

На правах рукописи

Жарко Мария Юрьевна

**РАЗРАБОТКА ЗАМОРОЖЕННОЙ КОНЦЕНТРИРОВАННОЙ ЗАКВАСКИ
МОЛОЧНОКИСЛЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ**

Специальность 4.3.3. Пищевые системы

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Москва, 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном научном учреждении «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» (ФГАНУ «ВНИМИ»)

Научный руководитель: доктор технических наук
Петров Андрей Николаевич

Официальные оппоненты: **Волкова Галина Сергеевна**
доктор технических наук,
Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии – филиал ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», лаборатория биотехнологии органических кислот, пищевых и кормовых добавок, заведующая лабораторией

Федорова Татьяна Васильевна
кандидат технических наук,
Федеральный исследовательский центр «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН, Институт биохимии им. А.Н. Баха, лаборатория молекулярных основ биотрансформаций, заведующая лабораторией

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Воронежский государственный университет инженерных технологий"

Защита состоится «__» _____ 2023 года в __ часов __ минут на заседании диссертационного совета Д _____ ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, по адресу: 109316, Москва, ул. Талалихина, 26.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН: www.vniimp.ru.

Автореферат разослан «__» _____ 2023 года.

Учёный секретарь диссертационного совета,
кандидат технических наук,
старший научный сотрудник

А.Н. Захаров

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. В соответствии со Стратегией повышения качества пищевой продукции до 2030 года (Распоряжение Правительства РФ от 29 июня 2016 г. № 1364-р), которая ориентирована на обеспечение полноценного питания, приоритетным направлением государственной политики в области здорового питания населения в Российской Федерации является разработка и производство полезных пищевых продуктов.

В основе производства кисломолочных продуктов лежат биотехнологические процессы, следовательно, качество этих продуктов зависит от заквасок, используемых для их производства, что, в свою очередь, определяется свойствами микроорганизмов, входящих в состав последних. В молочной промышленности наибольшее распространение получили закваски молочнокислых микроорганизмов в виде замороженных гранул (криогранул) DVS (Direct-Vat-Starter или Direct-Vat-Set), которые обеспечивают стабильное качество продукции, технологичны в использовании, обеспечивают наименьший риск обсеменения посторонней микрофлорой, устойчивы к воздействию ингибирующих веществ за счёт высокой концентрации молочнокислых микроорганизмов и имеют постоянный состав культур.

Производство российских замороженных концентрированных заквасок сегодня не превышает 1% от общего объёма их потребления, что ставит отечественную молочную промышленность в зависимость от импорта.

В этой связи исследования, направленные на разработку отечественной технологии замороженных концентрированных заквасок молочнокислых микроорганизмов для защиты российского рынка и стабильного производства в России кисломолочных продуктов, являются актуальными и перспективными.

Степень разработанности темы исследования. Исследованиям по влиянию различных факторов на выживаемость молочнокислых микроорганизмов после замораживания посвящены работы ряда отечественных и зарубежных учёных: А.М. Белоус, И.В. Рожковой, Н.П. Сорокиной, Г.М. Свириденко, А.А. Цуцовой, Д.В. Харитонов, F. Fonseca, P.H. Calcott и других.

Целью диссертационной работы является научное обоснование и разработка технологии замороженной концентрированной закваски молочнокислых микроорганизмов для производства кисломолочных продуктов.

Задачи исследования:

- получить консорциум штаммов молочнокислых микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* из самоквасного молочного продукта, изучить влияние условий культивирования на накопление биомассы клеток и их жизнеспособность;
- установить взаимосвязь между выживаемостью микроорганизмов видов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactiplantibacillus plantarum* и *Streptococcus thermophilus*, их фазой роста и температурой замораживания;
- установить влияние концентрации молочнокислых микроорганизмов на вязкость суспензии и качество криогранул;

- изучить влияние процесса диспергирования и размера криогранул на выживаемость молочнокислых микроорганизмов;
- установить взаимосвязь между выживаемостью молочнокислых микроорганизмов и режимом замораживания/дефростации отдельных криогранул и «монолита»;
- изучить влияние разработанной технологии замораживания на процесс лиофильного высушивания криогранул молочнокислых микроорганизмов;
- разработать технологию производства замороженной концентрированной закваски молочнокислых микроорганизмов, определить её сроки годности и провести опытно-промышленную выработку;
- апробировать разработанную замороженную концентрированную закваску в технологии производства творога и сметаны;
- провести сравнительную оценку эффективности полученной замороженной закваски в сравнении с аналогами.

Научная новизна:

- выделены и идентифицированы новые штаммы молочнокислых микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, выявлено влияние лимитирующих компонентов питательной среды на их культивирование;
- установлена зависимость между выживаемостью молочнокислых микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactiplantibacillus plantarum* и *S. thermophilus*, их фазой роста и температурой замораживания;
- определены зависимости вязкости суспензии и качества криогранул микроорганизмов от их концентрации;
- определена взаимосвязь между режимом замораживания/дефростации отдельных криогранул и выживаемостью молочнокислых микроорганизмов;
- получены новые данные по влиянию криогранул на процесс лиофилизации и на выживаемость микроорганизмов.

Практическая значимость:

- разработана технология производства замороженной концентрированной закваски молочнокислых микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* и *S. thermophilus*, обеспечивающая содержание жизнеспособных клеток не менее 10^{10} КОЕ/г на конец срока годности, утверждён в установленном порядке СТО 00419785-057-2021 «Закваска молочнокислых микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* и *S. thermophilus* прямого внесения для творога» и осуществлена опытно-промышленная апробация разработанной технологии;
- разработан технологический регламент применения разработанной замороженной концентрированной закваски в производстве творога и сметаны;
- доказано, что по основным показателям разработанная замороженная концентрированная закваска молочнокислых микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* и *S. thermophilus* не уступает импортным аналогам, доминирующим на российском рынке.

Методология и методы исследования. При проведении исследований использованы общепринятые, стандартизованные методы.

Положения, выносимые на защиту:

- параметры выживаемости молочнокислых микроорганизмов в зависимости от фазы роста, температурного режима замораживания/дефростации и размера криогранул;
- научное обоснование взаимосвязи между концентрацией суспензии (абсолютно сухие вещества), её вязкостью и количеством жизнеспособных клеток молочнокислых микроорганизмов и технологическими параметрами замороженных криогранул;
- технологические параметры производства замороженной концентрированной закваски молочнокислых микроорганизмов, обеспечивающие содержание жизнеспособных клеток не менее 10^{10} КОЕ/г.

Степень достоверности и апробация работы. Работа выполнена в Центральной лаборатории микробиологии Всероссийского научно-исследовательского института молочной промышленности (ФГАНУ «ВНИМИ») и на базе Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Московский политехнический университет». Исследования проведены на современном метрологически аттестованном оборудовании, достоверность полученных результатов основана на 3–5-кратной повторности. Результаты исследований, научные положения основаны на фактических данных и подтверждены на практике опытно-промышленной апробацией разработанной технологии.

Основные положения и результаты работы были предметом докладов и обсуждений на следующих научно-практических конференциях, семинарах: Научно-практическая конференция «Развитие индустрии холода на современном этапе-2017» (Москва, 2017 г.), Международный конгресс «Биотехнология: состояние и перспективы развития» (Москва, 2019 г.), доклад во ФГБНУ «ВНИХИ» (Москва, 2019 г.), ФГАНУ «ВНИМИ» (Москва, 2022 г.).

Личный вклад автора. Диссертационная работа выполнена автором лично и включает анализ научно-технической литературы, выбор и обоснование экспериментальных методов исследования, выполнение эксперимента, обобщение полученных результатов, выводы по работе.

Публикации. По теме диссертационной работы опубликовано 5 печатных работ, в том числе 4 в изданиях, рекомендованных ВАК РФ.

Структура и объём работы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, методической части, экспериментальной части, основных результатов и выводов, списка использованной литературы, содержащего 128 отечественных и зарубежных источников. Работа изложена на 118 страницах, включает 12 таблиц, 37 рисунков.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы исследований, сформулированы цель и задачи исследования, научная новизна и практическая значимость работы.

В первой главе «Обзор литературы» представлен анализ отечественной и зарубежной научно-технической литературы по производству и применению заквасок. Проанализированы особенности технологии производства замороженных концентрированных заквасок, рассмотрены основные факторы, влияющие на их качество.

Во второй главе «Организация работы, объекты и методы исследования» описаны объекты и методы исследования, представлена схема исследований (рисунок 1). Экспериментальная часть работы проведена на базе Центральной лаборатории микробиологии Всероссийского научно-исследовательского института молочной промышленности (ФГАНУ «ВНИМИ»).

Для решения поставленных задач выбраны объекты исследования: культуры мезофильных молочнокислых микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* М-2017/Л, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* М-2017/С и *Lactiplantibacillus plantarum* ВКПМ В-5002 и термофильный молочнокислый микроорганизм *Streptococcus thermophilus* ВКПМ В-2011, закваски, самоквасный молочный продукт, сметана и творог.

Штаммы молочнокислых микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* и *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* выделены из самоквасного молочного продукта. Культуры *Lactiplantibacillus plantarum* и *S. thermophilus* получены из Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов НИЦ «Курчатовский институт».

Для выделения культур из самоквасного молочного продукта использованы стандартные микробиологические методы. Идентификация и определение биохимических свойств осуществлены референсным методом с использованием тест-системы API 50 CHL (bioMerieux) и программного обеспечения APIWEB™, оценку способности к сбраживанию молока штаммами выделенных молочнокислых микроорганизмов проверяли по получению сгустка (визуально), достижению рН 4,6–4,7 ед. в течение 10–12 часов (температура инкубирования – $32 \pm 1^\circ\text{C}$).

При выполнении работы использованы микробиологические методы определения: молочнокислых микроорганизмов – по ГОСТ 33951; количества мезофильных аэробных и факультативно анаэробных микроорганизмов (КМАФАнМ) и бактерий группы кишечных палочек (БГКП) – по ГОСТ 32901; наличия дрожжей и плесневых грибов – по ГОСТ 33566; патогенных микроорганизмов, в том числе сальмонелл – по ГОСТ 31659; *Staphylococcus aureus* – по ГОСТ 30347.

Определение активной кислотности (рН) проводили по ГОСТ 32892, динамическую вязкость определяли на вискозиметре Гепплера с падающим шариком (ГОСТ 27709 «Консервы молочные сгущенные»), массовую долю сухих веществ (концентрацию) суспензий определяли по ГОСТ Р 54668.

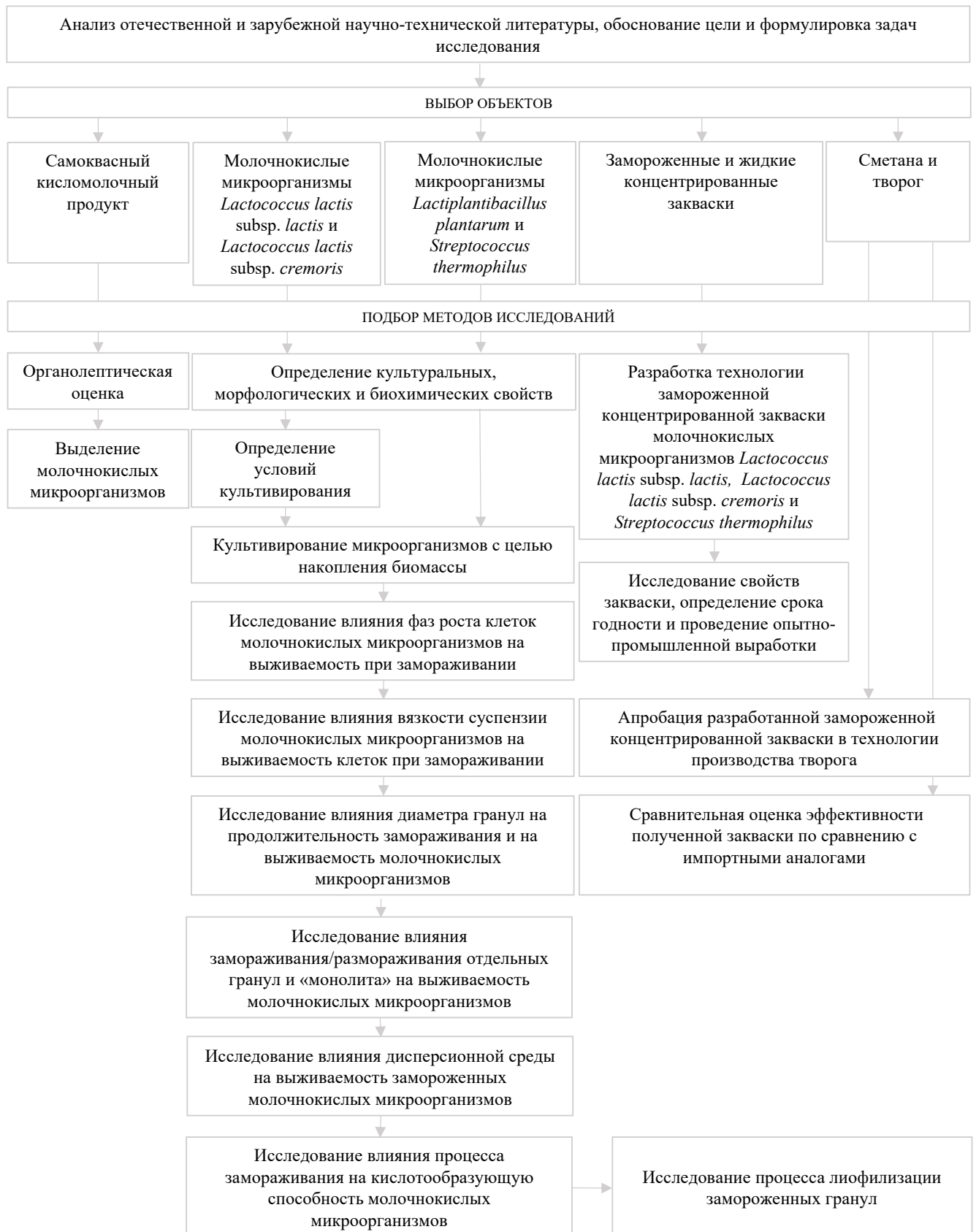


Рисунок 1 – Общая схема исследований

Гранулометрический состав замороженных криогранул определяли метрическими измерениями рандомной выборки 20–30 гранул из каждой партии эксперимента с помощью штангенциркуля (ГОСТ 166).

Отбор проб молока и творога и подготовку их к анализу проводили по ГОСТ 26809.1 «Молоко и молочная продукция. Правила приёмки, методы отбора и подготовка проб к анализу». Творог выработан по ГОСТ 31453 «Творог. Технические условия», сметана – по ГОСТ 31452 «Сметана. Технические условия».

Органолептические показатели: внешний вид, консистенцию, вкус и запах, цвет творога и сметаны – определяли согласно ГОСТ Р ИСО 22935-1 «Молоко и молочные продукты. Органолептический анализ»; массовую долю жира – по ГОСТ 5867 «Молоко и молочные продукты. Методы определения жира». Определение титруемой кислотности в градусах Тернера проводили по ГОСТ 3624.

Рекомендуемые сроки годности определяли по МУК 4.2.1847 «Санитарно-эпидемиологическая оценка обоснования сроков годности и условий хранения пищевых продуктов».

Криозамораживание суспензии молочнокислых микроорганизмов в жидком азоте проводили на лабораторной установке и на криогрануляторе производства ОАО «НПО Гелиймаш».

В третьей главе «Результаты собственных исследований» представлены исследования по выделению штаммов, влиянию состава питательной среды и условий культивирования на рост микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, влиянию процессов концентрирования, суспендирования, замораживания, размораживания, лиофилизации на выживаемость молочнокислых микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactiplantibacillus plantarum* и *S. thermophilus*. Исследования режимов криогранулирования молочнокислых микроорганизмов проведены в жидком азоте. Алгоритм последовательности изучения объектов исследования в виде схемы представлен на рисунке 2.

Выделение штаммов культур молочнокислых микроорганизмов, определение морфологических и биохимических свойств штаммов

Основываясь на органолептических результатах фокус-группы, проанализировавшей 8 самоквасных молочных продуктов, отобран образец, получивший наивысшую оценку.

Из выбранного образца выделены штаммы культур молочнокислых микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* и *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*. Выделение микроорганизмов проведено в три этапа: на первом этапе на среде М-17 при температуре $32 \pm 1^\circ\text{C}$ получена накопительная культура; на втором этапе из 50 колониеобразующих единиц (КОЕ) выделены и идентифицированы чистые культуры. На третьем этапе определены степень чистоты выделенных микроорганизмов, культуральные и физиолого-биохимические характеристики 6 культур *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* и 5 культур *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* для отбора в состав консорциумов.

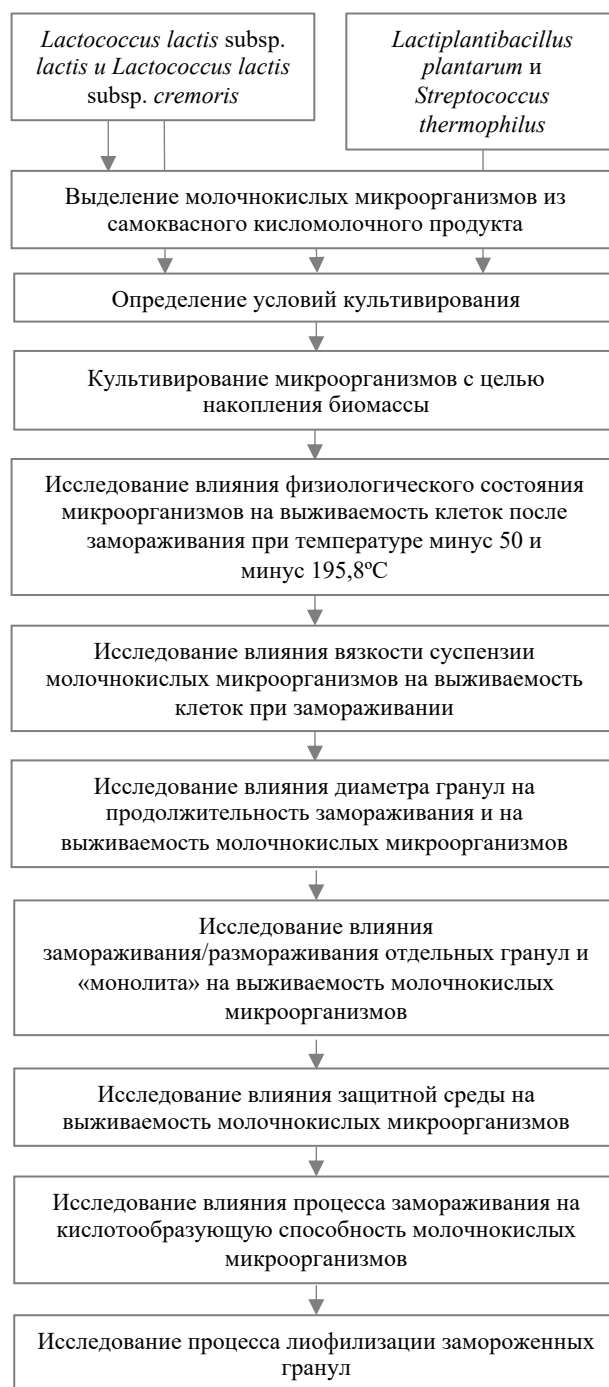


Рисунок 2 – Алгоритм проведения исследований в цепи от выделения штаммов микроорганизмов до технологии получения замороженной концентрированной закваски

Анализ результатов подтверждает, что выделенные штаммы соответствуют таксономическим группам *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* и *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* на $98,5 \pm 0,9\%$ и $99,7 \pm 0,2\%$ соответственно. Оценка способности к сбраживанию молока штаммами показывает, что *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* достигает pH 4,6–4,7 ед. за 5,5 часов (температура инкубирования – $32 \pm 1^\circ\text{C}$), а *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* – за 6 ч, образуя ровный плотный сгусток.

Исследование молочнокислых микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* и *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* на устойчивость к бактериофагам проведено с использованием 14 групп. В результате исследований выявлено, что все выделенные культуры устойчивы к бактериофагам 14 групп.

Изучены морфологические, культуральные и физиолого-биохимические показатели микроорганизмов (таблица 1).

Таблица 1 – Характеристика молочнокислых микроорганизмов

Род, вид, подвид	Морфологические характеристики	Культуральные и физиолого-биохимические характеристики
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Клетки шаровидной или овальной формы размером $0,7 \pm 0,2 \times 0,6 \pm 0,2$ мкм, соединенные попарно (диплококки) или в виде коротких цепочек	Сбраживают D-рибозу, D-галактозу, D-глюкозу, D-фруктозу, D-маннозу, N-ацетилглюкозамин, арбутин, эскулин железа цитрат, салицин, D-целлобиозу, D-мальтозу, D-лактозу, D-трегалозу, амидон, гентиобиозу. Предельная кислотность* – 121°Т
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	Клетки шаровидные размером $0,6 \pm 0,2 \times 0,6 \pm 0,1$ мкм, располагаются в виде коротких и длинных цепочек	Сбраживают D-галактозу, D-глюкозу, D-фруктозу, D-маннозу, N-ацетилглюкозамин, эскулин железа цитрат, D-лактозу Предельная кислотность – 113°Т
<i>Streptococcus thermophilus</i>	Клетки шаровидной формы, диаметр $0,8 \pm 0,2 \times 0,8 \pm 0,1$ мкм, соединены в длинные цепочки	Предельная кислотность – 105°Т
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	Палочки с закруглёнными концами размером $1,0 \pm 0,2 \times 4,6 \pm 0,5$ мкм, соединенные попарно или в виде цепочек	Предельная кислотность – 172°Т

* Максимальная титруемая кислотность, до которой данный микроорганизм может сквасить молоко.

Исследование влияния условий культивирования на жизнеспособность клеток молочнокислых микроорганизмов

Лимитирующими компонентами питательной среды для молочнокислых микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* и *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* являются концентрации источника углевода и неорганического азота. В связи с этим проведены исследования по влиянию концентрации глюкозы в диапазоне от 20 до 60 г/дм³ (рисунок 3) и концентрации источника неорганического азота –

сульфата и цитрата аммония (рисунок 4) – на культивирование клеток молочнокислых микроорганизмов в следующей комбинации: № 1 – сульфат аммония – 2,0 г/дм³, цитрат аммония – 2,0 г/дм³; № 2 – сульфат аммония – 4,0 г/дм³; № 3 – цитрат аммония – 2,0 г/дм³. Культивирование проводят при pH 6,6 ед., температуре 32 ± 1°С в течение 16 ч. Доза инокулята – 7%.

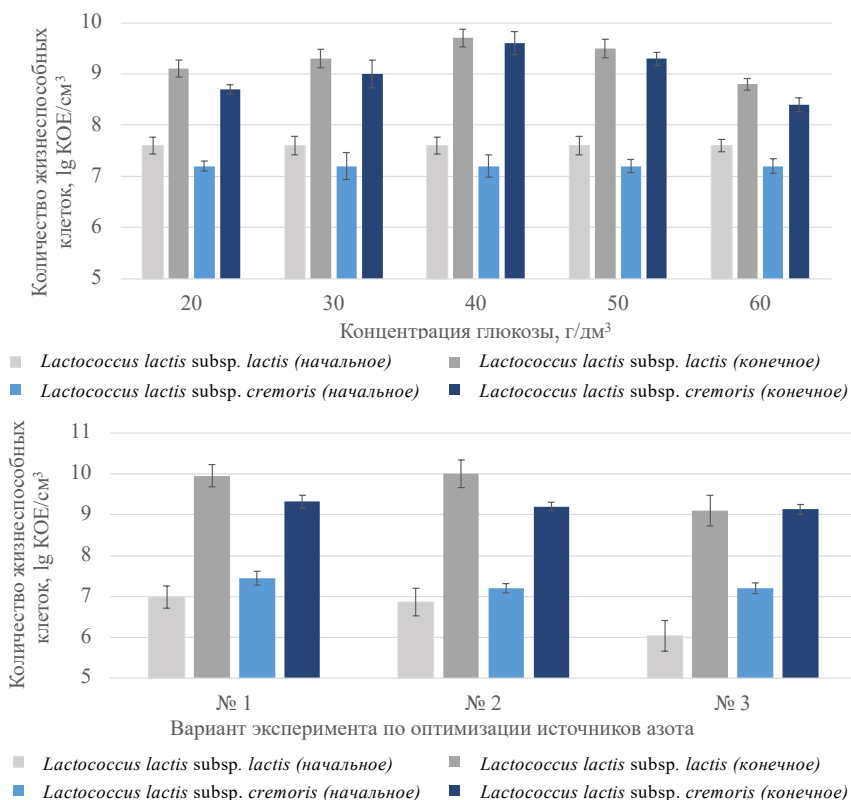


Рисунок 3 – Влияние концентрации глюкозы на количество жизнеспособных клеток молочнокислых микроорганизмов

Рисунок 4 – Влияние неорганических источников азота на количество жизнеспособных клеток молочнокислых микроорганизмов

В результате исследований показано, что наибольшее количество жизнеспособных клеток образуется при использовании питательной среды следующего состава: глюкоза – 40,0 г/дм³, дрожжевой экстракт – 10,0 г/дм³, сульфат аммония – 4,0 г/дм³, калий фосфорнокислый двузамещённый – 2,0 г/дм³, магния сульфат – 0,1 г/дм³, марганца сульфат – 0,05 г/дм³, вода – остальное.

Для получения биомассы молочнокислых микроорганизмов *Lactiplantibacillus plantarum* для исследований использована стандартная микробиологическая среда MRS жидкая, температура культивирования – 40 ± 1°С, для получения биомассы *S. thermophilus* – жидкая среда M-17 и температура культивирования 42 ± 1°С.

Результаты исследования влияния продолжительности культивирования на концентрацию жизнеспособных клеток микроорганизмов представлены на рисунке 5.

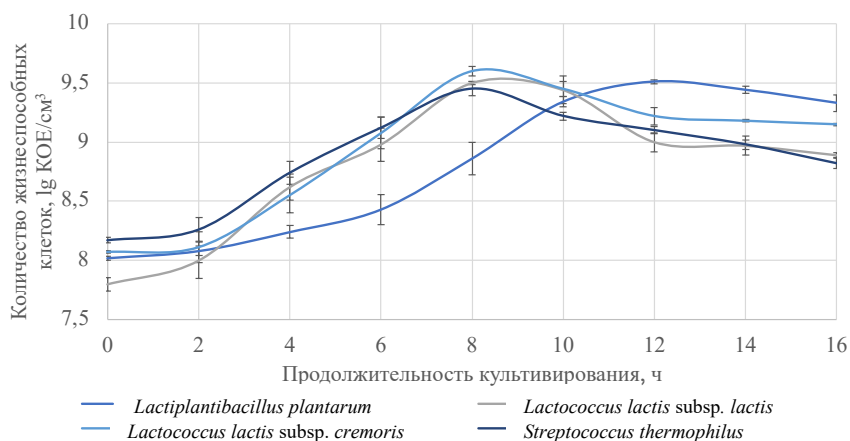


Рисунок 5 – Динамика развития жизнеспособных клеток молочнокислых микроорганизмов в культуральной жидкости

Культуры *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* и *S. thermophilus* через 8 часов роста находятся в начале стационарной фазы роста, штамм *Lactiplantibacillus plantarum* достигает этой же фазы через 12 часов культивирования.

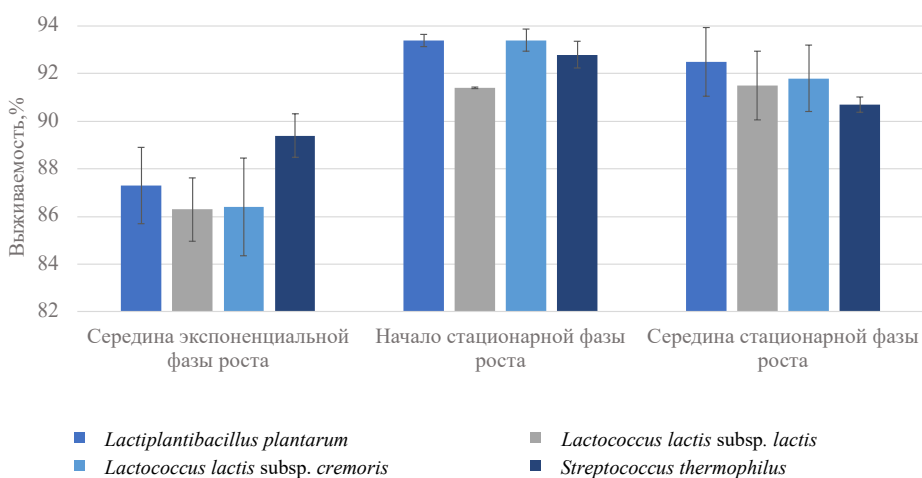
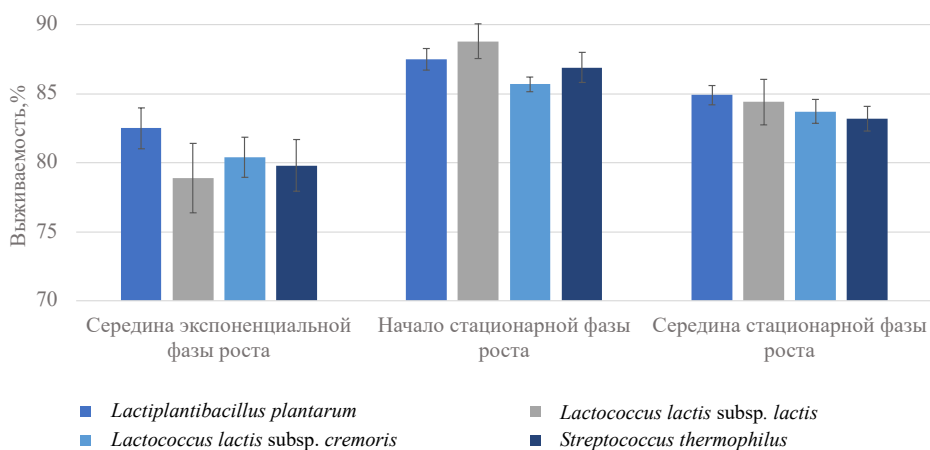
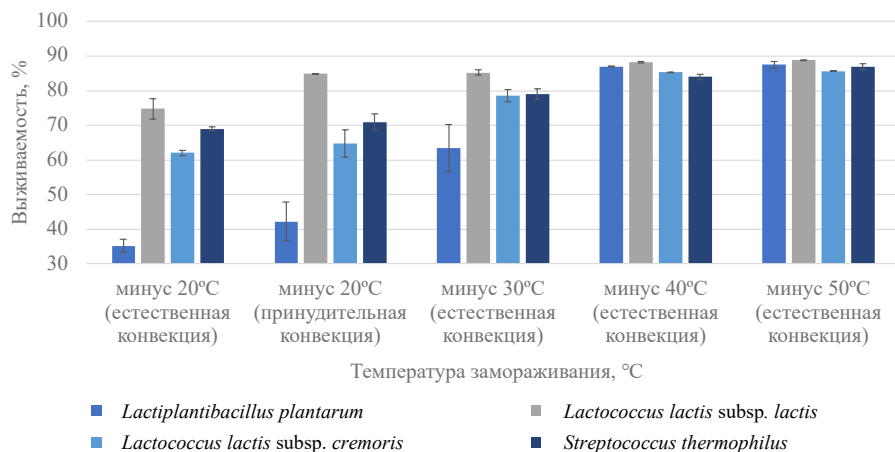
Таким образом, из самоквасных молочных продуктов выделены новые активные консорциумы молочнокислых микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, и выявлено влияние продолжительности культивирования на количество жизнеспособных клеток молочнокислых микроорганизмов.

Исследование влияния фаз роста клеток молочнокислых микроорганизмов на выживаемость при замораживании

Проведено исследование влияния фазы роста культур микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactiplantibacillus plantarum* и *S. thermophilus* на выживаемость в процессе замораживания при температурах минус 20; минус 30; минус 40; минус 50 и при минус 195,8°C. При температуре замораживания минус 20°C дополнительно исследовано влияние принудительной конвекции. Результаты влияния отрицательных температур на выживаемость молочнокислых микроорганизмов представлены на рисунке 6.

Доказано, что выживаемость клеток повышается на 14–55% при понижении температуры замораживания от минус 20 до минус 50°C. При этом использование принудительной конвекции приводит к повышению выживаемости.

Результаты влияния физиологического возраста культур на выживаемость молочнокислых микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *S. thermophilus* и *Lactiplantibacillus plantarum* при замораживании представлены на рисунках 7 и 8.



Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что фаза роста культур молочнокислых микроорганизмов влияет на выживаемость после воздействия отрицательных температур. При температуре замораживания минус 50 и минус 195,8°C у клеток молочнокислых микроорганизмов, находящихся в начале стационарной фазы роста, наблюдается выживаемость на 6–12% выше, чем у микроорганизмов, находящихся в экспоненциальной фазе роста.

Исследование влияния вязкости суспензии молочнокислых микроорганизмов на выживаемость клеток при замораживании

Вязкость суспензии молочнокислых микроорганизмов претерпевает существенные изменения в зависимости от концентрации клеток, что в значительной степени определяет работу криогранулятора и качество гранул. В связи с этим проведены исследования по выявлению влияния концентрации клеток на динамическую вязкость суспензии. Изменение динамической вязкости суспензии в зависимости от концентрации фиксировали при температуре 20°C. Для получения суспензий молочнокислых микроорганизмов используется 0,85%-ный раствор хлористого натрия. Результаты экспериментальных данных приведены на рисунке 9.

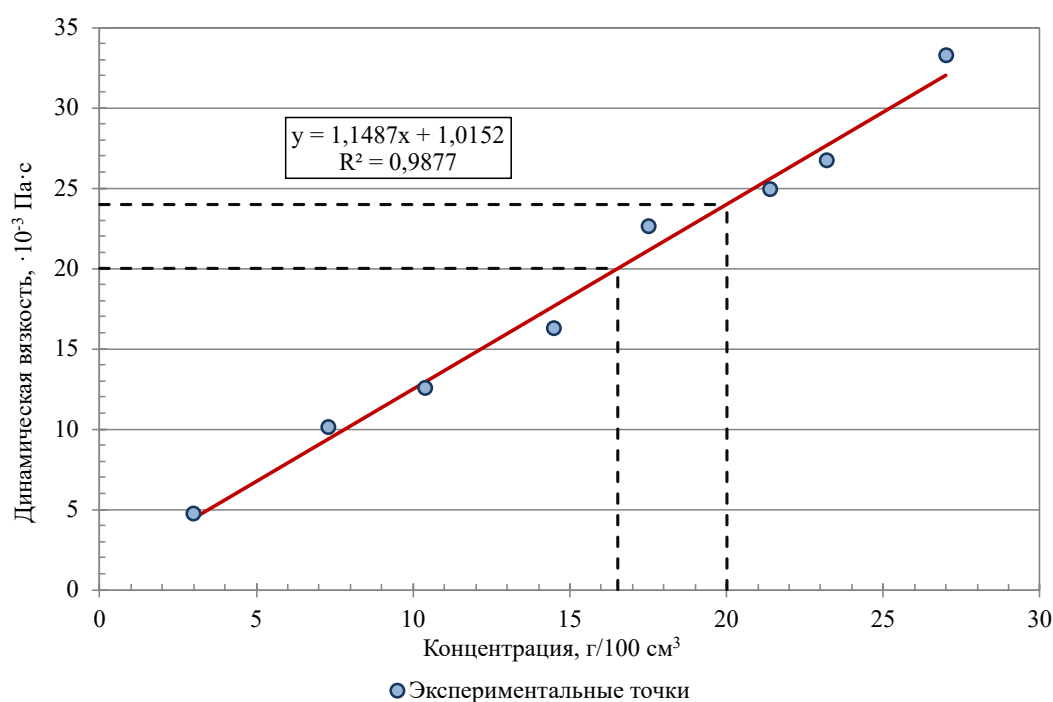


Рисунок 9 – Влияние концентрации бактериальных клеток (С) в суспензионной среде на динамическую вязкость (η)

Исходя из полученных данных, можно утверждать, что динамическая вязкость изменяется пропорционально изменению концентрации бактериальных клеток, что свидетельствует об отсутствии в суспензии экстремальных структурных изменений – все они вписываются в рамки линейной зависимости.

Эксперименты показывают, что криогранулы правильной сферической формы образуются при истечении из форсунок криогранулятора суспензии молочнокислых микроорганизмов, динамическая вязкость которой находится в диапазоне от 20×10^{-3} до 24×10^{-3} Па·с. При вязкости выше 25×10^{-3} Па·с снижается производительность криогранулятора, нарушается форма гранул, в них образуются раковины и сколы. Вязкость суспензии менее 16×10^{-3} Па·с приводит к потере криогранулами своей структуры и их слипанию.

На основе полученной закономерности путём направленного регулирования концентрации бактериальных клеток можно управлять динамической вязкостью,

тем самым создавая оптимальные режимы работы криогранулятора и, следовательно, получить криогранулы с заданной формой и размером.

Основным критерием качества закваски является концентрация в ней жизнеспособных клеток и их активность. Дальнейшие исследования направлены на минимизацию отрицательного влияния стадии замораживания на выживаемость микроорганизмов.

В результате исследований установлено влияние концентрации бактериальных клеток в суспензии на их выживаемость в процессе замораживания (рисунок 10). Выживаемость клеток молочнокислых микроорганизмов при концентрации в суспензии в диапазоне от 14 до 17 гАСВ/100 см³ в среднем составляет 95%. Понижение и повышение концентрации приводит к снижению выживаемости.

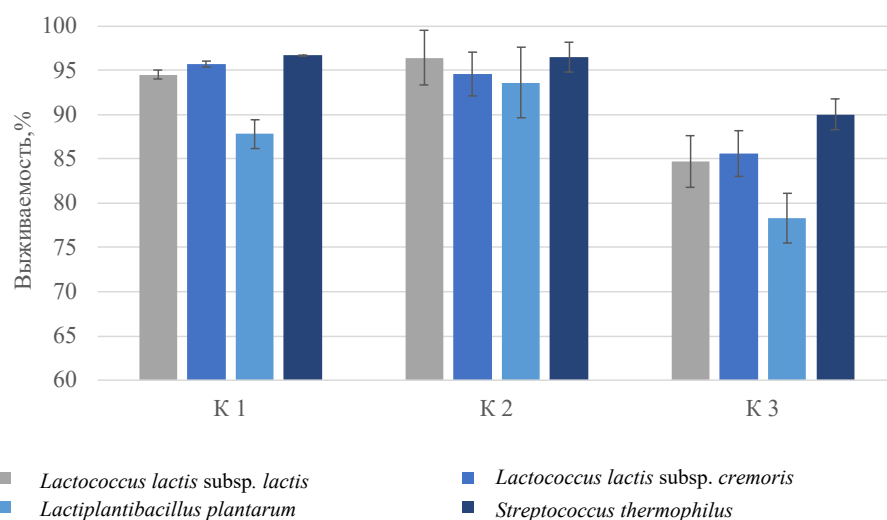


Рисунок 10 – Влияние концентрации бактериальных клеток на их выживаемость после замораживания
 К 1: 9–12 гАСВ/100 см³;
 К 2: 14–17 гАСВ/100 см³;
 К 3: 19–22 гАСВ/100 см³.

Полученные результаты выживаемости молочнокислых микроорганизмов при замораживании коррелируют с установленными ранее вязкостными значениями суспензии при получении гранул сферической формы.

Исследование влияния диаметра криогранул на выживаемость молочнокислых микроорганизмов

В зависимости от диаметра форсунок криогранулятора получают криогранулы различного диаметра. Руководствуясь рабочей гипотезой о существовании зависимости между продолжительностью температурного воздействия и выживаемостью молочнокислых микроорганизмов, проведена серия исследований.

Установлено, что для гранул диаметром $1,0 \pm 0,3$ мм продолжительность замораживания составляет $6,0 \pm 0,5$ с, с увеличением диаметра гранул до $2,5 \pm 0,3$ мм продолжительность замораживания увеличивается до $13,3 \pm 2,0$ с, а для гранул диаметром $4,0 \pm 0,2$ мм средняя продолжительность замораживания составляет $19,4 \pm 2,9$ с. Результаты выживаемости молочнокислых микроорганизмов представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Влияние диаметра криогранул на выживаемость культур

№	Диаметр криогранул, мм	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>		<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	
		Количество микроорганизмов $\times 10^{10}$		Количество микроорганизмов $\times 10^{10}$	
		До гранулирования, КОЕ/см ³	После гранулирования, КОЕ/г	До гранулирования, КОЕ/см ³	После гранулирования, КОЕ/г
1	1,0	4,8 ± 0,5	4,4 ± 0,3	2,1 ± 0,2	1,9 ± 0,1
2	2,5		4,6 ± 0,3		2,0 ± 0,1
3	4,0		4,7 ± 0,2		2,0 ± 0,2

В результате проведённых исследований по влиянию размера на выживаемость молочнокислых микроорганизмов в диапазоне гранул от 1 до 4 мм не было выявлено статистически значимых различий. Полученные значения укладывались в погрешность эксперимента.

Исследование влияния замораживания/размораживания отдельных гранул и «монолита» на выживаемость молочнокислых микроорганизмов

В настоящее время получили распространение два способа замораживания заквасок – в виде отдельных гранул и «монолитом». Задачей исследований настоящего этапа было определить влияние этих способов замораживания и метода размораживания (с постоянной скоростью или ступенчатое) на выживаемость молочнокислых микроорганизмов. Объектами исследований служили криогранулы (К) и «монолит» (М) и размораживание ступенчатое (С) и с постоянной скоростью (П): ОМ1 – К и П; ОМ2 – К и С; ОМ3 – М и П; ОМ4 – М и С.

Молочнокислые микроорганизмы показывают (рисунок 11) высокую выживаемость в результате замораживания суспензий в жидком азоте – как в виде гранул, так и замороженные «монолитом» (в криопробирках). Выживаемость для микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* и *S. thermophilus* составляет более 95% и для *Lactiplantibacillus plantarum* – 93%.

Выживаемость микроорганизмов при постоянной температуре размораживания выше по сравнению с микроорганизмами, размороженными при ступенчатом режиме нагрева. Отдельно замороженные криогранулы значительно быстрее растворяются. Это является следствием того, что поверхность соприкосновения отдельных гранул с суспензионной фазой в несколько раз выше, чем у «монолита».

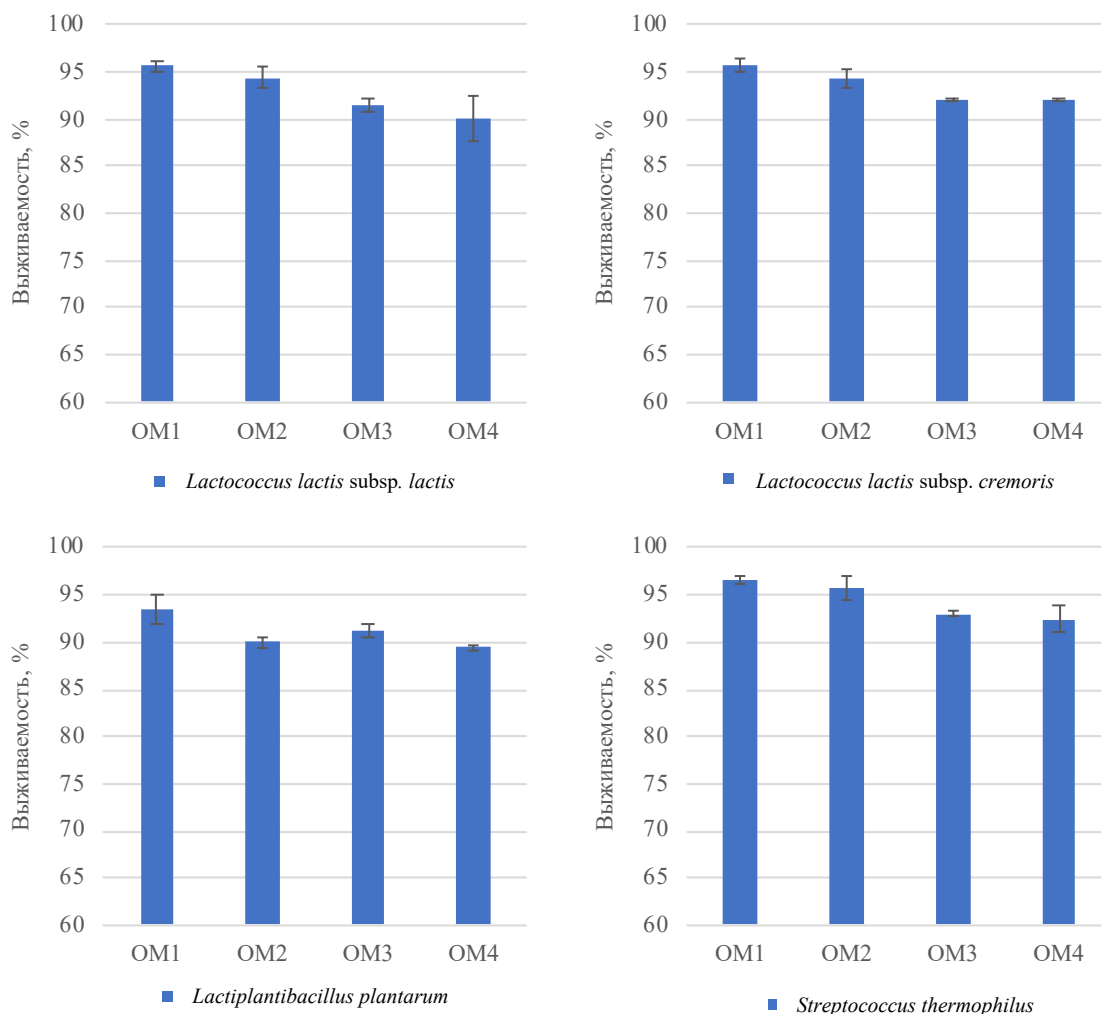


Рисунок 11 – Выживаемость бактериальных клеток в зависимости от способа замораживания и размораживания

Таким образом, размораживание закваски при постоянной температуре обеспечивает более высокую выживаемость молочнокислых бактерий, чем при ступенчатом размораживании.

Исследование влияния суспензионной среды на выживаемость замороженных молочнокислых микроорганизмов

С целью определения наиболее эффективной суспензионной среды для увеличения выживаемости молочнокислых микроорганизмов проведён ряд исследований. Изучено влияние углеводных протекторов при замораживании и на последующую технологическую операцию – лиофилизацию. Сахара являются классической группой протекторов, они могут защитить клетку от повреждений вследствие замерзания, уменьшая внутреннее образование кристаллов льда, и не оказывают токсичного действия на микроорганизмы. Результаты исследования представ-

лены на рисунке 12. Криогранулирование суспензий микроорганизмов производилось в 0,85%-ном растворе хлористого натрия (B1), в 70%-ном растворе глюкозы (B2), в 70%-ном растворе мальтозы (B3) и в 70%-ном растворе сахарозы (B4).

В результате проведённой работы доказано, что использование раствора глюкозы увеличивает выживаемость в среднем до 96,3%. Для получения криогранул с высоким показателем выживаемости необходимо использовать в качестве протектора раствор глюкозы.

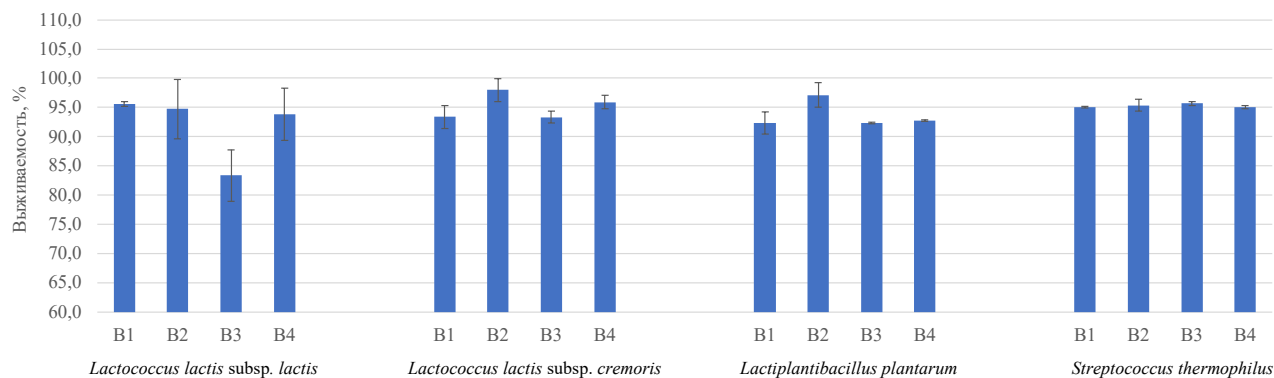


Рисунок 12 – Влияние защитной среды на выживаемость молочнокислых микроорганизмов

Исследование влияния процесса замораживания на кислотообразующую активность молочнокислых микроорганизмов

Одним из основных показателей активности молочнокислых микроорганизмов является их кислотообразующая активность. Результаты сквашивания представлены в таблице 4.

Полученные результаты доказывают, что после замораживания активность молочнокислых микроорганизмов значительно не меняется, интенсивность кислотообразования достоверно не отличалась.

Таблица 4 – Предел кислотообразования молочнокислых микроорганизмов до и после замораживания

Культура	Титруемая кислотность, °Т	
	До замораживания	После замораживания
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	121 ± 3	120 ± 4
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	113 ± 5	115 ± 3
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>	172 ± 4	173 ± 3
<i>S. thermophilus</i>	105 ± 4	105 ± 6

Таким образом, разработана технология концентрированных замороженных бактериальных заквасок прямого внесения с использованием процесса криогранулирования в жидком азоте.

Исследование процесса лиофилизации замороженных гранул

Исследовано влияние замораживания методом криогранулирования на процесс лиофильного высушивания. На рисунке 13 представлены фотографии гранул в начале, а на рисунке 14 – в конце лиофильного высушивания.

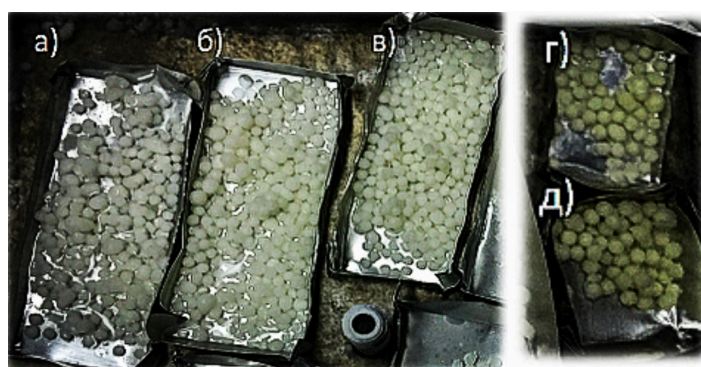


Рисунок 13 – Криогранулы в начале лиофильного высушивания
 а) суспензионная среда – 0,85%-ный раствор хлористого натрия, концентрация 9–12 гАСВ/100 см³;
 б) суспензионная среда – раствор глюкозы, концентрация 9–12 гАСВ/100 см³;
 в) суспензионная среда – раствор сахарозы, концентрация 9–12 гАСВ/100 см³;
 г) суспензионная среда – раствор глюкозы, концентрация 14–17 гАСВ/100 см³;
 д) суспензионная среда – раствор сахарозы, концентрация 14–17 гАСВ/100 см³.

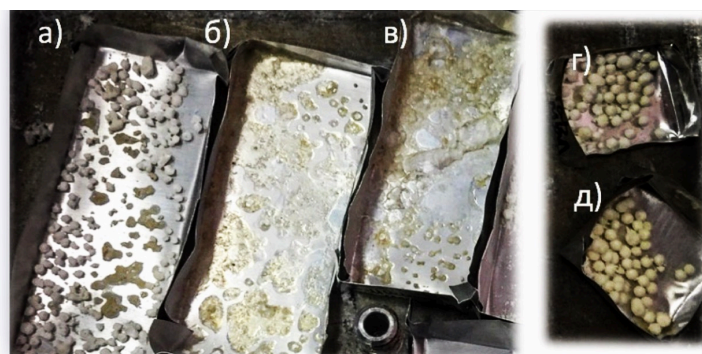


Рисунок 14 – Криогранулы в конце лиофильного высушивания
 а) суспензионная среда – 0,85%-ный раствор хлористого натрия, концентрация 9–12 гАСВ/100 см³;
 б) суспензионная среда – раствор глюкозы, концентрация 9–12 гАСВ/100 см³;
 в) суспензионная среда – раствор сахарозы, концентрация 9–12 гАСВ/100 см³;
 г) суспензионная среда – раствор глюкозы, концентрация 14–17 гАСВ/100 см³;
 д) суспензионная среда – раствор сахарозы, концентрация 14–17 гАСВ/100 см³.

На внешний вид сухих гранул большое значение оказывает концентрация суспензии и использование криопротекторов. Криогранулы, суспензия которых имеет концентрацию в диапазоне 9–12 гАСВ/100 см³ и суспендированные в 0,85%-ном растворе хлористого натрия, после лиофилизации в большинстве случаев теряют сферическую форму, имеют полости, легко рассыпаются (рисунок 14, а); криогранулы с той же плотностью, но суспендированные с углеводными компонентами, полностью теряют форму и в процессе лиофильного высушивания «расплавляются» (рисунок 14, б, в). Криогранулы, суспензия которых имеет концентрацию в диапазоне 14–17 гАСВ/100 см³ и в состав которых входит углеводный компонент – глюкоза или сахароза, – хорошо подвергаются лиофилизации и сохраняют форму гранул (рисунок 14, г, д).

Таким образом, на качество сухих гранул значительное влияние оказывает концентрация и состав суспендированной среды. Сухие гранулы, суспензия которых имеет концентрацию в диапазоне 14–17 гАСВ/100 см³ и с углеводным протектором, сохраняют форму гранул и имеют плотную структуру, их легко дозировать и использовать для производства в молокоперерабатывающей промышленности.

Исследована выживаемость суспензии бактериальных клеток в процессе лиофилизации гранул, при замораживании которых использовали суспензии, полученные при использовании 0,85%-ного раствора хлористого натрия (ОП1), 70%-ного раствора глюкозы (ОП2), 70%-ного раствора мальтозы (ОП3) и 70%-ного раствора сахарозы (ОП4), результаты представлены на рисунке 15.

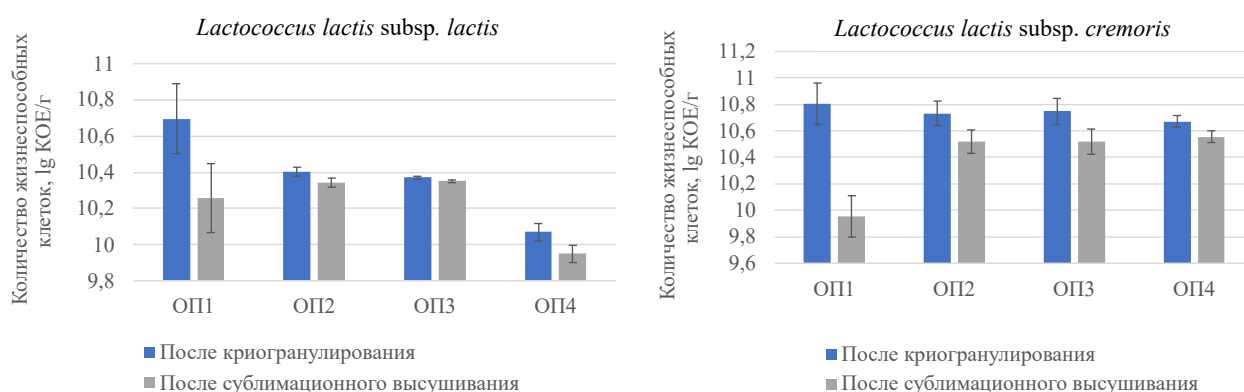
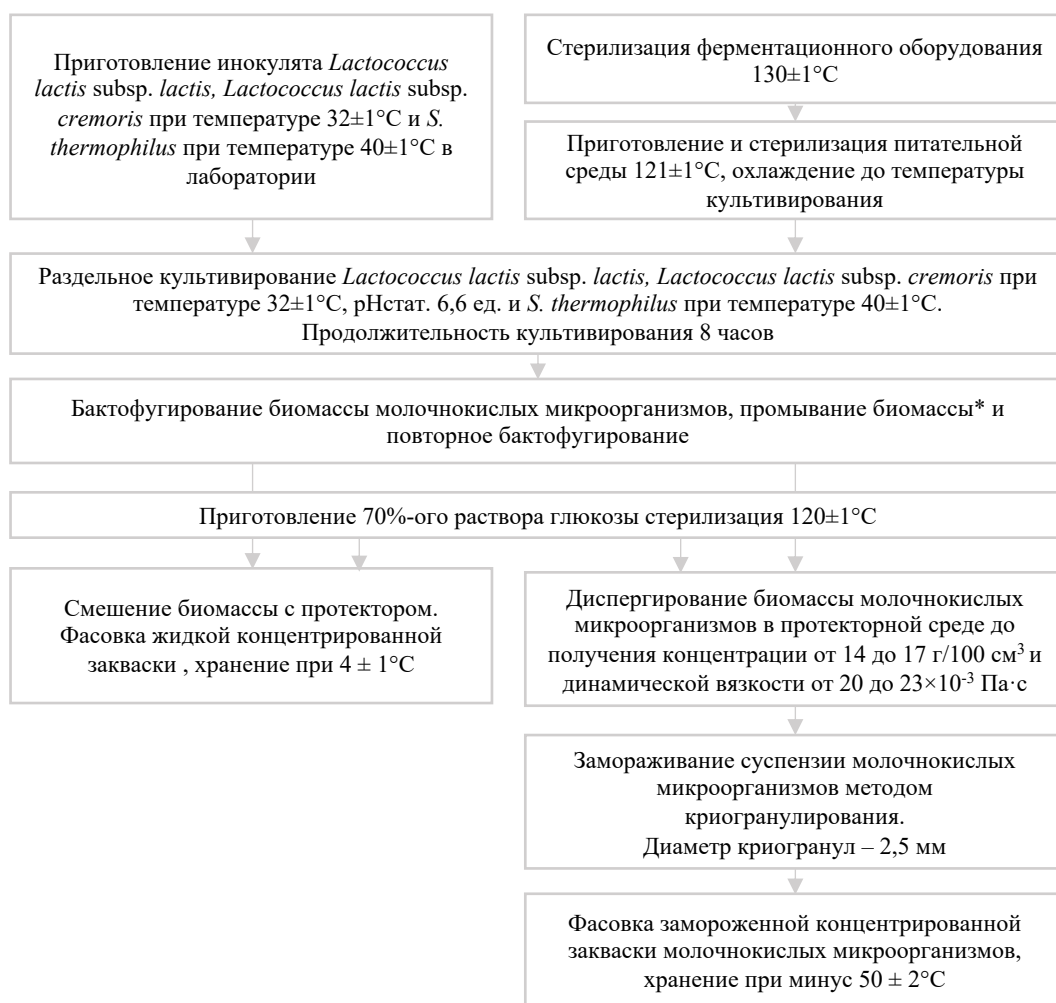


Рисунок 15 – Влияние лиофилизации на выживаемость молочнокислых микроорганизмов

Криопротекторы при лиофилизации значительно влияют на выживаемость молочнокислых микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*. Выживаемость образцов без использования криопротекторов составляет 35,6% у *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* и 13,24% у *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, при использовании криопротекторов выживаемость возрастает в среднем до 80%, что подтверждает необходимость их использования.

В четвёртой главе «Технология концентрированной замороженной закваски молочнокислых микроорганизмов» представлены технологии производства закваски (рисунок 16).

Проведены экспериментальные выработки замороженной концентрированной закваски *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* и *S. thermophilus* (рисунок 16). Соотношение *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* и *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* составляет 3 : 2, а мезофильных к термофильным культурам – 1 : 1.



* стадия «промывание биомассы» применяется в исследовательской части

Рисунок 16 – Технология замороженной концентрированной закваски

Для определения рекомендуемого срока годности замороженной концентрированной закваски молочнокислых микроорганизмов её заложили на хранение при минус $50 \pm 2^\circ\text{C}$ на 8 месяцев. Данные по выживаемости представлены на рисунке 17.

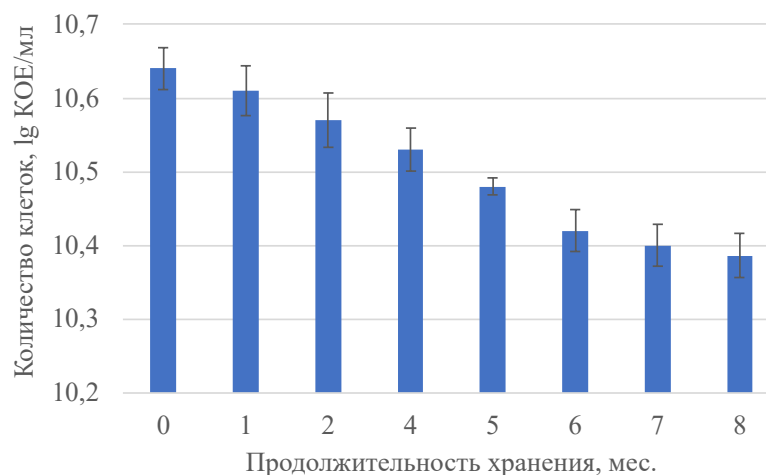


Рисунок 17 – Динамика изменения количества клеток в процессе хранения замороженной концентрированной закваски

Установлено, что количество клеток микроорганизмов в процессе хранения снижается и через 6 месяцев составляет $2,62 \times 10^{10}$ КОЕ/г. Согласно нормативной документации, количество клеток в заквасках молочнокислых микроорганизмов должно быть не менее 1×10^{10} КОЕ/г. Таким образом, проведённые исследования позволяют определить технологические параметры производства закваски и установить рекомендуемый срок годности – 6 месяцев при температуре хранения минус $50 \pm 2^\circ\text{C}$.

Установлено влияние температурных режимов сквашивания на изменение активной кислотности при ферментировании молока (рисунок 18).

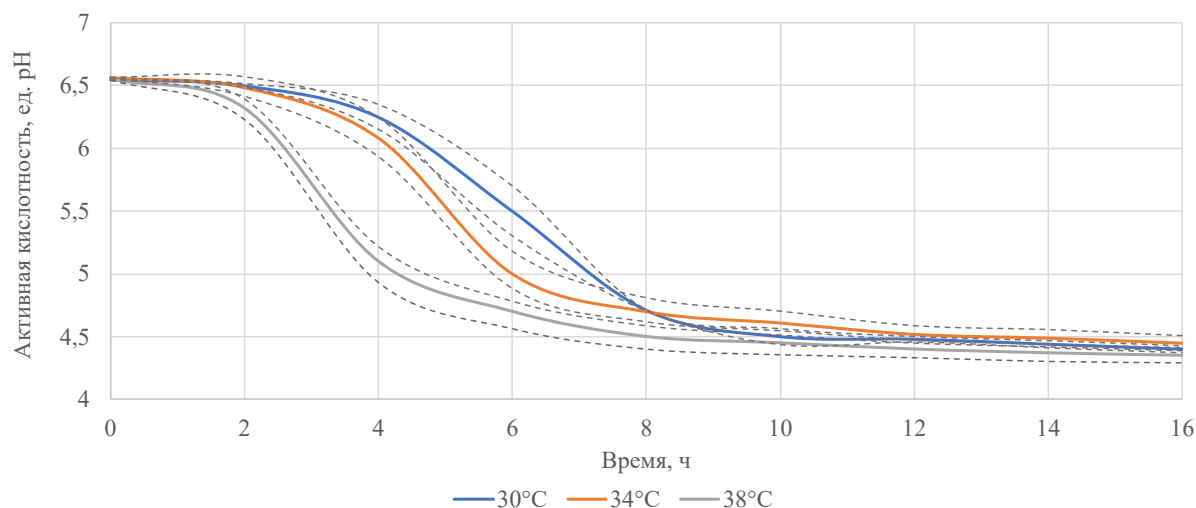


Рисунок 18 – Изменение активной кислотности при ферментировании молока при температуре 30 ± 1 , 32 ± 1 , $38 \pm 1^\circ\text{C}$

На основании проведенных исследований разработан СТО 00419785-057-2021 «Закваска молочнокислых микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* и *Streptococcus thermophilus* прямого внесения для творога». Основные показатели полученной закваски представлены в таблице 5.

Таким образом, полученная закваска молочнокислых микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* и *S. thermophilus* отвечает требованиям ТР ТС 033/2013 и ГОСТ 34372.

В пятой главе «Апробация разработанной концентрированной замороженной закваски в технологии творога» представлен процесс сквашивания с помощью замороженной концентрированной закваски молочнокислых микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* и *S. thermophilus* в сравнении с жидкой концентрированной закваской того же состава (технологический процесс проводят до процесса замораживания). Краткая характеристика полученных заквасок представлена в таблицах 5 и 6.

Творог произведён по традиционной технологии при температуре сквашивания $34 \pm 2^\circ\text{C}$. Доза заквасок во всех вариантах составляет $1-5 \times 10^6$ КОЕ/г.

Таблица 5 – Характеристика замороженной концентрированной закваски

Наименование показателя	Замороженная концентрированная закваска молочнокислых микроорганизмов <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> и <i>S. thermophilus</i>	Требования ТР ТС и ГОСТ к замороженным концентрированным бактериальным закваскам
Внешний вид	Однородные замороженные криогранулы сферической формы, диаметром $2,5 \pm 0,2$ мм	Однородные замороженные криогранулы различной формы и размеров
Цвет	От светло-кремового до светло-коричневого	От светло-кремового до светло-коричневого или цвет наполнителя
КМАФАнМ, не менее КОЕ/г	$4,4 \times 10^{10}$	$\geq 1 \times 10^{10}$
БГКП (колиформы)	Отсутствуют	Не допускаются в 10 г
Патогенные, в том числе сальмонеллы <i>Salmonella</i> spp.	Отсутствуют	Не допускаются в 100 г
Коагулазоположительные стафилококки <i>S. aureus</i>	Отсутствуют	Не допускаются в 10 г
Дрожжи, плесени, КОЕ/г, не более	Отсутствуют	5 в сумме
Продолжительность сквашивания (доза закваски – 10 г/л), ч	7	Не определено

Таблица 6 – Органолептические и микробиологические показатели заквасок

Наименование показателя	Характеристика закваски	
	Жидкая концентрированная закваска	Замороженная концентрированная закваска
Внешний вид	Однородная масса	Однородные криогранулы
Цвет	светло-кремовый	светло-кремовый
Количество молочнокислых микроорганизмов, КОЕ/см ³ (г)	$2,5 \times 10^{10}$	$2,4 \times 10^{10}$

При органолептической оценке дегустаторы отметили, что все образцы творога отличаются высокими вкусовыми качествами, оба варианта творога имеют одинаковый кисломолочный мягкий вкус и чистый кисломолочный запах.

Изучено влияние заквасок на физико-химические и микробиологические свойства творожного сгустка. Результаты представлены в таблице 7.

Таблица 7 – Влияние заквасок на физико-химические и микробиологические свойства творожного сгустка

Закваска	Активная кислотность, ед.	Титруемая кислотность, °Т	Вязкость, Па·с	Количество молочнокислых микроорганизмов, КОЕ/г
Жидкая концентрированная закваска	4,51	77 ± 2	4,82 ± 0,2	1,9 ± 0,3 × 10 ⁷
Замороженная концентрированная закваска	4,53	79 ± 2	4,82 ± 0,4	2,05 ± 0,2 × 10 ⁷

По представленным результатам можно сделать вывод, что агрегатное состояние закваски не влияет на физико-химические свойства сгустка. Творог, произведённый на основе жидкой концентрированной закваски, имеет кислотность 77°Т, творог, полученный из замороженной закваски, имеет кислотность 79°Т. Таким образом, творог во всех вариантах отвечает требованиям ГОСТ 31453 «Творог. Технические условия».

Установлено, что при внесении жидкой концентрированной закваски количество клеток молочнокислых микроорганизмов в твороге достигает 1,9 ± 0,3 × 10⁷ КОЕ/г и при применении замороженной концентрированной закваски количество клеток молочнокислых микроорганизмов составляет 2,05 ± 0,2 × 10⁷ КОЕ/г. Анализ наличия посторонней и патогенной микрофлоры свидетельствует о том, что во всех образцах отсутствуют бактерии группы кишечных палочек, дрожжи и плесени, патогенные микроорганизмы, в том числе сальмонеллы, стафилококки *S. aureus* и листерии *L. monocytogenes*.

Применение разработанной концентрированной закваски обеспечивает нормальное протекание технологического процесса производства творога и его органолептические, физико-химические и морфологические характеристики.

Динамика изменения количества клеток в процессе хранения образцов продуктов представлена на рисунке 19.

Установлено, что в твороге, полученном с использованием жидкой закваски, в процессе хранения количество клеток молочнокислых микроорганизмов уменьшилось с 1,9 × 10⁷ до 1,0 × 10⁷ КОЕ/г, а в образце, полученном с использованием замороженной закваски, – с 2,05 × 10⁷ до 1,12 × 10⁷ КОЕ/г. Таким образом, рекомендуемый срок годности творога составляет 5 суток.

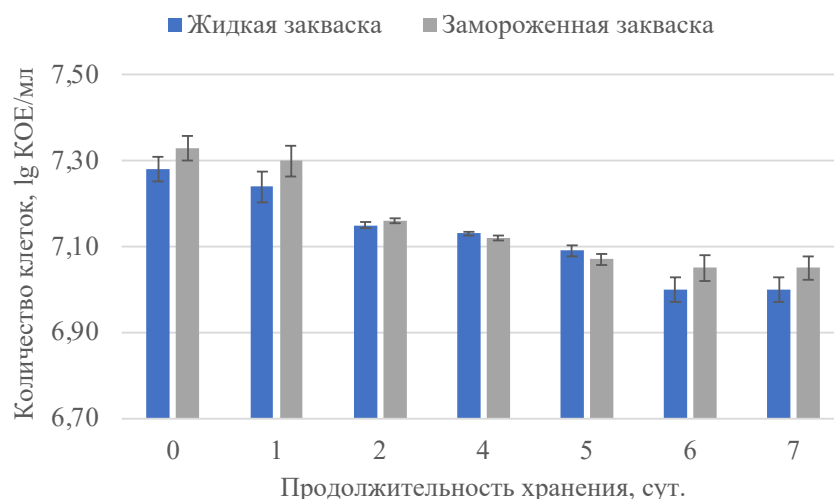


Рисунок 19 – Динамика изменения количества клеток в процессе хранения творогов

Концентрированная замороженная закваска молочнокислых микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* и *S. thermophilus* рекомендована к использованию в производстве творога на предприятиях.

В шестой главе «Сравнительная оценка эффективности полученной замороженной закваски в сравнении с аналогами» представлены результаты сравнения разработанной замороженной закваски молочнокислых микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* и *S. thermophilus* с заквасками DSM и Chr. Hansen в технологическом процессе производства сметаны. Штаммовый состав у всех заквасок состоял из *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* / *cremoris* и *S. thermophilus* в соответствии со спецификацией на продукты.

Технологический процесс производства сметаны проходил в соответствии с ТУ 10.51.52-070-00419785-2021. Доза концентрированной замороженной закваски во всех вариантах составляет $1-5 \times 10^6$ КОЕ/г.

При производстве сметаны использовали 4 вида замороженных концентрированных заквасок: замороженная концентрированная закваска молочнокислых микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* и *S. thermophilus*, Ceska-star U 174, Ceska-star U 484 и F-DVS XPL-1.

При органолептической оценке дегустаторы отметили, что все образцы сметаны отличаются чистым кисло-молочным вкусом и запахом, сметана из замороженной концентрированной закваски молочнокислых микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* и *S. thermophilus* имеет однородную густую массу с глянцевой поверхностью и слегка вязкую консистенцию, аналогичные показатели получены при сквашивании закваской Ceska-star U 174 и F-DVS XPL-1.

Результаты определения физико-химических и микробиологических показателей сметаны приведены в таблице 8.

Таблица 8 – Физико-химические и микробиологические показатели сметаны

Наименование показателя	Опытные образцы сметаны			
	Заморожен- ная концен- трированная закваска	Ceska-star U 174	Ceska-star U 484	F-DVS XPL-1
Массовая доля белка, %	2,71			
Массовая доля жира, %	20			
Кислотность, °Т	83 ± 0,4	62 ± 0,8	65 ± 1,0	85 ± 0,9
Количество молочнокислых микроorganiz- мов, КОЕ/г	6,9 ± 0,3 × 10 ⁷	4,0 ± 0,3 × 10 ⁷	5,3 ± 0,4 × 10 ⁷	8,2 ± 0,2 × 10 ⁷

Установлено, что при внесении закваски собственного производства количество клеток молочнокислых микроорганизмов через 7,5 часов сквашивания достигает $6,9 \pm 0,3 \times 10^7$ КОЕ/г, что незначительно уступает сметане из закваски F-DVS XPL-1, где количество клеток молочнокислых микроорганизмов составляет $8,2 \times 10^7$ КОЕ/г. Анализ наличия посторонней и патогенной микрофлоры установил, что во всех образцах отсутствуют бактерии группы кишечных палочек (колиформы), дрожжи и плесени, патогенные микроорганизмы, в том числе сальмонеллы, стафилококки *S aureus* и листерии *L. monocytogenes*.

Сметана, выработанная с применением разработанной закваски, отвечает требованиям ГОСТ 31452 «Сметана. Технические условия». Замороженная концентрированная закваска молочнокислых микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* и *S. thermophilus* рекомендована к использованию в производстве сметаны на предприятиях.

Основные результаты и выводы:

1. Научно обоснована и разработана технология замороженных концентрированных заквасок молочнокислых микроорганизмов для производства творога и сметаны.
2. Получен консорциум молочнокислых микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* и *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* из самоквасного молочного продукта.
3. Подобран состав питательной среды и определены параметры культивирования *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*: глюкоза – 40,0 г/дм³; дрожжевой экстракт – 10,0 г/дм³; калий фосфорнокислый двузамещённый – 2,0 г/дм³; магния сульфат – 0,1 г/дм³; сульфат аммония – 4,0 г/дм³; марганца сульфат – 0,05 г/дм³, рН-стабилизация – 6,6 ед., температура – 32 ± 1°С, доза инокулята – 7%.

4. Исследовано влияние процессов концентрирования биомассы, суспендирования, диспергирования, замораживания, дефростации и лиофилизации на выживаемость молочнокислых микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactiplantibacillus plantarum* и *S. thermophilus*. Определены технологические параметры, позволяющие обеспечить в замороженной концентрированной закваске количество молочнокислых микроорганизмов не менее 10^{10} КОЕ/г на конец срока годности.
5. Установлено, что криогранулы правильной сферической формы образуются при диспергировании из форсунок криогранулятора суспензии молочнокислых микроорганизмов, концентрация которых составляет от 14 до 17 гАСВ/100 см³, а вязкость варьирует в диапазоне от 20 до 24×10^{-3} Па·с. Выявлено, что выживаемость молочнокислых микроорганизмов при криогранулировании не зависит от размера получаемых криогранул.
6. Разработан документ по стандартизации СТО 00419785-057-2021 «Закваска молочнокислых микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* и *Streptococcus thermophilus* прямого внесения для творога». Установлены рекомендуемые сроки годности закваски – не менее 6 месяцев. Проведена опытно-промышленная выработка замороженной концентрированной закваски. Доказано, что разработанная закваска по технологическим характеристикам, а также по органолептическим, физико-химическим и микробиологическим показателям готового кисломолочного продукта соответствует аналогичной по составу жидкой концентрированной закваске.
7. Доказано, что полученная замороженная концентрированная закваска молочнокислых микроорганизмов *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris* и *S. thermophilus* не уступает по своим свойствам аналогичным закваскам от ведущих западных производителей, доминирующих на российском рынке.

Список работ, опубликованных по теме диссертации.

Статьи в журналах, рекомендованных ВАК:

1. Жарко, М. Ю. Криогранулирование молочнокислых бактерий с высоким показателем криоустойчивости / М. Ю. Жарко, С. В. Белуков // Холодильная техника. – 2017. – № 5. – С. 42–47.
2. Жарко, М. Ю. Замораживание молочнокислых бактерий с высоким показателем выживаемости / М. Ю. Жарко, С. В. Белуков // Молочная промышленность. – 2017. – № 7. – С. 40–41.
3. Жарко, М. Ю. Технология криогранулирования молочнокислых культур и аспекты, влияющие на их жизнеспособность / М. Ю. Жарко, А. Н. Петров // Молочная промышленность. – 2022. – № 7. – С. 26–29. – <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2022-07-26-28>

4. Жарко, М. Ю. К вопросу применения замороженных заквасок в производстве кисломолочных продуктов / М. Ю. Жарко, А. Н. Петров // Пищевая промышленность. – 2023. – № 2. – С. 15–17. – URL: <https://doi.org/10.52653/PPI.2023.2.2.003>

Сборники научных трудов вузов, материалы конференций:

5. Жарко М. Ю. Криогранулирование микроорганизмов и молочных бактерий с обеспечением высокой степени резистентности // Развитие индустрии холода на современном этапе – 2017: докл. на науч.-практ. конф. – 2017.