

ЛОКАЧУК МАРИНА НИКОЛАЕВНА

**ИССЛЕДОВАНИЯ МИКРОБИОМА ЗАКВАСОК И РАЗРАБОТКА
МИКРОБНОГО КОНСОРЦИУМА ДЛЯ СОВЕРШЕНСТВОВАНИЯ
ТЕХНОЛОГИИ ХЛЕБОБУЛОЧНЫХ ИЗДЕЛИЙ**

4.3.5. Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ
4.3.3. Пищевые системы

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Москва - 2026

Работа выполнена в Санкт-Петербургском филиале Федерального государственного автономного научного учреждения «Научно–исследовательский институт хлебопекарной промышленности».

Научный руководитель: **Мартиросян Владимир Викторович**
доктор технических наук, доцент, профессор РАН

Научный консультант: **Савкина Олеся Александровна**
кандидат технических наук

**Официальные
оппоненты:** **Белявская Ирина Георгиевна**
доктор технических наук, доцент, ФГБОУ ВО
«Российский биотехнологический университет
(РОСБИОТЕХ)», кафедра зерна,
хлебопекарных и кондитерских технологий,
профессор

Китаевская Светлана Владимировна
доктор технических наук, доцент, ФГБОУ ВО
«Казанский национальный исследовательский
технологический университет» (ФГБОУ ВО
«КНИТУ»), кафедра «Пищевой биотехнологии»,
и.о. заведующего кафедрой

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

Защита состоится «17» сентября 2026 г. в 10 часов 00 минут на заседании совета по защите диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук 24.1.515.01 при ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» по адресу 115093, г. Москва, ул. Люсиновская, д. 35, к.7, конференц-зал.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности». Полный текст диссертации размещен в сети Интернет на официальном сайте ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» <http://www.vnimi.org>.

Автореферат разослан «__» _____ 2026 года.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат технических наук, доцент

Т.С. Бычкова

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. В соответствии со Стратегией повышения качества продуктов питания в РФ до 2030 года и национальным проектом «Технологическое обеспечение биоэкономики» одним из приоритетных направлений является стимулирование разработки технологий хлебобулочных изделий с использованием отечественных микробных консорциумов, обеспечивающих высокое качество и безопасность продукции.

Хлебобулочные изделия занимают ведущее место в ежедневном рационе питания населения всех возрастных групп. Эффективным способом управления технологическими процессами производства хлебобулочных изделий является использование заквасок с направленным культивированием микроорганизмов, обеспечивающих быстрое превалирование заквасочных микроорганизмов над микробиотой муки, в том числе нежелательной. Однако к настоящему времени не проводились исследования с применением современных молекулярно-генетических методов видовой принадлежности исходных стартовых культур микроорганизмов и изменений таксономического состава микробиома заквасок при длительном их ведении.

Значительная часть небольших хлебопекарных предприятий используют закваски спонтанного брожения, что не всегда обеспечивает требуемое качество хлебобулочных изделий. Отсутствие знаний о микробном составе муки и заквасок спонтанного брожения не позволяет оценить влияние сформировавшихся микробных сообществ на показатели качества и безопасности хлеба. Исследование микробиома зрелых заквасок позволит осуществить поиск высокоэффективных штаммов молочнокислых бактерий и дрожжей для разработки новых отечественных заквасочных консорциумов и совершенствования технологии хлебобулочных изделий, обеспечивающей повышение их качества и безопасности.

Степень разработанности темы исследования.

В развитие заквасочных хлебопекарных технологий существенный научно-практический вклад внесли отечественные ученые: Казанская Л. Н., Плотников П. М.,

Шмидт З. И., Афанасьева О. В., Кузнецова Л. И., Парахина О. И., Богатырева Т. Г.,
Белявская И. Г., Магомедов Г.О., Китаевская С.В., Жаркова И. М.

Вопросами изучения микробиома заквасок занимались зарубежные ученые:
M. Gobbetti, M. G. Gänzle, E. A. Landis, D. Ercolini, E. A. McKenney, F. Minervini,
L. De Vuyst, S. Van Kerrebroeck, E. Rogalski.

Однако, несмотря на значительный объем исследований, данных по составу микробиома отечественных ржанных заквасок спонтанного брожения и с направленным культивированием микроорганизмов представлено недостаточно.

Исследование таксономического состава микробиома заквасок и скрининг высокоактивных штаммов микроорганизмов позволят разработать микробный консорциум для управления биотехнологическими свойствами закваски и обеспечения качества и безопасности хлебобулочных изделий, что является своевременным и актуальным.

Цель исследований – анализ таксономического состава микробиома ржанных заквасок и разработка микробного консорциума для совершенствования технологии хлебобулочных изделий, обеспечивающей повышение их качества и безопасности.

Для достижения поставленной цели решали следующие задачи:

- исследовать микробиологические показатели и состав микробиома отечественной ржаной муки;
- определить влияние изменения таксономического состава микробиома заквасок с направленным культивированием микроорганизмов в процессе их ведения на свойства полуфабрикатов и показатели качества хлебобулочных изделий;
- определить влияние изменения таксономического состава микробиома заквасок спонтанного брожения в процессе их ведения на свойства полуфабрикатов и показатели качества хлебобулочных изделий;
- разработать стартовый микробный консорциум на основе выделенных штаммов молочнокислых бактерий с высокими биотехнологическими свойствами для повышения качества и безопасности хлебобулочных изделий;

- выявить влияние на показатели качества и сроки годности хлебобулочных изделий закваски на основе разработанного микробного консорциума;
- совершенствовать технологию хлебобулочных изделий с применением микробного консорциума, рассчитать экономический эффект от его внедрения и провести опытно-промышленную апробацию.

Научная новизна.

Установлено изменение таксономического состава микробиома на уровне семейства *Lactobacillaceae* отечественных заквасок с направленным культивированием в процессе их ведения, обусловленное доминированием лактобацилл видов *Fructilactobacillus sanfranciscensis*, *Limosilactobacillus pontis* и *Lactobacillus helveticus*, оказывающее положительное влияние на биотехнологические свойства заквасок и качество хлебобулочных изделий с применением ржаной муки.

Впервые методом высокопроизводительного секвенирования исследован состав микробиома отечественных ржанных заквасок спонтанного брожения и установлено, что в начальный период ведения преобладают нехарактерные представители филумов *Proteobacteria* и *Firmicutes*, которые при дальнейшем ведении закваски вытесняются лактобациллами видов *Fructilactobacillus sanfranciscensis*, *Limosilactobacillus pontis*, *Companilactobacillus paralimentarius*, способствующих стабилизации микробиома и улучшению биотехнологических свойств закваски.

Доказано, что состав микробных сообществ ржаной муки не оказывает влияния на микробиом ржанных заквасок спонтанного брожения, превалирующую роль в его формировании играют параметры ведения заквасок.

Установлено улучшение вкусо-ароматического профиля, замедление черствения и повышение устойчивости к микробной порче хлебобулочных изделий на закваске с применением микробного консорциума за счет действия органических кислот, образующихся в результате молочнокислого брожения, обусловленного метаболической активностью нового высокоактивного штамма лактобацилл вида *Fructilactobacillus sanfranciscensis*.

Теоретическая и практическая значимость работы.

На основании анализа совокупности экспериментальных данных, полученных метагеномными и биотехнологическими методами, подтверждена целесообразность применения ржанных заквасок с направленным культивированием микроорганизмов в хлебопекарной промышленности; расширены теоретические знания в области создания микробных консорциумов для хлебопекарных заквасок и повышения качества хлебобулочных изделий.

Разработан стартовый микробный консорциум на основе штамма *Fructilactobacillus sanfranciscensis* B131, обеспечивающий стабильное качество и безопасность хлебобулочных изделий, выработанных на густой ржаной закваске (заявка № 2025135487 от 12.12.2025 г. на патент «Новые стартеры для ржанных заквасок и способ их применения»). Разработаны, утверждены и внедрены технологические инструкции: по производству микробного консорциума и приготовлению ржаной закваски «Деревенская» на его основе.

Разработаны технологические решения по улучшению органолептических и физико-химических показателей качества хлебобулочных изделий и повышению их устойчивости к микробной порче.

Результаты исследований использованы при формировании основополагающих терминов при создании отраслевого документа ГОСТ 32677-2025 «Хлебопекарное производство. Термины и определения».

Результаты исследований, научные рекомендации и выводы применяются при реализации курсов повышения квалификации для научных сотрудников и специалистов хлебопекарной отрасли в НТЦ «Академия хлебопечения НИИХП».

Проведена опытно-промышленная апробация выработки хлеба на густой ржаной закваске, выведенной с применением нового микробного консорциума на основе молочнокислых бактерий *Fructilactobacillus sanfranciscensis* B131 и дрожжей *Kazachstania humilis* Y128, на предприятиях ООО «Опытный хлебозавод» (г. Москва), ООО «Здоровый хлеб» (г. Санкт-Петербург).

Методология и методы исследований. Экспериментальная часть работы выполнена в Санкт-Петербургском филиале ФГАНУ НИИХП. Определение

состава микробных сообществ заквасок проводили методом высокопроизводительного секвенирования на базе ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» ФГБНУ ВНИИСХМ. В процессе проведения экспериментов использованы общепринятые микробиологические, физико-химические, органолептические методы исследования сырья, полуфабрикатов и хлебобулочных изделий, а также метод высокопроизводительного метагеномного секвенирования на платформе MiSeq (Illumina). Обработка экспериментальных данных осуществлялась методами математической статистики.

Научные положения, выносимые на защиту:

- научно-практическое обоснование целесообразности применения ржанных заквасок с направленным культивированием микроорганизмов для обеспечения стабильного качества хлебобулочных изделий;
- экспериментальные данные по исследованию морфологических, культуральных и биотехнологических свойств штаммов молочнокислых бактерий, выделенных из зрелых ржанных заквасок;
- совокупность технологических режимов, обеспечивающих повышение качества и увеличение сроков годности хлебобулочных изделий с применением закваски на новом микробном консорциуме.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Диссертация соответствует пунктам 3, 28 паспорта специальности 4.3.5. «Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ»; пункту 4 паспорта специальности 4.3.3. «Пищевые системы».

Степень достоверности и апробация результатов.

Исследования проведены на современном метрологически аттестованном оборудовании, достоверность полученных результатов основана на 3-х кратной повторности с применением стандартизированных и специальных методов анализа, а также статистической обработкой результатов исследований в Microsoft Excel 2010.

Основные результаты исследований по теме диссертации доложены и обсуждены на конференциях: «Поландовские чтения» (Санкт-Петербург, 2021; Москва, 2025); «Современные пищевые тенденции глазами молодых ученых:

перспективы, инновации и прогрессивные технологии» (Санкт-Петербург, 2021); «От модернизации к опережающему развитию: обеспечение конкурентоспособности и научного лидерства АПК» (Екатеринбург, 2022, 2023); «Повышение качества и безопасности пищевых продуктов» (Махачкала, 2022); «Техника и технология пищевых производств» (Могилев, 2022, 2024); Международная научно - практическая конференция имени Д. И. Менделеева (Тюмень, 2022 г); «Химия. Экология. Урбанистика» (Пермь, 2023); «Нутрициология и диетология для здоровьесбережения населения России» (Москва, 2023); «Интеллектуальный потенциал молодых ученых как драйвер развития АПК» (Санкт-Петербург, 2025); «Оптимальное питание - основа продолжительной и активной жизни» (Москва, 2025).

Связь работы с научными программами и собственный вклад автора.

Исследования были выполнены в рамках государственного задания №2593-2014-0018 «Разработать научные основы формирования микробных композиций и биосистем на их основе, обеспечивающих высокое качество и безопасность хлебобулочных изделий» и гранта РФФИ № 19-016-00085 «Исследование видового разнообразия и симбиотических взаимодействий в микробиомах крахмало-белковых гидроколлоидных систем (хлебных заквасок)». Автором самостоятельно проведен анализ отечественной и зарубежной научно-технической литературы, сформулированы цели и задачи исследования, определены выбор и обоснование экспериментальных методов исследования, выполнены микробиологические исследования, математическая обработка полученных результатов, полученные результаты систематизированы и изложены в тексте работы, сформулированы выводы, проведена подготовка публикаций и научных докладов.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 13 статей, в том числе - 8 в рецензируемых журналах, рекомендованных ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ, 2 статьи в журналах, индексируемых в международных базах научного цитирования Web of Science и Scopus, а также 3 статьи в сборниках материалов конференций.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, выводов, списка литературы и приложений. Работа изложена на 156 страницах основного текста, включает 32 рисунка, 31 таблицу и 11 приложений. Список литературы содержит 143 источника, в том числе 29 российских и 114 зарубежных авторов.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы диссертации, сформулированы цель и задачи исследований, научная новизна, практическая значимость, положения, выносимые на защиту.

В первой главе представлен анализ отечественной и зарубежной научно-технической литературы, посвященной исследованиям таксономического состава микробиома заквасок с направленным культивированием микроорганизмов и спонтанного брожения. Приведена классификация заквасок по технологическим параметрам в отечественном и зарубежном хлебопечении. Представлены данные по микробным консорциумам, применяемым в хлебопекарной промышленности для выведения ржанных заквасок. Согласно обзору литературы до настоящего времени метагеномные методы исследований не применялись для изучения таксономического состава микробиома отечественных заквасок. На основании литературных данных подтверждена актуальность выбранной темы диссертационной работы и необходимость выделения новых штаммов молочнокислых бактерий (МКБ) из заквасок с устойчивым микробиомом для разработки новых отечественных микробных консорциумов, обеспечивающих стабильное качество и безопасность хлебобулочных изделий.

Во второй главе представлены описание объектов, методов и схема проведения исследований (Рисунок 1). Исследования проведены в лабораториях Санкт-Петербургского филиала ФГАНУ НИИХП. Молекулярно-генетические исследования - с использованием оборудования ЦКП «Геномные технологии, протеомика и клеточная биология» в ФГБНУ ВНИИСХМ. Производственные испытания осуществляли в условиях ООО «Опытный хлебозавод» (г. Москва) и ООО «Здоровый хлеб» (г. Санкт-Петербург).

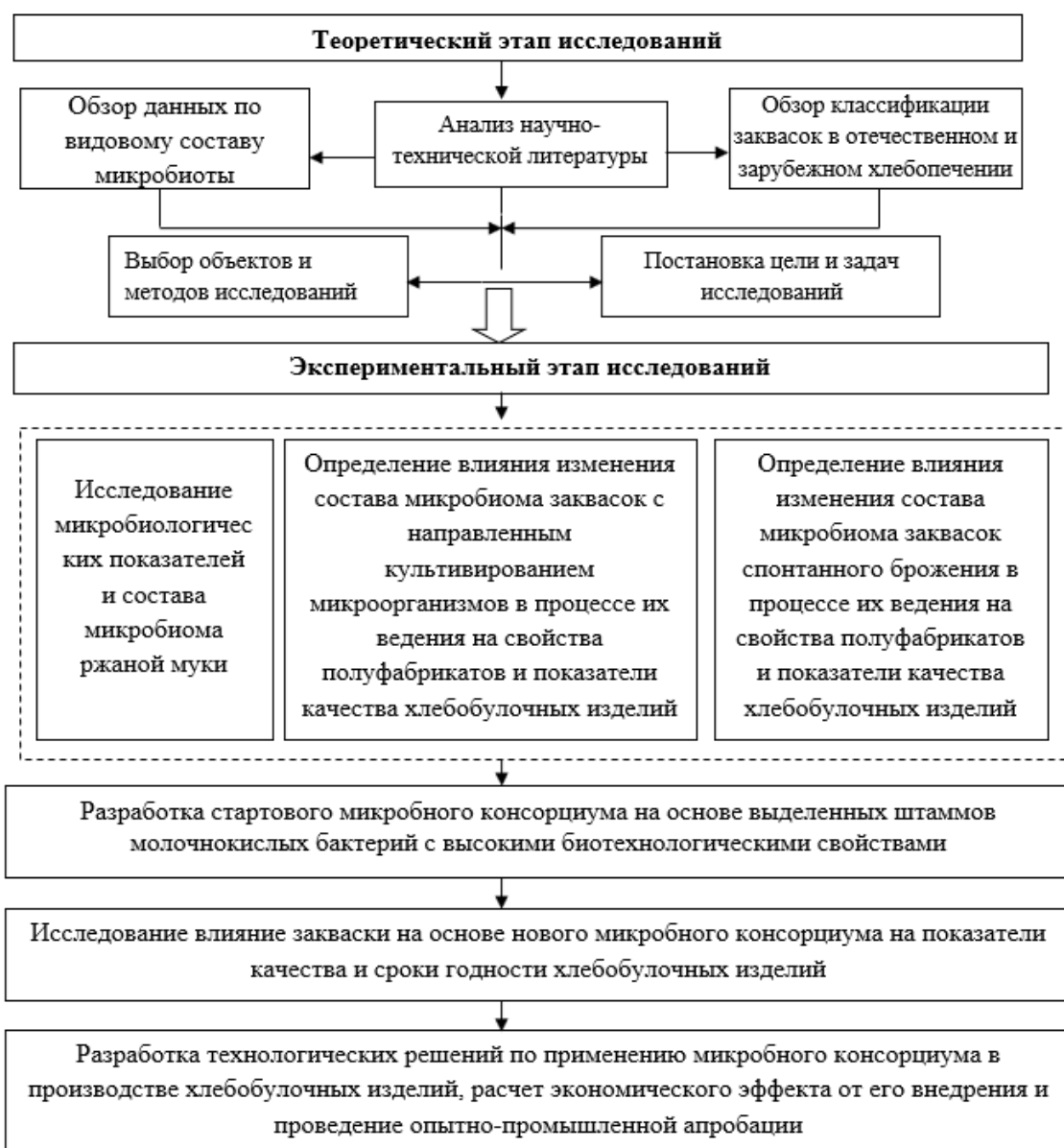


Рисунок 1 – Схема проведения исследований

Объектами исследований являлись промышленноценные штаммы МКБ из коллекции культур микроорганизмов «Молочнокислые бактерии и дрожжи для хлебопекарной промышленности» СПбФ ФГАНУ НИИХП, мука ржаная обойная и обдирная, ржаные закваски с направленным культивированием микроорганизмов и спонтанного брожения, хлеб ржаной из обдирной муки, хлеб ржаной «Простой», хлеб ржано-пшеничный заварной. Для определения качества сырья, полуфабрикатов и готовых изделий применяли общепринятые и специальные методы исследований. Определение состава микробных сообществ заквасок проводили методом высокопроизводительного секвенирования фрагментов гена 16S рРНК на платформе MiSeq (Illumina). Содержание органических кислот в полуфабрикатах и хлебе определяли с использованием системы капиллярного электрофореза «Капель» (ООО

«Люмэкс-маркетинг», Россия). Скорость черствения хлеба устанавливали в соответствии с ГОСТ Р 70085-2022. Для изучения влияния заквасок на устойчивость хлеба к плесневению проводили модельные опыты с заражением его стерильных ломтиков тест - штаммом *Penicillium chrysogenum* F601.

В третьей главе представлены результаты проведенных исследований.

3.1 Исследование микробной обсемененности ржаной муки как фактора, влияющего на микробиом заквасок

Микробная обсемененность муки оказывает значительное влияние на микробиом заквасок, формирующего их биотехнологические свойства. Для исследований приняты семь образцов муки ржаной обдирной и обойной, выработанных на предприятиях в разных регионах РФ, определены их микробиологические показатели. Установлено, что в представленных образцах муки КМАФАнМ составляло от 4,1 до 5,7 lg КОЕ/г, содержание плесневых грибов - от 2,0 до 3,5 lg КОЕ/г, дрожжей - от 2,3 до 4,2 lg КОЕ/г.

Метагеномными методами установлено (Рисунок 2), что в исследуемых образцах муки доминировали представители филумов *Proteobacteria* (29,6–85,9 % от состава метагенома) и *Firmicutes* (1,2–64,8 %).

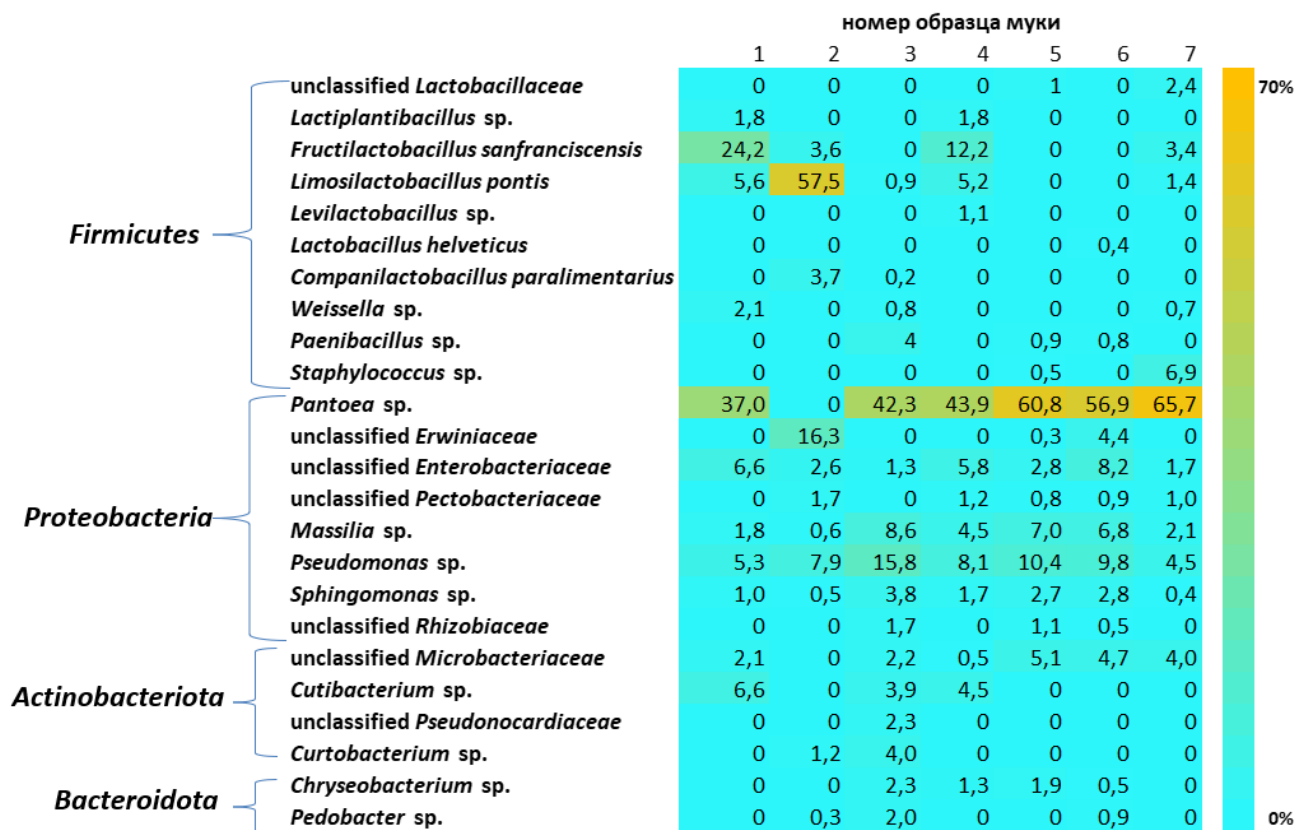


Рисунок 2 - Структура бактериальных сообществ ржаной муки (встречаемость таксона, %)

В филуме *Proteobacteria* на уровне семейств доминировали *Erwiniaceae* (16,3–65,7 %). Филум *Firmicutes* был преимущественно сформирован МКБ семейства *Lactobacillaceae* (0,4–64,8 %) с превалированием видов *F. sanfranciscensis* (до 24,2 %) и *Limosilactobacillus pontis* (до 57,5 %).

Установлено, что ржаная мука, выработанная разными изготовителями, различается по микробиологическим показателям и таксономическому составу микробиома.

3.2 Исследование влияния таксономического состава микробиома ржаных заквасок с направленным культивированием микроорганизмов в процессе их ведения на свойства полуфабрикатов и показатели качества хлеба

Для установления влияния на свойства полуфабрикатов и показатели качества хлеба густой ржаной закваски с направленным культивированием, выведенной с использованием штаммов МКБ *Lpb. plantarum* B4, *Lcb. paracasei/casei* B3, *Lcb. paracasei/casei* B31 и дрожжей *K. humilis* Y128 и поддерживаемой в течение 2-х месяцев, исследовали изменение состава заквасочного микробиома. Установлено, что в конце I фазы разводочного цикла преобладали лактобациллы видов *Lpb. plantarum* (24,7 %) и *Lcb. paracasei/casei* (48,2 %) (Рисунок 3).

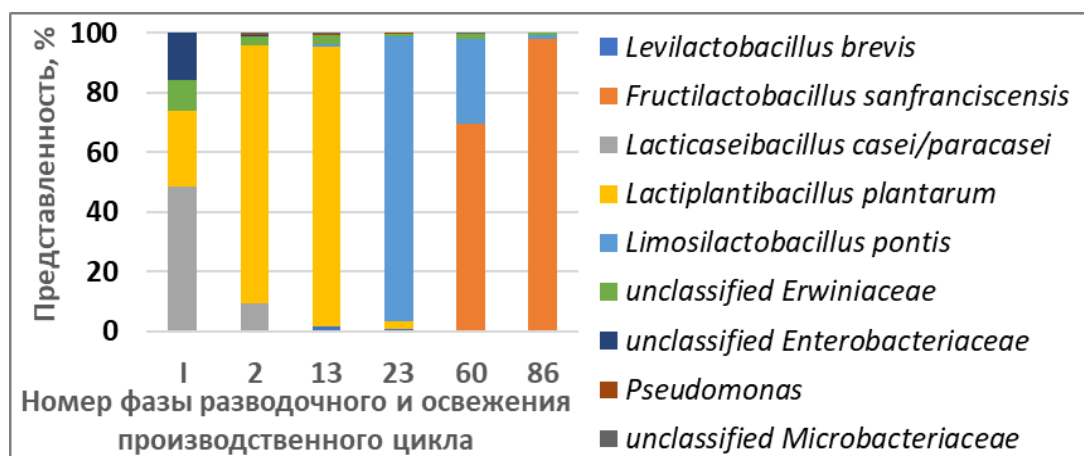


Рисунок 3 – Изменение состава микробиома густой ржаной закваски в процессе ее ведения

Показано, что к 23-му освежению закваски в производственном цикле наблюдалось резкое изменение состава заквасочного микробиома. Доминирующее положение занимал вид *Limosilactobacillus pontis* (95,0 %), однако уже к 60-му освежению стал преобладать вид *F. sanfranciscensis* (69,1 %).

Установлено, что закваска в разводочном цикле имела рекомендуемые биотехнологические свойства (титруемая кислотность - от 13,0 до 13,5 град,

подъемная сила - от 15 до 25 мин), которые позволяют обеспечить качество и безопасность хлебобулочных изделий (Рисунок 4).

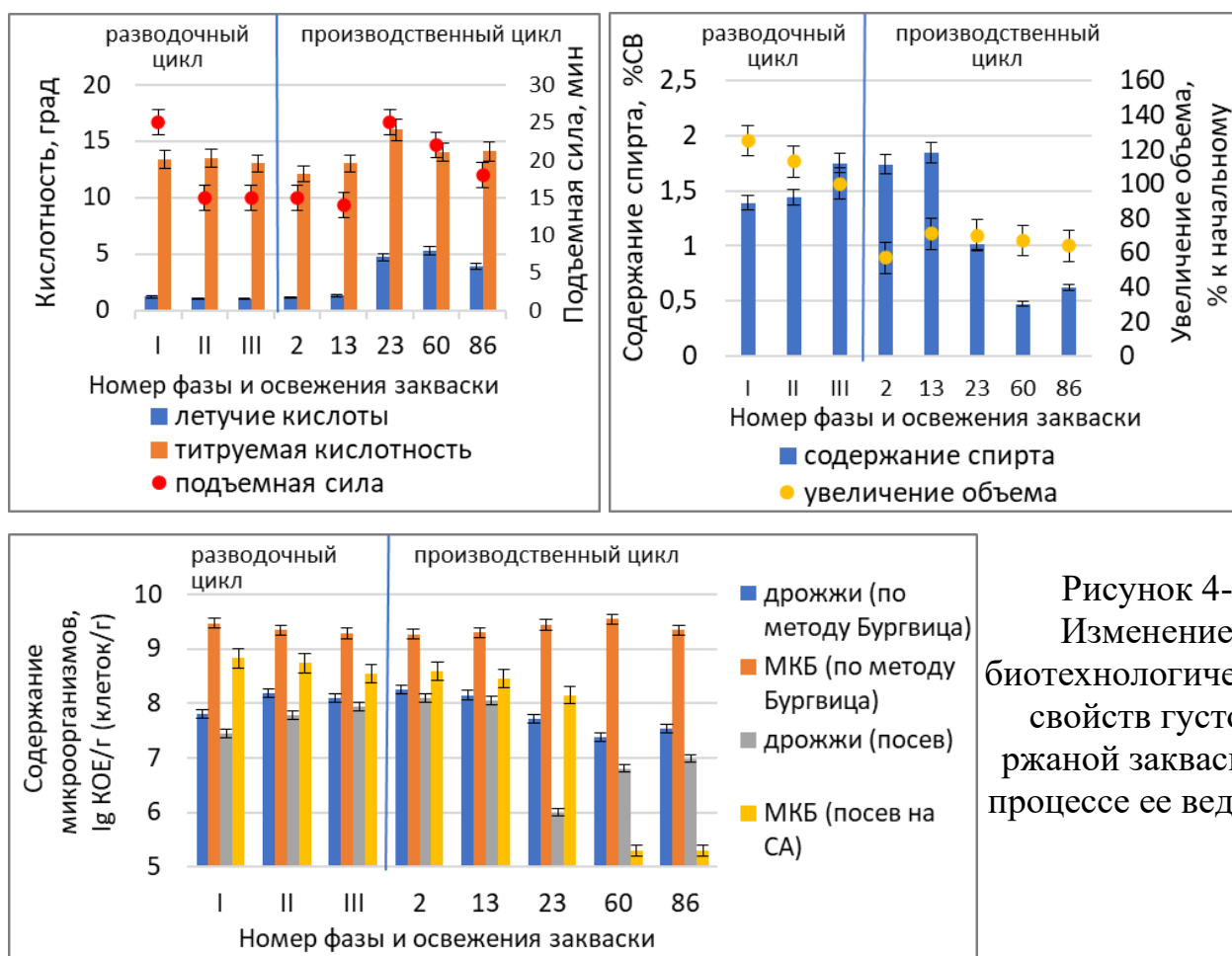


Рисунок 4-
Изменение
биотехнологических
свойств густой
ржаной закваски в
процессе ее ведения

В период до 23-го освежения производственного цикла закваска имела спиртовой запах, обусловленный высоким содержанием дрожжей (от 7,5 до 8,1 lg KOE/г). Содержание летучих кислот было достаточно низким - от 7,4 до 10 % к титруемой кислотности, что связано с развитием гомоферментативных видов МКБ. Изменение таксономического состава заквасочного микробиома в 23-м освежении привело к увеличению содержания летучих кислот в закваске (27,1–37,5 % к титруемой кислотности), что было обусловлено развитием гетероферментативных видов МКБ. В период с 23-го по 86-ое освежения количество спирта в закваске уменьшилось, подъемная сила ухудшилась, что можно объяснить снижением содержания дрожжей (6,0–7,0 lg KOE/г). Титруемая кислотность и содержание летучих кислот увеличились, что привело к появлению выраженного заквасочного запаха. Установленные изменения биотехнологических свойств закваски при длительном ее ведении, вероятно, обусловлены доминированием МКБ вида *F. sanfranciscensis*.

Исследовали влияние биотехнологических свойств закваски на показатели качества хлеба ржаного из обдирной муки формового. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 - Влияние продолжительности ведения закваски в производственном цикле на показатели качества ржаного хлеба

Наименование показателей	Значения показателей качества ржаного хлеба						
Номер освежения закваски	2	13	23	34	46	60	86
Влажность мякиша, %	49,0	49,0	48,8	48,9	49,0	49,0	48,8
Кислотность мякиша, град	5,4	5,6	9,0	10,2	9,0	8,2	9,4
Пористость, %	62	65	63	61	65	65	62
Удельный объем, см ³ /г	1,56	1,64	1,62	1,60	1,63	1,64	1,60
Содержание: - летучих кислот, % к титруемой кислотности	13,0	16,1	40,0	42,2	42,2	45,7	35,1
- спирта, % СВ	0,55	0,42	0,21	0,26	0,18	0,11	0,12
Продолжительность хранения до появления признаков микробной порчи при заражении тест - штаммом <i>P. chrysogenum</i> F601, ч	45	40	Рост плесневых грибов не обнаружен в течение всего срока хранения (7 суток)				

В хлебе, приготовленном на заквасках 2-го и 13-го освежений, отмечались достаточно низкая кислотность (от 5,4 до 5,6 град) и невысокое содержание летучих кислот (от 13,0 до 16,1 % к титруемой кислотности), вследствие чего готовые изделия имели невыраженные вкус и запах. В образцах хлеба на заквасках с 23-го по 86-е освежения количество спирта снижалось, а кислотность и содержание летучих кислот увеличивались, что оказывало положительное влияние на вкус, запах (Рисунок 5) и повышение их устойчивости к плесневению.

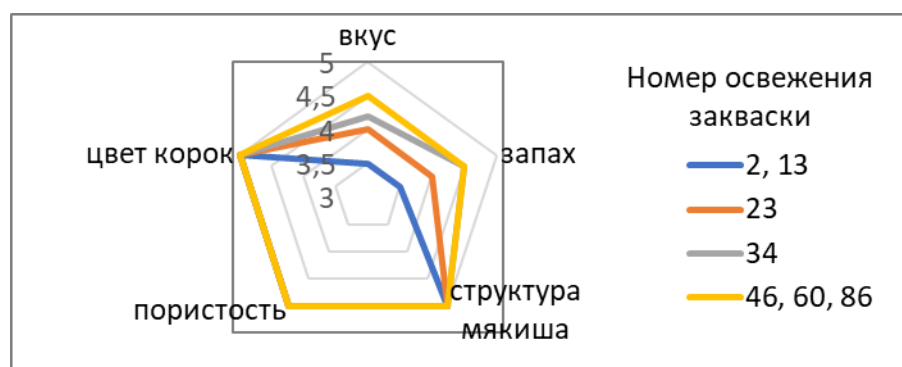


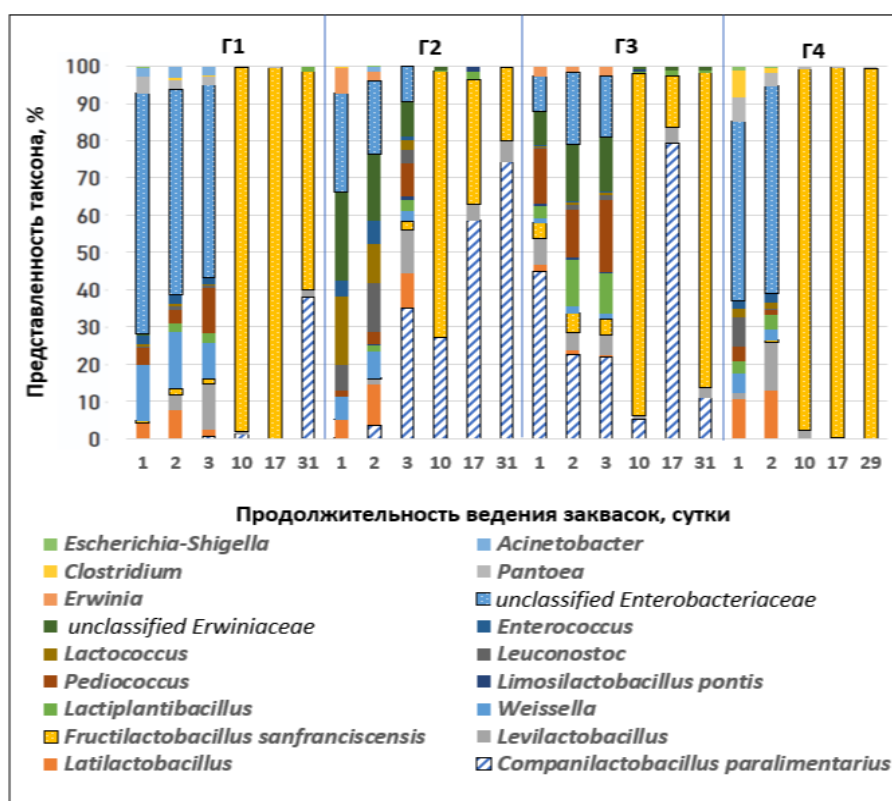
Рисунок 5 - Профилограмма органолептической оценки хлеба ржаного из обдирной муки

Таким образом, изменение микробиома густой ржаной закваски вследствие вытеснения стартовых культур лактобацилл уже через 2 недели ведения (23-е освежение производственного цикла) привело к улучшению биотехнологических свойств закваски и способствовало обеспечению органолептических и физико-

химических показателей качества хлеба, соответствующих требованиям ГОСТ 2077-2023.

3.3 Исследование влияния таксономического состава микробиома ржаных заквасок спонтанного брожения в процессе их ведения на свойства полуфабрикатов и показатели качества хлеба

На формирование микробиома заквасок спонтанного брожения значительное влияние оказывает микробная обсемененность муки, в связи с этим исследовали состав микробных сообществ 4-х густых ржаных заквасок, выведенных с применением 4-х партий муки ржаной обдирной и обойной, и обновляемых в течение 1-го месяца. Установлено, что в процессе ведения заквасок происходит уменьшение доли *Proteobacteria* с одновременным увеличением доли *Firmicutes* (Рисунок 6).



Филум *Proteobacteria* был представлен семействами *Enterobacteriaceae* и *Erwinaceae*, которые полностью вытеснялись через 10 суток ведения заквасок представителями филума *Firmicutes* (>97,2 %), состоящим преимущественно из семейства *Lactobacillaceae*. В процессе ведения заквасок происходило значительное изменение микробиома на уровне семейства *Lactobacillaceae*: снижение представленности родов *Latilactobacillus*, *Levilactobacillus*, *Lactiplantibacillus*, *Weissella*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Enterococcus* и увеличение доли

Fructilactobacillus и *Companilactobacillus*. Установлено, что в зрелых заквасках доминирующее положение занимали лактобациллы *F. sanfranciscensis* (от 13,8 до 99,4 %) и *Companilactobacillus paralimentarius* (от 1,1 до 79,1 %).

Исследование биотехнологических свойств молодых заквасок показало, что снижение показателя pH – от 6,39 до 4,19 отмечается через двое суток брожения. При органолептической оценке отмечено, что молодые закваски имели выраженный неприятный гнилостный запах, обусловленный развитием посторонних микроорганизмов (*Enterobacteriaceae*, *Erwiniaceae*), поэтому эти закваски были не пригодны для выработки хлеба. В зрелых заквасках значение pH находилось в диапазоне от 4,07 до 4,43, содержание МКБ варьировало от 8,5 до 9,5 lg КОЕ/г, дрожжей - от 5,5 до 7,7 lg КОЕ/г. В результате изменения состава бактериальных сообществ заквасок их запах стал выраженным заквасочным, без гнилостных оттенков. Установлено, что хлеб на зрелых заквасках спонтанного брожения по физико-химическим и органолептическим показателям соответствовал требованиям ГОСТ 2077-2023: хлеб ржаной из обдирной муки имел кислотность – 6,2–10,4 град, пористость – 51–64 %, удельный объем – 1,30–1,70 см³/г; хлеб ржаной «Простой»: кислотность – 9,6–11,2 град, пористость – 54–58 %, удельный объем – 1,23–1,40 см³/г.

3.4 Разработка нового микробного консорциума с высокими биотехнологическими свойствами для повышения качества и безопасности хлебобулочных изделий

Для разработки стартового микробного консорциума из зрелых заквасок спонтанного брожения были выделены изоляты лактобацилл (№1-№6), на основе которых выведены ржаные закваски и исследованы их биотехнологические свойства (Таблица 2).

Таблица 2 - Биотехнологические свойства ржаных заквасок

Наименование показателей	Значения показателей биотехнологических свойств ржаных заквасок, выведенных с применением изолятов лактобацилл					
	№1	№2	№3	№4	№5	№6
Титруемая кислотность, град	25,1±0,3	24,1±0,2	22,2±0,4	24,2±0,2	22,8±0,4	23,1±0,2
Увеличение объема, % к начальному объему	111±5	100±5	100±5	89±6	11±5	22±6
Содержание органических кислот, г/100 г						
-молочной	1,36±0,05	1,22±0,04	1,27±0,05	1,16±0,05	1,36±0,06	1,42±0,04
-уксусной	0,23±0,02	0,19±0,02	0,19±0,03	0,23±0,02	0,06±0,02	0,04±0,03
Содержание клеток МКБ, lg клеток/г	9,51±0,05	9,02±0,06	9,42±0,04	9,43±0,04	9,32±0,07	9,30±0,04

Установлено, что через 24 ч брожения заквасок все изоляты лактобацилл проявили высокую кислотообразующую активность, содержание МКБ варьировало от 9,0 до 9,5 lg клеток/г. Закваски, приготовленные с применением изолятов №1-№4, значительно увеличились в объеме и имели наиболее выраженный заквасочный запах, обусловленный более высоким содержанием уксусной кислоты.

В результате проведенного скрининга биотехнологических свойств заквасок для дальнейших исследований были выбраны изоляты №1, №3, №4 в сочетании со штаммом дрожжей *K. humilis* Y128, обладающим высокой кислотоустойчивостью.

Установлено, что применение изолята №1 привело к повышению титруемой кислотности закваски в I фазе разводочного цикла на 12–16 % и установлению рекомендуемого для густой ржаной закваски соотношения дрожжи:МКБ – 1:80. При применении изолятов №3 и №4 данное соотношение было смещено в сторону дрожжевого брожения (1:14 и 1:31 соответственно), что обуславливало избыточную спиртуозность в запахе заквасок.

Для дальнейших исследований был выбран изолят №1, который на основе анализа нуклеотидной последовательности гена 16S рРНК был идентифицирован как *F. sanfranciscensis* и внесен в коллекцию культур микроорганизмов СПбФ ФГАНУ НИИХП под номером B131.

Разработан новый микробный консорциум на основе выделенного штамма *F. sanfranciscensis* B131 и штамма дрожжей *K. humilis* Y128 и исследовано его влияние на биотехнологические свойства густой ржаной закваски (опытная) в течение месяца в сравнении с контрольной закваской.

Установлено, что на протяжении разводочного цикла в опытной закваске процесс кислотонакопления проходил наиболее интенсивно. Применение гетероферментативного штамма *F. sanfranciscensis* B131 привело к увеличению содержания летучих кислот в закваске в 3,7–4,4 раза и снижению содержания спирта в 1,4–1,9 раза по сравнению с контролем. Перечисленные изменения биотехнологических свойств были обусловлены более высоким содержанием МКБ (9,3–9,7 lg КОЕ/г) и низким содержанием дрожжей (6,3–6,7 lg КОЕ/г) в опытной закваске, в то время как в контрольной закваске их содержание составляло – от 9,0

до 9,1 lg КОЕ/г и от 7,1 до 7,8 lg КОЕ/г соответственно. Установлена возможность сокращения разводочного цикла и перевода опытной закваски в конце I фазы разводочного цикла непосредственно в производственный цикл.

В начале производственного цикла (2-е освежение) титруемая кислотность и содержание летучих кислот были выше в опытной закваске, а показатель подъемной силы и содержания спирта были понижены, что в итоге обуславливало появление выраженного традиционного заквасочного запаха без признаков спиртового. К 40-44-му освежениям обе закваски были сопоставимы по биотехнологическим свойствам, что обусловлено изменением стартового микробиома контрольной закваски (Таблица 3).

Таблица 3 - Биотехнологические свойства заквасок в производственном цикле

Наименование показателей	Значения показателей биотехнологических свойств заквасок			
	контрольной		опытной	
Номер освежения	2	40	2	44
Титруемая кислотность, град	12,1±0,3	12,9±0,2	13,4±0,3	13,6±0,3
Подъемная сила, мин	12±1	26±1	30±2	24±2
Содержание:				
- спирта, % на СВ	2,39±0,20	0,90±0,04	1,00±0,08	0,95±0,09
- летучих кислот, % к титруемой кислотности	8,4±1,2	30,4±1,4	35,8±1,6	34,2±1,5
- молочной кислоты, г/100 г	0,72±0,05	0,70±0,06	0,53±0,04	0,70±0,05
- уксусной кислоты, г/100 г	0,05±0,00	0,22±0,02	0,26±0,03	0,25±0,02
Содержание микроорганизмов, lg КОЕ/г				
-дрожжи	8,0±0,2	6,2±0,2	7,0±0,2	6,2±0,2
-молочнокислые бактерии	8,8±0,1	9,3±0,2	9,0±0,1	9,4±0,2

Исследование изменений таксономического состава микробиома заквасок показало, что в процессе последовательных освежений контрольной закваски происходит снижение представленности *Lpb. plantarum* и *Lcb. paracasei/casei* (стартовых культур) с одновременным увеличением доли *F. sanfranciscensis*, что приводит к значительному увеличению содержания летучих кислот. В опытной закваске на протяжении всего эксперимента доминировали лактобациллы вида *F. sanfranciscensis*, что обеспечило стабильные биотехнологические свойства в процессе ее ведения.

Для повышения качества и безопасности хлебобулочных изделий разработан микробный консорциум, обеспечивающий высокие биотехнологические свойства закваски, начиная с разводочного цикла:

повышение титруемой кислотности в 1,2 раза; содержания летучих кислот в 3,7–4,4 раза; молочнокислых бактерий – в 2,0–4,8 раза.

3.5 Исследование влияния на показатели качества и сроки годности хлебобулочных изделий густой ржаной закваски на основе разработанного микробного консорциума

Исследовали влияние густых ржаных заквасок производственного цикла на показатели качества хлеба ржаного из обдирной муки формового (Таблица 4) и ржано-пшеничного заварного (Таблица 5).

Таблица 4 - Влияние опытной закваски на показатели качества хлеба ржаного из обдирной муки

Наименование показателей	Значения показателей качества хлеба ржаного из обдирной муки					
	Контроль			Опыт		
Номер освежения закваски	2	14	40	2	19	44
Влажность мякиша, %	49,7±0,3	50,2±0,4	49,9±0,5	49,8±0,3	49,9±0,3	49,3±0,4
Кислотность мякиша, град	6,2±0,2	6,9±0,2	8,5±0,2	9,2±0,3	8,7±0,2	8,2±0,2
Пористость, %	57±1	56±1	55±1	54±2	54±1	53±1
Удельный объем, см ³ /г	1,58±0,03	1,49±0,04	1,42±0,02	1,52±0,05	1,49±0,04	1,40±0,04
Содержание:						
-спирта, % на СВ	1,62±0,05	1,20±0,03	0,50±0,04	0,63±0,05	0,72±0,05	0,53±0,04
-молочной кислоты, г/100 г	0,65±0,05	0,62±0,04	0,64±0,05	0,65±0,04	0,58±0,04	0,64±0,05
-уксусной кислоты, г/100 г	0,05±0,00	0,15±0,01	0,24±0,02	0,22±0,02	0,25±0,03	0,26±0,02

Все образцы ржаного хлеба соответствовали требованиям ГОСТ 2077-2023. Установлено, что в хлебе на опытной закваске 2 - го освежения кислотность и содержание уксусной кислоты были больше в 1,5 и 4,4 раза соответственно, а содержание спирта - ниже в 2,6 раза по сравнению с контролем, что способствовало улучшению вкуса и запаха готовых изделий (Рисунок 7).

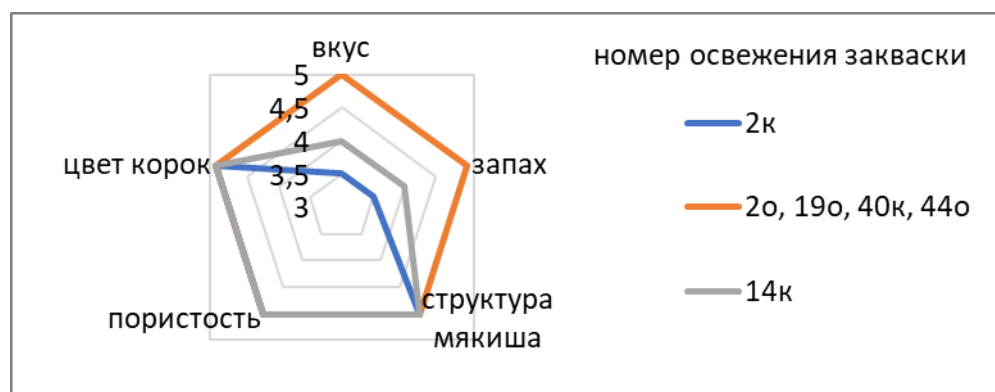


Рисунок 7 - Профилограмма органолептической оценки образцов ржаного хлеба из обдирной муки (к - контроль, о - опыт)

Применение разработанного микробного консорциума позволило повысить микробиологическую безопасность готовых изделий, на что указывает результат исследования методом принудительного заражения: установлено полное

подавление развития тест – штамма плесневых грибов *P. chrysogenum* F601 вследствие более высокого содержания уксусной кислоты в хлебе (0,22–0,26 г/100 г).

Установлено замедление скорости черствения ржаного хлеба, изготовленного на опытной закваске, на 22,6 %, возможно, обусловленное действием органических кислот на ретроградацию крахмала.

Исследовано влияние опытных и контрольных густых ржанных заквасок на показатели качества хлеба ржано-пшеничного заварного. Установлено, что хлеб на опытных заквасках имел более высокую кислотность, при этом содержание летучих кислот было близким к рекомендуемому для данного вида хлеба и составляло 34,1–34,5 % (Таблица 5).

Таблица 5 - Влияние густых ржанных заквасок на качество хлеба заварного

Наименование показателей	Значения показателей качества хлеба заварного			
	Контроль		Опыт	
Номер освежения закваски	2	14	2	19
Влажность мякиша, %	49,1±0,3	49,0±0,4	49,1±0,3	49,1±0,4
Кислотность мякиша, град	6,8±0,2	7,0±0,2	8,2±0,3	8,4±0,3
Пористость, %	61±1	60±1	59±1	59±1
Удельный объем, см ³ /г	1,65±0,04	1,64±0,05	1,62±0,05	1,61±0,04
Содержание: - спирта, % на СВ	1,11±0,03	1,00±0,04	0,60±0,03	0,56±0,03
-летучих кислот, % к титруемой кислотности	14,7±1,4	24,2±1,2	34,1±1,6	34,5±1,3
-молочной кислоты, г/100 г	0,46±0,04	0,45±0,05	0,42±0,04	0,45±0,04
-уксусной кислоты, г/100 г	0,04±0,00	0,10±0,01	0,16±0,01	0,18±0,02

В опытных образцах хлеба содержалось меньшее количество спирта, что в сумме с более высоким содержанием уксусной кислоты оказало положительное влияние на формирование вкуса и запаха.

Образцы хлеба, приготовленные на опытных заквасках 2-го и 19-го освежений, так же не заболевали при принудительном заражении тест - штаммом плесневых грибов *P. chrysogenum* F601.

Таким образом, применение густой ржаной закваски на разработанном микробном консорциуме позволяет улучшить органолептические и физико-химические показатели качества, повысить устойчивость к микробной порче хлеба с использованием ржаной муки, в том числе заварного, а также увеличить сроки годности хлеба ржаного из обдирной муки за счет замедления черствения и фунгицидного действия органических кислот.

3.6 Совершенствование технологии хлебобулочных изделий с применением нового микробного консорциума, расчет экономического эффекта от его внедрения и проведение опытно-промышленной апробации

Разработаны технологические решения по применению микробного консорциума для выработки хлебобулочных изделий с использованием ржаной муки. Технологический процесс производства ржаных хлебобулочных изделий традиционно включает стадию приготовления закваски (разводочный и производственный циклы). Применение нового микробного консорциума позволяет исключить II и III фазы разводочного цикла приготовления закваски, что сокращает продолжительность технологического процесса, обеспечивая при этом высокое качество и безопасность хлебобулочных изделий.

В результате проведенных исследований разработана технологическая инструкция по производству микробного консорциума на основе штаммов *F. sanfranciscensis* B131 и *K. humilis* Y128, инструкция и технологическая схема приготовления и ведения густой ржаной закваски «Деревенская».

Результаты исследований использованы при формировании основополагающих терминов (чистая культура микроорганизмов для хлебопекарного производства, закваска) при создании отраслевого документа ГОСТ 32677-2025 «Хлебопекарное производство. Термины и определения».

Проведена опытно-промышленная апробация выработки хлеба на густой ржаной закваске, выведенной с применением нового микробного консорциума на предприятиях ООО «Опытный хлебозавод» (г. Москва) и ООО «Здоровый хлеб» (г. Санкт-Петербург). Прибыль от внедрения отечественного микробного консорциума составит 16,8 млн. руб/год.

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что в образцах ржаной муки доминируют представители филогенетических групп *Proteobacteria* (29,6–85,9 % от метагенома) и *Firmicutes* (1,2–64,8 %), далее следуют *Actinobacteriota* (1,2–12,4 %) и *Bacteroidota* (до 4,3 %). В филуме *Proteobacteria* на уровне семейств доминируют *Erwiniaceae* (16,3–65,7 %) и *Pseudomonadaceae* (5,3–15,8 %). Филум *Firmicutes*

преимущественно сформирован МКБ семейства *Lactobacillaceae*, доля которых значительно варьирует в разных образцах муки (0,4–64,8 %).

2. С применением метода высокопроизводительного секвенирования показано, что внесение стартовых культур лактобацилл ингибирует развитие гнилостной микробиоты муки. Установлено, что изменение таксономического состава микробиома на уровне *Lactobacillaceae* в густой ржаной закваске с направленным культивированием микроорганизмов приводит к значительному увеличению содержания летучих кислот в закваске (в 3,0–5,3 раза) и хлебе (в 4,0–6,1 раза), улучшению вкуса и запаха хлеба и подавлению развития плесневых грибов в течение всего периода хранения (7 суток).

3. Установлено, что таксономический состав микробиома молодых заквасок спонтанного брожения определяется таксонами, обнаруженными в используемой муке: доминируют представители филумов *Proteobacteria* (семейства *Enterobacteriaceae* и *Erwiniaceae*) и *Firmicutes* (МКБ родов *Companilactobacillus*, *Latilactobacillus*, *Levilactobacillus*, *Lactiplantibacillus*, *Fructilactobacillus*, *Limosilactobacillus*, *Weissella*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Lactococcus*, *Enterococcus*). В процессе ведения заквасок происходит значительное снижение доли *Proteobacteria* с одновременным увеличением доли *Firmicutes*. В зрелых густых заквасках доминируют лактобациллы видов *Fructilactobacillus sanfranciscensis* и *Companilactobacillus paralimentarius*, в жидких заквасках без заварки - *Limosilactobacillus pontis* и *Fructilactobacillus sanfranciscensis*. Показано, что состав микробных сообществ ржаной муки не оказывает влияния на микробиом заквасок спонтанного брожения, превалирующую роль в его формировании играют влажность заквасок и температура их ведения. Установлено, что молодые закваски спонтанного брожения имеют выраженный неприятный гнилостный запах, обусловленный развитием посторонних микроорганизмов (*Enterobacteriaceae*, *Erwiniaceae*).

4. Выделены шесть автохтонных штаммов лактобацилл из густых ржаных заквасок, выбран и охарактеризован штамм *Fructilactobacillus sanfranciscensis* B131, на его основе разработан микробный консорциум, обеспечивающий высокие биотехнологические свойства закваски: повышение в

разводочном цикле титруемой кислотности в 1,2 раза, содержания летучих кислот в 3,7–4,4 раза, молочнокислых бактерий – в 2,0–4,8 раза.

5. Установлено увеличение содержания уксусной кислоты в хлебе ржаном из обдирной муки (в 4,4–5,2 раза), ржано-пшеничном заварном (в 4,0–4,5 раза), улучшение их вкуса и запаха, а также подавление развития плесневых грибов в течение 7 суток, что обусловлено использованием закваски на новом микробном консорциуме.

6. Разработаны технологические решения по улучшению качества хлебобулочных изделий (ТИ по производству нового микробного консорциума и его применению для приготовления густой ржаной закваски «Деревенская»), рассчитан экономический эффект, проведена опытно-промышленная апробация выработки хлеба на густой ржаной закваске «Деревенская».

Список работ, опубликованных по теме диссертации

Научные статьи, опубликованные в периодических изданиях, входящих в список ВАК при Министерстве науки и высшего образования РФ:

1. **Локачук, М. Н.** Биохимическая и молекулярно-генетическая идентификация промышленноценных штаммов молочнокислых бактерий / **М. Н. Локачук**, О. А. Савкина, Е. Н. Павловская, Л. И. Кузнецова // Хлебопечение России. - 2020.- №2.- С 28-32.

2. **Локачук, М. Н.** Изменение состава микробиома жидкой ржаной закваски без заварки в процессе длительного ведения / **М. Н. Локачук**, О. А. Савкина, В. К. Хлесткин [и др.] // Хлебопечение России - 2021.-№5.-С.22-25.

3. **Локачук, М. Н.** Характеристика микробиоты густых ржаных заквасок / **М. Н. Локачук**, О. А. Савкина, Л. И. Кузнецова [и др.] // Хлебопечение России. - 2022.- №1.- С.18-23.

4. Савкина, О.А. Классификация заквасок, применяемых в отечественном и зарубежном хлебопечении / О. А. Савкина, **М. Н. Локачук**, Л. И. Кузнецова, Е.Н. Павловская, О.И. Парахина, В.В. Мартиросян // Хлебопечение России. - 2022.- №5.- С.22-28.

5. **Локачук, М. Н.** Современная таксономия и разнообразие молочнокислых бактерий в заквасках / **М. Н. Локачук**, О. А. Савкина, Е. Н. Павловская, Ю. М. Фролова, М. Н. Костюченко, В. В. Мартиросян // Хлебопродукты. - 2023.- №6.- С.28-35.

6. **Локачук, М.Н.** Метагеномный анализ микробных сообществ густых хлебопекарных заквасок / **М. Н. Локачук**, О. А. Савкина, Л. И. Кузнецова, О. И. Парахина, В. В. Мартиросян // Пищевая промышленность. - 2025. - № 6. - С. 57-61.

7. Кузнецова, Л.И. Влияние микробного состава стартовых композиций на качество ржанных густых заквасок и хлеба / Л.И. Кузнецова, **М.Н. Локачук**, М. С. Бурыкина, О.А. Савкина [и др.] // Хлебопечение России. -2022. - Т. 66. № 2. - С. 14-20.

8. **Локачук, М.Н.** Качество ржаного и ржано-пшеничного заварного хлеба с использованием закваски «Деревенская» / **М. Н. Локачук**, В. В. Мартиросян, О. А. Савкина [и др.] // Пищевая промышленность. - 2026. - №7. - С.42-45.

Статьи в журналах, индексируемых в Web of Science и Scopus

1. Хлесткин, В. К. Таксономическая структура бактериальных сообществ в хлебных заквасках спонтанного брожения / В. К. Хлесткин, **М. Н. Локачук**, О. А. Савкина [и др.] // Вавиловский журнал генетики и селекции. - 2022.- №26(4). - С. 385-393.

2. **Локачук, М.Н.** Динамика микробных сообществ российских ржанных заквасок спонтанного брожения / **М. Н. Локачук**, О. А. Савкина, В. К. Хлесткин [и др.] // Экологическая генетика. - 2025.- Т.23 (№3). - С.249-261.

В других изданиях:

1. **Локачук, М.Н.** Влияние микробиома заквасок на качество хлеба / **М. Н. Локачук**, О. А. Савкина, Е.Н. Павловская [и др.] // Материалы XVIII Всероссийского конгресса с международным участием «Нутрициология и диетология для здоровьесбережения населения России», посвященного 300-летию Российской академии наук, 13–14 нояб. 2023 г. – Москва, 2023.- С. 249.

2. **Локачук М.Н.** Изучение влияния изменения микробиома заквасок в процессе ведения на их биотехнологические свойства / **М. Н. Локачук**, О. А. Савкина, Л.И. Кузнецова, Е.Н. Павловская // Вестник биотехнологии. - 2023.- №4 (35).

3. **Локачук М.Н.** Видовая идентификация чистых культур заквасочных микроорганизмов / **М.Н. Локачук**, Ю.М. Фролова // Пищевые системы. - 2021.-Т. 4 (№3S). - С. 184-187.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

МКБ - молочнокислые бактерии

СА - сусло-агар

ПЕРЕЧЕНЬ ВВЕДЕННЫХ ТЕРМИНОВ

Зрелая закваска спонтанного брожения: закваска спонтанного брожения, в которой стабилизировались физико-химические и микробиологические показатели. Закваски спонтанного брожения становятся зрелыми через 7-10 суток ведения.

Молодая закваска спонтанного брожения: закваска спонтанного брожения, содержащая постороннюю бактериальную и грибную микробиоту, характеризующаяся неудовлетворительными биотехнологическими свойствами (1-7-е сутки ведения).