

Федеральное государственное автономное научное учреждение  
«ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ  
МОЛОЧНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ»  
(ФГАНУ «ВНИМИ»)

На правах рукописи

Бурков Иван Александрович

**СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ СУБЛИМАЦИОННОЙ СУШКИ  
ЗАКВАСОЧНЫХ КУЛЬТУР ДЛЯ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ**

Специальность 4.3.3. Пищевые системы

**ДИССЕРТАЦИЯ**

на соискание ученой степени кандидата технических наук

Научный руководитель  
доктор технических наук  
Рябова Анастасия Евгеньевна

Москва – 2026

**ОГЛАВЛЕНИЕ**

Введение	4
Глава 1. Обзор литературы	10
1.1. Способы хранения заквасочных культур	10
1.2. Низкотемпературные технологии как основа замораживания заквасочных культур	13
1.3. Физико-технологические основы и оборудование для сублимационной сушки заквасочных культур	14
1.4. Факторы выживаемости молочнокислых культур при сублимационной сушке	22
1.5. Рынок заквасочных культур и их классификация	24
заключение к литературному обзору	30
Глава 2. Организация работы, объекты и методы исследований	32
2.1. Организация работы	32
2.2. Объекты исследования	34
2.3. Подготовка образцов	34
2.4. Лабораторный экспериментальный стенд	36
2.5. Методика проведения сублимации	40
2.5.1 Предварительное замораживание образцов	40
2.5.2 Сублимационная сушка образцов	41
2.6. Численное моделирование	42
2.7. Методы исследований	45
2.7.1 Стандартизованные методы исследования	45
2.7.2 Общеизвестные методы исследования	47
2.7.3 оригинальные методы исследования	48
Глава 3. Влияние режимов замораживания, сублимационной сушки и защитных сред на выживаемость молочнокислых микроорганизмов	50
3.1. Влияние протокола предварительного замораживания на выживаемость культур	50

3.2. Влияние параметров сублимации на выживаемость молочнокислых культур	57
3.3. Влияние защитных сред на сохранность молочнокислых культур	67
Глава 4. Валидация и применение численных моделей при масштабировании процессов замораживания заквасок	73
4.1. Теоретические основы масштабирования процесса замораживания	73
4.2. Валидация математической модели и вычислительного алгоритма	74
4.3. Моделирование кинетики замораживания в промышленных условиях	81
Глава 5. Опытно-промышленная апробация технологии сублимационной сушки заквасочных микроорганизмов и оценка качества готовой продукции	88
5.1. Производство и анализ сублимированных заквасок в промышленных условиях	88
5.2. Производство и оценка качества мечниковской простокваши с использованием опытных заквасок	92
Заключение	96
Список литературы	98
Приложение А	117
Приложение Б	119
Приложение В	124
Приложение Г	125
Приложение Д	128
Приложение Е	128

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность работы.** Одной из ключевых задач при производстве заквасок для пищевой промышленности является обеспечение длительной сохранности жизнеспособности микроорганизмов и их нативных свойств. Для решения этой задачи применяются технологические приемы, позволяющих приостановить метаболическую активность клеток без нарушения их структурной целостности. На практике используются два основных подхода: хранение при пониженных температурах и стабилизация за счет удаления влаги, эффективность которых определяется биологическими особенностями сохраняемых микроорганизмов.

Сублимационная сушка (лиофилизация) является наиболее предпочтительным промышленным методом длительного сохранения микробных культур, что обусловлено более низкими, по сравнению с криоконсервацией, затратами на хранение и удобством транспортировки. В отличие от распылительной сушки, широко используемой в молочной промышленности и требующей от микроорганизмов выраженной термотолерантности, сублимационная сушка осуществляется при низких температурах и не сопровождается тепловым стрессом для клеток, что обеспечивает длительное сохранение их жизнеспособности: до 35 лет для ряда бактериальных культур и до 30 лет для штаммов дрожжей. В то же время процесс высушивания может приводить к повреждению клеточных мембран, денатурации белков и ферментов, а также нарушениям целостности ДНК.

Эффективность сублимационной сушки определяется совокупностью параметров технологического процесса и биологических характеристик микроорганизмов, включая форму и размеры клеток, условия их культивирования, состав защитной среды и режимы последующего хранения. Несмотря на широкое промышленное применение, многие аспекты сублимационной сушки заквасок остаются эмпирическими, что обуславливает необходимость научно обоснованного совершенствования ключевых параметров процесса.

В соответствии со Стратегией научно-технологического развития РФ, Доктриной продовольственной безопасности РФ, Стратегией повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 года и др., одной из системных задач государства является обеспечение населения доступными и качественными продуктами питания. В этой связи особую актуальность приобретают исследования, направленные на совершенствование технологий получения заквасочных культур, основанные на научно обоснованном выборе режимов предварительного замораживания и сублимационной сушки. Необходимость таких исследований обусловлена стремлением к снижению удельных энергетических затрат и повышению управляемости и воспроизводимости технологических процессов, от которых в значительной степени зависят стабильность качества заквасок и эффективность их промышленного применения в молочной отрасли.

**Степень разработанности темы.** Теоретические и технологические основы вакуумной сублимационной сушки в отечественной научной школе представлены в трудах Гуйго Э.И., Журавской Н.К., Каухчешвили Э.И., Семенова Г.В., Ермакова С.А., Красновой И.С. и других исследователей, где рассмотрены тепломассоперенос, температурные режимы и аппаратурное оформление процесса. Подходы к моделированию и масштабированию сублимации развиты Rambhatla S., Pikal M.J., Nail S.L., Tang X., Kazarin P., Wallen A.J. и др. Особенности молочнокислых культур изучены Ганиной В.И., Рожковой И.В., Свириденко Г.М., Семенихиной В.Ф., Сорокиной Н.П., Santivarangkna G., Saarela S., Morgan C., Fonseca F. и другими авторами.

**Цель** работы заключается в совершенствовании параметров процесса сублимационной сушки молочнокислых заквасочных культур, включая режимы предварительного замораживания, для обеспечения максимальной выживаемости микроорганизмов и качества готового продукта.

Для достижения поставленной цели сформулированы и реализованы следующие **задачи**:

1. Обобщить современное состояние способов длительного хранения и сублимационной сушки молочнокислых заквасок, выявить ограничения существующих технологий и выделить факторы, влияющие на выживаемость заквасочных культур при сублимации.

2. Исследовать влияние скорости и целевой температуры замораживания на выживаемость *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* – как отдельных культур, так и в консорциуме. Определить оптимальный режим предварительного замораживания для обеспечения максимальной жизнеспособности клеток.

3. Изучить влияние температуры полки сублиматора и величины вакуума на скорость сублимации и выживаемость заквасочных культур; установить оптимальные значения этих параметров.

4. Оценить влияние состава и концентрации дополнительных защитных сред (криопротекторов) на жизнеспособность исследуемых микроорганизмов при сублимационной сушке.

5. Усовершенствовать существующую технологию сублимационной сушки заквасочных культур на основе экспериментально установленных оптимальных параметров.

6. Предложить математическую модель для использования при масштабировании технологии от лабораторных условий до промышленного производства.

7. Провести сравнительный анализ характеристик Мечниковской простокваши, выработанной с использованием закваски, полученной по усовершенствованной технологии, и продукта на основе жидкой закваски.

8. Подготовить и оформить изменения к действующей Технологической инструкции по производству заквасок на основании полученных экспериментальных данных.

**Научная новизна работы:**

Установлены оптимальные технологические параметры сублимационной сушки исследованных заквасочных культур, обеспечивающие высокую скорость сушки и максимальную выживаемость микроорганизмов;

Разработана и верифицирована численная модель процесса предварительного замораживания сублимируемой суспензии с учетом ее теплофизических свойств, которая позволила получить распределение температур во всем объеме замораживаемого продукта;

Установлены зависимости влияния технологических параметров на выживаемость заквасочных культур.

**Теоретическая и практическая значимость работы:**

Исследовано комплексное влияние теплофизических факторов на процесс сублимационной сушки заквасочных культур;

Создан экспериментальный аппаратно-программный комплекс с автоматизированной регистрацией параметров для исследования процессов сублимационной сушки заквасок;

На основе проведенных исследований усовершенствована существующая технология производства сублимированных заквасочных культур, обеспечивающая их конкурентоспособность;

Результаты исследования внедрены в производство и оформлены в виде изменения № 1 ТИ ТУ 10.89.19-098-00419785-2023 Технологическая инструкция по производству заквасок.

**Методология и методы исследования.** Экспериментальная часть работы выполнена на базе ФГАНУ «ВНИМИ». Вычислительная часть исследования, включающая математическое моделирование тепловых процессов предварительного замораживания, проведена в МГТУ им. Н.Э. Баумана. В работе использован комплекс стандартизованных и общепринятых методов исследования, применяемых в пищевой промышленности для контроля физико-химических, микробиологических и органолептических показателей заквасочных культур и

кисломолочных продуктов. Обработка экспериментальных данных осуществлялась методами математической статистики.

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Усовершенствованные параметры процесса сублимационной сушки (температура и продолжительность замораживания, давление в камере сублиматора, температура полки) закваски для Мечниковской простокваши, обеспечивающие высокое сохранение клеток и качество готового продукта.

2. Закономерности влияния параметров предварительного замораживания и режимов сублимационной сушки на сохранность жизнеспособности исследованных заквасочных микроорганизмов.

3. Способ масштабирования процесса предварительного замораживания образцов с лабораторного уровня на промышленный на основе математического моделирования, обеспечивающий научный подход к сохранению воспроизводимости при производстве сублимированной закваски.

**Степень достоверности** диссертационной работы обусловлена ее опорой на общепринятые научные принципы и современные подходы в области процессов сублимационной сушки и биотехнологии. Достоверность экспериментальной части подтверждается применением стандартизованных методов исследования, использованием необходимого аналитического оборудования, многократной воспроизводимостью опытов, высокой сходимостью полученных данных и их статистической обработкой. Теоретические и экспериментальные материалы диссертации в полном объеме отражены в публикациях в рецензируемых научных изданиях.

**Личный вклад автора.** Все исследования, представленные в диссертации, выполнены автором самостоятельно. Личный вклад включает анализ научной литературы по теме, формулирование цели и постановку задач исследования, планирование и проведение экспериментов, выполнение необходимых расчетов, обработку и интерпретацию полученных данных и подготовку общих выводов по работе.

**Апробация работы.** Основные результаты диссертации были доложены и обсуждены на 7 международных и всероссийских конференциях, в том числе: II Всероссийский научно-практический конгресс «Биотехнология и устойчивое развитие» (Москва, 2024); Международный симпозиум «Пищевые технологии» (Кемерово, 2024); Международная научно-практическая конференция «Стратегии развития АПК России на основе рационального использования региональных генетических и сырьевых ресурсов» (Волгоград, 2024), VII Поландовские чтения (Москва, 2025), X Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Молодые исследователи агропромышленного и лесного комплексов – регионам» (Вологда, 2025), Конференция молодых ученых и специалистов отделения сельхознаук РАН (Москва, 2025).

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 15 печатных работ, в том числе: 3 статьи в журналах, рекомендованных ВАК, 3 статьи в журналах, индексируемых в международных базах Web of Science и Scopus, 7 статей в материалах конференций и журналах, индексируемых РИНЦ, получено 2 свидетельства о регистрации программ для ЭВМ.

**Структура и объем работы.** Диссертация изложена на 128 страницах, включает введение, обзор литературы, методологию исследований, результаты исследований и их анализ, заключение. Диссертация содержит 17 таблиц, 26 рисунков и 6 приложения. Список литературы включает 148 источников.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### 1.1. Способы хранения заквасочных культур

Проблематика продовольственного обеспечения включает не только количество, но и качество, безопасность и устойчивость логистики пищевых товаров [24]. Рост населения и глобализация меняют структуру питания, производство и переработку сырья, требования к хранению и перевозке, вследствие чего возрастает потребность в увеличении сроков годности [19, 48]. При этом продовольственный фактор рассматривается как один из значимых детерминантов здоровья населения наряду с социально-экономическими условиями и образом жизни [43, 135, 148]. В этой логике технологии сохранения пищевых ингредиентов, включая закваски для кисломолочных продуктов, становятся элементом более широкой системы здоровьесбережения и продовольственной безопасности.

Для сохранения культур в жизнеспособном и стабильном состоянии используют несколько основных способов: периодические пересевы на питательных средах, криоаморазивание и сушку [132, 137]. Метод периодических пересевов привлекателен простотой, однако его существенный недостаток заключается в необходимости строгого соблюдения регламента пересева и значительных временных затратах на выполнение процедур [135]. Поэтому в промышленности преобладают способы, останавливающие метаболизм: криоконсервация и высушивание [36, 39, 121].

Криоконсервация основана на контролируемом охлаждении, хранении при сверхнизких температурах и последующем восстановлении [36]. Сухие закваски характеризуются сниженным влагосодержанием, что обеспечивает подавление метаболической активности микроорганизмов и позволяет существенно увеличить срок хранения по сравнению с жидкими формами. Эффективность повышается при обеспечении высоких скоростей охлаждения и точного температурного контроля, а также при использовании криопротекторов [101, 111, 113]. Вместе с тем сохраняется проблема защиты клеток от физических и химических стрессов,

возникающих при замораживании и оттаивании, которая полностью не решена. Повреждения связаны с тепловыми напряжениями мембран, образованием внутриклеточных и внеклеточных кристаллов льда, а также с осмотическим стрессом, возникающим при изменении концентрации растворенных веществ в процессе кристаллизации воды. Кроме того, высокие концентрации криопротекторных добавок могут оказывать неблагоприятное воздействие на физиологическое состояние клеток [93, 109].

Физическая цель криоконсервации часто описывается через стремление к витрификации (стеклованию), то есть к фазовому переходу второго рода, при котором система быстро проходит критическую температуру льдообразования и переходит в стекловидное состояние без образования кристаллов льда [109]. В стекловидном состоянии раствор остается аморфным и «технически жидким», сохраняя неупорядоченность молекулярного расположения, но из-за высокой вязкости его теплофизические свойства приближаются к свойствам твердой фазы [143]. С практической точки зрения, несмотря на распространенность криоконсервации, ее применение в пищевой промышленности требует использования дорогих криогенных жидкостей, программных замораживателей и криохранилищ. Криоконсервированные микроорганизмы необходимо хранить при температурах около минус 40 °С и ниже, что осложняет логистику и применение в производстве [39, 118].

Сушка (обезвоживание) суспензий микроорганизмов является распространенным промышленным способом сохранения культур. Сухие закваски характеризуются сниженным влагосодержанием, что обеспечивает подавление метаболической активности микроорганизмов и позволяет существенно увеличить срок хранения по сравнению с жидкими формами [46, 114, 136]. В отличие от криоконсервированных препаратов, сублимированные культуры не требуют поддержания сверхнизких температур, что упрощает их использование в технологическом процессе и снижает зависимость от специализированного холодильного оборудования [112, 32].

В пищевой промышленности применяют распылительную и сублимационную сушку. Распылительная сушка технологически эффективна, однако связана с кратковременным воздействием высоких температур (до 200 °С) [49, 116], что может приводить к дегидратационному и термическому повреждению клеток, включая снижение выживаемости и повреждения ДНК [96, 145].

Сублимационная сушка основана на удалении влаги из предварительно замороженного материала в условиях пониженного давления [10, 115, 120, 125, 128]. В отечественной литературе используется термин «сублимационная сушка», в англоязычной – freeze-drying, а в биомедицинском контексте – «лиофилизация» [26]. Процесс включает стадию замораживания и последующее удаление льда путем фазового перехода из твердого состояния в пар с дальнейшим удалением связанной воды [10, 115, 125]. Несмотря на более высокую стоимость по сравнению с распылительной сушкой (по отдельным оценкам – в несколько раз выше) [145], данный метод рассматривается как предпочтительный для сохранения молочнокислых бактерий [98, 112].

Как и при криоконсервации, сохранность клеток при сублимации зависит от устойчивости микроорганизмов к замораживанию и дегидратации, что обуславливает использование криопротекторов для снижения осмотического и структурного стресса [28, 110]. При этом в литературе отмечается значительная вариативность режимов, что затрудняет формирование универсальных рекомендаций [114].

Поскольку стадия замораживания является обязательным этапом сублимационной сушки, далее целесообразно рассмотреть технологические основы получения низких температур, формирующие физическую базу этого процесса.

## **1.2. Низкотемпературные технологии как основа замораживания заквасочных культур**

Технологии получения низких температур являются основой процессов сохранения пищевых продуктов и биологических объектов. В инженерно-технологическом смысле холод рассматривается как теплота на температурном уровне ниже окружающей среды. При этом диапазон от температуры окружающей среды до 120 К относят к области холодильной техники, а более низкие температуры – к криогенным технологиям [3]. Для процессов замораживания заквасочных культур перед сублимационной сушкой практический интерес представляет именно область холодильных температур.

Развитие этих технологий тесно связано с историей становления пищевой промышленности. Первоначально использовался природный холод, однако переход к искусственным холодильным системам стал ключевым фактором индустриализации отрасли и формирования управляемых процессов хранения [6]. Искусственный холод получают за счет различных физических процессов, включая фазовые переходы (плавление, испарение, сублимацию) и другие термодинамические эффекты [2]. Именно управляемое замораживание создает необходимые условия для последующей сублимационной сушки.

По способу получения холода различают безмашинные и машинные системы. Безмашинные методы основаны на использовании готовых хладоносителей и применяются преимущественно для временного охлаждения. Машинные холодильные установки обеспечивают преобразование энергии в холод и позволяют поддерживать стабильный температурный режим [12], что делает возможной реализацию контролируемых протоколов замораживания.

Наиболее распространенными в промышленности являются парокомпрессионные холодильные машины, наряду с ними применяются абсорбционные и другие схемы охлаждения [29]. Их внедрение позволило выстроить устойчивые системы хранения и транспортирования продукции, что со временем привело к созданию управляемых систем хранения и распределения

продукции [6]. В настоящее время холодильная техника широко используется в промышленности, торговле и быту [54], а ее развитие направлено на повышение энергоэффективности и применение природных хладагентов [56]. Для сохранения заквасочных культур особое значение имеют решения, позволяющие обеспечить длительное хранение при минимальных энергетических затратах и упрощенной логистике.

Значительная доля энергозатрат предприятий пищевой промышленности связана с производством холода [6, 70], при этом отсутствие эффективных систем охлаждения приводит к существенным потерям продовольствия [35]. Поэтому совершенствование технологий использования холода рассматривается как важное направление повышения эффективности отрасли.

В технологии сублимационной сушки холодильное оборудование обеспечивает стадию предварительного замораживания. Скорость охлаждения, достигаемая температура и устойчивость температурного режима определяют структуру образующегося льда и, следовательно, условия последующей сублимации. Таким образом, технологии получения низких температур формируют физическую основу этапа замораживания, который существенно влияет на выживаемость молочнокислых микроорганизмов.

### **1.3. Физико-технологические основы и оборудование для сублимационной сушки заквасочных культур**

Процесс сублимационной сушки рассматривается как управляемый физико-технологический цикл вакуумного обезвоживания предварительно замороженного материала. Такой подход принципиально отличает лиофилизацию от упрощенного понимания ее как отдельной операции удаления влаги и позволяет анализировать процесс как систему взаимосвязанных стадий, параметры которых формируют итоговые характеристики сухого препарата. Повреждения, возникающие на этапе замораживания, не компенсируются в ходе последующих стадий, а напротив, могут сохраняться и усиливаться в процессе первичной и вторичной сушки [136]. Типовая технологическая последовательность операций при получении

сублимированных бактериальных препаратов включает предварительное замораживание и последующее удаление влаги в сублиматоре [51]. При этом оптимизация процесса требует одновременного учета траектории изменения температуры продукта и давления в камере во времени, что иллюстрируется типовой динамикой цикла с возможной стадией закалки (annealing), представленной на Рисунке 1.1.

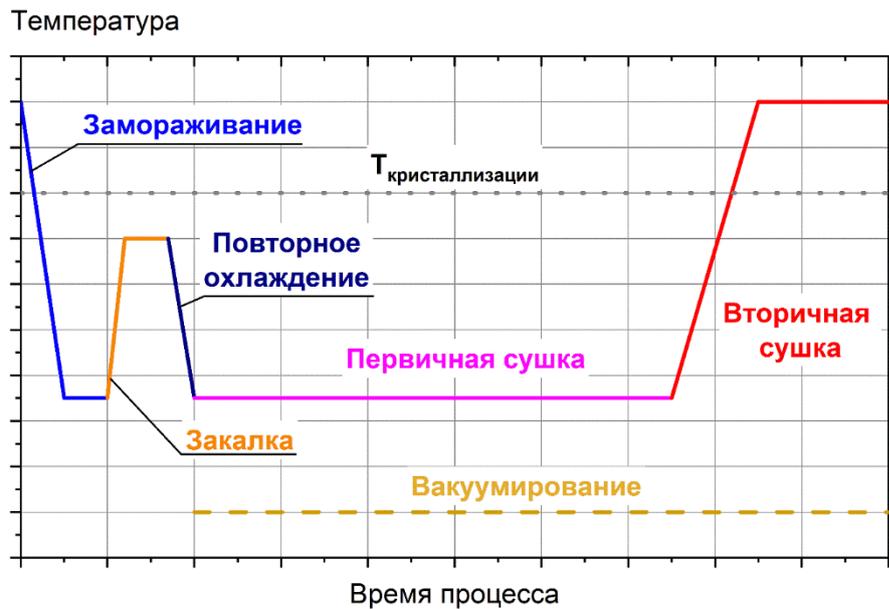


Рисунок 1.1 – Типовая температурно-временная траектория цикла сублимационной сушки с включением стадии закалки (annealing); при ее отсутствии первичная сушка и вакуумирование начинаются непосредственно после замораживания

Стадия замораживания имеет первостепенное влияние на качество дальнейшей сублимации раствора с сохраняемой культурой, поскольку определяет морфологию льда и, следовательно, структуру порового каркаса, через который в первичной сушке будет удаляться водяной пар. Хотя превращение жидкости в лед невозможно контролировать напрямую, в литературе описаны косвенные подходы к оценке процесса через контроль температуры переохлажденной жидкости. Процесс замораживания рассматривают как последовательность охлаждения раствора до температуры ниже равновесной температуры замерзания, стохастического образования первичных ядер кристаллизации, роста ядер кристаллизации до кристаллов льда и дальнейшего роста кристаллов [99]. При этом

подчеркивается, что кристаллизуется не вся содержащаяся в растворе вода, а доля замерзшей воды зависит от условий процесса; среди подходов, направленных на увеличение доли замерзшей воды, упоминаются точный подбор скорости охлаждения и применение двукратного охлаждения [105]. Эти положения прямо связывают физику замораживания с задачей подбора скорости и целевой температуры предварительного замораживания для сохранения жизнеспособности заквасочных культур.

В порядке увеличения скорости охлаждения раствора перед сублимационной сушкой в литературе описываются несколько способов. К ним относят медленное контролируемое охлаждение при размещении емкости с раствором на охлаждаемой полке (когда теплоотвод идет преимущественно через дно емкости) со скоростями менее 1 °С/мин, охлаждение раствора в морозильной камере или непосредственно в камере сублиматора со скоростями порядка 1-5 °С/мин, погружение емкости с раствором в охлажденный жидкий теплоноситель (например, спирт, охлажденный сухим льдом), шоковую заморозку при контакте мелких капель с жидким азотом со скоростями выше 150 °С/мин и иммерсионное охлаждение в жидком азоте [105, 107, 129, 139]. Подчеркивается, что наиболее распространенным в практических условиях является охлаждение в морозильной камере или в камере сублиматора, поскольку этот способ реализуем в большинстве установок без дополнительных доработок и снижает риски выпадения конденсата и нежелательного повышения температуры до начала вакуумирования.

После завершения замораживания ключевым этапом становится вакуумирование сушильной камеры. При давлениях ниже тройной точки системы возможен прямой переход льда в пар минуя жидкую фазу, что позволяет получать сухой, активный и легкорастворимый препарат [95, 97]. В литературе указывается, что абсолютное давление в камере сублиматора обычно поддерживают в диапазоне 1-100 Па [87, 133, 138]. При этом быстрое снижение давления может приводить к выделению растворенных газов, вспениванию и вытеканию препарата из емкости, что ухудшает воспроизводимость и качество процесса [49]. Для устойчивого протекания лиофилизации необходимо обеспечить подвод теплоты, требуемой для

фазового перехода, и поддерживать градиент давления паров воды между поверхностью продукта (наиболее высокое давление), конденсатором и вакуумным насосом (наиболее низкое давление). На стадии первичной сушки удаляется до 90% влаги, однако связанная вода не может быть удалена на этом этапе [142]. Поскольку сублимация идет с поверхности замороженного материала, продолжительность процесса определяется площадью поверхности и толщиной слоя раствора [11, 49, 90]. В зависимости от объема раствора и способа загрузки длительность первичной сушки может изменяться от одного часа до нескольких суток [47, 138]. Для совершенствования технологии это означает необходимость рассматривать параметры вакуума и теплоподвода как факторы, влияющие одновременно и на скорость процесса, и на условия, определяющие выживаемость культур.

Практическая реализация указанного теплового баланса осуществляется за счет регулирования температуры нагреваемых полок и обеспечения надежного контакта тары с их поверхностью [136]. Дополнительное влияние оказывают лучистый и остаточный конвективный теплообмен между поверхностью продукта и стенками камеры и конвективный теплообмен с остаточным газом; в сублимационных установках конвективная составляющая обычно мала, тогда как лучистая может быть значимой, особенно в установках с радиационным нагревом. Однако высокая температура излучателя (более 200 °С) не позволяет точно контролировать температуру верхнего слоя продукта, что увеличивает риск повреждения клеток; поэтому установки с радиационным нагревателем в молочной промышленности не применяются [64, 122, 144]. Таким образом, оптимизация температуры полки сублиматора и уровня вакуума приобретает ключевую роль для обеспечения одновременно высокой скорости сушки и высокой выживаемости заквасочных культур [63, 120, 122].

На стадии вторичной сушки температура продукта приближается к максимально допустимой, то есть к температуре, превышение которой приводит к существенной гибели клеток вследствие денатурации белков. Температурный предел зависит от свойств объекта сушки, а для пищевых продуктов обычно рассматривается как не превышающий 40 °С. Вторичная сушка занимает 20-40%

общего времени цикла и обеспечивает удаление 5-10% незамерзшей жидкости, представляющей собой связанную воду; при этом влагосодержание доводится до целевого значения [52, 64, 102, 144].

Высокая продолжительность цикла сублимационной сушки стимулирует разработку альтернативных подходов ускорения процесса. В литературе описана распылительная сублимационная сушка, которую целесообразно представлять как последовательность распыления раствора на мелкие капли, быстрого затвердевания капель (обычно при контакте с жидким азотом) и последующей сублимационной сушки затвердевших частиц. Способ нашел применение при сублимации кофе [88]. Также Kullmann с соавторами предлагает использовать матриксы в форме гироидов, где за счет капиллярного эффекта размещается высушиваемый раствор. Хотя такой подход позволяет кратно увеличить площадь сублимации и тем самым ускорить процесс, он требует применения аддитивных технологий для изготовления матриксов и затрудняет извлечение высушенного материала [108]. Для ускорения сублимационной сушки рассматривается также использование инфракрасных излучателей, эффективность которых показана для некоторых пищевых продуктов (клубника, бананы и др.) [123], однако в молочной промышленности данный подход, как отмечается, не применяется из-за ограничений по контролю температуры и рисков повреждения продукта.

Разработка циклов сублимационной сушки и их перенос между масштабами требуют точной характеристики параметров процесса и возможностей оборудования. Изменение объема загрузки и теплообменных условий может приводить к отличиям в кинетике сушки и конечных показателях, что повышает технологические и экономические риски. В связи с этим в практике выделяют лабораторные, пилотные и промышленные установки [104, 66], различающиеся, в том числе, по массе льда, конденсируемого системой (до 12 кг, 18-40 кг и свыше 40 кг соответственно) [16].

По способу размещения растворов сублимационные установки разделяют на коллекторные и камерные. В коллекторных установках каждую емкость (ампулу, флакон, колбу) во время сушки соединяют с конденсатором индивидуальным

трубопроводом, тогда как в камерных установках препараты располагают в общей сушильной камере, где обычно проводится весь цикл. Пилотные и промышленные установки являются камерными, тогда как многие лабораторные установки поставляются в комбинированном виде, позволяющем заменять вакуумную камеру с полками на гребенку для размещения флаконов и колб [52]. Помимо назначения и типа загрузки, важными характеристиками являются количество полок и рабочая температура конденсатора, которая может варьироваться в зависимости от комплектации одной и той же модели от минус 50 °С до минус 105 °С [67]. Эти параметры определяют возможные режимы цикла, скорость удаления влаги и условия, в которых находится биообъект.

Отмечается, что номенклатура выпускаемых изделий изменяется достаточно быстро, а конкретные модели зачастую производятся около пяти лет, после чего снимаются с производства. Среди производителей лабораторных и пилотных установок выделяют Buchi (Швейцария), Labconco (США), Labfreez (Китай), Spincotech VirTis (Индия), Biobase (Китай), Innova (Китай). Особенность этих компаний состоит в широкой линейке продукции, где лиофилизаторы являются лишь частью поставок, поэтому серийное производство малых установок не всегда сопровождается производством промышленных лиофилизаторов. Исключением является компания Spincotech, выпускающая промышленные установки до 800 кг, а среди производителей промышленных установок также названы Lyomachines (Россия), GEA (Германия) и Kemolo (Китай) [55, 68, 100]. Дополнительно стоит подчеркнуть, что часть промышленных установок изготавливается в единичных экземплярах под конкретное производство. В таких проектах применяются решения, направленные на оптимизацию капитальных и эксплуатационных затрат, включая объединение нескольких сублиматоров в единую вакуумную систему для упрощенного масштабирования и подключение конденсатора к внутренней системе холодоснабжения предприятия, объединенной с камерой заморозки [64].

Холодоснабжение конденсатора чаще всего обеспечивается холодильной машиной, которая может быть одноступенчатой или каскадной в зависимости от температурного уровня. Вместе с тем описаны и более простые решения

безмашинного подвода холода; в качестве примера серийной установки такого типа упоминается Labconco Dry Ice Benchtop 1L, где в роли конденсатора выступает внешняя часть емкости, заполненная сухим льдом, а нагрев пробирок осуществляется за счет окружающего воздуха [134, 64]. По принципу работы установки подразделяют на периодические, поточно-циклические и установки непрерывного действия [52]. Большинство сублиматоров являются периодическими, что означает необходимость размораживания конденсатора при заполнении льдом для продолжения процесса. Однако имеются лабораторные установки, которые благодаря системе двух попеременно работающих конденсаторов обеспечивают непрерывный процесс сушки [7, 14].

В практических циклах замораживание перед сублимацией выполняют либо в отдельном морозильном оборудовании, либо в камере сублиматора при наличии охлаждаемых полок. Наиболее часто применяют протокол охлаждения от начальной температуры до целевой со скоростью 1-5 °С/мин [129, 110], а целевую температуру выбирают в диапазоне от минус 10 до минус 80 °С [17, 65, 91]. При наличии стадии закалки биообъект после первичного замораживания отогревают до температуры на 10-15 °С ниже точки равновесного плавления и затем вновь охлаждают до целевой температуры; цель закалки состоит в снижении содержания свободной влаги [9, 129]. Для сопоставления подходов к выбору параметров в литературе приводятся протоколы, использованные в различных исследованиях (Таблица 1.1).

Таблица 1.1 - Протоколы сублимации, примененные в различных исследованиях

Источник	Температура раствора после замораживания, °С	Скорость замораживания	Модель сублиматора
[92]	Минус 80	н.д.	Labconco FreeZone 6 L
[140]	Минус 20; Минус 40; Минус 60; Минус 196	н.д.	н.д.
[129]	Минус 45 с закалкой при минус 10	1 °С/мин	Epsilon 2-6D LSC
[37]	Минус 70	н.д.	Jouan LP-3
[103]	Минус 80	н.д.	Zirbus Vaco-5-II-D

Источник	Температура раствора после замораживания, °С	Скорость замораживания	Модель сублиматора
[147]	Минус 40	н.д.	Epsilon 225
[81]	Минус 38	н.д.	ТГ-50
[91]	Минус 80	н.д.	н.д.
[51]	Минус 42	н.д.	FreeZone 4.5 Liter Benchtop
[47]	Минус 50	н.д.	ТГ-50

Продолжение Таблицы 1.1

Источник	Температура конденсатора сублиматора, °С	Температура полки сублиматора, °С	Давление в сублиматоре, Па	Время сушки
[92]	Минус 55	н.д.	1,8	45 ч
[140]	Минус 80	Минус 30	20	800 мин
[129]	н.д.	30	13,3	9 ч
[37]	Минус 50	н.д.	4	24 ч
[103]	н.д.	15	60	22 ч
[147]	н.д.	23	н.д.	12 ч
[81]	Минус 74	От минус 8 до 27	н.д.	22 ч
[91]	н.д.	н.д.	6,6	н.д.
[51]	Минус 55	30	19	36 ч
[47]	н.д.	н.д.	н.д.	50 ч

Широкий разброс параметров сублимационной сушки, фиксируемый в литературе, указывает, что несмотря на массовое применение лиофилизации, практический выбор режимов во многих случаях остается эмпирическим и требует дальнейшего научного обоснования и систематизации [114]. Для заквасочных культур это обстоятельство имеет принципиальное значение, поскольку даже небольшие изменения режимов замораживания, температуры полок и уровня вакуума способны существенно повлиять на выживаемость и активность культур, а при масштабировании от лабораторных условий к промышленным меняются

условия тепло- и массообмена, что требует модельного сопровождения и валидации.

#### **1.4. Факторы выживаемости молочнокислых культур при сублимационной сушке**

Описанные выше параметры замораживания и сублимационной сушки напрямую связаны с показателями сохранности культур. Выживаемость микроорганизмов при сублимационной сушке в значительной мере определяется их устойчивостью к замораживанию. Для термофильных молочнокислых культур *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, применяемых в составе симбиотического консорциума при производстве простокваши, особенности протокола предварительного замораживания и параметров вакуумной сушки имеют принципиальное значение. Различия в чувствительности данных микроорганизмов к ледообразованию, осмотическим изменениям и температурным нагрузкам способны приводить к изменению их количественного соотношения после обработки. В этой связи оценка влияния режимов лиофилизации должна учитывать не только суммарную выживаемость клеток, но и сохранение стабильности состава консорциума.

В литературе предлагается разделять микроорганизмы по степени устойчивости к лиофилизации на три группы, выделяя культуры с выживаемостью более 70% как наиболее устойчивые, культуры с выживаемостью более 10% как устойчивые и культуры с выживаемостью не выше 1,5% как наиболее чувствительные [79, 69]. Практический смысл классификации состоит в том, что для разных культур оптимальные режимы замораживания и параметры сублимации могут существенно различаться, а значит необходима адресная оптимизация, учитывающая физиологические особенности конкретных штаммов и их сочетаний.

Помимо индивидуальной чувствительности к сублимации, сохранность культур при сушке и последующем хранении определяется комплексом факторов [117]. К ним относят возраст культуры и условия культивирования, состав

питательной среды перед сушкой, режим замораживания, состав защитной (криопротекторной) среды, величину остаточной влажности продукта и условия хранения сублимированного препарата [22, 40, 41, 92, 124, 126, 140]. Отдельно подчеркивается необходимость защиты высушенного препарата от воздействия кислорода, влаги и света при хранении [7].

Одним из наиболее эффективных способов повышения выживаемости микроорганизмов является применение защитных сред (криопротекторов) [127]. Подбор криозащитной композиции рассматривается как важнейший элемент оптимизации процесса сублимации [61]. Однако подбор криопротекторов часто носит эмпирический характер, поскольку механизмы защитного действия отдельных компонентов и их комбинаций до конца не изучены [25]. Для пищевой промышленности принципиально, что криопротекторы должны относиться к пищевым добавкам, безопасным для человека в тех количествах, которые могут оставаться в готовом продукте [7]. Допустимыми компонентами защитных сред являются некоторые сахара, полиолы, гидроколлоиды и др.

Эффективный криопротектор обычно характеризуют как нетоксичный для сохраняемой культуры, хорошо растворимый в воде, способный снижать количество образующегося льда и препятствовать кристаллизации воды при замораживании [37]. В качестве защитных сред часто используют полисахариды, способствующие повышению эластичности клеточных мембран и снижению выраженности термического и осмотического повреждения. В литературе также упоминаются глюкоза, желатоза (питательный субстрат на основе гидролизатов желатина), глицерин, альгинат и другие вещества, применяемые в различных комбинациях и концентрациях [21, 51].

Существенным параметром долгосрочной стабильности является остаточная влажность сублимированного продукта. Оптимальное конечное содержание влаги зависит от вида культуры, однако обычно рассматривается в диапазоне 1-6% [146]. Слишком высокая влажность ухудшает сохранность за счет активизации нежелательных процессов, тогда как чрезмерно низкая влажность может приводить к денатурации белков и повреждению клеток. Для контроля влажности и

предотвращения поглощения влаги из воздуха упаковку продукта герметизируют, а в ряде случаев упаковку осуществляют в атмосфере инертного газа непосредственно в вакуумной камере сублиматора [49].

### **1.5. Рынок заквасочных культур и их классификация**

Сохранение жизнеспособности заквасочных культур имеет не только технологическое, но и экономическое значение, поскольку напрямую влияет на устойчивость рынка и конкурентоспособность молочной продукции. Повышение конкурентоспособности молочной продукции остается одной из приоритетных задач пищевой промышленности. Россия относится к числу крупнейших производителей молока и молочной продукции, объем производства молока оценивается на уровне 32,4 млн т в год [1, 85]. При этом структура спроса постепенно трансформируется: на фоне замедления общего роста потребления молочной продукции увеличивается доля технологически более сложных сегментов - йогуртов, молочных десертов, сыров [77]. Производство такой продукции невозможно без использования специализированных заквасочных культур, а значит, устойчивость и качество заквасочного рынка напрямую влияют на развитие отрасли в целом.

Технологическая цепочка получения заквасочных культур включает стадии размножения, сохранения, упаковки, контроля качества и безопасности и транспортирования [82]. Одним из факторов конкурентоспособности становится способность обеспечить длительное хранение и стабильность свойств микроорганизмов. В этой связи отмечается устойчивый рост рынка оборудования для сублимации и увеличение объемов мирового производства сублимированных продуктов, что рассматривается как предпосылка расширения применения лиофилизированных заквасок [4, 15].

Вместе с тем состояние отечественного рынка характеризуется высокой импортной зависимостью. По данным литературы, к 2021 году объем рынка молочных заквасок в России составлял около 750 тонн, причем более 80-90 % продукции поставлялось иностранными компаниями [34]. Среди крупнейших

поставщиков упоминаются Chr.Hansen A/S (Дания), Danisco (Дания), CSK Food Enrichment (Нидерланды) и Sovereign partnership Ltd. (Великобритания) с распределением долей рынка, приведенным в источнике [20]. Несмотря на увеличение доли отечественных заквасок с 1-2 % в 2013 году [72] до 10-20 % в 2022 году [31], зависимость от импорта сохраняется. Число российских производителей остается ограниченным, а крупнейшие предприятия приведены в Таблице 1.2 [15]. Такая структура рынка обуславливает уязвимость молочных производств при нарушении поставок и усиливает значение устойчивых технологий хранения и транспортирования заквасок.

Таблица 1.2 - Основные отечественные производители заквасок и бактериальных концентратов

Производитель	Регион	Профиль выпускаемой продукции	Форма продукции
АО «Вектор-БиАльгам»	Новосибирская область	Пробиотические препараты и продукты, содержащие культуры бифидо- и лактобактерий; микробиологические ингредиенты	Сухие, жидкие
ООО «Зеленые линии», подразделение ГК «Союзснаб»	Московская область	Заквасочные культуры для кисломолочных продуктов (бренд AiVi); бактериальные концентраты	Замороженные (криогранулированные), сухие
ООО «Био-Веста»	Новосибирская область	Заквасочные культуры и пробиотические продукты под брендами «Бифиленд» и «Бифилайф»	Сухие, жидкие
ООО «Барнаульская биофабрика»	Алтайский край	Бактериальные концентраты и закваски для кисломолочной продукции и сыроделия	Сухие, жидкие
ФГБНУ «Экспериментальная биофабрика»	Ярославская область (г. Углич)	Концентрированные закваски и бактериальные препараты для молочной промышленности	Сухие, жидкие

Форма поставки существенно влияет на организацию производственного процесса и экономику предприятия. Жидкие закваски удобны тем, что не требуют стадии реактивации при использовании [60], однако имеют ограниченный срок хранения и предъявляют повышенные требования не только к холодильной инфраструктуре, но и к квалификации персонала, обеспечивающего соблюдение регламентов обращения с культурами. Их применение экономически оправдано преимущественно на предприятиях, располагающих специализированными заквасочными отделениями [50, 73, 71].

Криоконсервированные культуры обеспечивают относительно быстрое восстановление активности, но требуют хранения и транспортирования при низких температурах, как правило минус 40 °С и ниже [45, 73, 80]. Это увеличивает зависимость производства от стабильности холодильной цепи и энергетических ресурсов.

Сублимированные закваски ориентированы на повышение устойчивости производственно-логистической системы. В условиях географической распределенности производителей и перерабатывающих предприятий особое значение приобретает устойчивость формы закваски к транспортированию на большие расстояния. Этим объясняется значительная доля высушенных препаратов в структуре продукции отечественных производителей [14]. При этом выбор формы поставки связан не только с инфраструктурными возможностями предприятия, но и с возможным влиянием процессов консервации на физические, химические и микробиологические характеристики культур [38, 94].

Наряду с рыночными аспектами существенное значение имеет классификация заквасок, позволяющая систематизировать их разнообразие по биохимическим и технологическим признакам. В литературе закваски для кисломолочных продуктов классифицируют по составу микрофлоры, температурному интервалу развития культур, принадлежности к группе продуктов, целевому технологическому воздействию и функциональным свойствам [5, 30, 75, 78, 81].

Закваски, применяемые для сквашивания молочного сырья, представляют собой непатогенные и нетоксигенные микроорганизмы и/или их комбинации, отобранные по таксономическим, физиолого-биохимическим и биотехнологическим свойствам с учетом особенностей технологии конкретного продукта [74, 76]. Их функции заключаются в осуществлении биохимических превращений компонентов молока с формированием сгустка с заданными физико-химическими и органолептическими показателями, ингибировании развития технически вредной, патогенной и условно-патогенной микрофлоры, повышении биологической ценности продукции и, при необходимости, придании ей пробиотических свойств [27].

Закваски, реализуемые на территории Таможенного союза, должны соответствовать требованиям технических регламентов, включая ТР ТС 033/2013 «О безопасности молока и молочной продукции». Нормируются показатели безопасности и минимально допустимое количество жизнеспособных клеток в грамме закваски, что представлено в Таблице 1.3 [58]. Видовой состав закваски должен обеспечивать интенсивность и направленность микробиологических и биохимических процессов, формирующих органолептические показатели конкретного продукта и его пригодность к хранению [59]. Доза внесения рассчитывается с учетом концентрации жизнеспособных клеток [57]. Таким образом, нормативные требования напрямую связывают технологию производства и хранения заквасок с необходимостью гарантированного сохранения определенного уровня жизнеспособности.

Таблица 1.3 - Минимально допустимое количество жизнеспособных заквасочных микроорганизмов и показатели безопасности заквасок [58]

Вид закваски		КОЕ/г, не менее	Показатели безопасности
БЗ	Жидкие, в т.ч. криоконсервированные	$1 \cdot 10^8$	Патогенные микроорганизмы, в т.ч. <i>Salmonella spp.</i> - не допускаются в 25 г; <i>Listeria monocytogenes</i> - не допускается в 25 г; БГКП (колиформы) - не допускаются; <i>Staphylococcus aureus</i> - не допускается;

Вид закваски		КОЕ/г, не менее	Показатели безопасности
			дрожжи и плесневые грибы - в пределах норм, установленных регламентом; отсутствие токсинов
	Сухие	$1 \cdot 10^9$	Патогенные микроорганизмы, в т.ч. <i>Salmonella spp.</i> - не допускаются в 25 г; <i>Listeria monocytogenes</i> - не допускается в 25 г; БГКП (колиформы) - не допускаются; <i>Staphylococcus aureus</i> - не допускается; ограничение по содержанию дрожжей и плесеней; отсутствие токсинов
БК	Жидкие, в т.ч. криоконсервированные	$1 \cdot 10^{10}$	Патогенные микроорганизмы - не допускаются; <i>Salmonella spp.</i> - не допускаются в 25 г; <i>Listeria monocytogenes</i> - не допускается; БГКП - не допускаются; <i>Staphylococcus aureus</i> - не допускается; микотоксины и иные токсичные вещества - в пределах допустимых уровней
	Сухие	$1 \cdot 10^{10}$	Патогенные микроорганизмы - не допускаются; <i>Salmonella spp.</i> - не допускаются в 25 г; <i>Listeria monocytogenes</i> - не допускается; БГКП - не допускаются; <i>Staphylococcus aureus</i> - не допускается; содержание дрожжей и плесневых грибов - в пределах норм; отсутствие токсинов

В зависимости от числа видов микроорганизмов в составе выделяют моновидные, поливидные и симбиотические закваски. Моновидные содержат один вид (возможны различные штаммы), поливидные включают несколько видов, стимулирующих взаимное развитие и формирующих искусственный ценоз, тогда

как симбиотические объединяют естественные поливидовые сообщества микроорганизмов, усиливающих метаболическую активность друг друга [13].

Существенным критерием классификации является температурная адаптация культур. Мезофильные закваски включают микроорганизмы с интервалом жизнедеятельности 28-32 °С, термофильные – 35-45 °С, а термомезофильные системы объединяют культуры разных температурных групп [60]. Количественный и качественный состав закваски определяет направленность биохимических процессов и формирование вкусоароматического профиля продукта, что систематизировано в Таблице 1.4 [13, 59].

Таблица 1.4 - Основные виды заквасочных микроорганизмов с технологическими характеристиками и оптимальными условиями роста [13, 59].

Вид микроорганизма закваски	Характеристика	Оптимальная температура роста, °С	Оптимальная температура роста, °С
Мезофильные лактококки	Лактококки – основные производители молочной кислоты; формируют кислотность и участвуют в создании структуры сгустка	≈ 25-30 °С	Образование кислоты, базовая ферментация продуктов типа творога, простокваши, сметаны
Ароматообразующие лактококки	Возникают побочные ароматические соединения (диацетил, ацетоин), кроме молочной кислоты	≈ 25-30 °С	Формирование ароматического профиля, особенно «масляных» нот
Термофильный стрептококк ( <i>Streptococcus thermophilus</i> )	Термофильный стрептококк, активен при высоких температурах; участвует в йогуртной и термофильной ферментации	≈ 40-45 °С	Быстрое образование молочной кислоты, часто в симбиозе с <i>Lactobacillus</i> ; ключевой компонент заквасок для йогурта
Мезофильные молочнокислые палочки	Лактобациллы мезофильного типа, обеспечивают молочную кислоту и умеренные органолептические изменения	≈ 25-30 °С	Усиление молочнокислого брожения, вклад в структуру и вкус

Вид микроорганизма закваски	Характеристика	Оптимальная температура роста, °С	Оптимальная температура роста, °С
Термофильные молочнокислые палочки (в т.ч. <i>Lb. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> )	Производят молочную кислоту и ароматические соединения; активно работают при повышенных температурах	≈ 40-45 °С	Основной компонент термофильных заквасок; критичны для йогурта и некоторых простокваш
Бифидобактерии	Пробиотические организмы, способствуют функциональности продукта	≈ 37-41 °С	Пробиотические свойства, улучшение пищевой ценности
Пропионовокислые микроорганизмы	Образуют пропионовую кислоту, CO <sub>2</sub> , янтарную кислоту	≈ 30-37 °С	Формирование глазков и специфического вкуса в сырах, профилактика дефектов

В зависимости от целевого продукта бактериальные закваски и бактериальные концентраты подразделяются на композиции на основе лактококков для производства творога, сметаны и простокваши, сочетания термофильных стрептококков и лактококков, композиции термофильного стрептококка и болгарской палочки для йогурта, ряженки и простокваши, а также закваски смешанного молочнокислого и спиртового брожения для кефира и кумыса [62]. Создание стабильных отечественных заквасок для производства кисломолочных продуктов рассматривается как важная задача в контексте технологической независимости и сохранения культурных традиций [8, 33, 42-44, 53, 83].

### Заключение к литературному обзору

Проведенный анализ научных публикаций показывает, что сублимационная сушка является признанным и широко применяемым методом длительной консервации заквасочных культур, позволяющим обеспечить удобство хранения сухих препаратов и достаточно высокий уровень сохранения жизнеспособности микроорганизмов. Обобщение данных свидетельствует о необходимости научно

обоснованного выбора режимов применительно к конкретным культурам и условиям оборудования.

Особое значение имеет подбор режимов для *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus* в виде консорциума. Эти микроорганизмы различаются по чувствительности к замораживанию и термическим воздействиям, а их совместное функционирование в продукте зависит от сохранения соотношения численности и метаболической активности. Следовательно, условия предварительного замораживания и сублимационной сушки должны оцениваться с учетом не только общей выживаемости, но и последующей технологической активности культур.

Анализ литературы также показывает, что перенос лабораторных режимов на промышленное оборудование сопровождается изменением условий тепло- и массообмена, что требует расчетного сопровождения и экспериментальной проверки.

Наконец, практическая значимость совершенствования технологии сублимационной сушки определяется не только уровнем сохранения жизнеспособности клеток после обработки, но и подтверждением их функциональной активности при использовании в производстве кисломолочного продукта. Сравнительная оценка характеристик Мечниковской простокваши, выработанной с применением закваски, полученной по усовершенствованному режиму, и продукта на основе жидкой закваски позволяет установить технологическую состоятельность выбранных условий. Закрепление результатов в виде изменений к действующей технологической инструкции обеспечивает переход от экспериментальных данных к их практическому применению.

Таким образом, литературный анализ подтверждает необходимость комплексного исследования, направленного на экспериментальное обоснование режимов предварительного замораживания и параметров сублимационной сушки для термофильных молочнокислых культур, оценку влияния защитных сред, а также разработку подходов к масштабированию технологии с последующей проверкой ее эффективности в условиях промышленного производства.

## ГЛАВА 2. ОРГАНИЗАЦИЯ РАБОТЫ, ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 2.1. Организация работы

Экспериментальная часть работы выполнена в лаборатории прикладной микробиологии и геномики микроорганизмов Всероссийского научно-исследовательского института молочной промышленности (ФГАНУ «ВНИМИ»). Работа была организована последовательно и включала аналитический, экспериментальный и расчетный этапы. Схема проведения исследования представлена на Рисунке 2.1. На первом этапе был проведен анализ научно-технической литературы по вопросам сублимационной сушки заквасочных культур, режимов предварительного замораживания и сублимационной сушки, а также особенностей оборудования. На основе проведенного анализа были сформулированы цель и задачи исследования, определены объекты и обоснован выбор методов. На следующем этапе была подготовлена экспериментальная база: разработаны экспериментальный стенд и логгер, обеспечивающие контроль температурного режима и условий проведения замораживания и сублимационной сушки.

Экспериментальная часть исследования проводилась поэтапно. Вначале были подобраны рациональные протоколы предварительного замораживания с оценкой выживаемости культур после замораживания и последующей сушки. Далее были определены оптимальные значения вакуума и температуры греющей полки сублиматора. Дополнительно исследовали влияние криопротекторов на сохранность культур при ранее установленных технологических параметрах.

Расчетно-вычислительный этап работы, включающий математическое моделирование тепловых процессов предварительного замораживания и обоснование их масштабирования, выполнен на базе МГТУ им. Н.Э. Баумана.

Завершающим этапом стала опытно-промышленная апробация разработанных режимов и сравнительная оценка Мечниковской простокваши,

выработанной с использованием сублимированной закваски, и продукта на основе жидкой закваски.



Рисунок 2.1 - Общая схема проведения исследования

## 2.2 Объекты исследования

*Объектом исследования* являлся технологический процесс сублимационной сушки молочнокислых заквасочных культур, включая стадию предварительного замораживания.

В качестве биологической модели использовали чистые культуры *Streptococcus thermophilus* 159 и *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* ЛЗ7/7, а также их консорциум в массовом соотношении 4:1, применяемый при производстве Мечниковской простокваши. Культуры были предоставлены из коллекции лаборатории прикладной микробиологии и геномики микроорганизмов ФГАНУ «ВНИМИ».

*Предметом исследования* являлись закономерности влияния режимов предварительного замораживания и параметров сублимационной сушки на выживаемость и активность исследуемых культур.

## 2.3 Подготовка образцов

Подготовка образцов для проведения исследований включала последовательные этапы приготовления питательной среды, активации культур, наращивания биомассы и формирования экспериментальных серий для замораживания и последующей сублимационной сушки.

В качестве питательной среды использовалось восстановленное обезжиренное молоко, полученное путем растворения 100 г сухого обезжиренного молока по ГОСТ 33629-2015 (ЗАО «Гагаринконсервмолоко», Россия) в 1 л дистиллированной воды температурой  $(20 \pm 1)$  °С. Полученную смесь выдерживали в течение 20 мин при той же температуре для обеспечения полной гидратации сухих компонентов. Стерилизацию проводили в автоклаве NB-1100 (N-Biotek, Корея) при температуре 120 °С и давлении 0,15 МПа в течение 3 мин. После чего среду охлаждали до температуры  $(20 \pm 1)$  °С.

Активация лиофилизированных культур, полученных из биоресурсной коллекции ФГАНУ «ВНИМИ», проводилась путем их внесения в 100 мл

подготовленного стерильного обезжиренного молока с последующим тщательным перемешиванием и термостатированием в течение 16 часов до образования сгустка. Для *S. thermophilus* использовался температурный режим  $(37\pm 1)^\circ\text{C}$ , для *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* –  $(42\pm 1)^\circ\text{C}$ . Консорциум культур активировали по аналогичной схеме при температуре  $(42\pm 1)^\circ\text{C}$  с продолжительностью выдержки 8 часов.

Для получения образцов, предназначенных для подбора режимов предварительного замораживания и сублимационной сушки, в стерилизованное молоко вносили по 5% активированной культуры *Str. thermophilus*, *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* либо их консорциума в соотношении 4:1. Культивирование проводили при температуре  $(42\pm 2)^\circ\text{C}$  в течение 8 часов до образования плотного сгустка. Скваженную смесь охлаждали до температуры  $(20\pm 1)^\circ\text{C}$  и в условиях, близких к асептическим, разливали по 10 мл в стеклянные пробирки  $\text{Ø}25 \times 150$  мм. Пробирки предварительно стерилизовали суховоздушным методом в сушильном шкафу ФС-90 при температуре  $(160\pm 1)^\circ\text{C}$  в течение 2 часов.

Для исследований влияния защитных сред к зрелой заквасочной культуре добавляли предварительно стерилизованные (температура  $121^\circ\text{C}$ , давление 0,15 МПа, время 3 мин) и охлажденные растворы глицерина или желатозы в заданных концентрациях. Для равномерного распределения криопротектора пробирки помещали на лабораторный встряхиватель VD Lovena T22.

Замороженные образцы, предназначенные для определения численности молочнокислых микроорганизмов, подвергали контролируемому оттаиванию в холодильной камере при температуре  $(5\pm 1)^\circ\text{C}$  в течение 5 часов.

На этапе опытно-промышленной апробации подготовленные суспензии заквасочных культур разливали в поддоны объемом  $500\pm 50$  мл для последующей обработки в промышленной установке.

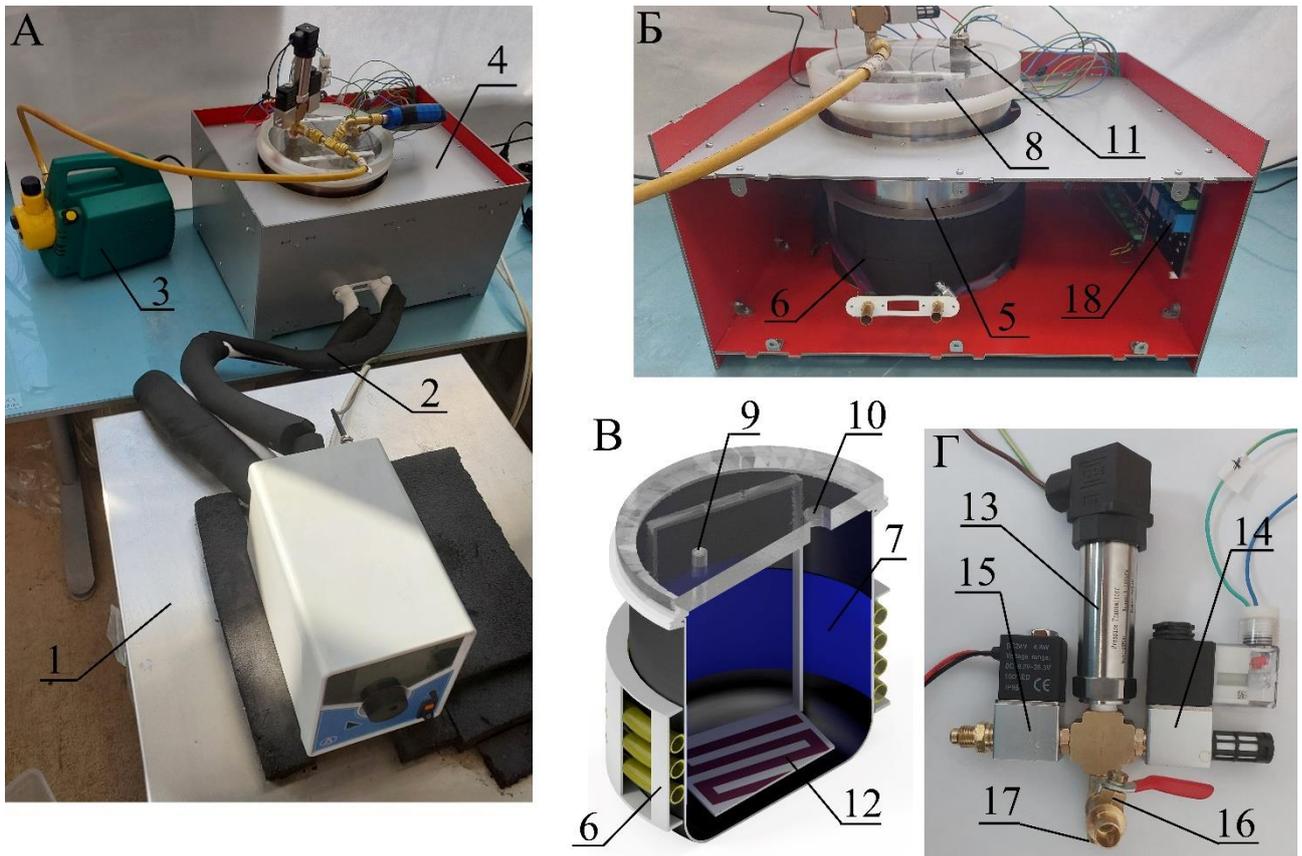
## 2.4 Лабораторный экспериментальный стенд

Для установления закономерностей влияния режимов предварительного замораживания и параметров сублимационной сушки на выживаемость молочнокислых культур требовалось обеспечить прямой контроль температурных условий в объеме высушиваемого продукта. Используемая в лаборатории установка FreeZone 4.5 Liter Benchtop Freeze Dry Systems (Labconco, США) позволяла проводить стандартные циклы сублимации, однако ее конструкция не предусматривала размещения температурных датчиков непосредственно в образце. Это ограничивало возможность непрерывной регистрации температуры продукта на стадиях замораживания и сушки и не позволяло получать данные, необходимые для анализа тепловых процессов.

С целью расширения экспериментальных возможностей был разработан и собран специализированный экспериментальный стенд, общий вид которого показан на Рисунке 2.2.

Стенд состоит из жидкостного низкотемпературного термостата КРИО-ВТ-05-02 (Термэкс, Россия) (1), теплоизолированных трубок ПВХ с внешним диаметром 12 мм и толщиной стенки 1 мм (2) для циркуляции охлаждающей жидкости, вакуумного насоса RZ 2.5 (Vacuubrand, Германия) (3), а также экспериментальной установки собственной конструкции (4), работающей на внешнем источнике холода и предназначенной для сушки образцов методом вымораживания.

Установка состоит из вакуумной камеры (5), в которой происходит процесс сублимации, пневматической магистрали и системы управления. Для удобства эксплуатации и транспортировки, установка собрана в жестком корпусе из композитного листа толщиной 3 мм. Общая конструкция показана на Рисунке 2.2Б, а разрез вакуумной камеры – на Рисунке 2.2В. К внешней боковой стенке вакуумной камеры диаметром 200 мм и высотой 215 мм плотно прилегает змеевик охлаждения (6), через который циркулирует этиловый спирт, охлажденный в термостате (1). В результате, на внутренней стороне вакуумной камеры образуется



*Примечание:* 1 – термостат, 2 – теплоизолированные трубки, 3 – вакуумный насос, 4 – экспериментальная установка, 5 – вакуумная камера, 6 – змеевик охлаждения, 7 – поверхность конденсации льда, 8 – крышка вакуумной камеры, 9 и 10 – отверстия с резьбой, 11 – электрический гермоввод, 12 – полка с подогревом для размещения образцов, 13 – вакуумметр, 14 и 15 – клапаны, 16 – разъем подключения вакуумного насоса, 17 – штуцер крепления к крышке вакуумной камеры, 18 – плата управления установкой.

Рисунок 2.2 – Экспериментальный стенд для сублимационной сушки: А – общий вид стенда; Б – внутреннее устройство созданной вакуумной сушильной установки; В – схема вакуумной камеры в разрезе; Г – пневматическое оборудование, размещенное на крышке вакуумной камеры

поверхность конденсации льда (7), условно показанная синим цветом на Рисунке 2.2В. В крышке вакуумной камеры (8), изготовленной из оргстекла, выполнены отверстия с резьбовым соединением G1/4 (9) и M22 (10) для установки элементов пневматической системы и электрического гермоввода РСГСП 32-В (AB0.364.047ТУ, СССР) (11) соответственно. Через гермоввод подключались электронные компоненты, расположенные внутри камеры. Высушиваемые образцы размещались на полке для образцов (12), при сушке образцов в пробирках на полку устанавливался держатель, изготовленный с помощью аддитивных технологий. Данный держатель обеспечивал хороший контакт полки с дном

пробирок и позволял разместить в сублимационной установке одновременно до 9 образцов. Подогрев образцов при сублимации осуществлялся за счет электронагревателя мощностью 6 Вт, расположенного на полке для образцов. Контроль температур полки, конденсатора и раствора обеспечивался датчиками сопротивления  $pt-100$ . Пневматическая система включает вакуумметр (13) с токовой петлей 4-20 мА (Huaibei Suxun Electronic, Китай) для регистрации абсолютного давления с рабочим диапазоном 0-1000 Па, два клапана 2V025-08 DC24V (CHLD Pneumatic, Китай) для сброса давления (14) и подключения дополнительного оборудования (15) (например, высокоточного датчика Пирани), разъем для подключения вакуумного насоса (16), а также штуцер (17) для установки пневматической системы в крышку вакуумной камеры.

Управление установкой осуществлялось по специально разработанному алгоритму (Рисунок 2.3), реализованному в коде на языке программирования C++, загруженному в микроконтроллер ESP32 (Espressif Systems, Китай). Код зарегистрирован как программа для ЭВМ (Свидетельство о регистрации № 2025662935, представленное в Приложении Б). Микроконтроллер смонтирован на специально изготовленной печатной плате (18), показанной на Рисунке 2.4, к которой также подключены клапаны, датчики температуры, вакуумметр и нагреватель полки для обеспечения физической связи компонентов установки с микроконтроллером. Особенностью созданной установки сублимации является отсутствие традиционных устройств ввода-вывода информации, таких как кнопки, дисплеи энкодеры и т.д. Мониторинг параметров и управление установкой осуществляется через Wi-Fi сеть, создаваемую микроконтроллером, и Web-интерфейс, показанный в Приложении Б.

Для подтверждения достоверности результатов сублимация образцов проводилась параллельно как на экспериментальном стенде, так и на серийном сублиматоре FreeZone 4.5 Liter Benchtop Freeze Dry Systems (Labconco, США). В ходе испытаний были получены эквивалентные результаты, что доказало корректность работы созданного стенда.



## **2.5 Методика проведения сублимации**

Методика проведения сублимационной сушки включала стадии предварительного замораживания образцов и последующей вакуумной сушки с контролем температурных и вакуумных параметров.

### **2.5.1 Предварительное замораживание образцов**

Замораживание лабораторных образцов проводилось при варьировании глубины и скорости охлаждения. Для регистрации температурной динамики перед началом процесса в каждый образец помещался датчик автономного логгера температуры, что обеспечивало непрерывный контроль изменения температуры внутри суспензии.

В ходе исследования варьировали как скорость охлаждения (высокая и низкая), так и целевую температуру замораживания. Температурный режим варьировался от минус 30 °С до минус 70 °С. Замораживание образцов при температуре минус 30 °С осуществлялось в морозильном ларе LGT 4725 (Liebherr, Швейцария), а при минус 70 °С – в пенопластовом термоконтейнере с сухим льдом.

Высокая скорость замораживания обеспечивалась за счет иммерсионного охлаждения образцов в емкости с охлажденным этиловым спиртом. Низкая же скорость замораживания достигалась за счет конвективного охлаждения образцов в морозильном оборудовании. Кроме того, для температуры минус 70 °С исследовался режим с закалкой, т.е. с промежуточным отогревом образца до температуры минус 20 °С, предложенный Seiler V. с соавторами в [129].

Замораживание образцов в промышленных условиях осуществлялось непосредственно в камере сублиматора TG-50 (Германия), при этом до замораживания в поддоны с образцами помещались температурные датчики pt-50.

### 2.5.2 Сублимационная сушка образцов

При проведении сублимационной сушки критически важным показателем являлось время нахождения суспензии при комнатной температуре и абсолютном давлении выше 500 Па. Увеличение продолжительности этого этапа может приводить к частичному обратному фазовому переходу и, как следствие, к вспениванию суспензии при последующем вакуумировании. С целью минимизации данного эффекта образцы лабораторных партий перемещались в камеру сублиматора только после достижения конденсатором целевой температуры минус 50 °С. Образцы размещались вертикально на подогреваемых полках сублиматора в специальном держателе, изготовленном с помощью аддитивных технологий из пластика PLA (eSun, Китай). Конструкция держателя обеспечивала прямой контакт дна пробирки с поверхностью полки сублиматора (Рисунок 2.5А).

Сразу после размещения образцов в камере и ее герметизации включался вакуумный насос. Такая последовательность операций минимизировала тепловое воздействие окружающей среды на исследуемые образцы и ограничивала время нахождения образцов при давлении выше тройной точки раствора значением не более 20 минут.

Сублимационную сушку лабораторных образцов проводили как на разработанном экспериментальном стенде, так и на серийной установке FreeZone 4.5 Liter Benchtop Freeze Dry Systems (Labconco, США) для подтверждения сопоставимости результатов и корректности работы экспериментальной установки.

В ходе подбора рациональных параметров варьировали температуру греющей полки и абсолютное давление в камере сублиматора. Продолжительность лабораторной сублимационной сушки образцов составляла 48 ч.

В промышленной установке ТГ-50 процесс отличался тем, что незамороженная суспензия размещалась непосредственно в поддонах внутри камеры сублиматора (Рисунок 2.5Б). Наличие охлаждаемых полок обеспечивало

полное замораживание объема суспензии и предотвращало вспенивание. При этом продолжительность сублимационной сушки в промышленном сублиматоре составляла 24 ч.



Рисунок 2.5 – Размещение образцов при сублимационной сушке: А – лабораторная установка (сублиматор Labconco); Б – промышленная установка (сублиматор ТГ-50)

По окончании процесса образцы извлекали из камеры сублиматора и направляли на исследования. В случае невозможности проведения анализа сразу по окончании сушки, образцы размещались на хранение в морозильном ларе при температуре минус 30 °С.

## 2.6 Численное моделирование

В исследовании был использован программный комплекс численного моделирования CFX 2020R1 (ANSYS, США), предназначенный для решения задач вычислительной гидродинамики и теплопроводности методом конечных элементов.

Алгоритм моделирования включал последовательные этапы:

- 1) Определение цели расчета;
- 2) Подготовка CAD-модели расчетной области в программном комплексе Inventor 2017 (Autodesk, США), учитывающей граничные условия, приемлемые допущения и упрощения геометрии;
- 3) Создание расчетной сетки путем разбиения CAD-модели на малые объемы с помощью встроенного в ANSYS комплекса Mesher;
- 4) Настройка параметров решателя с учетом оптимизации времени, затрачиваемого вычислительной станцией на расчет;
- 5) Проведение вычислений;
- 6) Анализ хода вычисления и полученных результатов;
- 7) Выводы по результатам вычислительного эксперимента.

Вычисления осуществлялись с помощью стандартных уравнений 2.1 и 2.3 – 2.9, включенных в математический аппарат ANSYS.

При моделировании тепловых полей в замораживаемом растворе использовалось уравнение теплопроводности:

$$\rho C_p \frac{\partial T}{\partial t} = \frac{\partial}{\partial x} \left( k \frac{\partial T}{\partial x} \right) + \frac{\partial}{\partial y} \left( k \frac{\partial T}{\partial y} \right) + \frac{\partial}{\partial z} \left( k \frac{\partial T}{\partial z} \right), \quad (2.1)$$

где,  $\rho$  – плотность ( $\text{кг м}^{-3}$ ),  $C_p$  – теплоемкость ( $\text{Дж кг}^{-1} \text{К}^{-1}$ ),  $T$  – температура (К),  $t$  – время (с),  $x, y, z$  – пространственные координаты (м),  $k$  – теплопроводность ( $\text{Вт} \cdot \text{м}^{-1} \cdot \text{К}^{-1}$ ).

Моделирование конвективного теплообмена осуществлялось в зависимости от давления окружающей среды. Расчет конвективной составляющей в вакуумной камере осуществлялся исходя из характера течения разреженной среды, определяемого критерием подобия движения разреженных газов Кнудсена (число Кнудсена ( $Kn$ )) и определяемого по уравнению 2.2.

$$Kn = \frac{\lambda}{L}, \quad (2.2)$$

где,  $\lambda$  – длина свободного пробега молекулы,  $L$  – характерный размер течения.

Принимая во внимание, что в существующих сублиматорах абсолютное давление при работе находится в диапазоне от 1 до 100 Па, то соответствующие

данному диапазону давлений значения числа Кнудсена находятся в интервале от 0,01 до 1. По существующей классификации течений данному диапазону критерия Кнудсена соответствует режим переходного течения. При данном режиме сохраняется сплошность среды, однако отсутствует условие прилипания, характерное для классического аэродинамического течения [16, 119]. Таким образом, математическая модель, описывающая теплофизические процессы при конвективном теплообмене, состояла из следующих уравнений вне зависимости от давления среды [89]:

Уравнение неразрывности:

$$\frac{\partial u_x}{\partial x} + \frac{\partial u_y}{\partial y} + \frac{\partial u_z}{\partial z} = 0 \quad (2.3)$$

Уравнения Навье-Стокса:

$$\frac{\partial u_x}{\partial t} + u_x \frac{\partial u_x}{\partial x} + u_y \frac{\partial u_x}{\partial y} + u_z \frac{\partial u_x}{\partial z} = -\frac{1}{\rho} \frac{\partial P}{\partial x} + \nu \left( \frac{\partial^2 u_x}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 u_x}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 u_x}{\partial z^2} \right) \quad (2.4)$$

$$\frac{\partial u_y}{\partial t} + u_x \frac{\partial u_y}{\partial x} + u_y \frac{\partial u_y}{\partial y} + u_z \frac{\partial u_y}{\partial z} = -\frac{1}{\rho} \frac{\partial P}{\partial y} + \nu \left( \frac{\partial^2 u_y}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 u_y}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 u_y}{\partial z^2} \right) + g_y \quad (2.5)$$

$$\frac{\partial u_z}{\partial t} + u_x \frac{\partial u_z}{\partial x} + u_y \frac{\partial u_z}{\partial y} + u_z \frac{\partial u_z}{\partial z} = -\frac{1}{\rho} \frac{\partial P}{\partial z} + \nu \left( \frac{\partial^2 u_z}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 u_z}{\partial y^2} + \frac{\partial^2 u_z}{\partial z^2} \right) \quad (2.6)$$

где,  $u$  – скорость текучей среды ( $\text{м с}^{-1}$ ),  $g_y$  – ускорение свободного падения ( $\text{м с}^{-2}$ ).

Уравнение энергии для текучей среды:

$$\rho_f C_{p,f} \left( \frac{\partial T_f}{\partial t} + u_x \frac{\partial T_f}{\partial x} + u_y \frac{\partial T_f}{\partial y} + u_z \frac{\partial T_f}{\partial z} \right) = \frac{\partial}{\partial x} \left( k_f \frac{\partial T_f}{\partial x} \right) + \frac{\partial}{\partial y} \left( k_f \frac{\partial T_f}{\partial y} \right) + \frac{\partial}{\partial z} \left( k_f \frac{\partial T_f}{\partial z} \right) \quad (2.7)$$

где, индекс  $f$  относится к свойствам текучей среды.

При этом, при моделировании конвективного теплообмена в камере сублиматора использовалось условие проскальзывания газа на поверхности контакта среды и охлаждаемого объекта (2.8), а при моделировании конвективного теплообмена при атмосферном давлении использовалось условие прилипания газа к поверхности объекта (2.9).

$$u_{bond}(x, y, z, t) \neq 0 \quad (2.8)$$

$$u_{bond}(x, y, z, t) = 0 \quad (2.9)$$

где,  $bond$  – граница между твердой и текучей средой.

Данные уравнения решались для каждого контрольного объема расчетной области, образуя систему уравнений, которая не может быть решена аналитически. Решение уравнений осуществлялось итерационным методом (методом последовательных приближений). Все вычисления производились с двойной точностью в настройках решателя. Такой подход требует значительных вычислительных мощностей, в связи с чем приведенные в Главе 4 расчеты были выполнены на рабочей станции с двумя процессорами Intel Xeon Gold 6246 3,3 ГГц и 256 ГБ оперативной памяти.

## **2.7 Методы исследований**

При выполнении работы применялись стандартизованные, общеизвестные и оригинальные методы исследований, принятые в пищевой промышленности и широко применяемые в научных исследованиях при контроле физико-химических, микробиологических и органолептических показателей кисломолочных продуктов и компонентов для их производств.

### **2.7.1 Стандартизованные методы исследования**

Отбор проб и подготовку их к анализам проводили в соответствии с ГОСТ 26809.1-2014 и ГОСТ 32901-2014.

Определение *количества молочнокислых бактерий* осуществляли методом посева в стерильное молоко с последующим подсчетом наиболее вероятного числа (НВЧ) в соответствии с ГОСТ 33951-2016. Для этого готовили серию последовательных десятикратных разведений. Первое разведение жидких (контрольных) и замороженных образцов получали путем внесения 1 мл исследуемого образца в стерильный раствор хлористого натрия. Для сухих образцов навеску массой 1 г отбирали стерильным шпателем и суспендировали в растворе хлористого натрия. Первые пять разведений выполняли только в физрастворе, начиная с шестого параллельно готовили как в физрастворе, так и в стерильном обезжиренном молоке. Пробирки с молоком помещали в воздушный

термостат и выдерживали в течение 72 часов при температуре  $(42 \pm 1)$  °С в аэробных условиях. Учет результатов проводили по количеству пробирок с признаками роста с последующим определением НВЧ и пересчетом в колониеобразующие единицы на грамм (КОЕ/г).

*Микроскопические исследования заквасочной микрофлоры* проводили по ГОСТ 32901-2014 с использованием микроскопа ВХ50 (Olympus, Япония) при общем увеличении  $\times 1000$ . Препараты предварительно окрашивали метиленовым голубым. Идентификация культур основывалась на морфометрической дифференциации: осуществлялся подсчет крупных клеток *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* и мелких клеток *S. thermophilus* в 10 полях зрения микроскопа.

*Определение микробиологической безопасности.* Бактерии группы кишечной палочки (БГКП) определялись на жидкой среде Кесслера по ГОСТ 32901-2014, патогенные микроорганизмы, включая *Salmonella spp.*, определялись по ГОСТ 31659-2012, *S. aureus* – по ГОСТ 30347-2016. Количество дрожжей и плесневых грибов определялось по ГОСТ 33566-2015 на среде Сабуро.

Физико-химические показатели также определялись в соответствии с действующими стандартами. *Массовая доля влаги* в сухих заквасках устанавливалась гравиметрическим методом по ГОСТ 29246-91 при сушке до постоянной массы в сушильном шкафу ES-4610 («Экрос», Россия) при температуре 130 °С. *Массовая доля жира* в Мечниковской простокваше определялась кислотным методом по ГОСТ 5867-2023. *Массовая доля белка* устанавливалась методом измерения общего азота по Кьельдалю с использованием анализатора белка Kjelttec-2400 Auto Analyzer («Foss Electric», Дания) с пересчетом по ГОСТ 34454-2018. *Титруемая кислотность* определялась с применением индикатора фенолфталеина по ГОСТ 3624-92 с коэффициентом пересчета 10. *Активная кислотность* измерялась потенциометрическим методом с использованием рН-метра inoLab pH/Cond Level 1 (Wissenschaftlich - Technische Werkstätten GmbH (WTW), Германия) с комбинированным стеклянным электродом WTW SenTix 81 в соответствии с ГОСТ 32892-2014.

Для определения *органолептических показателей* пробоподготовку осуществляли в соответствии с ГОСТ Р ИСО 22935-2-2011. Оценку органолептических показателей проводили по ГОСТ ISO 4121-2016 по однополярной интервальной числовой шкале от 0 до 5 баллов методом условного профилирования. Определение вкуса и запаха закваски проводили после ее вторичной пересадки.

### 2.7.2 Общеизвестные методы исследования

Оценку сохранности молочнокислых микроорганизмов проводили по показателю *выживаемости*, определяемому как отношение численности жизнеспособных клеток после соответствующего этапа обработки (замораживания или сублимационной сушки) к их исходной численности до обработки. В качестве исходного значения принимали численность микроорганизмов в контрольном образце, не подвергавшемся исследуемому воздействию. Процент выживаемости рассчитывали по формуле (2.10):

$$\text{Выж. (\%)} = \frac{N_0 \text{ [КОЕ/г]}}{N \text{ [КОЕ/г]}} * 100\% \quad (2.10)$$

где  $N_0$  – исходная численность жизнеспособных микроорганизмов в контрольном образце, КОЕ/г;  $N$  – численность жизнеспособных микроорганизмов в образце после обработки, КОЕ/г; Выж. – выживаемость, %.

Дополнительно для характеристики степени снижения численности жизнеспособных клеток и обеспечения корректного сопоставления результатов при различных режимах предварительного замораживания и параметрах сублимационной сушки использовали логарифмическую меру снижения (log reduction, LR) рассчитываемую по формуле (2.11)

$$LR = \lg(N_0) - \lg(N) \quad (2.11)$$

Определение *времени сквашивания* проводилось по длительности образования плотного сгустка после внесения 3 мл активированной закваски в 100 мл стерилизованного молока. *Время восстановления сухой закваски* устанавливали по интервалу от внесения навески сухой закваски (0,2 г) в молоко (100 мл) до

образования сгустка при термостатировании при  $(43\pm 1)$  °С. *Активность закваски*, выражается числом часов, необходимым для свертывания молока при внесении 3 % восстановленной закваски при термостатировании с температурой  $(42\pm 1)$  °С.

*Обработка экспериментальных данных* выполнялась методами математической статистики. Исследования проводили в трех-пяти повторностях, результаты представлены в виде средних значений. Для статистической обработки и визуализации данных использовались программные пакеты Excel 2003 (Microsoft, США) и Origin 2018 (OriginLab Corporation, США).

### 2.7.3 Оригинальные методы исследования

Для проведения *теплофизического анализа процесса* замораживания использовался автономный логгер температуры собственной сборки (Рисунок 2.6). Устройство включает микроконтроллер ESP8266 (Espressif Systems, Китай), аналого-цифровой преобразователь и температурный датчик pt-100 класса А, подключенный по двухпроводной схеме. Логгер был оснащен аккумуляторной батареей и имел встроенный модуль Wi-Fi для передачи данных. Для обеспечения работы устройства была разработана программа ЭВМ (Свидетельство о регистрации № 2024667794 – Приложение А), обеспечивающая регистрацию, хранение и передачу температурных данных. Датчик и логгер были верифицированы путем сравнения показаний с показаниями эталонного измерителя температуры ТЦЭ-005/М2 (Элемер, Россия). Для минимизации влияния конвективных потоков сопоставление выполняли в жидкой среде: при отрицательных температурах – в этиловом спирте, при положительных – в воде. Погрешность измерений относительно эталонного температурного датчика составила не более 1 °С в диапазоне температур от минус 196 до 100 °С.

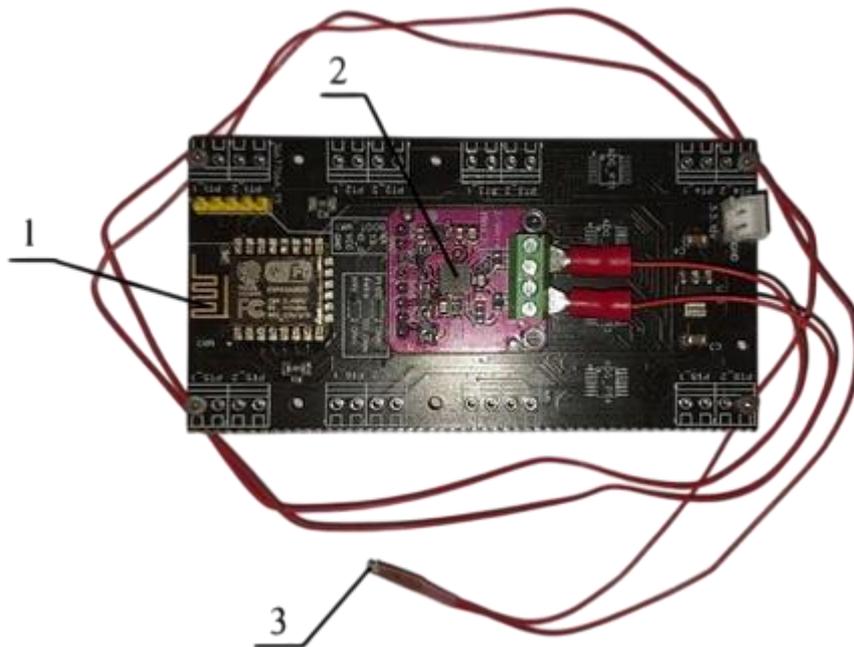


Рисунок 2.6 - Автономный логгер температуры: 1 – микроконтроллер с памятью для хранения данных и протоколом WiFi для обмена информацией с внешними устройствами, 2 - аналого-цифровой преобразователь, 3 - датчик pt-100.

### **ГЛАВА 3. ВЛИЯНИЕ РЕЖИМОВ ЗАМОРАЖИВАНИЯ, СУБЛИМАЦИОННОЙ СУШКИ И ЗАЩИТНЫХ СРЕД НА ВЫЖИВАЕМОСТЬ МОЛОЧНОКИСЛЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ**

Сохранение жизнеспособности молочнокислых микроорганизмов в процессе замораживания и последующей сублимационной сушки является необходимым условием получения высококачественных заквасочных препаратов, используемых в молочной промышленности. Численность жизнеспособных клеток после обработки рассматривается как количественный показатель степени сохранности культуры. На этот показатель влияют режимы замораживания, параметры сублимационной сушки (температура полки и давление в камере), а также состав защитной среды [57, 58, 105, 136].

В данной главе представлены результаты экспериментального исследования влияния указанных факторов на выживаемость *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* и их консорциума. Выполнено сравнение различных протоколов предварительного замораживания, определены рациональные значения температуры полки и диапазона давления в камере сублиматора, а также оценено влияние пищевых криопротекторов.

#### **3.1. Влияние протокола предварительного замораживания на выживаемость культур**

Для определения влияния режимов предварительного замораживания на сохранность молочнокислых микроорганизмов были разработаны экспериментальные протоколы, приведенные в Таблице 3.1. В рамках исследования варьировали целевую температуру замораживания (минус 30 °С, минус 50 °С и минус 70 °С), а также способ охлаждения, обеспечивающий различную скорость снижения температуры образца. Быстрое охлаждение осуществляли путем иммерсионного погружения пробирок в охлажденный этиловый спирт, медленное – при конвективном охлаждении в морозильном ларе.

Отдельно был исследован протокол с промежуточной закалкой при температуре минус 20 °С с последующим повторным охлаждением до минус 70 °С, предложенный Seiler V. и соавторами [129].

Таблица 3.1 – Протоколы замораживания образцов

№ протокола	Описание протокола		
	Температура замораживания, °С	Медленное охлаждение	Быстрое охлаждение
1	Минус 30	✓	
2	Минус 30		✓
3	Минус 50	✓	
4	Минус 50		✓
5	Минус 70	✓	
6	Минус 70		✓
7	Минус 70, закалка при минус 20, затем минус 70 °С,	✓	

Как видно из Рисунка 3.1, использование конвективного охлаждения при минус 30 °С (протокол № 1) сопровождалось наиболее длительным процессом замораживания – свыше 3 часов. Снижение температуры в ларе до минус 50 °С (протокол № 3) и минус 70 °С (протоколы № 5 и № 7) существенно сокращало продолжительность замораживания. Применение иммерсионного охлаждения (Рисунок 3.2) при минус 30 °С (протокол № 2) уменьшало время замораживания более чем в 40 раз по сравнению с конвективным при той же температуре. Эффективность иммерсионного охлаждения по сравнению с конвективным снижалась при уменьшении целевой температуры: при минус 50 °С протокол № 4 превосходил № 3 по скорости примерно в 9 раз, а при минус 70 °С (протоколы № 5 и № 6) – лишь в 3 раза. Пересечение кинетических кривых на Рисунке 3.2 (протокол № 4 с протоколами № 2 и № 6) объясняется различием в способах иммерсионного охлаждения: в протоколе № 4 оно проводилось непосредственно в криостате, тогда как в протоколах № 2 и № 6 – путем погружения в спирт, предварительно охлажденный в морозильном ларе. Это связано с технической невозможностью достижения температуры минус 50 °С в используемых ларях. Однако указанные

различия не оказали значимого влияния на результаты оценки выживаемости культур.

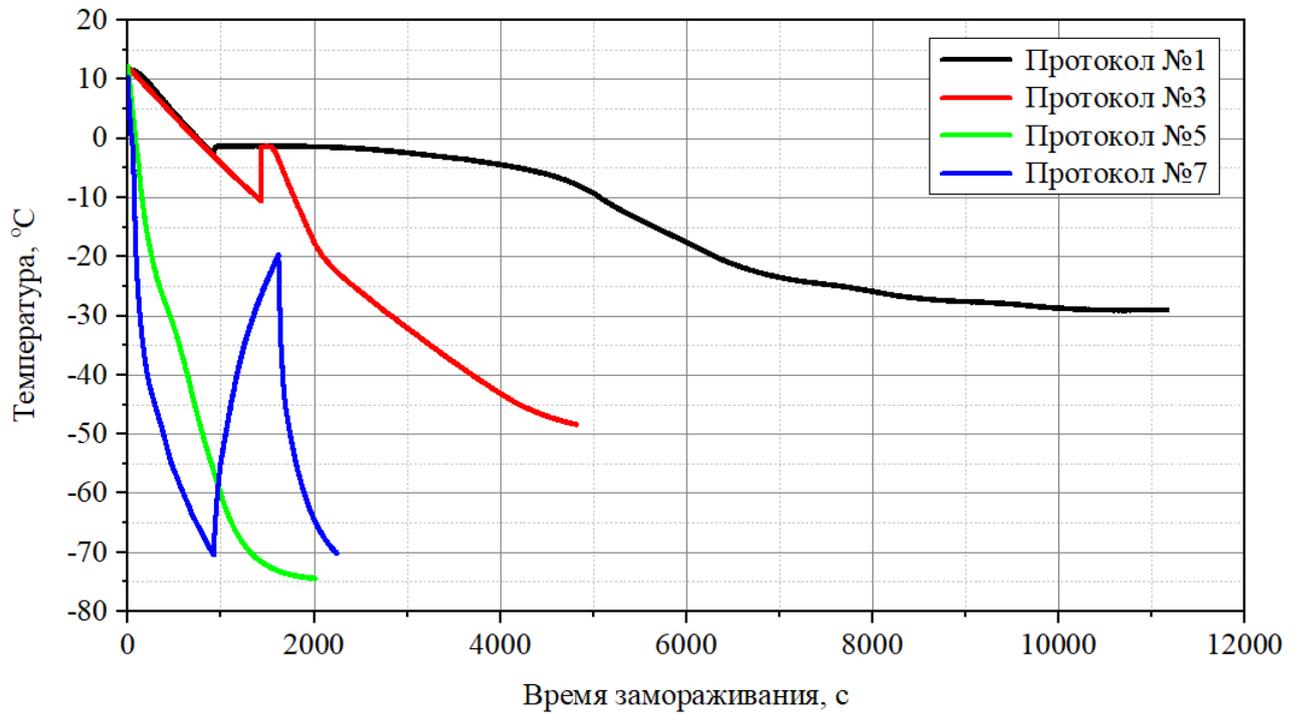


Рисунок 3.1 – Динамика изменения температуры при низкой скорости замораживания (протоколы № 1, 3, 5, 7)

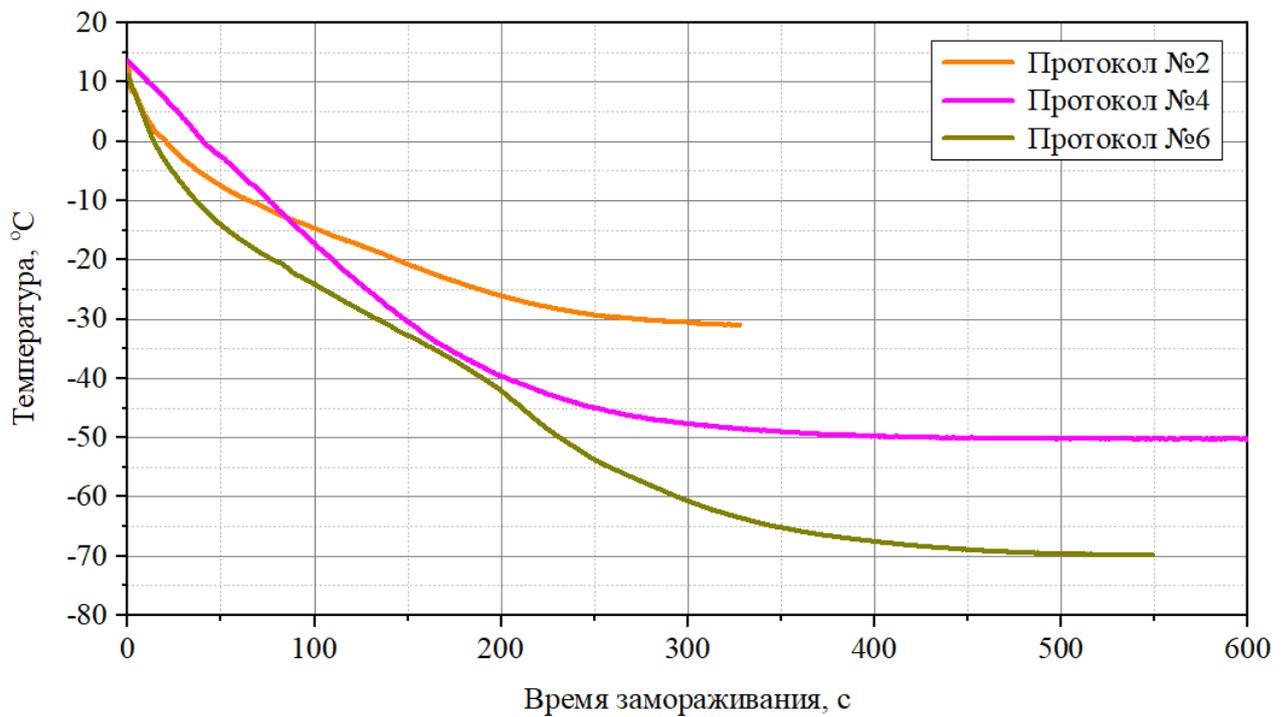


Рисунок 3.2 – Динамика изменения температуры при высокой скорости замораживания (протоколы № 2, 4, 6)

Кривые температур демонстрируют, что протоколы № 2, 4, 6 обеспечивали высокие скорости охлаждения (7,7-9,6 °С/мин), в то время как медленные протоколы (№ 1, 3) характеризовались скоростями 0,2-0,8 °С/мин. Средние скорости по всему процессу замораживания приведены в Таблице 3.2. Особый режим закалки характеризовался двумя циклами замораживания и промежуточным отогревом, что делает его непрямо сопоставимым с остальными.

Таблица 3.2 – Средняя скорость изменения температуры образцов при различных протоколах замораживания

№ протокола	Скорость изменения температуры образца, °С/мин
1	0,2
2	7,7
3	0,8
4	9,0
5	2,5
6	9,6
7	Замораживание 2,9; отогрев 3,3; замораживание 2,9

Для оценки влияния режимов замораживания из каждой серии образцов после размораживания производились посеvy на питательные среды с последующим подсчетом КОЕ/г. На основании полученных данных рассчитывали процентную выживаемость относительно контрольного образца до замораживания, а также логарифмическое снижение численности (LR).

Из данных видно, что динамика выживаемости зависела как от температуры, так и от скорости охлаждения и отличалась для разных культур.

Анализ результатов для *S. thermophilus* (Таблица 3.3) показал, что снижение выживаемости происходило как на этапе замораживания, так и при последующей сушке. При целевой температуре минус 30 °С после замораживания сохранялось около 35,7 % клеток (LR=0,45), а итоговая выживаемость после сушки – примерно 15,7 % при общем логарифмическом снижении 0,8 (протоколы № 1 и № 2). Различий между медленным и быстрым охлаждением при минус 30 °С не отмечено,

что указывает на отсутствие выраженного влияния скорости охлаждения при данной температуре.

Таблица 3.3 – Количество *Str.thermophilus* (КОЕ/г) и процент выживаемости (контроль =  $7,0 \cdot 10^9$  КОЕ/г) при различных протоколах замораживания и сушки

№ протокола	После замораживания		После сублимации		Выж. общая (%) / LR общий
	Количество (КОЕ/г)	Выж. (%) / LR	Количество (КОЕ/г)	Выж. (%) / LR	
1	$2,5 \cdot 10^9$	35,7 / 0,45	$1,1 \cdot 10^9$	44,0 / 0,36	15,7 / 0,8
2	$2,5 \cdot 10^9$	35,7 / 0,45	$1,1 \cdot 10^9$	44,0 / 0,36	15,7 / 0,8
3	$2,5 \cdot 10^9$	35,7 / 0,45	$1,1 \cdot 10^9$	44,0 / 0,36	15,7 / 0,8
4	$2,5 \cdot 10^9$	35,7 / 0,45	$1,1 \cdot 10^9$	44,0 / 0,36	15,7 / 0,8
5	$2,5 \cdot 10^9$	35,7 / 0,45	$1,1 \cdot 10^9$	44,0 / 0,36	15,7 / 0,8
6	$7,0 \cdot 10^8$	10,0 / 1,0	$2,5 \cdot 10^8$	35,7 / 0,45	3,6 / 1,45
7	$2,5 \cdot 10^9$	35,7 / 0,45	$1,1 \cdot 10^9$	44,0 / 0,36	15,7 / 0,8

При снижении температуры замораживания до минус 50 °С (протоколы № 3-4) значения выживаемости и LR оставались сопоставимыми с режимом минус 30 °С. Однако при минус 70 °С отмечено увеличение степени инактивации. Так, при быстром охлаждении (протокол № 6) LR после замораживания составил 1,0, а общий LR после сушки – 1,45, что соответствует итоговой выживаемости 3,6 %. Таким образом, понижение конечной температуры сопровождалось дополнительным снижением численности жизнеспособных клеток. При этом следует отметить, что основное снижение для *S. thermophilus* происходило уже на этапе замораживания, тогда как вклад стадии сублимационной сушки был менее выраженным.

Для *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Таблица 3.4) характерна более выраженная чувствительность к понижению температуры. При медленном замораживании до минус 30 °С (протокол № 1) потери на стадии замораживания отсутствовали, однако после сублимационной сушки общий LR составил 0,8, что соответствует итоговой выживаемости 15,7 %. При увеличении скорости охлаждения (протокол № 2) и дальнейшем понижении температуры (протоколы № 3-6) наблюдалось последовательное уменьшение выживаемости и рост логарифмического снижения. Так, при минус 50 °С общий LR достигал 1,0, а при

минус 70 °С – 2,0-2,07, что соответствует итоговой выживаемости около 1 %. При замораживании до минус 70 °С выживаемость после стадии замораживания не превышала 3,6 % (LR = 1,45), а после сублимационной сушки снижалась до 1 % при общем LR около 2,0. Дополнительное включение стадии закалки (протокол № 7) не привело к уменьшению общего LR по сравнению с одностадийным замораживанием до минус 70 °С. Сопоставление полученных результатов с данными Sun Zihan и соавт. [37] показывает, что при замораживании до минус 70 °С в настоящем исследовании выживаемость не превышала 1 %, тогда как в литературных данных сообщается о 13 % при использовании жидкого азота без криопротекторов. Вероятной причиной расхождения являются штаммовые различия: в настоящем исследовании использован штамм Л37/7, тогда как в работе [37] – NCS3. Кроме того, для *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* существенные потери фиксировались не только на этапе замораживания, но и при последующей сублимации.

Таблица 3.4 – Количество *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (КОЕ/г) и процент выживаемости (контроль =  $7,0 \cdot 10^8$  КОЕ/г) при разных протоколах замораживания и сушки

№ протокола	После замораживания		После сублимации		Выж. общая (%) / LR общий
	Количество (КОЕ/г)	Выж. (%) / LR	Количество (КОЕ/г)	Выж. (%) / LR	
1	$7,0 \cdot 10^8$	100,0 / 0,0	$1,1 \cdot 10^8$	15,7 / 0,8	15,7 / 0,8
2	$2,5 \cdot 10^8$	35,7 / 0,45	$1,1 \cdot 10^8$	44,0 / 0,36	15,7 / 0,8
3	$2,5 \cdot 10^8$	35,7 / 0,45	$1,1 \cdot 10^8$	44,0 / 0,36	15,7 / 0,8
4	$2,5 \cdot 10^8$	35,7 / 0,45	$7,0 \cdot 10^7$	28,0 / 0,55	10,0 / 1,0
5	$2,5 \cdot 10^7$	3,6 / 1,45	$7,0 \cdot 10^6$	28,0 / 0,55	1,0 / 2,0
6	$2,5 \cdot 10^7$	3,6 / 1,45	$6,0 \cdot 10^6$	24,0 / 0,62	0,9 / 2,07
7	$2,5 \cdot 10^7$	3,6 / 1,45	$7,0 \cdot 10^6$	28,0 / 0,55	1,0 / 2,0

Анализ консорциума культур (Таблица 3.5) показал более высокую устойчивость по сравнению с монокультурами при умеренных режимах охлаждения. При температуре минус 30 °С (протоколы № 1 и 2) после замораживания сохранялось около 71,4 % клеток, общий LR составлял 0,15, а

последующая сублимация не вызывала заметного снижения их количества. Итоговая выживаемость достигала 71,4 % от контрольного уровня ( $7,0 \cdot 10^9$  КОЕ/г). Таким образом, при данной температуре стадия сублимационной сушки не являлась лимитирующим фактором сохранности консорциума.

Таблица 3.5 – Количество микроорганизмов консорциума (КОЕ/г) и процент выживаемости относительно контрольного образца консорциума (контроль =  $7,0 \cdot 10^9$  КОЕ/г)

№ протокола	После замораживания		После сублимации		Выж. общая (%) / LR общий
	Количество (КОЕ/г)	Выж. (%) / LR	Количество (КОЕ/г)	Выж. (%) / LR	
1	$5,0 \cdot 10^9$	71,4 / 0,15	$5,0 \cdot 10^9$	100,0 / 0,0	71,4 / 0,15
2	$5,0 \cdot 10^9$	71,4 / 0,15	$5,0 \cdot 10^9$	100,0 / 0,0	71,4 / 0,15
3	$2,5 \cdot 10^9$	35,7 / 0,45	$2,5 \cdot 10^9$	100,0 / 0,0	35,7 / 0,45
4	$2,5 \cdot 10^9$	35,7 / 0,45	$7,0 \cdot 10^8$	28,0 / 0,55	10,0 / 1,0
5	$1,1 \cdot 10^9$	15,7 / 0,8	$7,0 \cdot 10^8$	63,6 / 0,2	10,0 / 1,0
6	$5,0 \cdot 10^8$	7,1 / 1,15	$5,0 \cdot 10^8$	100,0 / 0,0	7,1 / 1,15
7	$5,0 \cdot 10^8$	7,1 / 1,15	$5,0 \cdot 10^8$	100,0 / 0,0	7,1 / 1,15

С понижением температуры до минус 50 °С общий LR увеличивался до 0,45-1,0, а при минус 70 °С и режиме закалки – до 1,15, что соответствовало снижению выживаемости до 7,1 %. При экстремальном охлаждении различия между консорциумом и отдельными культурами уменьшались, что отражалось в сближении значений LR.

Сравнение всех протоколов показывает, что снижение целевой температуры замораживания не способствует повышению выживаемости культур. Наибольшая сохранность наблюдалась при температуре минус 30 °С независимо от скорости охлаждения. Влияние скорости охлаждения проявлялось преимущественно при более низких температурах. Режим закалки не обеспечил уменьшения логарифмического снижения по сравнению с одностадийным замораживанием.

Консорциум проявил более высокую устойчивость по сравнению с отдельными культурами при умеренных температурных режимах, что

подтверждается более низкими значениями общего LR и более высокими показателями процентной выживаемости.

Таким образом, как процентные показатели выживаемости, так и значения LR свидетельствуют о том, что наиболее благоприятным режимом предварительного замораживания для исследованных молочнокислых культур является температура минус 30 °С. Дальнейшее понижение температуры до минус 50 °С и минус 70 °С сопровождается увеличением логарифмического снижения численности и дополнительными потерями жизнеспособных клеток.

### **3.2. Влияние параметров сублимации на выживаемость молочнокислых культур**

Ключевыми технологическими параметрами процесса сублимационной сушки, определяющими его эффективность и конечное качество продукта, являются температура подвода тепла и давление в сублимационной камере. Подвод теплоты к высушиваемому раствору осуществляется преимущественно за счет конвекции и теплопроводности от полки-испарителя, поскольку в условиях вакуума вклад конвективного теплообмена минимален, а использование лучистого теплообмена в молочной промышленности для сохранения заквасочных культур не распространено.

#### **Оценка кинетики сублимации на модельной системе**

Для установления оптимального режима подвода теплоты исследовался процесс сублимации при различных температурах полки сублиматора: 5, 20, 40, 60 °С, а также в режиме с отключенным обогревом. Выбор температур объясняется тем, что диапазон от минус 10 до 20 °С наиболее часто встречается в описанных протоколах (Таблица 1.4). В данном диапазоне выбраны 3 характерных режима – отключенный обогрев (0 °С), 5 и 20 °С. Температура 40 и 60 °С были добавлены для оценки поведения закваски при нагреве выше температуры 20 °С.

Поскольку визуальный контроль скорости сушки биологических объектов затруднен в связи с отсутствием выраженных внешних изменений, для оценки кинетики процесса в качестве модели была выбрана дистиллированная вода, налитая в стеклянный лабораторный стакан объемом 400 мл и замороженная по Протоколу № 1. В объёме льда размещался температурный датчик. Следует отметить, что данная модель обеспечила хороший визуальный контроль процесса и позволила оценить скорость сублимации визуально.

Кинетические кривые сушки представлены на Рисунке 3.3. Анализ кривых показывает четко выраженные этапы процесса: начальный прогрев, собственно сублимация (плато на кривой, соответствующее постоянной температуре фазового перехода) и прогрев высушенного слоя. В период плато температура образца во всех режимах удерживалась в диапазоне минус 35- минус 45 °С, что соответствует стадии активной сублимации льда. Окончание первичной сушки фиксировалось по резкому росту температуры образца: при температуре полки 20 °С данный переход наблюдался приблизительно через 7-8 ч, при 5 °С – через 11-12 ч, а при отключенной полке – через 15–16 ч. Таким образом, повышение температуры полки с 5 °С до 20 °С сокращает продолжительность первичной сушки примерно в 1,5-2 раза.

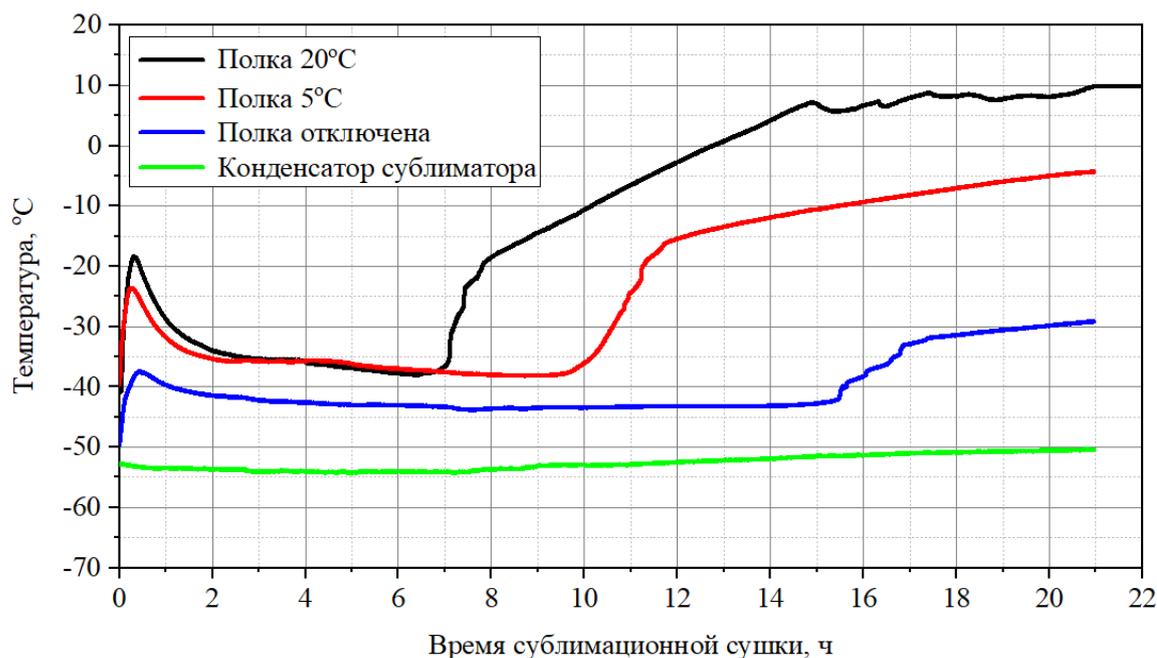
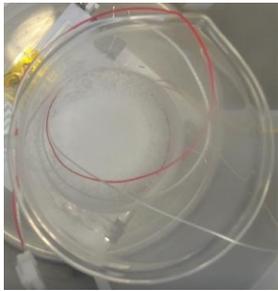
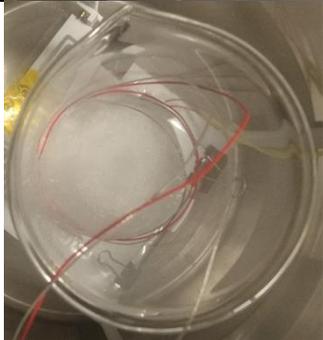


Рисунок 3.3 – Зависимость температуры образца от времени сублимации при разных температурах полки

Визуальная динамика снижения объема льда в емкости (Таблица 3.6) согласуется с температурными кривыми. Уже через 12 часов при 20 °С наблюдалось значительно более выраженное уменьшение объема льда по сравнению с режимами 5 °С и отключенной полки, а к 24 часам процесс был практически завершен. При 5 °С сохранялся остаточный объем льда, тогда как при отсутствии подогрева значительная часть замороженного материала оставалась несублимированной.

Таблица 3.6 – Визуальное снижение объема льда в стеклянной емкости

Время сушки, ч	Полка выключена	$t_{\text{полки}} = 5 \text{ }^{\circ}\text{C}$	$t_{\text{полки}} = 20 \text{ }^{\circ}\text{C}$
0			
12			
24			

Следует отметить, что повышение температуры полки не сопровождалось увеличением температуры образца в период активной сублимации: во всех

режимах она оставалась отрицательной до завершения плато, что указывает на сохранение условий фазового перехода без перехода к таянию. Сублимация протекала даже с отключенным подогревом полки, однако ее скорость была минимальной, что обусловлено пассивным теплоподводом от конструктивных элементов установки.

На данном этапе работы температуры полки 40 и 60 °С не исследовались, поскольку при этих значениях производительности конденсатора экспериментальной установки было недостаточно для эффективного отвода паров льда. Это приводило к нарушению стабильности процесса и частичному таянию льда. Важно отметить, что объем высушиваемого льда на данной стадии существенно превышал объемы образцов закваски, используемых на последующих этапах исследования, что ограничивает прямое количественное сопоставление, однако позволяет достоверно оценить тенденцию влияния температуры полки на кинетику процесса.

Полученные на модельной системе данные позволили определить диапазон температур полки, обеспечивающий устойчивое протекание сублимации и интенсификацию процесса без нарушения фазового перехода. Однако модель дистиллированной воды отражала исключительно теплофизические аспекты процесса и не позволила оценить влияние температурного режима на сохранность микроорганизмов. В связи с этим следующим этапом исследования стало изучение выживаемости консорциума молочнокислых культур при сублимационной сушке в выбранном диапазоне температур полки с целью определения режима, обеспечивающего оптимальное соотношение скорости процесса и биологической сохранности клеток.

### **Влияние температуры полки на выживаемость молочнокислых культур**

Интенсификация теплоподвода (повышение температуры полки) ускоряет сушку, однако может влиять на сохранность микроорганизмов из-за теплового стресса [128]. Для оценки данного эффекта проведена сушка консорциума при

разных температурах полки с последующим определением количества жизнеспособных клеток. Результаты представлены на Рисунке 3.4.

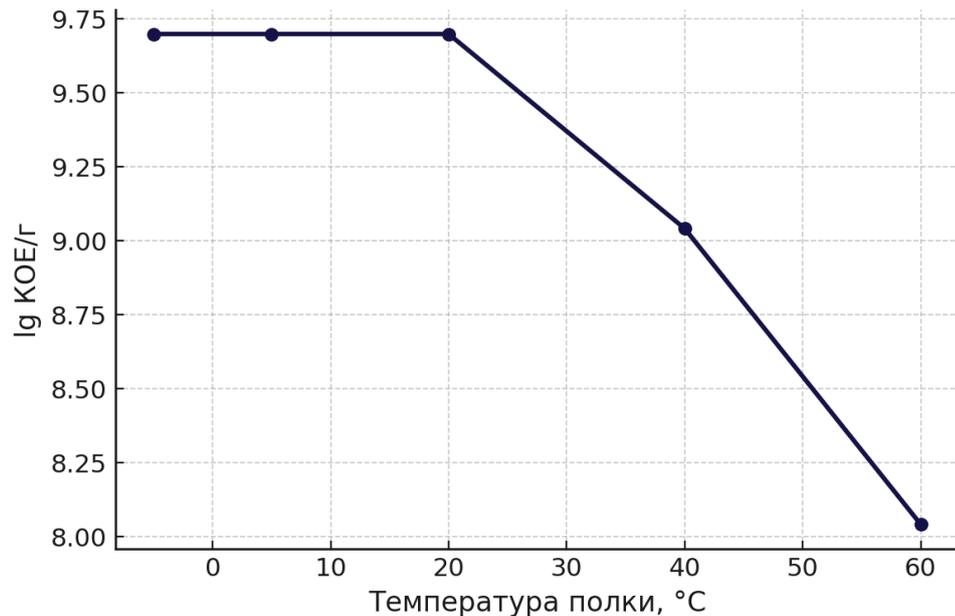


Рисунок 3.4 – Зависимость выживаемости культур от температуры полки сублиматора

Анализ полученных данных показал, что в диапазоне температур полки от 0 °C до 20 °C значение логарифма после сублимационной сушки оставалось практически неизменным и составляло около 9,7. Это подтвердило, что повышение температуры полки до 20 °C не оказывало отрицательного влияния на жизнеспособность консорциума.

При повышении температуры полки до 40 °C значение lg снижалось до приблизительно 9,0 (LR=0,7). При 60 °C показатель снижался до 8,0, что соответствовало суммарному снижению около 1,7 lg по сравнению с режимом 0-20 °C. Таким образом, при температурах 40 °C и особенно 60 °C фиксировалось выраженное усиление инактивации микроорганизмов.

Следует отметить, что при температурах 0-5 °C выживаемость была сопоставима с режимом 20 °C, однако согласно данным по кинетике (Рисунок 3.4) продолжительность первичной сушки в этих режимах была существенно выше. Следовательно, снижение температуры полки ниже 20 °C не приводило к

повышению биологической сохранности, но сопровождалось увеличением длительности процесса.

Таким образом, совокупный анализ теплофизических и микробиологических результатов показал, что температура полки 20 °С обеспечивала интенсификацию процесса сублимационной сушки без увеличения величины LR. Повышение температуры до 40 °С и 60 °С сопровождалось значительным ростом степени инактивации, тогда как понижение ниже 20 °С не давало дополнительной сохранности, но снижало производительность процесса. В исследованном диапазоне температур 20 °С являлась рациональным режимом с точки зрения баланса скорости сушки и сохранности культуры.

### **Влияние давления в камере сублиматора**

Вторым критически важным параметром процесса сублимационной сушки является давление в камере сублиматора. Для определения влияния величины вакуума на выживаемость заквасочных культур консорциум микроорганизмов высушивался при давлениях 10, 40, 60 и 100 Па. Выбор данного диапазона был обусловлен несколькими факторами. Во-первых, он соответствует диапазону давлений, приведенному в литературных источниках и обобщенному в Таблице 1.4. Во-вторых, давление 10 Па было принято в качестве нижней границы, поскольку его достижение является техническим пределом используемой экспериментальной установки. В-третьих, верхняя граница диапазона (100 Па) была выбрана выше общепринятых значений с целью оценки устойчивости культур к более мягким условиям вакуума и анализа возможных технологических ограничений процесса.

Зависимость выживаемости закваски от величины давления представлена на Рисунке 3.5. Как следует из графика, в исследованном диапазоне давлений статистически значимого влияния вакуума на выживаемость культур выявлено не было. Значения выживаемости оставались практически неизменными и составляли около 71 % при всех исследованных давлениях. Это свидетельствует о том, что в

данных условиях глубина вакуума не являлась определяющим фактором сохранности микроорганизмов. Скорость сублимации при увеличении давления немного снижалась, однако различия между режимами были небольшими и не оказывали заметного влияния на общий ход процесса.

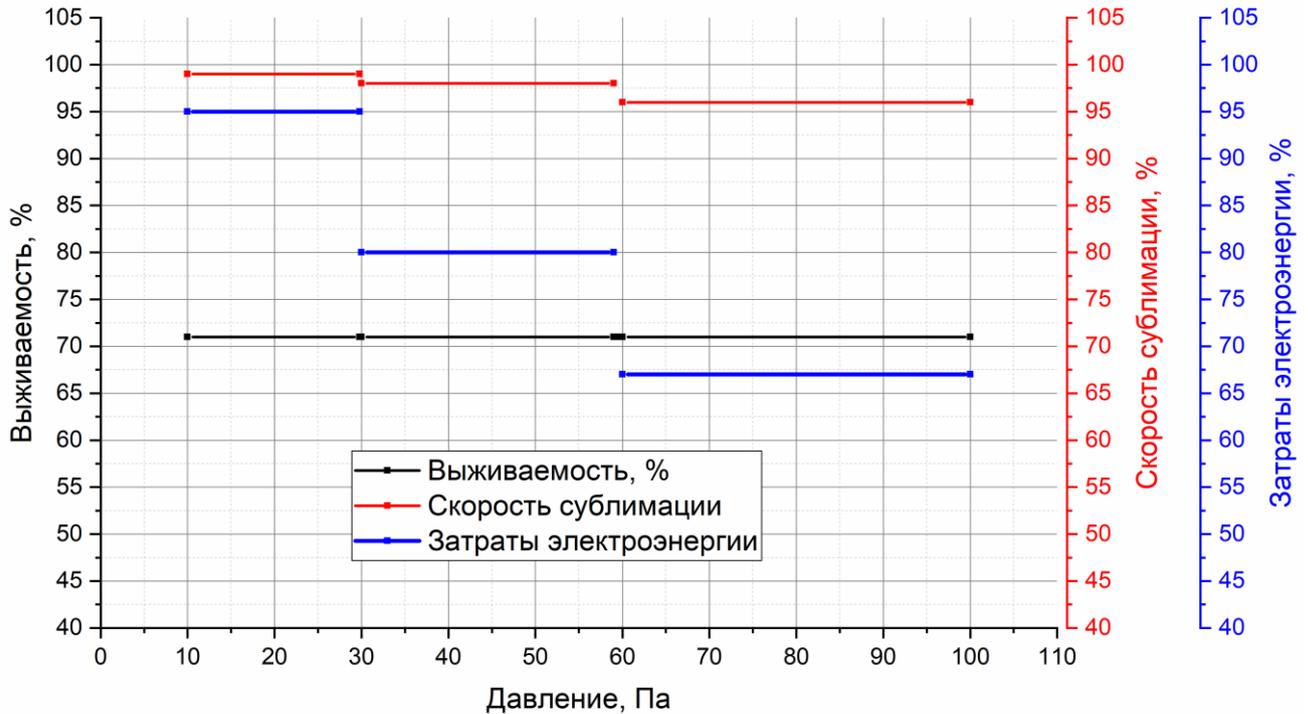


Рисунок 3.5 – Зависимость выживаемости консорциума культур, скорости сублимации и энергозатрат от давления в камере сублиматора

Анализ скорости сублимации показал, что в исследованном диапазоне давлений наблюдалось лишь незначительное ее снижение при увеличении давления. При этом различия между режимами были невелики и не оказывали существенного влияния на общую продолжительность процесса.

### Энергетическая эффективность процесса при различных давлениях

В отличие от выживаемости и скорости сублимации, давление существенно влияло на энергозатраты установки. Снижение давления в камере сопровождалось увеличением времени работы вакуумного насоса и, соответственно, ростом энергопотребления. Для оценки данного эффекта было проведено исследование

зависимости давления в вакуумной камере экспериментальной установки от времени работы вакуумного насоса. В ходе эксперимента давление фиксировалось датчиком Value VMV-1 (NAVTEK, Китай), который был подключен к разъему дополнительного оборудования установки. Результат эксперимента приведен на Рисунке 3.6.

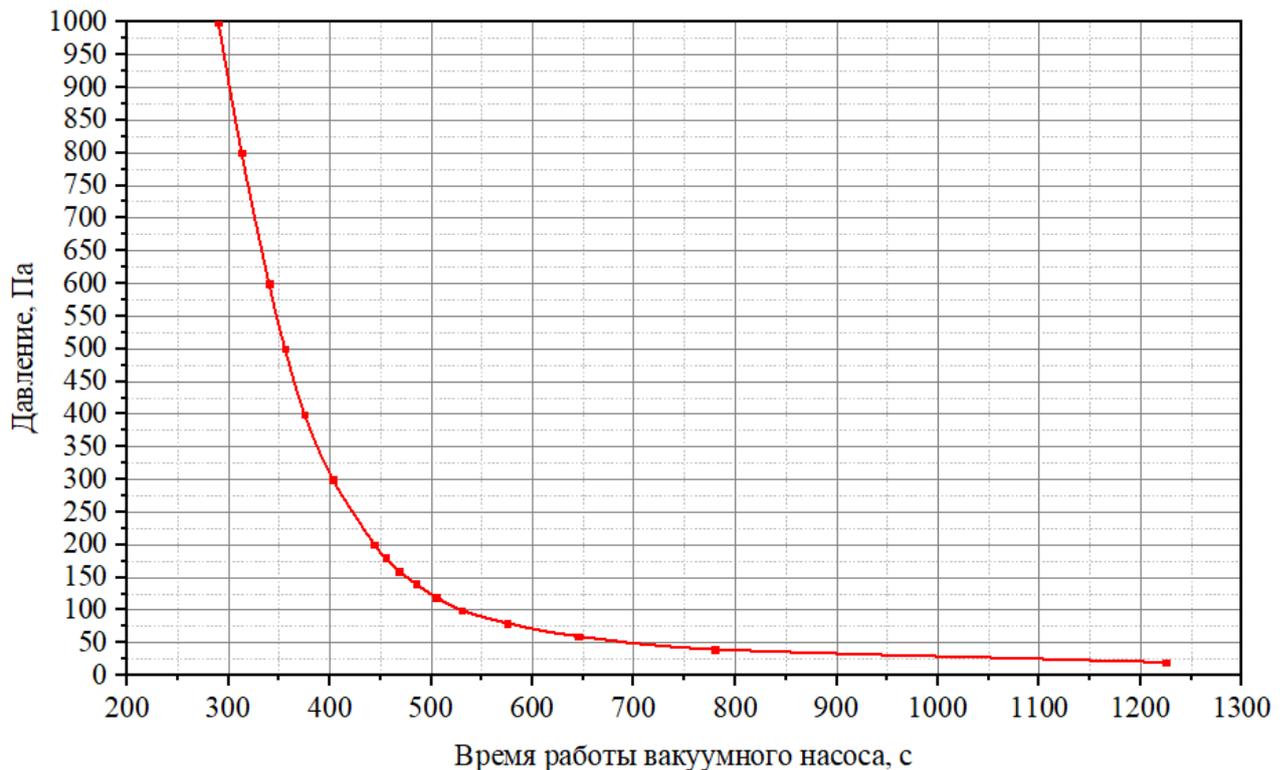


Рисунок 3.6 – Зависимость давления в камере сублимационной установки от времени работы вакуумного насоса

Анализ кривой вакуумирования показывает, что по мере снижения давления скорость откачки постепенно уменьшается. На начальном этапе процесса давление в камере снижается достаточно быстро, однако при достижении более глубокого вакуума дальнейшее снижение давления требует значительно больших временных затрат. Так, уменьшение давления с 40 до 20 Па занимает существенно больше времени, чем снижение давления со 100 до 80 Па. При этом увеличение продолжительности работы вакуумного насоса не приводило к повышению выживаемости микроорганизмов.

Поскольку давление в исследованном диапазоне не оказывало статистически значимого влияния на выживаемость культур, выбор оптимального диапазона определялся преимущественно соображениями энергоэффективности процесса. Для количественной оценки энергозатрат использовали показатель относительной затраченной энергии, определяемый по формуле 3.1:

$$Q_{\text{отн}} = \frac{Q_{\text{затраченная}}}{Q_{\text{max}}} \quad (3.1)$$

где  $Q_{\text{затраченная}}$  – фактическая энергия, затраченная при исследуемом диапазоне давлений в камере сублиматора, кВт·ч;  $Q_{\text{max}}$  – энергия, затраченная при работе установки на минимальном давлении (при непрерывной работе вакуумного насоса), кВт·ч.

Фактические энергозатраты рассчитывали по формуле (3.2):

$$Q_{\text{затраченная}} = Q_{\text{холодильной установки}} + Q_{\text{вакуумного насоса}} \quad (3.2)$$

Максимальные энергозатраты определяли по формуле (3.3):

$$Q_{\text{max}} = Q_{\text{холодильной установки}} + Q_{\text{вакуумного насоса}}^{\text{max}} \quad (3.3)$$

Как следует из формул (3.2) и (3.3), суммарные энергозатраты складываются из работы холодильной установки и вакуумного насоса. При этом энергопотребление холодильной установки практически не зависит от давления в камере сублиматора, тогда как энергозатраты вакуумного насоса напрямую определяются глубиной вакуума. В Таблице 3.7 приведены экспериментальные данные по затраченной энергии при работе экспериментального стенда в течение 24 ч. Полученные данные также были отражены на Рисунке 3.6.

Таблица 3.7 – Энергозатраты сублимационного стенда при различных давлениях в камере

Давление в камере сублиматора, Па	$Q_{\text{холодильной установки}}$ , кВт·ч	$Q_{\text{вакуумного насоса}}$ , кВт·ч	$Q_{\text{общ}}$ , кВт·ч	$Q_{\text{отн}}$
менее 10 (непрерывная работа насоса)	12,0	11,0	23,0	1
От 10 до 30	12,0	9,9	21,9	0,95
От 30 до 60	12,0	6,4	18,4	0,80
От 60 до 100	12,0	3,4	15,4	0,67

Полученные результаты показали, что при увеличении давления в камере энергозатраты на поддержание вакуума существенно снижаются. Минимальные энергозатраты наблюдались в диапазоне 60-100 Па, где относительное энергопотребление составляло около 0,67 от максимального значения.

Таким образом, совокупный анализ полученных результатов показал, что температура полки оказывает определяющее влияние на выживаемость микроорганизмов, тогда как давление в исследованном диапазоне не оказывает статистически значимого влияния на сохранность культур. При этом повышение давления в камере сопровождалось существенным снижением энергозатрат на поддержание вакуума и лишь незначительно влияло на скорость сублимации. Сопоставление трех факторов – выживаемости микроорганизмов, скорости процесса и энергозатрат – позволило провести комплексную оценку режимов работы установки и определить рациональные параметры проведения сублимационной сушки. Фактически полученные результаты позволили осуществить многокритериальный выбор технологического режима процесса.

Установлено, что оптимальный режим работы соответствует температуре полки около 20 °С и диапазону давления 60-100 Па, при которых обеспечивается высокая сохранность заквасочных культур, достаточная интенсивность процесса и минимальные энергетические затраты. Более высокое давление может замедлять процесс сублимации, а более низкое – увеличивать расход энергии на вакуумирование и, в соответствии с уравнением (2.2), снижать эффективность использования поверхности конденсатора [103].

Следует отметить, что в качестве базовой защитной среды для исследуемых культур использовалась молочная среда, обладающая определенными крио- и лиопротекторными свойствами за счет содержания белков и лактозы. Однако полученные результаты показали, что даже при оптимальных параметрах сублимационной сушки уровень выживаемости микроорганизмов остается ограниченным.

В связи с этим следующим этапом исследования стало изучение влияния дополнительных защитных компонентов – криопротекторов, направленное на повышение устойчивости молочнокислых культур к воздействию замораживания и последующей сублимационной сушки.

### **3.3. Влияние защитных сред на сохранность молочнокислых культур**

Применение защитных сред при сублимационной сушке заквасок позволяет повысить выживаемость культур, однако сопряжено с рядом технологических ограничений. В первую очередь, внесение криопротектора является дополнительной операцией, требующей точного дозирования и обеспечения равномерного распределения защитного компонента во всем объеме высушиваемого материала. Кроме того, отдельные криопротекторы могут оказывать влияние на органолептические свойства заквасок. В связи с этим при выборе типа защитной среды и ее дозировки целесообразно стремиться к минимально необходимой концентрации добавки, обеспечивающей требуемую сохранность микроорганизмов.

В пищевой промышленности предпочтительно использовать криопротекторы, разрешенные в качестве пищевых добавок. Исходя из литературных данных [38, 51], в качестве исследуемых дополнительных защитных компонентов были выбраны глицерин (E422) и желатоза. Существуют и другие защитные среды, применяемые в индустрии, однако их использование связано с более сложными технологическими операциями, а по эффективности сохранения молочнокислых микроорганизмов они, как правило, уступают глицерину. Для поддержания жизнеспособности культур обычно используют концентрации защитных сред от 2,5 до 10 %. В настоящей работе оба криопротектора исследовали при трёх концентрациях (2,5; 5,0 и 10,0 %), а также был подготовлен контрольный образец без добавления защитной среды (Таблица 3.8).

Таблица 3.8 – Экспериментальные образцы заквасок: используемые защитные среды и их концентрации

Условные обозначения	Защитная среда	Концентрация защитной среды
К	Контрольный образец, без защитной среды	
Г2,5	Глицерин	2,5 %
Г5,0	Глицерин	5,0 %
Г10,0	Глицерин	10,0 %
Ж2,5	Желатоза	2,5 %
Ж5,0	Желатоза	5,0 %
Ж10,0	Желатоза	10,0 %

Замораживание образцов осуществлялось при минус 30 °С в течение 6 ч., после чего выполняли сублимационную сушку на экспериментальной установке при давлении в камере 60-100 Па и температуре полки 20 °С в течение 24 ч. По окончании сушки образцы были подвергнуты микроскопическому исследованию, определению числа жизнеспособных клеток молочнокислых культур (КОЕ/г) и оценке активности закваски по времени сквашивания молока.

Особое внимание уделялось определению наличия в высушенных образцах *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, поскольку данный вид характеризуется наименьшей устойчивостью к воздействию замораживания и сублимационной сушки в рассматриваемом консорциуме [108]. Фрагменты микрофотографий образцов сразу после сублимационной сушки и последующего ресуспендирования приведены на Рисунке 3.7. Анализ микрофотографий показал, что во всех образцах после сушки сохранялись оба вида микроорганизмов консорциума, что свидетельствует об отсутствии подавления одной из культур в результате проведенной обработки.

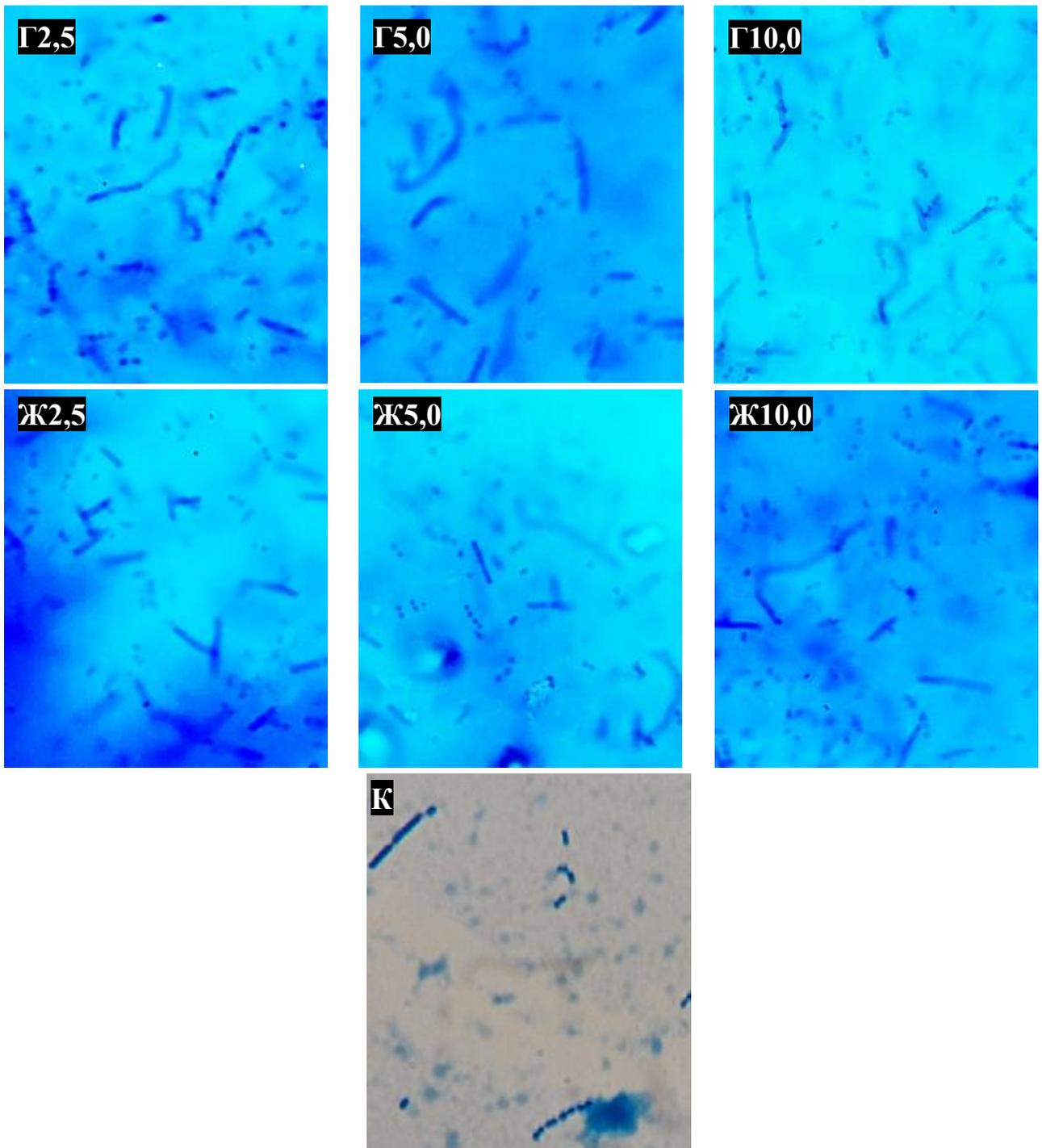


Рисунок 3.7 – Фрагменты микрофотографий ресуспендированных образцов закваски с различными защитными средами

Сводные результаты влияния криопротекторов на микроорганизмы и технологические свойства закваски приведены в Таблице 3.9. Из представленных данных следует, что количество жизнеспособных клеток молочнокислых культур составило не менее  $1,1 \cdot 10^9$  КОЕ/г, что свидетельствует о высокой выживаемости микроорганизмов независимо от наличия и типа криопротектора. Кроме того, во

всех случаях после сушки в закваске обнаруживались оба вида бактерий, что подтверждается результатами микроскопии. Это указывает на то, что добавление выбранных защитных сред не оказывало существенного влияния на количественные показатели выживаемости или состав микрофлоры закваски.

Таблица 3.9. – Микробиологические и технологические показатели заквасок в зависимости от типа и объема, внесенного криопротектора

Образец	Количество (КОЕ/г)	Наличие обоих видов культур	Время сквашивания (ч.)
К	$1,1 \cdot 10^9$	+	6
Г2,5	$7,0 \cdot 10^9$	+	5
Г5,0	$5,0 \cdot 10^9$	+	5
Г10,0	$5,0 \cdot 10^9$	+	5
Ж2,5	$2,5 \cdot 10^9$	+	6
Ж5,0	$5,0 \cdot 10^9$	+	5
Ж10,0	$5,0 \cdot 10^9$	+	5

Активность закваски оценивалась по времени сквашивания молока до образования плотного сгустка. Данный показатель отражает скорость кислотообразования: чем меньше время сквашивания, тем выше активность закваски. Наибольшая продолжительность сквашивания была зафиксирована у контрольного образца и образца Ж2,5, где данный показатель составил 6 часов. У остальных образцов время сквашивания сокращалось примерно до 5 часов, что приблизительно на 15 % быстрее, чем у контроля. Это может свидетельствовать о некотором улучшении сохранности ферментативных систем микроорганизмов при использовании отдельных криопротекторов.

Вместе с тем следует учитывать, что применение криопротекторов связано с дополнительными технологическими операциями, включая приготовление и стерилизацию защитной среды, ее внесение в культуру и обеспечение равномерного распределения перед замораживанием. Эти операции усложняют технологический процесс и повышают себестоимость производства закваски. При этом полученные результаты показывают, что совершенствование режимов замораживания и сублимационной сушки сама по себе обеспечивает высокую

сохранность культуры, а добавление исследованных криопротекторов не приводит к существенному увеличению выживаемости микроорганизмов, оказывая лишь умеренное влияние на технологическую активность закваски.

Таким образом, проведенные исследования показали, что высокая сохранность молочнокислых культур в значительной степени обеспечивается усовершенствованными режимами предварительного замораживания и сублимационной сушки, тогда как применение дополнительных защитных компонентов не приводит к заметному увеличению выживаемости микроорганизмов.

### Выводы к Главе 3

1. Исследовано влияние протоколов предварительного замораживания на выживаемость *S. thermophilus* 159 и *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* Л37/7, а также их консорциума (4:1). Установлено, что наибольшая сохранность микроорганизмов достигалась при замораживании до температуры минус 30 °С независимо от скорости охлаждения. Понижение температуры замораживания до минус 50 °С и минус 70 °С сопровождалось увеличением логарифмического снижения численности (LR) и уменьшением выживаемости клеток. Консорциум культур характеризовался более высокой устойчивостью по сравнению с монокультурами.

2. Определено влияние температуры полки сублиматора на выживаемость микроорганизмов и кинетику процесса. Показано, что температура полки 20 °С обеспечивала ускорение процесса сублимационной сушки без увеличения логарифмического снижения численности микроорганизмов по сравнению с режимами 0-5 °С. Повышение температуры до 40 °С и 60 °С сопровождалось снижением выживаемости культур. Таким образом, температура полки 20 °С определена как рациональный режим с точки зрения сохранности культур и продолжительности процесса.

3. Установлено, что изменение давления в камере сублиматора в диапазоне от 10 до 100 Па не оказывало влияния на выживаемость заквасочных культур. При этом снижение давления сопровождалось увеличением времени работы

вакуумного насоса и ростом энергозатрат. На основании комплексного анализа выживаемости микроорганизмов, скорости сублимации и энергопотребления рациональным диапазоном давления определены значения 60-100 Па.

4. Показано, что добавление выбранных криопротекторов (глицерина, желатозы) не приводило к существенному повышению выживаемости микроорганизмов после сублимационной сушки. Во всех образцах сохранялось не менее  $1,1 \cdot 10^9$  КОЕ/г и присутствовали оба вида микроорганизмов консорциума. При этом использование отдельных криопротекторов сопровождалось умеренным сокращением времени сквашивания молока. Полученные результаты свидетельствуют о том, что высокая сохранность молочнокислых культур в основном обеспечивается использованием рациональных режимов замораживания и сублимационной сушки.

## **ГЛАВА 4. ВАЛИДАЦИЯ И ПРИМЕНЕНИЕ ЧИСЛЕННЫХ МОДЕЛЕЙ ПРИ МАСШТАБИРОВАНИИ ПРОЦЕССОВ ЗАМОРАЖИВАНИЯ ЗАКВАСОК**

Внедрение результатов лабораторных исследований в промышленное производство представляет собой сложную задачу, требующую обеспечения сопоставимости ключевых параметров технологического процесса при переходе к большим объемам.

В настоящей главе рассматривается теоретический подход, основанный на валидации численных моделей и применении методов вычислительной гидродинамики (CFD) для описания тепловых процессов при замораживании суспензий молочнокислых микроорганизмов. Использование данного подхода направлено на повышение точности прогнозирования технологических параметров и воспроизводимости результатов при переходе от лабораторного к промышленному масштабу.

### **4.1. Теоретические основы масштабирования процесса замораживания**

Традиционно исследования процессов замораживания и сублимационной сушки проводятся на малых объемах суспензий, что позволяет минимизировать расход сырья и энергии при сохранении высокой точности наблюдений [104, 122]. Данный подход широко применяется в пищевой и фармацевтической промышленности. Однако перенос закономерностей, полученных в лабораторных условиях, на промышленные масштабы сопряжен с существенными трудностями. Они обусловлены изменением геометрии оборудования, его теплоемкости и интенсивности теплообмена, что может приводить к значительным потерям времени, снижению выхода продукта и ухудшению его качества.

Для минимизации рисков, связанных с масштабированием технологических процессов, используются методы математического и численного моделирования. Их использование позволяет анализировать теплофизические процессы без проведения большого количества дорогостоящих натуральных экспериментов [97].

Поскольку создание единого цифрового двойника для всего процесса сублимационной сушки является сложной задачей, моделирование целесообразно разделять на независимые этапы. Согласно литературным данным, критической стадией, в значительной степени определяющей жизнеспособность молочнокислых микроорганизмов, является этап предварительного замораживания [14, 104, 130, 131].

Для решения инженерных задач, связанных с определением режимов замораживания, используется макроскопический подход. В этом случае биотехнологическая система «продукт – окружающая среда» рассматривается как открытая термодинамическая система, в которой происходят процессы тепло- и массообмен как между компонентами системы, так и с внешней средой. Макроскопический уровень описания позволяет использовать общие уравнения механики и термодинамики, а также применять специализированные программные комплексы, предназначенные для моделирования теплофизических процессов [18].

Определение времени замораживания суспензии на этапе, предшествующем вакуумированию, представляет особый интерес. Данная задача в меньшей степени зависит от конкретного оборудования, поэтому полученные результаты могут быть представлены в виде универсальных зависимостей. Использование программного комплекса ANSYS 2020 CFX позволяет существенно сократить время на подготовку расчетов благодаря оптимизированному интерфейсу и встроенному математическому аппарату. Кроме того, результаты моделирования являются воспроизводимыми при использовании одинаковых параметров расчета и настроек решателя [84].

#### **4.2. Валидация математической модели и вычислительного алгоритма**

Проведение физического эксперимента, несмотря на высокую точность получаемых данных, сопряжено со значительными временными и материальными затратами и позволяет получить информацию лишь в ограниченном числе контрольных точек. В свою очередь, применение вычислительных комплексов для решения задач тепломассообмена дает возможность определить распределение

температур во всем объеме исследуемой геометрии. Однако использование методов вычислительной гидродинамики (CFD) требует обязательной проверки корректности применяемой модели. Если верификация, подразумевающая сравнение результатов расчета с аналитическим решением, для сложных физических моделей часто затруднена или неприменима, то валидация, заключающаяся в сопоставлении данных вычислительного и физического экспериментов, позволяет оценить применимость модели для решения поставленной задачи [106, 141].

В данной работе была проведена валидация разработанной численной модели процесса замораживания путем сравнения результатов моделирования с данными эквивалентного теплофизического эксперимента.

В качестве объекта для сравнения использовалась пробирка с 10 мл суспензии микроорганизмов, замороженная по Протоколу №1 (минус 30 °С, медленное охлаждение). В объем суспензии был помещен температурный датчик, фиксирующий изменение температуры в процессе охлаждения (Рисунок 4.1А). Вычислительный эксперимент выполнялся в соответствии со стандартным алгоритмом построения CFD-модели.

На первом этапе расчета была создана трехмерная геометрическая модель пробирки и находящейся в ней суспензии (Рисунок 4.1Б). Поскольку основной целью моделирования являлось получение температурных полей непосредственно в объеме раствора, стенки пробирки в расчетной модели не моделировались как отдельное твердое тело. Их влияние учитывалось через эквивалентное термическое сопротивление теплообмена. В результате расчетная геометрия замораживаемого объекта представляла собой только объем суспензии (Рисунок 4.1В). Указанный объем был помещен в расчетную область воздуха, моделирующую охлаждающую среду холодильной установки (Рисунке 4.1Г). Таким образом, итоговая расчетная модель состояла из двух областей: объема замораживаемой суспензии и окружающего воздушного пространства. Полученная геометрия была разбита на сетку конечных элементов, среднее сечение которой показано на Рисунке 4.1Д.

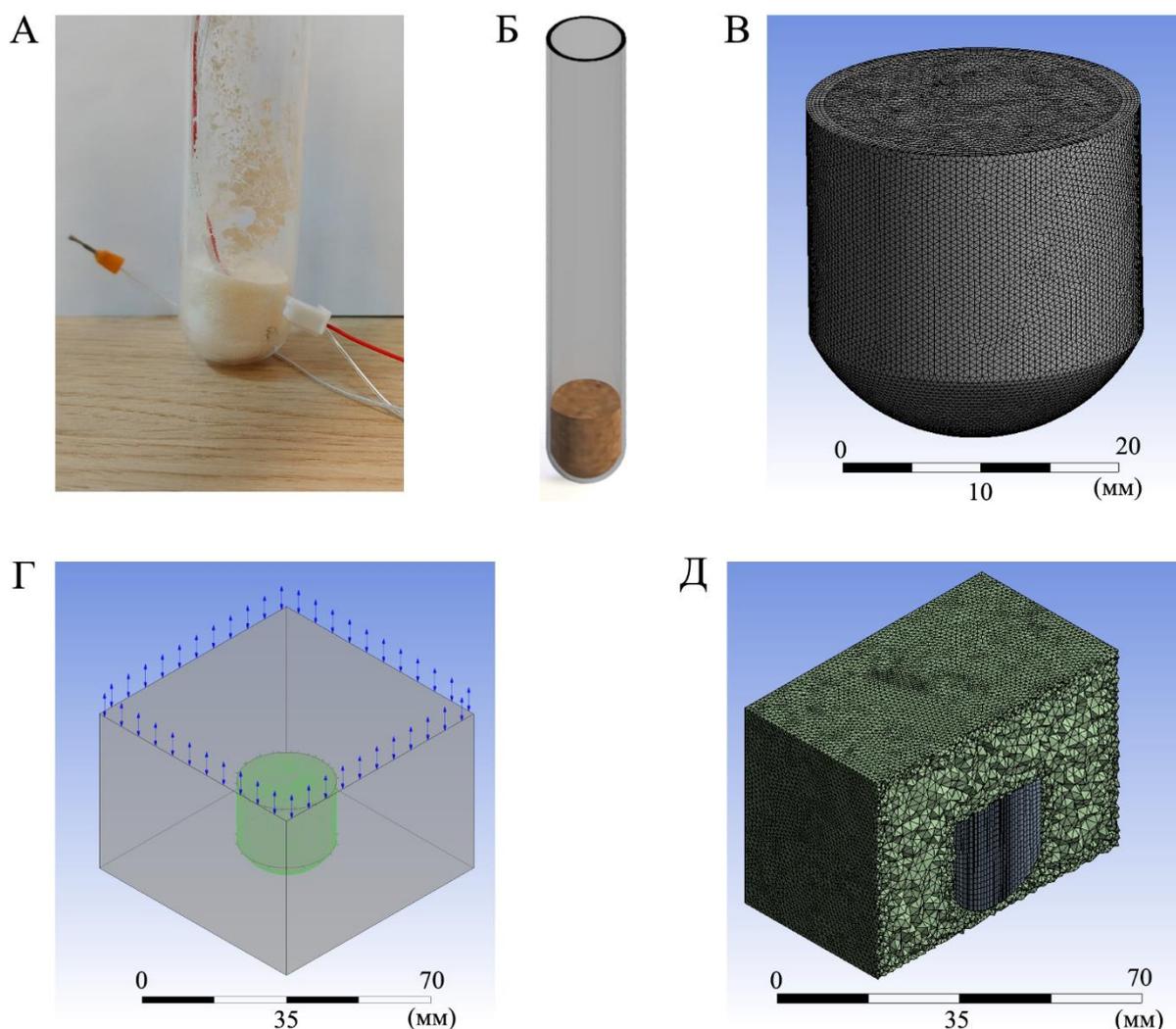


Рисунок 4.1 – Формирование расчетной модели: А - экспериментальная пробирка с суспензией и установленным температурным датчиком; Б – 3D-модель пробирки с суспензией; В – расчетная геометрия объема суспензии; Г – расчетная область «суспензия – окружающий воздух»; Д – среднее сечение сетки конечных элементов.

На втором этапе была осуществлена настройка решателя: заданы начальные и граничные условия, свойства веществ и параметры теплообмена. Температурно-зависимые свойства замораживаемой суспензии, использованные в расчетной модели, приведены в Таблице 4.1. Значения теплофизических параметров принимались на основе литературных данных для водных и пищевых растворов, близких по составу к исследуемой системе [23, 86]. Поскольку основным компонентом суспензии является водная среда с растворенными веществами и клетками микроорганизмов, при задании параметров использовались справочные значения для воды, льда и концентрированных водных растворов. Температурная

зависимость свойств задавалась в виде дискретных точек, между которыми в расчетной модели выполнялась линейная интерполяция значений. Значительный скачок теплоемкости в температурном диапазоне от минус 10 до минус 0,5 °С соответствует учету теплового эффекта фазового перехода. Такой подход позволяет учитывать скрытую теплоту кристаллизации в рамках эффективной теплоемкости среды. Данный метод несколько снижает точность расчета по сравнению с прямым моделированием фазового перехода, однако позволяет избежать проведения сложных и дорогостоящих исследований с использованием дифференциальной сканирующей калориметрии.

Таблица 4.1 – Теплофизические свойства замораживаемой суспензии

Температура, °С	Плотность, кг/м <sup>3</sup>	Теплоемкость, Дж/(кг·К)	Теплопроводность, Вт/(м·К)
Минус 60,0	1000	1800	2,2
Минус 20,0	1000	2500	2,0
Минус 10,1	1000	3500	1,8
Минус 10,0	1000	29000	1,8
Минус 0,5	1030	32000	0,5
Минус 0,4	1030	3800	0,5
40,0	1030	3800	0,5

Свойства воздуха были заданы из встроенной базы данных решателя: плотность описывалась моделью идеального газа, теплопроводность принималась равной 0,0261 Вт/(м·К), а теплоемкость – 1004 Дж/(кг·К) в рассматриваемом диапазоне температур.

Начальными условиями расчета являлись: температура суспензии 10 °С, температура неподвижного воздуха минус 30 °С. Граничными условиями задавались: свободное движение воздуха при температуре минус 30 °С через внешние границы расчетной области воздуха; температура минус 30 °С на горизонтальной поверхности, на которой располагается пробирка; на границе раздела «воздух-раствор» было задано термическое сопротивление, эквивалентное стеклянной стенке пробирки толщиной 1 мм.

В результате расчета было получено распределение температуры в объеме суспензии и окружающего воздуха. Температурные поля для среднего сечения расчетной геометрии на различных этапах охлаждения представлены на Рисунке 4.2. Как видно из последовательности изображений, охлаждение суспензии происходит неравномерно по объему. В начальный момент времени наблюдается значительный температурный градиент между теплым объемом суспензии и окружающей охлаждающей средой. Наиболее интенсивное охлаждение происходит вблизи внешней поверхности образца.

По мере увеличения времени охлаждения холодная область постепенно распространяется от периферии к центральной части суспензии. Температурные изолинии в расчетном сечении принимают форму, обусловленную геометрией пробирки и условиями теплообмена с окружающим воздухом. Центральная часть образца в течение значительного времени сохраняет более высокую температуру по сравнению с периферийными слоями.

На последующих этапах процесса температурное поле становится более равномерным, что отражает постепенное продвижение фронта охлаждения к центру образца.

Полученные температурные поля позволяют оценить пространственную неоднородность замораживания заквасочной суспензии. Из результатов моделирования следует, что периферийные слои достигают низких температур значительно раньше, тогда как в центральной части образца более длительное время сохраняются более высокие значения температуры. Следовательно, клетки микроорганизмов в различных зонах объема в один и тот же момент времени находятся в неодинаковых тепловых условиях.

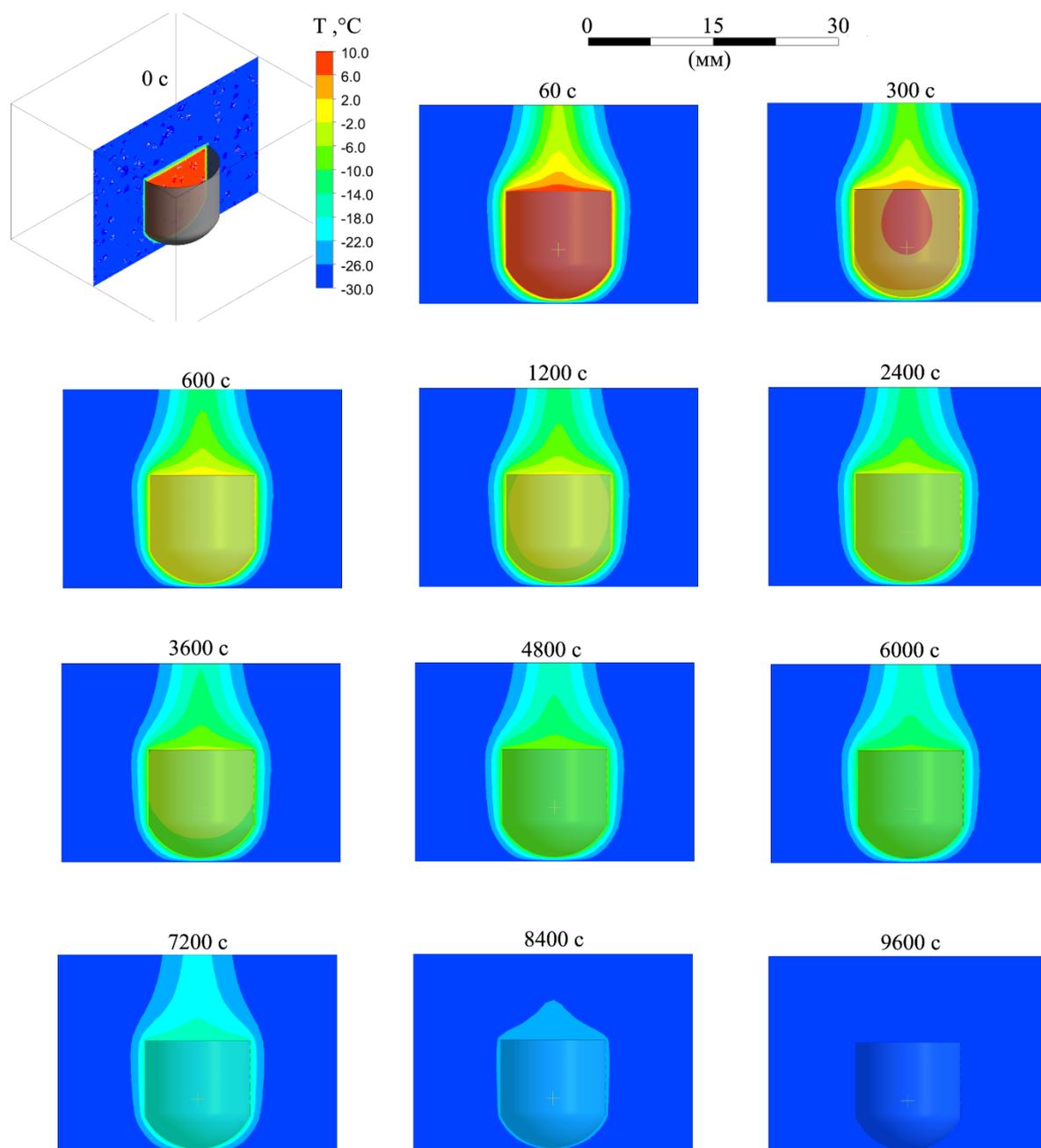


Рисунок 4.2 – Температурное поле в среднем сечении пробирки с суспензией в процессе замораживания

Для валидации численной модели были сопоставлены экспериментальная и расчетная зависимости температуры от времени в контрольной точке, расположенной в центре суспензии. Результаты сравнения представлены на Рисунке 4.3.

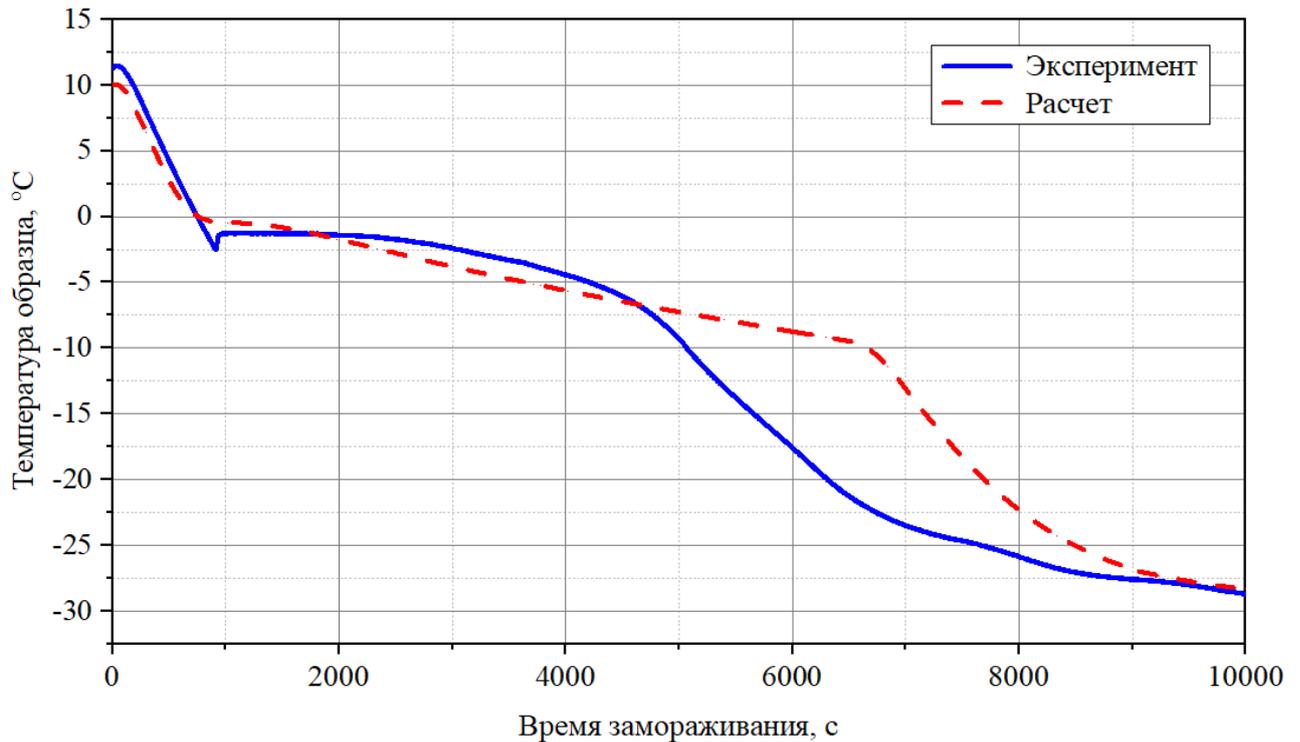


Рисунок 4.3 – Сравнение температурных кривых, полученных в ходе физического эксперимента (датчик в центре пробирки) и численного моделирования (температура в центре расчетной области).

Как следует из графика, характер изменения температуры в эксперименте и в расчете в целом совпадает. На начальной стадии охлаждения экспериментальная температура снижается несколько быстрее, чем в расчетной модели. В области начала кристаллизации на экспериментальной кривой наблюдается локальный минимум температуры, обусловленный переохлаждением раствора перед началом образования льда. В расчетной модели данный эффект не воспроизводится, поскольку фазовый переход учитывается методом эффективной теплоемкости.

В области фазового перехода расчетная зависимость демонстрирует более плавное снижение температуры по сравнению с экспериментом. Тем не менее общее время охлаждения образца до конечной температуры в эксперименте и в расчете практически совпадает, а расхождение не превышает 5 %. На завершающей стадии охлаждения температурные значения в обеих зависимостях сходятся.

Сопоставление результатов физического и вычислительного экспериментов показало хорошее согласование температурных зависимостей и времени охлаждения образца. Полученные результаты подтверждают корректность

разработанной численной модели и ее применимость для анализа процессов замораживания биосуспензий.

Разработанная модель позволяет анализировать пространственное распределение температур в объеме продукта и может быть использована при дальнейшем масштабировании лабораторных исследований процессов замораживания заквасок на промышленные условия.

#### **4.3. Моделирование кинетики замораживания в промышленных условиях**

При переходе от лабораторных исследований к промышленному производству высушенных заквасок существенно изменяются геометрические и теплофизические параметры системы. В лабораторных условиях замораживание заквасочной суспензии проводится в небольших объемах, тогда как в промышленном производстве суспензия микроорганизмов разливается в поддоны. Такая схема размещения продукта обеспечивает увеличение площади теплообмена и более эффективное использование объема камеры сублиматора.

Полки промышленных установок, как правило, располагаются с небольшим шагом по высоте (около 70 мм), однако данный параметр может варьировать в зависимости от модели оборудования и конструктивных требований. Толщина слоя суспензии в поддоне является одним из ключевых факторов, определяющих интенсивность теплообмена и продолжительность предварительного замораживания. По мере увеличения толщины слоя возрастает тепловое сопротивление продукта, что может существенно увеличивать время достижения требуемой температуры.

Кроме того, продолжительность стадии замораживания непосредственно влияет на производительность всей технологической линии, поскольку последующая стадия сублимационной сушки может начинаться только после полного охлаждения продукта. В связи с этим определение рациональной толщины слоя заквасочной суспензии является важной задачей при проектировании промышленного процесса производства заквасок.

Для анализа процессов масштабирования было проведено численное моделирование замораживания суспензии в поддонах при различных условиях теплообмена. Рассматривались три характерных режима охлаждения: конвективное (воздушное) охлаждение; комбинированное охлаждение (конвективное и кондуктивное через полку); охлаждение в условиях пониженного давления.

На Рисунке 4.4 показана расчетная геометрия, использованная при моделировании. В промышленных условиях поддоны располагаются на полках сублиматора в несколько рядов. Для уменьшения вычислительных затрат моделировалась центральная область поддона, поскольку именно в этой зоне скорость охлаждения минимальна, и она определяет общее время замораживания продукта. В расчетную модель включались следующие элементы: полка сублиматора, поддон с суспензией, воздушный зазор между полками. Расчетная область, используемая при моделировании, выделена зеленым цветом на Рисунке 4.4.

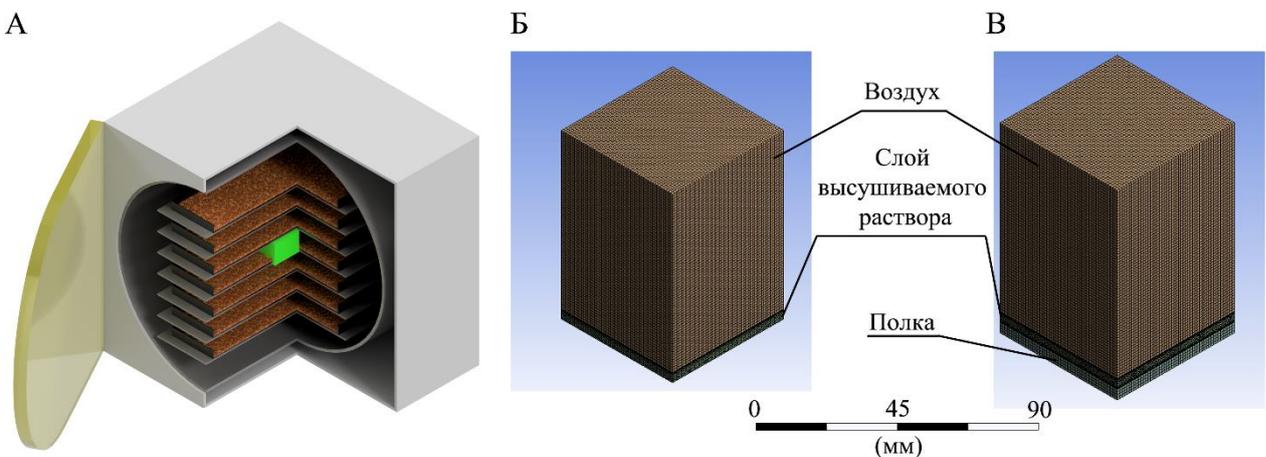


Рисунок 4.4 – Расчетная геометрия для моделирования замораживания в поддоне: А – схематическое изображение поддона на полке сублиматора (область расчета выделена зеленым); Б – расчетная геометрия и сетка для случая конвективного охлаждения; В – расчетная геометрия и сетка для случаев кондуктивного охлаждения

Поддон моделировался как тепловое сопротивление толщиной 2 мм, соответствующее стенке из нержавеющей стали AISI 304. Тепловой контакт между полкой и поддоном принимался идеальным. Граничные условия и свойства воздуха задавались в соответствии с методикой, описанной в разделе 4.2.

На Рисунке 4.5 показаны температурные поля в среднем сечении расчетной области при конвективном замораживании поддона с толщиной слоя заквасочной суспензии 4 мм и температурой охлаждающей среды минус 30 °С.

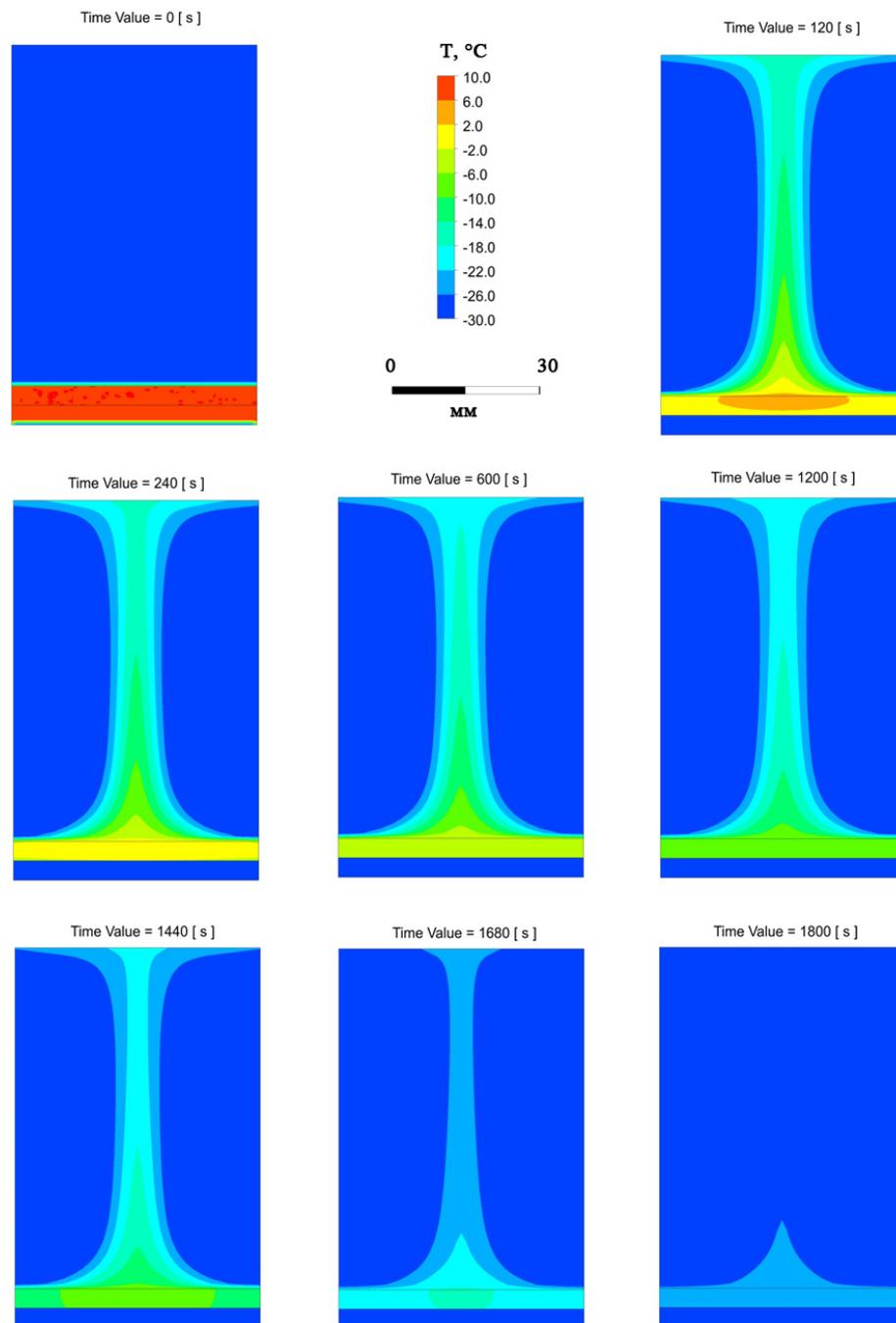


Рисунок 4.5 – Динамика температурного поля в среднем сечении при конвективном замораживании поддона с толщиной слоя суспензии 4 мм и температурой охлаждения минус 30°С

В начальный момент времени наблюдается значительный температурный градиент между охлаждающей средой и суспензией. Наиболее интенсивное

снижение температуры происходит вблизи поверхности теплообмена – в области контакта поддона с охлаждаемой полкой. По мере увеличения времени охлаждения область пониженных температур распространяется от поверхности теплообмена вглубь слоя продукта. Центральная часть слоя в течение более длительного времени сохраняет более высокую температуру, что обусловлено ограниченной теплопроводностью замораживаемой суспензии.

На последующих этапах охлаждения температурные градиенты постепенно уменьшаются, а распределение температуры в слое становится более равномерным. Завершающая стадия процесса характеризуется приближением температуры суспензии к температуре охлаждающей среды.

Для количественной оценки кинетики замораживания были получены зависимости температуры в контрольной точке слоя заквасочной суспензии от времени для различных толщин слоя и режимов теплообмена (Рисунки 4.6-4.8).

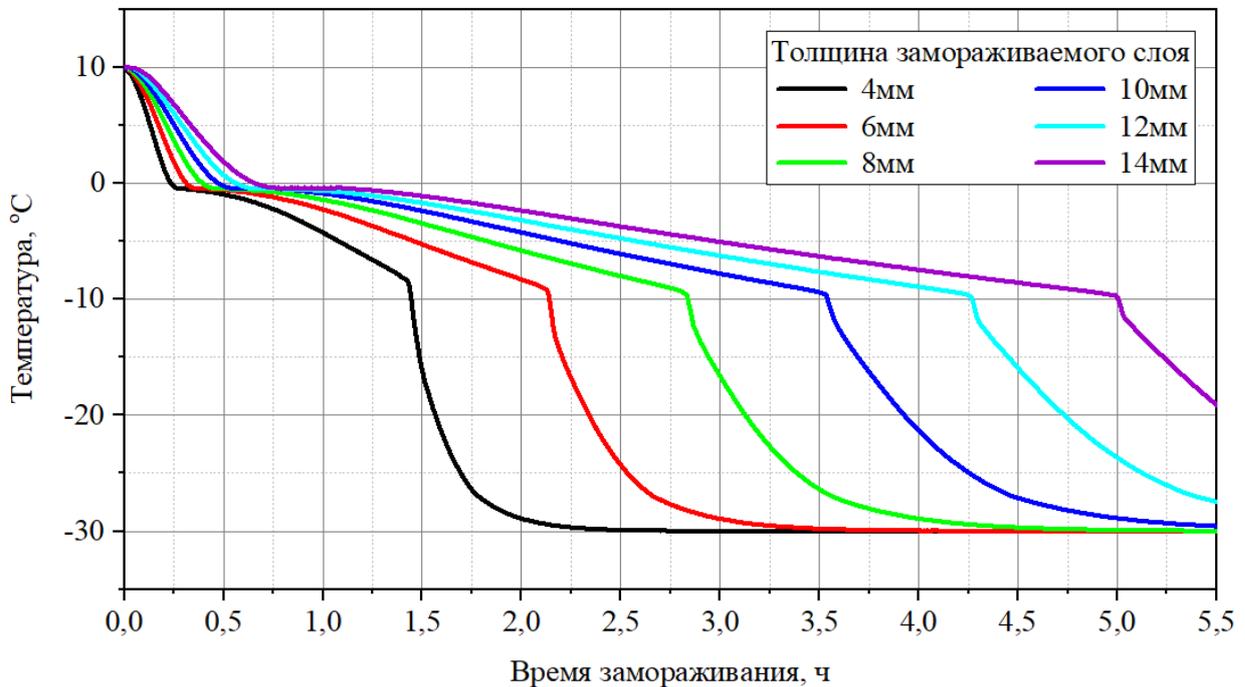


Рисунок 4.6 - Температурные кривые замораживания заквасочной суспензии при конвективном охлаждении поддона

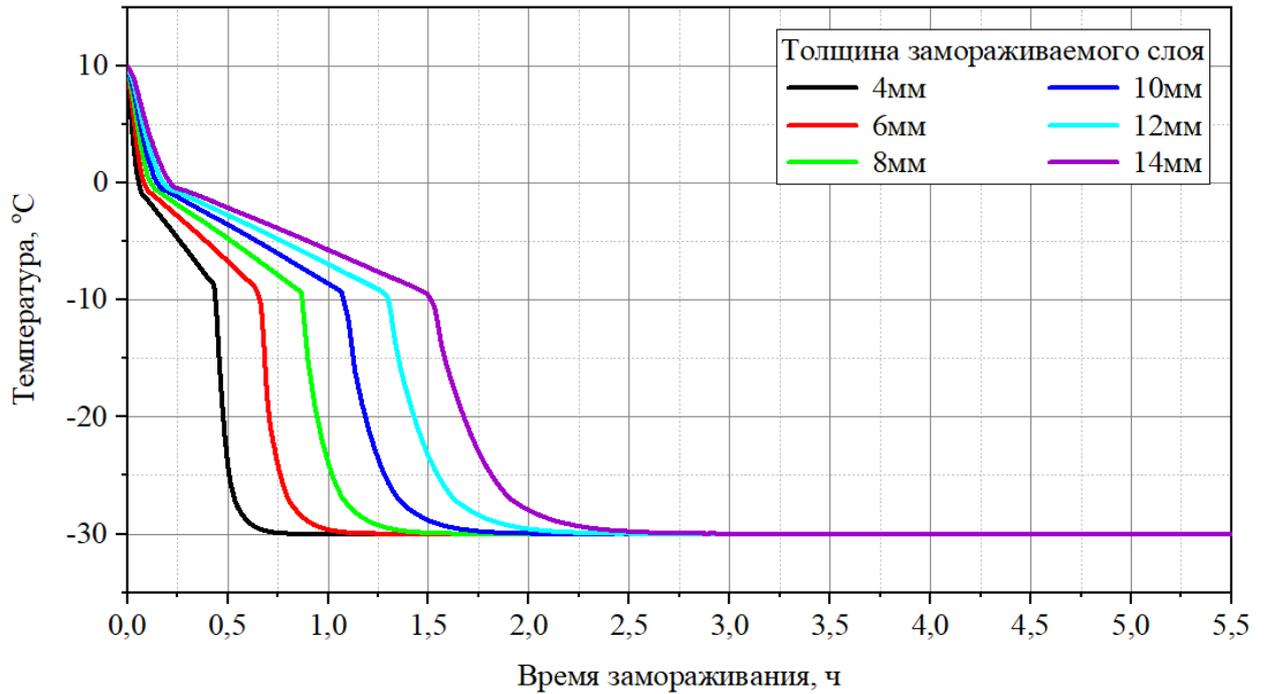


Рисунок 4.7 - Температурные кривые замораживания заквасочной суспензии при комбинированном охлаждении поддона

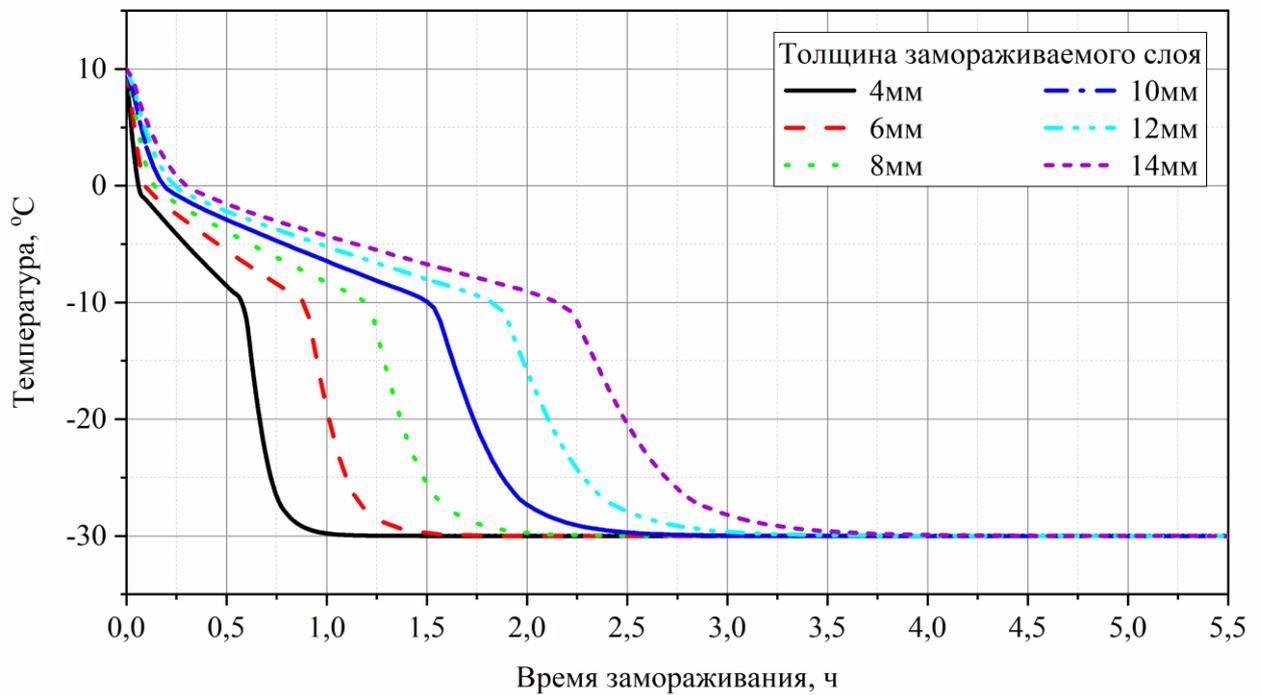


Рисунок 4.8 – Температурные кривые замораживания заквасочной суспензии при охлаждении через полку в условиях пониженного давления

Сравнение температурных зависимостей, представленных на Рисунках 4.6-4.8, показывает, что толщина слоя суспензии существенно влияет на продолжительность процесса замораживания во всех рассматриваемых режимах теплообмена. При увеличении толщины слоя возрастает тепловое сопротивление продукта, что приводит к увеличению времени достижения требуемой температуры. Так, для толщины слоя 10 мм время достижения температуры около минус 30 °С составляло порядка 3,5 ч при конвективном охлаждении, при комбинированном охлаждении – порядка 1,5 ч, а в условиях пониженного давления – около 1,7-1,8 ч. Таким образом, комбинированный режим обеспечивал наиболее быстрое замораживание продукта.

Таким образом, использование комбинированного механизма теплообмена позволяет сократить продолжительность стадии замораживания примерно в 2-2,5 раза по сравнению с чисто конвективным охлаждением. В условиях пониженного давления процесс охлаждения остается быстрее, чем при конвективном теплообмене, однако несколько уступает комбинированному режиму из-за снижения интенсивности теплообмена между воздухом и поверхностью продукта.

Полученные результаты показывают, что при промышленном производстве заквасок наибольшая эффективность замораживания достигается при использовании теплоотвода через охлаждаемую полку сублиматора. При этом увеличение толщины слоя продукта приводит к значительному росту времени охлаждения и должно учитываться при проектировании режима загрузки поддонов.

Следует отметить, что результаты моделирования имеют значение не только для оценки продолжительности стадии предварительного замораживания, но и для обеспечения сохранности молочнокислых микроорганизмов в составе заквасок. Как было показано в главе 3, температурный режим замораживания оказывает существенное влияние на жизнеспособность культур. Численное моделирование позволяет определить характер распределения температур в объеме поддона и выявить участки, в которых охлаждение протекает наиболее медленно. Это позволяет учитывать влияние толщины слоя продукта и режима теплообмена при

выборе технологических параметров замораживания перед последующей стадией сублимационной сушки.

В Приложении В приведены аналогичные зависимости для температур охлаждения минус 40, 50 и 60 °С, которые могут использоваться при планировании процесса замораживания в том случае, когда температура работы холодильной установки по технологическим причинам отличается от оптимальной температуры минус 30 °С, установленной для исследуемых культур.

#### **Выводы к Главе 4**

1. Разработана и валидирована численная модель процесса замораживания заквасочной суспензии, основанная на методах CFD-моделирования. Сравнение результатов численного моделирования с данными физического эксперимента показало хорошее совпадение температурных кривых и времени охлаждения, при этом расхождение не превышает 5 %, что подтверждает адекватность модели.

2. Получены температурные поля и кинетические зависимости охлаждения заквасочной суспензии, показывающие пространственную неоднородность процесса замораживания: периферийные области продукта охлаждаются значительно быстрее, тогда как центральная часть образца сохраняет более высокую температуру в течение длительного времени.

3. Показано, что наиболее эффективным режимом предварительного замораживания является комбинированный теплообмен, обеспечивающий сокращение продолжительности стадии замораживания примерно в 2-2,5 раза по сравнению с конвективным охлаждением и позволяющий обоснованно выбирать технологические параметры процесса при масштабировании производства заквасок.

## **ГЛАВА 5. ОПЫТНО-ПРОМЫШЛЕННАЯ АПРОБАЦИЯ ТЕХНОЛОГИИ СУБЛИМАЦИОННОЙ СУШКИ ЗАКВАСОЧНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ И ОЦЕНКА КАЧЕСТВА ГОТОВОЙ ПРОДУКЦИИ**

Настоящая глава посвящена заключительному этапу исследований – апробации разработанных режимов сублимационной сушки заквасочных микроорганизмов в условиях опытного производства. В предыдущих главах были установлены рациональные параметры предварительного замораживания и сублимационной сушки, обеспечивающие высокую сохранность молочнокислых культур. Для подтверждения практической применимости полученных результатов была проведена выработка опытно-промышленной партии сухой закваски, предназначенной для производства Мечниковской простокваши. В рамках данной главы решались задачи по проверке разработанных технологических режимов в условиях опытного производства, оценке физико-химических, микробиологических и органолептических показателей полученных сухих заквасок, а также сравнительному анализу качества кисломолочного продукта, выработанного с использованием полученных заквасочных препаратов. Проведение исследований на опытно-промышленном уровне позволяет судить о практической применимости и эффективности предложенной технологии.

### **5.1. Производство и анализ сублимированных заквасок в промышленных условиях**

Несмотря на то, что результаты предыдущих исследований показали отсутствие выраженного защитного эффекта дополнительных криопротекторов в широком диапазоне концентраций, для окончательной проверки данной гипотезы при масштабировании процесса были выбраны две защитные среды: 2,5 % глицерина и 5 % желатозы. Данный выбор позволил провести сравнительный анализ с образцами без дополнительной защитной среды и оценить влияние на конечные показатели продукта при масштабировании процесса.

Для опытно-промышленной выработки были подготовлены 3 варианта суспензии заквасочных микроорганизмов: без защитной среды, с добавлением 2,5% глицерина и с добавлением 5% желатозы. Подготовленные суспензии были разлиты в поддоны объемом по  $500 \pm 50$  мл и размещены в сублимационной установке ТГ-50 (Германия) (Рисунок 5.1). Дополнительно был подготовлен контрольный образец без криопротектора, который высушивался в аналогичной установке по технологии с традиционными режимами. Кодировка образцов представлена в Таблице 5.1. Установка с тремя опытными поддонами работала по разработанному режиму: предварительное замораживание до минус  $30^\circ\text{C}$  на охлаждаемых полках сублиматора, затем сублимация при давлении 60 Па, температуре полки  $20^\circ\text{C}$  ~24 часа. Сравнительная характеристика традиционного и экспериментального режимов сублимационной сушки представлена в Таблице 5.2.

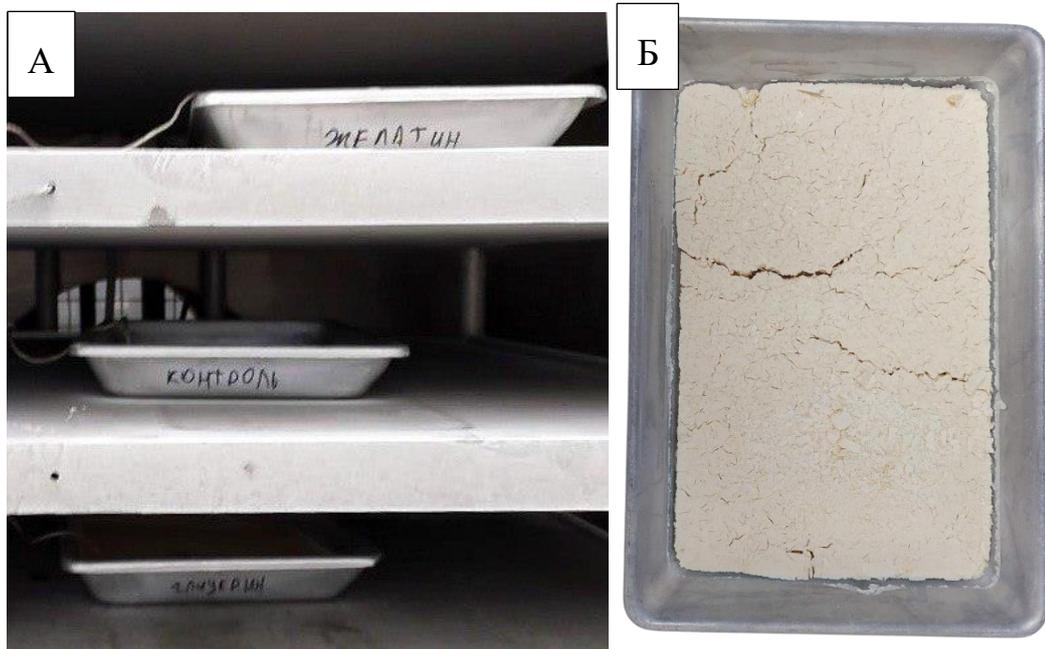


Рисунок 5.1 – Общий вид образцов в сублимационной установке ТГ-50 (А) и внешний вид высушенной закваски (Б)

Таблица 5.1 – Обозначения опытных образцов закваски

Закваска без защитной среды, выработанная по технологии с традиционными режимами	К
Закваска без защитной среды, выработанная по технологии с экспериментальными режимами	Э
Закваска с добавлением 2,5% глицерина	ЭГ2,5
Закваска с добавлением 5,0% желатозы	ЭЖ5

Таблица 5.2 – Сравнительная характеристика параметров процесса сублимационной сушки

Наименование параметра	Экспериментальные режимы	Традиционные режимы
Температура замораживания, °С	Минус 30±1	Минус 35±5
Температура полки при сублимации, °С	20±1	35±5
Время замораживания, ч	В соответствии с графиком	4,5±0,5
Давление при сублимации, Па	60...100	не более 1,3

После завершения процесса сублимационной сушки образцы извлекали из камеры установки и подвергали комплексному анализу. Результаты физико-химических и микробиологических исследований приведены в Таблице 5.3.

Таблица 5.3 – Сравнительный анализ показателей качества опытных образцов сублимированной закваски

Наименование показателя	К	Э	ЭГ2,5	ЭЖ5
Массовая доля влаги, %	4,75±0,06	4,67±0,05	5,02±0,03	5,18±0,05
Кислотность, °Т	146,5±0,92	145,8±0,75	142,2±0,54	142,5±0,67
Количество молочнокислых бактерий, КОЕ/г	5,0·10 <sup>9</sup>	7,0·10 <sup>9</sup>	5,0·10 <sup>9</sup>	5,0·10 <sup>9</sup>
Морфологическое описание	полиморфная микроструктура, представленная диплококками, палочковидными формами, а также цепочками кокков и палочек различной длины			
Внешний вид и консистенция	Однородный сухой порошок		Однородный сухой порошок, заметна склонность к образованию легко разрушаемых комков	
Вкус и запах	Чистый кисломолочный			
Цвет	Кремовый, однородный по всей массе	Светло-кремовый, однородный по всей массе		Кремовый, однородный по всей массе

Органолептическая оценка показала, что все исследованные образцы представляли собой однородный сухой порошок кремового или светло-кремового цвета с чистым кисломолочным вкусом и запахом. При этом образцы К и Э сохраняли однородную порошкообразную консистенцию, тогда как образцы с добавлением криопротекторов характеризовались образованием легко разрушаемых комков. Вероятной причиной данного явления является повышенная гигроскопичность используемых защитных сред, а также несколько более высокая влажность готовых продуктов. Так, массовая доля влаги в образцах ЭГ2,5 и ЭЖ5 составила соответственно 5,02 % и 5,18 %, что близко к предельно допустимым значениям. Полученные результаты согласуются с результатами физико-химического анализа: образцы ЭГ2,5 и ЭЖ5 характеризовались также несколько более низкими значениями титруемой кислотности по сравнению с контрольными образцами. Во всех исследованных образцах отмечалась высокая численность жизнеспособных молочнокислых бактерий. При этом наибольшее значение данного показателя наблюдалось у образца Э, полученного при применении разработанного режима сублимационной сушки без добавления криопротекторов. Морфологическое исследование показало, что микрофлора всех образцов характеризовалась полиморфной структурой, представленной диплококками, палочковидными формами, а также цепочками кокков и палочек различной длины. Существенных визуальных различий между сериями образцов выявлено не было, что свидетельствует о сохранности морфологических признаков микроорганизмов после сублимационной сушки. Значения всех показателей микробиологической безопасности заквасок не превышали допустимые уровни, установленные техническими регламентами ТР ТС 033/2013 «О безопасности молока и молочной продукции» и ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции».

Таким образом, результаты опытно-промышленной выработки показали, что применение оптимизированных режимов сублимационной сушки без использования криопротекторов позволяет получать сухие заквасочные препараты, полностью соответствующие требованиям нормативной документации.

## **5.2. Производство и оценка качества Мечниковской простокваши с использованием опытных заквасок**

Для оценки технологических свойств полученных заквасок была проведена выработка опытных партий Мечниковской простокваши после трехмесячного хранения сухих заквасок при температуре минус  $(30\pm 2)$  °С. Такой подход позволил оценить не начальную, а остаточную активность заквасок, характеризующую их способность к кислотообразованию и формированию сгустка после хранения, что имеет важное значение при практическом использовании сухих заквасочных препаратов.

Для выработки Мечниковской простокваши использовали нормализованную молочную смесь. Нормализацию по массовой доле жира осуществляли путем смешивания пастеризованного молока с массовой долей жира 2,5 % и сливок с массовой долей жира 20 % в массовом соотношении 91:9. Подготовленную смесь пастеризовали при температуре  $(90\pm 2)$  °С с выдержкой 5 мин, а затем охлаждали до температуры сквашивания  $(40\pm 1)$  °С.

Перед внесением в продукт сухие заквасочные препараты активировали путем ресуспендирования навесок в стерилизованном восстановленном обезжиренном молоке. Полученные суспензии вносили в подготовленную нормализованную смесь в количестве 3 % от массы продукта. Сквашивание проводилось при температуре  $(40\pm 1)$  °С в воздушном термостате ТС-80М-2 (ПО «МЕДЛАБОРТЕХНИКА», Украина).

Для мониторинга динамики кислотообразования на протяжении ферментации осуществлялся почасовой контроль активной и титруемой кислотности всех опытных образцов. В качестве контроля использовалась Мечниковская простокваша, выработанная с применением жидкой свежеприготовленной закваски (Рисунок 5.2).

Описательная характеристика органолептических показателей образцов представлена в Таблице 5.4. Профилограммы полученных образцов представлены на Рисунке 5.3.

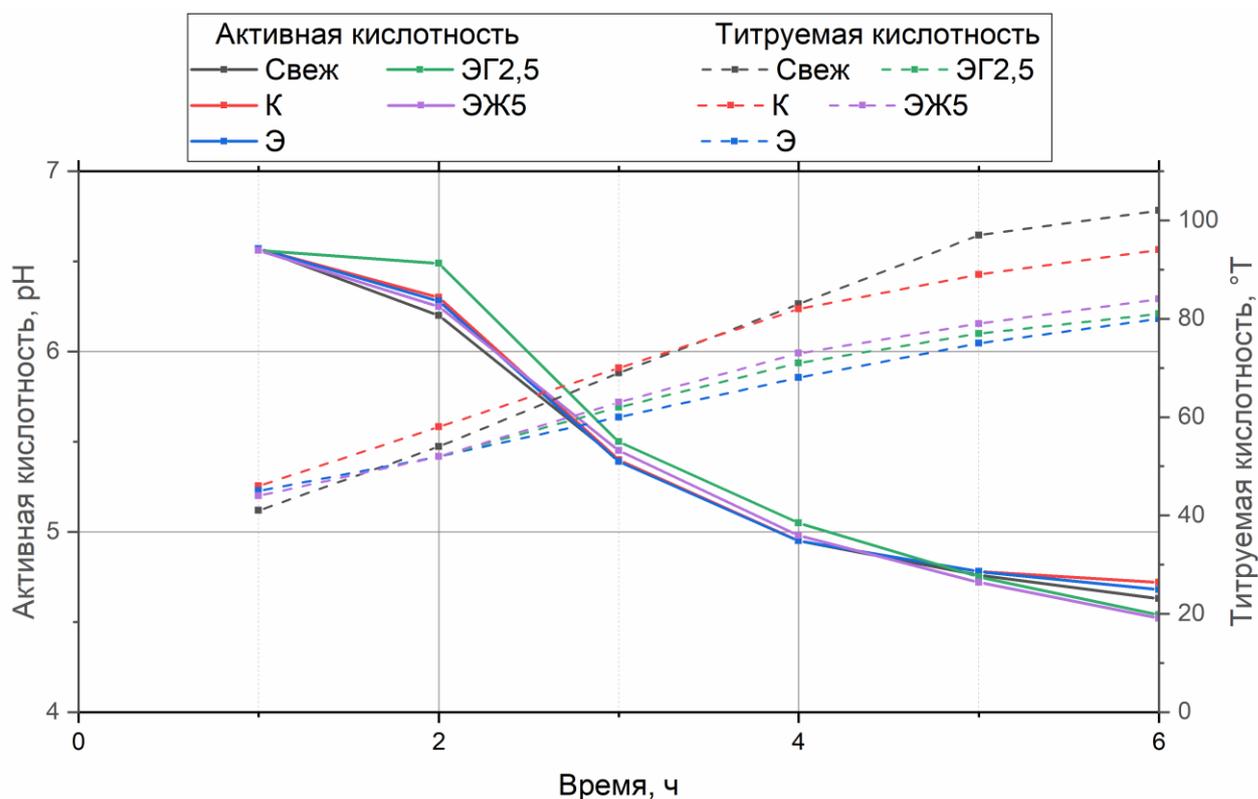


Рисунок 5.2 – Динамика изменения активной и титруемой кислотности в процессе сквашивания Мечниковской простокваши

Таблица 5.4 – Органолептические показатели исследованных образцов

Образец	Вкус и запах	Цвет	Консистенция
Свеж.	Чистые, кисломолочные, без посторонних привкусов и запахов; вкус умеренно кислый, хорошо выраженный	Молочно-белый, равномерный по всей массе	Однородная, с плотным ненарушенным сгустком
К	Чистые, кисломолочные, без посторонних привкусов и запахов; вкус выражено кислый		Достаточно плотная, незначительная крупитчатость; с незначительным отделением сыворотки
Э	Чистые, кисломолочные, без посторонних привкусов и запахов; вкус умеренно кислый, сбалансированный		Однородная, с плотным ненарушенным сгустком
ЭГ2,5	Чистые, кисломолочные, без посторонних привкусов и запахов; вкус недостаточно выраженный, мягкий		Нежная, однородная, сгусток недостаточно плотный, непрочный
ЭЖ5	Чистые, кисломолочные, без посторонних привкусов и запахов; вкус мягкий, с		Нежная, однородная, сгусток недостаточно плотный, непрочный

Образец	Вкус и запах	Цвет	Консистенция
	недостаточно выраженной кислотностью		

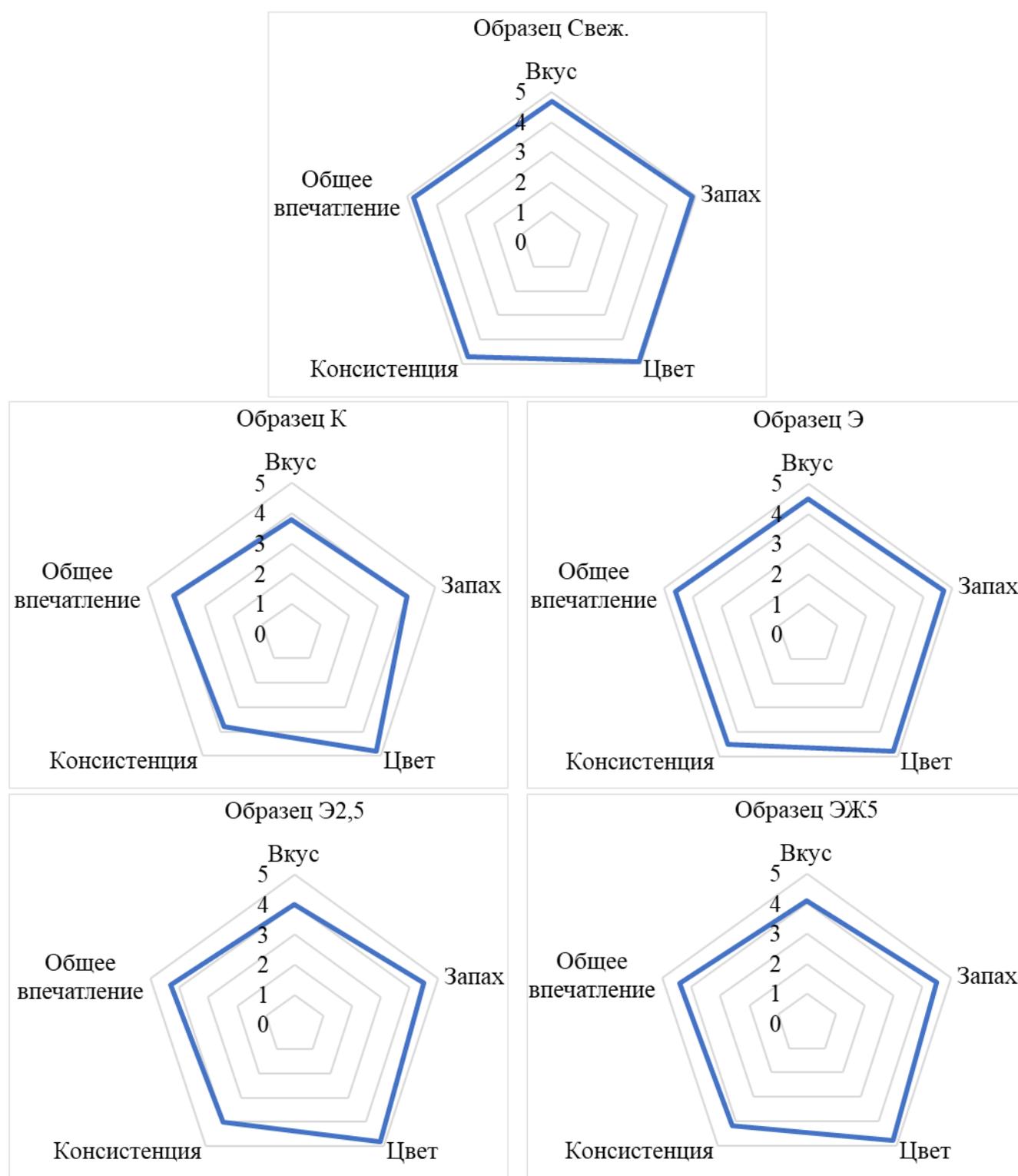


Рисунок 5.3 – Профилограммы экспериментальных образцов

Результаты исследования показали, что все исследованные образцы соответствовали требованиям нормативной документации. Образцы,

произведенные с использованием заквасок Э и К, по совокупности органолептических и физико-химических показателей были максимально близки к контрольному образцу, изготовленному с применением жидкой закваски. В то же время образцы с криопротекторами (ЭГ2,5 и ЭЖ5) формировали менее плотный сгусток и обладали менее выраженным вкусом.

Таким образом, активность восстановленных заквасок, оцененная после трехмесячного хранения, подтвердила их высокую остаточную активность. Наилучшие органолептические характеристики готового продукта были получены при использовании заквасок, высушенных по усовершенствованным режимам без криопротекторов. Полученные результаты согласуются с данными научной литературы, согласно которым для многих молочнокислых культур точная оптимизация параметров замораживания и сублимационной сушки является более значимым фактором сохранности микроорганизмов, чем применение дополнительных защитных сред

### **Выводы к Главе 5**

1. Предложенные технологические режимы предварительного замораживания и сублимационной сушки заквасочных микроорганизмов успешно апробированы в условиях опытно-промышленного производства.

2. Установлено, что применение рациональных режимов сублимационной сушки без использования криопротекторов обеспечивает получение сухой закваски с высокой численностью жизнеспособных клеток и стабильными физико-химическими показателями.

3. Подтверждена высокая остаточная технологическая активность сухих заквасок после трехмесячного хранения при температуре минус 30 °С, обеспечивающая нормальное протекание процесса сквашивания молока.

4. Показано, что использование заквасок, полученных по оптимизированным режимам сублимационной сушки, позволяет получать Мечниковскую простоквашу с органолептическими и физико-химическими характеристиками, сопоставимыми с продуктом, изготовленным с использованием жидкой закваски.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты исследования позволили усовершенствовать параметры процесса сублимационной сушки, включая режимы предварительного замораживания, что обеспечило максимальную выживаемость исследованных молочнокислых микроорганизмов и высокое качество сухой закваски при снижении энергозатрат до 30%.

1. Проведен анализ научно-технической литературы по теме исследования. Систематизирован и обобщен материал по аспектам сохранения, сушки и производства молочнокислых заквасочных культур. Выявлены основные факторы и ограничения, влияющие на жизнеспособность культур при замораживании и сублимационной сушке.

2. Экспериментально исследовано влияние режимов предварительного замораживания на выживаемость культур *S. thermophilus* и *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (индивидуально и в консорциуме). Показано, что оптимальным является замораживание до минус 30 °С; дальнейшее снижение температуры не повышает выживаемость. Быстрое (иммерсионное) охлаждение целесообразно лишь при умеренных температурах; при экстремальных температурах (минус 70 °С) оно приводит к большему повреждению клеток, чем медленное.

3. Определены оптимальные технологические параметры процесса сублимационной сушки закваски. Установлено, что температура греющих полок сублиматора 20 °С обеспечивает высокую скорость сушки без снижения выживаемости микроорганизмов. Давление в вакуумной камере в диапазоне 60-100 Па не оказывает влияния на сохранность клеток, но существенно влияет на энергозатраты. Рекомендован диапазон 60-100 Па как оптимальный компромисс между скоростью сушки и энергоэффективностью процесса.

4. Установлено, что добавление дополнительных криопротекторов в исследуемых концентрациях не приводит к значимому увеличению выживаемости заквасочных культур после сублимационной сушки, поскольку оптимальные режимы сушки сами по себе обеспечивают их сохранность >70%. Тем не менее,

использование глицерина или желатозы несколько повышает активность закваски (уменьшая время сквашивания продукта примерно на 10-15%).

5. Научно обосновано усовершенствование технологии производства отечественных сублимированных заквасочных культур для Мечниковской простокваши. Технология включает оптимизированные режимы замораживания (минус 30 °С) и сублимационной сушки (температура полка 20 °С, вакуум 60-100 Па, продолжительность 24 часа), обеспечивающие сохранение необходимого количества жизнеспособных клеток (не менее  $1 \cdot 10^9$  КОЕ/г).

6. Разработана математическая модель замораживания, валидированная на лабораторных данных, и проведены расчеты для различных толщин слоя и условий охлаждения. Полученные результаты используются для масштабирования процесса на промышленный уровень.

7. Проведен сравнительный анализ показателей Мечниковской простокваши, который показал отсутствие различий в качестве продукта, выработанного с использованием сухой закваски по усовершенствованным режимам, и продукта на основе жидкой закваски.

8. По результатам работы разработано и внедрено в промышленность: Изменение № 1 ТИ ТУ 10.89.19-098-00419785-2023 Технологическая инструкция по производству заквасок, регламентирующее уточненные параметры технологического процесса. Проведена промышленная апробация разработанных положений, по результатам которой оформлены соответствующие акты.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Андреева А. Д., Медведева О. С. Продовольственная безопасность России: состояние, тенденции, угрозы // Экономика и бизнес: теория и практика. 2024. № 6-1 (112). С. 32–36.
2. Архаров А. М. Основы криологии: энтропийно-статистический анализ низкотемпературных систем. М.: Изд-во МГТУ им. Н. Э. Баумана, 2014. 507 с.
3. Архаров А. М., Марфенина И. В., Микулин Е. И. Криогенные системы. Т. 1: Основы теории и расчета. М.: Машиностроение, 1996. 575 с.
4. Ашихмина М. С., Амбарцумов Т. Г., Иванова А. О., Орлова О. Ю. Условия, влияющие на культивирование и выживаемость при лиофилизации молочнокислых бактерий: подход к формированию базы данных // Вестник КрасГАУ. 2024. № 4 (205).
5. Банникова Л. А., Королева Н. С., Семенихина В. Ф. Микробиологические основы молочного производства. М.: Агропромиздат, 1987. 400 с.
6. Бараненко А. В. Технологии охлаждения в мировой экономике // Холодильная техника. 2018. № 2. С. 17–23.
7. Бегунова А. В. Разработка технологии пробиотического кисломолочного продукта с *Lactobacillus reuteri* LR1: дис. ... канд. техн. наук. Москва, 2021. 152 с.
8. Бегунова А. В., Рожкова И. В., Ширшова Т. И., Крысанова Ю. И. Выделение перспективных штаммов из национальных продуктов и определение их свойств // Молочная промышленность. 2020. № 5. С. 38–41; DOI: 10.31515/1019-8946-2020-05-38-40.
9. Блынская Е. В., Тишков С. В., Алексеев К. В. Технологические подходы к совершенствованию процесса лиофилизации белковых и пептидных лекарственных препаратов // Российский биотерапевтический журнал. 2017. Т. 16, № 1. С. 6–11; DOI: 10.17650/1726-9784-2017-16-1-6-11.

10. Блынская Е. В., Тишков С. В., Алексеев К. В., Марахова А. И. Вспомогательные вещества в технологии лиофилизации пептидов и белков // Фармация. 2017. Т. 66, № 1. С. 14–18.
11. Блынская Е. В., Тишков С. В., Алексеев К. В., Минаев С. В. Математические модели процесса сублимации и оптимизация режимов лиофилизации // Российский биотерапевтический журнал. 2018. Т. 17, № 3. С. 20–28; DOI: 10.17650/1726-9784-2018-17-3-20-28.
12. Большаков С. А. Холодильная техника и технология продуктов питания: учебник. М.: Академия, 2003. 303 с.
13. Борисова Г. В., Ожиганова Е. В., Бурыкина Т. П. Закваски для кисломолочных продуктов: классификация, характеристики, качество // Молочная промышленность. 2008. № 6. С. 73–74.
14. Бурков И. А., Колоколова А. Ю., Рябова А. Е. Оптимизация процесса замораживания в технологии сублимации молочнокислых заквасок // Пищевые технологии: Сб. тезисов III Международного симпозиума, Кемерово, 20–21 сентября 2024 года. Кемерово: Кемеровский гос. университет, 2024.
15. Бурков И. А., Рябова А. Е. Перспективы развития рынка молочных заквасок в России // Переработка молока. 2024. № 1 (291). С. 36–38; DOI: 10.33465/2222-5455-2024-1-36-38.
16. Бурков И. А., Рябова А. Е. Установки сублимационной сушки – существующие решения и особенности работы // Стратегия развития АПК России на основе рационального использования региональных генетических и сырьевых ресурсов: Материалы международной научно-практической конференции, Волгоград, 06–07 июня 2024 года. Волгоград: ООО «Сфера», 2024. С. 201–205.
17. Вечтомова Е. А., Орлова М. М. Влияние высоты слоя при процессе замораживания жировых эмульсий // Научные исследования. Механизмы, инновации, проблемы и их решения: сборник статей международной научной конференции, Кингисепп, 26 июля 2023 года. Санкт-Петербург: Гуманитарный национальный исследовательский институт «НАЦРАЗВИТИЕ», 2023. С. 35–36.

18. Волков М. А. Тепло- и массообменные процессы при хранении пищевых продуктов. М.: Легкая и пищевая промышленность, 1982. 272 с.
19. Галстян А. Г., Аксенова Л. М., Лисицын А. Б. и др. Современные подходы к хранению и эффективной переработке сельскохозяйственной продукции для получения высококачественных пищевых продуктов // Вестник РАН. 2019. Т. 89, № 5. С. 539–542; DOI: 10.31857/S0869-5873895539-542.
20. Ганина В. И. Рынок заквасок в России // Молочная промышленность. 2018. № 12. С. 29–30.
21. Ганина В. И., Балаболин Д. Н., Токаев Э. С. и др. Выживаемость микрофлоры заквасок при акустической заморозке // Молочная промышленность. 2019. № 11. С. 40–42; DOI: 10.31515/1019-8946-2019-11-40-42.
22. Герна Р. Хранение микроорганизмов. Т. 1 // Методы общей бактериологии / Под ред. Ф. Герхардта [и др.]. М.: Мир, 1983. 535 с.
23. Гинзбург А. С. и др. Теплофизические характеристики пищевых продуктов: справочник. М.: 1979 [1980]. 288 с.
24. Горлов И. Ф., Федотова Г. В., Мосолова Н. И. и др. Оценка современного состояния молочного производства в России // Известия Нижневолжского агроуниверситетского комплекса: Наука и высшее профессиональное образование. 2019. № 2 (54). С. 189–197; DOI: 10.32786/2071-9485-2019-02-23.
25. Грачева И. В., Осин А. В. Механизмы повреждений бактерий при лиофилизации и протективное действие защитных сред // Проблемы особо опасных инфекций. 2016. № 3. С. 5–12.
26. Гуйго Э. И., Журавская Н. К., Каухчешвили Э. И. Сублимационная сушка пищевых продуктов. М.: Пищевая промышленность, 1966. 357 с.
27. Жарко М. Ю. Разработка замороженной концентрированной закваски молочнокислых микроорганизмов: дис. ... канд. техн. наук. 2023. 118 с.
28. Занданова Т. Н. Выбор криопротекторов для замораживания бактериального концентрата симбиотической закваски // Вестник КрасГАУ. 2021. № 3 (168). С. 163–168; DOI: 10.36718/1819-4036-2021-3-163-168.

29. Ибраев А. М., Сагдеев А. А. Теоретические основы холодильной техники. Нижнекамск, 2012. 125 с.
30. Иванова Е. В., Романова Н. В., Ильина О. Ю. Применение заквасок на молоке и молокосодержащих смесях // Вестник ВГУИТ. 2021. Т. 83, № 2 (88). С. 102–107; DOI: 10.20914/2310-1202-2021-2-102-107.
31. Иванова О. А., Козлова О. В. Анализ рынка по производству молочных заквасок в России и за рубежом // Пищевые инновации и биотехнологии: Сборник тезисов XI Всероссийской научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых, Кемерово, 18 мая 2023 года. Кемерово: Кемеровский государственный университет, 2023. С. 363–365.
32. Ивкова И. А., Пиляева А. С. Современные технологии получения сухих молочных консервов высокого качества // Вестник ГАУ Северного Зауралья. 2015. № 4 (31). С. 89–94.
33. Инихов Г. С. Химия молока и молочных продуктов. 3-е изд., испр. и доп. Л.: Гос. изд-во с.-х. и колхоз.-кооп. лит-ры, 1931. 568 с.
34. Кобякова М. С., Левковская Е. В. Обзор российского рынка молочных заквасок, используемых для производства ферментированных пищевых продуктов и напитков // Современные тенденции развития аграрной науки: Сборник научных трудов международной научно-практической конференции, Брянск, 01–02 декабря 2022 года. Брянск: Брянский ГАУ, 2022. Ч. 1. С. 791–796.
35. Колодязная В. С., Румянцева О. Н., Кипрушкина Е. И. История и перспективы развития холодильной технологии пищевых продуктов // Вестник МАХ. 2023. № 1.
36. Короткая Е. В., Короткий И. А., Ибрагимова Е. А. Разработка технологии низкотемпературного консервирования термофильных молочнокислых заквасок // Техника и технология пищевых производств. 2011. № 3 (22).
37. Краснюк И. И., Тарасов В. В., Козлова Ж. М., Степанова О. И., Краснюк (мл.) И. И., Кугач В. В. Выбор криопротектора для лиофилизации тритикаина- $\alpha$  // Вестник фармации. 2019. № 1 (83). С. 49–53.

38. Кригер О. В., Носкова С. Ю. Разработка приемов длительного сохранения свойств молочнокислых микроорганизмов // Техника и технология пищевых производств. 2018. Т. 48, № 4. С. 30–38; DOI: 10.21603/2074-9414-2018-4-30-38.
39. Крумликов В. Ю., Остроумов Л. А., Сухих С. А., Кригер О. В. Подбор параметров стабилизации (замораживание и сушка) симбиотического консорциума с целью получения закваски прямого внесения // Техника и технология пищевых производств. 2016. № 3 (42). С. 25–30.
40. Локачук М. Н., Савкина О. А., Павловская Е. Н., Кузнецова Л. И. Перспективы лиофилизации заквасочных дрожжей для оптимизации сроков годности стартовых композиций для разных видов заквасок. Состояние вопроса // Хлебопечение России. 2022. № 4. С. 20–25; DOI: 10.37443/2073-3569-2022-1-4-20-25.
41. Макарова Н. В., Лямин А. В., Игнатова Д. Ф., Данчева А. С. Сублимация как способ сохранения жизнеспособности молочнокислых бактерий в кисломолочных напитках // Вестник ВСГУТУ. 2019. № 2 (73). С. 11–19.
42. Макеева И. А. Научно-методические подходы к классификации национальных молочных продуктов // Молочная промышленность. 2020. № 7. С. 16–19; DOI: 10.31515/1019-8946-2020-07-16-18.
43. Макеева И. А., Стратонова Н. В., Пряничникова Н. С., Белякова З. Ю. Вопросы стандартизации и идентификации национальных молочных продуктов // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 2021. № 4 (382). С. 10–13; DOI: 10.26297/0579-3009.2021.4.2.
44. Макеева И. А., Стратонова Н. В., Пряничникова Н. С., Белякова З. Ю. Эвристические подходы к идентификации и мониторингу национальных молочных продуктов. Часть III // Пищевая промышленность. 2021. № 1. С. 24–30; DOI: 10.24411/0235-2486-2021-10005.
45. Марухина Е., Захарова Л. Анализ заквасочных культур DVS для производства функционального йогурта термостатного // Вестник ТГЭУ. 2018. № 4 (88).

46. Мельникова Л. А., Иванова С. В., Галиуллин А. К., Макаев Х. Н. Определение жизнеспособности и сохранность биологических свойств штаммов возбудителя сапа при длительном хранении // Ученые записки Казанской государственной академии ветеринарной медицины им. Н.Э. Баумана. 2018. Т. 234, № 2. С. 137–140.
47. Нечисляев В. А., Орлова Е. В., Бахтин И. А. Универсальная защитная среда для лиофилизации пробиотических препаратов // Казанский медицинский журнал. 2010. Т. 91, № 1. С. 122–124.
48. Николаева М. А. Рынок молочных товаров: состояние и перспективы развития // Индустрия питания. 2018. Т. 3, № 3. С. 78–85.
49. Охалкина В. Ю. Методы поддержания микробных культур. Часть 2. Лиофилизация // Теоретическая и прикладная экология. 2009. № 4. С. 21–32.
50. Подбираем заквасочные культуры // Переработка молока. 2014. № 3 (173). С. 28–31.
51. Подбор криопротекторных сред для *Lactobacillus reuteri* // Молочная промышленность. 2017. № 7. С. 42–43.
52. Похиленко В. Д., Баранов А. М., Детушев К. В. Методы длительного хранения коллекционных культур микроорганизмов и тенденции развития // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Медицинские науки. 2009. № 4 (12). С. 99–121.
53. Пряничникова Н. С. Правовые основы защиты российских национальных продуктов // Молочная промышленность. 2020. № 5. С. 34–37; DOI: 10.31515/1019-8946-2020-05-34-36.
54. Роль искусственного охлаждения в мировой экономике. 29-я информационная записка о холодильных технологиях (ноябрь 2015 г.) // Холодильная техника. 2016. № 1. С. 4–11.
55. Саблина А. А., Елисеева С. А., Иващенко Ю. А., Федорова О. С. Изучение технологических свойств и перспективных способов консервирования отечественного плодового сырья // Неделя науки СПбПУ: Материалы научной

конференции с международным участием. Санкт-Петербург: СПбПУ, 2018. С. 121–124.

56. Сапожников В. Б. Тенденции рынка холодильной техники // Молочная промышленность. 2014. № 4. С. 26–28.

57. Свириденко Г. М. Бактериальные концентраты: способы применения при производстве ферментированных молочных продуктов // Молочная промышленность. 2015. № 6. С. 25–28.

58. Свириденко Г. М. Принципы подбора и входной контроль бактериальных заквасок // Переработка молока. 2015. № 1 (183). С. 22–25.

59. Свириденко Г. М. Требования к бактериальным закваскам для производства ферментируемых молочных продуктов // Сыроделие и маслоделие. 2014. № 4. С. 24–27.

60. Свириденко Г. М., Сорокина Н. П., Оносовская Н. Н. Закваски бактериальные для производства молочной продукции // Переработка молока. 2018. № 8. С. 6–10.

61. Семенихина В. Ф., Рожкова И. В. Разработка заквасок для производства кисломолочных продуктов // Молоко. Переработка и хранение. Москва: ВНИМИ, 2015. С. 31–77.

62. Семенихина В. Ф., Рожкова И. В., Раскошная Т. А., Абрамова А. А. Разработка заквасок для кисломолочных продуктов // Молочная промышленность. 2013. № 11. С. 30–31.

63. Семенов Г. В., Ермаков С. А., Краснова И. С. Вакуумная сублимационная сушка пищевых продуктов: температурные границы для рационального использования в промышленном производстве // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 2022. № 2–3 (386–387). С. 51–57; DOI: 10.26297/0579-3009.2022.2-3.10.

64. Семенов Г. В., Касьянов Г. И. Сушка сырья: мясо, рыба, овощи, фрукты, молоко: учебно-практическое пособие. Ростов-на-Дону: Издательский центр «МарТ», 2002. 112 с.

65. Семенов Г. В., Касьянов Г. И. Сушка термолабильных продуктов в вакууме – технология XXI века // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 2001. № 4 (263). С. 5–13.
66. Семенов Г. В., Краснова И. С. Сублимационная сушка. М.: ТД ДеЛи, 2021. 326 с.
67. Сидоров Ю. И. Лабораторные и пилотные лиофильные сушилки периодического действия в биотехнологии // Биотехнология. 2012. Т. 5, № 5. С. 9–16.
68. Сидоров Ю. И. Промышленные лиофильные сушилки периодического действия в биотехнологии // Биотехнология. 2012. Т. 5, № 6. С. 39–46.
69. Сидорчук А. А., Краснова А. А. Сохранность культур бактерий различных групп при длительном хранении в лиофилизованном состоянии // Российский ветеринарный журнал. Сельскохозяйственные животные. 2016. № 3. С. 22–25.
70. Соколов Ю. В., Гордиенко Ю. С. Аспекты энергоэффективности холодильных систем мясоперерабатывающих производств // Все о мясе. 2014. № 6. С. 44–48.
71. Соколова О. В., Рожкова И. В. «Нативное обогащение» молочной продукции // Инновационные технологии обогащения молочной продукции (теория и практика). Москва: Франтера, 2016. С. 143–172.
72. Сорокина Н. П. Обзор рынка бактериальных заквасок // Сыроделие и маслоделие. 2013. № 4. С. 10–13.
73. Сорокина Н. П., Кураева Е. В., Кучеренко И. В. и др. Бактериальные закваски для производства творога // Молочная промышленность. 2016. № 2. С. 36–40.
74. Сорокина Н. П., Кураева Е. В., Кучеренко И. В. История возникновения и эволюция бактериальных заквасок и способов их применения // Переработка молока. 2024. № 1 (291). С. 6–11; DOI: 10.33465/2222-5455-2024-1-6-11.
75. Сорокина Н. П., Перфильев Г. Д. Активность заквасочной микрофлоры: причины снижения и способы повышения. Методы предотвращения поражения

молочнокислых бактерий бактериофагами // Молочная промышленность. 2013. № 11. С. 32–35.

76. Титова О. А., Головач О. С., Прошкина М. Ю. [и др.] Оценка технологических характеристик консорциумов молочнокислых микроорганизмов при замораживании в жидком азоте и хранении // Актуальные вопросы переработки мясного и молочного сырья. 2020. № 14. С. 50–57; DOI: 10.47612/2220-8755-2019-14-50-57.

77. Турлий С. И. Современные тенденции развития мирового рынка молока и молочной продукции // Вестник Адыгейского гос. университета. Серия 5: Экономика. 2020. № 2 (260). С. 62–70.

78. Фомина М. Ю. Бактериальные закваски для производства творога // Вестник магистратуры. 2019. № 10-3 (97). С. 18–20.

79. Фролова М. Д. Особенности разработки лиофилизированных заквасок // Молочная промышленность. 2008. № 6. С. 70–71.

80. Фурик Н. Н., Жабанос Н. К., Василенко С. В. Сухие и замороженные концентрированные закваски // Молочная промышленность. 2016. № 3. С. 54–57.

81. Харитоновна И., Просеков А. Ю., Шрамко М. И. Изучение качественных характеристик концентратов лактобактерий в процессе криозамораживания и сублимационной сушки // Вестник СКФУ. 2015. № 2 (47). С. 87–90.

82. Хасенова А. Е., Шибасева А. К., Альжанова Г. С. и др. Разработка технологии получения молочнокислого штамма *Lactobacillus bulgaricus* с-2 перспективного для получения заквасок и биологически активных добавок // Eurasian Journal of Applied Biotechnology. 2023. № 2. С. 15–19; DOI: 10.11134/btp.2.2023.2.

83. Хуршудян С. А., Пряничникова Н. С., Рябова А. Е. Качество и безопасность пищевых продуктов. Трансформация понятий // Пищевая промышленность. 2022. № 3. С. 8–10; DOI: 10.52653/PPI.2022.3.3.001.

84. Шакуров А. В. Исследование теплообмена при охлаждении биоткани внутренних органов для проведения роботических операций: дис. ... канд. техн. наук. Москва: МГТУ им. Н. Э. Баумана, 2016. 171 с.

85. Шаркаева Г. А. Динамика производства молока в России и в мире // Теория и практика современной науки. 2025. № 2 (116).
86. Agafonkina I. V., Belozеров A. G., Berezovsky Yu. M. Thermal properties of biological tissue gel-phantoms in a wide low-temperature range // Journal of Engineering Physics and Thermophysics. 2021. Vol. 94, No. 3. P. 790–803; DOI: 10.1007/s10891-021-02356-z.
87. Alexeenko A. A., Ganguly A., Nail S. L. Computational analysis of fluid dynamics in pharmaceutical freeze-drying // Journal of Pharmaceutical Sciences. 2009. Vol. 98, No. 9. P. 3483–3494; DOI: 10.1002/jps.21862.
88. Anandharamakrishnan C. Spray-Freeze-Drying of Coffee // In: Grumezescu A. M., Holban A. M. (eds) Caffeinated and Cocoa Based Beverages. Woodhead Publishing, 2019. P. 337–366. ISBN 9780128158647; DOI: 10.1016/B978-0-12-815864-7.00010-6.
89. Barresi A. A., Rasetto V., Marchisio D. L. Use of computational fluid dynamics for improving freeze-dryers design and process understanding. Part 1: Modelling the lyophilisation chamber // European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 2018. Vol. 129. P. 30–44.
90. Bellows R. J., King C. J. Freeze-drying of aqueous solutions: Maximum allowable operating temperature // Cryobiology. 1972. Vol. 9, No. 6. P. 559–561; DOI: 10.1016/0011-2240(72)90179-4.
91. Carvalho A. S., Silva J., Ho P., Teixeira P., Malcata F. X., Gibbs P. Survival of freeze-dried *Lactobacillus plantarum* and *Lactobacillus rhamnosus* during storage in the presence of protectants // Biotechnology Letters. 2002. Vol. 24. P. 1587–1591; DOI: 10.1023/A:1020301614728.
92. Celik O.F., O’Sullivan D.J. Factors influencing the stability of freeze-dried stress-resilient and stress-sensitive strains of bifidobacteria // Journal of Dairy Science. 2013. Vol. 96, No. 6. P. 3506–3516; DOI: 10.3168/jds.2012-6327.
93. Chi H. J., Koo J. J., Kim M. Y., Joo J. Y., Chang S. S., Chung K. S. Cryopreservation of human embryos using ethylene glycol in controlled slow freezing //

Human Reproduction. 2002. Vol. 17, No. 8. P. 2146–2151; DOI: 10.1093/humrep/17.8.2146.

94. Ciurzyńska A., Lenart A. Freeze-drying – application in food processing and biotechnology: a review // Polish Journal of Food and Nutrition Sciences. 2011. Vol. 61, No. 3. P. 165–171; DOI: 10.2478/v10222-011-0017-5.

95. Corver J. The evolution of freeze-drying // Innovations in Pharmaceutical Technology. 2009. P. 66–70.

96. Desmond C., Stanton C., Fitzgerald G. F., Collins K., Ross R. P. Environmental adaptation of probiotic lactobacilli towards improvement of performance during spray drying // International Dairy Journal. 2002. Vol. 12, Issues 2–3. P. 183–190; DOI: 10.1016/S0958-6946(02)00040-7.

97. Fissore D., Gallo G., Ruggiero A. E., Thompson T. N. On the use of a micro freeze-dryer for the investigation of the primary drying stage of a freeze-drying process // European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 2019. Vol. 141. P. 121–129; DOI: 10.1016/j.ejpb.2019.05.019.

98. Fonseca F., Cenard S., Passot S. Freeze-drying of lactic acid bacteria // Methods in Molecular Biology. 2015. Vol. 1257. P. 477–488; DOI: 10.1007/978-1-4939-2193-5\_24.

99. Geidobler R., Winter G. Controlled ice nucleation in the field of freeze-drying: Fundamentals and technology review // European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics. 2013. Vol. 85, No. 2. P. 214–222; DOI: 10.1016/j.ejpb.2013.04.014.

100. Goldman J. M., More H. T., Yee O., Borgeson E., Remy B., Rowe J., Sadineni V. Optimization of primary drying in lyophilization during early-phase drug development using a definitive screening design with formulation and process factors // Journal of Pharmaceutical Sciences. 2018. Vol. 107, No. 10. P. 2592–2600; DOI: 10.1016/j.xphs.2018.06.001.

101. Jang T. H., Park S. C., Yang J. H., Kim J. Y., Seok J. H., Park U. S., Choi C. W., Lee S. R., Han J. Cryopreservation and its clinical applications // Integrative Medicine Research. 2017. Vol. 6, No. 1. P. 12–18; DOI: 10.1016/j.imr.2016.12.001.

102. Kamenik B., Hriberšek M., Zadavec M. Determination of pressure resistance of a partially stoppered vial by using a coupled CFD-0D model of lyophilization // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2022. Vol. 175. P. 53–64; DOI: 10.1016/j.ejpb.2022.04.010.
103. Kandil S., El Soda M. Influence of Freezing and Freeze-Drying on Intracellular Enzymatic Activity and Autolytic Properties of Some Lactic Acid Bacterial Strains // *Advances in Microbiology*. 2015. Vol. 5. P. 371–382; DOI: 10.4236/aim.2015.56039.
104. Kazarin P., Shivkumar G., Tharp T., Alexeenko A. A., Shang S. Lyophilization scale-up to industrial manufacturing: A modeling framework including probabilistic success prediction // *Chemical Engineering Research and Design*. 2023. Vol. 192. P. 441–455; DOI: 10.1016/j.cherd.2023.02.044.
105. Kennedy J. F., Turan N. Freeze-Drying/Lyophilization of Pharmaceutical and Biological Products / Louis Rey and Joan C. May // *Bioseparation*. 2000. Vol. 9. P. 118; DOI: 10.1023/A:1008125212856.
106. Kim G., Lee G. Validation of CFD models of urban microclimates under high temperature and humidity conditions during daytime heatwaves in dense low-rise areas // *Building and Environment*. 2024. Vol. 266. Article 112087; DOI: 10.1016/j.buildenv.2024.112087.
107. Kramer M., Sennhenn B., Lee G. Freeze drying using vacuum induced surface-freezing // *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2002. Vol. 91. P. 433–443.
108. Kullmann D., Martinez C. L., Lümke J., Huwyler J. Part I: Significant reduction of lyophilization process times by using novel matrix-based scaffolds // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2023. Vol. 184. P. 248–261; DOI: 10.1016/j.ejpb.2022.12.008.
109. Kuwayama M., Gandhi G., Kagalwala S., Ramani R. Vitrification: An Overview // In: Allahbadia G., Kuwayama M., Gandhi G. (eds) *Vitrification in Assisted Reproduction*. Springer, New Delhi, 2015; DOI: 10.1007/978-81-322-1527-1\_1.
110. Leslie S. B., Israeli E., Lighthart B., Crowe J. H., Crowe L. M. Trehalose and sucrose protect both membranes and proteins in intact bacteria during drying //

Applied and Environmental Microbiology. 1995. Vol. 61, No. 10. P. 3592–3597; DOI: 10.1128/aem.61.10.3592-3597.1995.

111. Mandawala A. A., Harvey S. C., Roy T. K., Fowler K. E. Cryopreservation of animal oocytes and embryos: Current progress and future prospects // *Theriogenology*. 2016. Vol. 86, No. 7. P. 1637–1644; DOI: 10.1016/j.theriogenology.2016.07.018.

112. Meng X. C., Stanton C., Fitzgerald G. F., Daly C., Ross R. P. Anhydrobiotics: The challenges of drying probiotic cultures // *Food Chemistry*. 2008. Vol. 106, No. 4. P. 1406–1416; DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.04.076.

113. Mohammed L., Marquez-Curtis L. A., Elliott J. A. W. Cryopreservation of human cerebral microvascular endothelial cells with glycerol // *Cryobiology*. 2023. Vol. 113. Article 104551; DOI: 10.1016/j.cryobiol.2023.104551.

114. Morgan C.A., Herman N., White P.A., Vesey G. Preservation of microorganisms by drying: a review // *Journal of Microbiological Methods*. 2006. Vol. 66. P. 183–193; DOI: 10.1016/j.mimet.2006.02.017.

115. Nickerson T.A., Coulter S.T., Jenness R. Some Properties of Freeze-Dried Milk // *Journal of Dairy Science*. 1952. Vol. 35, No. 1. P. 77–85; DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(52)93677-1.

116. Peighamardoust S. H., Golshan Tafti A., Hesari J. Application of spray drying for preservation of lactic acid starter cultures: a review // *Trends in Food Science & Technology*. 2011. Vol. 22, No. 5. P. 215–224; DOI: 10.1016/j.tifs.2011.01.009.

117. Peralta G. H., Beret V., Bürgi M., Ale E. C., Martínez L. J., Albarracín V. H., Wolf I. V., Bergamini C. V. Impact of media culture, freeze-drying and storage conditions on preservation of *Lacticaseibacillus paracasei* 90: Viability and metabolic potential as a secondary culture in semi-hard cheese // *International Dairy Journal*. 2023. Vol. 147. Article 105763; DOI: 10.1016/j.idairyj.2023.105763.

118. Perry S. F. Freeze-drying and cryopreservation of bacteria // *Molecular Biotechnology*. 1998. Vol. 9, No. 1. P. 59–64.

119. Petitti M., Barresi A. A., Marchisio D. L. CFD modelling of condensers for freeze-drying processes // *Sadhana*. 2013. Vol. 38. P. 1219–1239; DOI: 10.1007/s12046-013-0155-z.

120. Pikal M. J., Roy M. L., Shah S. Mass and Heat Transfer in Vial Freeze-Drying of Pharmaceuticals: Role of the Vial // *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1984. Vol. 73, No. 9. P. 1224–1237; DOI: 10.1002/jps.2600730910.

121. Prakash O., Nimonkar Y., Shouche Y. S. Practice and prospects of microbial preservation // *FEMS Microbiology Letters*. 2013. Vol. 339, No. 1. P. 1–9; DOI: 10.1111/1574-6968.12034.

122. Rambhatla S., Pikal M. J. Heat and mass transfer scale-up issues during freeze-drying, I: atypical radiation and the edge vial effect // *AAPS PharmSciTech*. 2003. Vol. 4, No. 2. E14; DOI: 10.1208/pt040214.

123. Ratti C. Freeze drying for food powder production // In: Bhandari B., Bansal N., Zhang M., Schuck P. (eds) *Handbook of Food Powders*. 2nd ed. Woodhead Publishing, 2024. P. 37–56. ISBN 9780323988209.

124. Saarela M., Virkajärvi I., Alakomi H.-L., Sigvart-Mattila P., Mättö J. Influence of fermentation time, cryoprotectant and neutralization of cell concentrate on freeze-drying survival, storage stability, and acid and bile exposure of *Bifidobacterium animalis ssp. lactis* cells // *Journal of Applied Microbiology*. 2005. Vol. 99, No. 6. P. 1330–1339; DOI: 10.1111/j.1365-2672.2005.02742.x.

125. Sahni E., Van Meervenne B., Schneid S., Dekner M., Bedi S., Tang X., Hamilton D. A., McGarvey O., Frei M., Zinfollino N., Vilanova Velez E., Gosmer M., Hill D. Lyophilizer Leak Rate Testing – An Industry Survey and Best Practice Recommendation // *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2022. Vol. 111, No. 10. P. 2714–2718; DOI: 10.1016/j.xphs.2022.06.025.

126. Santivarangkna G., Higl B., Foerst P. Protection mechanisms of probiotics during drying // *Food Research International*. 2008. Vol. 41. P. 127–138; DOI: 10.1016/j.foodres.2007.09.003.

127. Santivarangkna G., Kulozik U., Foerst P. Inactivation mechanisms of lactic acid starter cultures preserved by drying processes // *Journal of Applied Microbiology*. 2008. Vol. 105, No. 1. P. 1–13; DOI: 10.1111/j.1365-2672.2008.03744.x.

128. Scutellà B., Plana-Fattori A., Passot S., Bourlès E., Fonseca F., Flick D., Trélea I. C. 3D mathematical modelling to understand atypical heat transfer observed in

vial freeze-drying // *Applied Thermal Engineering*. 2017. Vol. 126. P. 226–236; DOI: 10.1016/j.applthermaleng.2017.07.096.

129. Seiler V. K., Weber S., Börner M., Witting M., Ehlers S., Nagel N. In-situ investigation of solid phase evolution during lyophilization of mannitol-based antibody formulations using an XRPD climate chamber // *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. 2023. Vol. 184. Article 106407; DOI: 10.1016/j.ejps.2023.106407.

130. Sheehan P., Liapis A. I. Modeling of the primary and secondary drying stages of the freeze drying of pharmaceutical products in vials: numerical results obtained from the solution of a dynamic and spatially multi-dimensional lyophilization model for different operational policies // *Biotechnology and Bioengineering*. 1998. Vol. 60, No. 6. P. 712–728; DOI: 10.1002/(SICI)1097-0290(19981220)60:6<712::AID-BIT8>3.0.CO;2-4.

131. Shivkumar G., Kazarin P. S., Strongrich A. D., Alexeenko A. A. LyoPRONTO: an open-source lyophilization process optimization tool // *AAPS PharmSciTech*. 2017. Vol. 20. Article 328; DOI: 10.1208/s12249-019-1532-7.

132. Smith D., Ryan M. J., Stackebrandt E. The ex situ conservation of microorganisms: aiming at a certified quality management // *Encyclopedia of Life Sciences*. 2008. Available online: EoLSS web site.

133. Strongrich A., Alexeenko A. Wireless sensor networks for pharmaceutical lyophilization: Quantification of local gas pressure and temperature in primary drying // *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 2021. Vol. 169. P. 52–63; DOI: 10.1016/j.ejpb.2021.09.005.

134. Stull J. W., Herreid E. O. A New Lyophilizing Apparatus // *Journal of Dairy Science*. 1949. Vol. 32, No. 12. P. 973–976; DOI: 10.3168/jds.S0022-0302(49)92149-9.

135. Sukhikh S. A., Krumlikov V. Y., Evsukova A. O. и др. Formation and study of symbiotic consortium of lactobacilli to receive a direct application starter // *Foods and Raw Materials*. 2017. Vol. 5, No. 1. P. 51–62; DOI: 10.21179/2308-4057-2017-1-51-62.

136. Tindall B. J. Vacuum-Drying and Cryopreservation of Prokaryotes // In: Day J.G., Stacey G.N. (eds.) *Cryopreservation and Freeze-Drying Protocols*. Methods in

Molecular Biology™, Vol. 368. Humana Press, 2007; DOI: 10.1007/978-1-59745-362-2\_5.

137. Uzunova-Doneva T., Donev T. Anabiosis and conservation of microorganisms // Journal of Culture Collections. 2004–2005. Vol. 4. P. 17–28.

138. Velardi S. A., Barresi A. A. Development of simplified models for the freeze-drying process and investigation of the optimal operating conditions // Chemical Engineering Research and Design. 2008. Vol. 86, No. 1. P. 9–22; DOI: 10.1016/j.cherd.2007.10.007.

139. Wallen A. J., Van Ocker S. H., Sinacola J. R., Phillips B. R. The effect of loading process on product collapse during large-scale lyophilization // Journal of Pharmaceutical Sciences. 2009. Vol. 98, No. 3. P. 997–1004; DOI: 10.1002/jps.21491.

140. Wang G.-Q., Pu J., Yu X.-Q., Xia Y.-J., Ai L.-Z. Influence of freezing temperature before freeze-drying on the viability of various *Lactobacillus plantarum* strains // Journal of Dairy Science. 2020. Vol. 103, No. 4. P. 3066–3075; DOI: 10.3168/jds.2019-17685.

141. Wang Y., Chen H.-C., Koop A., Vaz G. Hydrodynamic response of a FOWT semi-submersible under regular waves using CFD: Verification and validation // Ocean Engineering. 2022. Vol. 258. Article 111742; DOI: 10.1016/j.oceaneng.2022.111742.

142. Wang Y., Grainger D. W. Lyophilized liposome-based parenteral drug development: Reviewing complex product design strategies and current regulatory environments // Advanced Drug Delivery Reviews. 2019. Vols. 151–152. P. 56–71; DOI: 10.1016/j.addr.2019.03.003.

143. Wowk B. Thermodynamic aspects of vitrification // Cryobiology. 2010. Vol. 60, No. 1. P. 11–22; DOI: 10.1016/j.cryobiol.2009.05.007.

144. Yoon K., Narsimhan V. Comparison of vial heat transfer coefficients during the primary and secondary drying stages of freeze-drying // International Journal of Pharmaceutics. 2023. Vol. 635. Article 122746; DOI: 10.1016/j.ijpharm.2023.122746.

145. Zamora L. M., Carretero C., Pares D. Comparative survival rates of lactic acid bacteria isolated from blood, following spray-drying and freeze-drying // Food Science and Technology International. 2006. Vol. 12. P. 77–84.

146. Zayed G., Roos Y. H. Influence of trehalose and moisture content on survival of *Lactobacillus salivarius* subjected to freeze-drying and storage // *Process Biochemistry*. 2004. Vol. 39, No. 9. P. 1081–1086; DOI: 10.1016/S0032-9592(03)00202-0.

147. Ziadi M., Touhami Y., Achour M., Thonart P., Hamdi M. The effect of heat stress on freeze-drying and conservation of *Lactococcus* // *Biochemical Engineering Journal*. 2005. Vol. 24, No. 2. P. 141–145; DOI: 10.1016/j.bej.2005.02.001.

148. Özer B. H., Kirmaci H. A. Functional milks and dairy beverages // *International Journal of Dairy Technology*. 2010. Vol. 63, No. 1. P. 1–15; DOI: 10.1111/j.1471-0307.2009.00547.x.

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



## СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации программы для ЭВМ

№ 2024667794

«ПРОГРАММА УПРАВЛЕНИЯ ТЕМПЕРАТУРНЫМ  
ЛОГГЕРОМ»

Правообладатель: **ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ  
АВТОНОМНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ИНСТИТУТ МОЛОЧНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ» (RU)**

Авторы: **Бурков Иван Александрович (RU), Рябова Анастасия  
Евгеньевна (RU), Пряничникова Наталия Сергеевна (RU)**

Заявка № 2024666136

Дата поступления 09 июля 2024 г.

Дата государственной регистрации

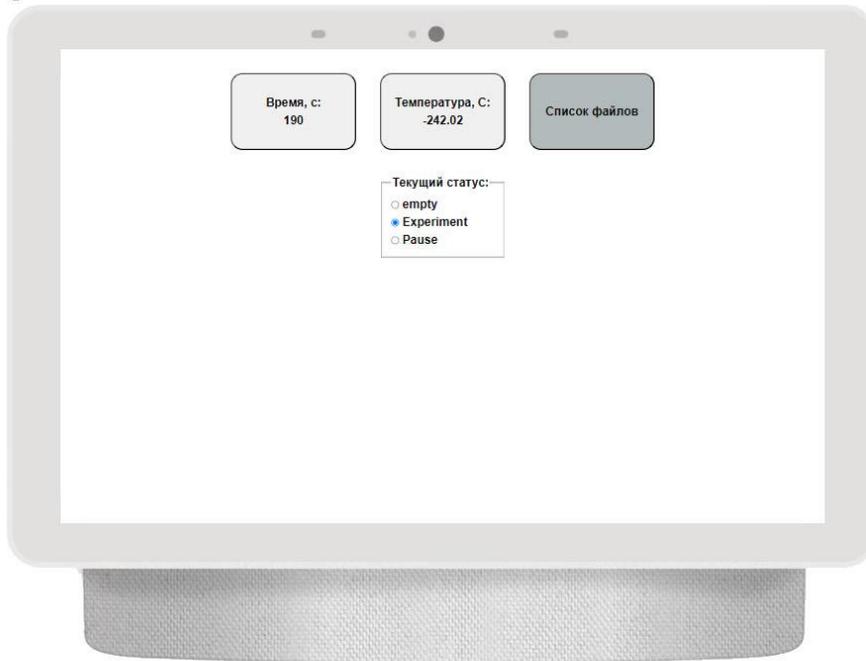
в Реестре программ для ЭВМ 30 июля 2024 г.



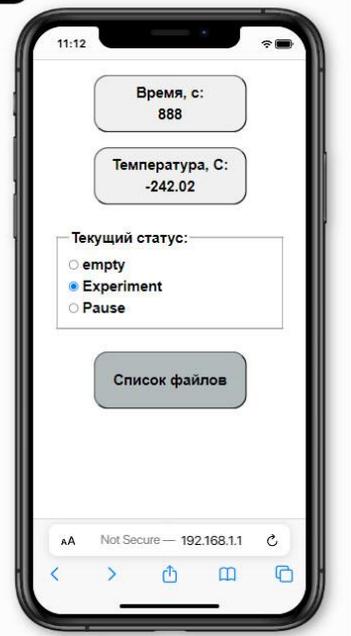
Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

Ю.С. Зубов

А



Б



В



РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



## СВИДЕТЕЛЬСТВО

о государственной регистрации программы для ЭВМ

№ 2025662935

### «ПРОГРАММА УПРАВЛЕНИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ УСТАНОВКОЙ СУБЛИМАЦИОННОЙ СУШКИ»

Правообладатель: **ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ  
АВТОНОМНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ  
ИНСТИТУТ МОЛОЧНОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ» (RU)**

Авторы: **Бурков Иван Александрович (RU), Рябова Анастасия  
Евгеньевна (RU), Пряничникова Наталия Сергеевна (RU)**

Заявка № **2025660449**

Дата поступления **29 апреля 2025 г.**

Дата государственной регистрации

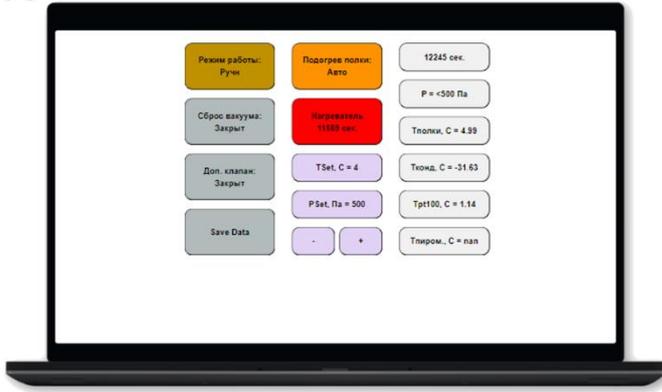
в Реестре программ для ЭВМ **23 мая 2025 г.**

Руководитель Федеральной службы  
по интеллектуальной собственности

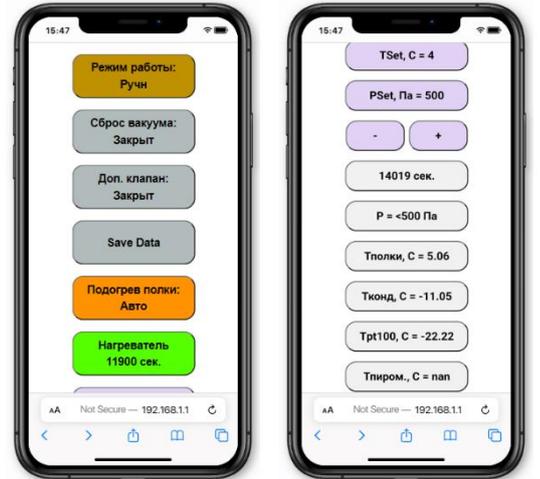
Ю.С. Зубов



A



Б



В



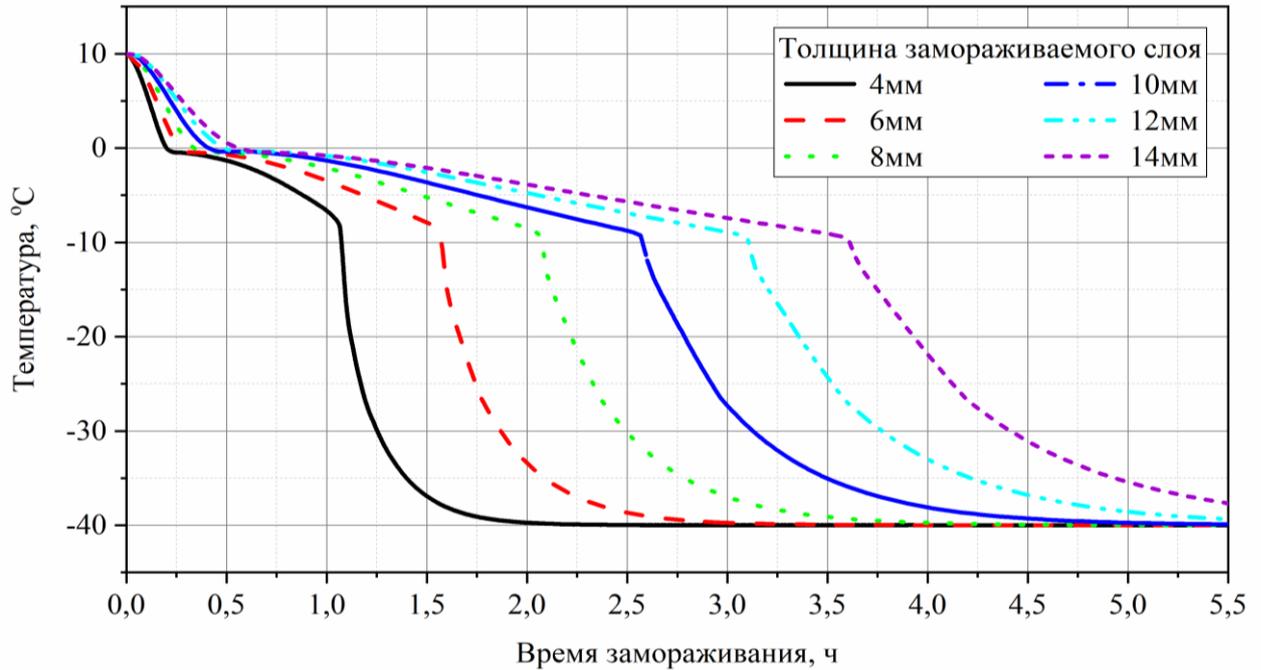


Рисунок В.1 - Зависимость температуры при замораживании от толщины слоя суспензии в поддоне при конвективном охлаждении с температурой воздуха минус 40 °C

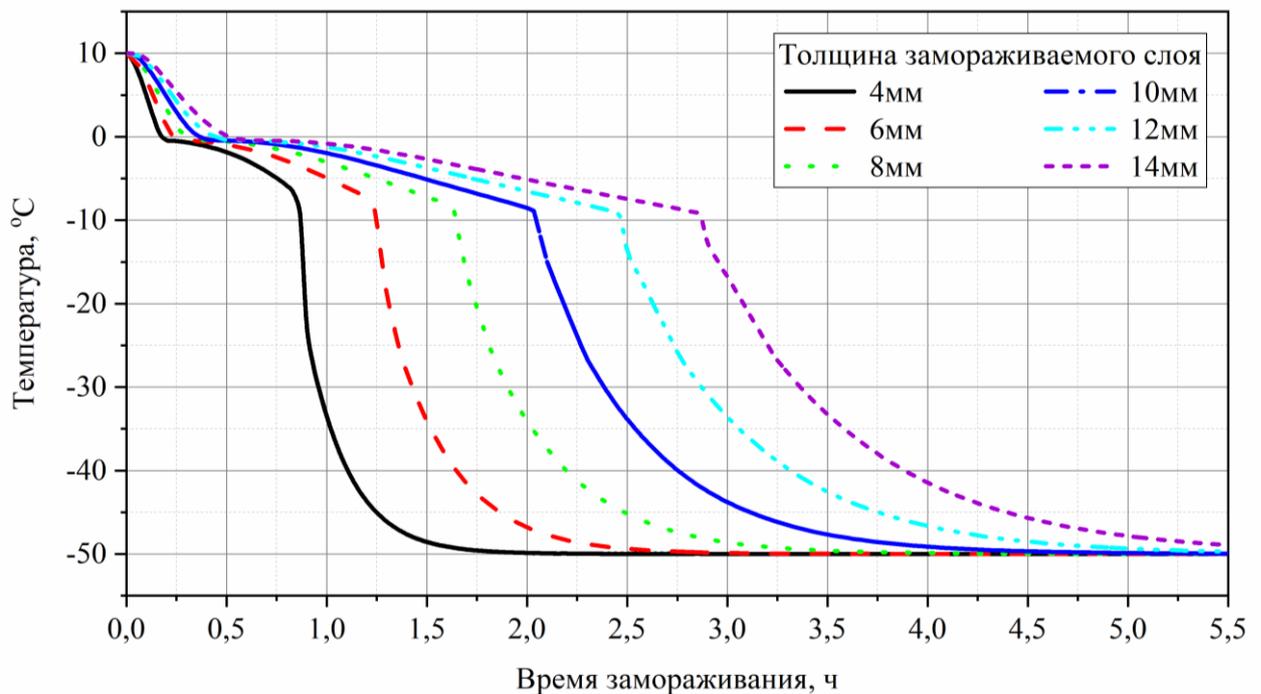


Рисунок В.2 - Зависимость температуры при замораживании от толщины слоя суспензии в поддоне при конвективном охлаждении с температурой воздуха минус 50 °C

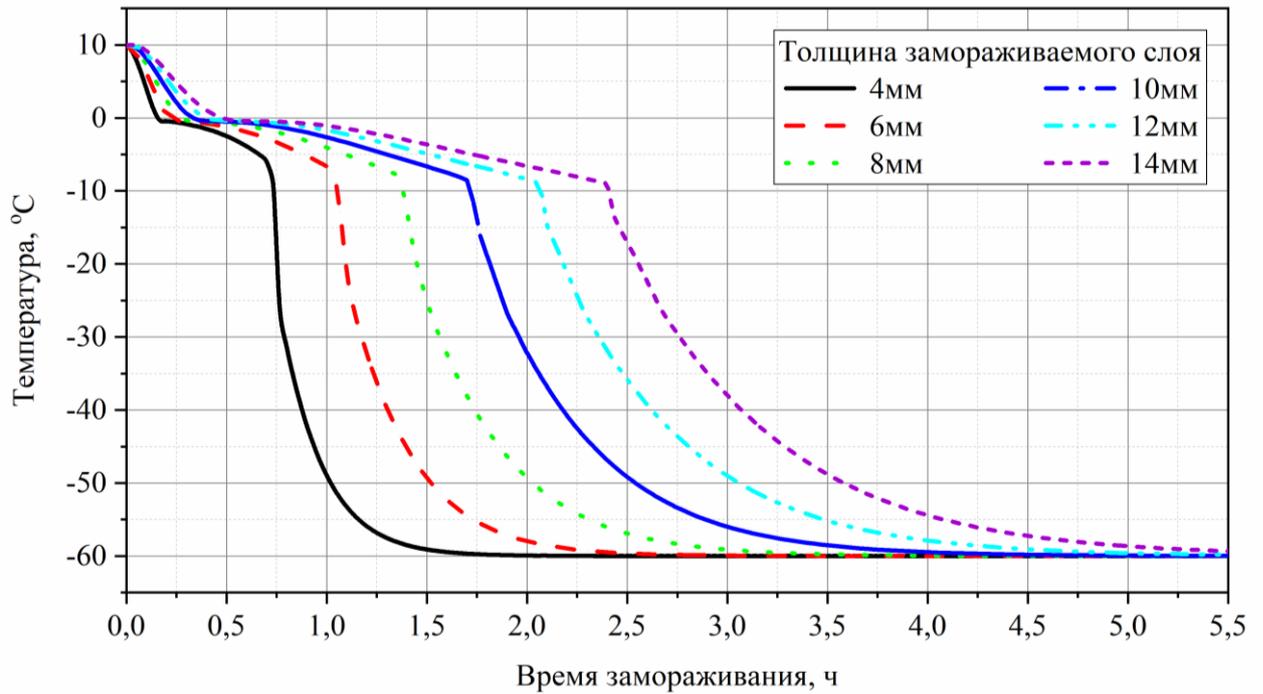


Рисунок В.3 - Зависимость температуры при замораживании от толщины слоя суспензии в поддоне при конвективном охлаждении с температурой воздуха минус 60 °C

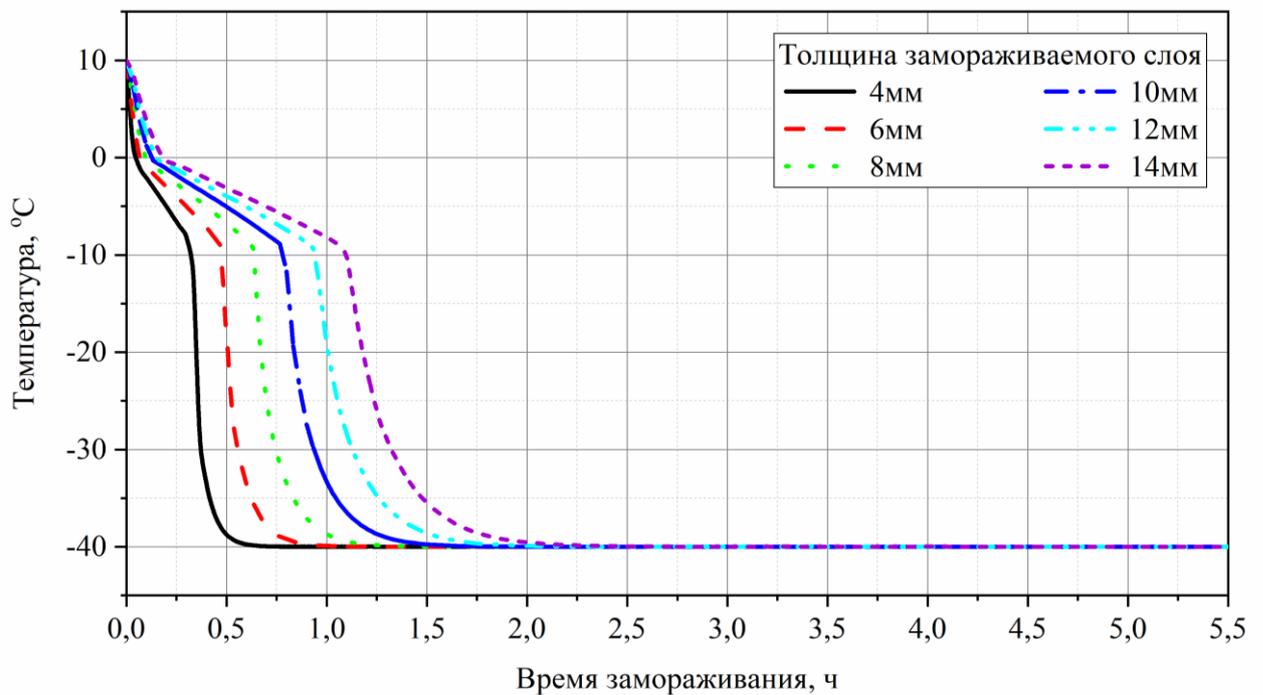


Рисунок В.4 - Зависимость температуры при замораживании от толщины слоя суспензии в поддоне при кондуктивном охлаждении с температурой воздуха минус 40 °C

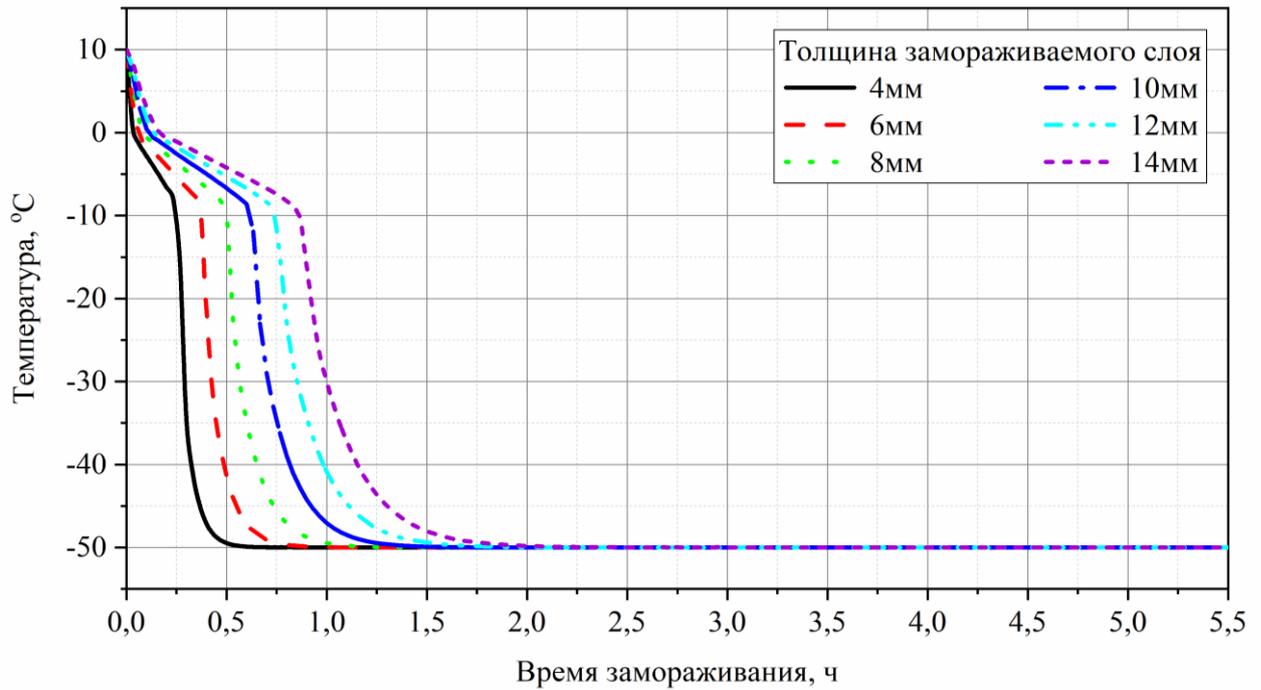


Рисунок В.5 - Зависимость температуры при замораживании от толщины слоя суспензии в поддоне при кондуктивном охлаждении с температурой воздуха минус  $50\text{ }^{\circ}\text{C}$

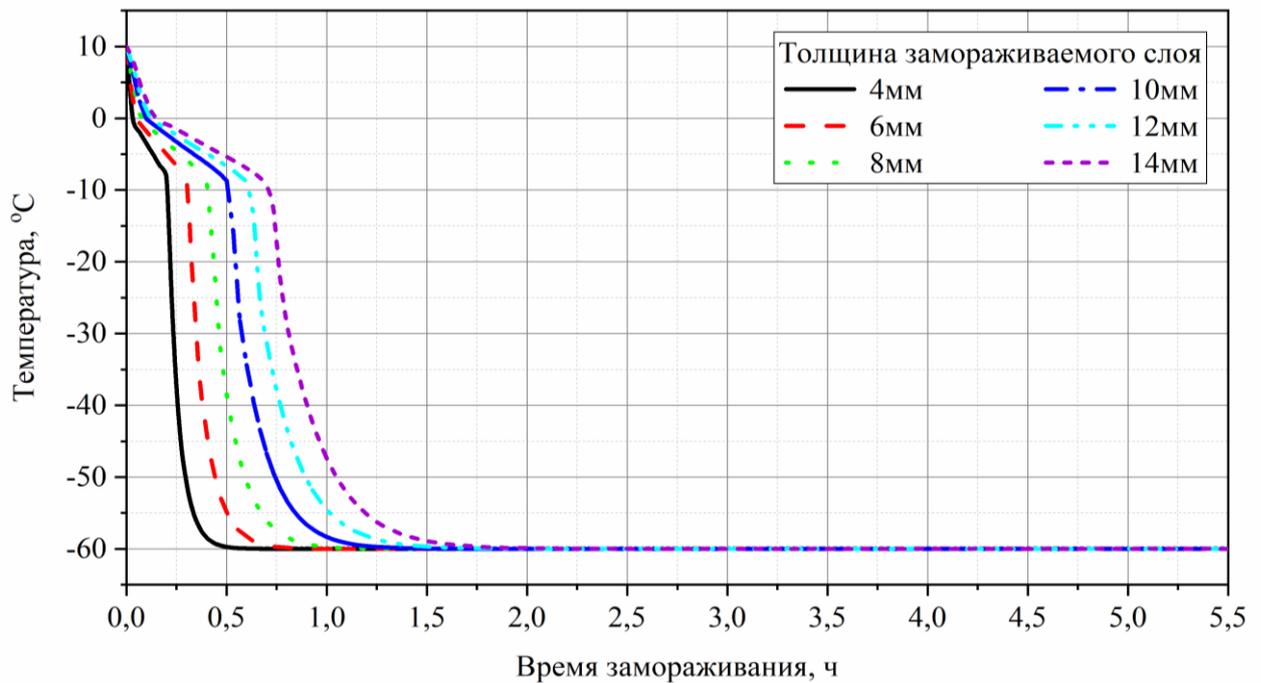


Рисунок В.6 - Зависимость температуры при замораживании от толщины слоя суспензии в поддоне при кондуктивном охлаждении с температурой воздуха минус  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$

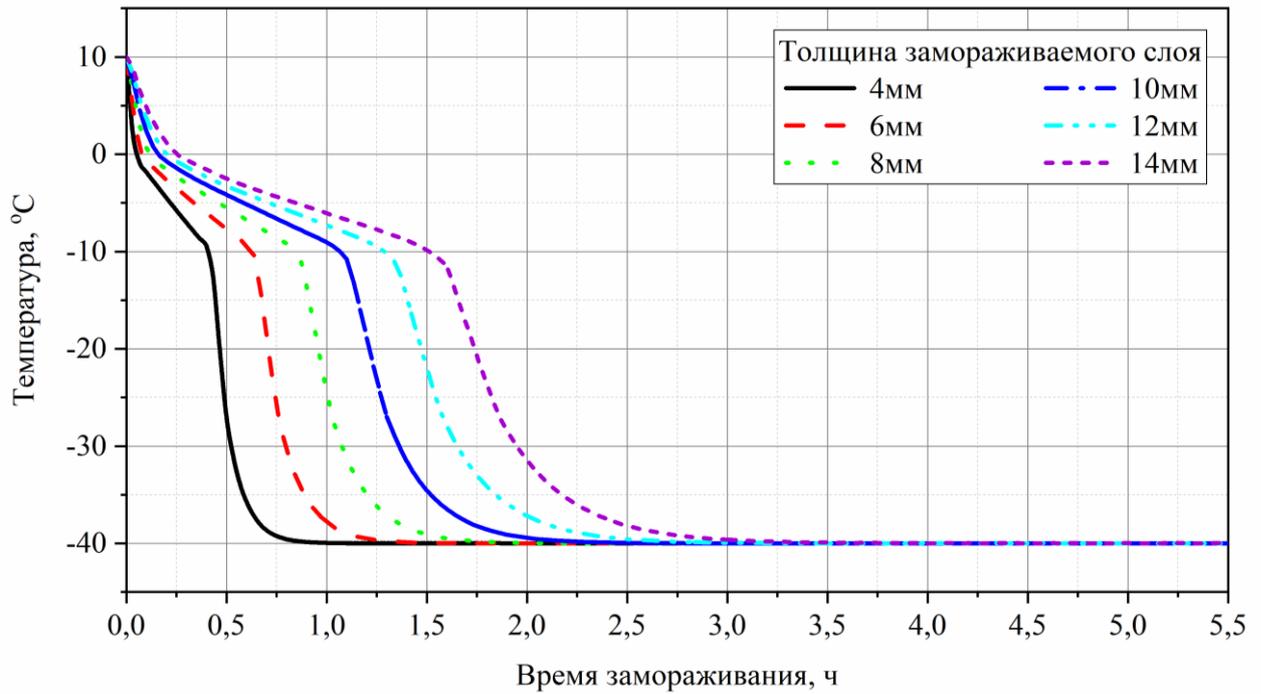


Рисунок В.7 - Зависимость температуры при замораживании от толщины слоя суспензии в поддоне при кондуктивном охлаждении в вакууме с температурой воздуха минус 40 °C

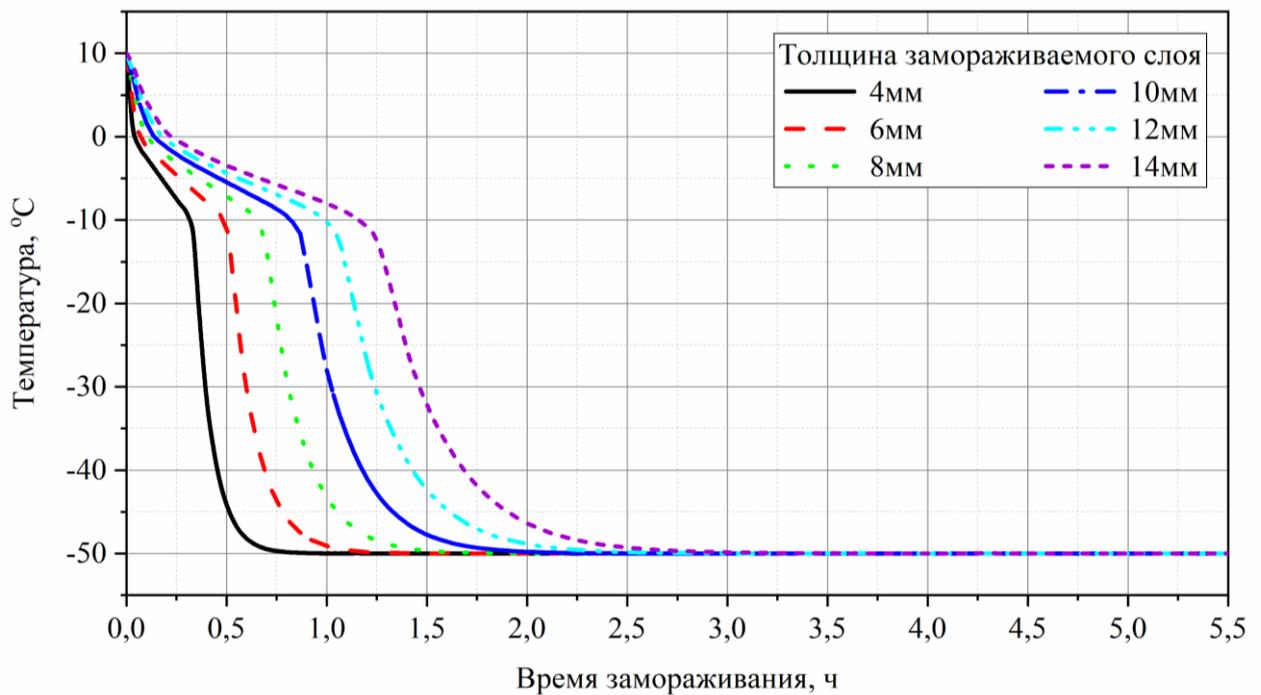


Рисунок В.8 - Зависимость температуры при замораживании от толщины слоя суспензии в поддоне при кондуктивном охлаждении в вакууме с температурой воздуха минус 50 °C

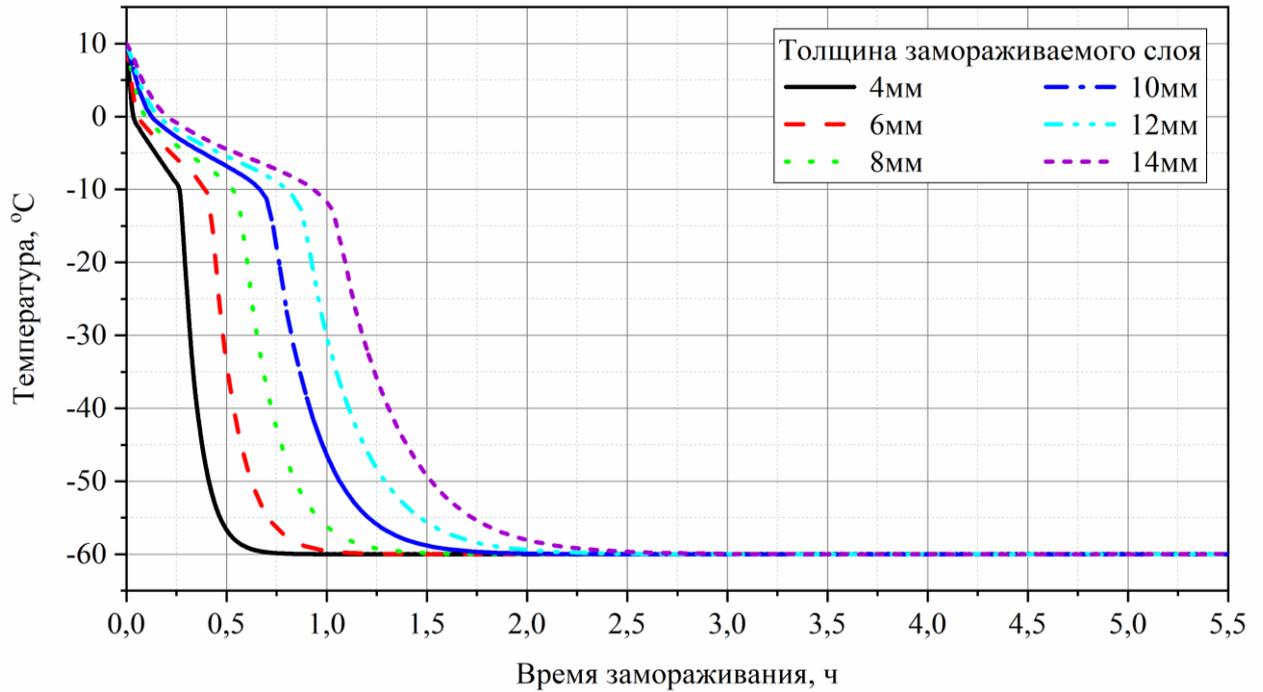


Рисунок В.9 - Зависимость температуры при замораживания от толщины слоя суспензии в поддоне при кондуктивном охлаждении в вакууме с температурой воздуха минус 60 °С

Федеральное государственное автономное научное учреждение  
«Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности»  
(ФГАНУ «ВНИМИ»)

УТВЕРЖДАЮ

Директор ФГАНУ «ВНИМИ»

А.Г. Галстян

личная подпись

2025 г.



**ИЗМЕНЕНИЕ № 1**

**ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ИНСТРУКЦИЯ**

по производству заквасок

**ТИ ТУ 10.89.19-098-00419785-2023**

Дата введения в действие – 01.08.2025 г.

РАЗРАБОТАНО:

Заместитель заведующего лабораторией  
прикладной микробиологии и геномики  
микроорганизмов

 И. В. Рожкова

Младший научный сотрудник лабора-  
тории прикладной микробиологии и геноми-  
ки микроорганизмов

 В. А. Семенова

Аспирант

 И.А. Бурков

115093, г. Москва, ул. Люсиновская, д. 35, корп. 7

2025



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ МОЛОЧНОЙ  
ПРОМЫШЛЕННОСТИ» (ФГАНУ «ВНИМИ»)



ОГРН 1037739374672 | ОКПО 00419785 | ИНН 7705009252 | КПП 770501001  
Люсиновская ул., д. 35, к. 7, Москва, 115093, www.vnimi.org, info@vnimi.org, (499) 236-31-64

### АКТ

#### проведения опытно-промышленной выработки сухой закваски для Мечниковской простокваши

Настоящим подтверждаем, что в период с 9 по 23 января 2025 года в промышленных условиях ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» была проведена опытно-промышленная выработка сухой закваски для Мечниковской простокваши с применением усовершенствованных режимов предварительного замораживания и сублимационной сушки, разработанных в рамках диссертационного исследования Буркова И.А.

Выработка производилась из жидкой закваски, содержащей культуры *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* в соотношении 4:1. Указанное соотношение сохранялось на всех этапах сублимационной сушки и хранения. Процесс сублимации проводился на установках ТГ-50 при температуре полки при замораживании – минус 30 °С, температуре полки при сублимации – 20 °С, давлении в камере – 60 Па и продолжительности сублимации 24 часа. В результате было выработано 3 опытные партии по 5,00 ± 0,05 кг сухой закваски каждая.

Готовая сухая закваска была упакована в герметичные пакеты и размещена на хранение при температуре минус (18±1) °С. Контроль качества проводился непосредственно после выработки, а также в процессе хранения на 1, 3 и 6 месяц.

Проведенные исследования подтвердили стабильность химических и микробиологических показателей в течение срока хранения. Динамика показателей сухой закваски представлена в таблице:

Период хранения	После выработки	1 мес.	3 мес.	6 мес.
Наименование показателя	2	3	4	5
1	2	3	4	5
Внешний вид и консистенция	Однородный сухой порошок			
Цвет	Кремовый, однородный по всей массе			
Вкус и запах	Чистый кисломолочный			
Кислотность, °Т	137,67±0,67	137,89±0,59	137,44±0,84	137,67±0,44
Массовая доля влаги, %	4,77±0,08	4,77±0,04	4,79±0,06	4,80±0,07
Продолжительность сквашивания при (43±1) °С, ч	8±0,5			
Количество молочнокислых бактерий, КОЕ/г, не менее	10 <sup>9</sup>	10 <sup>9</sup>	10 <sup>9</sup>	10 <sup>9</sup>

1	2	3	4	5
Количество дрожжей и плесневых грибов, КОЕ/г, не более	Не обнаружено			
БГКП в 1,0 г закваски				
S. aureus в 1,0 г закваски				
Патогенные микроорганизмы, в том числе сальмонеллы, в 10,0 г закваски				

На основании проведенных опытно-промышленных выработок и подтвержденной стабильности продукта при хранении было разработано, утверждено и введено в действие Изменение №1 к Технологической инструкции по производству заквасок ТИ ТУ 10.89.19-098-00419785-2023, которое закрепляет применение усовершенствованных режимов, обеспечивающих стабильность продукции при промышленном производстве и хранении.

Комиссия подтверждает, что примененные усовершенствованные режимы сублимационной сушки позволяют гарантированно получать сухую закваску для Мечниковской простокваши, соответствующую всем установленным нормативным требованиям, и рекомендует к внедрению в промышленное производство.

Члены комиссии:

Директор

Зам. зав. лаб. прикладной микробиологии и геномики микроорганизмов

Ст. науч. сотр. лаб технологий биотрансформации и консервирования

Аспирант

Инженер-технолог

Инженер-технолог

 Галстян А.Г.  
 Рожкова И.В.  
 Рябова А.Е.  
 Бурков И.А.  
 Мурадян М.Р.  
 Бавин И.В.

ООО «АлтаЛакт»  
ИНН 2221177828  
КПП 771701001



129626, г. Москва,  
пр-т Мира, д. 104, стр. 2  
тел./факс: +7 (495) 785-09-13  
e-mail: office@altalact.ru, msk@altalact.ru

**АКТ**  
**апробации результатов диссертационного исследования**  
**(опытно-промышленной выработки)**

Комиссия в составе:

главный технолог, к.с.-х.н. Кашина Е.Д. (ООО «АлтаЛакт»),  
младший научный сотрудник, Семенов В.А. (ФГАНУ «ВНИМИ»),  
аспирант, Бурков И.А. (ФГАНУ «ВНИМИ»),

составила настоящий акт о том, что в период с 22 по 30 сентября 2025 г. в промышленных условиях ООО «АлтаЛакт» проведена опытно-промышленная выработка сухой закваски для кисломолочных продуктов (консорциум культур *Str. thermophilus* и *L. delbrueckii subsp. bulgaricus* в соотношении 4:1) в соответствии с **Изменением № 1** (дата введения в действие – 01.08.2025 г.) к технологической инструкции по производству заквасок **ТИ ТУ 10.89.19-098-00419785-2023**.

В указанный период выработано 12 кг сухой закваски (3 партии по 4 кг каждая).

Полученная продукция исследовалась непосредственно после окончания процесса выработки, а также при хранении в течение 3 месяцев с периодичностью 1 раз в месяц по нормируемым показателям качества и безопасности.

По результатам проведенных исследований установлено, что сухая закваска, произведенная в соответствии с ТИ ТУ 10.89.19-098-00419785-2023 (Изменение № 1), соответствует требованиям нормативно-технической документации по органолептическим, физико-химическим, биохимическим и микробиологическим показателям, а именно: массовая доля влаги – 4,7 %; количество молочнокислых бактерий – не менее  $1 \cdot 10^9$  КОЕ/г; бактерии группы кишечной палочки, *S. aureus*, патогенные микроорганизмы, в том числе *Salmonella spp.*, не обнаружены; температура сквашивания –  $(43 \pm 2)^\circ\text{C}$ ; продолжительность сквашивания – 8 ч; кислотность – 136 °Т.

Комиссией установлено, что применение уточненных режимов предварительного замораживания и сублимационной сушки сухой закваски, предусмотренных ТИ ТУ 10.89.19-098-00419785-2023 (Изменение № 1), обеспечивает получение продукции, соответствующей требованиям нормативно-технической документации.

Результаты проведенных исследований подтверждают, что указанные технологические режимы обеспечивают стабильность показателей качества продукции в процессе выработки и хранения.

Комиссия считает целесообразным рекомендовать уточненные режимы предварительного замораживания и сублимационной сушки к внедрению в промышленное производство. Работы по внесению соответствующих изменений в технологическую документацию начаты.



Кашина Е.Д.  
Семенов В.А.  
Бурков И.А.





# СЕРТИФИКАТ

подтверждает участие

**Буркова  
Ивана Александровича**

**в работе ВСЕРОССИЙСКОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ  
КОНФЕРЕНЦИИ «БИОТЕХНОЛОГИЯ И БИОИНЖЕНЕРИЯ В  
ПИЩЕВОЙ, КОСМЕТИЧЕСКОЙ И ФАРМИНДУСТРИИ:  
ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ», прошедшей  
в рамках II ВСЕРОССИЙСКОГО НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОГО  
КОНГРЕССА С МЕЖДУНАРОДНЫМ УЧАСТИЕМ  
«БИОТЕХНОЛОГИЯ И УСТОЙЧИВОЕ РАЗВИТИЕ»**

  
Н.В. Жукова

И.о. ректора  
ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет  
(РОСБИОТЕХ)»  
20-21.11.2024  
г. Москва

