

Бегунова Анна Васильевна, н.с.

ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности» (Россия, г. Москва)

ИЗУЧЕНИЕ МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КИСЛОМОЛОЛОЧНОГО НАПИТКА С ПРОБИОТИЧЕСКИМИ КУЛЬТУРАМИ В ПРОЦЕССЕ ХРАНЕНИЯ

*Аннотация. В работе представлены данные по динамике изменения микробиологических показателей кисломолочного напитка с пробиотическими бактериями в процессе хранения. Установлено, что напиток кисломолочный по содержанию пропионовокислых бактерий и *L. rhamnosus* через 15 суток хранения соответствует требованиям, предъявляемым к продуктам с пробиотическими культурами. Допустимые уровни содержания микроорганизмов в кисломолочном напитке через 15 суток хранения соответствовали требованиям ТР ТС 033/2013 Технический регламент Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции».*

*Ключевые слова: микробиологические показатели, кисломолочный напиток, *L. rhamnosus* TR, *P. shermanii* Э2, срок хранения.*

Begunova Anna Vasiljevna, scientist

All-Russia Dairy Research Institute (Russia, Moscow)

THE INVESTIGATION OF MICROBIOLOGICAL INDICES OF THE FERMENTED DAIRY DRINK WITH PROBIOTIC CULTURE DURING STORAGE

*Abstract. The data covering the dynamics of the microbial indices change of the fermented dairy drink with probiotic bacteria during storage are presented. It was stated that the fermented dairy drink by the amount of propionic acid bacteria and *L.rhamnosus* after 15 days storage meets the requirements for the products with probiotic cultures. The tolerance levels of microorganisms amount in the fermented drink after 15 days storage met the requirements of TP TC 033/2013 of the Technical Regulation of the Custom Union “On Milk and Milk Products Safety”.*

*Key words: microbiological indices, fermented dairy drink, *L.rhamnosus* TR, *P. shermanii* Э2, storage life.*

В настоящее время для российского потребителя при выборе продуктов питания главным фактором становится не только натуральность продукта и его состав, но и функциональность продукта. Новые функциональные продукты питания для массового употребления разрабатываются с использованием современных методов исследований и являются одним из факторов

оздоровления человека [1-3]. Поэтому в настоящее время в России развивается производство продуктов питания функциональной направленности. Среди большого спектра продуктов функционального питания наибольшей популярностью пользуются продукты с пробиотическими микроорганизмами. Значительное место в этой группе продуктов занимают кисломолочные продукты [4,5]. Употребление таких продуктов способствует поддержанию здоровья, снижает риск возникновения заболеваний. Влияние пробиотических микроорганизмов выражается в восстановлении полезной микрофлоры желудочно-кишечного тракта и подавлении патогенной и условно-патогенной микрофлоры [6].

В последние годы концепция предупреждения развития различных заболеваний желудочно-кишечного тракта, а также оздоровления человека заключается во введении в рацион кисломолочных продуктов, содержащих пробиотические штаммы молочнокислых бактерий, бифидобактерии и пропионовокислые бактерии [7-10]. Молочнокислые бактерии играют основную роль в производстве кисломолочных продуктов и обуславливают их органолептические показатели. Молочнокислые бактерии фактически удовлетворяют всем требованиям идеальных микробных пищевых биологических консервантов, они сохраняют питательные свойства пищи, эффективно работают при низких концентрациях и температурах. Более того, здоровая кишечная микрофлора оказывает значительное влияние на общее физиологическое состояние людей [11].

В настоящее время при разработке кисломолочных продуктов расширяется спектр используемых штаммов пробиотических культур и создание многоштабмовых заквасок, состоящих из нескольких штаммов пробиотических микроорганизмов, обладающих различными свойствами.

Нами совместно с Институтом биохимии им. А.Н. Баха, ФИЦ «Фундаментальные основы биотехнологии» РАН разработан кисломолочный продукт с пробиотическими свойствами на основе ассоциации культур *L. rhamnosus*, *P. shermanii* и *L. lactis ssp. cremoris* [1]. Показано, что разработанный кисломолочный продукт *in vitro* обладал выраженным антагонистическим действием в отношении патогенных, условно-патогенных микроорганизмов и возбудителей порчи продуктов, а также ингибировал активность ангиотензин-1-превращающего фермента, в моделях *in vivo* оказывал бифидогенное и умеренное гипотензивное действие. Потребитель должен употреблять продукт с гарантированным содержанием микроорганизмов в течение всего срока хранения, поэтому представляло интерес исследовать динамику изменения микробиологических показателей на протяжении предполагаемого срока хранения продукта и установить допустимые сроки хранения.

Цель данной работы заключалась в проведении исследований по изучению микробиологических показателей разработанного кисломолочного напитка на основе закваски *L. rhamnosus* TR, *P. shermanii* Э2, *L. cremoris* CR201 в процессе хранения при температуре (4±2) °С.

В соответствии с постановленной целью были определены следующие задачи исследований:

- провести выработку кисломолочного напитка пастеризованном молоке с использованием закваски *L. rhamnosus* TR, *P. shermanii* Э2, *L. cremoris* CR201;
- исследовать динамику изменения количества клеток микроорганизмов, входящих в состав закваски в процессе хранения кисломолочного напитка при температуре (4 ± 2) °С;
- определить микробиологические показатели (количество БГКП, *S. aureus*, дрожжей и плесневых грибов) кисломолочного напитка в процессе хранения при температуре (4 ± 2) °С;
- провести статистическую обработку полученных результатов и установить сроки хранения кисломолочного напитка с пробиотическими культурами.

Приготовление кисломолочного напитка проводили по следующей схеме:

- восстановление сухого цельного молока;
- пастеризация молочной смеси при температуре (87 ± 2) °С 10 мин;
- охлаждение до температуры заквашивания;
- внесение инокулята в количестве 5 % и перемешивание;
- розлив пастеризованной молочной смеси в стерильные полимерные стаканчики;
- сквашивание образцов при температуре (30 ± 1) °С до достижения активной кислотности $(4,80\pm 0,05)$ ед. рН;
- охлаждение образцов кисломолочного напитка и хранение в холодильнике при температуре (4 ± 2) °С, с последующим определением количества клеток молочнокислых бактерий, *L. rhamnosus* TR, *P. shermanii* Э2, БГКП, дрожжей и плесневых грибов, *S. aureus* в исходном кисломолочном напитке и через 3, 6, 9, 12 и 15 суток хранения.

Приготовление инокулята *L. rhamnosus* TR проводили заквашиванием 1% закваски стерилизованного обезжиренного молока и термостатировании при температуре (37 ± 1) °С до образования сгустка (рН $4,9\pm 0,1$, КОЕ в $1\text{ см}^3 - 10^8-10^9$); приготовление инокулята *P. shermanii* Э2 проводили инокулированием 2 % питательную среду ГМК-2, культивированием при температуре (30 ± 1) °С в течении 2 суток до помутнения питательной среды (рН = $4,9\pm 0,1$ ед. рН, КОЕ в $1\text{ см}^3 - 10^8-10^9$), приготовление инокулята *L. cremoris* CR201 проводили заквашиванием 1% закваски стерилизованного обезжиренного молока и термостатировании при температуре (30 ± 1) °С до образования сгустка (рН $4,8\pm 0,1$, КОЕ в $1\text{ см}^3 - 10^8-10^9$). Подготовленные культуры смешивали в соотношении *L. rhamnosus* TR : *P. shermanii* Э2 : *L. cremoris* CR201 – 2:1:6. Все работы, связанные с приготовлением закваски, проводили в стерильном микробиологическом боксе и соблюдением правил работ с микроорганизмами. Исследования проводились в 3-х повторностях.

Количество клеток молочнокислых бактерий определяли по ГОСТ 33951-2016 «Молоко и молочная продукция. Методы определения молочнокислых микроорганизмов». Количество клеток *L. rhamnosus* TR в смешанной культуре

с *P. shermanii* Э2 определяли методом посева на питательную среду MRS-агар, культивированием в анаэробных условиях при температуре (37±1) °С и подсчете всех выросших колоний на среде в течение 48-72 ч. Количество клеток *P. shermanii* Э2 в смешанной культуре определяли методом посева на питательную среду следующего состава: 1 % триптона, 1 % дрожжевого экстракта, 1,5 % агара, 0,025 % K₂HPO₄, 0,005 % MnSO₄ и 2,1 % лактата натрия (60 % сироп) [12], культивировании при температуре (30±1) °С в течении 6 дней, подсчете выросших колоний через 2-3 дня и 6 дней термостатирования при температуре (30±1)°С. Количество клеток *P. shermanii* составляло разницу общего количества клеток от количества колоний, выросших через 2-3 дня [13].

Количество БГКП определяли по ГОСТ 32901-2014 «Молоко и молочная продукция. Методы микробиологического анализа». Количество клеток дрожжей и плесневых грибов определяли по ГОСТ 33566-2015 «Молоко и молочная продукция. Определение дрожжей и плесневых грибов». Количество и *S.aureus* определяли по ГОСТ 30347-2016 «Молоко и молочная продукция. Методы определения *Staphilococcus aureus*».

Для определения хранимоспособности кисломолочного напитка были выработаны образцы и заложены на хранение в холодильную камеру при температуре (4±2) °С на 15 суток.

Первоначальное содержание *P. shermanii* Э2 в образцах кисломолочного напитка, заложенного на хранение, составляло 1,4×10⁸ КОЕ/см³. Первоначальное содержание *L. rhamnosus* TR составляло 5,5×10⁸ КОЕ/см³.

На рисунке приведены данные по динамике изменения количества клеток *P. shermanii* Э2, *L. rhamnosus* TR и *L. cremoris* CR201 в процессе хранения при температуре (4±2)°С.

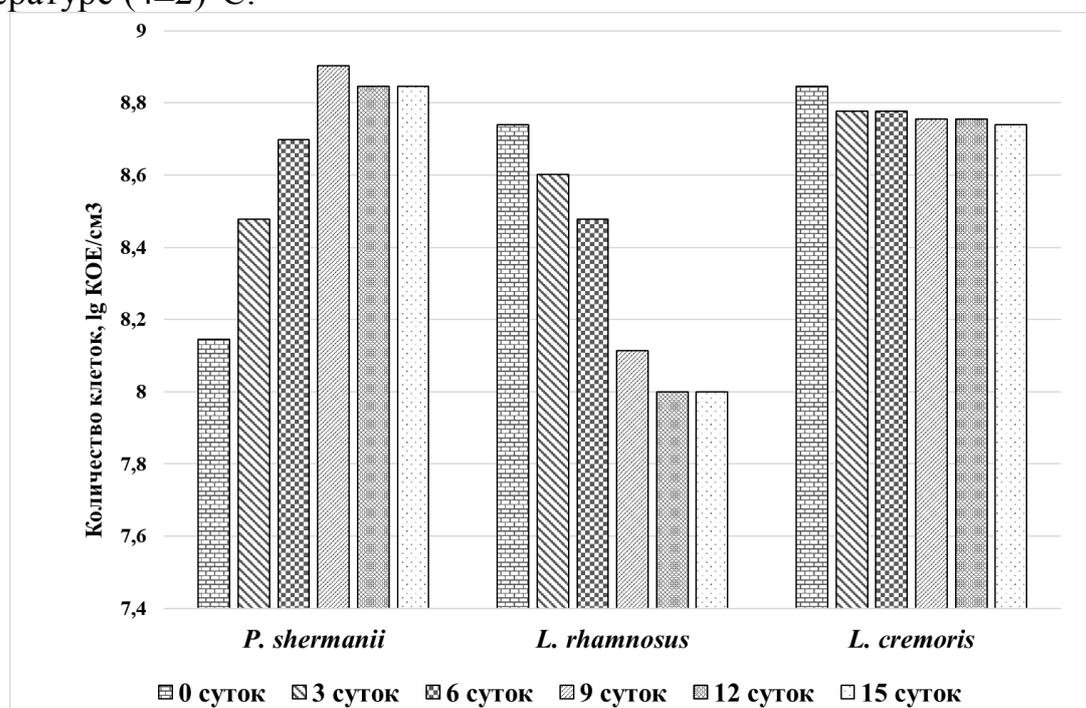


Рисунок – Динамика изменения количества клеток *P. shermanii* Э2, *L. rhamnosus* TR и *L. cremoris* CR201 в процессе хранения при температуре (4±2)°С.

В результате проведенных исследований выявлена тенденция к незначительному увеличению количества клеток *P. shermanii* Э2 в процессе хранения в течение 9 суток, затем происходило незначительное снижение количества клеток *P. shermanii* Э2. Через 15 суток хранения при температуре (4 ± 2) °С количество клеток *P. shermanii* Э2 составило 7×10^8 КОЕ/см³. Количество *L. rhamnosus* TR в процессе хранения незначительно снижалось в пределах одного порядка и в конце хранения составило 1×10^8 КОЕ/см³. Количество *L. cremoris* CR201 в процессе хранения практически не изменилось и через 15 суток хранения составило 4×10^8 КОЕ/см³.

Как показали проведенные исследования, количество клеток БГКП, дрожжей и плесневых грибов, *S.aureus* не изменялось в течение 15 суток хранения при температуре (4 ± 2) °С и соответствовали требованиям ТР ТС 033/2013 Технический регламент Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции».

Согласно требованиям ТР ТС 033/2013 содержание клеток пробиотической культуры в составе функционального кисломолочного продукта должно составлять не менее 1×10^6 КОЕ/см³. Таким образом, в ходе проведенных исследований установлено, что напиток кисломолочный по содержанию пропионовокислых бактерий и *L. rhamnosus* соответствует требованиям, предъявляемым к продуктам с пробиотическими культурами.

В соответствии с МУК 4.2.1847-04 «Санитарно-эпидемиологическая оценка обоснования сроков годности и условий хранения пищевых продуктов» установлены сроки годности кисломолочного напитка. Для кисломолочного продукта срок хранения составил 10 суток при температуре хранения (4 ± 2) °С.

Выводы. Установлено, что разработанный кисломолочный напиток соответствует требованиям ТР ТС 033/2013 Технический регламент Таможенного союза «О безопасности молока и молочной продукции», предъявляемым к продуктам с пробиотическими культурами. Количество молочнокислых бактерий в продукте не менее 10^7 КОЕ/см³ и пропионовокислых бактерий не менее 10^6 КОЕ/см³. Срок хранения составляет 10 суток при температуре хранения (4 ± 2) °С.

Список литературы

1. Бегунова А.В., Рожкова И.В., Зверева Е.А., Глазунова О.А., Фёдорова Т.В. Молочнокислые и пропионовокислые бактерии: формирование сообщества для получения функциональных продуктов с бифидогенными и гипотензивными свойствами // Прикладная биохимия и микробиология. 2019. Т.55. № 6. С. 566-577.
2. Семенихина В.Ф., Рожкова И.В., Бегунова А.В., Ширшова Т.И., Пospelова В.В. Биотехнология кисломолочных продуктов и препаратов с пробиотическими свойствами // Молочная промышленность. 2016. № 7. С. 57-58.
3. Зобкова З.С. Функциональные молочные продукты // Молочная промышленность. 2007. № 4. С. 35.
4. Зобкова З.С., Фурсова Т.П., Зенина Д.В., Гаврилина А.Д., Шелагинова И.Р. Кисломолочные продукты как составляющая функционального питания // Молочная промышленность. 2019. № 2. С. 44-46.
5. Нуриахметова И.А., Болотова А.А., Синдрявкина В.С., Докучаева И.С. Кисломолочный продукт функциональной направленности // Вестник ВГУИТ. 2018. Т. 80. № 4. С. 164–169. DOI:10.20914/2310-1202-2018-4-164-169.
6. Ганина В.И., Сониева М.М., Хвыля С.И., Мотылина Н.С. Пищевая добавка на основе пробиотических культур // Молочная промышленность. 2008. № 3. С. 86.
7. Leroy F., Vuyst L. De Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry // Trends Food Sci. Technol. 2004. 15. № 2. P. 67-78.
8. Tamang J.P., Shin D.-H., Jung S.J., Chae S.-W. Functional properties of microorganisms in fermented foods // Front. Microbiol. 2016. 7. P. 578.
9. Marco M.L., Heeney D., Binda S., Cifelli C.J., Cotter P.D., Foligné B., Gänzle M., Kort R., Pasin G., Pihlanto A., Smid E.J., Hutkins R. Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond // Curr. Opin. Biotechnol. 2017. 44. P. 94-102.
10. Macori G., Cotter P.D. Novel insights into the microbiology of fermented dairy foods // Curr. Opin. Biotechnol. 2018. 49. P. 172-178.
11. Kundu P. et al. Our Gut Microbiome: The Evolving Inner Self // Cell. Elsevier Inc., 2017. Vol. 171, № 7. P. 1481-1493.
12. Thierry A., Madec M.N. Enumeration of propionibacteria in raw milk using a new selective medium. // Le Lait. 1995. V. 75. № 4-5. P. 315-323.
13. Tharmaraj N., Shah N.P. Selective enumeration of *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *bifidobacteria*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus rhamnosus*, and propionibacteria. // J. Dairy Sci. 2003. V. 86. № 7. P. 2288-2296.