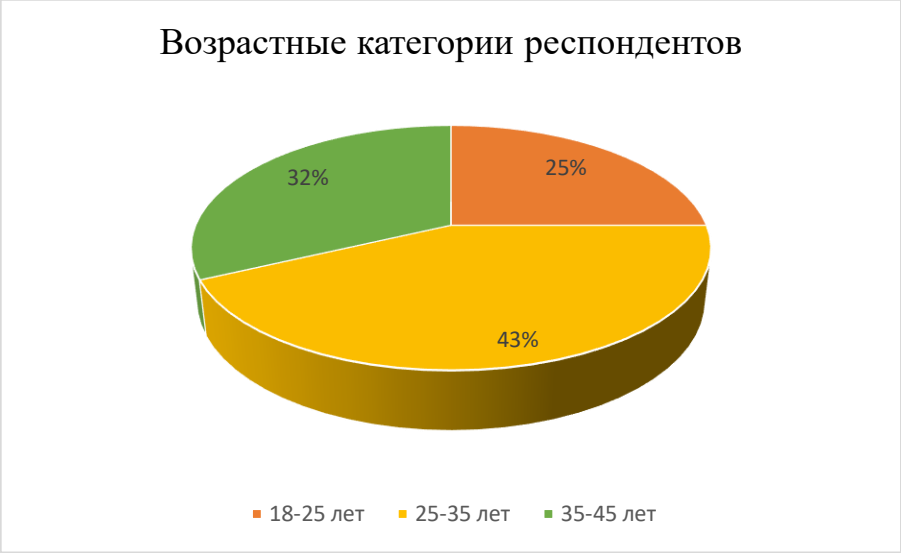


Рисунок 6 – Возрастные категории респондентов, принявших участие в опросе

Анализ данных показывает, что главным молочным продуктом для респондентов является молоко (35%), 2-е место занимают кисломолочные продукты (28%), 3-е место – творог (25%) и 12% опрошенных выбирают другие продукты (рисунок 7).

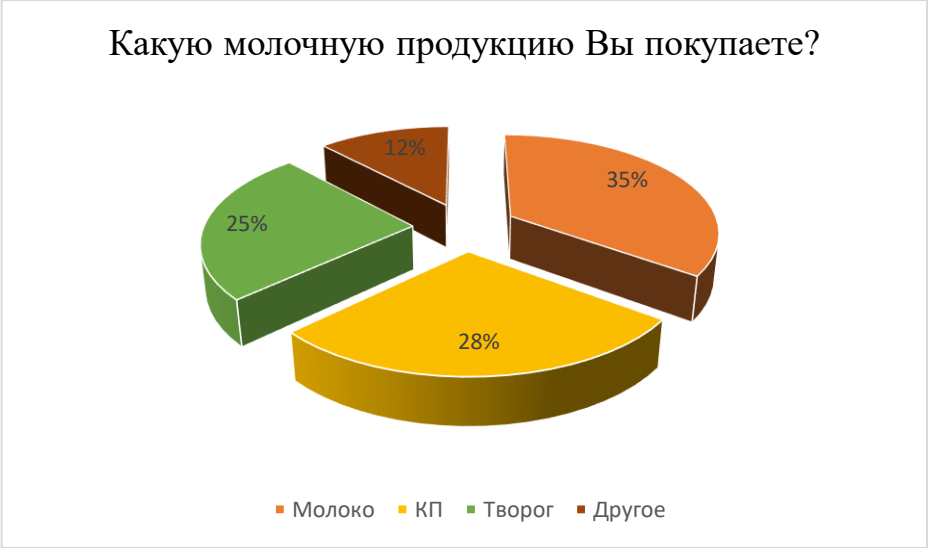


Рисунок 7 – Опрос о выборе молочных продуктов

В результате социологического исследования установлено, что респонденты при выборе молочных продуктов руководствуются, прежде всего, полезностью продукта (37%), затем обращают внимание на качество (27%), вкус (23%) и цену продукта (13%). Цена не является основным фатором при выборе продуктов питания. Для потребителей важны вкусовые, качественные характеристики продовольственных продуктов и их полезность (рисунок 8).

Рисунок 8 – Опрос о качественных характеристиках продуктов

Опрос потенциальных потребителей (рисунок 9) установил, что для I группы потребительская ценность КобМ соответствует ожиданиям потребителей, которые испытывали позитивное отношение от его использования. Для II группы сдерживающим фактором, определяющим потребительскую ценность и ожидание от продукта, являлся специфический вкус КобМ, потреблять которое они готовы при наличии полезных свойств. Результаты опроса всех респондентов показали, что 55% не устраивал вкус, при этом больше половины респондентов положительно отнеслись к полезным свойствам КобМ. Опрос более 70% респондентов установил предпочтительное отношение к кисломолочным продуктам на основе КобМ с полезными свойствами и положительно влияющими на здоровье, что подтверждает актуальность поставленной в работе цели.

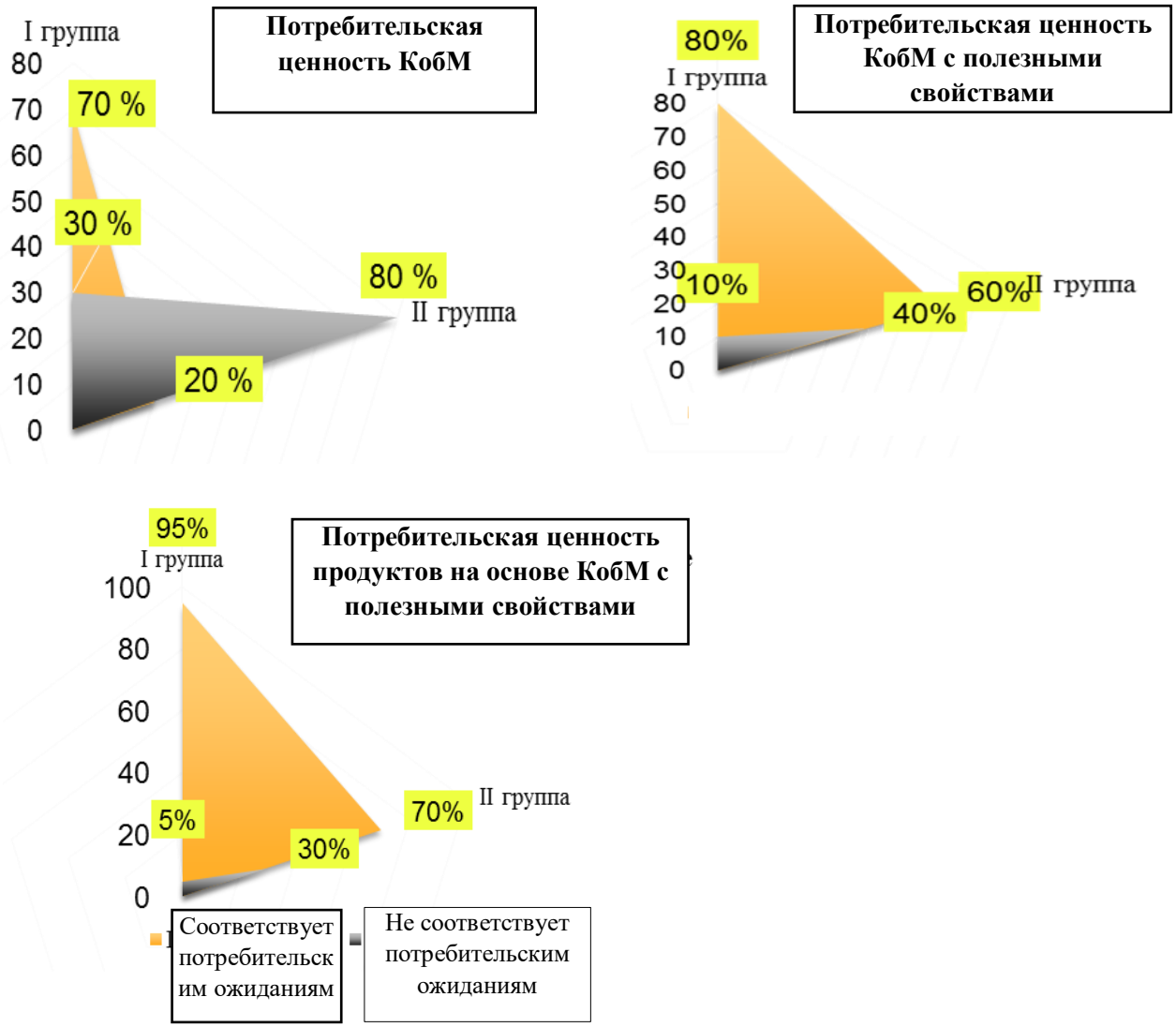


Рисунок 9 – Результаты социологического опроса

По результатам опроса сформирован методический подход к разработке двух продуктов функциональной направленности: первый – с выраженным специфическим вкусом КобМ для населения с традиционным потреблением, второй – с невыраженным вкусом КобМ.

3.2. Разработка медико-биологических требований на кисломолочные продукты

На основании методических рекомендаций [143] и с учетом современных тенденций нутрициологии и гигиены питания, а также на основании анализа состава представленных на рынке кисломолочных продуктов разработаны и утверждены ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» медико-биологические требования на кисломолочные продукты на основе КобМ: первый – с выраженным специфическим вкусом КобМ для населения с традиционным потреблением, второй – с невыраженным вкусом КобМ (приложение 1).

По статистике ВОЗ [144] примерно 30% взрослых жителей планеты страдают болезнями печени, которые связаны с негативными последствиями неправильного питания. В последние годы в большинстве регионов России среди больных с заболеваниями печени преобладают молодые лица до 29 лет (70–80%). Прежде всего это результат злоупотребления жирной пищей, переедания, что является основной причиной токсичных отложений в организме и проблем с печенью. В качестве вспомогательной терапии при заболеваниях печени, в мире широко применяются специализированные препараты – гепатопротекторы, а также продукты функциональной направленности с гепатопротекторными эффектами, которые стимулируют восстановительный процесс гепатоцитов, а также защищают клетки печени [144].

Создание таких продуктов является актуальным. Ингредиенты и сырье, предназначенные для включения в рецептурные составы продуктов, должны

обладать антиоксидантными, гепатопротекторными свойствами, обеспечивать эффективность при данном заболевании.

К таким пищевым ингредиентам относятся:

1) Полиненасыщенные жирные кислоты семейства омега-3, позволяющие улучшить липидный спектр крови, способствующие нормализации функции печени.

Важная роль ω-3 ПНЖК в коррекции нарушений липидного обмена, их благоприятный эффект на липидный профиль крови и снижение риска развития сердечно-сосудистых заболеваний подтверждены многочисленными исследованиями последних лет [181, 182].

2) Сывороточные белки, оптимально сбалансированные по содержанию аминокислотного состава.

При разработке пищевых продуктов функциональной направленности с гепатопротекторными эффектами, важное значение имеет обеспечение сбалансированности и оптимальности их белкового состава.

3) Использование в составе продуктов функциональной направленности пробиотических (*L. rhamnosus* F) и молочнокислых микроорганизмов (*S. thermophilus* и *L. Bulgaricus*). Биоценоз данных микроорганизмов обладает высокой антимикробной, антиоксидантной активностью, способствует нормализации микробиологических и ферментитивных процессов в организме.

Штамм *L. rhamnosus F* обладает выраженной антимикробной активностью против E. coli, S. aureus и S. typhimurium, K. pneumoniae [3, 4]; характеризуется природной устойчивостью к широкому спектру антибактериальных препаратов [5]; при сквашивании молока способен высвобождать биоактивные пептиды, обладающие антиоксидантными и гипотензивными свойствами [6]. Также установлено, что *L. bulgaricus* и *L. rhamnosus* обладают гепатопротекторными эффектами и подавляют воспалительные реакции; *L. bulgaricus* способствует улучшению почечной дисфункции и может подавлять секрецию воспалительных факторов,

регулируя сигнальный путь NF-κB, предотвращая воспалительное повреждение [7].

4) Витамины и минеральные вещества. Включение в состав продуктов функциональной направленности природного сырья, сбалансированному по содержанию витаминов и минералов позволит добиться улучшения витаминной обеспеченности и позволит оптимизировать показатели углеводного и липидного обмена.

Функциональная направленность разрабатываемых продуктов формируется за счет уникальных свойств КобМ (состава) в комбинации с пробиотическими и молочнокислыми микроорганизмами.

Основу белкового и жирового компонента разрабатываемых продуктов составляют белки и жиры исходного молочного сырья КобМ. Белки КобМ сбалансированы по незаменимым аминокислотам, что значительно повышает его биологическую ценность, а усвояемость значительно легче, чем у КорМ, за счет превалирования сывороточных белков [38, 45]. По содержанию ПНЖК КобМ превосходит другие виды молока, характеризуется высоким содержанием ω-6 и ω-3 жирных кислот [47]. Исследованиями [8] установлено, что уровень содержания витаминов группы и микроэлементов в КобМ один из самых высоких среди продуктов животного происхождения. Состав витаминов, белков, жиров и микроэлементов, позволяет использовать КобМ для создания продуктов функциональной направленности [8].

Ферментация продуктов проводится с использованием молочнокислых (*S. thermophilus* и *L. bulgaricus*) и пробиотических (*L. rhamnosus F*) микроорганизмов.

Разработанные медико-биологические требования включают показатели пищевой ценности и безопасности кисломолочных продуктов(таблица 1).

Таблица 1 – Показатели пищевой ценности и безопасности продуктов

Показатель	Наименование	
	Продукт с выраженным вкусом КобМ	Продукт с невыраженным вкусом КобМ
Массовая доля жира, %	2–2,5	
Массовая доля белка, %	2,5–3,0	
Массовая доля углеводов, %	6–12	
Кислотность, Т	Не более 120	
Количество молочнокислых микроорганизмов на конец срока годности, КОЕ/см^3	Не менее 10^7 КОЕ/см^3	
Количество *L. rhamnosus* F, КОЕ/см^3, не менее	Не менее 10^6 КОЕ/см^3	
Количество плесневых грибов, КОЕ/см^3, не более	Не допускается	
Количество дрожжей, КОЕ/см^3, не более		
Бактерии группы кишечных палочек (БГКП)		
Патогенные микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы		
S. aureus		

Функциональная направленность разрабатываемых продуктов формируется за счет состава КобМ в комбинации с пробиотическими и молочнокислыми микроорганизмами, что в совокупности позволяет обеспечить антимикробные, антиоксидантные, гепатопротекторные свойства и низкий индекс атерогенности продуктов.

ГЛАВА 4. Разработка системы идентификации кобыльего молока

Определены органолептические, физико-химические и биохимические показатели идентификации КобМ (рисунок 10).

Рисунок 10 – Система идентификации кобыльего молока

Потребность в КобМ при создании новых продуктов функциональной направленности может привести к его замене более доступным КорМ, что изменит качество таких продуктов. Исходя из того, что КобМ – уникальный продукт с высокой потребительской стоимостью, система идентификации направлена на повышение качества и контроля, построена на выявлении, определении и объединении значимых индивидуальных признаков, присущих КобМ, с учетом апробированных органолептических, физико-химических, биохимических и аналитических методов анализа в единый алгоритм.

4.1. Органолептические критерии

С целью создания терминологической основы веден ряд дополнительных терминов, определяющих особенности вкуса КобМ.

Идентификационные показатели пищевого объекта – количественные величины или описания, ассоциированные с пищевым объектом, обеспечивающие узнаваемость объекта в целом.

Специфические идентификационные показатели пищевого объекта – количественные величины или описания, ассоциированные с одной из сторон

пищевого объекта, определяющие соответствие объекта отдельным аспектом его жизненного цикла.

Идентификационные показатели пищевой ценности – специфически идентификационные показатели пищевого объекта, определяющие соответствие показателей нутриентного состава объекта показателям, определяющим особенности его пищевой ценности или пищевой ценности конечного продукта, если объект является сырьем.

Органолептические идентификационные показатели – специфические идентификационные показатели пищевого объекта, определяющие его органолептические кондиции или устанавливающие соответствие органолептическим кондициям конечного продукта, если объект является сырьем.

Конечный продукт – пищевой продукт, являющийся результатом переработки пищевых объектов (сырья и ингредиентов) согласно используемой технологии.

Молочный вкус – вкус молока сельскохозяйственных животных или комбинации различных видов молока, неассоциированной с конкретным видом животного.

Оригинальный вкус молока – узнаваемый вкус молока сельскохозяйственных животных, обусловленный нативным химическим составом молока.

Базовый вкус молока – оригинальный вкус молока коров.

Специфический вкус молока – узнаваемый вкус молока, обусловленный нативным химическим составом молока, отличный от базового вкуса.

Идентификационный вкус молока – вкус, позволяющий установить вкусовую принадлежность молока.

Вид молока – молоко, определенного вида сельскохозяйственных животных (коровье, козье, кобылье, овечье, буйволиное, верблюжье).

Вкус кобыльего молока – специфический вкус молока, обусловленный особенностями химического состава молока, выраженными в сниженном

содержании молочного жира и казеиновых фракций белка; увеличенном содержании сывороточных белков и молочного сахара (лактозы) по отношению к их содержанию в коровьем молоке.

Невыраженный вкус – органолептически не воспринимаемое проявление вкуса кобыльего молока.

Слабовыраженный вкус – вкус, сохраняющий послевкусие кобыльего молока.

Умеренно выраженный вкус – вкус, сохраняющий привкус кобыльего молока.

Сильно выраженный вкус – характерный, специфический вкус кобыльего молока.

Выбор идентификационных показателей данной группы определяется непосредственно особенностями органолептических показателей кобыльего молока, а также потенциальным влиянием органолептических показателей и состава молока на формирование органолептических кондиций конечного продукта.

Характеристика органолептических показателей КобМ и КорМ [145, 146] приведена в таблице 2.

Таблица 2 – Органолептические показатели сырого молока

Показатель	Характеристика	
	КорМ	КобМ
Консистенция	Однородная, без осадка и хлопьев	Однородная, без осадка и хлопьев
Вкус и запах	Чистый, без посторонних запахов и привкусов, не свойственных свежему молоку. Допускается слабовыраженный кормовой привкус и запах	Не свойственный коровьему молоку, специфический вкус со сладковатым привкусом, допускается вяжущее послевкусие
Цвет	Белый, светло-кремовый	Белый, допускается голубоватый оттенок

Проведенная сравнительная органолептическая оценка цвета и запаха КобМ и КорМ не выявила значимых идентификационных различий. Особенность органолептической оценки КобМ проявляется в специфическом вкусе: сладковатом, вяжущем, не свойственном КорМ.

Ввиду измененного баланса казеиновых фракций белка и сывороточных белков, сниженного содержания молочного жира и увеличенного содержания молочного сахара (лактозы) по отношению к КорМ, КобМвоспринимается как «сладковатая (вкус) водянистая (текстура) жидкость». Сладковатый вкус в определенной степени переносится на конечный продукт; «водянистость» в процессе образования сгустка при сквашивании КобМ и органолептически проявляется при восприятии текстуры конечного продукта.

Проведена оценка органолептических показателей КобМ и КобМ в сочетании с КорМ в соотношениях 75/25, 60/40 (таблица 3). Выполнены исследования влияния на вкусовые показатели КобМ (1,5% массовая доля жира) добавления КорМ с массовой долей жира от 1,5 до 5,5%.

Таблица 3 – Результаты органолептической оценки КобМ и КобМ/КорМ

Соотношение КобМ/КорМ, %	Массовая доля жира в КорМ, %	Восприятие вкуса КобМ			
		Сильно выраженный	Умеренно выраженный	Слабо-выраженный	Не-выраженный
100/0	1,5	+	-	-	-
75/25	1,5	+	-	-	-
	2,5	+	-	-	-
	3,5	-	+	-	-
	4,5	-	+	-	-
	5,5	-	-	+	-
60/40	1,5	-	+	-	-
	2,5	-	+	+	-
	3,5	-	-	+	+
	4,5	-	-	-	+
	5,5	-	-	-	+

Из результатов органолептической оценки следует, что вкус, свойственный КобМ, сохраняется при соотношении 75/25 КобМ/КорМ и

массовой доли жира коровьего молока ≤1,5%. С увеличением содержания жира в КорМ вкус КобМ ослабевает. Получить продукт с невыраженным вкусом КобМ допустимо при соотношениях КобМ/КорМ (жирностью КорМ ≥3%) 60/40.

4.2. Физико-химические критерии

На основе проведенных исследований и анализа литературных данных по химическому составу КобМ и КорМ сформирована база данных по физико-химическим показателям КобМ, определённым в качестве идентификационных, в сравнении с КорМ (таблица 4). При выборе физико-химических показателей учтена практика применения современных, валидированных методов.

По содержанию жира КобМ значительно (в среднем в 2 раза) уступает КорМ, но при этом общее содержание ПНЖК (из них линолевая кислота в среднем 2 раза и линоленовая в 10 раз) превышает показатели КорМ в 10 раз. Содержание ω-6 жирных кислот превышает их уровень у КорМ в 7 раз, уровень ω-3 жирных кислот превышает аналогичные показатели в КорМ 42,0 раза. Общее содержание НЖК КобМ в 1,6 раза меньше данного показателя КорМ, показатель масляной кислоты в 300 раз меньше такового КорМ.

Содержание лактозы в КобМ в 1,5 раза выше, чем в КорМ.

Однако значимое различие, с точки зрения идентификации, в составе белков КобМ и КорМ составляет соотношение сывороточных белков и казеина. В КобМ это соотношение равно 52/48, в КорМ – 21/79. Значительно различается и фракционный состав сывороточных белков. Так в КобМ

α-альбумины составляют до 51,6%, в КорМ – до 19%, β-лактоглобулины в КобМ составляют до 30%, в КорМ – до 53%.

Таблица 4 – Идентификационные физико-химические показатели КобМ

Идентификационный показатель	Диапазон варьирования значения показателя		Метод контроля
	КобМ	КорМ	
Лактоза, %	6,5–7,1	4,6–4,9	ГОСТ Р 54667-2011 ГОСТ 29248-91
Жир, %	1,5–1,7	3,2–5,0	ГОСТ 5867-90
Лизоцим, мг/100 г	80,1–85,0	10,0–13,0	ISO 27105:2016
Содержание общего белка, %	1,7–2,4	2,8–3,6	ГОСТ 23327-98 ГОСТ 34454-2018
Содержание казеина от общего белка, %	40,2–48,4	75,1–85,0	ГОСТ 34536-2019
Содержание сывороточных белков от общего белка, %	38,8–51,6	17,5–21,4	
Содержание β-лактоглобулина от сывороточных белков, %	25,3–36,3	52,9–53,6	
Содержание α-лактоальбумина от сывороточных белков, %	27,5–29,7	18,4–20,1	
Альбумины от сывороточных белков, %	4,4–4,5	5,5–7,6	
Иммуноглобулины от сывороточных белков, %	18,7–20,9	10,1–11,7	
Лактоферрин от сывороточных белков, %	9,9–10,0	8,0–8,4	ГОСТ 33600-2015
Жирнокислотный состав, %			ГОСТ 32915-2014
ПНЖК Линолевая кислота Линоленовая кислота ω-6 (линолевая, γ-линоленовая, арахидоновая) ω-3 (α-линоленовая, эйкозапентаеновая, докозагексаеновая) НЖК Масляная кислота Пальмитиновая кислота Миристиновая кислота Стеариновая кислота	23,3–29,3 10,0–15,9 8,2–11,0 15,6–17,5 7,6–9,0 46,0–51,3 0,01 16,6–20,0 5,3–6,0 0,6–0,8	2,4–4,0 2,0–3,5 0,3–1,5 2,2–2,3 0,1–0,2 73,4–78,4 3,0–4,0 27,0–33,0 10,0–12,0 9,1–13,0	

Значимым физико-химическими критерием идентификации КобМ является содержание сывороточных белков, в связи с чем был проанализирован и исследован их фракционный состав.

4.3. Биохимические критерии

Возрастающая потребность в КобМ при создании новых продуктов функциональной направленности может привести к фальсификации путем добавления КорМ, которое более доступно, что повлияет на качество и безопасность таких продуктов. Ввиду отсутствия методов идентификации КобМ и его комбинации с КорМ, использование ВЭЖХ позволяет определить видовую принадлежность молока по белкам, входящим в его состав [147].

Усовершенствование методики измерений белкового профиля с применением метода ВЭЖХ дало возможность выявить содержание сывороточных белков КобМ и его комбинации с КорМ. Проведены исследования комбинации КобМ и КорМ в различных соотношениях.

Использование ВЭЖХ-разделения сывороточных белков КобМ, КорМ и в комбинации, основано на значительных различиях их первичной структуры. Благодаря заменам в аминокислотном составе белки сыворотки молока α-лактоальбумин, β-лактоглобулин и сывороточного альбумина различаются не только по заряду, но и своим гидрофобным свойствам. Использование обратно-фазного сорбента С18, которым заполнена хроматографическая колонка, позволяет разделить белковые смеси в зависимости от гидрофобных свойств белков, входящих в их состав [147, 168]. При оценке их содержания можно определить процент разведения кобыльего молока коровьим.

Использование ВЭЖХ позволяет определить наличие в составе сывороточных белков КобМ и КорМ α-лактоальбумина, который является белками-маркерами в предлагаемой методике анализа. α-лактоальбумины КобМ и КорМ различается по аминокислотному составу, в связи с этим они имеют различное сродство к гидрофобной матрице С18, которая заполнена хроматографической колонкой. Белками-маркерами КобМ и КорМ в ВЭЖХ-анализе являются α-лактоальбумины, так как они различаются временем удержания на обратно-фазном сорбенте С18. При использовании линейного градиента концентрации ацетонитрила время удержания КобМ

α-лактоальбумина составляет 45 мин, а КорМ – 40 мин. При оценке их количественного содержания на хроматограммах ВЭЖХ можно определить процент разведения КобМ КорМ.

На рисунках 11–18 представлены результаты ВЭЖХ анализа сывороточных белков КобМ, КорМ и их комбинации в различных оотношениях, показано время удержания α-лактоальбумина КобМ и КорМ, а также площади пиков, которые рассчитаны программным обеспечением хроматографического комплекса Agilent 1100. Программой принята площадь пиков всех разделенных сывороточных белков молока и их комбинации за 100% и рассчитано процентное содержание α-лактоальбумина.

Состав анализируемых образцов, %:

1. КобМ – 100;
2. КобМ/КорМ – 90/10;
3. КобМ/КорМ – 75/25;
4. КобМ/Корм – 60/40;
5. КобМ/КорМ – 45/55;
6. КобМ/КорМ – 30/70;
7. КобМ/КорМ – 15/85;
8. КорМ – 100;

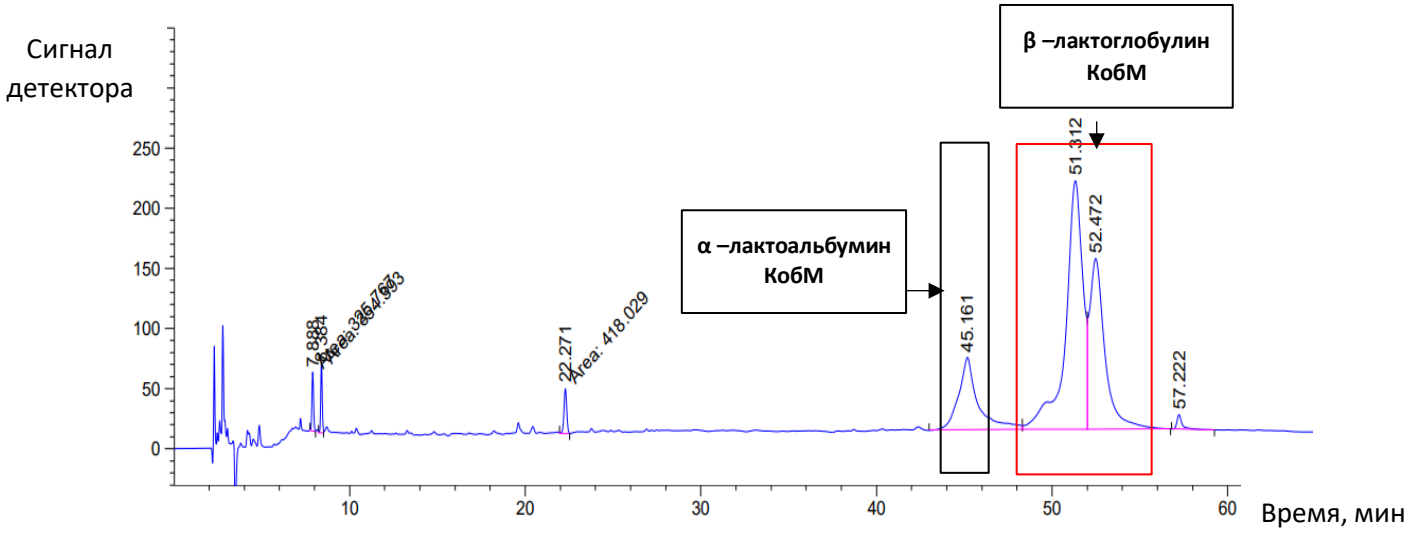


Рисунок 11 – Хроматограмма сывороточных белков КобМ

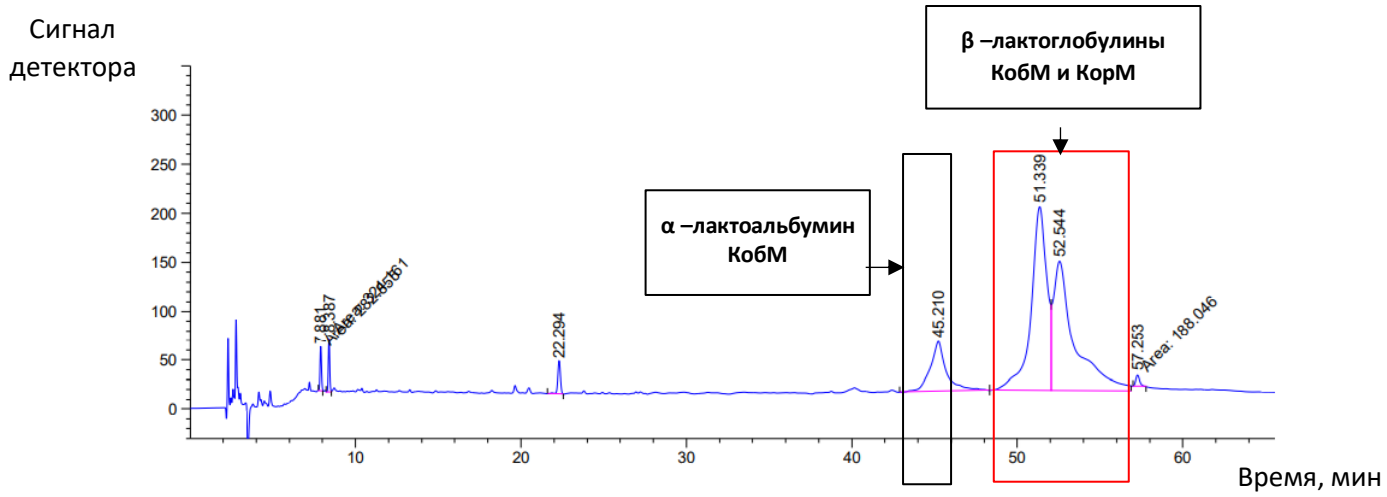


Рисунок 12 – Хроматограмма сывороточных белков КобМ/Корм 90/10

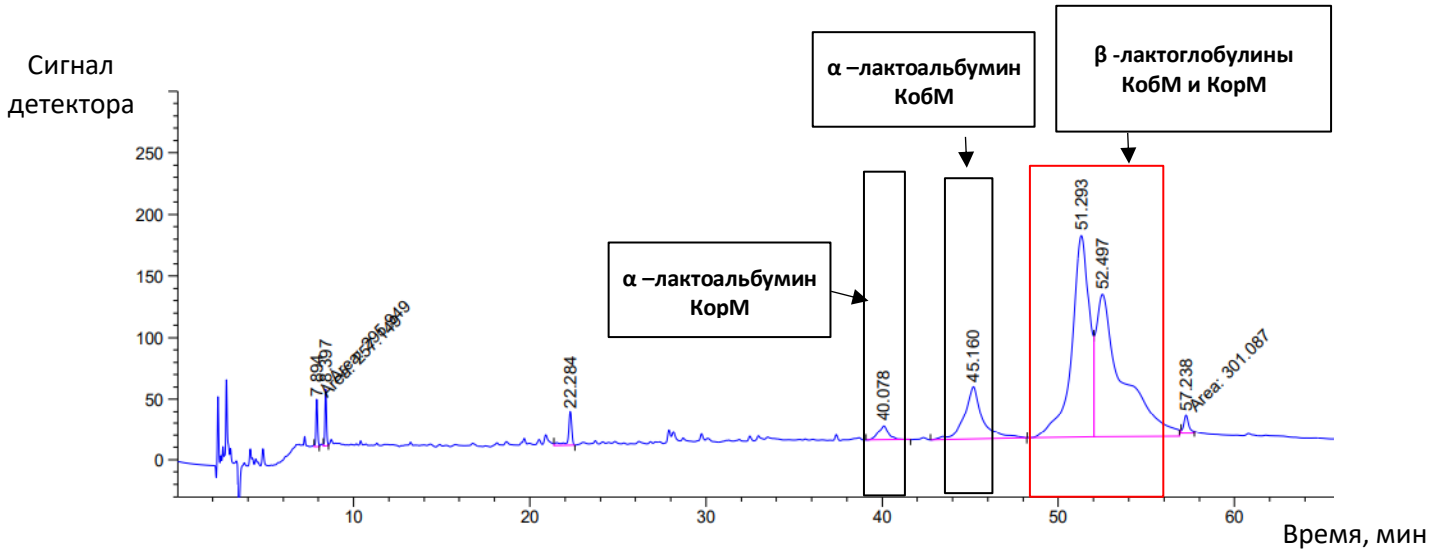


Рисунок 13 – Хроматограмма сывороточных белков КобМ/КорМ 75/25

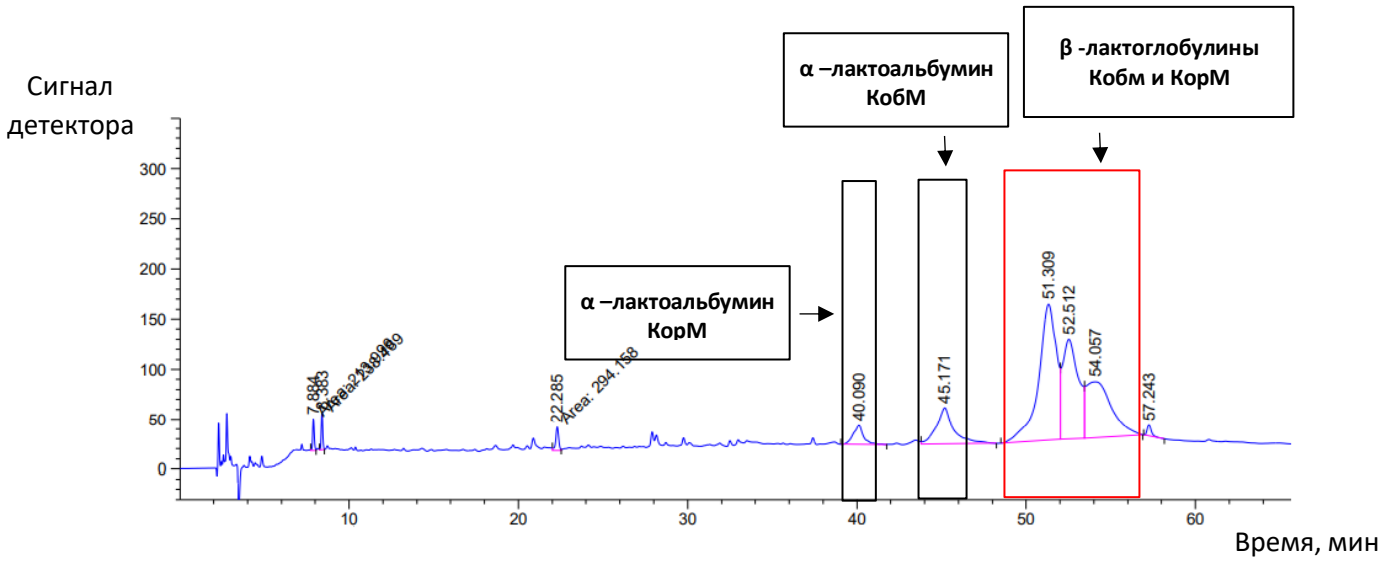


Рисунок 14 – Хроматограмма сывороточных белков КобМ/КорМ 60/40

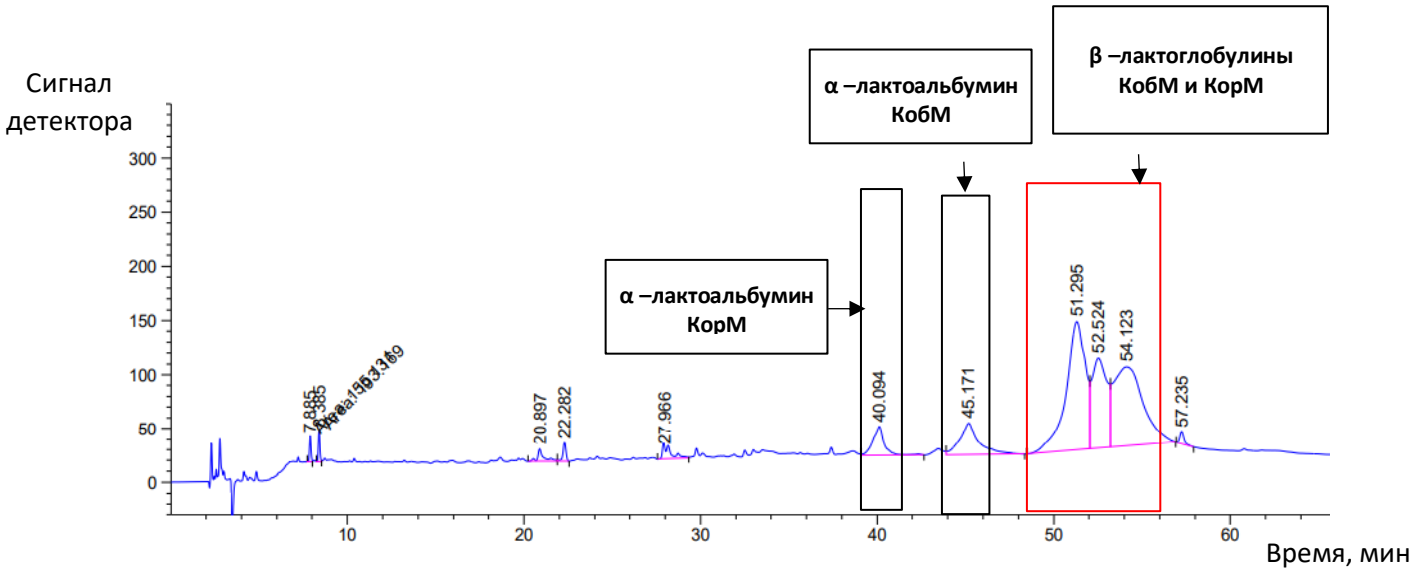


Рисунок 15 – Хроматограмма сывороточных белков КобМ/КорМ 45/55

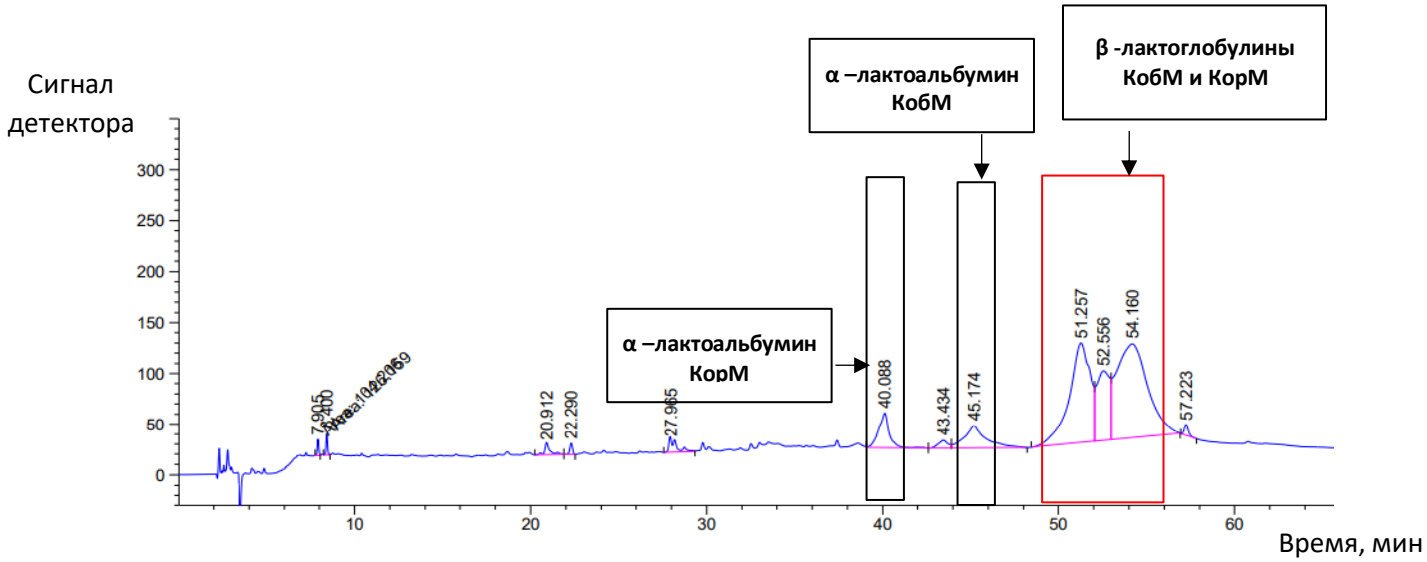


Рисунок 16 – Хроматограмма сывороточных белков КобМ/КорМ 30/70

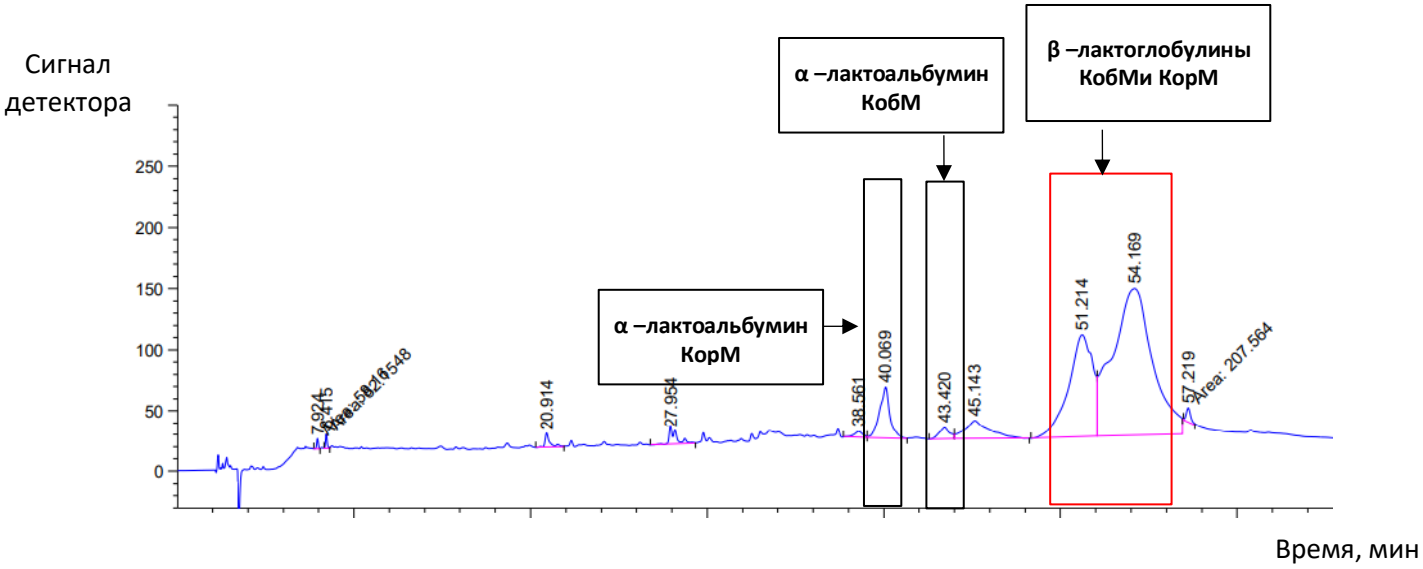


Рисунок 17– Хроматограмма сывороточных белков КобМ/КорМ 15/85

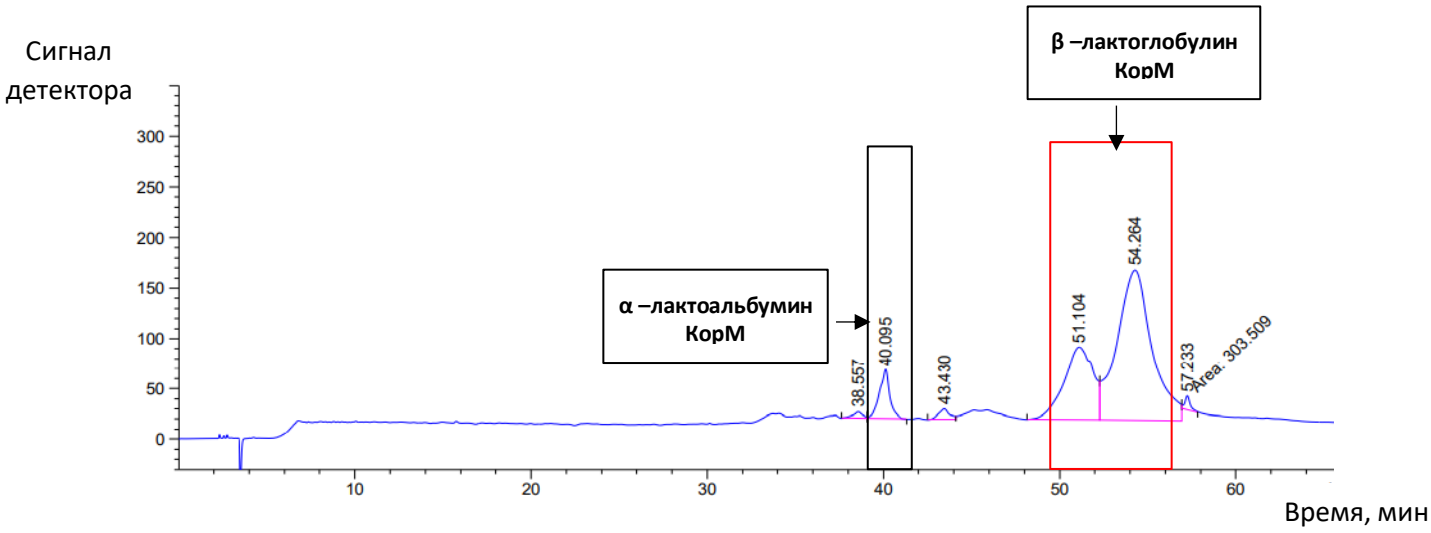


Рисунок 18 – Хроматограмма сывороточных белков КорМ

Анализ данных, представленных на рисунках 11–18, показывает, что время удерживания β-лактоглобулинов КобМ и КорМ совпадает, в связи с этим их использование в качестве белков-маркеров невозможно.

Исходя из полученных хроматограмм, время удерживания α-лактоальбуминов КобМ и КорМ при различных соотношениях комбинации неизменны и при этом существенно различались (40 мин для КорМ, 45 мин для КобМ). Эти значимые различия, вероятно, связаны с результатами проведенных рядом исследователей, в которых установлено наличие 33 замен аминокислот первичной структуры α-лактоальбумина КобМ и КорМ [149], что, в свою очередь, приводит к изменению вторичной структуры и, как следствие, различному сродству к гидрофобному сорбенту колонки С18. Данные различия позволили использовать α-лактоальбумин в качестве белка-маркера видовой принадлежности КобМ в комбинации с КорМ.

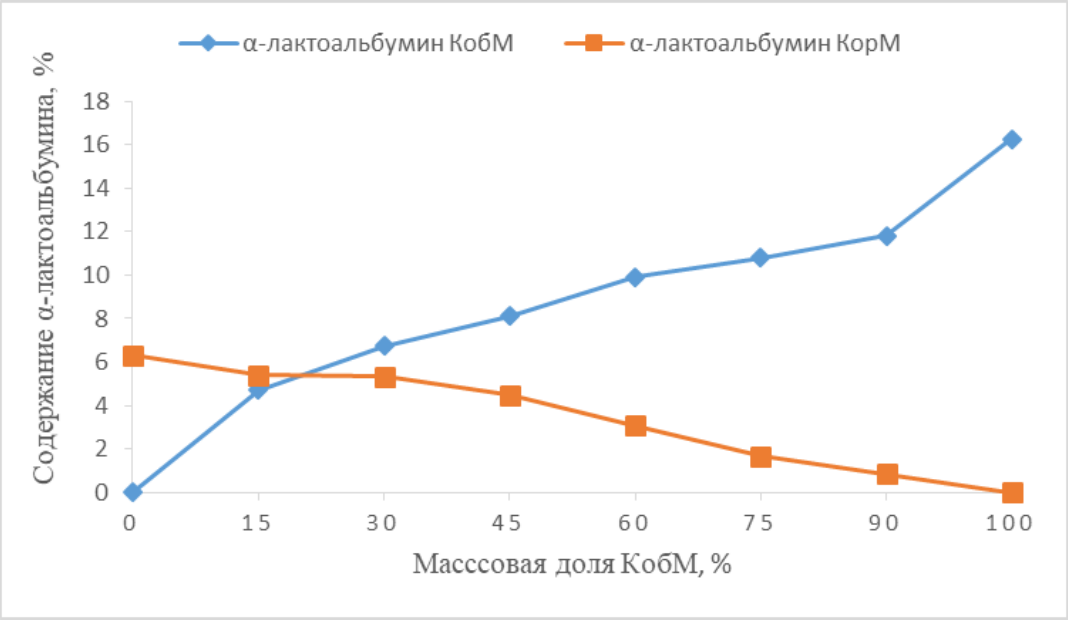


Рисунок 19 – Содержание α-лактоальбумина в КобМ в комбинации с КорМ

На основании полученных данных построен график (рисунок 19), позволивший определить доли α-лактоальбумина и в дальнейшем рассчитать доли КобМ и КорМ.

По результатам проведенных исследований подтверждена эффективность применения метода ВЭЖХ для идентификации КобМ. Выявленные в результате исследований параметры разделения сывороточных белков методом ВЭЖХ позволили в течение 60 мин получить хроматограмму фракций сывороточных белков КобМ. Количественная оценка содержания α-лактоальбумина достоверно определяет наличие в КобМ не менее 7% добавленного КорМ.

На основе сочетания органолептических, физико-химических и биохимических показателей создана система, с помощью которой можно идентифицировать КобМ и определять его долю в комбинации с КорМ.

ГЛАВА 5. Исследования режимов термической обработки кобыльего молока

5.1. Соотношение кислотности и pH кобыльего молока

Одним из основных сдерживающих факторов использования КобМ в молочной промышленности является его низкая термоустойчивость и проявление постороннего вкуса. Для решения этой проблемы были изучены режимы термической обработки КобМ, ККобМ и КобМ/КорМ.

На первом этапе исследований проводили контроль титруемой и активной кислотности КобМ, ККобМ, КобМ/Корм для соотнесения этих показателей с последующими результатами определения термоустойчивости (таблица 5).

Таблица 5 – Показатели титруемой и активной кислотности объектов исследования

Показатель	Ед. изм.	КобМ	ККобМ	КобМ/КорМ
Титруемая кислотность	°Т	6,5±0,5	12±0,5	19±0,5
Активная кислотность	Единицы pH	6,8±0,02	6,73±0,02	6,42±0,02

Анализ полученных результатов демонстрирует удовлетворительную корреляцию показателей титруемой и активной кислотности. Значения титруемой и активной кислотности КобМ соответствуют показателям для КобМ. Образцы ККобМ и КобМ/КорМ с повышенным содержанием сухих веществ показывают закономерное повышение титруемой кислотности в соответствии с их физико-химическим составом.

5.2. Определение термоустойчивости кобыльего молока по алкогольной и тепловой пробе

Для изучения стабильности мицелл казеина в исследуемых образцах были применены разнонаправленные методики определения термоустойчивости, а именно алкогольная и тепловая пробы.

Таблица 6 – Результаты исследования термоустойчивости по алкогольной пробе

Ед. изм.	КобМ	ККобМ	КобМ/КорМ
Объемная доля этилового спирта, 68%	≤ 5	≤ 5	≤ 5

Результаты исследований (таблица 6, рисунок 20) КобМ ККобМ и КобМ/КорМ демонстрируют неудовлетворительные показатели в отношении спиртового раствора наименьшей концентрации – 68%, что свидетельствует об их крайне низкой термоустойчивости и невозможности термической обработки при высоких температурах.

А) Б) В)

Рисунок 20 – Визуализация результатов алкогольной пробы со спиртовым раствором 68%: А – КобМ; Б – ККобМ; В – КобМ/КорМ

Определение термоустойчивости посредством тепловой пробы является наиболее надежным и объективным методом оценки, обладающим большой чувствительностью и достоверностью. Метод позволяет непосредственно измерять стабильность белковых фракций под воздействием высоких температур без учета влияния добавляемых денатурирующих веществ.

Результаты исследований термоустойчивости КобМ, ККобМ, КобМ/КорМ по тепловой пробе представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Исследования термоустойчивости по тепловой пробе

Показатель	КобМ	ККобМ	КобМ/КорМ 60/40
Температурный режим, °С	Продолжительность выдержки до наступления видимой коагуляции белка, с		
65±1	5400±15	4200±15	7200±20
68±1	1500±15	900±15	2100±20
72±1	840±10	480±10	1500±15
75±1	720±10	360±10	1080±15
78±1	240±10	120±10	480±10
82±1	120±10	*	240±10

Примечание: * – коагуляция наступила до достижения заданной температуры.

Полученные данные демонстрируют закономерное снижение времени выдержки и термоустойчивости с повышением температуры. При этом температурные режимы (68±1)°С и выше резко сокращают продолжительность выдержки до наступления видимой коагуляции белка.

Результаты микроскопирования позволили определить, что в исследуемых образцах образование коагуляционных частиц проявляется за 50-80 с до начала видимой коагуляции. В процессе исследований термоустойчивости КобМ, ККобМ, КобМ/КорМ проведена органолептическая оценка. Температуры выше (72±1)°С и увеличение продолжительности выдержки более 480 с приводило к появлению прогрессирующей горечи и появлению неоднородности молока в виде белковых мелких хлопьев. Этот фактор в значительной степени ограничивает использование для производства кисломолочных продуктов общепринятых режимов пастеризации КобМ.

5.3. Разработка режима пастеризации

В дальнейших исследованиях была изучена эффективность режимов пастеризации и их влияние на органолептические и микробиологические показатели с целью определения рациональных температурно-временных условий пастеризации, обеспечивающих сохранение как органолептических свойств, так и показателей микробиологической безопасности.

Таблица 8 – Органолептические показатели КобМ, ККобМ, КобМ/КорМ в зависимости от режима пастеризации

КобМ	ККобМ	КобМ/КорМ 60/40
Режим пастеризации (65±1)°С, выдержка 1800 с (30 мин)		
Вкус–умеренно выраженный, без посторонних привкусов. Цвет – молочно-белый Консистенция – однородная	Вкус – умеренно выраженный, без посторонних привкусов Цвет – молочно-белый Консистенция – однородная	Вкус – невыраженный Цвет – молочно-белый Консистенция – однородная
Режим пастеризации (68±1)°С, выдержка 1200 с (20 мин)		
Вкус–умеренно выраженный, без посторонних привкусов Цвет – молочно-белый Консистенция – однородная, единичные хлопья белка	Вкус - умеренно выраженный, без посторонних привкусов Цвет – молочно-белый Консистенция – неоднородная, единичные хлопья белка	Вкус – слабовыраженный Цвет – молочно-белый Консистенция – однородная, единичные хлопья белка
Режим пастеризации (72±1)°С, выдержка 600 с (10 мин)		
Вкус - умеренно выраженный, без посторонних привкусов Цвет – молочно-белый Консистенция – однородная, единичные хлопья белка	Вкус - умеренно выраженный, с легким, горьким привкусом Цвет – молочно-белый Консистенция – неоднородная, единичные хлопья белка	Вкус – умеренно выраженный Цвет – молочно-белый Консистенция – однородная, единичные хлопья белка
Режим пастеризации (75±1)°С, выдержка 300 с (5 мин)		
Вкус – умеренно выраженный, со слабым горьким привкусом Цвет – молочно-белый Консистенция – однородная, единичные хлопья белка	Вкус - сильно выраженный с горьким привкусом Цвет – молочно-белый Консистенция – неоднородная, осадок, хлопья белка	Вкус – сильно выраженный Цвет – молочно-белый Консистенция – однородная, единичные хлопья белка
Режим пастеризации (78±1)°С, выдержка 120 с (2 мин)		
Вкус – сильно выраженный Цвет – молочно-белый Консистенция – неоднородная, осадок, хлопья белка	Вкус – сильно выраженный с явным горьким привкусом Цвет – молочно-белый Консистенция – неоднородная, осадок, хлопья белка	Вкус – сильно выраженный с горьким привкусом Цвет – молочно-белый Консистенция – однородная, единичные хлопья белка

Из таблицы 8 следует, что наилучшие органолептические показатели отмечены во всех образцах при температуре пастеризации (65±1°С с выдержкой 1800 с (30 мин). Наибольшие негативные изменения в органолептических показателях выявлены при температуре пастеризации выше (68±1)°С и продолжительности выдержки более 1200 с (20 мин). В КобМ проявился привкус горечи и отмечены единичные хлопья белка. Аналогичные изменения зафиксированы в ККобМ и КобМ/КорМ.

С учетом значительных изменений во вкусе, запахе и консистенции КобМ при температурах (75±1)°С и (78±1)°С в дальнейших исследованиях была изучена эффективность режимов пастеризации (65±1)°С, (68±1)°С и (72±1)°С и их влияние на органолептические и микробиологические показатели с целью определения оптимальных температурно-временных условий термической обработки, обеспечивающей сохранение как органолептических свойств, так и показателей безопасности. Результаты проведенных исследований представлены в таблице 9.

Таблица 9 – Контроль режимов пастеризации исследуемых образцов

Показатель	КобМ	ККобМ	КобМ/КорМ
Режим пастеризации (65±1)°С, выдержка 1800 с (30 мин)			
КМАФАнМ, КОЕ/см^3	1×10^3	1×10^3	1×10^3
БГКП (коли-формы)	Не обнаружены в 0,1 см^3	Не обнаружены в 0,1 см^3	Не обнаружены в 0,1 см^3
Режим пастеризации (68±1)°С, выдержка 1200 с (20 мин)			
КМАФАнМ, КОЕ/см^3	$\leq1\times10^3$	$\leq1\times10^3$	$\leq1\times10^3$
БГКП (коли-формы)	Не обнаружены в 0,1 см^3	Не обнаружены в 0,1 см^3	Не обнаружены в 0,1 см^3
Режим пастеризации (72±1)°С , выдержка 600 с (10 мин)			
КМАФАнМ, КОЕ/см^3	$\leq1\times10^3$	$\leq1\times10^3$	$\leq1\times10^3$
БГКП (коли-формы)	Не обнаружены в 0,1 см^3	Не обнаружены в 0,1 см^3	Не обнаружены в 0,1 см^3

Анализ влияния температурно-временных режимов пастеризации на микробиологические показатели бактерий группы кишечной палочки установил, что все результаты не превышали нормируемые показатели.

При производстве кисломолочных продуктов к молоку предъявляют повышенные микробиологические требования и, как правило, применяют высокотемпературные режимы пастеризации. Проведены исследования по влиянию двухступенчатой пастеризации, включающей режим предварительной термизации молока с последующей органолептической и микробиологической оценкой (рисунок 21, таблица 10).

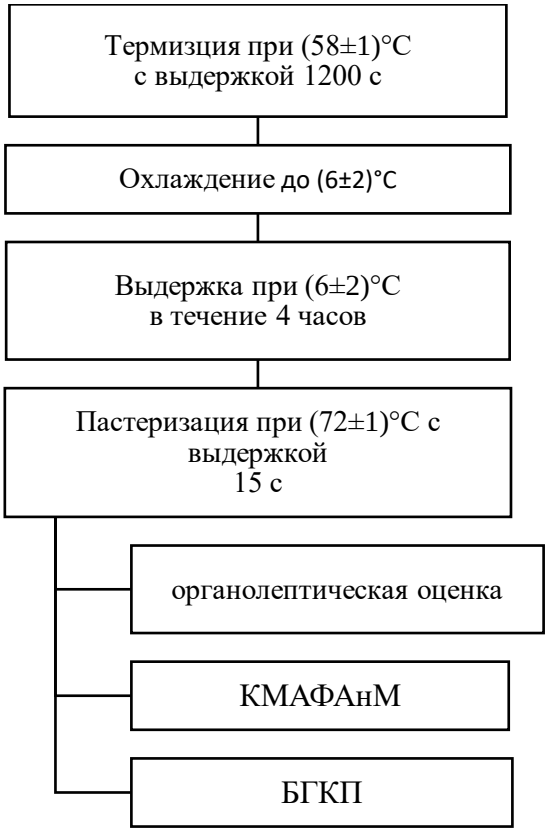


Рисунок 21 – Схема контроля режима двухступенчатой пастеризации

Низкотемпературная (65±1)°С пастеризация с длительной выдержкой не технологична и в настоящее время в производстве практически не применяется. Альтернативой является применение двухступенчатой пастеризации КобМ.

Таблица 10 – Результаты контроля режимов двухступенчатой пастеризации

Показатель	КобМ	ККобМ	КобМ/КорМ
Режим пастеризации (72±1)°С с выдержкой 15 с			
Органолептическая оценка	Вкус умеренно выраженный, цвет молочно-белый, консистенция однородная	Вкус умеренно выраженный, цвет молочно-белый, консистенция однородная	Вкус невыраженный, цвет молочно-белый, консистенция однородная
КМАФАнМ, КОЕ/см^3	$\leq 1\times10^3$	$\leq 1\times10^3$	$\leq 1\times10^3$
БГКП (коли-формы)	Не обнаружено в 0,1 см^3	Не обнаружено в 0,1 см^3	Не обнаружено в 0,1 см^3

Эксперименты подтвердили, что режим двухступенчатой пастеризации, включающей термизацию при (58±1)°С с выдержкой 1200 с (20 мин) с последующим охлаждением до (6±2)°С в течение 4 ч, затем пастеризацией при (72±1)С° с выдержкой 15 с, позволяет достичь эффективности и при этом сохранить органолептические свойства.

ГЛАВА 6. Исследование ферментативных процессов в кобыльем молоке под действием подобранной микрофлоры закваски

Проведены исследования по разработке двух кисломолочных продуктов в соответствии с выявленными потребительскими предпочтениями и разработанными медико-биологическими требованиями.

6.1. Изучение кислотообразующей активности *Lactobacillus rhamnosus F, Streptococcus thermophilus, Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* на различных основах доя сквашивания

При подборе комбинации бактериальных заквасок изучены процесс ферментации КобМ, ККобМ и КобМ/КорМ молочнокислыми бактериями *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus, Lactobacillus delbrueckii ssp.*

bulgaricus и пробиотическим штаммом *Lactobacillus rhamnosus* F (приложение 2), изменение активной кислотности, продолжительность сквашивания.

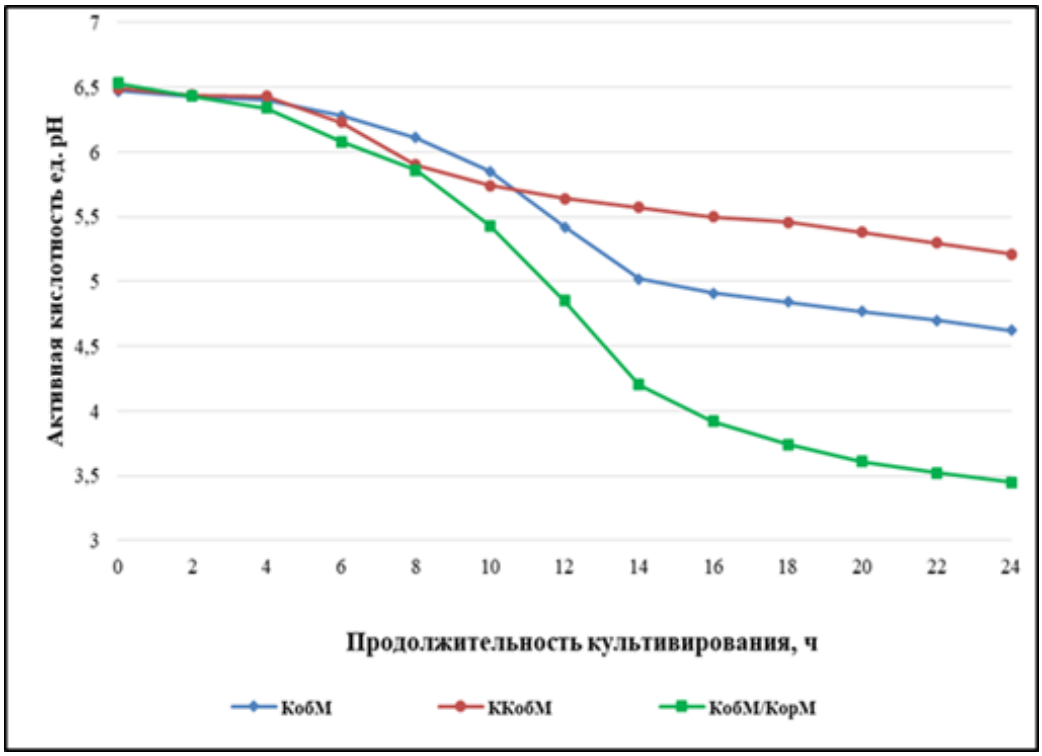


Рисунок 22 – Динамика изменения кислотообразующей активности *L. bulgaricus* в зависимости от основы для сквашивания

Кислотообразующая активность культуры *L. bulgaricus* изменялась в зависимости от основы для сквашивания. Наибольшее снижение активной кислотности было при культивировании штамма *L. bulgaricus* на КобМ/КорМ. Через 12 ч и 24 ч снижение значения активной кислотности составило (4,28±0,02) ед. pH и (3,51±0,01) ед. pH. При культивировании на ККобМ и на КобМ изменение активной кислотности через 12 ч составило (5,48±0,01) ед. pH и (5,65±0,02) ед. pH соответственно, а через 24 ч снижение значение активной кислотности составило (5,25±0,01) ед. pH и (4,55±0,01) ед. pH. Представленные результаты (рисунок 22) показывают, что культура *L. bulgaricus* обладает высоким технологическим свойством в области ведения микробиологического процесса сквашивания при производстве кисломолочных продуктов на основе КобМ и КобМ/КорМ.

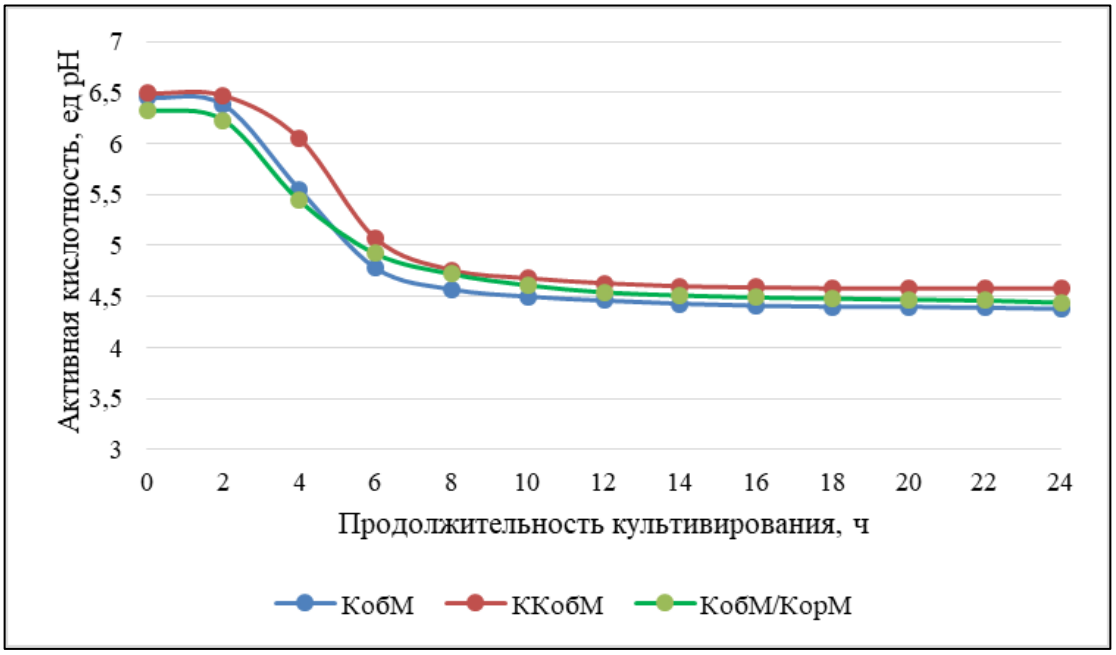


Рисунок 23 – Динамика изменения кислотообразующей активности *S. thermophilus* в зависимости от основы для сквашивания

При культивировании штамма *S. thermophilus* на КобМ, ККобМ и КобМ/КорМ через 12 и 24 ч снижение значения активной кислотности варьировалось незначительно и составляла (4,51±0,01) ед. pH. Представленные результаты (рисунок 23) показывают, что культура *S. thermophilus* обладает высоким технологическим свойством в области ведения микробиологического процесса сквашивания при производстве кисломолочных продуктов на основе КобМ.

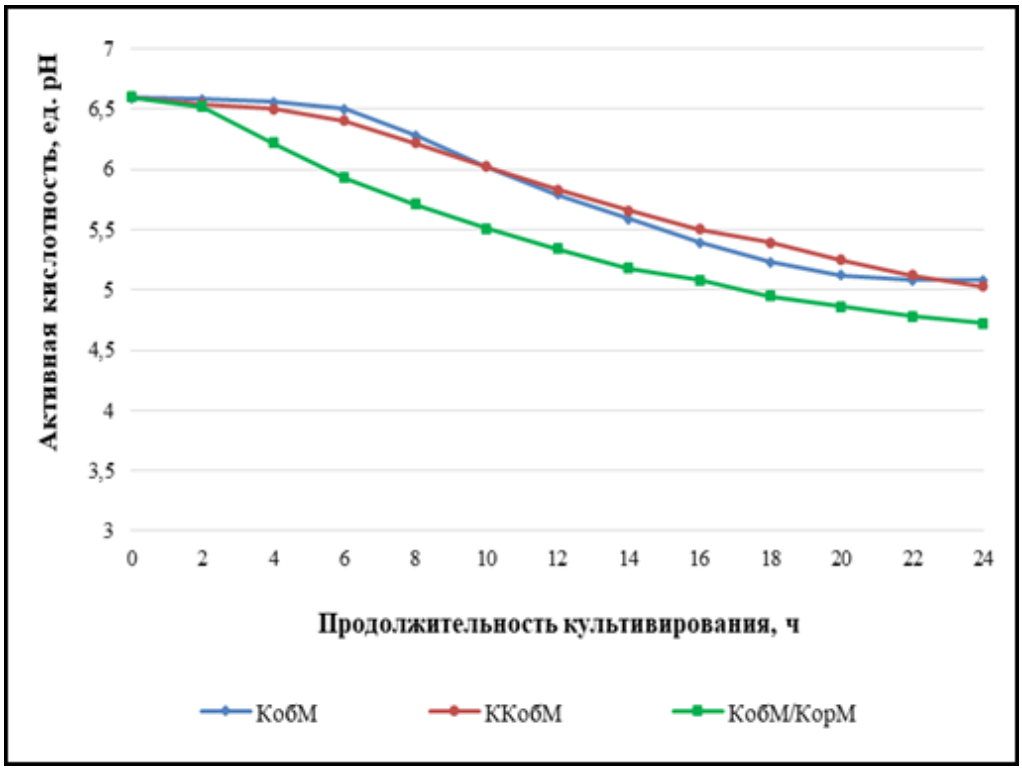


Рисунок 24 – Динамика изменения кислотообразующей активности *L. rhamnosus* F в зависимости от основы для сквашивания

Результаты проведенных исследований (рисунок 24) показали, что при сквашивании ККобМ *L. rhamnosus* F активная кислотность через 24 ч снижалась только до значения (5,03±0,02) ед. pH, а при сквашивании ККобМ/КорМ активность кислотообразования была выше: через 12 ч значение активной кислотности составило (5,34±0,03) ед. pH, а через 24 ч – (4,72±0,01) ед. pH.

Представленные результаты показывают, что культура *L. rhamnosus* F не обладает высоким технологическим потенциалом в области ведения микробиологического процесса сквашивания при производстве кисломолочных продуктов на основе КобМ, и ее использование возможно при комбинации с другими заквасочными культурами.

6.2. Обоснование комбинации бактериальной закваски и режимов ферментации кобыльего молока

Для разработки технологии получения продукта функциональной направленности, обладающего высокими технологическими, и органолептическими характеристиками был проведен комплекс исследовательский работ по разработке технологических режимов и параметров сквашивания. При обосновании комбинации бактериальной закваски для кисломолочного продукта необходимо подобрать соотношение культур, исследовать активность кислотообразования и динамику изменения количества клеток в процессе сквашивания при внесении различных доз инокулята, а также провести органолептическую оценку полученных образцов.

На основании полученных данных по кислотообразующей активности для дальнейших исследований использовали комбинированную бактериальную закваску. В качестве основной кислотообразующей культуры применяли готовую производственную закваску, традиционно используемую в производстве кисломолочный продуктов, *S. thermophilus* и *L. bulgaricus*, которая составила 1 часть от закваски, и пробиотический штамм *L. rhamnosus* F – 2, 4 и 6 частей от закваски.

Доза вносимого инокулята варьировалась и составила 5 и 7%, температура культивирования (37±1)°С.

Общее содержание белка в КобМ в 1,5 раза меньше чем в КорМ, при этом основная доля приходится на сывороточные белки. При сквашивании КобМ не образует плотного сгустка, в связи с чем сухие вещества КобМ были увеличены до 15% за счет внесения сухого КобМ. Для дальнейших исследований использовались две основы: кобылье молоко с повышенным содержанием сухих веществ и кобылье молоко с добавлением коровьего.

На основании проведенных ранее исследований использовали двухступенчатую пастеризацию основ, включающую в себя термизацию при

(58±1)°С с выдержкой 1200 с (20 мин) с последующим охлаждением до 6±2°С в течение 4 ч, затем пастеризацией при (72±1)°С с выдержкой 15 с.

На рисунках 25–27 и в таблице 11 представлены данные изменения активной кислотности ККобМ и Кобм/КорМ при различных дозах инокулята и соотношений культур в закваске.

Таблица 11 – Изменение активной кислотности ККобМ и КобМ/КорМ при сквашивании разными дозами инокулята с различным соотношением культур

Варьируемый фактор			Активная кислотность, ед. pH				
Доза иноку-лята, %	Основа для сквашивания	Соотношение штаммов	0	2	4	6	8
5	ККобМ	1:2	6,79	6,41	5,79	4,87	4,53
		1:4	6,78	6,47	6,01	4,93	4,55
		1:6	6,83	6,56	6,23	5,22	4,71
7	КобМ/КорМ	1:2	6,72	6,37	5,73	4,82	4,53
		1:4	6,73	6,49	6,03	5,13	4,67
		1:6	6,75	6,56	6,2	5,41	4,8
5	ККобМ	1:2	6,44	6,26	5,38	4,75	4,56
		1:4	6,46	6,33	5,58	4,8	4,63
		1:6	6,48	6,37	5,75	4,85	4,65
7	КобМ/КорМ	1:2	6,38	6,21	5,2	4,6	4,44
		1:4	6,40	6,23	5,26	4,63	4,46
		1:6	6,42	6,34	5,38	4,68	4,54

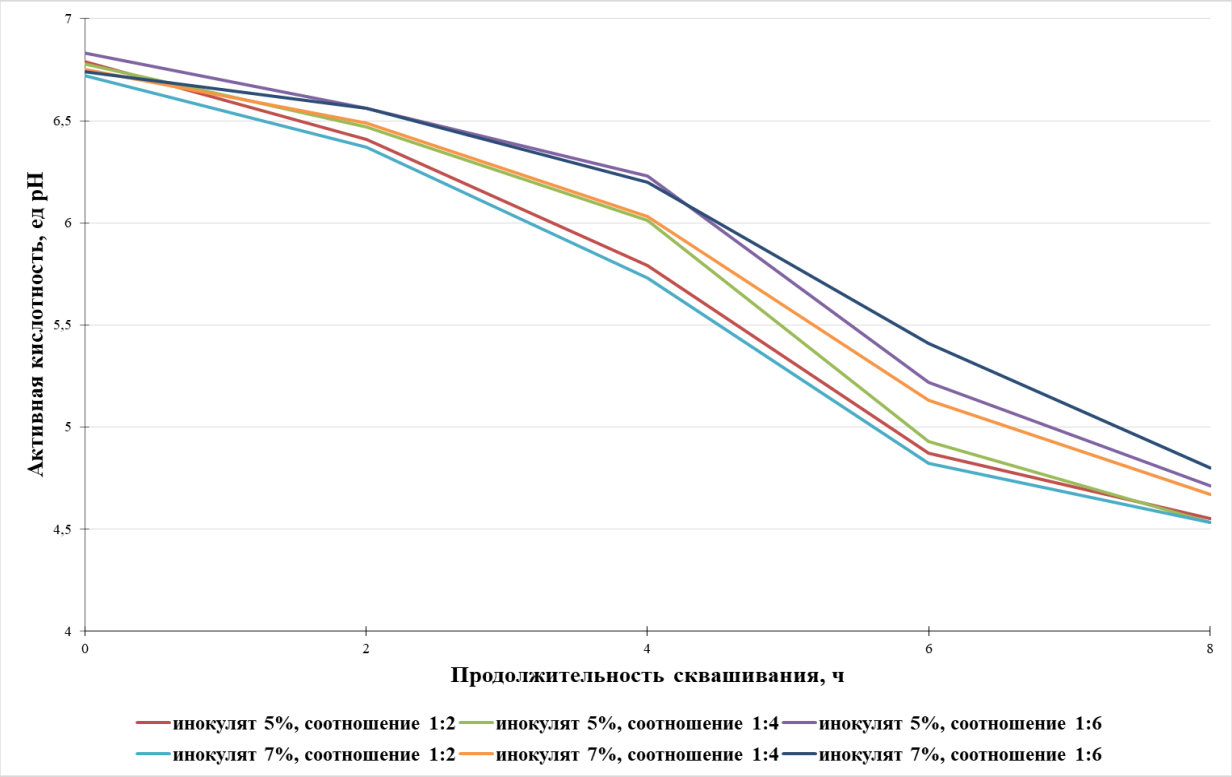


Рисунок 25 – Изменение активной кислотности при сквашивании ККобМ при различных дозах инокулята и соотношениях культур в закваске

Как видно из графика (рисунок 25), при внесении 5 и 7% инокулята и соотношении культур 1:2, а также при внесении 5% инокулята и соотношении 1:4 через 8 ч сквашивания ККобМ активная кислотность достигала значения (4,53±1) ед. pH. Однако при внесении 7% инокулята и соотношении 1:4 через 8 ч сквашивания ККобМ кислотность достигала значения (4,67±1) ед. pH. Более низкую кислотообразующую активность при сквашивании ККобМ показало соотношение 1:6 при внесении 5 и 7% инокулята, значение активной кислотности составило (4,71±1) ед. pH и (4,9±1) ед. pH соответственно.

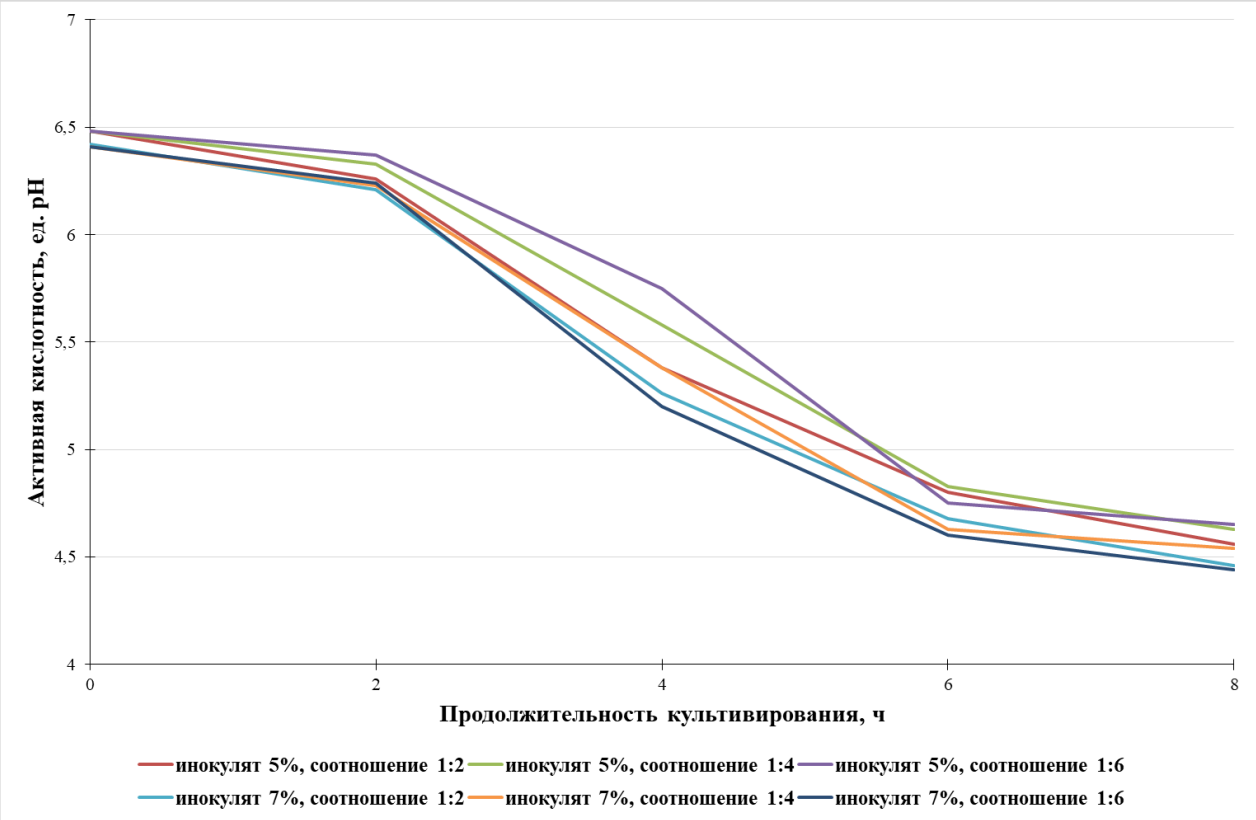


Рисунок 26 – Изменение активной кислотности при сквашивании КобМ/КорМ при различных дозах инокулята и соотношениях культур в ассоциации

Данные, представленные на рисунке 26 показывают, что при сквашивании КобМ/КорМ при различных дозах инокулята и соотношениях культур в комбинации во всех образцах через 6,5 ч сквашивания значение активной кислотности варьировалось в диапазоне значений 4,6–4,83 ед. pH, а через 8 ч составляло 4,44 – 4,65 ед. pH. Добавление КорМ увеличивало активность кислотообразования, продолжительность сквашивания сократилась на 1,5 ч

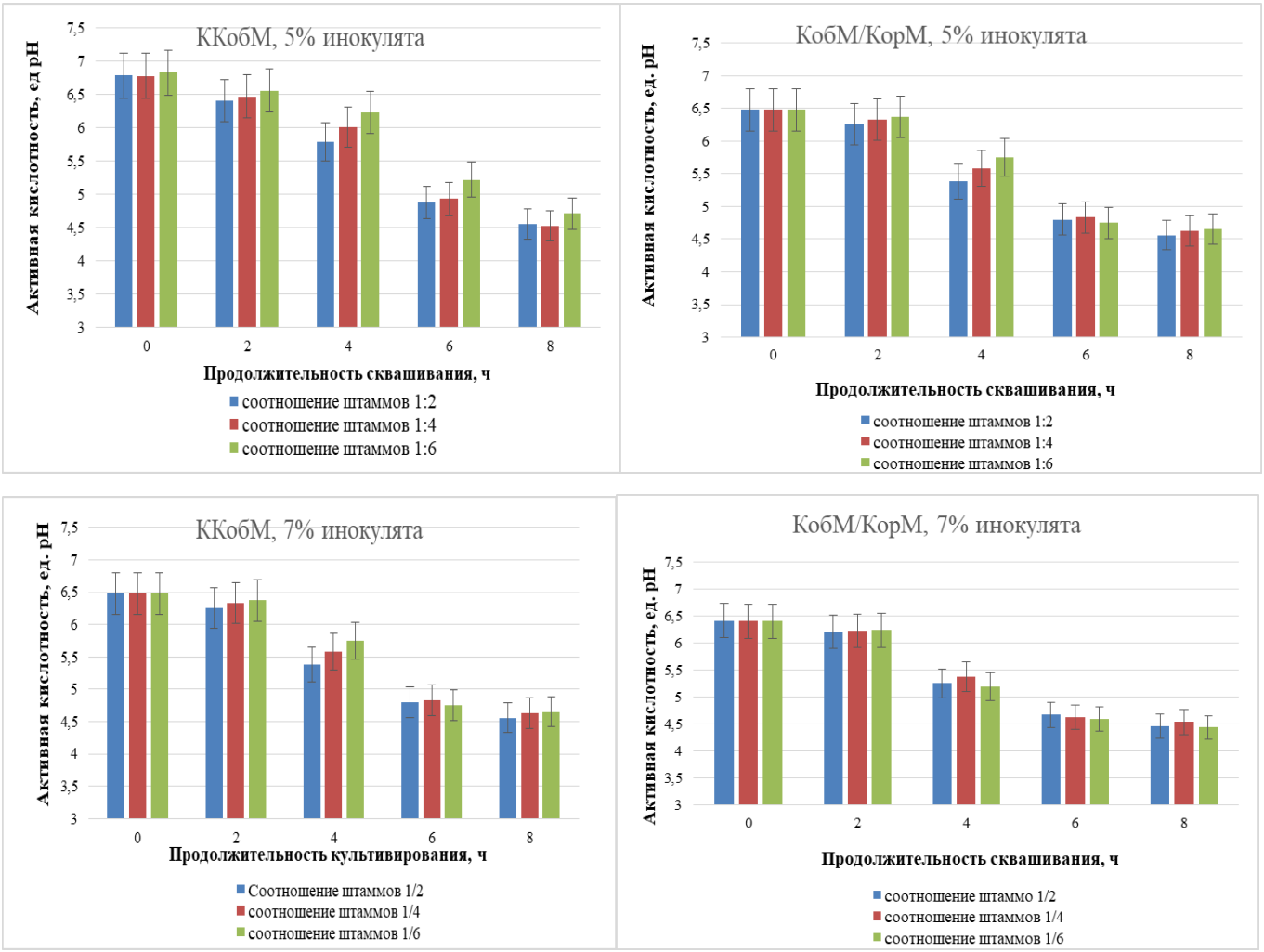


Рисунок 27 – Динамика изменения титруемой кислотности при различных дозах инокулята и соотношениях культур в ассоциации при сквашивании ККобМ и КобМ/КорМ

Помимо определения активности кислотообразования также определяли динамику развития клеток *S. thermophilus* и *L. bulgaricus* и пробиотического штамма *L. rhamnosus* F в процессе сквашивания ККобМ и КобМ/КорМ в зависимости от дозы инокулята и соотношения штаммов в закваске. Данные представлены в таблицах 12 и 13.

Таблица 12 – Динамика изменения количества клеток *S. thermophilus* и *L. bulgaricus*

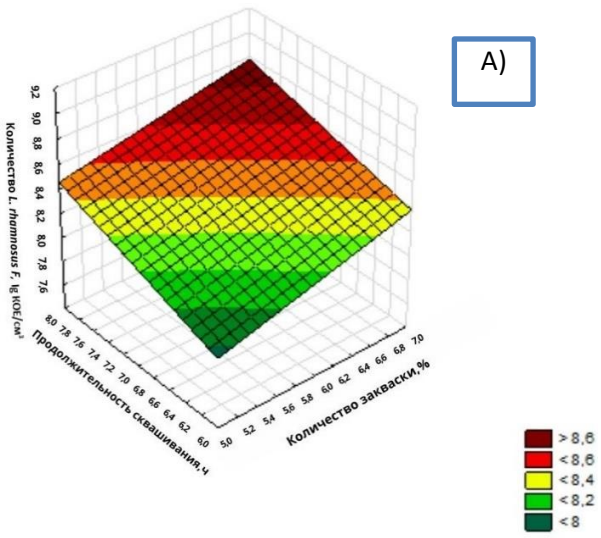
Варьируемый фактор			Количество клеток *S. thermophilus* и *L. bulgaricus*, КОЕ/см^3				
Доза иноку-лята, %	Основа для сквашивания	Соотно-шение штаммов	0	2	4	**6**	**8**
5	ККобМ	1:2	$2,5\times10^7$	3×10^7	7×10^7	$2,5\times10^8$	$1,1\times10^8$
		1:4	$1,1\times10^7$	$2,5\times10^7$	6×10^7	$1,1\times10^8$	$2,5\times10^8$
		1:6	5×10^6	7×10^6	$1,1\times10^7$	$2,5\times10^7$	$1,1\times10^8$
7	ККобМ	1:2	6×10^7	$1,1\times10^7$	7×10^7	7×10^8	6×10^8
		1:4	$2,5\times10^7$	$1,1\times10^7$	$2,5\times10^7$	$2,5\times10^8$	7×10^8
		1:6	$1,1\times10^7$	$1,1\times10^7$	7×10^7	$1,1\times10^8$	7×10^8
5	КобМ/ КорМ	1:2	$2,5\times10^7$	7×10^7	$2,5\times10^8$	7×10^8	$2,5\times10^8$
		1:4	$1,1\times10^7$	6×10^7	$2,5\times10^8$	7×10^8	7×10^8
		1:6	5×10^6	7×10^7	$1,1\times10^8$	6×10^8	7×10^8
7	КобМ/ КорМ	1:2	6×10^7	$1,1\times10^8$	7×10^8	$1,1\times10^9$	7×10^8
		1:4	$2,5\times10^7$	7×10^7	$2,5\times10^8$	7×10^8	7×10^8
		1:6	$1,1\times10^7$	$1,1\times10^7$	$2,5\times10^7$	$1,1\times10^8$	7×10^8

В соответсвии с таблицей 12, при внесении в ККобМ и КобМ/КорМ инокулята в количестве 5 и 7% с соотношением штаммов 1:2, наибольшее количество клеток *S. thermophilus* и *L. bulgaricus* накапливается через 6 ч сквашивания, а затем количество клеток *S. thermophilus* и *L. bulgaricus* незначительно снижается. При использовании для сквашивания инокулята с соотношением штаммов 1:4 и 1:6, наибольшее количество клеток наилучшими условиями для развития *S. thermophilus* и *L. bulgaricus* накапливалось через 8 ч во всех образцах и составляло 7×10^8 КОЕ/см^3.

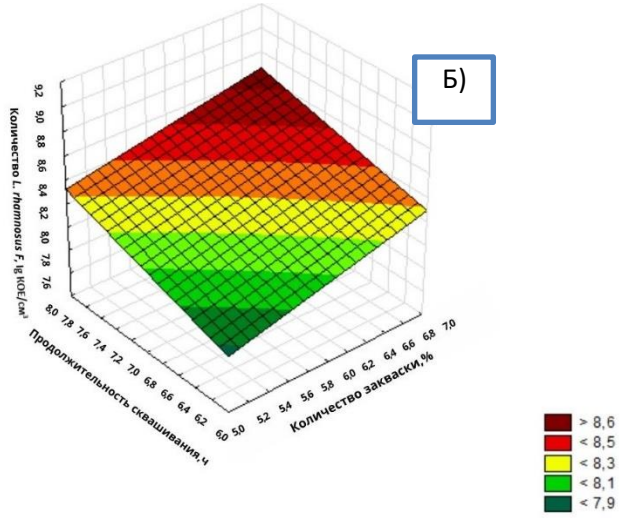
Таблица 13 – Динамика изменения количества клеток *L. rhamnosus* F

Варьируемый фактор			Количество клеток *L. rhamnosus F*, КОЕ/см^3				
Доза иноку-лята, %	Основа для сквашивания	Соотно-шение штаммов	0	2	4	6	8
5	ККобМ	1:2	$1,4\times10^7$	$1,8\times10^7$	2×10^7	$3,8\times10^7$	9×10^7
		1:4	2×10^7	3×10^7	$3,3\times10^7$	$5,1\times10^7$	$1,8\times10^8$
		1:6	3×10^7	$4,7\times10^7$	$9,5\times10^7$	$1,3\times10^8$	3×10^8
7	ККобМ	1:2	$2,1\times10^7$	3×10^7	$5,8\times10^7$	$1,2\times10^8$	$1,8\times10^8$
		1:4	$3,7\times10^7$	5×10^7	$6,2\times10^7$	$1,6\times10^8$	5×10^8
		1:6	$5,7\times10^7$	6×10^7	$8,2\times10^7$	$2,6\times10^8$	6×10^8
5	КобМ/ КорМ	1:2	$1,4\times10^7$	$2,4\times10^7$	5×10^7	7×10^7	$1,2\times10^8$
		1:4	2×10^7	5×10^7	8×10^7	$1,2\times10^8$	$2,8\times10^8$
		1:6	3×10^7	8×10^7	$1,6\times10^8$	$2,1\times10^8$	$4,2\times10^8$
7	КобМ/ КорМ	1:2	$2,1\times10^7$	$3,5\times10^7$	$8,6\times10^7$	$2,3\times10^8$	$2,1\times10^8$
		1:4	$3,7\times10^7$	8×10^7	$1,5\times10^8$	3×10^8	7×10^8
		1:6	$5,7\times10^7$	$1,8\times10^8$	2×10^8	$4,2\times10^8$	$9,5\times10^8$

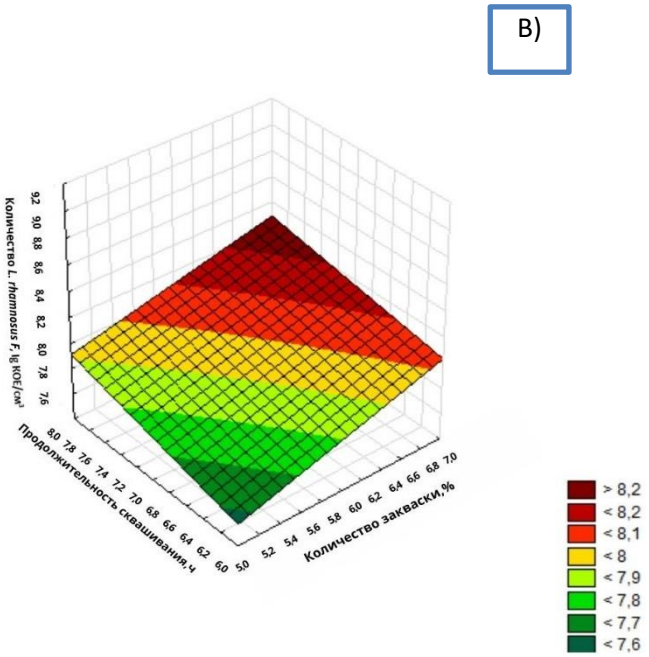
Данные по изменению количества клеток *L. rhamnosus* F в процессе сквашивания представлены на рисунках 28 и 29.



z = 4,85 + 0,33 x + 0,35 y – 0,02 x y



z = 4,83 + 0,33 x + 0,33 y – 0,02 x y



z = 4,75 + 0,35 x + 0,27 y – 0,02 x y

Рисунок 28 – Динамика продолжительности сквашивания в зависимости от количества пробиотического штамма *L. rhamnosus* F при сквашивании основы на ККобМ при различном соотношении культур в бактериальной закваске:

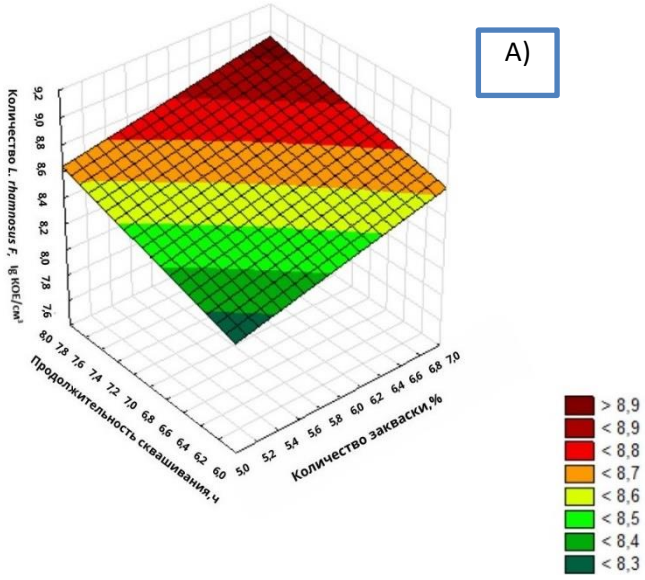
А – 1 часть закваски *S. thermophilus* и

Б – 1 часть закваски *S. thermophilus* и *bulgaricus* и 4 части *L. rhamnosus* F (1:4);

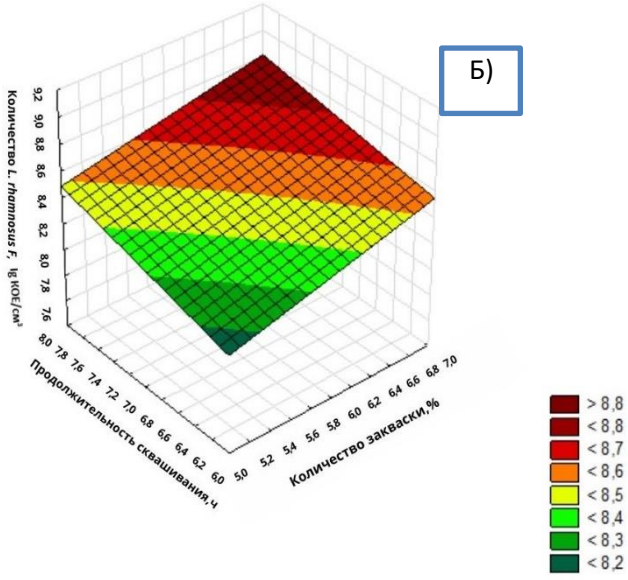
В – 1 часть закваски *S. thermophilus* и *bulgaricus* и 2 части *L. rhamnosus* F (1:2)

Как видно из рисунков 28 и 29, при соотношении штаммов 1:6, количество клеток *L. rhamnosus* F в процессе сквашивания ККобМ статистически значимо увеличивается по сравнению с соотношением 1:2. Так, при внесении 5% инокулята с соотношением штаммов 1:2 при сквашивании ККобМ, количество клеток *L. rhamnosus* F через 8 ч сквашивания достигает 9×10^7 КОЕ/см^3, а при соотношении штаммов 1:6 – 3×10^8 КОЕ/см^3. Такая же тенденция прослеживается при сквашивании Кобм/КорМ. При сквашивании КобМ/КорМ инокулята в количестве 5% с соотношением штаммов 1:2

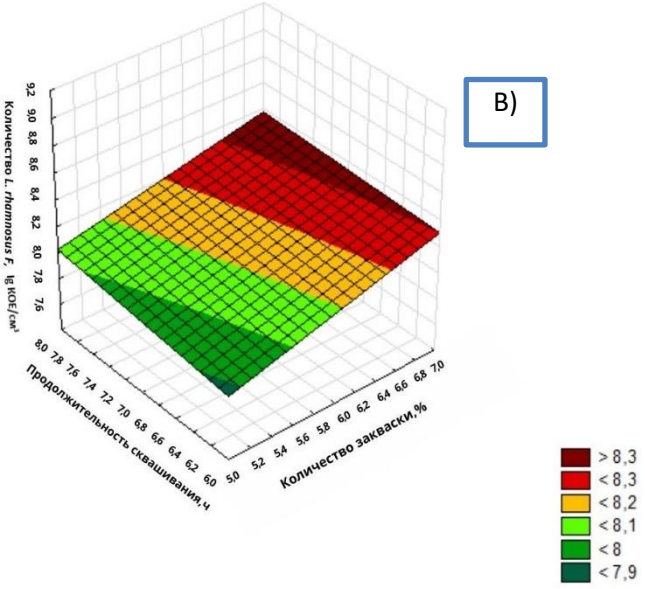
количество клеток *L. rhamnosus* F через 8 ч сквашивания достигает 1,2×10^8 КОЕ/см^3, а при соотношении штаммов 1:6 – 4,2×10^8 КОЕ/см^3. При внесении 7% закваски с соотношением культур 1:6 через 8 ч сквашивания количество клеток *L. rhamnosus* F составило 7×10^8 КОЕ/см^3 при сквашивании основы на ККобМ и 9,5×10^8 КОЕ/см^3 при сквашивании основы на КобМ/КорМ.



z = 5,47+0,31x+0,29 y-0,02 x y



z = 5,55 + 0,31 x + 0,26 y - 0,02 x y



z = 5,82 + 0,32 x + 0,16 y – 0,02 x y

Рисунок 29 – Динамика продолжительности сквашивания в зависимости от количества пробиотического штамма *L. rhamnosus* F при сквашивании основы на КобМ/КорМ при различном соотношении культур в бактериальной закваске:
А – 1 часть закваски *S. thermophilus* и *L. bulgaricus* и 6 частей *L. rhamnosus* F (1:6);
Б – 1 часть закваски *S. thermophilus* и *L. bulgaricus* и 4 части *L. rhamnosus* F (1:4);
В – 1 часть закваски *S. thermophilus* и *L. bulgaricus* и 2 части *L. rhamnosus* F (1:2)

При определении оптимальных параметров процесса производства кисломолочного продукта необходимо учитывать органолептические показатели (таблица 14).

Таблица 14 – Органолептические показатели кисломолочных продуктов

Доза иноку-лята,%	Основа для сквашивания	Соотно-шение штаммов	Органолептические показатели
5	ККобМ	1:2	Вкус – сильно выраженный с горьким привкусом. Цвет – молочно-белый. Консистенция – однородная, с нарушенным сгустком
		1:4	Вкус – сильно выраженный с горьким привкусом. Цвет – молочно-белый. Консистенция – однородная, с нарушенным сгустком
		1:6	Вкус – сильно выраженный с горьким привкусом. Цвет – молочно-белый. Консистенция – однородная, с нарушенным сгустком
5	КобМ/КорМ	1:2	Вкус – невыраженный, со сладким привкусом. Цвет – молочно-белый. Консистенция – однородная, с нарушенным сгустком
		1:4	Вкус – невыраженный, со сладким привкусом Цвет – молочно-белый. Консистенция – однородная, с нарушенным сгустком
		1:6	Вкус – невыраженный. Цвет – молочно-белый Консистенция – однородная, с нарушенным сгустком
7	ККобМ	1:2	Вкус – умеренно выраженный, с вяжущим привкусом. Цвет – молочно-белый. Консистенция – однородная, с нарушенным сгустком
		1:4	Вкус – умеренно выраженный. Цвет – молочно-белый. Консистенция – однородная, с нарушенным сгустком
		1:6	Вкус – сильно выраженный. Цвет – молочно-белый Консистенция – однородная, с нарушенным сгустком
7	КобМ/КорМ	1:2	Вкус – невыраженный с сладким привкусом. Цвет – молочно-белый. Консистенция – однородная, вязкая, с ненарушенным сгустком
		1:4	Вкус – невыраженный с сладким привкусом. Цвет – молочно-белый. Консистенция – однородная, вязкая, с ненарушенным сгустком
		1:6	Вкус – невыраженный. Цвет – молочно-белый. Консистенция – однородная, вязкая, с ненарушенным сгустком

Проведенная органолептическая оценка образцов установила, что наилучшими характеристиками консистенции и вкусовыми качествами обладала комбинация штаммов 1:6 (*S. thermophilus* и *L. bulgaricus* и *L. rhamnosus* F) при сквашивании КобМ/КорМ и комбинация штаммов 1:4 при сквашивании ККобМ.

Выявлено, что при сквашивании ККобМ и КобМ/КорМ разница в количестве клеток *S. thermophilus* и *L. bulgaricus* при добавлении 5 и 7% инокулята вне зависимости от соотношения штаммов через 8 ч сквашивания практически не отличалась, количество клеток молочнокислых бактерий составило 7×10^8КОЕ/см^3. Количество клеток *L. rhamnosus* F при сквашивании ККобМ и КобМ/КорМ увеличивалось в зависимости от соотношения штаммов и дозы вносимого инокулята. Наибольшее количество клеток *L. rhamnosus* F при сквашивании было получено при внесении 7% инокулята с соотношением штаммов 1:4 и 1:6 и составило для ККобМ 5×10^8 КОЕ/см^3 и 6×10^8КОЕ/см^3, а для КобМ/КорМ 7×10^8 КОЕ/см^3 и $9{,}5\times10^8$ КОЕ/см^3 соответственно. Продолжительность сквашивания составляла 7–8 ч как при использовании 5% инокулята, так и 7% инокулята.

Согласно требованиям ТР ТС 033 «Технический регламент Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции» содержание клеток пробиотической культуры в составе кисломолочного продукта должно составлять не менее 1×10^6 КОЕ/см^3. Таким образом, разработанные продукты по содержанию *L. rhamnosus* F соответствует предъявляемым требованиям к продуктам с пробиотическими культурами.

На основании проведенных исследований для производства кисломолочных продуктов были установлены следующие технологические параметры:

– для ККобМ доза инокулята 7%, соотношение культур в закваске 1:4, продолжительность сквашивания 8 ч;

– для ККобМ/КорМ доза инокулята 7%, соотношение культур в закваске – 1:6, продолжительность сквашивания 6,5 ч.

6.3. Исследование хранимоустойчивости кисломолочных продуктов

На следующем этапе были проведены исследования хранимоустойчивости кисломолочных продуктов.

Для проведения исследований были выработаны две партии кисломолочных продуктов:

Партия №1 – ККобМ;

Партия №2 – КобМ/КорМ.

Первоначальное содержание *L. rhamnosus* F в образцах кисломолочных продуктов составляло для образцов ККобМ $3{,}7\times10^7$ КОЕ/см^3, а для образцов КобМ/КорМ $5{,}7\times10^7$ КОЕ/см^3. Первоначальное содержание молочнокислых микроорганизмов составляло 7×10^8 КОЕ/см^3 для кисломолочных продуктов на основе ККобМ и КобМ/КорМ.

Данные по динамике изменения количества клеток пробиотических штамма *L. rhamnosus* F в процессе хранения выработанных образцов кисломолочных продуктов представлены на рисунке 30.

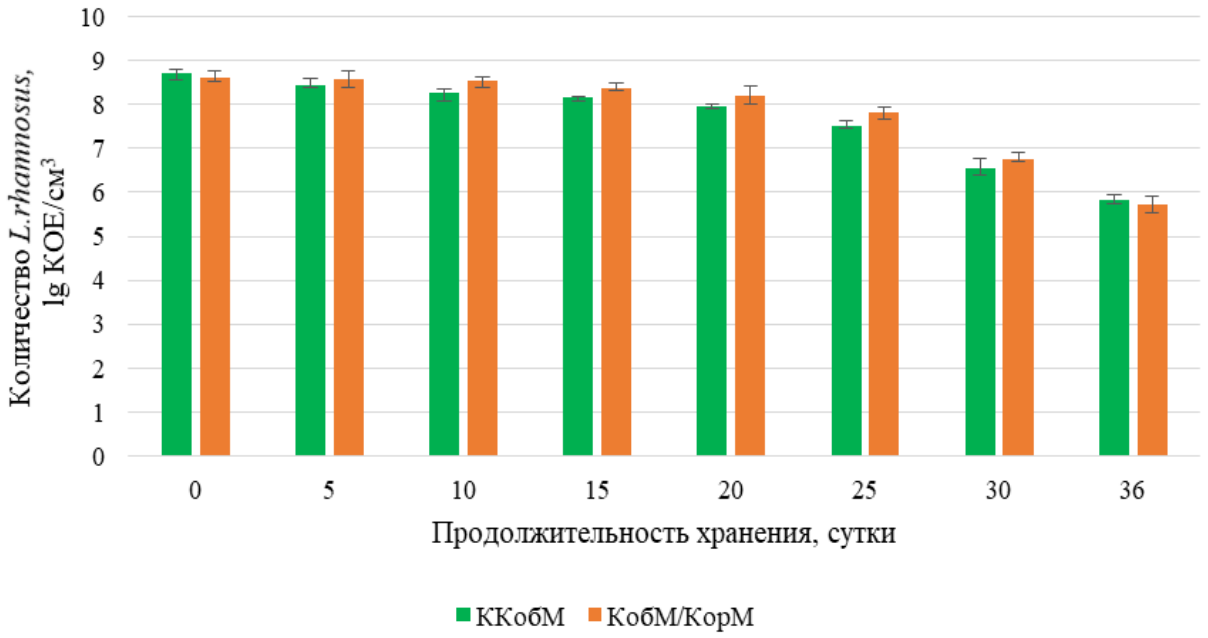


Рисунок 30 – Данные по динамике изменения количества клеток *L. rhamnosus* F в процессе хранения опытных партий кисломолочных продуктов

Исходя из проведенных исследований количество клеток *L. rhamnosus* F снижается ниже допустимых для пробиотических продуктов значений только через 36 суток хранения и составляет $6,7\times10^5$ КОЕ/см^3.

Таблица 15 – Динамика изменения количества клеток молочнокислых микроорганизмов в процессе хранения продуктов при температуре (4±2)°С

Продолжительность хранения, сутки	Количество молочнокислых микроорганизмов (*S. thermophilus* и *L. bulgaricus*), КОЕ/см^3	
	КП на основе ККобМ	КП на основе КобМ/КорМ
0	7×10^8	7×10^8
5	7×10^8	7×10^8
10	7×10^8	7×10^8
15	$1,1\times10^8$	7×10^8
20	$1,1\times10^8$	$1,1\times10^8$
25	6×10^7	5×10^7
30	2×10^7	2×10^7
36	5×10^6	6×10^6

Результаты исследований молочнокислых бактерий (*S. thermophilus* и *L. bulgaricus)* в процессе хранения кисломлочных продуктов показали, что через 36 суток хранения (таблица 15) 5×10^6КОЕ/см^3 для ККобМ и 6×10^6 КОЕ/см^3 для КобМ/КорМ.

Требования ТР ТС 033/2013 предъявляемые к продуктам с пробиотическими культурами, регламентируют содержание молочнокислых бактерий в продукте не менее 10^7 КОЕ/см^3 и пробиотических бактерий не менее 10^6 КОЕ/см^3. Результаты проведенных исследований показывают, что все опытные партии кисломолочных продуктов по количеству молочнокислых и пробиотических бактерий соответствуют требованиям ТР ТС 033/2013 на 30 сутки хранения.

При хранении опытных партий кисломолочных продуктов проводили исследования по показателям безопасности на соответствие требованиям ТР ТС 033/2013 (таблица 16).

Таблица 16 – Микробиологические показатели безопасности кисломолочных продуктов

Показатель	Продолжительность хранения при температуре (4±2)°С							
	0	5	10	15	20	25	30	36
КП на основе ККобМ								
Бактерии группы кишечных палочек (БГКП)	Отсутствуют в 0,1 $см^3$							
Количество дрожжей, КОЕ/$см^3$, не более	Отсутствуют в 1,0 $см^3$							
Количество плесневых грибов, КОЕ/$см^3$, не более	Отсутствуют в 1,0 $см^3$							
S. aureus в 1 $см^3$	Отсутствуют в 1,0 $см^3$							
Патогенные микроорганизмы, в т.ч. *Salmonella* в 25 $см^3$	Отсутствуют в 25 $см^3$							
КП на основе КобМ/КорМ								
Бактерии группы кишечных палочек (БГКП)	Отсутствуют в 0,1 $см^3$							
Количество дрожжей, КОЕ/$см^3$, не более	Отсутствуют в 1,0 $см^3$							
Количество плесневых грибов, КОЕ/$см^3$, не более	Отсутствуют в 1,0 $см^3$							
S. aureus в 1 $см^3$	Отсутствуют в 1,0 $см^3$							
Патогенные микроорганизмы, в т.ч. *Salmonella* в 25 $см^3$	Отсутствуют в 25 $см^3$							

По результатам проведенных исследований микробиологические показатели кисломолочных продуктов (количество БГКП, патогенные микроорганизмы, в том числе *Salmonella, S. aureus,* дрожжи и плесневые грибы) соответствовали требованиям ТР ТС 033/2013. Исходя из полученных

результатов, рекомендуемый срок годности для кисломлочных продуктов составляет 30 суток.

ГЛАВА 7. Разработка технологии кисломолочных продуктов на основе кобыльего молока

7.1. Технологические режимы производства

Технологический процесс производства кисломолочных продуктов представлен на рисунке 31 и состоит из общепринятых операций, включающих в себя разработанные в данной работе режимы пастеризации и ферментации продуктов на основе ККобМ и КобМ/КорМ:

– приемка и подготовка сырья, подготовка основы для сквашивания;

– гомогенизация, пастеризация и охлаждение нормализованной смеси;

– внесение закваски;

– сквашивание смеси;

– перемешивание и охлаждение,

– розлив, упаковывание, маркирование и доохлаждение готового продукта.

В соответствии с рецептурами для первого продукта в молоко сырое кобылье вносили сухое кобылье молоко и для второго продукта сырое коровье молоко и нормализовали. Нормализованную смесь, подогретую до температуры (50±2)°С, очищали и гомогенизировали.

Затем проводили термизацию смеси при (58±1)°С с выдержкой 1200 с, охлаждали до (6±2)°С с выдержкой 4 ч, и пастеризовали (72±1)°С с выдержкой 15 с. После этого охлаждали до температуры заквашивания (37±1)°С.

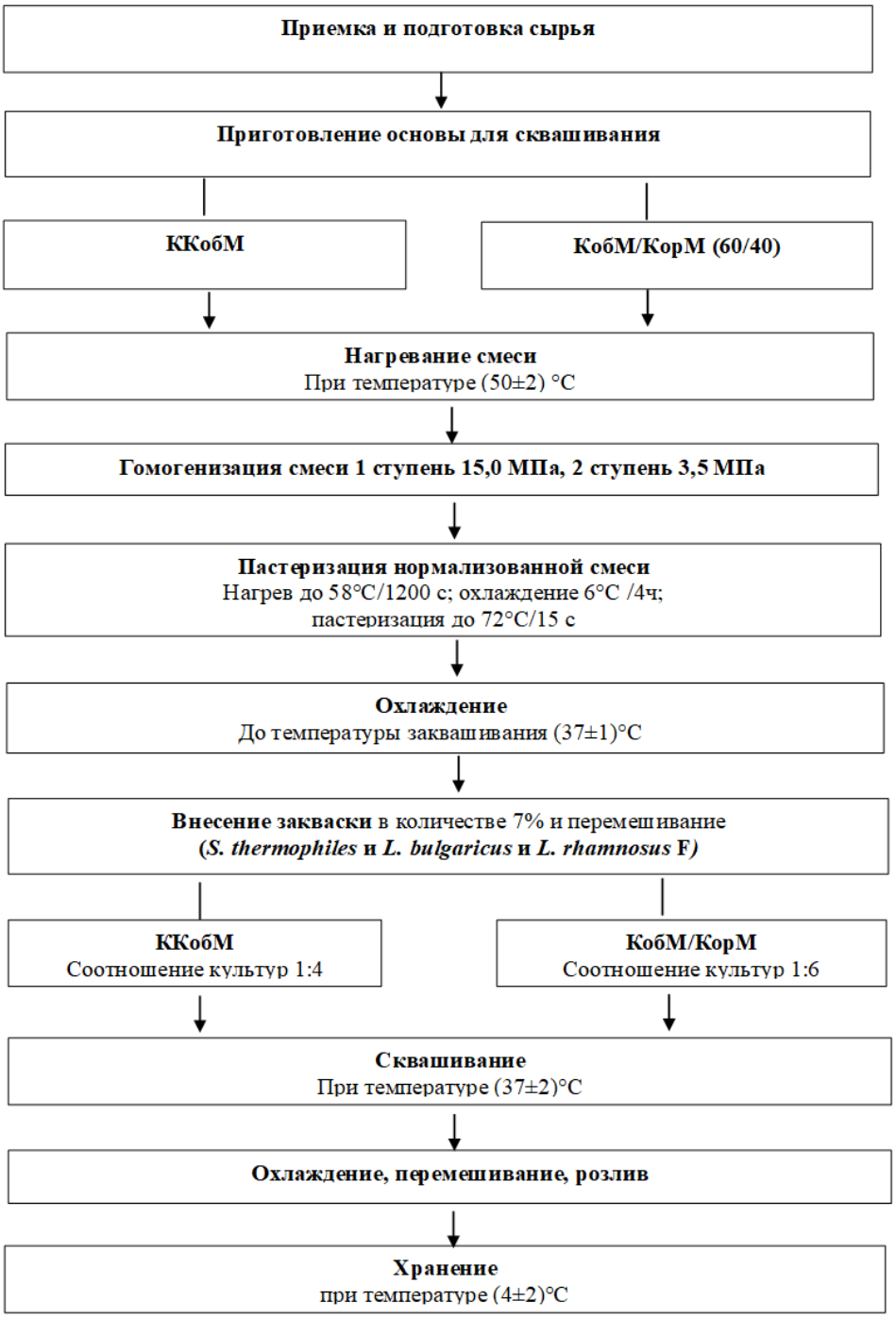


Рисунок 31 – Технологическая схема производства кисломолочных продуктов

Сразу после охлаждения вносили закваску. При производстве кисломолочного продукта доза инокулята составляет 7%; в зависимости от основы сквашивания соотношения штаммов в закваске – 1:4 (при сквашивании кобыльего молока) и 1:6 (при сквашивании кобыльего молока с добавлением

сухого коровьего молока) Приготовление комбинированной закваски, состоящей из L. rhamnosus F, S. thermophilus, L. bulgaricus проводили в соответствии с «Технологической инструкцией по приготовлению и применению заквасок и бактериальных концентратов для кисломолочных продуктов на предприятиях молочной промышленности».

Заквашенную смесь перемешивали в течение (7±2) мин. После чего оставляли в покое до окончания сквашивания. По окончании сквашивания в межстенное пространство резервуара подавали ледяную воду, перемешивали 5–10 мин и продолжали охлаждение до температуры (17±2)°С. Перед розливом продукты снова перемешивали (4±1) мин и разливали в потребительскую упаковку, маркировали.

Упакованные продукты доохлаждали в холодильнике до температуры (4±2)°С, после чего технологический процесс считался законченным.

На основании комплекса проведенных исследований разработана технология производства КП на основе ККобМ и КобМ/КорМ, нормативная документация ТУ 10.51.52-162-00419006-2021 «Пробиотический кисломолочный продукт на основе кобыльего молока» (приложение 3).

7.2. Опытно-промышленная апробация

Осуществлена опытно-промышленная апробация двух продуктов на основе ККобМ и КобМ/КорМ по ТУ 10.51.52-162-00419006-2021 «Пробиотический кисломолочный продукт на основе кобыльего молока».

Для выработки было использовано следующее сырье и компоненты:

– молоко коровье сырое по ГОСТ 31449-2013;
– молоко кобылье сырое ГОСТ Р 52973-2008;
– молоко кобылье сухое ГОСТ Р 52975-2008;
– закваска для кисломолочного продукта (*Streptococcus thermophilus, Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus)* по ТУ 9229-369-00419785-94;

– пробиотический штамм *Lactobacillus rhamnosus* F по ТУ 9229-369-00419785-94.

Проведены исследования органолептических, физико-химических и микробиологических показателей двух кисломолочных продуктов на основе кобыльего молока (таблица 17).

Таблица 17 – Органолептические, физико-химические и микробиологические показатели продуктов

Показатель	Наименование кисломолочного продукта	
	ККобМ	КобМ/КорМ
Массовая доля жира, %	2,0	2,2
Массовая доля белка, %	2,9	2,8
Массовая доля углеводов, %	12,0	6,7
Кислотность, Т	85	90
Внешний вид и консистенция	Однородная, с нарушенным сгустком	Однородная с ненарушенным сгустком
Вкус и запах	Выраженный кобыльего молока	Чистый, кисломолочный
Цвет	Молочно-белый, равномерный по всей массе	Молочно-белый, равномерный по всей массе
Количество молочнокислых микроорганизмов на конец срока годности, КОЕ/см^3	7×10^7 КОЕ/см^3	$1,1\times10^7$ КОЕ/см^3
Количество *L. rhamnosus* F, КОЕ/см^3, не менее	7×10^6 КОЕ/см^3	$5,8\times10^6$ КОЕ/см^3
Количество плесневых грибов, КОЕ/см^3, не более	Отсутствуют в 0,1 см^3	Отсутствуют в 0,1 см^3
Количество дрожжей, КОЕ/см^3, не более	Отсутствуют в 0,1 см^3	Отсутствуют в 0,1 см^3
Бактерии группы кишечных палочек (БГКП)	Отсутствуют в 0,1 см^3	Отсутствуют в 0,1 см^3
Патогенные микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы	Отсутствуют в 0,1 см^3	Отсутствуют в 0,1 см^3
S. aureus	Отсутствуют в 0,1 см^3	Отсутствуют в 0,1 см^3

Результаты опытно-промышленной апробации представлены в актах внедрения на предприятиях ООО «Мясокомбинат «Дороничи», Волковысское ОАО «Беллакт», ГКУ Республики Башкортостан "Управление социального питания" (Приложение 4, 5, 6). Все показатели соответствовали ТУ 10.51.52-162-00419006-2021 «Пробиотический кисломолочный продукт на основе кобыльего молока».

7.3. Исследование функциональных свойств разработанных кисломолочных продуктов методами *in vitro* и *in vivo*

7.3.1. Исследования антиоксидантной и антимикробной активности кисломолочных продуктов методом *in vitro*

Проведены исследования по определению спектра антимикробной активности разработанных кисломолочных продуктов на основе ККобМ и Кобм/КорМ. Данные по антимикробной активности продуктов представлены в таблице 18.

Таблица 18 – Спектр антимикробной активности продуктов

Наименование	Диаметр зоны ингибирования роста тест-культуры, мм		
	S. aureus ATCC 6538	*E. coli* ATCC 25922	*Salmonella typhimurium*
Продукт на основе ККобМ	12,5±0,5	14,0±0,5	12,5±0,5
Продукт на основе КобМ/КорМ	13±0,5	15,0±0,5	13±0,5

Установлено, что наибольшая антимикробная активность разработанных продуктов по отношению к E. coli ATCC 25922. Диаметр зоны ингибирования E. coli ATCC 25922 составил 14±0,5 мм для продукта на основе ККобМ и 15±0,5 мм для продукта на основе КобМ/КорМ. По отношению к S. aureus ATCC 6538 и Salmonella typhimurium ATCC 14028 разработанные

продукты показали одинаковую антимикробную активность, диаметр зоны ингибирования роста тест-штаммов составил 12,5–13 мм. Наличие зон ингибирования роста условно патогенных микроорганизмов позволяют утверждать о наличии высокой антимикробной активности разработанных продуктов.

Результаты определения общей антиоксидантной емкости кисломолочных продуктов методом FRAP представлены на рисунке 32.

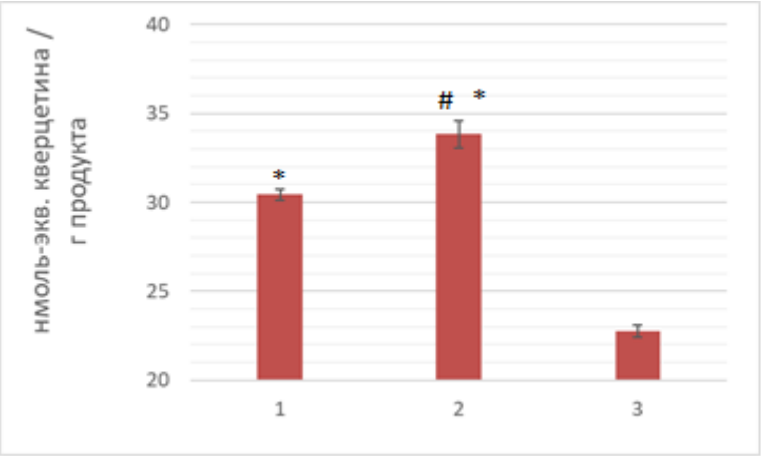


Рисунок 32 – Результаты определения общей антиоксидантной емкости КП методом FRAP: 1 – ККобМ; 2 – КобМ/КорМ; 3 – КорМ

Результаты определения общей свободнорадикальной активности кисломолочных продуктов методом DPPH представлены на рисунке 33.

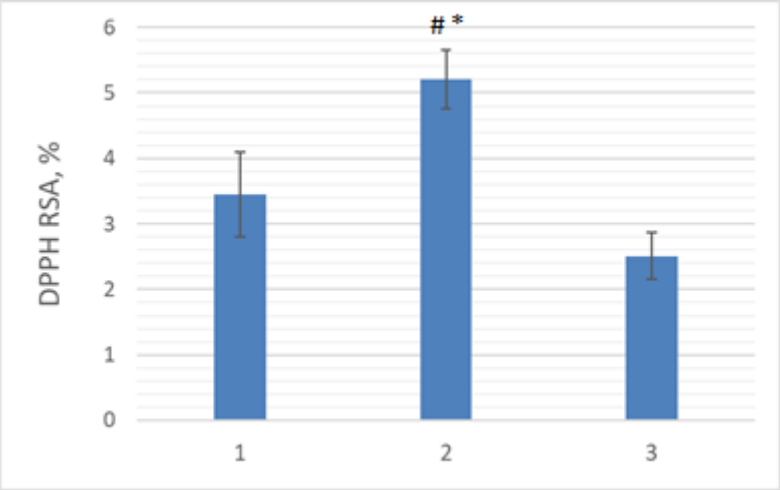


Рисунок 33 – Результаты определения свободнорадикальной активности КП методом DPPH: 1 – ККобМ; 2 – КобМ/КорМ; 3 – КорМ

Установлено, что образцы кисломолочных продуктов на основе ККобМ и Кобм/КорМ обладали высокими показателями общей антиоксидантной емкости – 30,44 [30,43–30,72] и 33,83 [33,54–34,28] соответственно, превышая значения контрольного образца на основе КорМ на 33,7 и 48,6%. Наибольшая свободно радикальная активность выявлена также у продуктов на основе ККобМ и КобМ/КорМ – 3,45 [2,62–4,00] и 5,21 [4,83–5,66], при этом показатель продукта на основе ККобМ превышал показатель контрольного образца на основе КорМ на 37,5%, продукт на основе КобМ/КорМ превышал значения продукта на основе ККобМ и контрольного образца на основе КорМ на 51,0% и в 2 раза.

В результате анализа жирнокислотного состава и расчетов индексов для кисломолочного продукта на основе ККобМ и КобМ/КорМ установлены низкие значения индекса атерогенности (1,22). Индекс атерогенности кобыльего молока составил – 0,79; коровьего молока – 2,57.

7.3.2. Результаты исследований функциональных свойств кисломолочных продуктов на основе ККобМ и КобМ/КорМ *in vivo* на модели неалкогольного стеатоза у мышей

Наблюдения за животными всех групп на протяжении всего эксперимента не выявили каких-либо отклонений в физиологическом состоянии. В течение эксперимента сохранность контрольных животных была полной.

При анализе потребления рациона и экспериментальных образцов выявлено, что животные группы 1 в среднем 2-е суток потребляли 2,48 [2,26–2,71] г «западной диеты» и 5,20 [4,39–6,05] мл кисломолочного продукта – образец 1, животные группы 2 потребили – 2,44 [2,22–2,63] г «западной диеты» и 4,20 [3,34–4,88] мл КП образца 2, группы 3 – 2,11 [2,05–2,26] г «западной диеты» и 3,58 [3,01–3,83] мл КП образца 3, группы 4 – 2,55 [2,39–2,64] г «западной диеты», мыши группы 5 потребляли 2,94 [2,81–3,08] г комбикорма.

Наименьшее количество калорий потребляли мыши группы 5, которым давали полнорационный комбикорм (в среднем 3,38 [3,22–3,53] ккал/мышь за 2

суток) и животные группы 3 (11,10 [10,52–11,94] ккал/мышь за 2 суток. Мыши группы 1 и 2 потребляли максимальное количество калорий – 15,12 [13,58–16,10] ккал/мышь и 14,22 [13,70–14,58] ккал/мышь соответственно. Для мышей группы 4 количество калорий, потребленных за двое суток составило 11,81 [11,08–12,24] ккал/мышь.

Динамика массы тела животных в период исследования представлена на рисунке 34.

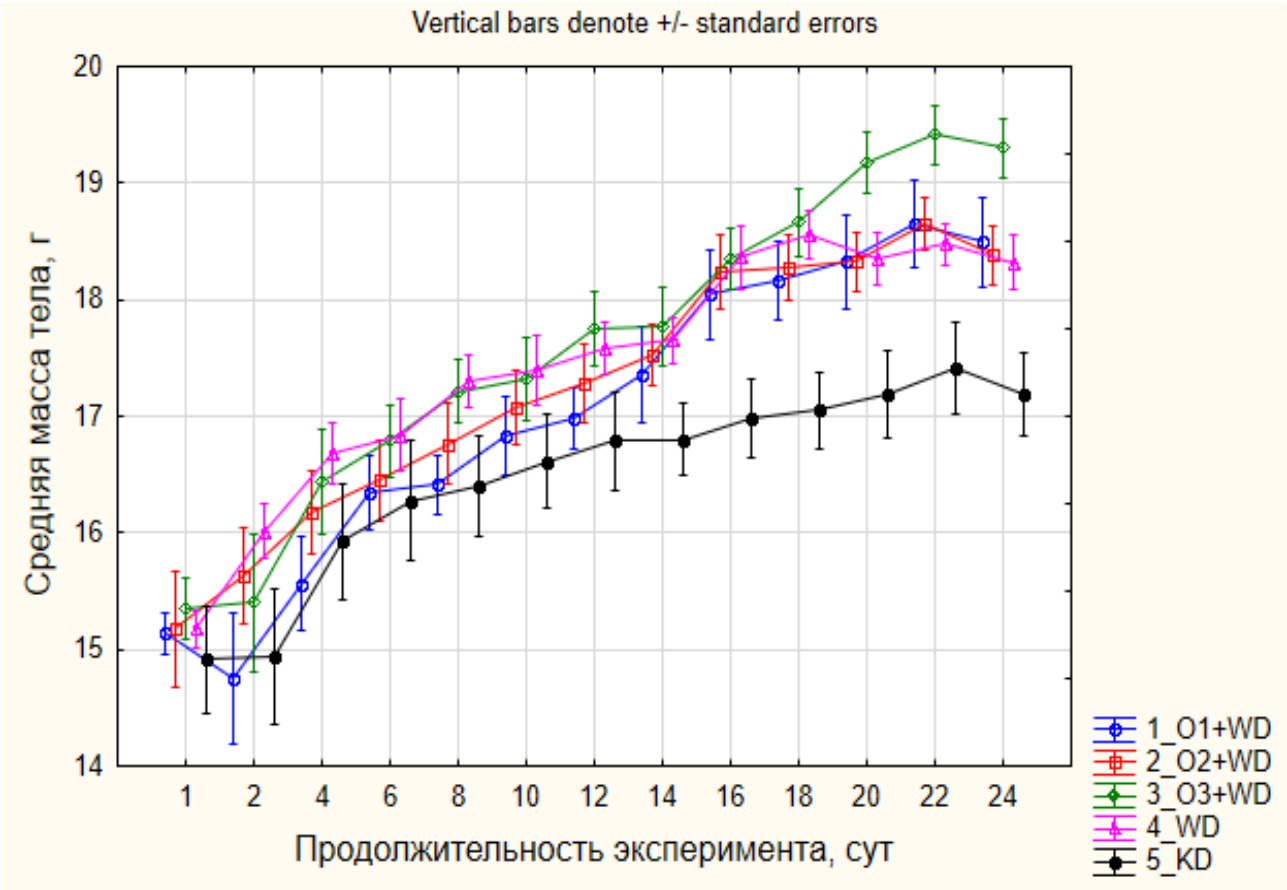


Рисунок 34 – Динамика массы тела животных во время эксперимента

Динамика массы тела экспериментальных животных всех групп была положительной. Анализ динамики массы тела мышей, выявил, что животные групп 1–4 набирали вес в течение всего периода, при этом наиболее выраженная тенденция в период с 1-х по 12-е сутки отмечена в группах 2, 3 и 4. Начиная с 16-х суток и вплоть до 24-х суток массы тела мышей групп 1, 3 и 4 достоверно

превышали массу тела мышей группы 5 в среднем от 8,5 до 10% (рисунок 32). Суммарные привесы на 24-е сутки относительно 1-х суток эксперимента составили: для животных группы 1 – 23,1 [16,6–28,4]%, для группы 2 – 13,8 [12,3–29,5]%, для группы 3 – 25,3 [20,0–29,7]%, для группы 4 – 20,5 [18,2–24,1]%, для группы 5 – 14,3 [11,1–19,7]%.

Результаты анализа содержания популяций лейкоцитов крови животных экспериментальных групп представлен в таблице 20. Цитометрические показатели крови мышей группы 5 соответствовали физиологической норме. В крови мышей группы 4 по сравнению с показателями мышей группы 5 отмечена тенденция к увеличению количества лейкоцитов на 16,3% (p=0,227), гранулоцитов на 66,3% (p=0,021), лимфоцитов на 15,7% (p=0,318) соответственно. Статистически значимых различий между показателями животных группы 3 и группы 5 выявлено не было, однако отмечена тенденция к снижению количества лейкоцитов на 11,4% (p=0,958), преимущественно за счет снижения лимфоцитов на 12,6% (p=0,958). По сравнению с группой 4 в крови мышей группы 3 также отмечалась тенденция к снижению количества лейкоцитов на 23,8% (p=0,156), количество гранулоцитов статистически значимо снижалось на 27,4% (p=0,024), количество лимфоцитов недостоверно снижалось на 24,4% (p=0,270).

На фоне «западной» диеты кисломолочные продукты на основе ККобМ и КобМ/КорМ вызывали статистически значимое снижение количества гранулоцитов (на 27,4% при p=0,024 относительно группы 4), тогда как статистически значимых изменений в распределении лейкоцитов мышей, потреблявших продукты сравнения, отмечено не было. Снижение гранулоцитов в крови мышей, потреблявших на фоне «западной» диеты продукт на основе кобыльего и коровьего молока, свидетельствует о нивелировании воспаления.

Таблица 20 – Результаты цитометрического анализа крови экспериментальных животных

Показатель	Характеристика выборки	Группа				
		1_O1+WD	2_O2+WD	3_O3+WD	4_WD	5_KD
Лейкоциты, 10^9/л	ME ± SD	**15,02±2,76**^	13,01±2,81	9,80±2,50	12,86±5,89	11,06±4,81
	P 25-P75	12,24–15,90	10,95–15,03	8,81–12,76	10,96–16,82	5,98–14,69
Лимфоциты, 10^9/л	ME ± SD	**12,32±2,21**^	10,87±2,30	8,25±2,36	10,92±4,61	9,44±4,23
	P 25-P75	10,17–13,22	9,17–12,19	7,32–10,91	8,71–14,30	5,00–12,29
Моноциты, 10^9/л	ME ± SD	0,73±0,16	0,62±0,21	0,48±0,15	0,59±0,47	0,51±0,26
	P 25-P75	0,55–0,80	0,46–0,84	0,42–0,66	0,47–0,79	0,31–0,77
Гранулоциты, 10^9/л	ME ± SD	**1,78±0,45***^	1,52±0,41	**1,19±0,22**#	**1,68±0,46***	1,01±0,49
	P 25-P75	1,53–2,04	1,13–1,91	1,06–1,34	1,31–2,05	0,68–1,35
Лимфоциты, %	ME ± SD	82,99±1,80	82,55±2,03	84,11±3,52	83,66±5,22	85,38±3,59
	P 25-P75	82,17–84,00	81,65–84,84	82,23–86,09	79,23–85,21	80,51–87,04
Моноциты, %	ME ± SD	4,54±0,46	4,73±0,63	5,11±0,47	4,72±0,91	4,81±0,74
	P 25-P75	4,42–5,04	4,47–5,41	4,89–5,15	3,99–4,86	4,51–5,62
Гранулоциты, %	ME ± SD	12,53±1,62	12,81±1,93	10,94±3,65	11,55±4,83	9,95±3,14
	P 25-P75	11,21–12,99	10,17–13,69	8,70–13,30	10,30–15,48	8,32–13,92

Примечание: * – достоверное отличие от группы 5 (p<0,05); # – достоверное отличие от группы 4 (p<0,05); ^ – достоверное различие между группами 1 и 3 (p<0,05); & – достоверное различие между группами 2 и 3 (p<0,05).

Результаты анализа биохимических показателей сыворотки крови животных экспериментальных групп представлены в таблице 21.

Выявленные у животных, потреблявших «западную» диету, изменения липидного профиля сыворотки крови, наблюдались у мышей, которым параллельно с жирной диетой скармливали кисломолочный продукт на основе ККобМ и КобМ/КорМ (увеличение общего холестерина до 65% при p<0,050 и его фракций – ХС ЛПНП в 2 раза). При этом при потреблении на фоне «западной» диеты кисломолочного продукта на основе ККобМ и КобМ/КорМ приводило к снижению ХС ЛПНП (на 17,6% при p=0,005 по сравнению с группой 4) при увеличении содержания ХС ЛПВП (на 30,0% при p=0,015 относительно интакта).

Таблица 21 – Результаты биохимического анализа плазмы крови мышей

Показатель	Характеристика выборки	Группа				
		1_O1+WD	2_O2+WD	3_O3+WD	4_WD	5_KD
Белок, г/л	ME ± SD	**47,10±0,92**^	47,00±2,77	49,50±2,52	47,30±3,43	47,25±3,32
	P 25-P75	45,95-47,45	45,05–49,35	47,15–50,30	45,20–50,25	45,45–50,50
Альбумин, г/л	ME ± SD	**25,00±0,76***	26,00±1,46	25,75±1,31	26,00±1,13	27,00±1,07
	P 25-P75	25,00–26,00	24,50–27,00	25,00–27,50	25,00–27,00	26,00–27,50
Креатинин, мкМоль/л	ME ± SD	**47,02±3,51**#	48,85±3,86	**49,00±2,77**#	45,15±2,17	48,65±3,52
	P 25-P75	46,40–52,70	44,75–50,30	46,25–50,65	44,70–46,75	45,65–52,45
Мочевина, мМоль/л	ME ± SD	**6,49±1,06***	**6,00±0,45***	**5,74±0,29***	**6,05±0,52***	8,08±1,64
	P 25-P75	5,67–6,71	5,61–6,20	5,70–6,05	5,78–6,55	7,71–8,69
АЛТ, ЕД/л	ME ± SD	45,25±22,49	**45,20±11,87*#**	**46,10±10,40***	54,40±10,84	64,40±6,66
	P 25-P75	39,20–65,25	40,05–50,30	40,80–61,20	49,65–70,10	59,05–71,05
АСТ, ЕД/л	ME ± SD	105,80±23,59	100,75±19,38	115,05±20,46	98,15±25,98	104,15±35,79
	P 25-P75	93,20–129,45	93,15–116,30	95,65–129,95	93,50–107,45	95,10–119,50
Глюкоза, мМоль/л	ME ± SD	12,05±1,21	11,30±1,11	11,85±1,85	11,10±1,09	10,55±1,72
	P 25-P75	11,00–12,80	10,70–12,50	11,40–12,10	10,65–12,25	9,60–12,55
Триглицериды, мМоль/л	ME ± SD	0,98±0,17	0,98±0,11	0,92±0,23	**0,87±0,10***	1,13±0,18
	P 25-P75	0,80–1,14	0,88–1,07	0,80–1,15	0,81–1,00	1,09–1,26
ОХ, мМоль/л	ME ± SD	**2,48±0,15***	**2,40±0,18***	**2,44±0,44***	**2,46±0,17***	1,49±0,10
	P 25-P75	2,33–2,57	2,27–2,61	1,99–2,60	2,31–2,51	1,43–1,57
ХС ЛПНП, мМоль/л	ME ± SD	**0,49±0,05***^	**0,53±0,05***&	**0,42±0,05***#	**0,51±0,05***	0,26±0,02
	P 25-P75	0,46–0,54	0,48–0,56	0,39–0,45	0,51–0,55	0,25–0,27
ХС ЛПВП, мМоль/л	ME ± SD	**1,41±0,11***	**1,40±0,10***	**1,43±0,29***	**1,38±0,12***	1,10±0,08
	P 25-P75	1,31–1,51	1,35–1,48	1,26–1,52	1,24–1,45	1,01–1,16
$ХС_{ост}$, мМоль/л	ME ± SD	**0,53±0,04***	**0,51±0,10***	**0,55±0,21***	**0,50±0,12***	0,16±0,07
	P 25-P75	0,52–0,58	0,41–0,60	0,35–0,69	0,44–0,56	0,10–0,21
ИА, отн. ед.	ME ± SD	**0,74±0,04***	**0,72±0,07***	**0,70±0,22***	**0,75±0,11***	0,40±0,07
	P 25-P75	0,71–0,78	0,68–0,78	0,64–0,81	0,72–0,79	0,33–0,43

Примечание: * – достоверное отличие от группы 5 (p<0,05); # – достоверное отличие от группы 4 (p<0,05); ^ – достоверное различие между группами 1 и 3 (p<0,05); & – достоверное различие между группами 2 и 3 (p<0,05).

Тогда как в плазме крови животных групп 2 и 1, в рацион которым вводили продукты сравнения, содержание ХС ЛПНП увеличивалось на 26,2% (p=0,003) и 16,7% (p=0,021), относительно группы 3. Величина индекса атерогенности плазмы крови мышей группы 3, потреблявших «западную» диету и кисломолочные продукты на основе ККобМ и КобМ/КорМ, превышал показатель группы 5 на 75,0% (p<0,001), тогда как у мышей группы 4 превышал интакт на 87,5% (p<0,001), у у мышей группы 2 – на 80,0% (p<0,001) и у мышей группы 1 – на 85,0% (p<0,001). Также в плазме крови мышей группы 3, потреблявших «западную» диету и кисломолочные продукты на основе КобМ и КобМ/КорМ, отмечено выравнивание снижения метаболических показателей (креатинин и мочевина) и активности АЛТ, отмеченные у контрольных животных, что указывает на гепатопротекторный эффект кисломолочных продуктов.

По результатам аутопсии и макроскопического исследования внутренних органов животных на 24-е сутки исследования не было выявлено выраженных различий между группами (рисунок 35).

У мышей групп 1–5 форма и величина печени не изменены, у животных группы 3 отмечено некоторое увеличение печени, зернистость, дряблость.

На фоне «западной» диеты кисломолочные продукты на основе ККобМ и КобМ/КорМ не способствовали снижению относительной массы висцерального жира (в 1,4 раза при p<0,001 относительно интакта, на 45,8% при p<0,001 относительно контрольных мышей группы 4 («западная» диета), однако отмечено снижение относительной массы селезенки и печени (на 15,6% и 20,1% при p<0,050 относительно контроля). При этом относительная масса печени мышей группы 3 снижалась на 23,3% (p=0,007) относительно группы 2 и на 15,5% (p=0,002) относительно группы 1, что подтверждает гепатопротекторный эффект кисломолочных продуктов.

В группе 4 выявлено увеличение селезенки на 45,2% (p<0,001), печени до 10% (p=0,050) относительно группы 5. В группе 3 относительно группы 5 отмечено увеличение относительной массы висцерального жира в 1,4 раза

(p<0,001) при снижении массы печени. По сравнению с группой 4 в группе 3 относительная масса селезенки снижалась на 15,6% (p=0,028), масса висцерального жира увеличивалась на 45,8% (p<0,001). Относительно масса печени мышей группы 3 снижалась на 20,1% (p<0,001) относительно группы 4, на 23,3% (p=0,007) относительно группы 2 и на 15,5% (p=0,002) относительно группы 1.

В группе 2 в сравнении с группой 5 отмечено увеличение относительной массы селезенки на 48,4% (p<0,001); относительно группы 3 – увеличение относительной массы сердца на 30,2% (p=0,028), легких на 16,4% (p=0,010), селезенки на 21,1% (p=0,028), печени на 23,3% (p=0,007), при снижении относительной массы висцерального жира на 45,6% (p=0,007). У мышей группы 1 отмечено увеличение относительной массы тимуса (на 7,5%, p=0,083 относительно группы 3), селезенки (на 48,4%, p=0,003 относительно группы 5 и на 21,0%, p=0,015 относительно группы 3), при снижении относительной массы висцерального жира (на 23,8%, p=0,050 относительно группы 3 и общей тенденции к снижению относительно группы 4).

Результаты гистологического исследования печени представлены на рисунке 36. Ткани печени мышей групп 2–4 при окрашивании масляным красным характеризовались значительным количеством жировых включений крупных размеров (особенно мышей групп 3 и 4), локализующихся в зонах печеночных долек и расположенных ближе к центральной вене.

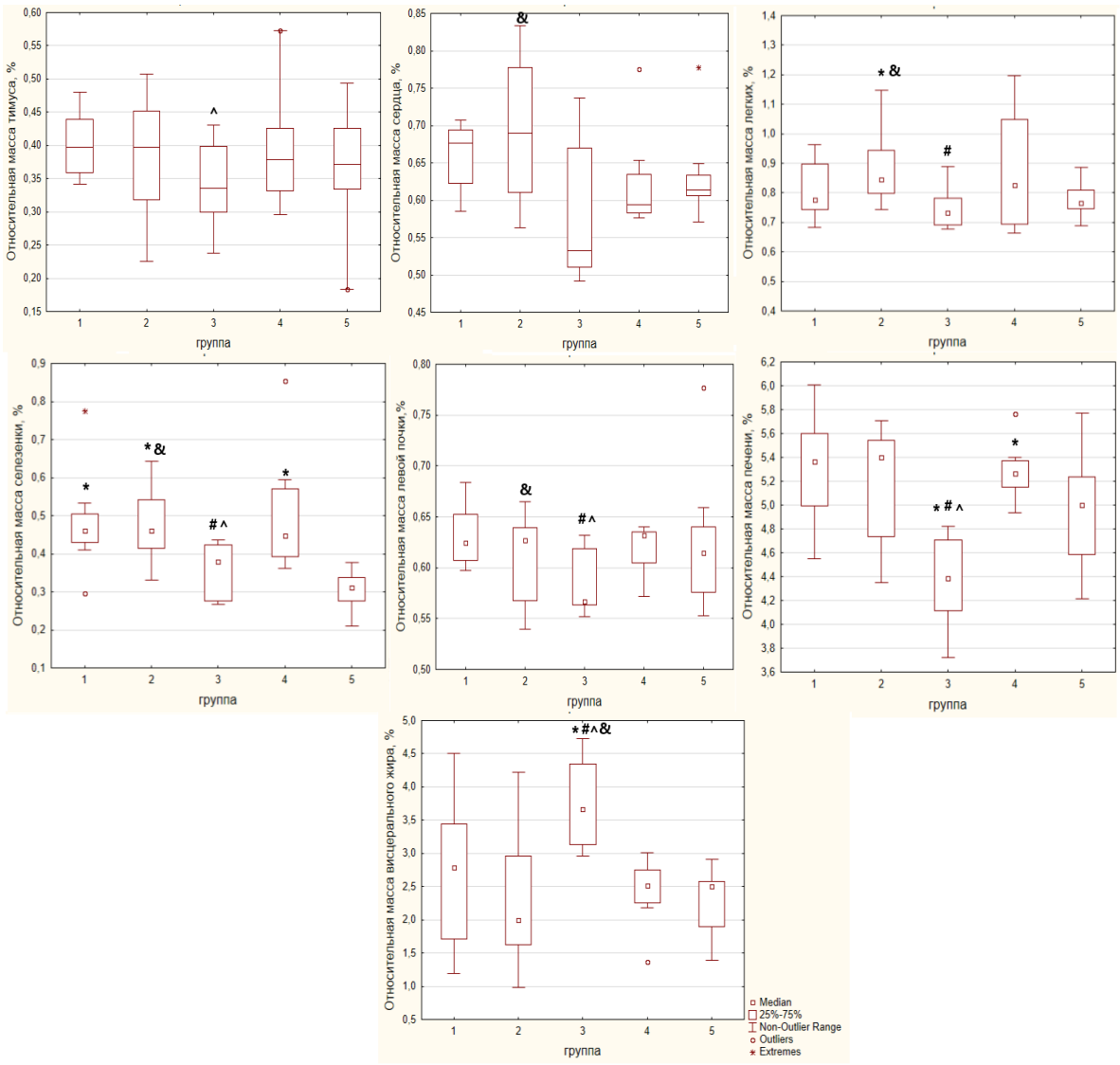


Рисунок 35 – Относительные массы внутренних органов мышей

Плотность окрашивания печени масляным красным у мышей группы 1 составила 14,2 [10,0–18,9], группы 2 – 45,6 [42,9–47,6], группы 3 – 45,5[43,4–47,7] и группы 4 – 44,7[41,5–46,6]. Для тканей печени мышей группы 5 данный показатель составил 9,7 [7,2–13,6]. Показатель плотности окрашивания печени мышей групп 1–4 относительно группы 5 увеличивался на 46,4% для мышей группы 1, до 4,7 раза – для групп 2 и 3, в 4,6 раза – для группы 4. У мышей группы 1 плотность окрашивания печени снижалась относительно групп 2, 3 и 4 более чем в 3 раза (рисунок 36, Е).

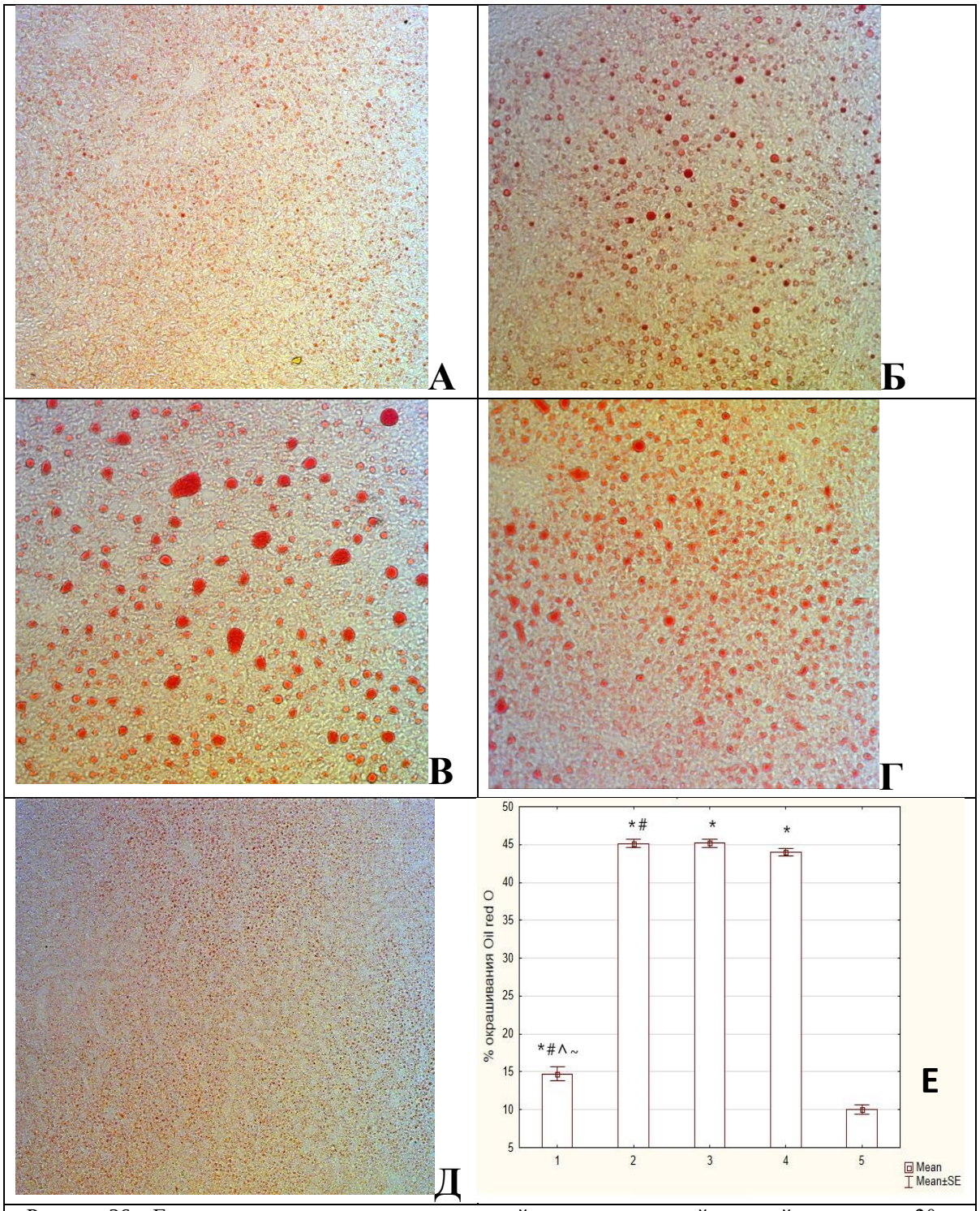


Рисунок 36 – Гистологическая картина печени мышей, окраска:масляный красный, увеличение 20х. Условные обозначения: А – группа 1; Б – группа 2; В – группа 3; Г – группа 4; Д – группа 5; Е – гистограмма площадей окрашивания тканей печени масляным красным

Гистологические исследования печени, показали заметное снижение накопления нейтральных липидов в цитоплазматических вакуолях гепатоцитов (в 3 раза меньшая площадь окрашивания по сравнению с продуктами сравнения).

Основные результаты и выводы

1. Результаты проведенного социологического исследования установили предпочтительное отношение (70% респондентов) потребителей к продуктам функциональной направленности на основе КобМ. Разработаны МБТ на кисломолочные продукты, учитывающие особенности КобМ в сочетании с пробиотическими и молочнокислыми микроорганизмами, что в совокупности обеспечивает функциональную направленность продуктов.

2. Разработана система идентификации КобМ, которая включает органолептические, физико-химические, биохимические критерии. По результатам проведенных исследований установлены параметры применения метода ВЭЖХ для идентификации КобМ. Доказано, что маркером видовой принадлежности КобМ в смеси с КорМ является α-лактоальбумин. Метод позволяет достоверно определить не менее 7% добавленного КорМ к КобМ.

3. Выявлено влияние режимов пастеризации КобМ, ККобМ, КобМ/КорМ на физико-химические, микробиологические и органолептические показатели. Наиболее ощутимые негативные изменения в органолептических показателях обнаружены при температуре пастеризации выше (68±1)°С и продолжительности выдержки более 1200 с (20 мин). Установлено, что для обеспечения гарантированного органолептического и микробиологического качества наиболее рациональным и технологичным является двухступенчатый режим, включающий в себя термизацию при (58±1)°С с выдержкой 1200 с (20 мин), охлаждение до (6±2)°С, выдержку 4 ч, и последующую пастеризацию (72±1)°С с выдержкой 15 с.

4. Обоснована комбинация бактериальной закваски, состоящая из *S. thermophilus* и *L. bulgaricus* и *L. rhamnosus* F в соотношениях 1:4, 1:6, исследованы режимы ферментирования ККобМ и КобМ/КорМ. Установлено, что для получения кисломолочных продуктов на основе ККобМ рациональным является соотношение культур 1:4, продолжительность сквашивания 8 ч, а для получения КП на основе КобМ/КорМ – соотношение 1:6, продолжительность

сквашивания 6,5 ч, доза инокулята составляет 7%. В продуктах в течение всего срока годности (30 суток) содержание *L. rhamnosus* F отмечается на уровне не ниже 10^6 КОЕ/см^3.

5. Результаты *in vitro* и *in vivo* подтвердили функциональную направленность разработанных кисломлочных продуктов. Доказано, что кисломолочные продукты проявляют высокую антиоксидантную и антимикробную активности по отношению к условно-патогенным и патогенным микроорганизмам – *E. coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 6538, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028. В результате анализа жирнокислотного состава и расчетов индексов для кисломолочных продуктов на основе ККобМ и КобМ/КорМ установлены низкие значения индекса атерогенности (1,22). Доказаны противовоспалительные и гепатопротекторные эффекты продуктов.

6. Научно обоснована, разработана технология и утвержден комплект нормативной документации на кисломолочные продукты функциональной направленности на основе ККобМ и КобМ/КорМ ТУ 10.51.52-162-00419006-2021, установлены рекомендуемые сроки годности, проведена промышленная апробация продукта.

Список литературы

1. Сарсембаев, Х.С. Комбинированный кисломлочный продукт для спортивного питания / Х.С. Сарсембаев, Ю.А. Синявский, Е.А. Дерипаскина // Человек. Спорт. Медицина. – 2022. – Т. 22. – № 1. – С. 148-154.

2. Симоненко, Е.С. Разработка методики оценки органолептического восприятия пищевого продукта / Е.С. Симоненко, А.Ю. Золотин, С.В. Симоненко, О.В. Бессараб // Пищевая промышленность. - 2021. - № 6. - С. – 57-62. https://doi.org/10.52653/PPI.2021.6.6.006.

3. Бегунова, А.В. Антимикробные свойства Lactobacillus в кисломолочных продуктах / А.В. Бегунова, И.В. Рожкова, Ю.И. Крысанова, Т.И. Ширшова // Молочная промышленность. – 2020. – № 6. – С. 22-23. DOI:10.31515/1019-8946-2020-06-22-23.

4. Fedorova, T.V. Antagonistic activity of lactic acid bacteria lactobacillus spp. against clinical isolates of Klebsiella pneumoniae / T.V. Fedorova, D.V. Vasina, A.V. Begunova, I.V. Rozhkova, T.A. Raskoshnaya, N.I. Gabrielyan // Appl. Biochem. Microbiol. – 2018. – V. 54. – P. 277-287. DOI:10.1134/s0003683818030043.

5. Бегунова, А.В. Антибиотикорезистентность молочнокислых бактерий с пробиотическими свойствами / А.В. Бегунова, И.В. Рожкова // Молочная промышленность. – 2020. – № 9. – С. 48-50. DOI:10.31515/1019-8946-2020-09-48-49.

6. Begunova, A.V. Development of Antioxidant and antihypertensive properties during growth of Lactobacillus helveticus, Lactobacillus rhamnosus and Lactobacillus reuteri on cow’s milk: fermentation and peptidomics study / A.V. Begunova, O.S. Savinova, O.A. Glazunova, K.V. Moiseenko, I.V. Rozhkova, T.V. Fedorova // Foods. – 2020. – V. 10. – № 1. – P. 17. DOI:10.3390/foods10010017.

7. Chen, Y. Lactobacillus bulgaricus or Lactobacillus rhamnosus Suppresses NF-κB Signaling Pathway and Protects against AFB1-Induced Hepatitis: A Novel Potential Preventive Strategy for Aflatoxicosis / Y. Chen, R. Li, Q. Chang,

Z. Dong, H. Yang, C. Xu // Toxins. – 2019. – V. 11 – №17. DOI:10.3390/toxins11010017.

8. Антипова, Т.А. Исследование молока кобыл с целью использования в производстве продуктов детского питания / Т.А. Антипова, С.В. Фелик, С.В. Симоненко // Молочная промышленность. – 2017. – № 12. – С. 63-64.

9. Канарейкина, С.Г. Лечебно-профилактические свойства кобыльего молока / С.Г. Канарейкина, А.А. Давыдова, В.И. Канарейкин // Вестник мясного скотоводства. – 2016. – № 3 (95). – С. 99-103.

10. Канарейкина, С.Г. Разработка кисломолочного напитка на основе молочной смеси из коровьего и кобыльего молока / Е.С. Ганиева, В.И. Канарейкин // Сборник статей XII Национальной научно-практической конференции с международным участием. – 2021. – С. 276-281.

11. Канарейкина, С.Г. Оценка экологической безопасности сырого кобыльего молока / С.Г. Канарейкина // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2011. – № 4 (32). – С. 179-181.

12. Канарейкина, С.Г. Исследование качества кобыльего молока как сырья для молочной промышленности / С.Г. Канарейкина // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2010. – № 1 (25). – С. 63-65.

13. Nadirova, S. The effects of enriched yoghurt on the antioxidant activities of rats poisoned with cadmium salts / S. Nadirova, S. Abdreshov, V. Sinyavskiy, Y. Deripaskina, A. Torgautov // Nutrition & Food Science. – 2021. –V. 52. – № 2.

14. Сарсембаев, Х.С. Кобылье молоко в разработке специализированных продуктов спортивного питания / Х.С. Сарсембаев, Ю.А. Синявский // VII международная конференция молодых ученых: биофизиков, биотехнологов, молекулярных биологов и вирусологов. В рамках площадки открытых коммуникаций OpenBio-2020. – 2020. – С. 145-149.

15. Сарсембаев, Х.С. Влияние низкомолекулярных пептидов, выделенных из кобыльего молока, на работоспособность крыс при физической нагрузке / Х.С. Сарсембаев, Ю.А. Синявский, К. Милашюс // Вестник Карагандинского университета. Серия: Биология. Медицина. География. – 2021. – Т. 101. – № 1. – С. 50-57.

16. Синявский, Ю.А. Региональные особенности состава и свойств кобыльего молока / Ю.А. Синявский, А.Б. Бердыгалиев, Е.А. Дерипаскина, М.М. Кучербаева, Ы.С. Ибраимов, М.Ж. Нурушев, Д.Н. Туйгунов // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. – 2020. – № 2. – С. 2.

17. Сарсембаев, Х.С. Возможность использования кобыльего и верблюжьего молока в создании продуктов спортивного питания / Х.С. Сарсембаев, Ю.А. Синявский // VI Международная конференция молодых ученых: биофизиков, биотехнологов, молекулярных биологов и вирусологов. Сборник тезисов. – 2019. – С. 161-165.

18. Синявский, Ю.А. Оценка эффективности влияния продуктов на основе кобыльего молока на иммунологические показатели крови детей в возрасте от 10 до 17 лет / Ю.А. Синявский, А.Б. Бердыгалиев, У.М. Амиркенова // Вестник Казахского национального медицинского университета. – 2018. – № 3. – С. 224-227.

19. Синявский, Ю.А. Применение продуктов питания на основе кобыльего молока в детском возрасте / Ю.А. Синявский, А.Б. Бердыгалиев, Ы.С. Ибраимов, С.М. Бармак, М.В. Калачев, Х.С. Сарсенбаев, Е.А. Дерипаскина // Педиатрия и детская хирургия. – 2017. – № 4 (90). – С. 28-35.

20. Синявский, Ю.А. Перспективы применения нового кисломолочного продукта на основе кобыльего молока "тулпар-2" в комплексной медикаментозной терапии больных туберкулезом легких / Ю.А. Синявский, Г.А. Смаилова, В.Г. Выскубова, А.С. Торгаутов, М.С. Пучкова, Ю.Н. Беспалова // Вопросы питания. – 2014. – Т. 83. – № 3. – С. 126.

21. Раскошная, Т.А. Разработка питательной среды и режимов культивирования lactobacillusreuteri для получения бактериального

концентрата / Т.А. Раскошная, В.Ф. Семенихина, И.В. Рожкова, А.В. Бегунова // Техника и технология пищевых производств. – 2016. – № 3 (42). – С. 56-62.

22. Семенихина, В.Ф. Разработка технологического процесса получения бактериального концентрата Lactobacillus reuteri / В.Ф. Семенихина, Т.А. Раскошная, И.В. Рожкова, А.В. Бегунова, Т.И. Ширшова // Вестник Орловского государственного аграрного университета. – 2016. – № 5 (62). – С. 86-93.

23. Бегунова, А.В. Потенциал молочнокислых бактерий в снижении уровня холестерина / А.В. Бегунова, И.В. Рожкова, Т.И. Ширшова, Ю.И. Крысанова // Пищевая промышленность. – 2020. – № 11. – С. 12-15. https://doi.org/10.24411/0235-2486-2020-10119

24. Семенихина, В.Ф. Разработка биотехнологии кисломолочного продукта с lactobacillus reuteri lr1 и исследование его функциональных свойств в эксперименте in vitro и in vivo / В.Ф. Семенихина, И.В. Рожкова, А.В. Бегунова, Т.В. Федорова, Т.И. Ширшова // Вопросы питания. – 2018. – Т. 87. – № 5. – С. 52-62. https://doi.org/10.24411/0042-8833-2018-10053

25. Симоненко, Е.С. Разработка кисломолочного продукта на основе кобыльего молока и ассоциации молочнокислых микроорганизмов / Е.С. Симоненко, А.В. Бегунова // Вопросы питания. – 2021. – Т. 90. – № 5 (537). – С. 115-125. https://doi.org/10.33029/0042-8833-2021-90-5-115-125

26. Шевелева, С.А. Микробиологическая безопасность пищи: развитие нормативной и методической базы / С.А. Шевелева, И.Б. Куваева, Н.Р. Ефимочкина, Л.П. Минаева // Вопросы питания. – 2020. – Т. 89. – № 4. – С. 125-145. https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10048

27. Ефимочкина, Н.Р. Изучение характера контаминации и уровней содержания бактерий рода campylobacter в отдельных видах пищевой продукции / Н.Р. Ефимочкина, И.Б. Быкова, В.В. Стеценко, Л.П. Минаева, Т.В. Пичугина, Ю.М. Маркова, Ю.В. Короткевич, С.С. Козак, С.А. Шевелева // Вопросы питания. – 2016. – Т. 85. – № 5. – С. 52-59.

28. Ефимочкина, Н.Р. Оптимизация методов контроля пищевых продуктов на основе создания дифференциально-диагностических сред для выделения и культивирования бактерий рода campylobacter / Н.Р. Ефимочкина, Т.В. Пичугина, В.В. Стеценко, И.Б. Быкова, Ю.М. Маркова, Ю.В. Короткевич, А.С. Полянина, С.А. Шевелева // Вопросы питания. – 2017. – Т. 86. – № 5. – С. 34-41.

29. Ефимочкина, Н.Р. Изучение характера контаминации сырого молока бактериями рода campylobacter с использованием традиционных микробиологических методов и количественного пцр-анализа / Н.Р. Ефимочкина, В.В. Стеценко, Ю.М. Маркова, И.Б. Быкова, Т.В. Пичугина, А.С. Полянина, Л.П. Минаева, С.А. Шевелева // Вопросы питания. – 2019. – Т. 88. – № 5. – С. 17-23. https://doi.org/10.24411/0042-8833-2019-10049

30. Свириденко, Г.М. Исследование свойств заквасочных микроорганизмов вида lactobacillus casei с целью использования в составе бактериальных заквасок для сыров / Г.М. Свириденко, О.М. Шухалова, Т.В. Комарова // В сборнике: Молоко и молочная продукция: актуальные вопросы производства. Сборник материалов международной научно-практической конференции. – 2021. – С. 109-113.

31. Свириденко, Г.М. Исследование свойств заквасочных микроорганизмов вида lactobacillus acidophilus с целью использования в составе бактериальных заквасок для сыров / Г.М. Свириденко, О.М. Шухалова // В сборнике: Молоко и молочная продукция: актуальные вопросы производства. Сборник материалов международной научно-практической конференции. – 2021. – С. 121-124.

32. Свириденко, Г.М. Исследование свойств заквасочных микроорганизмов вида lactobacillus bulgaricus с целью использования в составе бактериальных заквасок для сыров / Г.М. Свириденко, О.М. Шухалова // В сборнике: Молоко и молочная продукция: актуальные вопросы производства. Сборник материалов международной научно-практической конференции. – 2021. – С. 125-128.

33. Свириденко, Г.М. Влияние термофильных палочек lactobacillus helveticus на формирование потребительских показателей сыров пониженной жирности / Г.М. Свириденко, В.А. Мордвинова, И.Н. Делицкая, Д.С. Вахрушева // В сборнике: Молоко и молочная продукция: актуальные вопросы производства. Сборник материалов международной научно-практической конференции. – 2021. – С. 150-154.

34. Свириденко, Г.М. Lactobacillus acidophilus как компонент бактериальных заквасок для ферментированных молочных продуктов, в том числе сыров / Г.М. Свириденко, О.М. Шухалова, Е.Е. Ускова // Молочная промышленность. – 2020. – № 10. – С. 40-43. https://doi.org/10.31515/1019-8946-2020-10-40-43

35. Mazhitova, A.T. Amino Acid and Fatty Acid Profile of the Mare's Milk Produced on Suusamyr Pastures of the Kyrgyz Republic During Lactation Period / A.T. Mazhitova, A.A. Kulmyrzaev, Z.E. Ozbekova, A. Bodoshev // Procedia - Social and Behavioral Sciences. – 2015. – V. 195. – P. 2683-2688. https://doi.org/10.1016/j.sbspro.2015.06.479

36. DiCagno, R. Uses of mares' milk in manufacture of fermented milks / R. DiCagno, A. Tamborrino, G. Gallo, C. Leonea, M. De Angelis, M. Faccia, P. Amirante, M. Gobbettia // International Dairy Journal. – 2004. – V. 14. – Issue 9. – P. 767-775. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.02.005

37. Канарейкина, С.Г. Кобылье молоко - уникальное сырьё для продуктов здорового питания / С.Г. Канарейкина, В.И. Канарейкин // Известия ОГАУ. – 2016. – № 4 (60). – С. 150-152.

38. Barreto, I.M.L.G. Equine milk and its potential use in the human diet / Í.M.L.G. Barreto, A.H.N. Rangel, S.A. Urbano, J.S. Bezera, C.A.A. Oliveira //Food, Science and Technology. – 2019. – V. 39. – Issue 1. – P. 1-7.

39. Агаркова, Е.Ю. Противодиабетическая активность белков молочной сыворотки / Е.Ю. Агаркова, К.А. Рязанцева, А.Г. Кручинин // Техника и технология пищевых производств. – 2020. – Т. 50. – № 2. – С. 306-318.

40. Агаркова, Е.Ю. Белки молочной сыворотки как источник антиоксидантных пептидов / Е.Ю. Агаркова, К.А. Рязанцева, А.Г. Кручинин // Сыроделие и маслоделие. – 2020. – № 2. – С. 57-58.

41. Dulliusa, A. Biotechnological approach for the production of branched chain amino acid containing bioactive peptides to improve human health: A review / A. Dulliusa, P. Fassina, M. Giroldi, M. Inês Goettert, C. Fernanda, V. de Souza // Food Research International. – 2020. – Vol. 131. – 109002. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109002

42. Schubert, R. Dietetic efficacy of mare's milk for patients with chronic inflammatory bowel diseases - clinical study / R. Schubert, C. Kahle, E. Kauf, J. Hofmann, I. Hobert, B. Gruhn // Wissenschaft und Praxis. – 2009. – № 33. – P. 7-8. URL: https://www.researchgate.net/publication/291889927

43. Методические рекомендации по методологии восстановления мукозного слоя кишечника после антибиотикотерапии. Методическое пособие. – М.: Мир науки, 2020. – Сетевое издание. URL: https://izd-mn.com/PDF/27MNNPU20.

44. Бимбетов, Б.Р. Клинико-лабораторные показатели больных с хроническими диффузными заболеваниями печени на фоне приема Саумал / Б.Р. Бимбетов, А.Т. Мусаев, А.К. Жангабылов, С.Е. Айтбаева, А. Бакытжанулы, Ж.Е. Мергенбаев, В.С. Аюпова, Ж.М. Толеубек, А.С. Сатбаева // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2019. – № 10-2. – С. 273-277.

45. Хаертдинов, Р.Р. Особенности белкового состава молока у основных видов сельскохозяйственных животных / Р.Р. Хаертдинов, Ф.И. Гафиатуллин, М.П. Афанасьев // Сельскохозяйственная биология. – 2011. – № 2. – С. 81-85.

46. Bornaz, S. Physicochemical properties of fermented Arabian mares' milk / S. Bornaz, N. Guizani, J. Sammari, W. Allouch, A. Sahli, H. Attia // International Dairy Journal. – 2010. – V. 20. – P. 500-505. https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2010.02.001

47. Синявский, Ю.А. Сравнительная оценка жирнокислотного состава, индексов атерогенности и тромбогенности молока различных видов сельскохозяйственных животных / Ю.А. Синявский, А.В. Якунин, А.С. Торгаутов, А.Б. Бердыгалиев // Проблемы Науки. – 2016. – № 7 (49).

48. Тепел, А. Химия и физика молока / А. Тепел. – М: Профессия, 2012. – 832 с.

49. Huppertz, T. Heat stability of milk. / T. Huppertz // Advanced Dairy Chemistry. – Springer, NY. – 2016. – P. 179-196. DOI: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-2800-2_7.

50. Хромова, Л.Г. Термоустойчивость молока коров основных пород черноземья в условиях современной технологии производства / Л.Г. Хромова, Н.В. Байлова, Е.А. Пилюгина, И.В. Волокитина // ВГАУ. – 2013. –№ 1(36). – С. 251-257.

51. Dumpler, J. Invited review: Heat stability of milk and concentrated milk: Past, present, and future research objectives / J. Dumpler, T. Huppertz, U. Kulozik // Journal of Dairy Science. – 2020. – Vol. 103. – P. 10986-11007 https://doi.org/10.3168/jds.2020-18605

52. Башаева, Д.В. Термоустойчивость коровьего молока, ее генетическая и паратипическая изменчивость: Автореф. дис: … канд. техн. наук: 06.02.07 / Башаева Диана Валерьевна. – Казань. – 2010.

53. Горбатова, К.К. Физико-химические и биохимические основы производства молочных продуктов: научное издание / К.К. Горбатова. – СПб.: ГИОРД, 2004. – 347 с.

54. Любимов, А.И. Технологические свойства молока коров черно-пестрой породы нового генотипа / А.И. Любимов, Е.Н. Мартынова, В.А. Бычкова, Е.В. Ачкасова, О.С. Уткина // Зоотехния. – 2015. – № 1. – С. 19-21.

55. Волохов, И.М. Термоустойчивость молока коров с разным генотипом по каппа казеину / И.М. Волохов, Д.А. Скачков, А.В. Морозов, В.Н. Макаренко // Зоотехния. – 2017. – № 2. – С. 21-23.

56. Sunkesula, V. Short communication: Effect of pH on the heat stability of reconstituted reduced calcium milk protein concentrate dispersions / V. Sunkesula, A. Kommineni, G.H. Meletharayil, C. Marella, L.E. Metzger // Journal of Dairy Science. – 2020. – Vol. 104. – P. 134-137 https://doi.org/10.3168/jds.2020-18937

57. Аристова, В.П. Современные представления о термоустойчивости молока и ее изменения под влиянием различных факторов: Обзорная информация / В.П. Аристова, Л.В. Костыгов, М.А. Кутибашвили, Г.А. Россихина, Д.Е. Щедушнов. – М.: АгроНИИТЭИММП, 1991. – 32 с.

58. Буйлова, Л.А. Термоустойчивость молока-сырья / Л.А. Буйлова, А.В. Фомина // Переработка молока. – 2008. – № 10. – С. 18-19.

59. Кручинин, А.Г. К вопросу формирования термоустойчивости биополимеров / А.Г. Кручинин, Р.Р. Вафин, И.А. Радаева, Е.Е. Илларионова, А.В. Бигаева, С.Н. Туровская, Д.Е. Нурмуханбетова // Известия национальной академии наук республики Казахстан. Серия геологии и технических наук. – 2020. – Т. 4. – № 442. – С. 77-85. https://doi.org/10.32014/2020.2518-170X.00

60. Петров, А.Н. Производство молочных консервов: инновации в формировании свойств сырья / А.Н. Петров, И.А. Радаева, А.Г. Галстян, С.Н. Туровская // Молочная промышленность. – 2010. – № 5. – С. 74-77.

61. Zhang, D. Identification and selection of heat-stable protease and lipase-producing psychrotrophic bacteria from fresh and chilled raw milk during up to five days storage / D. Zhang, J. Palmera, K. Hoong Teh, S. Flint // LWT. – 2020. – Vol.134. – P. 110165.

62. Сивкин, Н.В. Что влияет на термоустойчивость молока / Н.В. Сивкин, Л.А. Зернова // Зоотехния. – 2004. – № 1. – С. 30-31.

63. Zhao, L. Effects of heat treatment and stabilizing salts supplementation on the physicochemical properties, protein structure and salts balance of goat milk / L. Zhao, S. Zhang, J. Lu, J. Lv // LWT. – 2020. – Vol.132. – P. 109878. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109878

64. Acosta, N.B. Milk fortified with calcium: Changes in the physicochemical and rheological characteristics that affect the stability / G.A. Sihufe, B.E. Meza, F. Marino, L.M. Costabel, S.E. Zorrilla, M.L. Olivares // LWT. – 2020. – Vol.134. – P. 110204. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110204

65. Канарейкина, С.Г. Влияние различных режимов пастеризации на качество кобыльего молока / С.Г. Канарейкина // Известия ОГАУ. – 2010. – № 28-1. – С. 90-91.

66. Barreto, Í. Equine milk and its potential use in the human diet / Í. Barreto, A. Rangel, S. Urbano, J. Bezerra, C. Oliveira // Food Sci. Technol, Campinas. – 2019. – № 39(Suppl. 1). – P. 1-7.

67. Канарейкин, В.И. Разработка кисломолочный продукта из кобыльего молока для работников с вредными условиями труда / В.И. Канарейкин, С.Г. Канарейкина // Электронный научный журнал. Нефтегазовое дело. – 2015. – № 6. – С. 467–480.

68. Патент RU на изобретение № 2729163 / 08.04.2020. ТА. Антипова, С.В. Фелик, С.В. Симоненко, Е.С. Симоненко, О.В. Кудряшева, А.Т. Акмолдаев. Способ получения адаптированной сухой молочной смеси на основе кобыльего молока для детского питания.

69. Канарейкина, С.Г. Кобылье молоко – уникальное сырье для продуктов здорового питания / В.И. Канарейкин, С.Г. Канарейкина // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2016. – С. 150-152.

70. Granato, D. Пробиотические молочные продукты как функциональные продукты / D. Granato, G.F. Branco, J. Faria // Всеобъемлющие обзоры в Науке о продуктах питания и Безопасности пищевых продуктов. – 2010. – P. 465–470.

71. Канарейкина, С.Г. Возможность производства кисломолочный продукта из кобыльего молока / С.Г. Канарейкина // Молочная река. – 2009. – № 4 – С. 52-54.

72. Патент РК на изобретение № 30404 / 15.10.2015. Синявский Ю.А., Выскубова В.Г., Якунин А.В., и др. Кисломолочный продукт на основе

кобыльего молока. [Patent KAZ № 30404 /15.10.2015. Sinyavskii YuA, Vyskubova VG, Yakunin AV, et al. Kislomolochnyi produkt na osnove kobyl'ego moloka. (In Russ).]

73. Якунин, А.В. Оценка пищевой ценности кобыльего молока и кисломолочных продуктов на его основе и возможности их использования в детском питании / А.В. Якунин, Ю.А. Синявский, Ы.С. Ибраимов // Вопросы современной педиатрии. – 2017. – Т. 16. – № 3. – С. 235-240.

74. Нелюбина, Е.Г. Технология производства кисломолочный продуктов на основе кобыльего молока / Е.Г. Нелюбина, Е.А. Валяева // Парадигма. – 2019. – № 2.

75. Шингисова, А.У. Исследование физико-химических свойств мороженного из кобыльего молока / А.У. Шингисова, М.К. Алимарданова, Р.Б. Мухтарханова, У.У. Тастемирова // Вестник Алматинского технологического университета. – 2019. – № 1. – С. 41-47.

76. Перевозчиков, А.И. Мягкий сыр из смеси коровьего, козьего и кобыльего молока / А.И. Перевозчиков, Е.Г. Шувалова, Т.В. Кабанова // Вестник Марийского государственного университета. – 2016. – Т. 2. – № 1 (5). – С. 52-56.

77. Канарейкина, С.Г. Разработка новых кисломолочных продуктов с растительными компонентами / С.Г. Канарейкина, Е.С. Ганиева, В.И. Канарейкин, И.В. Миронова // Вестник Башкирского государственного аграрного университета. – 2015. – № 4 (36). – С. 43-46.

78. Канарейкина, С.Г. Разработка комбинированного продукта с растительной добавкой в виде муки из семян тыквы / С.Г. Канарейкина // Молодой ученый. – 2015. – № 9 (89). – С. 774-775.

79. Канарейкина, С.Г. Популярный кисломолочный продукт – йогурт / С.Г. Канарейкина, В.И. Канарейкин, Р.А. Бикбова // Вестник мясного скотоводства. – 2016. – № 2 (94). – С. 44-47.

80. Симоненко, Е.С. Современные кисломолочные продукты на основе кобыльего молока функциональной направленности / Е.С. Симоненко

// Международный научно-исследовательский журнал. – 2022. – № 3 (117). – Ч.2. – С. 6-9.

81. Синявский, Ю.А. Разработка и экспериментальная оценка эффективности нового специализированного пищевого продукта на основе сухого кобыльего молока при физической нагрузке / Ю.А. Синявский, Х.С. Сарсембаев // Вопросы питания. – Том 89. – № 6. – 2020. – С. 91-103.

82. Синявский, Ю.А. Перспективы конструирования продуктов детского и диетического питания на основе кобыльего молока / Ю.А. Синявский, А.С. Торгаутов, А.В. Якунин // Евразийский Союз Ученых (ЕСУ). – 2016. – № 2 (23). – С. 130-132.

83. Sacchi, K. A review of the effect of winemaking techniques on phenolic extraction in red wines / K. Sacchi, L. Bisson, D. Adams // Am J Enol Vitic. – 2005. – P. 197-206.

84. Shah, N. Health benefits of yogurt and fermented milk. Chandan RC, ed. Manufacturing Yogurt and Fermented Milks / N. Shah // Ames, IA: Blackwell Publishing – 2006. – P. 327-340.

85. Булатова, Е.М. Пробиотики: клинические и диетологические аспекты применения. / Е.М. Булатова, Н.М. Богданова, Е.А. Лобанова, Т.В. Габрусская // Педиатрия. – 2010. – Т. 89. – № 3. – С.84-90.

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

87. Полянская, И.С. Как работают молочнокислые микроорганизмы / И.С. Полянская, В.Ф. Семенихина, О.И. Топал // Молочная промышленность. – 2014. – № 7. – С. 94-95.

88. Plaza-Diaz, J. Mechanisms of action of probiotics / J. Plaza-Diaz, F. J. Ruiz-Ojeda, M. Gil-Campos, A. Gil // Advances in Nutrition. – 2019. – Vol. 10. – P. S49–S66. doi: 10.1093/advances/nmy063.

89. Pochart, P. Viable starter culture, β-galactosidase activity, and lactose in duodenum after yogurt ingestion in lactase-deficient humans / P. Pochart, O. Dewit, JF. Desjeux // Am J Clin Nutr. – 1989. – Vol. 49. – P. 828-831.

90. Arnold, J. Emerging technologies for gut microbiome research / J. Arnold, J. Roach, M. Azcarate-Peril // Trends Microbiol. – 2016. – Vol. 24. – P. 887-901.

91. Plé, C. Maintaining gut ecosystems for health: are transitory food bugs stowaways or part of the crew / C. Plé, J. Breton, C. Daniel // Int J Food Microbiol. – 2015. – Vol. 213. – P. 139-143.

92. Babio, N. Consumption of yogurt, low-fat milk, and other low-fat dairy products is associated with lower risk of metabolic syndrome incidence in an elderly Mediterranean population / N. Babio, N. Becerra-Tomas, M. Martinez-Gonzalez // J Nutr. – 2015. – Vol. 145. – P. 2308-2316.

93. Larsson, SC. Cultured milk, yogurt, and dairy intake in relation to bladder cancer risk in a prospective study of Swedish women and men / SC. Larsson, S. Andersson, JE. Johansson // Am J Clin Nutr. – 2008. – Vol. 88. – P. 1083-1087.

94. Sonestedt, E. Dairy products and its association with incidence of cardiovascular disease: the Malmö Diet and Cancer Cohort / E. Sonestedt, E. Wirfält, P. Wallström // Eur J Epidemiol. – 2011. – Vol. 26. – P. 609-618.

95. Pala, V. Yogurt consumption and risk of colorectal cancer in the Italian European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition cohort / V. Pala, S. Sieri, F. Berrino // Int J Cancer. – 2011. – Vol. 129. – P. 2712-2719.

96. Burton, KJ. Probiotic yogurt and acidified milk similarly reduce postprandial inflammation and both alter the gut microbiota of healthy, young men / KJ. Burton, M. Rosikiewicz, G. Pimentel // Br J Nutr. – 2017. – Vol. 117. – P. 1312-1322.

97. Pei, R. Low-fat yogurt consumption reduces biomarkers of chronic inflammation and inhibits markers of endotoxin exposure in healthy premenopausal women: a randomised controlled trial / R. Pei, DM. Dimarco, KK. Putt // Br J Nutr. – 2017. – Vol. 118. – P. 1043-1051.

98. Pimentel, G. Blood lactose after dairy product intake in healthy men / G. Pimentel, KJ. Burton, M. Rosikiewicz // Br J Nutr. – 2017. – Vol. 118. – P. 1070–1077.

99. Pu, F. Yogurt supplemented with probiotics can protect the healthy elderly from respiratory infections: a randomized controlled open-label trial / F. Pu, Y. Guo, M. Li, et al // Clin Interv Aging. – 2017. – Vol. 12. – P. 1223-1231.

100. Ejtahed, HS. Probiotic yogurt improves antioxidant status in type 2 diabetic patients / HS. Ejtahed, J. Mohtadi-Nia, A. Homayouni-Rad, et al // Nutrition. – 2012. – Vol. 28. – P. 539-543.

101. Hertzler, S. Nutrient considerations in lactose intolerance / S. Hertzler, DA. Savaiano, A. Dilk, et al // Nutrition in the Prevention and Treatment of Disease. – 2017. – P. 875–892. DOI:10.1016/B978-012193155-1/50039-8

102. Kolars JC. Yogurt—an autodigesting source of lactose / JC. Kolars, DL. Michael, M. Aouji, et al // N Engl J Med. – 1984. – Vol. 310. – P. 1-3.

103. Pelletier, X. Hydrogen excretion upon ingestion of dairy products in lactose- intolerant male subjects: importance of the live flora / X. Pelletier, S. Laure-Boussuge, Y. Donazzolo // Eur J Clin Nutr. – 2001. – Vol. 55. – P. 509-512.

104. Martini, MC. Strains and species of lactic acid bacteria in fermented milks (yogurts): effect on in vivo lactose digestion / MC. Martini, EC. Lerebours, W-J. Lin, et al // Am J Clin Nutr. – 1991. – Vol 54. – P. 1041-1046.

105. Levri, KM. Do probiotics reduce adult lactose intolerance? A systematic review / KM. Levri, K. Ketvertis, M Deramo, et al // J Fam Pract. – 2005. – Vo.l 54. – P. 613-620.

106. Oak, SJ. The effects of probiotics in lactose intolerance: a systematic review / SJ. Oak, R. Jha // Crit Rev Food Sci Nutr. – 2018. – P. 1-9.

107. Банникова, Л.А. Селекция молочнокислых бактерий и их применение в молочной промышленности / Л.А. Банникова. – М.: Пищевая промышленность, 1975. – 255 с.

108. Банникова, Л.А. Микробиологические основы молочного производства: Справочник под ред. канд. техн. наук Я.И. Костина. / Л.А.

Банникова, Н.С. Королева, В.Ф. Семенихина // М.: Агропромиздат, 1987. – 400 с.

109. EFSA Panel on Dietetic Products, Nutrition, and Allergies. Scientific Opinion on the substantiation of health claims related to live yoghurt cultures and improved lactose digestion (ID 1143, 2976) pursuant to Article 13(1) of Regulation (EC) No. 1924/2006 / EFSA J. – 2010. – Vol. 8. – P. 1763. doi:10.2903/j.efsa.2010.1763

110. Savaiano, DA. Lactose malabsorption from yogurt, pasteurized yogurt, sweet acidophilus milk, and cultured milk in lactase-deficient individuals / DA. Savaiano, El. Abou, A. Anouar, DE. Smith, et al // Am J Clin Nutr. – 1984. – Vol. 40. – P. 1219-1223.

111. Santos Rocha, C. Local and systemic immune mechanisms underlying the anti-colitis effects of the dairy bacterium Lactobacillus delbrueckii / C. Santos Rocha, A. C. Gomes-Santos, T. Garcias Moreira, M. de Azevedo, T.Diniz Luerce, M. Mariadassou, A. P. Longaray Delamare, P. Langella, E. Maguin, V. Azevedo, et al // PLoS ONE. – 2014. – Vol. 9 (1). – P. 85923. doi: 10.1371/journal.pone.0085923.

112. Lovelace, HY. Diagnosis, symptoms, and calcium intakes of individuals with self-reported lactose intolerance / HY. Lovelace, SI. Barr // J Am Coll Nutr. – 2005. – Vol 24. – P. 51-57.

113. Muro, C. Review: Production and functionality of active peptides from milk. / C. Muro, R. Álvarez Fernández, F. Riera Rodriguez, A. Arana Cuenca, and A. T. Jurado Ciencia // Food Science and Technology International. – 2011. – Vol. 17 (4). – P. 293-317. doi: 10.17/1082013211398801

114. Georgalaki, M. Evaluation of the antihypertensive angiotensin-converting enzyme inhibitory (ACE-I) activity and other probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from traditional Greek dairy products / M. Georgalaki, G. Zoumpopoulou, E. Mavrogonatou, G. Van Driessche, V. Alexandraki, R. Anastasiou, M. Papadelli, M. Kazou, E. Manolopoulou, D. Kletsas, et al //

International Dairy Journal. – 2017. – Vol 75. – P. 10–21. doi: 10.1016/j.idairyj.2017.07.003.

115. Shu, G. Effect of organic nitrogen source on Angiotensin I Converting Enzyme (ACE) inhibitory peptides fermented by Lactobacillus bulgaricus LB6 from goat milk / G. Shu, H. Yang, H. Chen, Z. Ji, and H. Xing // Advance Journal of Food Science and Technology. – 2014. – Vol 6 (2). – P. 221–227. doi: 10.19026/ajfst.6.14.

116. Bai, Y. H. Lactobacillus bulgaricus mutants decompose uremic toxins / Y. H. Bai, Y. F. Jiang, Y. S. Jiang // Renal Failure. – 2014. – Vol. 36 (5). – P. 790–794. doi: 10.3109/0886022X.2014.890111.

117. Полянская, И.С. Антагонистическая активность пробиотических штаммов: факторы регулирования / И.С. Полянская, Л.Г. Стоянова, В.Ф. Семенихина // Молочная промышленность. – 2017. – № 1. – С. 42-44.

118. Полянская, И.С. Антибиотическая активность молочнокислых культур к сальмонеллам / И.С. Полянская, А.С. Тераевич, О.И. Топал, В.Ф. Семенихина // Молочная промышленность. – 2015. – № 1. – С. 56-57.

119. Zaeim, D. Identification and partial characterization of a bacteriocin-like inhibitory substance (BLIS) from Lb. bulgaricus K41 isolated from indigenous yogurts / D. Zaeim, S. Soleimanian-Zad, M. Sheikh-Zeinoddin // Journal of Food Science. – 2014. – Vol. 79 (1). – P. M67–M73. doi: 10.1111/1750-3841.12314.

120. Abdel-Shafi, S. Antibacterial activity of Lactobacillus delbreukii subspecies bulgaricus isolated from Zabady / S. Abdel-Shafi, A. R. Al-Mohammadi, S. Negm, G. Enan // Life Science Journal. – 2014. – Vol. 11. – P. 264–70.

121. Avlami, A. Lactobacillus rhamnosus endocarditis complicating colonoscopy / A. Avlami, T. Kordossis, N. Vrizidis, NV. Sipsas // J Infect. – 2001. – Vol. 42(4). – P. 283-285. doi: 10.1053/jinf.2001.0793.

122. Conway, PL. Survival of lactic acid bacteria in the human stomach and adhesion to intestinal cells / SL. Gorbach, BR. Goldin // J Dairy Sci. – 1987. – Vol. 70(1) – P. 1-12.

123. Walter, J. Ecological role of lactobacilli in the gastrointestinal tract: implications for fundamental and biomedical research / J. Walter // Appl Environ Microbiol. – 2008. – Vol. 74(16). – P. 4985-4996. doi: 10.1128/AEM.00753-08.

124. Bujňáková, D. Functional properties of Lactobacillus strains isolated from dairy products / D. Bujňáková, V. Kmeť // Folia Microbiol (Praha). – 2012. – Vol. 57(4). – P. 263-267. doi: 10.1007/s12223-012-0121-x.

125. Deepika G. Influence of fermentation conditions on the surface properties and adhesion of Lactobacillus rhamnosus GG / G. Deepika, E. Karunakaran, C.R. Hurley, C.A. Biggs, D. Charalampopoulos // Microb. Cell Fact. – 2012. – Vol.11. – P. 116. doi: 10.1186/1475-2859-11-116

126. Singh, S. Lactobacillus rhamnosus NCDC17 ameliorates type-2 diabetes by improving gut function, oxidative stress and inflammation in high-fat-diet fed and streptozotocintreated rats / S. Singh, R. K. Sharma, S. Malhotra, R. Pothuraju, and U. K. Shandilya // Beneficial Microbes. – 2017. – Vol 8 (2). – P. 243–255. doi: 10.3920/BM2016.0090

127. Osterlund, P. Lactobacillus supplementation for diarrhoea related to chemotherapy of colorectal cancer: a randomised study / P. Osterlund, T. Ruotsalainen, R. Korpela, M. Saxelin, A. Ollus, P. Valta, M. Kouri, I. Elomaa, H. Joensuu // Br J Cancer. – 2007. – Vol. 97(8). – P. 1028-1034.

128. Guandalini, S. Lactobacillus GG administered in oral rehydration solution to children with acute diarrhea: a multicenter European trial / S. Guandalini, L. Pensabene, MA. Zikri, JA. Dias, LG. Casali, H. Hoekstra, S. Kolacek, K. Massar, D. Micetic-Turk, A. Papadopoulou de Sousa JS, B Sandhu, H. Szajewska, Z. Weizman // J Pediatr Gastroenterol Nutr. – 2000. – Vol. 30(1). – P. 54-60.

129. Petrova, M. The lectin-like protein 1 in Lactobacillus rhamnosus GR-1 mediates tissue-specific adherence to vaginal epithelium and inhibits urogenital pathogens / M. Petrova, E. Lievens, T. Verhoeven, J. Macklaim, G. Gloor, D. Schols J. Vanderleyden, G. Reid, S. Lebeer // Scientific Reports. – 2016. – Vol. 6. – P. 1-15.

130. Семенихина, В.Ф. Закваски с низкой постокислительной активностью / В.Ф. Семенихина, И.В. Рожкова, С.Г. Ботина, А.А. Абрамова // Молочная промышленность. – 2009. – № 5. – С. 61-62.

131. Семенихина, В.Ф. Подбор бактериальных культур для производства кисломолочный продукта с длительным сроком хранения / В.Ф. Семенихина, И.В. Рожкова, А.А. Абрамова // Вестник Орловского государственного аграрного университета. – 2013. – № 1 (40). – С. 180-183.

132. Канарейкина, С.Г. Влияние режимов пастеризации на органолептические показатели и кислотность кобыльего молока при хранении / С.Г. Канарейкина, В.И. Канарейкин // Известия ОГАУ. – 2017. – № 1 (63). – С. 144-147.

133. Kim, Y.A. Probiotics, prebiotics, synbiotics and insulin sensitivity / Y.A. Kim, J.B. Keogh, P.M. Clifton // Nutr Res Rev. – 2018. – Vol. 31. – № 1. – P. 35-51. DOI: 10.1017/S095442241700018X.

134. Kumar, M. Cholesterol-lowering probiotics as potential biotherapeutics for metabolic diseases. / M. Kumar, R. Nagpal, R. Kumar, R. Hemalatha, V. Verma, A. Kumar, C. Chakraborty, B. Singh, F. Marotta, S. Jain, H. Yadav // Exp Diabetes Res. – 2012. – P. 902917. DOI:10.1155/2012/902917.

135. Chen, H. Kefir peptides prevent high-fructose corn syrup-induced non-alcoholic fatty liver disease in a murine model by modulation of inflammation and the JAK2 signaling pathway / H. Chen, T. Tsai, Y. Tsai et al. // Nutr & Diabetes. – 2016. – Vol. 6. – P. 237. DOI:1038/nutd.2016.49

136. Ma, J. Gut Microbiota and Nonalcoholic Fatty Liver Disease: Insights on Mechanisms and Therapy / J. Ma, Q. Zhou, H. Li // Nutrients. – 2019. – 9(10). – P. 1124. DOI:10.3390/nu9101124.

137. Молоко козье, овечье, кобылье: где и сколько? URL: https://dairynews.today/news/moloko-koze-oveche-kobyle-gde-i-skolko.html (дата обращения 06.04.2022).

138. Канарейкина, С.Г. Разработка и обоснование основных технологических операций при производстве кисломолочный продукта из

кобыльего молока / С.Г. Канарейкина // Вестник Башкирского государственного аграрного университета. — 2010. — № 2 — С. 72–75.

139. Бигаева А.В. Разработка молекулярно-генетической и биоинформационной системы оценки технологических свойств молока, ассоциируемых с направлениями его переработки: дис. … к-та техн.наук. ФГАНУ ВНИМИ, Москва, 2021.

140. Chernukha, I. Antioxidant effect of ethanolic onion (Allium cepa) husk extract in ageing rats / I. Chernukha, L. Fedulova, E. Vasilevskaya, A. Kulikovskii, N. Kupaev, E. Kotenkova // Saudi Journal of Biological Sciences. – 2021. DOI: 10.1016/j.sjbs.2021.02.020.

141. Федулова, Л.В. Теоретическая обоснованность и практическая эффективность комплексного подхода к исследованиям специализированных пищевых продуктов: дис. ... д-ра техн. наук. ФГБНУ ФНЦ пищевых систем им. В.М. Горбатова, Москва, 2021.

142. Яковлева Н.Ф. Социологическое исследование [Электронный ресурс]: учеб. пособие. – 2-е изд., стер.– М. : ФЛИНТА, 2014. – 252 с. ISBN 978-5-9765-1899-5

143. Методические рекомендации МР 2.3.1.0253-21 Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации. 2021 г.

144. Смертность от болезней печени в России URL:https://vseopecheni.ru/news/smertnost-ot-boleznej-pecheni-v-rossii-shokiruyushhie-statisticheskie-dannyie/ (дата обращения 06.03.2022).

145. ГОСТ 31449-2013. Молоко коровье сырое. Технические условия. - М.: Стандартинформ, 2018.

146. ГОСТ Р 52973-2008. Молоко кобылье сырое. Технические условия. – М.: Стандартинформ, 2009.

147. Симоненко, С.В. Методы идентификации женского, козьего и коровьего молока / С.В. Симоненко, Н.В. Гавриленко, Е.М. Червяковский, В.П. Курченко // Труды БГУ. – 2009. – Т. 4. – Ч. 2. – С. 256-260.

148. Сатыев, Б.Х. Коневодство Башкортостана / Б.Х. Сатыев, К.З. Махмутов, В.И. Самохвалов. – Уфа, 2001. – 261 с.

149. NCBI [Electronic resource]: National Center for Biotechnology Information – Mode of access: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/– Date of access: 24.03.2021.

150. О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Российской Федерации в 2020 году: Государственный доклад. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека. – 2021. – С. 256.

151. Распоряжение Правительства РФ от 29 июня 2016 г № 1364-р URL:http://government.ru/docs/23604/ (дата обращения 16.01.2022).

152. Приказ Минздрава России от 15 января 2020 года № 8 URL:https://base.garant.ru/73521912/ (дата обращения 16.01.2022).

153. Исследование рынков кобыльего молока URL:http://avtorskie.by/materialy/files/rynki.pdf?ysclid=l1yo94pxqj (дата обращения 14.04.2022).

154. Пономарёва, Н. Кумыс как лечебное и профилактическое средство / Н. Пономарёва // Коневодство и конный спорт. – 1976. – № 9. – С. 7.

155. ГОСТ 25228-82 «Молоко и сливки. Метод определения термоустойчивости по алкогольной пробе»

156. Радаева, И. А. Формирование технологических свойств сухого молока / И. А. Радаева, А. Г. Кручинин, С. Н. Туровская, Е. Е. Илларионова, А. В. Бигаева // Вестник МГТУ. – 2020. – Т. 23. – № 3. – С. 280-290. DOI:10.21443/1560-9278-2020-23-3-280-290

157. Канарейкина, С.Г. Разработка кумысного продукта с пребиотиком / С.Г. Канарейкина, В.И. Канарейкин // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2016. – С. 110-111.

158. Канарейкина, С.Г. Кисломолочный продукт из кобыльего молока функциональной направленности / С.Г. Канарейкина, В.И. Канарейкин // Известия Оренбургского государственного аграрного университета. – 2016. –

С. 189-192.

159. Мудрикова, О.В. Исследование исследования детергентов на содержание белка в молоке / О.В. Мудрикова, П.В. Митрохин // Техника и технология пищевых производств. – 2010. – № 1 (16). – С. 61-64.

160. Бигаева, А. В. Термоустойчивость молока коров с разными генотипами каппа-казеина / А. В. Бигаева, Х. Х. Гильманов, С. В. Тюлькин, Р. Р. Вафин, А. Г. Галстян // Пищевая промышленность. – 2019. – С. 59-62. DOI: 10.24411/0235-2486-2019-10159

161. Герасимова, О.А. Теоретическое обоснование процесса термизации молока / О.А. Герасимова, С.В. Соловьев, Е.А. Соловьева, А.С. Чесноков // Вестник Алтайского государственного аграрного университета. – 2017. – № 1. – С. 137-145.

162. Родионова, Н.С. Изменение свойств обезжиренного молока при концентрировании обратным осмосом / Н.С. Родионова, К.К. Полянский // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. – 1991. – С. 86-87.

163. Гончаренко, Г.М. Полиморфизм гена k-казеина и технологические свойства молока у коров симментальской породы в Республике Алтай / Г.М. Гончаренко, Т.С. Горячева, Н.С. Медведева // Сельскохозяйственная биология. – 2013. – № 6. – С. 123-126.

164. МУК 4.2.1847-04 Санитарно-эпидемиологическая оценка обоснования сроков годности и условий хранения пищевых продуктов. Методические указания - М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. – 31 с.

165. Гладкова, Е.Е. Кобылье молоко – натуральный продукт питания // Коневодство и конный спорт. – 2010. – № 10. – С. 85.

166. Симоненко, Е.С. Перспективы использования кобыльего молока для создания продуктов диетического лечебного и диетического профилактического питания / Е.С. Симоненко, С.В. Симоненко, Ю.С. Хованова // Международный научно-исследовательский журнал. – 2021. – № 12. – 1(114). – С. 157-161. https://doi.org/10.23670/IRJ.2021.114.12.026.

167. Jastrzębska, E. Nutritional Value and Health-Promoting Properties of Mare's Milk – a Review / E. Jastrzębska, E. Wadas, T. Daszkiewicz, R. Pietrzak-Fiećko // Czech J. Anim. Sci.. – 2017. – Vol. 62. – №. 12. – P. 511-518.

168. Курченко, В.П. Идентификация кобыльего молока и его смеси с коровьим молоком методом ВЭЖХ-анализа / В.П. Курченко, Е.С. Симоненко, Н.В. Сушинская, Т.Н. Головач, А.Н. Петров, С.В. Симоненко // Техника и технология пищевых производств. – 2021. – Т. 51. – № 2. – С. 402-412. https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-2-402-412.

169. МУК 4.2.1890-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Методические указания. - М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России. – 2004. – 91 с.

170. Kennas, A. Effect of pomegranate peel and honey fortification on physicochemical, physical, microbiological and antioxidant properties of yoghurt powder / A. Kennas, H. Amellal-Chibane, F. Kessal, F. Halladj // Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences. – 2020. DOI: 10.1016/j.jssas.2018.07.001

171. Ulbricht, T. L. V. Coronary heart disease: seven dietary factors / T. L. V. Ulbricht, D. A. T. Southgate // The lancet. – 1991. – Vol. 338. – №. 8773. – P. 985-992.

172. Slastin, V. Specific Influence of different food fatty acids on cardiovascular system / V. Slastin, Y. Samusieva, L. Moskalchuk, O. Usatiuk // Scientific Works of NUFT. – 2015. – Vol. 21. – № 4. – P. 7-16.

173. Chernukha, I. Bioactive Compounds of Porcine Hearts and Aortas May Improve Cardiovascular Disorders in Humans/ I. Chernukha, E. Kotenkova, S. Derbeneva, D. Khvostov // International Journal of Environmental Research and Public Health. – 2021. – V.18, №14. - 7330. DOI:10.3390/ijerph18147330.

174. Симоненко, Е.С. Исследование хранимоустойчивости кисломолочного продукта на основе кобыльего молока / Е.С. Симоненко // Международный научно-исследовательский журнал. – 2022. – № 2 (116). – С. 163-168. https://doi.org/10.23670/IRJ.2022.116.2.028.

175. Mehlem, A. Imaging of neutral lipids by oil red O for analyzing the metabolic status in health and disease / A. Mehlem, C.E. Hagberg, L. Muhl, U. Eriksson, A. Falkevall //Nat Protoc. – 2013. – V.8. – №6. - 1149-54. DOI:10.1038/nprot.2013.055.

176. Симоненко, Е.С. Исследование режимов термической обработки кобыльего молока и кобыльего молока с добавлением коровьего / С.В. Симоненко, М.С. Копытко // Международный научно-исследовательский журнал. - 2022. – № 3 (117). – Ч.2 – С. 10-13.

177. Симоненко, С.В. Разработка специализированных продуктов для детского питания на основе комбинированного молока / С.В. Симоненко, Е.В. Сидорова, Т.А. Антипова, Б.М. Мануйлов, Е.С. Симоненко // Вопросы питания. – 2018. – Т. 87. – № S5. – С. 237-238. https://doi.org/10.24411/0042-8833-2018-10348.

178. Симоненко, С.В. Продукты из комбинированного молочного сырья для питания детей дошкольного и школьного возраста / С.В. Симоненко, Б.М. Мануйлов, Е.С. Симоненко, Е.Н. Сидорова // Российский вестник перинатологии и педиатрии. – 2018. – Т. 63. – № 4. – С. 174-175.

179. Мануйлов, Б.М. Особенности подбора закваски для йогурта из комбинации молока различных видов сельскохозяйственных животных / Б.М. Мануйлов, С.В. Симоненко, Е.В. Сидорова, М.С. Копытко // Пищевая промышленность.– 2020. – № 10. – С. 22-25.

180. Мануйлов, Б.М. Натуральный источник бета-каротина в кисломлочных продуктах для детского питания / Б.М. Мануйлов, Т.А. Антипова, Е.В. Сидорова, Е.С. Симоненко, М.С. Копытко // Международный научно-исследовательский журнал. – 2020. – Т. 1. – № 1 (1). – С. 362-367.

181. Albracht-Schulte K., Kalupahana N.S., Ramalingam L. et al. Omega-3 fatty acids in obesity and metabolic syndrome: a mechanistic update // The Journal of Nutritional Biochemistry. – 2018. Vol. – 58. P – 1-16. DOI: 10.1016/j.jnutbio.2018.02.012.

182. Lorente-Cebrián S., Costa A.G., Navas-Carretero S. et. al. Role of

omega-3 fatty acids in obesity, metabolic syndrome, and cardiovascular diseases: a review of the evidence // Journal of Physiology and Biochemistry. – 2013. – Vol. 69(3). – P. 633-651. DOI: 10.1007/s13105-013-0265-4.

Приложение 1

Министерство науки и высшего образования
Российской Федерации
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ПИТАНИЯ, БИОТЕХНОЛОГИИ И БЕЗОПАСНОСТИ ПИЩИ
(ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»)

УТВЕРЖДАЮ
Директор
ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», член-корр. РАН

_____ Д.Б. Никитюк
«____» _____ 2021 г.

МЕДИКО-БИОЛОГИЧЕСКИЕ ТРЕБОВАНИЯ НА

ПРОБИОТИЧЕСКИЙ КИСЛОМОЛОЧНЫЙ ПРОДУКТ НА ОСНОВЕ КОБЫЛЬЕГО МОЛОКА

РАЗРАБОТАНО:

НИИ детского питания – филиалом
ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»

Младший научный сотрудник
лаборатории технологии продуктов
питания детей дошкольного и
школьного возраста

_____ Е.С. Симоненко

Москва
2021

Приложение 2

ПАСПОРТ ШТАММА МИКРООРГАНИЗМА

1. Видовое название культуры: *Lactobacillus rhamnosus*

2. Номер или наименование штамма: F

3. Родословная штамма:

4. Способ получения штамма (найден в естественных условиях, где, когда, кем; получен селекционным путем; получен как мутант и т.п.) выделен из сыра

5. Где (наименование организации и ее адрес) идентифицирован микроорганизм, данные на основании которых было сделано заключение о родовой/видовой принадлежности микроорганизма, должны прилагаться к паспорту): штамм *Lactobacillus rhamnosus* выделен в Центральной лаборатории микробиологии ФГБНУ ВНИМИ (г. Москва, ул. Люсиновская 35 корп. 7) по тестам идентификации молочнокислых бактерий, изложенных в Сборнике инструкций по селекции молочнокислых бактерий и бифидобактерий и подбору заквасок для кисломолочных продуктов, утвержденных Минмясомолпромом СССР и согласованных с Минздравом СССР 1985г

6. Культурально-морфологические особенности штамма: гомоферментативная, грамположительная молочнокислая палочка, оптимальная температура роста (37±1)°С, предел кислотообразования в молоке (через 7 суток) 80-180°Т, восстанавливает лакмусовое молоко, не обладает терморезистентностью, сбраживает рамнозу, обладает CO_2 из цитрата, не образует аммиак из аргинина, способны развиваться в среду, содержащей 6% поваренной соли

7. Антагонистическая активность: антагонистически активен по отношению к *E. coli* ATCC 25922, *E. coli* B-125, *S. aureus* ATCC 6538, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028

8. Антиоксидантная активность по отношению к катион-радикалу АБТС при культивировании в молоке составляет 916.67 мкмоль/мл ТЭ через 48 ч культивирования

9. Обладает способностью к снижению уровня холестирина на 36% при культивировании в питательной среде 24 ч

10. Обладает резистентностью к оксациллину, пефлоксацину, азитромицину, линкомицину, фосфомицину

11. Область применения штамма: используется при производтстве кисломолочных продуктов

12. Продукт, синтезируемый штаммом: продуцирует молочную кислоту

13. Активность (продуктивность) штамма (с указанием условий культивирования), а также другие производственные показатели: активность кислотообразования (время сквашивания стерильного молока) 24-48 ч при (37±1)°С

14. Способ определения активности штамма с указанием метода: определяется по времени сквашивания, метод описан в ТУ 9229-369-00419785

15. Способ, условия и состав сред для размножения штамма: культивирование штамма проводится в стерильном молоке при температуре (37±1)°С в течение 24-48 ч

16. Является ли штамм: зоопатогенным: нет; фитопатогенным: нет; представляет ли опасность по каким-то другим причинам: нет

17. Форма депонирования: Штамм хранится в отраслевой коллекции молочнокислых и пробиотичкских микроорганизмов ФГАНУ «ВНИМИ» (Москва, ул. Люсиновская 35, корп.7)

Приложение 3

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Федеральный исследовательский центр питания,
биотехнологии и безопасности пищи
НИИ Детского питания - филиал ФГБУН "ФИЦ питания и биотехнологии"

ОКПД 2 10.51.52

Группа Н17
(ОКС 67.160.20)

УТВЕРЖДАЮ
Директор НИИ детского питания – филиала ФГБУН ФИЦ питания и биотехнологии

_____ Симоненко С.В.

Пробиотический кисломолочный продукт на основе кобыльего молока
Технические условия
ТУ 10.51.52-162-00419006-2021

РАЗРАБОТАНО
НИИ детского питания –
филиал ФГБУН ФИЦ питания и биотехнологии
Начальник отдела прогнозирования технологических исследований и инновационного развития
_____ Е.С. Симоненко
Ведущий научный сотрудник лаборатории технологии продуктов питания детей дошкольного и школьного возраста
_____ А.Ю. Золотин

г. Истра
Московской обл.
2021

Приожение 4

УТВЕРЖДАЮ

Заместитель генерального директора
по производству
Волковысского ОАО «Беллакт»
_____ Т.Н.Горкавик

Акт внедрения
(опытно-промышленной выработки)
кисломолочного продукта на основе кобыльего молока

«17» январ 2022 г.

Беларусь, Гродненская обл.,
г. Волковыск,
ул. Октябрьская, 133

Комиссия в составе:

Председатель	Г.н.с отдела специализированных продуктов	Т.А. Антипова
члены комиссии:	Н.с. лаборатории технологий продуктов геродиетического питания	Б.М. Мануйлов
	М.н.с лаборатории технологий продуктов дошкольного и школьного возраста	Е.С. Симоненко
	главный технолог ОАО «Волковысское «Беллакт»,	Т.Н. Новикова

Настоящий акт составлен о том, что сотрудниками НИИ Детского питания – филиала ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»: главным научным сотрудником отдела специализированных продуктов Т.А. Антиповой, младшим научным сотрудником лаборатории технологий продуктов питания детей дошкольного и школьного возраста Е.С. Симоненко, научным сотрудником лаборатории технологий продуктов геродиетического питания Б.М. Мануйловым совместно с представителями ОАО «Волковысское «Беллакт» проведена опытно-промышленная выработка по

ТУ 10.51.52-162-00419006-2021 «Пробиотический кисломолочный продукт на основе кобыльего молока» двух рецептур кисломолочного продукта: на основе концентрированного кобыльего молока и смеси кобыльего молока с коровьим.

Для выработки было использовано следующее сырье и компоненты:

– молоко коровье сырое по ГОСТ 31449-2013;
– молоко кобылье сырое ГОСТ Р 52973-2008;
– молоко кобылье сухое ГОСТ Р 52975-2008;
– закваска для кисломолочного продукта СТБа (*Streptococcus salivarius subsp. thermophilus, Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus)* по ТУ 9229-369-00419785-94;
– пробиотический штамм *Lactobacillus rhamnosus* F по ТУ 9229-369-00419785-94.

В результате опытно-промышленной выработки было получено 2000 кг готовых продуктов.

Проведены исследования органолептических, физико-химических и микробиологических показателей двух кисломолочных продуктов на основе кобыльего молока.

На основании результатов опытно-промышленной выработки комиссия считает, что предложенная разработанная технология производства пробиотического кисломолочного продукта на основе кобыльего молока является перспективной и рекомендуется для применения в производстве.

Т.А. Антипова
Б.М. Мануйлов
Е.С. Симоненко
Т.Н. Новикова

Приложение 5

Утверждаю
Исполнительный директор
ООО «Мясокомбинат
«Дороничи»
_____ К.А. Бакин

АКТ
опытно-промышленной выработки
пробиотического кисломолочного продукта на основе кобыльего молока

«12» ноября 2021 г.

Россия, г. Киров, п. Костино
Ул. Производственная 1в

Комиссия в составе:

Исполнительный директор ООО «Мясокомбинат «Дороничи»	К.А. Бакин
Главный научный сотрудник НИИ детского питания-филиала ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»	Т.А. Антипова
Младший научный сотрудник НИИ детского питания-филиала ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»	Е.С. Симоненко

Настоящий акт составлен о том, что в период с 08.11.2021 по 12.11.2021 комиссией в составе сотрудников НИИ Детского питания – филиала ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии» и ООО «Мясокомбинат «Дороничи» осуществлены работы по внедрению на производственной площадке ООО «Мясокомбинат «Дороничи» ТУ 10.51.52-162-00419006-2021 «Пробиотический кисломолочный продукт на основе кобыльего молока».

В указанный период осуществлена опытно-промышленная выработка продукта по двум рецептурам объемом порядка 3000 л.

В результате внедрения установлено, что готовый пробиотический кисломолочный продукт на основе кобыльего молока соответствует требованиям ТУ 10.51.52-162-00419006-2021 по органолептическим, физико-химическим и микробиологическим показателям.

На основании результатов опытно-промышленной выработки комиссия считает, что предложенная разработанная технология производства пробиотического кисломолочного продукта на основе кобыльего молока является перспективной и рекомендуется для применения в производстве.

_____ К.А. Бакин
_____ Т.А. Антипова
_____ Е.С. Симоненко

Приложение 6

БАШҠОРТОСТАН РЕСПУБЛИКАҺЫНЫҢ
САУҘА ҺӘМ ХЕҘМӘТТӘР
МИНИСТРЛЫҒЫ

Өфө ҡалаһы, 450008, Цюрупа урамы, 13
Тел.: +7(347) 218-09-58
e-mail: trade.secretar@bashkortostan.ru,
https://trade.bashkortostan.ru

МИНИСТЕРСТВО
ТОРГОВЛИ И УСЛУГ
РЕСПУБЛИКИ БАШКОРТОСТАН

ул. Цюрупы, 13, г. Уфа, 450008
Тел.: +7(347) 218-09-58
e-mail: trade.secretar@bashkortostan.ru,
https://trade.bashkortostan.ru

10.01.2022 г. № М14-07-26

На № _____ от _____

СПРАВКА
о внедрении результатов научно-исследовательской работы Симоненко Е.С.
по теме: «Разработка пробиотического кисломолочного продукта на основе кобыльего молока функциональной направленности»

Настоящим письмом подтверждаю, что в период с 15.11.2021 по 10.12.2021 на производственных площадках, расположенных на территории Республики Башкортостан, с участием специалистов ГКУ Республики Башкортостан "Управление социального питания" были осуществлены работы по внедрению ТУ 10.51.52-162-00419006-2021 «Пробиотический кисломолочный продукт на основе кобыльего молока».

В результате внедрения установлено, что готовый пробиотический кисломолочный продукт на основе кобыльего молока соответствует требованиям ТУ 10.51.52-162-00419006-2021 по органолептическим, физико-химическим и микробиологическим показателям.

На основании результатов опытно-промышленной выработки сделан вывод, что предложенная разработанная технология производства пробиотического кисломолочного продукта на основе кобыльего молока является перспективной и возможна для применения в производстве.

Министр торговли и услуг
Республики Башкортостан **А.Н. Гусев**