

Научная статья/Research article

УДК 663.15

DOI: 10.36718/1819-4036-2025-10-248-259

Галина Сергеевна Волкова^{1✉}, Анастасия Алексеевна Толокнова²,Елена Владимировна Куксова³^{1,2,3}Всероссийский НИИ пищевой биотехнологии – филиал ФИЦ питания и биотехнологии, Москва, Россия¹galina.volkova@bk.ru²nastyatolk1908@mail.ru³elena.kuksova.64@bk.ru

РАЗРАБОТКА ПИЩЕВОГО ИНГРЕДИЕНТА ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА ФЕРМЕНТИРОВАННЫХ НАПИТКОВ

Цель исследования – разработать состав пищевого ингредиента на основе консорциума штаммов молочнокислых бактерий и бифидобактерий для производства ферментированных напитков. Исследование проведено в лаборатории биотехнологии органических кислот, пищевых и кормовых добавок ВНИИПБТ. Объекты исследования – штаммы молочнокислых бактерий из коллекции института: *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* Д-16, *L. plantarum* 578/25, *L. helveticus* 842(D)-2, *L. lactis* subsp. *lactis* М-12, *St. thermophilus* В-92 и бифидобактерии *B. longum* Б-2, а также закваска для специализированной молочной продукции (PILEGE, Франция) в качестве сравнения. Исследование проводили на гидролизате разбавленной творожной сыворотки с 7 % концентрата сывороточного белка. Контроль процессов ферментации осуществляли по следующим показателям: содержание сухих веществ, титруемая кислотность, накопление биомассы бактерий оценивали измерением оптической плотности. Подобран состав консорциума на основе технологических свойств штаммов и соотношения молочнокислых бактерий и бифидобактерий 2 : 1, разработаны технологические режимы с достижением титра клеток на 15 ч роста: пробиотические лактобактерии – $64,5 \cdot 10^8$ КОЕ/см³, молочнокислые бактерии – $15 \cdot 10^9$ КОЕ/см³, бифидобактерии – $6,8 \cdot 10^9$ КОЕ/см³. Бактериальную массу выделяли на центрифуге ОПН-16 при 10 000 об/мин (4 °С) в течение 15 мин, концентрирование осуществляли через полисульфонамидную мембрану УПМ-20 при 20 °С. Полученный концентрат замораживали и лиофильно высушивали. Титр микроорганизмов определяли при расewe на селективные агаризованные среды. В составе пищевого ингредиента содержится лиофилизат бактерий с титром $59,9 \cdot 10^9$ КОЕ/г, пищевые волокна в виде пребиотика инулина, а также сахарозаменители эритрит и сукралоза. Полученный комплексный пищевой ингредиент может быть рекомендован как компонент БАД к пище или для производства обогащенных пищевых продуктов в качестве источника бифидобактерий, пробиотических молочнокислых бактерий и пребиотиков. Для создания основы ферментированного напитка использовали пищевой ингредиент в качестве источника пробиотиков с получением на соевой сыворотке на 24 ч роста накопление биомассы $1,4 \cdot 10^7$ КОЕ/см³.

Ключевые слова: пищевой ингредиент, молочнокислые бактерии, пробиотик, пребиотик, биосовместимость, ассоциация бактерий

Для цитирования: Волкова Г.С., Толокнова А.А., Куксова Е.В. Разработка пищевого ингредиента для производства ферментированных напитков // Вестник КрасГАУ. 2025. № 10. С. 248–259. DOI: 10.36718/1819-4036-2025-10-248-259.

Финансирование: исследование выполнено в рамках государственного задания № FGMP-2025-0012.

Galina Sergeevna Volkova¹✉, Anastasiya Alekseevna Toloknova², Elena Vladimirovna Kuksova³

^{1,2,3}All-Russian Research Institute of Food Biotechnology, a branch of FSC Nutrition and Biotechnology, Moscow, Russia

¹galina.volkova@bk.ru

²nastyatolk1908@mail.ru

³elena.kuksova.64@bk.ru

FOOD INGREDIENT DEVELOPMENT FOR FERMENTED BEVERAGES PRODUCTION

*The aim of the study is to develop a food ingredient composition based on a consortium of lactic acid bacteria and bifidobacteria strains for the production of fermented beverages. The study was conducted in the Laboratory of Biotechnology of Organic Acids, Food and Feed Additives at the All-Russian Research Institute of Protein Biotechnology. The objects of the study were lactic acid bacteria strains from the institute's collection: *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus* D-16, *L. plantarum* 578/25, *L. helveticus* 842(D)-2, *L. lactis* subsp. *lactis* M-12, *St. thermophilus* B-92 and bifidobacteria *B. longum* B-2, as well as a starter culture for specialized dairy products (PILEGE, France) as a comparison. The studies were conducted on a hydrolysate of diluted curd whey with 7 % whey protein concentrate. Fermentation processes were monitored using the following parameters: dry matter content, titratable acidity, and bacterial biomass accumulation assessed by measuring optical density. The consortium composition was selected based on the technological properties of the strains and the 2 : 1 ratio of lactic acid bacteria to bifidobacteria. Technological regimes were developed to achieve the following cell titer after 15 hours of growth: probiotic lactobacilli – $64,5 \cdot 10^8$ CFU/cm³, lactic acid bacteria – $15 \cdot 10^9$ CFU/cm³, bifidobacteria – $6,8 \cdot 10^9$ CFU/cm³. The bacterial mass was isolated using an OPN-16 centrifuge at 10,000 rpm (4 °C) for 15 min, and concentration was performed through a UPM-20 polysulfonamide membrane at 20 °C. The resulting concentrate was frozen and lyophilized. The titer of microorganisms was determined by plating on selective agar media. The food ingredient contains a lyophilized bacterial product with a titer of $59,9 \cdot 10^9$ CFU/g, dietary fiber in the form of the prebiotic inulin, and the sweeteners erythritol and sucralose. The resulting complex food ingredient can be recommended as a component of dietary supplements or for the production of fortified foods as a source of bifidobacteria, probiotic lactic acid bacteria, and prebiotics. To create the base for the fermented beverage, the food ingredient was used as a source of probiotics, achieving a biomass accumulation of $1.4 \cdot 10^7$ CFU/cm³ on soy whey after 24 hours of growth.*

Keywords: food ingredient, lactic acid bacteria, probiotic, prebiotic, biocompatibility, bacterial association.

For citation: Volkova GS, Toloknova AA, Kuksova EV. Food ingredient development for fermented beverages productio. *Bulletin of KSAU*. 2025;(10):248-259. (In Russ.). DOI: 10.36718/1819-4036-2025-10-248-259.

Funding: the study was carried out within the framework of state assignment № FGMF-2025-0012.

Введение. Разработка технологий получения продуктов питания с пробиотическими свойствами на основе отечественных штаммов, учитывая санкционную политику, является актуальной задачей. С учетом изменения структуры пищевого рациона человека существуют определенные риски формирования алиментарно-зависимых заболеваний, связанных как с нарушением принципов оптимального питания, так и с качеством и безопасностью пищевой продукции.

При использовании микроорганизмов для создания новых пищевых ингредиентов для пищевой промышленности необходимы полная идентификация используемых штаммов и под-

твержденные биологические свойства [1], что регламентируется нормативными документами. При этом определяющее значение имеет метаболический профиль штамма, который является специфичным и определяет эффективность пищевого ингредиента [2]. Штаммы бактерий в составе консорциумов могут проявлять различные биосинтетические и технологические свойства в зависимости от уровня их биологической совместимости [3]. Поэтому применение комплексного подхода к созданию пищевых ингредиентов позволит получить новый рецептурный компонент для создания специализированных пищевых

продуктов, таких как ферментированные напитки, содержащие пробиотические микроорганизмы.

В последние годы возрос спрос на функциональные продукты, содержащие синбиотики, что стимулировало их включение в другие пищевые матрицы, помимо молочных, для удовлетворения растущего спроса потребителей на новые вкусы. Фрукты, злаки и соевые бобы были предложены в качестве новых матриц, поддерживающих доставку синбиотиков в организм человека.

Анализ опубликованных данных показывает, что при разработке пищевых ингредиентов синбиотиков используются штаммы с доказанными пробиотическими свойствами в комбинации с олигосахаридами [4–7], а также с включением в состав витаминов и аминокислот [8, 9]. В соответствии с современными представлениями о синбиотиках каждый его компонент по отдельности должен обладать терапевтическим эффектом, а доза каждого из них должна быть адекватной для независимого достижения этого эффекта [10]. Следует отметить, что положительное влияние пробиотиков и пребиотиков на здоровье в значительной степени зависит от их соответствующих комбинаций и формы внесения [11].

Развитие нутримикробиотики определило научный подход к коррекции дисбиотических нарушений желудочно-кишечного тракта человека с помощью пищевых ингредиентов синбиотиков на основе консорциумов бифидо- и молочнокислых бактерий в сочетании с пребиотиками и биологически активными веществами, что является предметом исследования и научного анализа. В ряде исследований показано, что использование синбиотиков значительно снижает риск развития сердечно-сосудистых заболеваний, распространенность метаболического синдрома и маркеры резистентности к инсулину у пожилых пациентов [1, 7, 8].

Для повышения эффективности пищевых ингредиентов синбиотиков и обеспечения стабильности и жизнеспособности входящих в их состав штаммов могут быть применены различные стратегии, такие как микрокапсулирование или лиофилизация с применением защитной среды-протектора. Необходимы дальнейшие исследования по разработке соответствующих технологий, матриц носителей, способствующих выживанию бактериальных клеток в условиях желудочно-кишечного тракта, а также подбору пробиотических штаммов [12, 13]. Лيوфилизация

пробиотических бактерий представляет собой подход, который может быть применен в ряде продуктов питания для достижения широкого спектра функциональных особенностей.

Всемирная организация здравоохранения рекомендует уменьшить потребление сахара до 10 % от общей потребляемой энергии как среди взрослых людей, так и среди детей. Среди подсластителей есть соединения, которые имеют сладкий вкус и не содержат калорий, или такие, сладость которых настолько интенсивна, что их можно использовать в очень низких концентрациях, поэтому их влияние на общую калорийность продукта незначительно. Сахароспирты-полиолы, относящиеся к углеводам, являются как натуральными заменителями сахара, так и пищевыми ингредиентами. Они становятся все более и более популярными среди потребителей, в основном из-за более низкой калорийности и гликемического индекса. Сахарные спирты часто комбинируют в составе пищевых ингредиентов с другими подсластителями для усиления сладости пищевых продуктов.

Таким образом, при создании пищевого ингредиента синбиотика для пищевой промышленности необходима разработка эффективной формулы, включающей биомассу консорциума пробиотических бактерий с высоким титром, а также комплекс пребиотиков, обеспечивающих синбиотические свойства и комбинацию подсластителей в качестве альтернативы сахару, что является весьма актуальной темой, касающейся вопроса о сохранении здоровья человека.

Цель исследования – обосновать состав комплексного пищевого ингредиента синбиотического действия, в состав которого входит лиофилизат биомассы консорциума молочнокислых и бифидобактерий, созданного на основе штаммов из коллекции ВНИИПБТ.

Задачи: выбор штаммов пробиотиков на основе биологических характеристик; создание консорциума штаммов на основе биосовместимости; изучение технологических свойств на жидкой питательной среде; лиофилизация биомассы с оценкой титра клеток; составление рецептуры пищевого ингредиента; сбраживание соевой сыворотки консорциумом бактерий, входящих в состав пищевого ингредиента.

Объекты и методы. Объектами исследования являлись штаммы молочнокислых бактерий *L. bulgaricus* Д-16, *L. plantarum* 578/25, *L. helveticus* 842(D)-2, *L. lactis* subsp. *lactis* M-12, *St. ther-*

thermophilus B-92, бифидобактерии *B. longum* Б-2 из коллекции ВНИИПБТ (моделируемый консорциум) и закваска для специализированной молочной продукции (LACTIBIANE® REFERENCE, пр-во PILEGE, Франция), в состав которой входят штаммы *L. bulgaricus* LA 308, *L. plantarum* LA 301, *L. helveticus* LA 102, *L. lactis* LA 103, *St. thermophilus* LA 104 и *B. longum* LA 101 (контрольный консорциум).

Восстановление и активирование штаммов-продуцентов исследуемых культур молочнокислых бактерий и бифидобактерий проводили путем переноса культур из ампул или скошенных плотных агаровых сред в пробирки с селективными жидкими питательными средами для молочнокислых и бифидобактерий, затем проводили выращивание в термостате при оптимальных температурах и pH, указанных в паспортах изучаемых штаммов-продуцентов, затем делали последующие пересевы. Далее проводили адаптацию штаммов со стандартных синтетических питательных сред на среду с неосветленной творожной сывороткой с внесением дополнительных источников питания минерального и органического происхождения в качестве ростостимулирующих факторов.

Использовали жидкую питательную среду MRS для пересева молочнокислых бактерий, гидролизатно-молочную среду для бифидобактерий, среду Lee и M-17 для лактококков и стрептококков.

В качестве питательной среды для консорциума использовали творожную сыворотку (содержание сухих веществ 6 %, pH 5,3) с добавлением концентрата сывороточного белка в количестве 7 % к объему после гидролиза β-галактозидазой (пр-во Индия) 0,1 % в течение 2 ч при 50 °C. Далее проводили гидролиз 1 % Alcalase, 2 % Flavorzyme в течение 3 ч при 55 °C, добав-

ляли минеральные соли KH_2PO_4 – 0,1 %, $\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ – 0,05 %, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,02 %, $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ – 0,03 %, L-цистеин – 0,05 г, твин-80 – 1,0 г, pH среды – 7,0. Количество посевного материала 5 %, ферментацию проводили при 37 °C в течение 24 ч в условиях термостата.

Контроль ферментации осуществляли по содержанию сухих веществ, титруемой кислотности и микроскопированию с использованием микроскопа Nikon ECLIPSE Ci-S/Ci-L. Накопление биомассы бактерий оценивали измерением оптической плотности (ОП) при 620 нм на спектрофотометре СФ-2000, количество клеток определяли по калибровочной кривой.

После центрифугирования биомассы при 10 000 об/мин и 4 °C в течение 15 минут клетки концентрировали, подвергали криоконсервации и лиофилизации. Подсчет жизнеспособных микроорганизмов (КОЕ) осуществляли на агаризованных селективных средах (MRS агар для лактобактерий и агар для бифидобактерий) с помощью автоматизированного счетчика колоний Scan 500 (Interscience, Франция).

Для основы ферментированного напитка в качестве питательной среды использовали соевую сыворотку, полученную при производстве соевого сыра тофу (с. в. 10 %, пр-во ООО «ПК ПИТЭКО»).

Статистическую обработку данных проводили с использованием программы Statistica 6.0 методом однофакторного дисперсионного анализа при уровне значимости 0,05.

Результаты и их обсуждение. На селективных жидких питательных средах при оптимальных для каждого штамма моделируемого консорциума температуре и pH определяли максимальный титр жизнеспособных клеток и выход кислоты от использованного субстрата на 48 ч роста. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1

Технологические показатели штаммов
Technological parameters of strains

Штамм	Выход молочной кислоты, %	Титр клеток, КОЕ/см ³
<i>L. bulgaricus</i> Д-16	87,5	$6,1 \cdot 10^8$
<i>L. plantarum</i> 578/25	88,0	$8,5 \cdot 10^8$
<i>L. helveticus</i> 842(D)-2	85,5	$5,7 \cdot 10^8$
<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> M-12	83,5	$1,2 \cdot 10^9$
<i>St. thermophilus</i> B-92	85,3	$0,5 \cdot 10^9$
<i>B. longum</i> Б-2	56,6	$1,0 \cdot 10^9$

Согласно полученным экспериментальным данным штаммы молочнокислых бактерий моделируемого консорциума накапливают молочную кислоту с выходом 83–88 % и биомассу.

Для подтверждения эффективности моделируемого консорциума проводили оценку роста отдельных штаммов для бифидобактерий и молочнокислых бактерий в сравнении со штаммами, входящими в состав контрольного консор-

циума. Рост контролировали визуально по изменению оптической плотности культуральной жидкости питательной среды, по изменению показателя титруемой кислотности культуральных жидкостей микроскопией культуральной жидкости. Результаты культивирования штаммов бифидобактерий на гидролизатно-молочной среде представлены на рисунке 1.

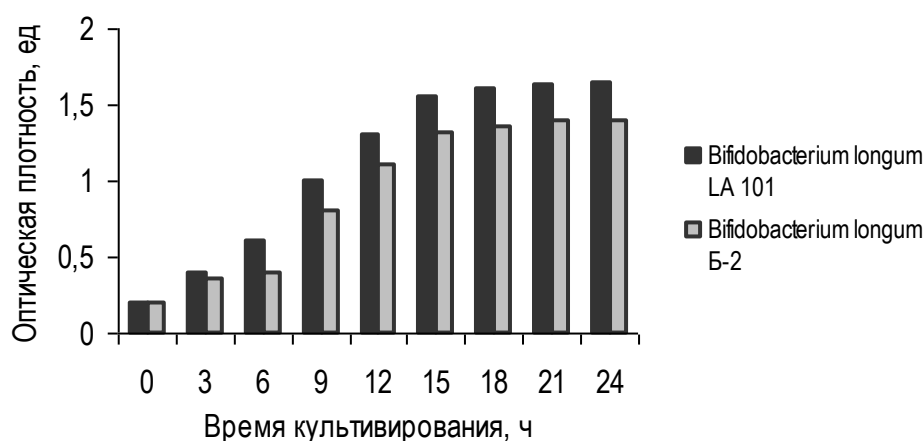


Рис. 1. Динамика изменения оптической плотности штаммов бифидобактерий, входящих в состав моделируемого консорциума (*B. longum* Б-2) и контрольного консорциума (*B. longum* LA 101)

Dynamics of changes in optical density of Bifidobacterium strains included in the modelled consortium (B. longum B-2) and control consortium (B. longum LA 101)

При сравнении штамма *Bifidobacterium longum* Б-2 и штамма *Bifidobacterium longum* LA 101 было выявлено, что величина оптической плотности культуральной жидкости на 24 ч роста штамма *B. longum* LA 101 превышает показате-

ль штамма *B. longum* Б-2, что свидетельствует о большем накоплении биомассы.

В дальнейших исследованиях изучали влияние количества посевного материала на накопление биомассы штаммами бифидобактерий. Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2

Влияние количества посевного материала на рост бифидобактерий
Effect of inoculum quantity on the growth of bifidobacteria

Доза инокулята, % (<i>Bifidobacterium longum</i> Б-2 и <i>Bifidobacterium longum</i> LA 101)	Титр жизнеспособных клеток, КОЕ/см ³			
	Продолжительность культивирования, ч			
	6	12	18	24
3	$5 \cdot 10^7$	$3,2 \cdot 10^8$	$9 \cdot 10^8$	$0,3 \cdot 10^9$
5	$8 \cdot 10^7$	$5,8 \cdot 10^8$	$9,4 \cdot 10^8$	$0,8 \cdot 10^9$
7	$1 \cdot 10^8$	$7,4 \cdot 10^8$	$9,8 \cdot 10^8$	$1,3 \cdot 10^9$

Из данных таблицы 2 видно, что количество посевного материала значительно влияет на накопление биомассы бифидобактерий на конец культивирования. Для дальнейших исследований выбрано количество посевного материала 5 %, так как при этом титр х клеток к 24 ч куль-

тивирования составляет $0,8 \cdot 10^9$ КОЕ/см³, что свидетельствует о высокой активности штаммов бифидобактерий. Повышение дозы инокулята до 7 % с экономической точки зрения невыгодно.

В продолжение экспериментальных исследований изучали рост и развитие молочнокислых бактерий (МКБ), входящих в состав моделируемого и контрольного консорциума. Штам-

мы молочнокислых бактерий культивировали совместно на жидкой питательной среде MRS в соотношении 1:1:1:1. Результаты представлены на рисунке 2.

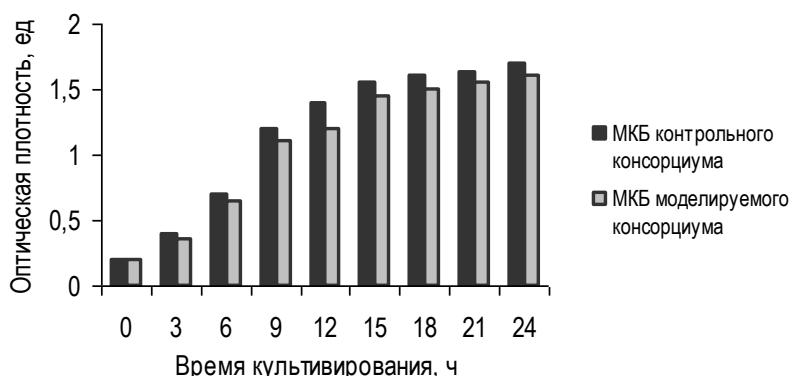


Рис. 2. Динамика изменения оптической плотности штаммов молочнокислых бактерий, входящих в состав моделируемого и контрольного консорциума
Dynamics of changes in optical density of lactic acid bacteria strains included in the modelled and control consortia

Отмечено, что штаммы молочнокислых бактерий моделируемого консорциума практически повторяют динамику роста молочнокислых бактерий контрольного консорциума, а также обеспечивают высокую плотность популяции с сохранением соотношения штаммов, что свидетельствует о возможности использования штаммов молочнокислых бактерий в составе моделируемого консорциума для накопления биомассы при совместном культивировании для производства пищевого ингредиента.

На следующем этапе исследований изучали рост консорциумов молочнокислых и бифидобактерий, обращая внимание на соотношение стабильности соотношения штаммов в процессе ферментации при внесении 5 % посевного материала от объема питательной среды MRS с внесением ростостимулирующих добавок для бифидобактерий (L-цистеина и твина-80). Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3

Выход органических кислот от используемого субстрата при росте консорциумов бактерий на жидкой среде MRS, %
Yield of organic acids from used substrate during growth of bacterial consortia on MRS liquid medium, %

Состав консорциума	Выход молочной кислоты от субстрата, %
Моделируемый: <i>L. delbrueckii</i> ssp. <i>bulgaricus</i> Д-16, <i>L. plantarum</i> 578/25, <i>L. helveticus</i> 842(D)-2, <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> М-12, <i>St. thermophilus</i> В-92, <i>B. longum</i> Б-2	89,7
Контрольный: <i>L. helveticus</i> LA 102, <i>L. bulgaricus</i> LA 308, <i>L. plantarum</i> LA 301, <i>L. lactis</i> LA 103, <i>St. thermophilus</i> LA 104, <i>B. longum</i> LA 101	90,0

Представленные в таблице 3 данные показывают, что по выходу молочной кислоты – а значит, и по технологическим свойствам – моделируемый консорциум практически не уступает показателям консорциума сравнения.

Далее изучали динамику кислотообразования моделируемого и контрольного консорциу-

ма на гидролизате творожной сыворотки. Молочнокислые бактерии засеивали после 6 ч культивирования штаммов бифидобактерий в соотношении 2:1 при pH 5,6–5,9. Результаты изучения динамики титруемой кислотности культуральной жидкости приведены на рисунке 3.

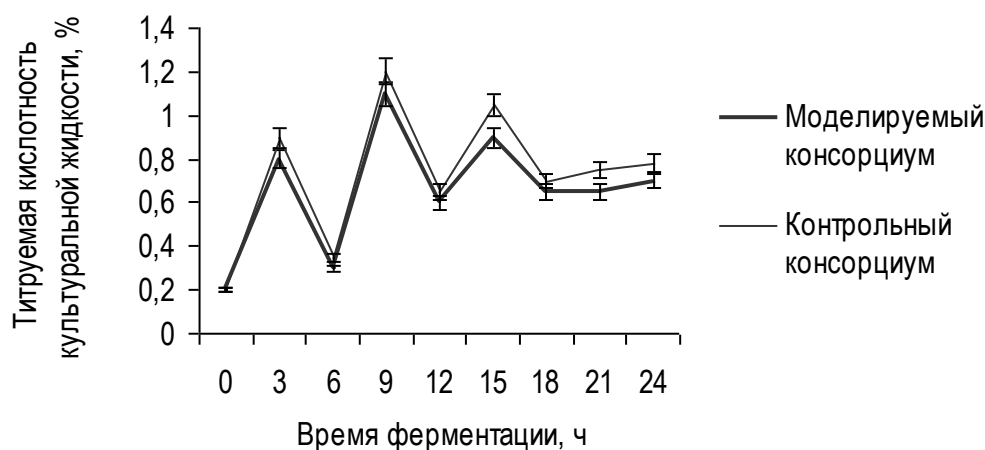


Рис. 3. Динамика титруемой кислотности в процессе роста моделируемого и контрольного консорциума бифидобактерий и молочнокислых бактерий
Dynamics of titratable acidity during growth of modelled and control consortium of bifidobacteria and lactic acid bacteria

Анализ изменения титруемой кислотности в процессе роста каждого консорциума свидетельствует об активном кислотообразовании в первые часы ферментации, фаза адаптации практически отсутствует, при этом моделируемый консорциум по технологическим признакам практически повторяет показатели контрольного консорциума. Добавление в питательные среды ростостимулирующих факторов интенсифицировало прирост биомассы, что говорит об отсутствии конкуренции за углеводный субстрат для роста штаммов-продуцентов, являющихся классическими симбионтами и фактором мутуализма молочнокислых и бифидобактерий. Симбиотические отношения, наблюдаемые между

этими микроорганизмами, основаны на снабжении ими друг друга необходимыми для роста и развития веществами.

Титр клеток моделируемого консорциума достигает максимума на 15 ч роста и составил $8,5 \cdot 10^8$ КОЕ/см³. Это время ферментации соответствует концу экспоненциальной фазы роста и началу стационарной фазы роста консорциума.

Микроскопия культуральной жидкости (рис. 4) показала, что соотношение штаммов сохранено, отсутствует явление конкуренции молочнокислых бактерий и бифидобактерий за источники углеводов, что подтверждает симбиотические взаимодействия штаммов в смешанной культуре.

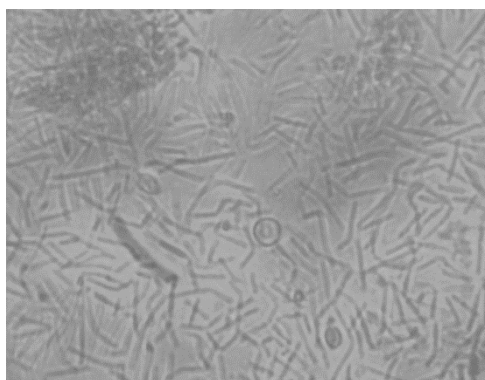


Рис. 4. Микроскопия культуральной жидкости моделируемого консорциума после 15 ч роста на гидролизате творожной сыворотки
Microscopy of culture fluid of a simulated consortium after 15 hours of growth on curd whey hydrolysate

Отсутствуют морфологические изменения клеток, таких как инволюционные и шаровидные формы клеток бифидобактерий, наличие как

одиночных клеток с четким контуром, так и длинных цепочек молочнокислых бактерий. Результаты эксперимента показали, что модели-

руемый консорциум молочнокислых и бифидобактерий является перспективным и сопоставимым с зарубежным аналогом.

После концентрирования биомассы до $6,0 \cdot 10^{10}$ КОЕ/см³ концентрат смешивали с защитной средой (рисовый мальтодекстрин, 5 % желатоза, 1 % цитрата натрия, 0,1 % витами-

на С) в соотношении 1:1, после чего замораживали в морозильной камере при -55°C и лиофильно высушивали. После досушивания лиофилизат смешивали с пищевыми волокнами и подсластителем. Внешний вид лиофилизата приведен на рисунке 5, А, титр клеток в лиофилизате биомассы – в таблице 4.



Рис. 5. Лيوфилизат биомассы консорциума бифидобактерий и молочнокислых бактерий (А) и посев для подсчета титра живых клеток молочнокислых бактерий в лиофилизате (Б)
Bifidobacterium bifidobacterium and lactic acid bacteria consortium biomass lyophilisate (А) and sowing for counting the titre of live cells of lactic acid bacteria in the lyophilisate (Б)

Таблица 4

Количество живых клеток молочнокислых и бифидобактерий в лиофилизате биомассы
Number of live cells of lactic acid and bifidobacteria biomass lyophilisate

Бактерии	Титр штаммов-продуцентов, КОЕ/г
Пробиотические лактобактерии:	$10,9 \cdot 10^9$
Молочнокислые бактерии	$19,5 \cdot 10^9$
Бифидобактерии: <i>Bifidobacterium longum</i> Б-2	$16,9 \cdot 10^9$
Итого:	$59,9 \cdot 10^9$

Титр штаммов-продуцентов полученного лиофилизата биомассы был сравнен с титром концентратов с криопротекторными средами перед лиофильным высушиванием, и процент потерь жизнеспособных клеток составил от 20 до 25 %, что не превышает 30 % потерь в стандартных технологиях получения пищевых добавок на стадии лиофилизации.

Основываясь на проведенном исследовании, можно утверждать, что предложенные технологические параметры применимы в процессе создания пищевого ингредиента – синбиотика. Данный продукт, созданный на базе моделируемого консорциума, по количеству активных клеток не уступает зарубежным аналогам.

Далее полученные лиофилизаты могут быть направлены на стадию смешивания и фасовки.

В результате систематизации данных литературы и с учетом анализа отечественного рынка выпускаемых комплексных пищевых ингредиентов-синбиотиков был сделан расчет количества каждого компонента в составе рецептуры, в качестве пребиотика выбран инулин, для придания сладкого вкуса – эритрит и сукралоза. Рецептура комплексного пищевого ингредиента синбиотического действия содержит лиофилизат биомассы молочнокислых и бифидобактерий 1 г/10 г добавки, эритрит (Е968) – 6,992 г/10 г добавки, инулин – 2 г/10 г добавки, сукралоза (Е955) – 0,008 г/10 г добавки. Расчет сделан на основе адекватных уровней суточного потребления (АУП) биологически активных веществ, а также требований ТР ТС 029/2012.

Далее была рассчитана пищевая и энергетическая ценность в соответствии с требованиями ТР ТС 022/2011 (прил. 4, 5): пищевая ценность в 100 г, г: белки – 5; жиры – 0; углеводы – 6,6, в т. ч. инулин – 1,6 г, эритрит – 70,0 г. Энергетическая ценность, ккал/100 г продукта – 82,0 ккал.

Сделан расчет количества биологически активных компонентов добавки при суточном потреблении 10 г пищевого ингредиента (суточная порция) (табл. 5).

Таблица 5

Содержание биологически активных компонентов в пищевом ингредиенте-синбиотике
Content of biologically active components in the food ingredient-synbiotic

Компонент	КОЕ/г	АУП
Бифидобактерии	$7,7 \cdot 10^9$	$5 \cdot 10^8 - 5 \cdot 10^{10}$
Пробиотические молочнокислые бактерии	$10,8 \cdot 10^8$	$5 \cdot 10^7 - 5 \cdot 10^9$
Молочнокислые бактерии	$3,2 \cdot 10^9$	$5 \cdot 10^7 - 5 \cdot 10^9$
Биологически активные вещества	Количество, г в 10 г	% от АУП
Инулин	2,0	80

Таким образом, полученный пищевой ингредиент по своему составу может являться биологически активной добавкой к пище и использоваться в качестве ингредиента специализированных пищевых продуктов, источника бифидобактерий, пробиотических молочнокислых бактерий и пребиотиков.

Для создания основы ферментированного напитка проведено сбраживание соевой сыворотки консорциумом бактерий, входящих в сос-

тав пищевого ингредиента. Ферментацию проводили при 37 °С в течение суток, засев сыворотки – в количестве 0,1 г/100 см³ с изучением накопления биомассы. Контролем служила соевая сыворотка, ферментированная лиофилизированной культурой *L. plantarum* 578/25 в таком же количестве. Экспериментальные данные по динамике накопления биомассы на соевой сыворотке представлены на рисунке 6.

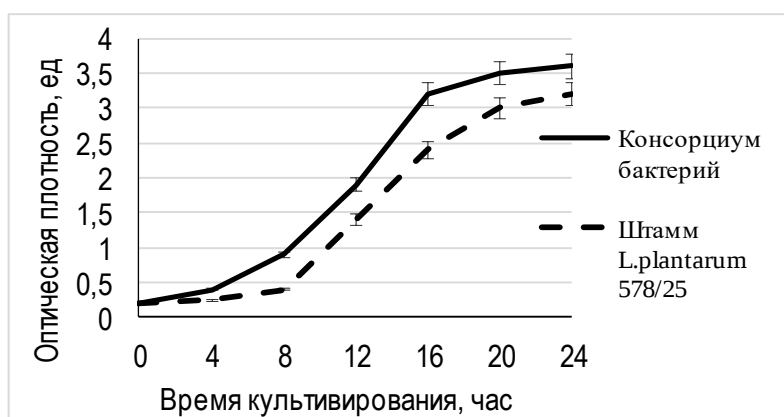


Рис. 6. Динамика накопления биомассы при сбраживании соевой сыворотки
 Dynamics of biomass accumulation during soya whey digestion

Результаты брожения соевой сыворотки показывают, что штаммы, входящие в состав созданного пищевого ингредиента, обеспечивают высокую активность консорциума. На 24 ч роста консорциума на соевой сыворотке суммарный титр пробиотических культур составляет $1,4 \cdot 10^7$ КОЕ/см³.

Представленные экспериментальные данные являются продолжением исследований авторов по получению консорциумов молочнокислых бактерий для производства пищевых ингредиентов с пробиотическими свойствами [2, 14], а также по изучению биосинтетических свойств штаммов молочнокислых бактерий для

производства ферментированных пищевых продуктов.

В настоящее время сохраняется тренд на повышение биосинтетических свойств консорциумов пробиотических бактерий, идентификацию и определение биологических свойств биологически активных веществ молочнокислых бактерий, что подтверждают ряд авторов [3–5, 9, 10, 15, 16], считая данное направление актуальным в области микробиологии и пищевой биотехнологии.

В опубликованных статьях [2, 4, 10, 12, 15, 16] отмечено, что сохраняется актуальность в поиске эффективных отечественных консорциумов штаммов пробиотических бактерий, при этом необходимо учитывать не только технологические свойства, но и характер межштаммовых взаимодействий в смешанной культуре и подтверждать пробиотические характеристики штаммов известными методами. В данном исследовании используемые штаммы молочнокислых бактерий и бифидобактерий составляют консорциум, который характеризуется стабильностью состава при пересевах и сохраняет его в процессе применения. Планируется продолжение исследований функциональных свойств пищевого ингредиента в составе ферментированного продукта в клинических условиях. Титр пробиотических микроорганизмов в сухом лиофилизате пищевого ингредиента является достаточно высоким и сопоставим с опубликованными данными [4, 6, 10, 12, 15]. Состав моделируемого кон-

сорциума и технологические показатели накопления биомассы являются оригинальными.

Консорциум молочнокислых бактерий и бифидобактерий, используемый в работе, ранее не использовался в составе пищевых ингредиентов. По показателю титра клеток в сравнении с аналогами [3, 5] пищевой ингредиент – синбиотик имеет биотехнологический потенциал использования в технологии ферментированных напитков, обогащенных пробиотическими микроорганизмами [16, 17], и для производства обогащенных продуктов питания.

Заключение. Разработанный пищевой ингредиент содержит биомассу молочнокислых бактерий и бифидобактерий с высоким титром, имеет низкую калорийность, содержит пребиотики.

Моделируемый консорциум, включающий в себя конкурентноспособные отечественные штаммы бифидо- и молочнокислых бактерий, не уступает по характеристикам контрольному консорциуму производства Франции. Поэтому применение отечественных стартовых культур при создании нового пищевого ингредиента – синбиотика поможет предложить пищевой отрасли альтернативу импортным аналогам.

Разработанный комплексный пищевой ингредиент может использоваться при сбраживании соевой сыворотки, получаемой при производстве сыра тофу, в качестве источника молочнокислых бактерий с получением основы ферментированного напитка.

Список источников

1. Бордин Д.С., Быкова С.В., Сабельникова Е.А., и др. Критерии выбора пробиотиков в Российской Федерации: результат опроса 1674 гастроэнтерологов // Эффективная фармакотерапия. 2023. Т. 19, № 35. С. 14–20. DOI: 10.33978/2307-3586-2023-19-35-14-20.
2. Волкова Г.С. Создание ассоциаций пробиотиков для пищевых продуктов и кормов // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. 2024. Т. 86, № 1(99). С. 103–107. DOI: 10.20914/2310-1202-2024-1-103-107.
3. Бояринева И.В., Хамагаева И.С., Ковалева Е.Д. Создание симбиотической закваски и изучение ее биохимических свойств // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. 2024. Т. 12, № 4. С. 52–61. DOI: 10.14529/food240406.
4. Цинберг М.Б., Ненашева М.Н. Инновационный цикл создания новейших синбиотиков для восстановления микробиоты хозяина // Бюллетень Оренбургского научного центра УрО РАН. 2023. № 3. С. 10.
5. Некрасова К.Л., Аксентьева В.В., Попов В.Г. Обоснование рецептуры и технологии производства комплексной пищевой добавки функционального назначения // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 2024. № 5–6. С. 64–68. DOI: 10.26297/0579-3009.2024.5-6.10.
6. Токаев Э.С., Ганина В.И., Багдасарян А.С., и др. Свойства единой синбиотической системы бифидобактерий с пребиотиком Fibregum // Биотехнология. 2006. № 6. С. 51–62.

7. Simon E., Calinoiu L.F., Mitrea L., et al. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: implications and beneficial effects against irritable bowel syndrome // *Nutrients*. 2021. Vol. 13 (6). P. 2112. DOI: 10.3390/NU13062112.
8. Yadav M.K., Kumari I., Singh B., et al. Probiotics, prebiotics and synbiotics: safe options for next-generation therapeutics // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2022. Vol. 106 (2). P. 505–521. DOI: 10.1007/s00253-021-11646-8.
9. Swanson K.S., Gibson G.R., Hutkins R., et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. *Nature reviews // Gastroenterology and hepatology*. 2020. Vol. 17 (11). P. 687–701. DOI: 10.1038/s41575-020-0344-2.
10. Попов В.Г., Аксентьева В.В. Проектирование комплексных пищевых добавок в виде микрокапсулированных синбиотиков // *Ползуновский вестник*. 2023. № 4. С. 54–61. DOI: 10.25712/ASTU.2072-8921.2023.04.007.
11. Саржанова К.С. Применение пробиотиков в профилактике и лечении дисбиотических нарушений у детей и взрослых // *Здоровье матери и ребенка*. 2024. № 2. С. 57–63.
12. Динер Ю.А. Производственно-ценные свойства заквасочных культур и консорциума на их основе // *Молочная промышленность*. 2022. № 10. С. 26–27. DOI: 10.31515/1019-8946-2022-10-26-27.
13. Волкова Г.С., Серба Е.М. Создание многоштаммового бактериального консорциума для технологии пробиотических препаратов кормового назначения // *Техника и технология пищевых производств*. 2021. Т. 51, № 2. С. 260–269. DOI: 10.21603/2074-9414-2021-2-260-269.
14. Волкова Г.С., Куксова Е.В., Серба Е.М. Разработка технологии пробиотического бактериального концентрата и практические аспекты использования // *Пищевая промышленность*. 2021. № 9. С. 36–38. DOI: 10.52653/PPI.
15. Бегунова А.В., Рожкова И.В., Зверева Е.А., и др. Молочнокислые и пропионовокислые бактерии: формирование сообщества для получения функциональных продуктов с бифидогенными и гипотензивными свойствами // *Прикладная биохимия и микробиология*. 2019. Т. 55, № 6. С. 566–577. DOI: 10.1134/S0555109919060047.
16. Стурова Ю.Г., Малкова А.В., Колодина Е.В., и др. Биотехнология получения синбиотического напитка с добавлением *Bifidobacterium bifidum* и экстракта вишни // *Ползуновский вестник*. 2023. № 1. С. 145–150. DOI: 10.25712/ASTU.2072-8921.2023.01.018.
17. Базеева Е.Е., Аверьянова Е.В., Каменская Е.П. Разработка компонентного состава питательной среды на основе творожной сыворотки для культивирования штамма *Bifidobacterium longum* V379M // *Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология*. 2018. Т. 8, № 4 (27). С. 55–64. DOI: 10.21285/2227-2925-2018-8-4-55-64.

References

1. Bordin DS, Bykova SV, Sabelnikova EA, et al. Kriterii vybora probiotikov v Rossiyskoy Federatsii: rezul'tat oprosa 1674 gastroenterologov. *Effektivnaya farmakoterapiya*. 2023;19(35):14-20. (In Russ.). DOI: 10.33978/2307-3586-2023-19-35-14-20.
2. Volkova GS. Sozdanie assotsiatsiy probiotikov dlya pishchevykh produktov i kormov. *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta inzhenernykh tekhnologiy*. 2024;86,1(99):103-107. (In Russ.). DOI: 10.20914/2310-1202-2024-1-103-107.
3. Boyarineva IV, Khamagaeva IS, Kovaleva ED. Sozdanie simbioticheskoy zakvaski i izuchenie ee biokhimicheskikh svoystv. *Vestnik Yuzhno-Ural'skogo gosudarstvennogo universiteta. Seriya: Pishchevye i biotekhnologii*. 2024;12(4):52-61. (In Russ.). DOI: 10.14529/food240406.
4. Tsinberg MB, Nenasheva MN. Innovatsionnyy tsikl sozdaniya noveyshikh sinbiotikov dlya vosstanovleniya mikrobioty khozyaina. *Byulleten' Orenburgskogo nauchnogo tsentra UrO RAN*. 2023;3:10. (In Russ.).
5. Nekrasova KL, Aksent'eva VV, Popov VG. Obosnovanie retseptury i tekhnologii proizvodstva kompleksnoy pishchevoy dobavki funktsional'nogo naznacheniya. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Pishchevaya tekhnologiya*. 2024;5–6:64-68. (In Russ.). DOI: 10.26297/0579-3009.2024.5-6.10.

6. Tokaev ES, Ganina VI, Bagdasaryan AS, et al. Svoystva edinoi sinbioticheskoy sistemy bifidobakteriy s prebiotikom Fibregum. *Biotehnologiya*. 2006;6:51-62. (In Russ.).
7. Simon E., Calinoiu LF, Mitrea L, et al. Probiotics, prebiotics, and synbiotics: implications and beneficial effects against irritable bowel syndrome. *Nutrients*. 2021;13(6):2112. DOI: 10.3390/NU13062112.
8. Yadav MK, Kumari I, Singh B, et al. Probiotics, prebiotics and synbiotics: safe options for next-generation therapeutics. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2022;106(2):505-521. DOI: 10.1007/s00253-021-11646-8.
9. Swanson KS, Gibson GR, Hutkins R, et al. The International scientific association for probiotics and prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of synbiotics. *Nature reviews. Gastroenterology and hepatology*. 2020;17(11):687-701. DOI: 10.1038/s41575-020-0344-2.
10. Popov VG, Aksent'eva VV. Proektirovanie kompleksnykh pishchevykh dobavok v vide mikrokapsulirovannykh sinbiotikov. *Polzunovskiy vestnik*. 2023;4:54-61. (In Russ.). DOI: 10.25712/ASTU.2072-8921.2023.04.007.
11. Sarzhanova KS. Primenenie probiotikov v profilaktike i lechenii disbioticheskikh narusheniy u detey i vzroslykh. *Zdorov'e materi i rebenka*. 2024;2:57-63. (In Russ.).
12. Diner YuA. Proizvodstvenno-tsennye svoystva zakvasochnykh kul'tur i konsortsiuma na ikh osnove. *Molochnaya promyshlennost'*. 2022;10:26-27. (In Russ.). DOI: 10.31515/1019-8946-2022-10-26-27.
13. Volkova GS, Serba EM. Sozdanie mnogoshlammovogo bakterial'nogo konsortsiuma dlya tekhnologii probioticheskikh preparatov kormovogo naznacheniya. *Tekhnika i tekhnologiya pishchevykh proizvodstv*. 2021;51(2):260-269. (In Russ.). DOI: 10.21603/2074-9414-2021-2-260-269.
14. Volkova GS, Kuksova EV, Serba EM. Razrabotka tekhnologii probioticheskogo bakterial'nogo kontsentrata i prakticheskie aspekty ispol'zovaniya. *Pishchevaya promyshlennost'*. 2021;9:36-38. (In Russ.). DOI: 10.52653/PPI.
15. Begunova AV, Rozhkova IV, Zvereva EA, et al. Lactic acid and propionic acid bacteria: community formation for obtaining functional products with bifidogenic and hypotensive properties. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2019;55(6):566-577. (In Russ.). DOI: 10.1134/S0555109919060047.
16. Sturova YuG, Malkova AV, Kolodina EV, et al. Biotehnologiya polucheniya sinbioticheskogo napitka s dobavleniem Bifidobacterium bifidum i ekstrakta vishni. *Polzunovskiy vestnik*. 2023;1:145-150. (In Russ.). DOI: 10.25712/ASTU.2072-8921.2023.01.018.
17. Bazeeva EE, Aver'yanova EV, Kamenskaya EP. Razrabotka komponentnogo sostava pitatel'noy sredy na osnove tvorozhnoy syvorotki dlya kul'tivirovaniya shtamma Bifidobacterium longum B379M. *Izvestiya vuzov. Prikladnaya khimiya i biotehnologiya*. 2018;8,4(27):55-64. (In Russ.). DOI: 10.21285/2227-2925-2018-8-4-55-64.

Статья принята к публикации 05.09.2025 / The article accepted for publication 05.09.2025.

Информация об авторах:

Галина Сергеевна Волкова, заведующая отделом биотехнологии ферментов, дрожжей, органических кислот и БАД, доктор технических наук

Анастасия Алексеевна Толочнова, инженер-технолог лаборатории биотехнологии органических кислот, пищевых и кормовых добавок, аспирант

Елена Владимировна Куксова, заведующая лабораторией биотехнологии органических кислот, пищевых и кормовых добавок, кандидат технических наук

Information about the authors:

Galina Sergeevna Volkova, Head of the Department of Biotechnology of Enzymes, Yeast, Organic Acids, and Dietary Supplements, Doctor of Technical Sciences

Anastasia Alekseevna Toloknova, Engineer-Technologist, Laboratory of Biotechnology of Organic Acids, Food and Feed Additives, Postgraduate student

Elena Vladimirovna Kuksova, Head of the Laboratory of Biotechnology of Organic Acids, Food and Feed Additives, Candidate of Technical Sciences