

ПОЛТАВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Навчально-науковий інститут агротехнологій, селекції та екології
Кафедра біотехнології та хімії

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

На здобуття ступеня вищої освіти
бакалавр

на тему: «ВПЛИВ ТЕМПЕРАТУРИ НА БІОАКТИВНІСТЬ РІЗНИХ ТИПІВ
ЗАКВАСОК ПРИ МОЛОЧНОКИСЛОМУ БРОДІННІ»

Виконав: здобувач вищої освіти
за освітньою програмою
Біотехнології та біоінженерія
спеціальності
162 Біотехнології та біоінженерія
ступеня вищої освіти бакалавр
групи 162ББбд_2020
Манашина Діана Вячеславівна

Керівник: Ромашко Т.П., кандидат
хімічних наук, доцент

Рецензент: Вільхова І. В.,
завідувач лабораторії ПП
«Білоцерківська агропромислова
група»

Полтава – 2024 року

ПОЛТАВСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
Навчально-науковий інститут агротехнологій, селекції та екології
Кафедра біотехнології та хімії

Освітньо-професійна програма Біотехнології та біоінженерія

Спеціальність 162 Біотехнології та біоінженерія

Рівень вищої освіти бакалаврський

ЗАТВЕРДЖУЮ

Завідувач кафедри Таміла Ромашко

«11» «вересня» 2024 року

ЗАВДАННЯ
НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА ВИЩОЇ ОСВІТИ
Манашина Діана Вячеславівна

1. Тема роботи:

«Вплив температури на біоактивність різних типів заквасок при молочнокислому бродінні».

керівник роботи к.х.н., доцент, завідувач кафедри біотехнології та хімії Ромашко Т.П.

Затверджено засіданням кафедри протокол № 3 від «11» вересня 2023 р.

2. Строк подання здобувачем вищої освіти роботи «10» червня 2024 р.

3. Вихідні дані до роботи:

різні типи заквасок для молочнокислого бродіння, зразки молочної продукції.

4. Зміст розрахунково-пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити).

Розділ 1. Вплив температури на біоактивність різних типів заквасок при молочнокислому бродінні (огляд літературних джерел).

1.1. Особливості метаболізму молочнокислих бактерій.

1.2. Бактеріоцини, що продукуються молочнокислими бактеріями, та їх застосування.

1.3 Застосування пробіотичних мікроорганізмів під час виробництва кисломолочних продуктів.

1.4. Характеристика біологічно активних речовин, що використовуються при виготовленні йогуртів.

Розділ 2. Об'єкт та методика проведення досліджень

2.1. Об'єкт дослідження.

2.2. Методика визначення активної кислотності.

2.3. Методика визначення титрованої кислотності.

2.4. Методика визначення водоутримуючої здатності.

Розділ 3. Результати досліджень

- 3.1. Визначення оптимальної температури сквашування
- 3.2. Дослідження титрованої кислотності та водоутримуючої здатності
- 3.3. Розробка технології приготування йогурту із додаванням клітковини плодів розторопші.

Висновки

Список використаних джерел.

4. Перелік графічного матеріалу: рисунки - 9, графіки- 4, за темою та об'єктом дослідження.
5. Дата видачі завдання «11» вересня 2023р.

КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Термін виконання етапів роботи	Примітка
1. Вибір і затвердження теми роботи.	04.09.-11.09.23	виконано
2. Складання та погодження розгорнутого плану та завдання на кваліфікаційну роботу	11.09-18.09.23	виконано
3. Опрацювання літературних джерел	18.09-20.10.23	виконано
4. Збір, вивчення і обробка інформації, необхідної для виконання роботи	23.10-20.11.23	виконано
5. Виконання теоретичного розділу роботи	20.11.23-12.01.24	виконано
6. Виконання аналітичних розділів роботи	15.01.-29.03.24	виконано
7. Виконання спеціальних розділів	01.04.-30.04.24	виконано
8. Оформлення тексту роботи	01.05.-31.05.24	виконано
9. Попередній захист роботи на кафедрі	10.06.24	виконано
10. Доопрацювання роботи з урахуванням зауважень і пропозицій	10.06.-20.06.24	виконано
11. Нормоконтроль	20.06.24	виконано
12. Захист кваліфікаційної роботи	21.06.24	виконано

Здобувач вищої освіти

_____ Діана МАНАШИНА

Керівник роботи

_____ Таміла РОМАШКО

АНОТАЦІЯ

Манашина Діана Вячеславівна

Вплив температури на біоактивність різних типів заквасок при молочнокислому бродінні

Кваліфікаційна робота за освітньо-професійною програмою Біотехнології та біоінженерія спеціальності 162 Біотехнології та біоінженерія

Полтавський державний аграрний університет, м. Полтава, 2024 рік.

Кваліфікаційна робота складається із вступу, трьох розділів, висновків, списку використаних джерел, що містить 118 найменувань, додатків. Обсяг роботи 51 сторінка, містить 14 рисунків, 6 таблиць. Метою роботи є дослідження впливу температури на біоактивність різних типів заквасок при молочнокислому бродінні. Об'єктом дослідження є процес молочнокислого бродіння та взаємодія різних типів заквасок з молочним середовищем.

На основі виконаних досліджень визначено, що оптимальним температурним режимом для досліджуваних типів заквасок є 30°C. Порівнюючи значення активної та титрованої кислотності, водоутримуючої здатності зразків, ми визначили, що найбільшу біоактивність молочнокислих бактерій проявила закваска бактеріальна Vivo Ацидолакт (склад: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium lactis* (2 штаму), Лактоза). Додавання клітковини плодів розторопші є ефективним способом збагачення продукту харчовими волокнами та іншими корисними речовинами. Фізико-хімічні показники отриманого йогурту відповідають нормам ДСТУ 4343: 2004 Йогурти. Загальні технічні умови. Розроблено та описано технологію приготування йогурту з додаванням клітковини плодів розторопші, яка дає змогу отримати йогурт із широким спектром поживних речовин.

Ключові слова: молочнокислі бактерії, біологічно активні речовини, пробіотики, молочнокисле бродіння, біоактивність, технологія.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ	6
ВСТУП.....	7
РОЗДІЛ 1. ВПЛИВ ТЕМПЕРАТУРИ НА БІОАКТИВНІСТЬ РІЗНИХ ТИПІВ ЗАКВАСОК ПРИ МОЛОЧНОКИСЛОМУ БРОДІННІ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ).....	10
1.1. Особливості метаболізму молочнокислих бактерій	10
1.2. Бактеріоцини, що продукуються молочнокислими бактеріями, та їх застосування	18
1.3 Застосування пробіотичних мікроорганізмів під час виробництва кисломолочних продуктів.....	25
1.4. Характеристика біологічно активних речовин, що використовуються при виготовленні йогуртів	28
РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТ ТА МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ...	35
2.1. Об'єкт дослідження.....	35
2.2. Методика визначення активної кислотності	38
2.3. Методика визначення титрованої кислотності	39
2.4. Методика визначення водоутримуючої здатності	40
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ	42
3.1. Визначення оптимальної температури сквашування	42
3.2. Дослідження титрованої кислотності та водоутримуючої здатності	47
3.3. Розробка технології приготування йогурту із додаванням клітковини плодів розторопші.....	49
ВИСНОВКИ	58
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	59
ДОДАТКИ.....	Ошибка! Закладка не определена.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

АПФ – ангіотензинперетворюючий фермент

МКБ – молочнокислі бактерії

НАДФ – нікотинамідаденіндинуклеотидфосфат

CRISPR-Cas9 – технологія редагування генів

ВСТУП

Актуальність теми. Ферментація є однією з найстаріших біотехнологій для виробництва харчових продуктів з такими бажаними властивостями як подовжений термін зберігання та хороші органолептичні властивості. Готові ферментовані продукти зазвичай мають підвищену мікробіологічну стабільність і безпеку, а деякі з них можна зберігати навіть при температурі навколишнього середовища. Крім того, існує кілька прикладів процесів ферментації, які призводять до підвищення поживної цінності або засвоюваності харчової сировини. Нарешті, процеси харчової ферментації також забезпечують продукти з підвищеною смаковою привабливістю для споживачів. Всі ці аргументи підвищили інтерес до вивчення природних процесів харчової ферментації, а точніше, до встановлення зв'язку між різноманітністю спільнот ферментуючих мікробів та їх властивостями з енергією процесу і якістю продукції.

Молочнокислі бактерії використовуються для виробництва широкого спектру молочних продуктів, таких як йогурт, кефір, сир та інші. Важливим фактором у процесі ферментації є температура, яка впливає на активність мікроорганізмів та характеристики кінцевого продукту. Дослідження впливу температури на біоактивність різних типів заквасок при молочнокислому бродінні є актуальною темою, оскільки вони дозволяють оптимізувати процес виробництва та поліпшувати якість продукту.

Отже, актуальність даного дослідження полягає у важливості оптимізації процесу молочнокислого бродіння, який є ключовим для виробництва широкого асортименту молочних продуктів. Розуміння впливу температури на біоактивність заквасок має вирішальне значення для забезпечення якості та стабільності продукції, а також для ефективного використання ресурсів у виробництві. Окрім того, підвищення якості виробництва молочних продуктів за рахунок збагачення їх дієтичними добавками є важливим завданням у зв'язку з постійним попитом на цю продукцію на споживчому ринку. Таким чином, дослідження впливу

температури на біоактивність різних видів заквасок є актуальним і має практичне значення для підвищення ефективності виробництва молочної продукції.

Мета роботи полягає у дослідженні впливу температури на біоактивність різних типів заквасок при молочнокислому бродінні в процесі приготування молочнокислої продукції з дієтичними добавками.

Виходячи з мети можна виділити такі **завдання дослідження**:

1. Підібрати методики та температурний режим для проведення дослідження біоактивності молочних заквасок.
2. Виконати статистичну обробку даних щодо динаміки процесів бродіння в молоці та зробити аналіз впливу температури на біоактивність молочних заквасок.
3. Визначити вплив додавання клітковини плодів розторопші на фізико-хімічні показники процесу заквашування молока.
4. Поширити існуючу технологію виробництва йогуртів на випадок приготування йогуртів з дієтичними добавками.

Об'єкт дослідження: Процес молочнокислого бродіння та взаємодія різних типів заквасок з молочним середовищем

Предмет дослідження: Біоактивність різних типів заквасок при молочнокислому бродінні залежно від температурних умов.

Методи досліджень. В експериментальній частині було використано титриметричний метод, метод вимірювання активної кислотності, гравіметричний метод. Приготування необхідних розчинів проводилось відповідно до стандартних методик. Опрацювання отриманих результатів досліджень виконано із застосуванням комп'ютерної програми Microsoft Excel.

Наукова новизна одержаних результатів полягає в тому, що вперше була розроблена та описана технологія приготування йогурту із додаванням клітковини плодів розторопші. Проаналізовано вплив додавання клітковини на рН, титровану кислотність, водоутримуючу здатність.

Практичне значення. Результати кваліфікаційної роботи можуть бути використані у молокопереробній галузі та рекомендуються до впровадження.

Апробація результатів роботи. Основні положення кваліфікаційної роботи були представлені та обговорення на засіданні кафедри біотехнології та хімії ПДАУ. Опубліковано тези доповідей:

Ромашко Т.П., **Манашина Д.В.**, Тристан Д.В. Вплив складу молока, бактеріальних заквасок та інших факторів на бродіння лактози та коагуляції казеїну. Матеріали VIII Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції (м. Полтава, 15-16 травня 2024 року). – Полтава, 2024. – С. 112-114.

Ромашко Т.П., **Манашина Д.В.**, Роль ферментних препаратів на параметри згортання молока. Матеріали VII Міжнародної науково-практичної інтернет-конференції (м. Полтава, 17-18 травня 2024 року). – Полтава, 2024. – С. 75-78.

Структура та обсяг роботи. Загальний обсяг сторінок кваліфікаційної роботи 51. Робота містить 6 таблиць, 14 рисунків та список використаних джерел, що складає 118 позицій.

РОЗДІЛ 1.

ВПЛИВ ТЕМПЕРАТУРИ НА БІОАКТИВНІСТЬ РІЗНИХ ТИПІВ ЗАКВАСОК ПРИ МОЛОЧНОКИСЛОМУ БРОДІННІ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРНИХ ДЖЕРЕЛ)

1.1. Особливості метаболізму молочнокислих бактерій

Останніми роками все більше уваги приділяється метаболізму молочнокислих бактерій. Молочнокислі бактерії (МКБ) – це тип грампозитивних бактерій, які використовують вуглеводи як єдине або основне джерело вуглецю. Молочнокислі бактерії, як правило, є коками або паличками і мають високу толерантність до низького рівня рН. Хоча молочнокислі бактерії налічують понад 60 родів, найчастіше у ферментації харчових продуктів зустрічаються *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Weissella* та ін. Але нещодавно було запропоновано об'єднати *Lactobacillaceae* та *Leuconostocaceae* в одну родину *Lactobacillaceae*. Рід *Lactobacillus* також був перекласифікований на 25 родів [25].

Як ферментативний штам, молочнокислі бактерії повинні мати кілька важливих метаболічних характеристик, таких як здатність виробляти кислоту і аромат, здатність гідролізувати білок, здатність виробляти в'язкі екзополісахариди і здатність пригнічувати бактерії. Метаболічні характеристики молочнокислих бактерій та їх застосування в харчовій промисловості доцільно розглядати з точки зору метаболізму деградації та біосинтезу молочнокислих бактерій.

Полісахариди – це полімери, що складаються з більш ніж десяти однакових або різних моносахаридних одиниць, з'єднаних α - або β -глікозидними зв'язками [4]. У рослинах до полісахаридів належать крохмаль, целюлоза, фруктоза, геміцелюлоза тощо. Деградація полісахаридів молочнокислими бактеріями залежить від різних гідролаз. У ферментованих продуктах розкладання полісахаридів може забезпечити молочнокислі

бактерії енергією та різноманітними корисними речовинами для людини. Різні види молочнокислих бактерій можуть метаболізувати різні полісахариди, що визначає різні перспективи застосування відповідних штамів у харчовій промисловості [66].

У ферментованій харчовій промисловості деградація полісахаридів молочнокислими бактеріями може призводити до утворення моносахаридів, молочної кислоти тощо, що може покращити якість харчових продуктів. Наприклад, здатність молочнокислих бактерій розщеплювати полісахариди була використана у виробництві напоїв, щоб замінити використання ферментів пліснявих грибів, які розкладають полісахариди. Крім того, деякі роди молочнокислих бактерій зазвичай вважаються пробіотиками в кишечнику, включаючи *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc* [58]. Зростанню пробіотиків можуть сприяти деякі види полісахаридів, які визначаються як пребіотики. В останні роки, з поглибленим вивченням екології кишкових мікроорганізмів, дослідження комерційних пребіотичних олігосахаридів значно зросли. Роль молочнокислих бактерій у розщепленні полісахаридів привертає все більше уваги не тільки в харчовій та ферментативній промисловості, але навіть у медицині та інших галузях, пов'язаних з охороною здоров'я.

У минулому вважалося, що молочнокислі бактерії роблять більший внесок у виробництво кисломолочних продуктів і мають слабку здатність гідролізувати цукор і білки в зерні. Але завдяки аналізу метаболічного шляху молочнокислих бактерій було виявлено, що існує відповідний шлях метаболізму крохмалю. Також було доведено, що крохмаль може гідролізуватися позаклітинними ферментами, що виділяються молочнокислими бактеріями [45].

Зважаючи на важливу роль, яку відіграє здатність до гідролізу крохмалю та інших полісахаридів у багатих на крохмаль заквасках, у цій частині ми зосередимося на метаболічних властивостях молочнокислих бактерій щодо крохмалю. Крохмаль включає амілозу, що складається з α -(1 $\rightarrow$ 4) глюкозного

ланцюга, та амілопектин, що складається з α -(1 $\rightarrow$ 4) глюкозного основного ланцюга та α -(1 $\rightarrow$ 6) глюкозного бічного ланцюга [5]. Відповідно до різних типів глікозидних зв'язків в амілозі та амілопектині, для їх гідролізу потрібні амілаза (як альфа-, так і бета-типу) та амілопуллулаза, відповідно. Молочнокислі бактерії також відіграють важливу роль у ферментації закваски. Найпоширенішими видами бактерій для гідролізу крохмалю є *Lactiplantibacillus plantarum* та *Levilactobacillus brevis* [36]. *Lactiplantibacillus plantarum* може виробляти амілазу для гідролізу крохмалю до декстрину і, нарешті, до глюкози [76]. У геномі *Weissella* існує потенційний ген, що кодує мальтогенну амілазу, яка використовується для гідролізу крохмалю в заквасці [2].

Під час переробки харчових продуктів деградація макромолекулярних білків є важливим процесом, який впливає на якість, безпеку та поживність харчових продуктів. Молочнокисле бродіння – це єдине харчове бродіння, де гідроліз білків молочнокислими бактеріями має значення, в усіх інших випадках набагато важливішими є протеази інших організмів або субстрату. Протеоліз у молочнокислих бактерій можна розділити на кілька етапів, включаючи деградацію білка, транспорт пептидів, деградацію пептидів і катаболізм амінокислот[23].

На рисунку 1.1 показано метаболічний шлях молочнокислих бактерій для розщеплення казеїну в молоці. Протеоліз у молочнокислих бактерій ініціюється протеїназою клітинної оболонки, яка розщеплює білки до олігопептидів. Другим етапом деградації білків є перенесення дипептидів, трипептидів та олігопептидів у клітини. У молочнокислих бактерій було виявлено три транспортні системи: олігопептидна, дипептидна і трипептидна [16]. Пептиди розщеплюються в клітинах до амінокислот за допомогою різноманітних пептидаз, які включають ендопептидази, амінопептидази, дипептидази, трипептидази та пролінспецифічні пептидази [52].

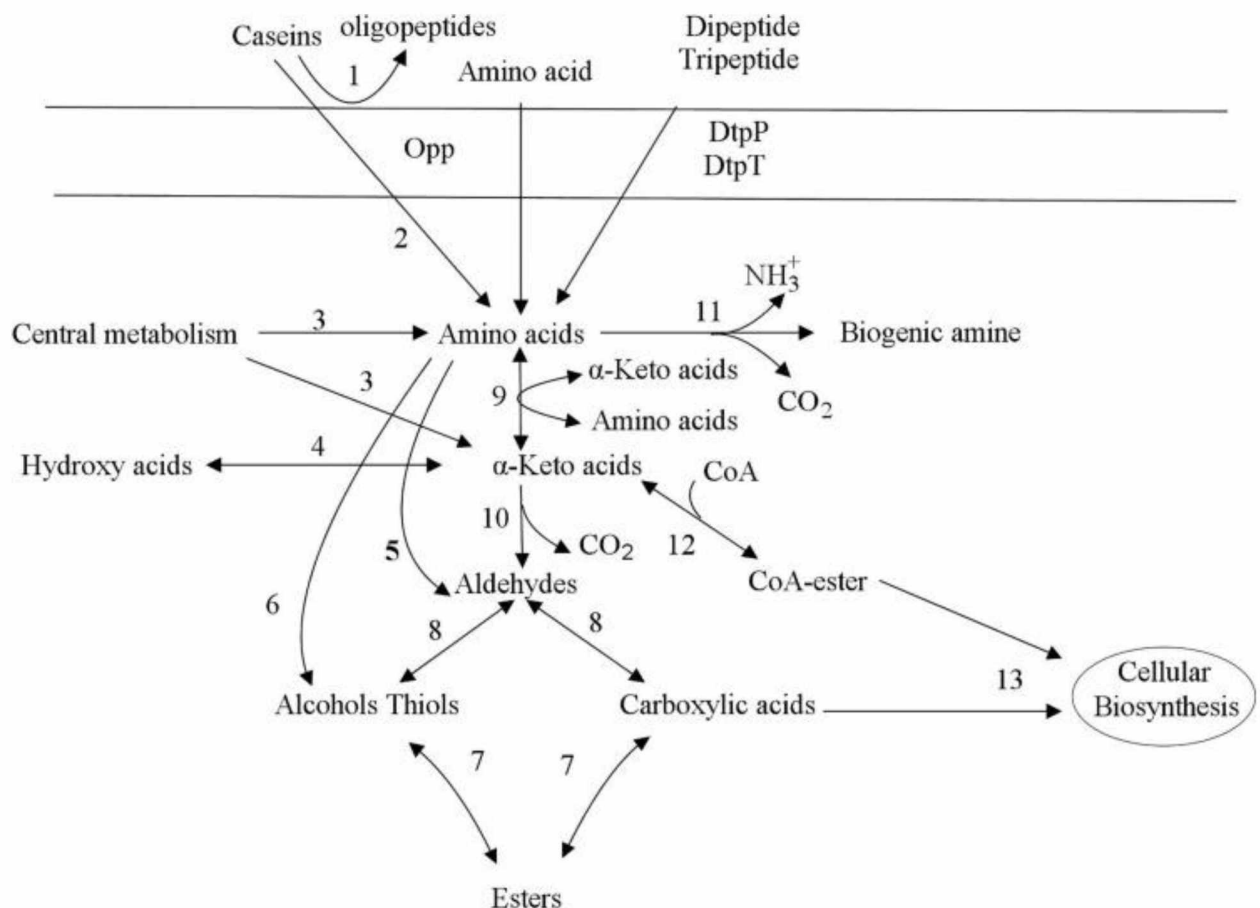


Рисунок 1.1. Розпад білка та метаболізм амінокислот
(1-протеїназа клітинної оболонки, 2-пептидази, 3-біосинтетичні ферменти, 4-дегідрогеназа, 5-альдолази, 6-ліази, 7-ацилтрансферази естерази, 8-дегідрогеназа, 9-аміотрансферази, 10-декарбоксилаза, 11-деімінази декарбоксилаза, 12-дегідрогеназний комплекс, 13-біосинтетичні ферменти)
(джерело 47)

Молочнокислі бактерії можуть розкладати білок у їжі з утворенням різноманітних низькомолекулярних пептидів або вільних амінокислот. Наприклад, основна група лактобактерій у кефірній культурі має сильний розкладаючий вплив на молочний білок у молоці [47]. Молочнокислі бактерії, такі як *Lactobacillus delbrueckii*, *Lactococcus lactis*, *Lentilactobacillus kefir*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Lacticaseibacillus casei* і *Lactobacillus helveticus* можуть виробляти пептиди, що інгібують ангіотензинперетворюючий фермент (АПФ) [20]. Крім того, у *Lactococcus lactis* тип специфічності лактоцепіну закваски може мати важливий вплив на рівень гіркоти в сирах з низьким вмістом солі у воді [45].

У харчовій та бродильній промисловості молочнокислі бактерії можуть не тільки розщеплювати основні харчові макромолекулярні речовини, такі як полісахариди та білки, але й деякі інші небажані речовини. Додавання молочнокислих бактерій зменшує можливі небажані смаки у ферментованих продуктах. Наприклад, на основі властивостей молочнокислих бактерій виробляти кислоту та аромат, небажаний смак, спричинений ферментацією бацил, можна покращити шляхом ферментації змішаних штамів [64]. *Lactobacillus helveticus* можна використовувати як допоміжну закваску для гідролізу гірких пептидів у виробництві сиру [3]. Крім того, види *Oxalobacter* і *Lactobacillus*, що симбіотично існують у кишечнику людини, можуть запобігати утворенню каменів, виробляючи специфічні ферменти, які допомагають розкладанню оксалатних солей [9]. Хоча молочнокислі бактерії продемонстрували різноманітні ефекти деградації, оскільки молочнокислі бактерії традиційно не вважаються мікроорганізмами з сильною деградаційною здатністю, специфічний механізм деградації більшості шкідливих речовин у продуктах харчування все ще потребує широких і далекосяжних досліджень.

У метаболізмі молочнокислих бактерій певні метаболічні процеси, такі як молочнокисле бродіння, можуть синтезувати різні органічні кислоти, включаючи молочну кислоту. Молочна кислота є важливою біологічною сполукою на основі платформи, яку можна розділити на D-молочну кислоту і L-молочну кислоту відповідно до її оптичного обертання. Вона широко використовується в сільському господарстві, харчовій промисловості, медицині, хімічній промисловості та охороні навколишнього середовища. З огляду на важливість молочної кислоти як важливої промислової сировини, відповідні дослідження синтезу продовжують залишатися гарячою точкою в останні десятиліття. Зважаючи на це, варто проаналізувати застосування синтезу молочної кислоти в харчовій промисловості та пов'язані з ним дослідження метаболічної інженерії.

Залежно від того, чи використовується альдолаза в процесі виробництва молочної кислоти, молочнокислі бактерії можна розділити на гомолактичні та гетеролактичні (рис. 1.2). *Lactococcus* і *Lactobacillus* здійснюють гомолактичне бродіння, тоді як *Leuconostoc*, *Weissella* і *Oenococcus* здійснюють гетеролактичне бродіння[55]. У процесі чистого молочнокислого бродіння молочнокислі бактерії використовують глюкозу як джерело вуглецю для виробництва пірувату шляхом гліколізу, а потім виробляють молочну кислоту під дією лактатдегідрогенази [28]. Теоретично, з 1 моля глюкози утворюється 2 моля молочної кислоти. У молочнокислих бактерій гетеролактозного типу бродіння глюкоза може розкладатися на молочну кислоту, етанол, CO₂ за допомогою фосфокетотлазного шляху. Теоретично, з 1 моля глюкози утворюється 1 моль молочної кислоти [28]. За допомогою пентозофосфатного шляху глюкозо-6-фосфат перетворюється на вуглекислий газ, рибулозо-5-фосфат і НАДФ [31]. Лактатдегідрогеназа є ключовим ферментом молочнокислих бактерій для перетворення пірувату в молочну кислоту, а її стереоспецифічність визначає конфігурацію молочної кислоти. D-молочна кислота та L-молочна кислота каталізуються D-лактатдегідрогеназою та L-лактатдегідрогеназою відповідно. Оптичний тип молочної кислоти, синтезованої мікроорганізмами, залежить від рівня експресії D-лактат- і L-лактатдегідрогенази в штамі [113].

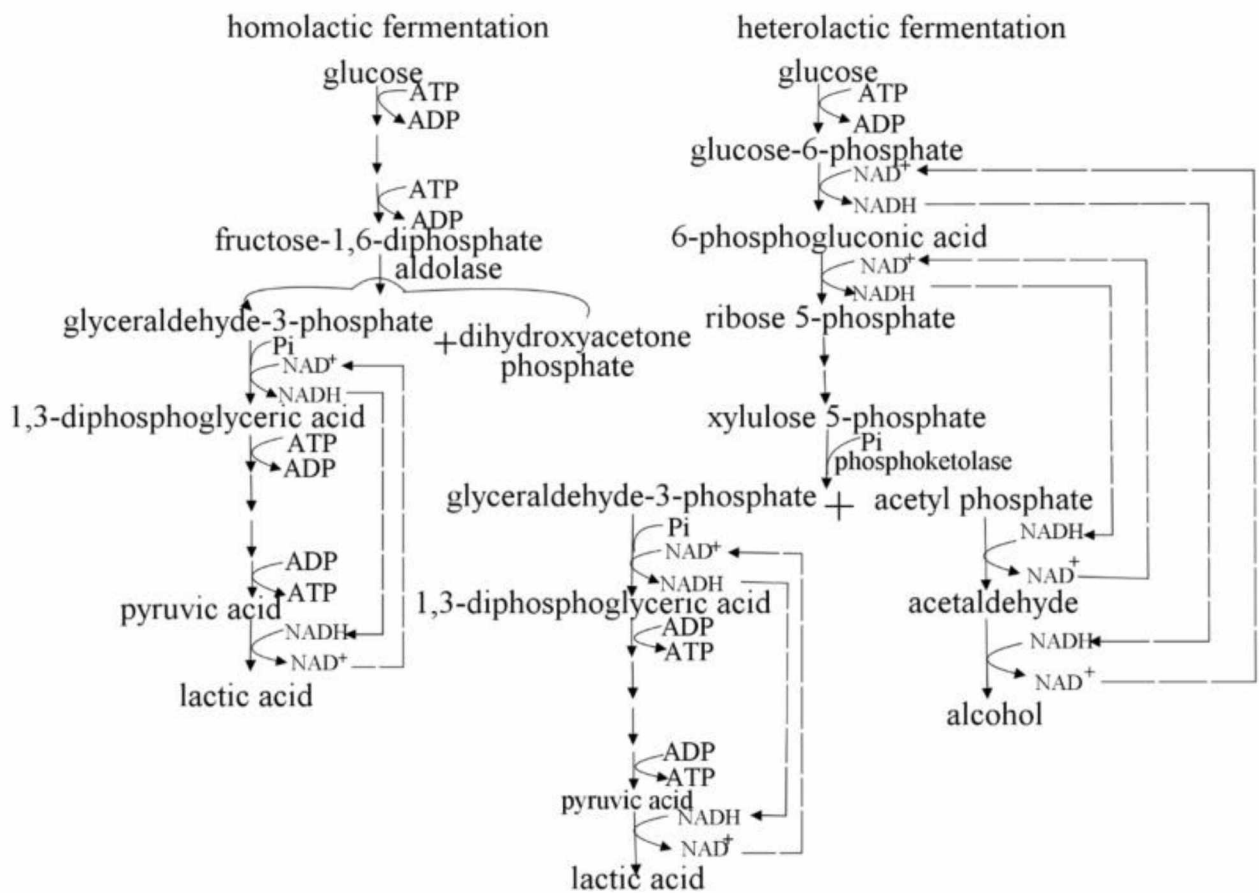


Рисунок 1.2. Гомолактичне та гетеролактичне бродіння (джерело 106)

У харчовій промисловості існує багато досліджень про те, як підвищити вихід і оптичну чистоту молочної кислоти під час переробки харчових продуктів [106], і різноманітні методи пропонують ідеї з різних підходів. У сучасному промисловому виробництві для підвищення виходу та чистоти молочної кислоти часто використовують стратегії ферментації. Ці стратегії ферментації включають додавання різних поживних речовин, таких як субстратна глюкоза або сполуки вітамінів групи В під час процесу ферментації [53], застосування стратегій контролю рН, використання відходів молочної промисловості як субстрату для зниження витрат [82] тощо. Серед них такі стратегії, як одночасна оцукрювальна ферментація та роздільний гідроліз і ферментація, використовуються для виробництва молочної кислоти для отримання продуктів з високою оптичною чистотою (>99,9%) та зменшення кількості залишкового цукру [39].

У харчовій промисловості основною метою застосування стратегій метаболічної інженерії молочнокислих бактерій є збільшення виробництва певних метаболітів молочнокислих бактерій (таких як екзополісахариди, цукрові спиртові сполуки, вітаміни та бактеріостатичні пептиди тощо).

Наприклад, використовуючи центральні шляхи вуглецевого обміну (включаючи гліколіз, глюконеогенез, пентозний шлях і цикл лимонної кислоти тощо) як мішень, можна збільшити вихід певного цільового продукту шляхом зміни метаболічного потоку. Методи дослідження в основному включають розширення існуючих метаболічних шляхів і конструювання нових метаболічних шляхів. Розширення існуючих шляхів означає надмірну експресію генів ферментів, що обмежують швидкість метаболізму, у відповідних біосинтетичних шляхах на основі існуючих метаболічних шляхів та інгібування конкурентного метаболізму. Наприклад, піруват є ключовою речовиною центрального шляху метаболізму вуглецю, і його вміст дуже важливий для синтезу органічних кислот, таких як молочна кислота, α -ацетолактат, оцтова кислота та мурашина кислота. Тому у виробництві молочної кислоти можна використовувати такі методи, як регулювання метаболічного потоку пірувату та посилення експресії лактатдегідрогенази, щоб досягти високих врожаїв. Крім того, використання метаболічної інженерії може також ефективно оптимізувати здатність молочнокислих бактерій розщеплювати білки, що, в свою чергу, допомагає контролювати гідроліз білків і допомагає отримати найбільш оптимізовану технологію переробки харчових продуктів. Конструювання нового метаболічного шляху – це експресія декількох генів, що кодують специфічний для даного шляху фермент у неприродному хазяїні з метою створення нового шляху. Це, як правило, пов'язано з тим, що хоча всі можливі процедури генетичних маніпуляцій і стратегії метаболічної інженерії використовуються в природних штаммах, іноді титр продукції необхідних метаболітів все ще дуже низький або не відповідає вимогам. Наприклад, шляхом інтеграції гена коротколанцюгової дегідрогенази, що кодується *Corynebacterium glutamicum*, у *Pediococcus*

acidilactici, отриманий генно-інженерний штам синтезує більший вихід D-молочної кислоти [58].

Отже, з розвитком системи CRISPR-Cas9 та інших систем редагування генів [71], різноманітні стратегії метаболічної інженерії можуть бути використані для задоволення зростаючого попиту на мікробні метаболіти в промисловому виробництві.

1.2. Бактеріоцини, що продукуються молочнокислими бактеріями, та їх застосування

Багато бактерій синтезують антибіотичні речовини білково-пептидної природи, що вбивають споріднені види або штами, або гальмують їх ріст, або мають ширший спектр антибактеріальної дії. Ці речовини з вельми специфічною дією дістали назву бактеріоцинів, біосинтез яких кодується особливими плазмідами і відбувається в більшості випадків на рибосомах. Бактеріоцини - це найбільш високомолекулярні антибіотики [112].

Дослідження, що проводяться останніми роками, дали змогу виокремити в самостійну категорію явищ антагоністичну активність мікроорганізмів, що характеризується синтезом білкоподібних антибактеріальних речовин з обмеженим діапазоном активності. Вважають, що з практичного погляду ці антибактеріальні препарати, які діють на мікрофлору вибірково, можуть використовуватися для нормалізації мікробного ценозу за деяких патологій у людини та тварин [101-115].

Бактеріоцини з молочнокислих бактерій поділяють на дві групи. Представники першої групи характеризуються вузьким спектром антибактеріальної дії – викликають загибель організмів, близьких до організму-продуцента. До цієї групи входять лактоцин В і F-27, аміловорін, педіоцин N5P, термофілін А, курвацин А, аміловорін L471, ентерококцин. Бактеріоцини, що належать до другої групи, пригнічують ріст багатьох видів грампозитивних мікроорганізмів, зокрема *Listeria monocytogenes*, *Clostridium*

botulinum, *Clostridium sporogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Pediococcus acidilactici*, *Bacillus* spp., *Enterococcus faecalis* [80].

Низка властивостей бактеріоцинів (інактивація протеїназами та стійкість до нагрівання) підтверджують їх білкову або пептидну природу. Вивчення умов утворення бактеріоцинів представниками деяких молочнокислих бактерій *Lactococcus lactis*, *Pediococcus acidilactici*, *Leuconostoc carnosum*, *Leuconostoc mesenteroides* показало, що умови, які сприяють накопиченню клітинної маси, забезпечують найбільшу продукцію цих сполук. На біосинтез бактеріоцинів, як і в інших біологічно активних речовин, впливають умови культивування продуцента: склад живильного середовища, рН, температура, а також час інкубації продуцента [102]. П'ять бактеріоцинів ентерококового походження пригнічували ріст штамів *Lactobacillus buchneri*, що виробляють гістамін під час виробництва сиру. Це дало змогу застосовувати штами *E. faecalis*, які продукують ці бактеріоцини, у заквасках під час виробництва сиру, що запобігало розвитку *L. buchneri* та утворенню гістаміну [45].

Перспективним є застосування низки бактеріоцинів, що продукуються групою молочнокислих бактерій, у харчовій промисловості [83]. Продуценти цих бактеріоцинів використовують як заквашувальну культуру при різних харчових виробництвах. Утворений бактеріоцин забезпечує домінування потрібної мікрофлори та пригнічення сторонньої мікрофлори, що забезпечує безпечне протікання мікробіологічних процесів. Наприклад, під час виробництва сухої ковбаси як заквашувальну культуру використовують *Lactobacillus curvatus*, що утворює курвацин, який пригнічує ріст споріднених лактобактерій і умовно-патогенних бактерій та забезпечує цим безпечне протікання біохімічних процесів під час дозрівання сухої ковбаси [47].

Із літературних джерел відомо, що для отримання закваски під час виготовлення йогурту з новими характеристиками можна використовувати *Streptococcus salivarius*, що утворює бактеріоцин. Такий продукт, отриманий

на основі зазначеної бактерії в поєднанні з *Lactobacillus delbrueckii*, при зберіганні та перевезенні не псується [48].

Таким чином, бактеріоцини, утворені мікроорганізмами, що входять до складу заквасок, дають змогу зберегти одержувані продукти. Для запобігання утворенню гістаміну під час виробництва сиру в закваску додають *Lactococcus lactis* і *E. faecalis*, які утворювали бактеріоцини, що пригнічують ріст штамів, які виділяють гістаміни. Останні виявилися чутливими до нізину та п'яти бактеріоцинів ентерококового походження [23].

Розроблено простий і економічний спосіб приготування йогурту, що містить бактеріоцин PA-1, утворений *Pediococcus acidilactici* в живильному середовищі на основі молока. В отриманій культуральній рідині, підданій тепловій обробці, вирощують йогуртову стартову культуру до отримання йогурту. Останній потім висушується ліофілізацією або розпиленням (до порошку) і використовується в різних продуктах харчування [36].

Бактеріоцини, отримані з бацил, можуть використовуватися для консервації харчових продуктів [106]. Наприклад, бацилоцин (*bacillocin* 490) пригнічує ріст близькоспоріднених *Bacillus* spp. як в аеробних, так і в анаеробних умовах, а його бактерицидна активність зберігалася в широкому діапазоні рН та температур, а також у різних харчових субстратах, включно з молоком і сиром [55].

Бактеріоцини здійснюють природний захист харчових продуктів, зокрема отриманих шляхом ферментації. Штами мікроорганізмів, що продукують бактеріоцини, зокрема молочнокислі бактерії, або самі бактеріоцини можуть бути використані як природні консерванти харчових продуктів. Завдання полягає в тому, щоб оптимізувати продукування бактеріоцинів бактеріями, підвищити активність і стабільність цих сполук, цілеспрямовано отримувати бактеріоцини із заданими властивостями. Однак поява і селекція варіантів бактерій, стійких до бактеріоцинів, ускладнює використання цих речовин як харчових консервантів.

Відомий штам *S.salivarius* SBT1277, що продукує бактеріоцин, чутливий до протеаз, який вирізняється високою термостабільністю та володіє широким спектром антагоністичної дії, пригнічуючи ріст *E. coli*, *Bacillus spp.*, *S. aureus* і низку видів молочнокислих бактерій. Зазначений штам використовують у складі закваски для отримання йогурту [86].

Лактицин 3147 утворюється *L.lactis* 3147. Бактеріоцин має широкий антимікробний спектр дії (подібний до нізину), термостабільний. Штам-продуцент виділений із кефірних зерен і застосовується у виробництві сиру чеддер. Використання генетичних методів допомагає знайти потрібні рішення для виробництва. Так, плазмиду, що несе генетичні детермінанти лактицину 3147, ввели у виробничий заквашувальний штам *L.lactis* subsp. *cremoris* 4268; отриманий транскон'югант використовують в заквасці під час вироблення сиру чеддер. Під час шестимісячного дозрівання сиру вміст бактеріоцину в сирній масі перебуває на постійному рівні та корелює із низькими рівнями популяції незаквасочних молочнокислих бактерій. Отже, такі закваски можуть слугувати способом контролю розвитку мікрофлори в ферментованих продуктах, що дозрівають [119].

Серед численних публікацій з даної теми питома вага робіт, присвячених практичному використанню бактеріоцинів, зовсім невелика [52]. З їх числа значну частку становлять дані щодо застосування найдоступнішого з бактеріоцинів – нізину та його похідних [104]. Нізин – один із найбільш вивчених бактеріоцинів, його називають також поліпептидним антибіотиком, він належить до групи лантибіотиків і утворюється певними штамми *L.lactis*. Це мембранотропний поліпептид, що пригнічує ріст бактерій шляхом порушення утворення мембранного потенціалу. Вивчення механізму дії нізину привело до висновку, що метою його дії є цитоплазматична мембрана [115].

Описано, що специфічність дії бактеріоцинів визначається їхньою природою і наявністю рецепторів на поверхні чутливих бактерій, на яких

адсорбуються бактеріоцини. Штами бактерій, які втратили здатність синтезувати рецептори, стають резистентними до бактеріоцинів [77].

Передбачається, що механізм біологічної дії низки бактеріоцинів пов'язаний із порушенням проникності цитоплазматичних мембран. Бактеріоцини неоднорідні за механізмом дії. Низка авторів вважає, що механізм дії бактеріоцинів із лактококів – це утворення пор у цитоплазматичній мембрані чутливих клітин. *Lactococcus lactis* утворює два класи бактеріоцинів: лантібіотики (нізин та ін.), пептиди, що містять незвичні амінокислоти (лантіонін та ін.), і клас термостійких коротких поліпептидів, що не містять лантіоніну. Різниця в механізмі дії цих двох класів лактококових бактеріоцинів полягає в тому, що механізм дії нізину не передбачає рецептора, нізин вбудовується у внутрішню мембрану, утворюючи іонні канали або пори. Нелантібіотичні бактеріоцини - диплококцин, лактострепцин і лактококцини - утворюють пори, які взаємодіють зі специфічним рецептором [46]. Механізм дії лактококцину G, виділеного з *L. lactis*, пов'язаний з тим, що цей бактеріоцин також порушує проникність бактеріальних цитоплазматичних мембран. Ці пептиди є спороутворювальними токсинами, які створюють канали в цитоплазматичній мембрані [50].

У кишковій мікрофлорі домінують молочнокислі бактерії, що включають численні види *Lactobacillus*, *Enterococcus* і *Bifidobacterium* [5]. Більшість із них здатні продукувати бактеріоцини *in vitro* [18]. Пізніше, така можливість на окремих штаммах була показана і в умовах *in vivo* [46]. Продемонстровані в цих дослідках антимікробні властивості штаму UCC118 *Lactobacillus salivarius* були пов'язані з продукцією бактеріоцину Abp118 [102]. Характерно, що захист мишей від інфікування *Listeria monocytogenes* забезпечував тільки штам-продуцент цього бактеріоцину. Бактеріоцини, що інгібують *Helicobacter pylori* – мікроорганізм, який вважається причиною виразки шлунка в людини [30], були виявлені в деяких пробіотичних бактерій – *Lactobacillus johnsonii* LA1 [45] і *Lactobacillus acidophilus* LA1 [46].

Оральне введення мишам *L. acidophilus* LB захищало тварин від інфекції *Helicobacter felis* [86], а в ньому супернатанта *L. johnsonii* LA1 дорослими пацієнтами та школярами з виявленим носійством *H. pylori* значно покращував їх самопочуття та призводив до суттєвого зниження продукції уреазу – ознаки, що використовуються для виявлення цього патогена [56]. Лантибіотик мутації BNy266, виділений із *Streptococcus mutans*, інгібує широкий спектр мультирезистентних патогенів, включно зі стафілококами, стрептококами та штамами *Neisseria* [96]. Він виявився ефективним і проти метицилін-резистентного (MRSA) *Staphylococcus aureus* в експериментах на мишах [3].

Накопичено досвід пробіотичного застосування бактеріоцино-продукуючих штамів бацил, що інгібують кишкові патогени – *Clostridium perfringens*, *C. Difficile* та інші. Наприклад, штам *Bacillus polyfermenticus* SCD, що продукує поліферментицин SCD, завдяки його дії проти *C. perfringens*, є тепер комерційним пробіотиком для лікування тривалих кишкових розладів [40].

Споживчий попит на мінімально оброблені харчові продукти або "свіжу їжу" без хімічних консервантів стимулював дослідників на пошук натуральних антимікробних засобів. Переважна більшість досліджень у цьому напрямі була зосереджена, головним чином, на низині та педіюціні - єдиних із ліцензованих біопрезервантів групи бактеріоцинів [48]. Однак сфери їхнього застосування, як уже зазначалося вище, обмежені через низьку активність за нейтральних або лужних значень рН. Тому пошук бактеріоцинів із поліпшеними фізико-хімічними властивостями та широким антимікробним спектром становить великий інтерес для харчової промисловості.

Зазначеними якостями володіють безліч бактеріоцинів, що синтезуються різними штамми *Bacillus* [58]. Водночас відсутність статусу "безпечності" (GRAS – generally recognise as safety) у більшості (за виключенням деяких штамів *B. subtilis* і *B. licheniformis*) видів *Bacillus* стала серйозною перешкодою для отримання об'єктивної оцінки ефективності застосування в харчових продуктах бактеріоцинів із бацил [39].

Дійсно, такі види як *B. anthracis*, токсигенні штами *B. cereus*, *B. coagulans*, *B. mycoides*, *B. weihenstephanensis*, *B. licheniformis*, *B. subtilis*, *B. pumilus*, *B. thuringiensis* і *B. sphaericus*) є високопатогенними або продукують токсини харчового отруєння [58]. Європейське відомство безпеки продовольства (European Food Safety Authority – EFSA) запровадило концепцію так званої "компетентної презумпції безпеки" (Qualified Presumption of Safety – QPS) [28]. Суть концепції – у кваліфікованій оцінці нешкідливості певної таксономічної групи мікроорганізмів (наприклад, роду або споріднених видів), що ґрунтується на чотирьох принципах: встановлена автентичність, сукупність знань, можлива патогенність і кінцеве використання. Якщо таксономічна група не викликала занепокоєнь щодо безпеки або, якщо занепокоєння з безпеки все ж таки мали місце, але були виявлені та кваліфіковано усунуті з позначенням граничних умов, то цій групі може бути присвоєно статус QPS. Деякі штами *Bacillus cereus* на базі такого підходу отримали схвалення EFSA як кормова добавка тваринам [103]. Кваліфікацію щодо QPS для видів *Bacillus* змінено на "відсутність токсинів харчового отруєння, відсутність ентеротоксичної активності" [64]. Тому ті бактеріоцини-продукуючі штами, які задовольняють критеріям EFSA, можуть застосовуватися при консервуванні харчових продуктів. Крім того, штами *Bacillus* відіграють центральну роль у виготовленні лужних ферментативних харчових продуктів і напоїв [52]. Застосування бактеріоцинів-продукуючих штамів у цих харчових субстратах може відкрити нові можливості в біопрезервації продовольства.

Аналіз літературних джерел показав потенціал використання бактеріоцинів як біологічних консервантів у технології харчових продуктів, що є актуальним напрямком під час розробки нових кисломолочних продуктів.

1.3 Застосування пробіотичних мікроорганізмів під час виробництва кисломолочних продуктів

Останні десятиліття минулого століття характеризувалися інтенсивним розвитком науки про харчування. Це пов'язано з удосконаленням методології епідеміологічних досліджень, досягненнями протеоміки та геноміки, удосконаленням аналітичної бази для вивчення хімічного складу харчових продуктів, розробкою та широким упровадженням у виробництво нових видів харчових продуктів із заданим хімічним складом і функціональними властивостями тощо [70].

У результаті з'явилися концепції в галузі харчування, спрямовані на поліпшення здоров'я шляхом створення нових харчових продуктів, що сприятливо впливають на функції організму. Цьому сприяє і накопичення наукових знань про взаємозв'язок між харчовими продуктами і здоров'ям [71].

Сучасна медична наука зараз прийняла концепцію оптимального харчування. Це означає, що здійснено перехід від концепції адекватного харчування, коли здебільшого регламентували і нормували макронутрієнти - джерела жиру, джерела енергії, пластичного матеріалу, до концепції оптимального харчування, коли спектр есенціальних та інших міnorних компонентів, на які раніше не звертали уваги, значно розширено [72].

У рамках розвитку концепції оптимального харчування сформувався новий напрям науки про харчування - концепція функціонального харчування, що включає розробку теоретичних засад, виробництва, реалізації та споживання функціональних продуктів [73].

Термін "функціональне харчування" введено в наукову літературу японськими дослідниками 1989 року. Він позначає щоденне і систематичне вживання в їжу спеціальних (функціональних) продуктів природного або штучного походження із заданими властивостями, призначених для поповнення нестачі в організмі харчових компонентів, що мають регулюючу дію на фізіологічні функції, біохімічні реакції та психосоціальну поведінку людини. Вони спрямовані насамперед на підтримання фізичного і психічного

здоров'я, підвищення працездатності та зниження ризику виникнення захворювань [74, 75].

Як частина щоденної дієти, функціональні продукти харчування можуть брати участь у регулюванні або поліпшенні захисних біологічних механізмів, допомагати в запобіганні конкретним захворюванням або просто сповільнювати фізично процес старіння, підвищувати витривалість і поліпшувати душевний стан людини [76, 77].

До категорій функціонального харчування відносять пробіотики, харчові волокна, олігосахариди, вітаміни, мінеральні речовини, поліненасичені жирні кислоти, цукроспирти, холіни, амінокислоти, протеїни, пептиди, спирти, органічні кислоти, ізопреноїди, антиоксиданти [78].

Мікроорганізми, що входять до складу кисломолочних продуктів, зумовлюють лікувально-профілактичні та дієтичні властивості, володіють широким спектром позитивного цілеспрямованого впливу на організм людини, становлять основу мікробіоценозів, що характеризуються певним складом, які займають той чи інший біотоп в організмі людини [54].

Великий інтерес викликає вивчення, розробка і виробництво пробіотичних продуктів, ферментованих молочнокислими бактеріями, представниками нормальної мікрофлори кишечника [81]. Ці мікроорганізми мають високу метаболічну активність, беруть участь у синтезі низки вітамінів, гідролізі жовчних солей і холестерину, чинять антагоністичну дію щодо умовно-патогенної та патогенної мікрофлори (завдяки зміні рН середовища, продукуванню бактеріоцинів, позбавленню нутрієнтів та місць адгезії мікроорганізмів, що конкурують), позитивно впливають на травлення, усувають дисбіотичні порушення [64].

Кисломолочні продукти, що містять пробіотичні бактерії, завоювали популярність у споживачів. До пробіотичних мікроорганізмів належать *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium* spp (*B.bifidum*, *B.breve*, *B.Longum*). Вони використовуються під час виробництва кисломолочних продуктів поряд із біфідобактеріями та молочнокислими

бактеріями. Молочна та оцтова кислоти, що продукуються пробіотиками, посилюють вплив на патогенні бактерії завдяки токсичній дії та стимулюванню перистальтики кишечника. Позитивний ефект залежить не тільки від кількості пробіотичних мікроорганізмів у продукті, а й від використовуваного штаму. Відбір штамів за виробничо-цінними властивостями - важливий аспект розробки функціонального пробіотичного продукту.

Актуальним для забезпечення пробіотичних властивостей продуктів протягом їх терміну придатності є вивчення та оцінка впливу рослинних екстрактів та інгредієнтів із ростостимулюючими властивостями на процеси пасивації та відмирання пасивної популяції пробіотичних культур у процесі зберігання. Як ростостимулюючі з місцевої сировини були вивчені екстракти солодки, плодів шипшини, обліпихи, кукурудзяного згущеного, гарбуза та інгредієнти – борошно вівсяне, кукурудзяне, рисове, морквяний сік, що являють собою додаткові субстрати для зростання асоційованих пробіотичних.

Оскільки мікроорганізми групи *Lbm.casei* є одним з основних регуляторів нормальної мікрофлори кишечника, за рахунок виражених антагоністичних властивостей, то багато з них використовуються як пробіотичні препарати, як закваски для ферментації молока при виготовленні кисломолочних продуктів. Важливою якістю лактобактерій групи *Lbm.casei*, що входять до складу пробіотичних препаратів, є стійкість до антибіотиків, тому що їх зазвичай призначають паралельно з антибіотикотерапією; здатність пригнічувати зростання умовно-патогенної мікрофлори; бактеріоцин продукування [96].

Для покращення реологічних характеристик та збільшення терміну зберігання кисломолочних продуктів застосовуються полісахариди різного походження: натуральні полімери, отримані з морських водоростей та рослин, модифіковані. В останні роки акцентується увага на пошуку нових стартових молочнокислих культур, що синтезують екзополісахариди [98].

Однією з важливих властивостей пробіотичних мікроорганізмів є біосинтез сполук (антиокислювачів, антимікробних та інших речовин), що підвищують імунний статус та стабілізують стан макроорганізму. Оскільки пробіотична дія мікроорганізмів по-різному, деякі автори вивчали метаболіти синергетичної та інгібіторної дії різних видів бактерій при спільному культивуванні [100].

З аналізу даних літературних джерел можна зробити висновок, що необхідність розробки кисломолочних продуктів з урахуванням пробіотичних лактобактерій є перспективним напрямом біотехнології.

1.4. Характеристика біологічно активних речовин, що використовуються при виготовленні йогуртів

Вивчення біологічно активних сполук є новим та інноваційним розділом біотехнології. Пробиотики, хоча і не є традиційними біологічно активними речовинами, такими як вітаміни або ферменти, все ж можна розглядати як біологічно активні агенти. Вони складаються з живих мікроорганізмів, які надають користь здоров'ю людини або тварин при вживанні в адекватних кількостях.

Пробиотики включають різні види бактерій і дріжджів, які природним чином присутні в кишечнику. Найпоширеніші роди пробіотичних бактерій: *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Saccharomyces* (дріжджі).

Пробиотики сприяють відновленню і підтриманню здорової мікрофлори кишечника. Вони конкурують з патогенними мікроорганізмами за поживні речовини і місце прикріплення в кишечнику. Виробляють речовини, що пригнічують ріст патогенів, такі як бактеріоцини і органічні кислоти. Стимулюють імунну систему, покращуючи її здатність реагувати на інфекції.

Пробиотики є важливими біологічно активними агентами, які можуть значно впливати на здоров'я людини, підтримуючи здорову мікрофлору кишечника, покращуючи травлення, зміцнюючи імунну систему та запобігаючи різним захворюванням. Хоча вони і не є хімічними сполуками, як

традиційні біологічно активні речовини, їхній вплив на біологічні процеси в організмі робить їх важливими компонентами здорового способу життя.

Таксономічна класифікація Lactobacillus acidophilus:

Домен: Bacteria

Тип: Firmicutes

Клас: Bacilli

Порядок: Lactobacillales

Родина: Lactobacillaceae

Рід: Lactobacillus

Вид: Lactobacillus acidophilus

Lactobacillus acidophilus є грампозитивною паличкою, яка не утворює спор. Вони мають вигляд тонких паличок з круглим кінцем, довжиною 2-10 мкм. Більшість штамів *L. acidophilus* є мікроаеробними бактеріями, які краще ростуть в анаеробних середовищах або в 5-10% CO₂, ніж в аеробних. Їх оптимальна температура культивування зазвичай становить 35-38°C, і вони практично не ростуть при температурі нижче 20°C. *L. acidophilus* має низьку термостійкість, а його оптимальний рівень pH становить 5,5-6,0. Він може рости і розмножуватися в середовищах, де інші МКБ не можуть рости. Він також може використовувати глюкозу, фруктозу, лактозу і сахарозу для здійснення гомотипової ферментації і може виробляти DL-молочну кислоту шляхом ферментації [10].

L. acidophilus – це вид корисної мікробної флори, який, як було доведено, має багато хороших пробіотичних властивостей, які можна умовно розділити на дві категорії. Перша категорія охоплює основні пробіотичні властивості *L. acidophilus*, які були продемонстровані *in vitro* і включають толерантність до низького pH, стійкість до жовчі, адгезію до клітин товстої кишки людини в культурі клітин, вироблення антибіотиків, лактазну активність і стабільність продукту [11-17]. Друга категорія включає загальні ефекти пробіотиків, які спостерігалися в дослідженнях на тваринах, такі як регуляція імунних реакцій хазяїна, зниження рівня холестерину в сироватці крові хазяїна, поліпшення

метаболізму лактози в організмі хазяїна, а також профілактика або лікування інфекцій [18-20]. Основні пробіотичні властивості та основні біологічні функції *L. acidophilus* представлено на рис. 1.3.

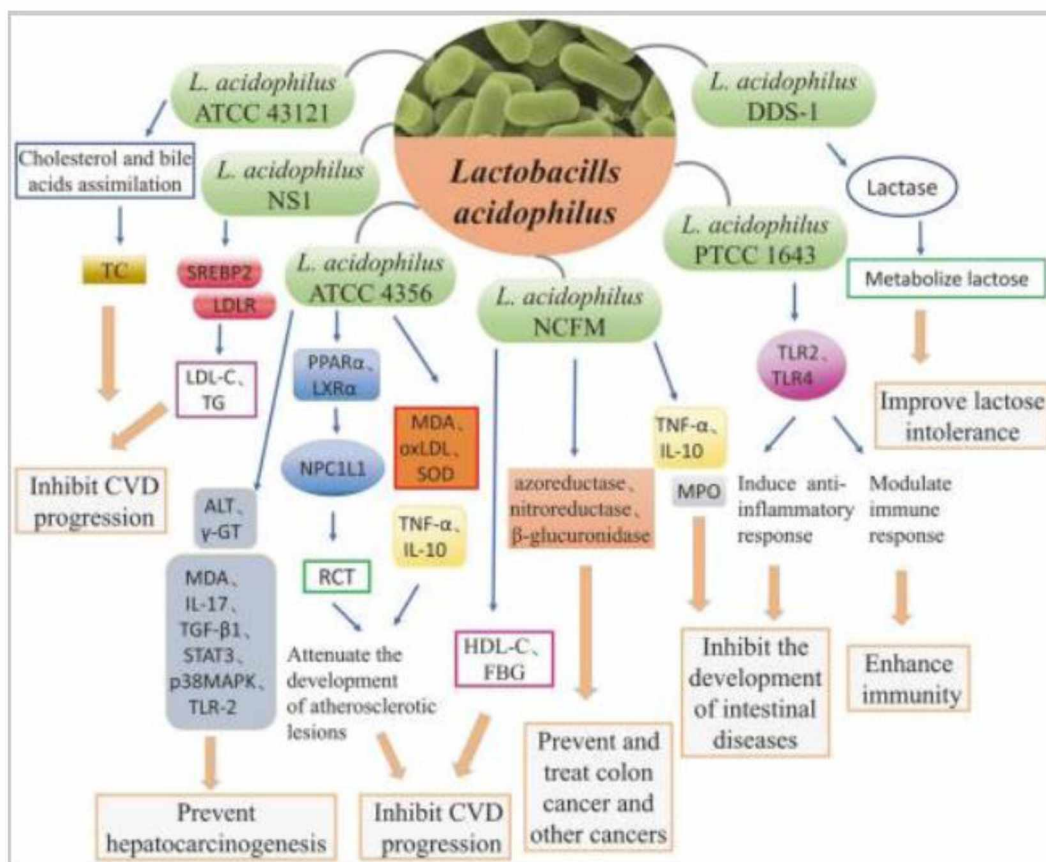


Рисунок 1.3. Пробиотичні властивості та біологічні функції *Lactobacillus acidophilus* (джерело 20)

Таксономічна класифікація *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*:

Домен: Bacteria

Тип: Firmicutes

Клас: Bacilli

Порядок: Lactobacillales

Родина: Lactobacillaceae

Рід: *Lactobacillus*

Вид: *Lactobacillus delbrueckii*

Підвид: *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*

Lactobacillus delbrueckii subsp. *bulgaricus*, грампозитивна, паличкоподібна, нерухома і неспороутворююча молочнокисла бактерія, є одним з найпоширеніших видів заквасок для промислового ферментування молочних продуктів. У світі майже всі види йогуртів та значна частина інших видів молочних продуктів містять цю бактерію. Вона також є важливим компонентом у традиційному виробництві природно ферментованих молочних продуктів, які зазвичай використовують бактерії, отримані з місцевого середовища. Попередні дослідження показали, що багато різних МКБ співіснують під час ферментації традиційних молочних продуктів, надаючи їм особливого смаку та текстури.

Таксономічна класифікація Lactobacillus casei:

Домен: Bacteria

Тип: Firmicutes

Клас: Bacilli

Порядок: Lactobacillales

Родина: Lactobacillaceae

Рід: Lactobacillus

Вид: Lactobacillus casei

Група *Lactobacillus casei*, що складається переважно з близькоспоріднених видів *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei* та *Lactobacillus rhamnosus*, є одними з найбільш вивчених видів завдяки їх комерційному, промислового та прикладного потенціалу для здоров'я. Комерційно вони використовуються для ферментації молочних продуктів, часто виробляючи продукти з покращеним смаком і текстурою. Також було виявлено, що вони продукують багато біологічно активних метаболітів, які при споживанні можуть приносити користь організму хазяїна. Таким чином, багато штамів вважаються пробіотиками. Один з них, *L. rhamnosus*, є, мабуть, одним з найбільш вивчених штамів бактерій з точки зору застосування в медицині [22].

Таксономічна класифікація Streptococcus thermophilus:

Домен: Bacteria

Тип: Firmicutes

Клас: Bacilli

Порядок: Lactobacillales

Родина: Streptococcaceae

Рід: Streptococcus

Вид: Streptococcus thermophilus

Рід Streptococcus складається з грампозитивних, кулястої або кокоподібної форми клітин діаметром менше 2 мм, які утворюють ланцюжки або пари. Клітини в старих культурах можуть виглядати варіабельними за Грамом, а деякі штами – плеоморфними. Стрептококи не утворюють спори і не рухаються. Стрептококи є каталазонегативними, за винятком нещодавно описаних видів Streptococcus didelphis, який при первинному виділенні на кров'яному агарі дає активну каталазну активність, яка втрачається після декількох пасажів.

Вони ферментують вуглеводи з утворенням переважно молочної кислоти, але без газу, і мають складні харчові потреби. За умов обмеження глюкози виробляють також форміат, ацетат і етанол. Більшість з них є факультативно анаеробними або аеротолерантними анаеробами; деякі є капнофільними (потребують CO₂). Рідкісні штами синтезують пероксидази, але жоден з них не синтезує гемові групи. Деякі види виробляють капсули з гіалуронової кислоти (Streptococcus pyogenes) або різноманітних полісахаридів (Streptococcus pneumoniae), але це не є загальною особливістю роду. Streptococcus spp. зазвичай ростуть в діапазоні температур 20-42 °C, причому 37 °C є оптимальною в більшості випадків.

Таксономічна класифікація Bifidobacterium lactis:

Домен: Bacteria

Тип: Actinobacteria

Клас: Actinobacteria

Порядок: Bifidobacteriales

Родина: Bifidobacteriaceae

Рід: Bifidobacterium

Вид: Bifidobacterium lactis

Bifidobacterium lactis – грампозитивна, паличкоподібна бактерія, не утворює спор. Анаеробна (здатна жити і розмножуватися в безкисневих умовах). Виробляє молочну кислоту, що сприяє підтриманню кислого середовища в кишечнику. Температурний діапазон росту: від 37°C до 41°C. Оптимальний pH: приблизно 6,5 – 7,0. Bifidobacterium lactis допомагає в розщепленні складних вуглеводів, білків і жирів, полегшуючи їх засвоєння організмом. Зменшує симптоми лактазної недостатності, покращуючи перетравлення лактози.

Таксономічна класифікація Bifidobacterium longum subsp. infantis:

Домен: Bacteria

Тип: Actinobacteria

Клас: Actinobacteria

Порядок: Bifidobacteriales

Родина: Bifidobacteriaceae

Рід: Bifidobacterium

Вид: Bifidobacterium longum

Підвид: Bifidobacterium longum subsp. infantis (раніше відомий як Bifidobacterium infantis)

Bifidobacterium longum підвид infantis (B. infantis) є унікальним серед кишкових бактерій завдяки своїй надзвичайній здатності перетравлювати та засвоювати будь-яку структуру олігосахаридів людського молока, що є результатом великого репертуару бактеріальних генів, які кодують низку глікозидаз та транспортерів олігосахаридів, які не зустрічаються в інших видів бактерій. In vitro B. infantis краще за інші штами бактерій росте в присутності олігосахаридів людського молока, проявляє протизапальну активність у клітинах кишечника недоношених дітей і знижує проникність кишечника. У недоношених дітей B. infantis у поєднанні з людським молоком збільшує

кількість *B. infantis* та зменшує кількість ентеробактерій у фекаліях. Пробиотики, що містять *B. infantis*, знижують ризик некротичного ентероколіту у недоношених дітей.

Як видно, ааналіз наукових джерел щодо технології молочнокислого бродіння, життєдіяльності молочнокислих бактерій, ферментаційних процесів в молочній сировині засвідчує важливість вивчення впливу температури на біоактивність молочнокислих заквасок та впливу дієтичних добавок в молочнокислій продукції на процеси бродіння.

РОЗДІЛ 2. ОБ'ЄКТ ТА МЕТОДИКА ПРОВЕДЕННЯ ДОСЛІДЖЕНЬ

Для визначення впливу температури на біоактивність різних типів заквасок при молочнокислому бродінні нами було проведено визначення титрованої та активної кислотності, водоутримуючої здатності. Нами було обрано 3 температурних режими для дослідження – 20, 30 та 40 °C.

Методики та результати проведення даних досліджень детально описані у наступних підпунктах.

2.1. Об'єкт дослідження

Традиційно йогурт виготовляли з кип'яченого молока, яке концентрували до двох третин початкового об'єму, але така процедура має кілька недоліків. По-перше, послідовне внесення заквасок має тенденцію порушувати баланс між *S. thermophilus* і *L. bulgaricus*; по-друге, низька температура інкубації (кімнатна порівняно з оптимальною температурою 30-35°C) призводить до повільного скисання молока і може сприяти небажаним побічним ефектам, наприклад, сироватковому синерезису, та негативно впливати на якість йогурту; по-третє, такий метод не забезпечує контролю над рівнем молочної кислоти, що утворюється під час виробництва. З удосконаленими методами виробництва йогурту (рис. 2.1.) ці проблеми не виникають. У такій системі закваска, яку отримують від комерційних виробників заквасок або банків заквасок, розмножується по черзі і вноситься в молоко в асептичних умовах, температура точно контролюється, і йогурт дуже швидко охолоджується, коли досягається бажана кислотність. Таким чином, процес можна добре контролювати і стандартизувати якість йогурту.

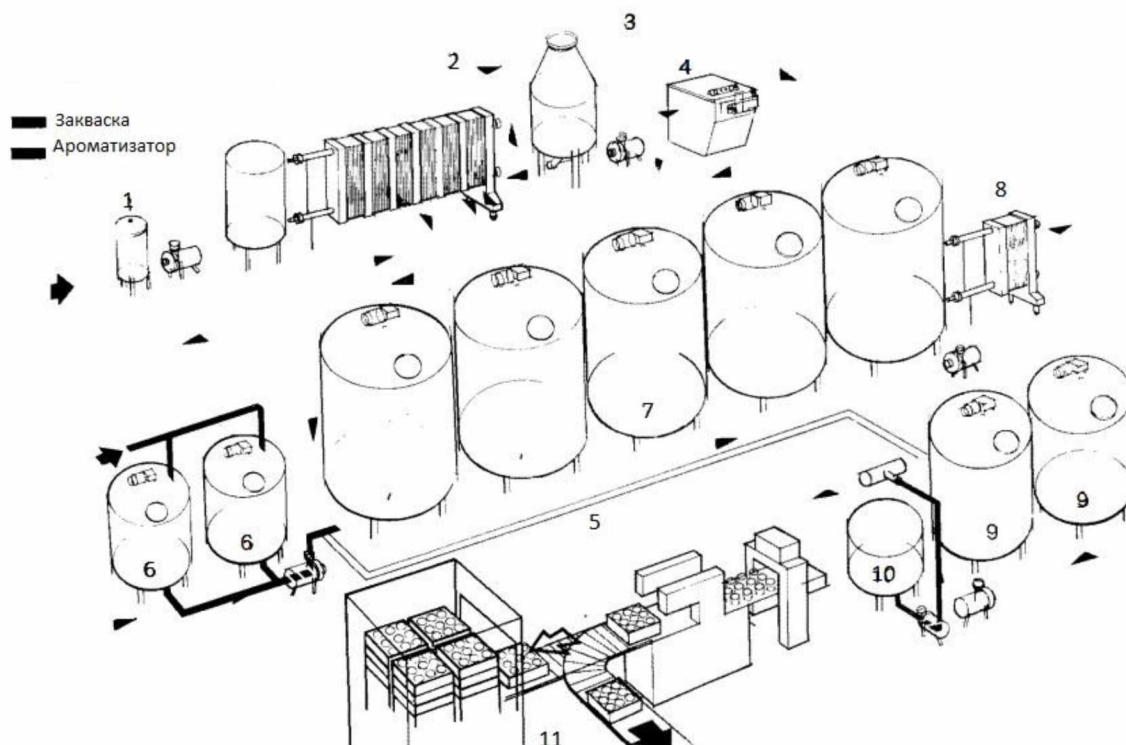


Рисунок 2.1. Спрощена технологічна схема виробництва заквасок та йогуртів (1-Балансирний резервуар, 2-Пластинчастий теплообмінник, 3-Вакуумна камера, 4-Гомогенізатор, 5-Утримуюча трубка, 6-Ємності для закваски, 7-Ємності для інкубації, 8-Пластинчастий охолоджувач, 9-Проміжні ємності, 10-Додавання фруктів, 11-Пакувальна машина). (джерело 52)

Для проведення експериментальної роботи було обрано наступні типи заквасок:

- Закваска бактеріальна Vivo Ацидолакт (склад: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium lactis* (2 штаму), Лактоза);
- Закваска бактеріальна Vivo Імуновіт (склад: *Bifidobacterium lactis* (2 штами), *Lactobacillus acidophilus* (2 штами), *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium infantis*);
- Закваска для приготування йогурту Vivo Біфікід (склад: *Bifidobacterium infantis*, *Bifidobacterium lactis* (2 штами), *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus acidophilus* (2 штами), *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus paracasei*);

- Закваска для приготування йогурту Vivo Імуно Йогурт (склад: Bifidobacterium lactis (2 штами), Lactobacillus acidophilus (2 штами), Lactobacillus casei, Lactobacillus paracasei, Lactobacillus bulgaricus, Streptococcus thermophilus, Bifidobacterium infantis)

Оскільки відомо, що нестача клітковини в раціоні може бути причиною багатьох захворювань, пов'язаних з харчуванням, Європейське агентство з безпеки харчових продуктів було змушене рекомендувати середньодобове споживання клітковини на рівні 25 г. Клітковина міститься в клітинній стінці овочів, фруктів або злаків. До їх складу входять полісахариди (пектини, целюлоза і геміцелюлози) і лігнін. Хоча доступні як розчинні, так і нерозчинні волокна, зазвичай нерозчинні волокна використовуються з харчовими збагачувальними властивостями. Саме тому для дослідження нами була обрана клітковина плодів розторопші.

У якості молочної сировини використовували молоко ТМ Просто Наше Молоко пастеризоване 2,5%.



Рисунок 2.2. Сировина та об'єкти дослідження

2.2. Методика визначення активної кислотності

Дослідження впливу температури на біоактивність різних типів бактеріальних заквасок при молочнокислому бродінні здійснювали за рахунок вимірювання показника рН. Активну кислотність визначали відповідно до ДСТУ 8550:2015 Молоко та молочні продукти. Методи вимірювання рН, за допомогою рН-метру AD 8000.

Експеримент виконувався за такими етапами:

1. Калібрування приладу. Стандартний буферний розчин був приготований із фіксаналу (рН=6,88). Вимірювання проводилося при температурі $20 (\pm 1)^\circ\text{C}$.

1. Дослідження зміни рН молока при молочнокислому бродінні за температури 20°C різних типів заквасок. Для цього ми розрахували необхідну масу закваски для 250 мл молока, що становить 0,1 г. Підготували 4 конічні колби відповідно до варіантів експерименту. Виміряли рН молока до початку експерименту. Внесли закваски у колби з молоком та виміряли рН. Оскільки температура у кімнаті була 17°C , то температуру 20°C ми підтримували завдяки регуляції температури водяної бані. Вимір рН здійснювався кожену годину протягом 27 годин.

2. Дослідження зміни рН молока при молочнокислому бродінні за температури 30°C різних типів заквасок. Для цього ми розрахували необхідну масу закваски для 250 мл молока, що становить 0,1 г. Підготували 4 конічні колби відповідно до варіантів експерименту. Виміряли рН молока до початку експерименту. Внесли закваски у колби з молоком та виміряли рН. Помістили колби у термостат із температурою 30°C . Вимір рН здійснювався кожену годину протягом 24 годин.

3. Дослідження зміни рН молока при молочнокислому бродінні за температури 40°C різних типів заквасок. Для цього ми розрахували необхідну масу закваски для 250 мл молока, що становить 0,1 г. Підготували 4 конічні колби відповідно до варіантів експерименту. Виміряли рН молока до початку експерименту. Внесли закваски у колби з молоком та виміряли рН. Помістили

колби у сушильну шафу із температурою 40°C. Вимір рН здійснювався кожену годину протягом 24 годин.

4. Дослідження зміни рН молока при молочнокислому бродінні за температури 30°C різних типів заквасок та з додаванням клітковини плодів розторопші. Для цього ми розраховували необхідну масу закваски для 250 мл молока, що становить 0,1 г, а також масу клітковини, що склала 8 г. Підготували 4 конічні колби відповідно до варіантів експерименту. Виміряли рН молока до початку експерименту. Внесли закваски і клітковину у колби з молоком та виміряли рН. Помістили колби у термостат із температурою 30°C. Вимір рН здійснювався кожену годину протягом 24 годин.

2.3. Методика визначення титрованої кислотності

У дослідницьких варіантах ми визначали титровану кислотність – важливий показник якості, який регламентується відповідними стандартами для різних продуктів. Даний показник є стандартом для оцінки свіжості та натуральності молочних продуктів і для йогурту значення варіюються в діапазоні від 80 до 140°Т. Титровану кислотність виражену у градусах Тернера (°Т) знаходили помноживши об'єм розчину NaOH, витраченого на нейтралізацію кислоти на коефіцієнт, що дорівнює 10.

Титровану кислотність визначали відповідно до ДСТУ ISO 11869:2007 «Йогурт. Визначення титрованої кислотності титриметричним методом». Даний метод базується на нейтралізації кислот, що містяться в продукті, розчином гідроксиду натрію в присутності індикатору фенолфталеїну.

У конічну колбу місткістю 100 мл відбирають 20 мл дистильованої води та 10 мл досліджуваного молочного продукту та додають декілька крапель фенолфталеїну. Суміш перемішують та титрують 0,1 н розчином NaOH до появи слабо-рожевого забарвлення, яке не зникає протягом 1 хвилини.



Рисунок 2.3. Праворуч – титрований розчин молока, ліворуч – титрований розчин йогурту із додаванням клітковини плодів розторопші

2.4. Методика визначення водоутримуючої здатності

Зразки йогурту центрифугували протягом 15 хвилин при 5000 об/хв і залишали в спокійному стані на 10 хвилин. Потім надосадову рідину зважували і розраховували водоутримуючу здатність зразків за наступною формулою:

$$\text{WHC}(\%) = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1} \times 100\%$$

де:

WHC – водоутримуюча здатність, %

m_1 – маса порожньої центрифужної пробірки (г),

m_2 – маса йогурту і центрифужної пробірки (г),

m_3 – маса йогурту і центрифужної пробірки після виділення надосадової рідини (г).



Рисунок 2.4. Центрифугування зразків

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ

3.1. Визначення оптимальної температури сквашування

Проводили визначення активної та титрованої кислотності молока та дослідних варіантів йогурту, за різних температур, для дослідження їхнього впливу на біоактивність заквасок описаних у п. 2.1. Отримані дані опрацьовані та представлені у вигляді графіків (рис. 3.1, 3.2, 3.3).

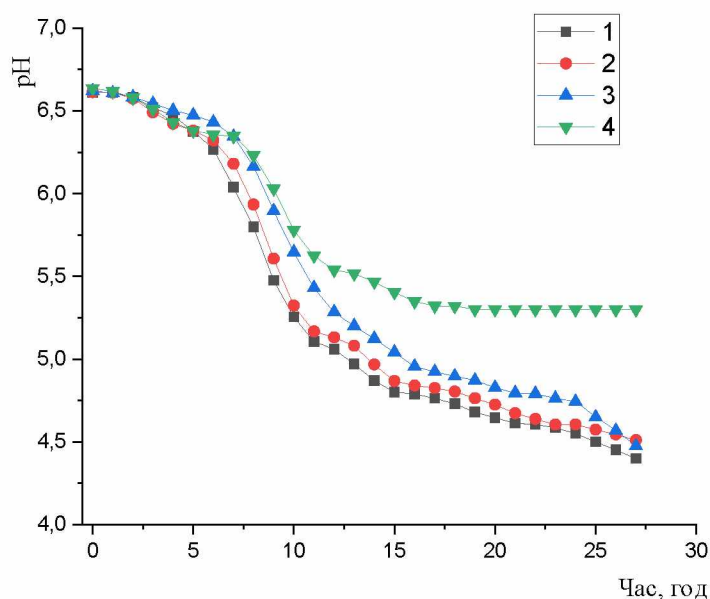


Рисунок 3.1. Зміна кислотності зразків йогурту в процесі заквашування при температурі 20°C (1 – Vivo Біфікід, 2 – Vivo Ацидолакт, 3 – Vivo Імуно Йогурт, 4 – Vivo Імуновіт).

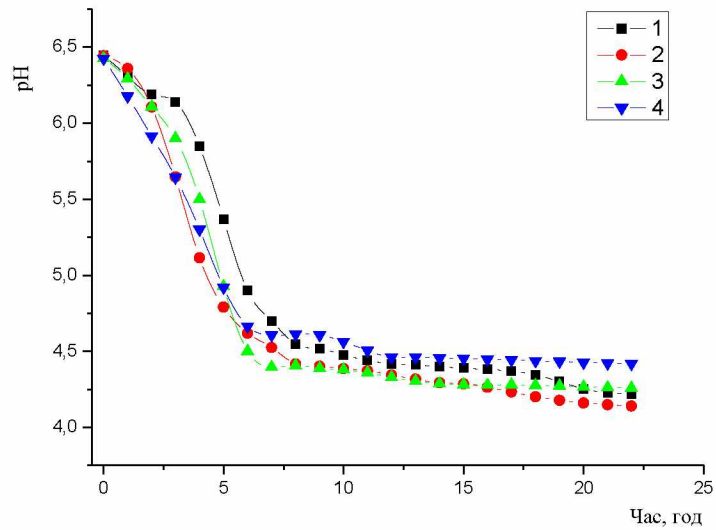


Рисунок 3.2. Зміна кислотності зразків йогурту в процесі заквашування при температурі 30⁰ C (1 – Vivo Біфікід, 2 – Vivo Ацидолакт, 3 – Vivo Імуно Йогурт, 4 – Vivo Імуновіт).

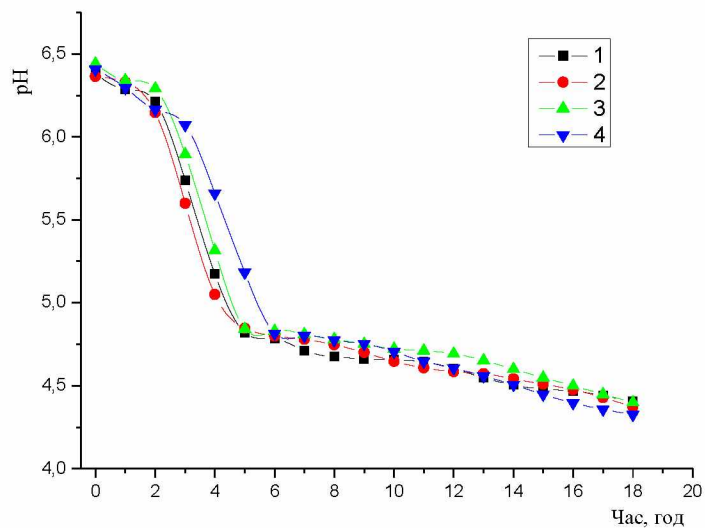


Рисунок 3.3. Зміна кислотності зразків йогурту в процесі заквашування при температурі 40⁰ C (1 – Vivo Біфікід, 2 – Vivo Ацидолакт, 3 – Vivo Імуно Йогурт, 4 – Vivo Імуновіт).

Рис. 3.2 ілюструє, що процес ферментації за температури 20⁰ С триває 27 годин. Закваска Vivo Імуновіт при даній температурі мала слабку динаміку сквашування.

Згусток, що утворюється, є важливим показником якості готового йогурту. Досліджено ефективність утворення згустку молока під впливом різних температурних режимів на 8-ій годині сквашування. Дані відображені в таблиці.

Таблиця 3.1

Наявність сформованого згустку на 8-му годину ферментації

Закваска	Температурний режим		
	20°C	30°C	40°C
Vivo Біфікід	-	+	+
Vivo Ацидолакт	-	+	+
Vivo Імуно Йогурт	-	+	+
Vivo Імуновіт	-	+	+

За температури 40°C на 8-му годину сквашування згусток утворювався, але він утворився разом із сироваткою, що суперечить вимогам ДСТУ 4343: 2004 Йогурти. Загальні технічні умови.

Проаналізувавши отримані дані активної кислотної та утворення згустку молока досліджуваних зразків, ми дійшли до висновку що оптимальна температура для сквашування йогурту це 30⁰С. Тому для розроблення технології приготування йогурту із додаванням клітковини плодів розторопші був обраний саме цей температурний режим.

Динаміка сквашування йогурту із додаванням клітковини плодів розторопші відображена на рис. 3.4.

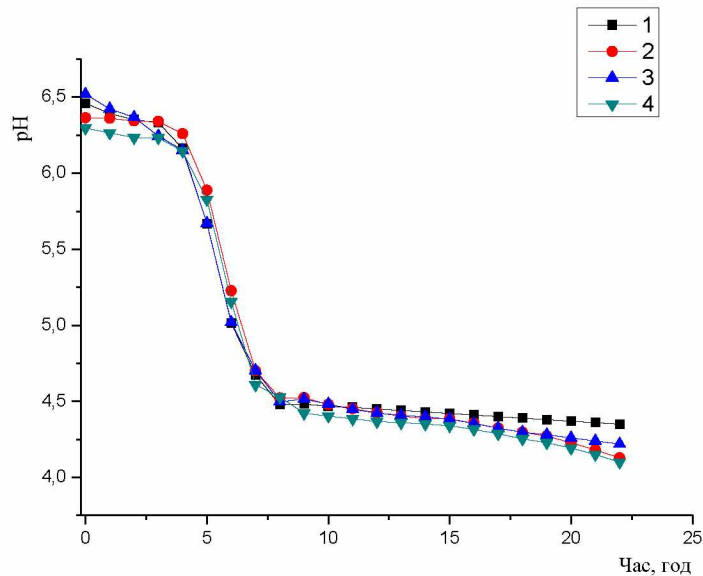


Рисунок 3.4. Зміна кислотності зразків йогурту в процесі заквашування при температурі 30°C з додаванням клітковини плодів розторопші ((1 – Vivo Біфікід, 2 – Vivo Ацидолакт, 3 – Vivo Імуно Йогурт, 4 – Vivo Імуновім).

Спостерігалось різке зниження показника активної кислотності починаючи із 5 години. На 8-му годину заквашування утворився правильний згусток молока. Значення рН усіх досліджуваних зразків із додаванням клітковини плодів розторопші відповідає вимогам ДСТУ.

Для перевірки гіпотези щодо відсутності різниці між середніми значеннями кислотності йогуртів при температурі заквашування 30°C та 30°C з додаванням клітковини плодів розторопші нами був розрахований критерій Стьюдента за алгоритмом:

1) Обчислення середніх значень групи даних:

$$\bar{X} = \frac{\sum_{i=1}^n X_i}{n} \quad \bar{Y} = \frac{\sum_{i=1}^m Y_i}{m}$$

2) Обчислення дисперсій:

$$s_X^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (X_i - \bar{X})^2}{n - 1} \quad s_Y^2 = \frac{\sum_{i=1}^m (Y_i - \bar{Y})^2}{m - 1}$$

3) Обчислення об'єднаної дисперсії:

$$s_p^2 = \frac{(n-1)s_X^2 + (m-1)s_Y^2}{n+m-2}$$

4) Обчислення стандартної помилки різниці середніх:

$$SE = \sqrt{s_p^2 \left(\frac{1}{n} + \frac{1}{m} \right)}$$

5) Обчислення t-статистики:

$$t = \frac{\bar{X} - \bar{Y}}{SE}$$

6) Визначення ступенів свободи:

$$df = n + m - 2$$

7) Порівняння t-статистики з критичним значенням:

Використовуючи таблицю розподілу Стюдента, знаходять критичне значення t для заданого рівня значущості (α) та кількості ступенів свободи. Якщо $|t|$ більше критичного значення, то нульова гіпотеза відкидається, що вказує на статистично значущу різницю між середнім значенням вибірки та теоретичним середнім значенням.

Для *Vivo Imuovim*: t-статистика: 0.229, p-значення: 0.820

t-статистика: 0.229 означає, що різниця між середніми значеннями двох вибірок дуже мала відносно стандартної помилки різниці середніх.

p-значення: 0.820 значно більше за рівень значущості $\alpha=0.05$. Це означає, що немає статистично значущої різниці між середніми значеннями двох вибірок.

Нульова гіпотеза про відсутність різниці між середніми значеннями вибірок не відхиляється. Тобто, на основі наявних даних ми не можемо стверджувати, що середні значення вибірок статистично значущо відрізняються

Для *Vivo Bifikid*: t-статистика: -0.445, p-значення: 0.658

t-статистика: -0.445 означає, що різниця між середніми значеннями двох вибірок дуже мала відносно стандартної помилки різниці середніх.

p-значення: 0.658 значно більше за рівень значущості $\alpha=0.05$. Це означає, що немає статистично значущої різниці між середніми значеннями двох вибірок.

Нульова гіпотеза про відсутність різниці між середніми значеннями вибірок не відхиляється. Тобто, на основі наявних даних ми не можемо стверджувати, що середні значення вибірок статистично значущо відрізняються.

Для *Vivo Ацидолакт*: t-статистика: -0.82, p-значення: 0.42

p-значення більше 0.05 вказує на те, що немає статистично значущої різниці між середніми значеннями двох вибірок.

Для *Vivo Імуно Йогурт*: t-статистика: 1.15, p-значення: 0.26

p-значення більше 0.05 вказує на те, що немає статистично значущої різниці між середніми значеннями двох вибірок.

На основі отриманих даних ми можемо зробити висновок, що різниця між середніми значеннями кислотності йогуртів при температурі заквашування 30°C та 30°C з додаванням клітковини плодів розторопші відсутня.

3.2. Дослідження титрованої кислотності та водоутримуючої здатності

Водоутримуючу здатність йогуртів при різних температурах ферментації визначали за допомогою центрифугування, і результати відображені у вигляді таблиці 3.2. Зі збільшенням температури ферментації водоутримуюча здатність йогуртів спочатку збільшувалася, а потім зменшувалася, і досягала максимуму за температури 30°C. Серед зразків, протестованих за різних температур, водоутримуюча здатність йогуртів зменшилася значно при 20°C. Водоутримуюча здатність йогурту пов'язана зі здатністю білка утримувати воду в структурі йогурту. Збільшення білкової мережі та щільності призводить до іммобілізації великої кількості вільної води, що призводить до зменшення виділення води. Наші результати показали,

що температура ферментації може впливати на водоутримуючу здатність йогуртів. При температурі ферментації 30°C та додаванні клітковини плодів розторопші, водоутримуюча здатність йогуртів є найбільшою.

Таблиця 3.2.

Показники водоутримуючої здатності йогурту

<i>Закваска</i>	<i>Водоутримуюча здатність (%)</i>			
	<i>20°C</i>	<i>30°C</i>	<i>40°C</i>	<i>30°C + клітковина плодів розторопші</i>
<i>Vivo Біфікід</i>	35,77	55,29	50,35	60,08
<i>Vivo Ацидолакт</i>	34,86	57,22	52,25	66,35
<i>Vivo Імуно Йогурт</i>	33,04	53,01	49,22	64,78
<i>Vivo Імуновіт</i>	35,60	56,78	52,43	60,89

Середня титрована кислотність молока на початок експерименту становила 18,5°T. Середнє значення даного показнику для дослідницьких варіантів представлено у таблиці 3.3.

Таблиця 3.3.

Титрована кислотність

<i>Закваска</i>	<i>Титрована кислотність (°T)</i>				<i>Похибка вимірювань (°T)</i>
	<i>20°C</i>	<i>30°C</i>	<i>40°C</i>	<i>30°C + клітковина плодів розторопші</i>	
<i>Vivo Біфікід</i>	64	102	101	112	1,9
<i>Vivo Ацидолакт</i>	76	106	96	118	1,9

<i>Vivo Імуно Йогурт</i>	69	100	84	109	1,9
<i>Vivo Імуновім</i>	71	110	94	117	1,9

Показники титрованої кислотності дослідницьких варіантів при температурі ферментації 30°C та з клітковиною відповідають вимогам ДСТУ, а при температурі 20°C мають нижчі показники ніж ті, що визначені ДСТУ.

3.3. Розробка технології приготування йогурту із додаванням клітковини плодів розторопші

Несприятлива екологічна ситуація, постійні стреси, малорухливий спосіб життя, нераціональне харчування негативно впливають на загальний стан людини. З огляду на це, необхідно використовувати в харчуванні симбіотичні продукти, тобто продукти на основі пробіотичних мікроорганізмів і пребіотиків, що дають змогу організму протистояти негативним впливам. Потрапляючи в організм людини, симбіотичні продукти позитивно впливають на здоров'я завдяки нормалізації та відновленню мікрофлори шлунково-кишкового тракту; пригніченню гнильних і патогенних бактерій; активізації імунних сил організму; захисту організму від харчових алергій; регулюванню обміну речовин; зниженню рівня холестерину в крові; активізації засвоєння вітамінів і мінералів.

Для розробки технології приготування йогурту із додаванням клітковини плодів розторопші нами було проведено дослідження в'язкості йогурту задля визначення оптимальної кількості клітковини, яку необхідно додавати до йогурту.

Дослідження в'язкості здійснювали відповідно до ДСТУ 8573:2015 Консерви молочні. Метод визначення в'язкості. Паралельно готували п'ять зразків йогурту із різною кількістю клітковини, рецептура відображена у табл.3.4.:

Таблиця 3.4.

№ п/п	Сировина, що використовується, %		
	Молоко пастеризоване	Наповнювач (клітковина плодів розторопші)	Бактеріальна закваска
Контроль	95	-	5
1	84	14	2
2	85	12	3
3	86	10	4
4	87	8	5
5	88	6	6

Ефективну в'язкість розраховували за формулою (рівняння Освальда де Вале):

$$\eta_{\text{еф}} = \frac{\theta}{\gamma},$$

де $\eta_{\text{еф}}$ —ефективна в'язкість, Па·с; θ —напруга зсуву, Па; γ —швидкість зсуву, (с⁻¹).

Результати дослідження показників ефективної в'язкості зразків йогурту з різним вмістом клітковини плодів розторопші представлено на рис. 3.5.

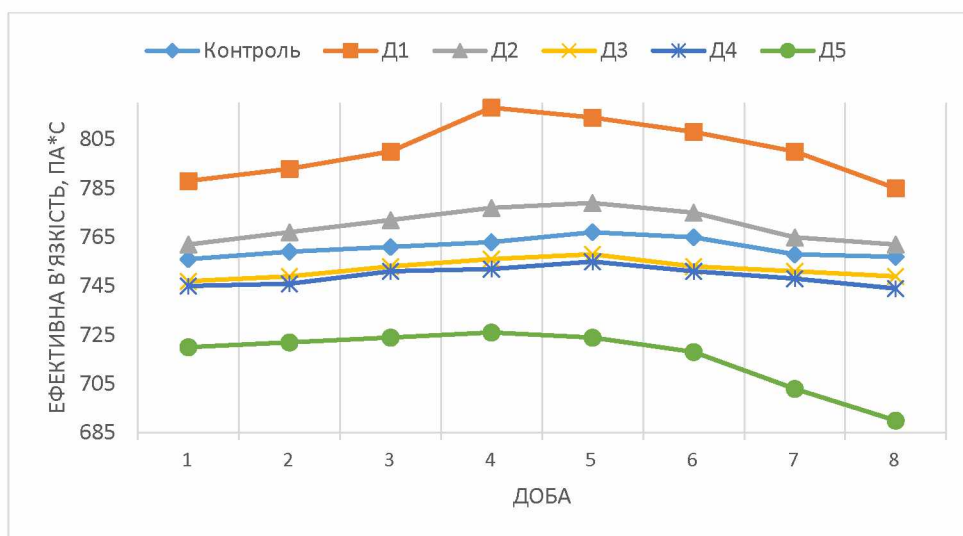


Рисунок 3.5. Показники в'язкості йогуртів із додаванням клітковини плодів розторопші

Із даних представлених на рис. 3.5 видно, що введення до складу йогурту клітковини плодів розторопші підвищує в'язкість і зберігає структуру без використання стабілізаторів упродовж зберігання.

Варто зазначити, що ефективна в'язкість всіх зразків на четверту добу зберігання підвищилась. Найбільше підвищення спостерігалось у зразку із внесенням клітковини плодів розторопші у кількості 14 г (від 800 Па·с до 818 Па·с), а найменше – у зразку з внесенням клітковини плодів розторопші у кількості 6 г. На 8-му добу досліджень ефективна в'язкість зразка із внесенням порошку шроту гарбуза у кількості 6 г, в порівнянні з контролем, зменшилася на 8,8%. А в'язкість зразків із внесенням клітковини плодів розторопші у кількостях 12 г на 0,3 % більша за контрольний зразок, 10 г – на 0,2 % нижча, 8 г – на 0,4 % нижча за контрольним зразок. Це пояснюється кількісним внесенням у рецептуру клітковини плодів розторопші, що є гарним сорбентом, та сприяє більш рівномірному розподілу вологи між часточками подрібненої рослинної сировини. Проте при внесенні клітковини плодів розторопші у кількості 14 г до рецептури йогурту можна спостерігати зворотний ефект, що призводить до надмірного ущільнення згустку.

Розроблено технологію йогурту з поліпшеними лікувально-профілактичними та споживчими властивостями, що містить найбільшу кількість поживних речовин.

До складу йогурту входить пастеризоване молоко, наповнювач із клітковини плодів розторопші, що пройшла теплову обробку та закваска бактеріальна Vivo Ацидолакт (склад: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium lactis* (2 штаму), Лактоза).

Йогурт готували за такої витрати компонентів: мас. %: пастеризоване молоко 85-87; наповнювач 8-12; закваска 3-5.

Технологічний процес приготування йогурту складається з таких операцій: молоко пастеризують за температури 80°C, гомогенізують для підвищення міцності та поліпшення консистенції білкових згустків і унеможливлення утворення жирової пробки на поверхні готового продукту, охолоджують до температури заквашування, потім вносять закваску, сквашування, перемішування, охолодження згустку, змішування його з наповнювачем та розфасовку. Компоненти наповнювача попередньо піддають тепловій обробці, варінню та подрібненню, охолоджене до температури сквашування пастеризоване молоко змішують із частиною наповнювача, що складається з подрібненої клітковини плодів розторопші, що пройшла теплову обробку, гомогенізують, сквашують.

Для приготування йогурту наповнювач готували так: клітковину плодів розторопші приймають за кількістю, інспектують, промивають водою температури 35-40°C від пилу впродовж 5-ти хвилин, далі у співвідношенні 1:2 клітковину заливають гарячою водою з температурою 95-100°C, і витримують за цієї температури 15 хвилин. Далі зливають воду, просушують за температури 40-45°C до вологості від 10% до 15%, подрібнюють і просівають через сито. Нормалізоване молоко пастеризують за температури 80±2°C з витримкою 2-3 хвилини і змішують із подрібненою клітковиною. Отриману суміш піддають гомогенізації за тиску 12,5 МПа й охолоджують до

температури 30°C. У суміш вносять закваску бактеріальну Vivo Ацидолакт (склад: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium lactis* (2 штаму), Лактоза) та сквашують за температури 30°C.

Після внесення закваски суміш залишають у спокої на період 5-8 годин для заквашування до утворення згустку кислотністю 96°Т. Після утворення згустку його перемішують протягом 2-3 хвилин, охолоджують до температури 8°C. Після охолодження подають на розлив у пляшки.

Результати добору основних компонентів йогурту наведено в таблиці 3.4. та 3.5.

Таблиця 3.5

Рецептура йогурту, масова частка, %

<i>Компоненти</i>	<i>Кількість, % (мас. ч.)</i>
Пастеризоване молоко	85-87
Наповнювач (клітковина плодів розторопші)	8-12
Бактеріальна закваска	3-5

Таблиця 3.6.

Варіанти способів приготування йогурту

<i>№ п/п</i>	<i>Сировина, що використовується, %</i>		
	<i>Молоко пастеризоване</i>	<i>Наповнювач (клітковина плодів розторопші)</i>	<i>Бактеріальна закваска</i>
1	85	12	3
2	86	10	4
3	87	8	5

Середнє значення	85-87	8-12	3-5
---------------------	-------	------	-----

На основі усіх даних, нами розроблено 2 технологічні схеми, що можуть бути використані ПП БІАГР при виробництві йогуртів без добавок (рис. 3.6.) та виробництві йогурту із додаванням клітковини плодів розторопші (рис. 3.7.).

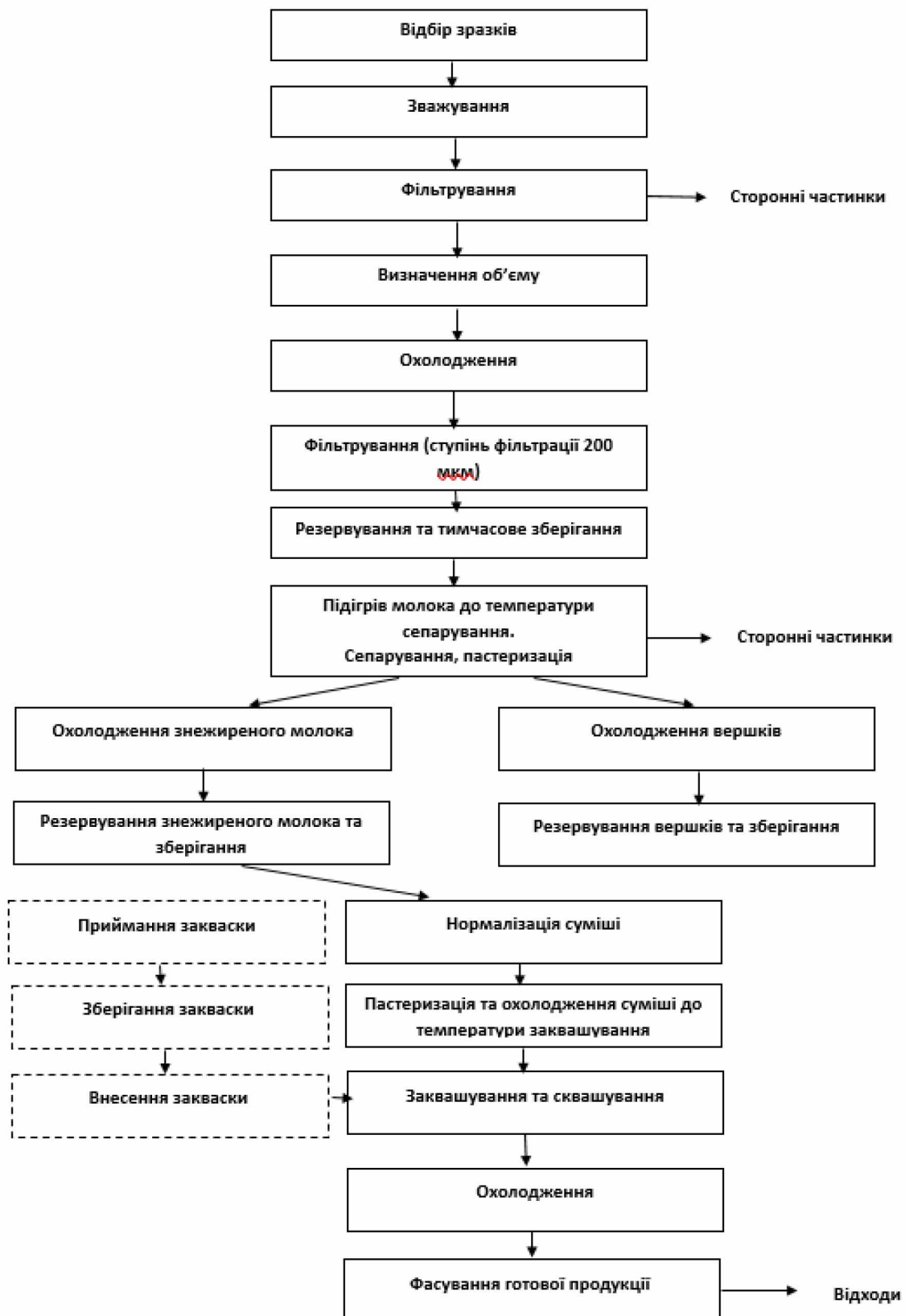




Рисунок 3.6. Технологічна схема виробництва йогурту без добавок

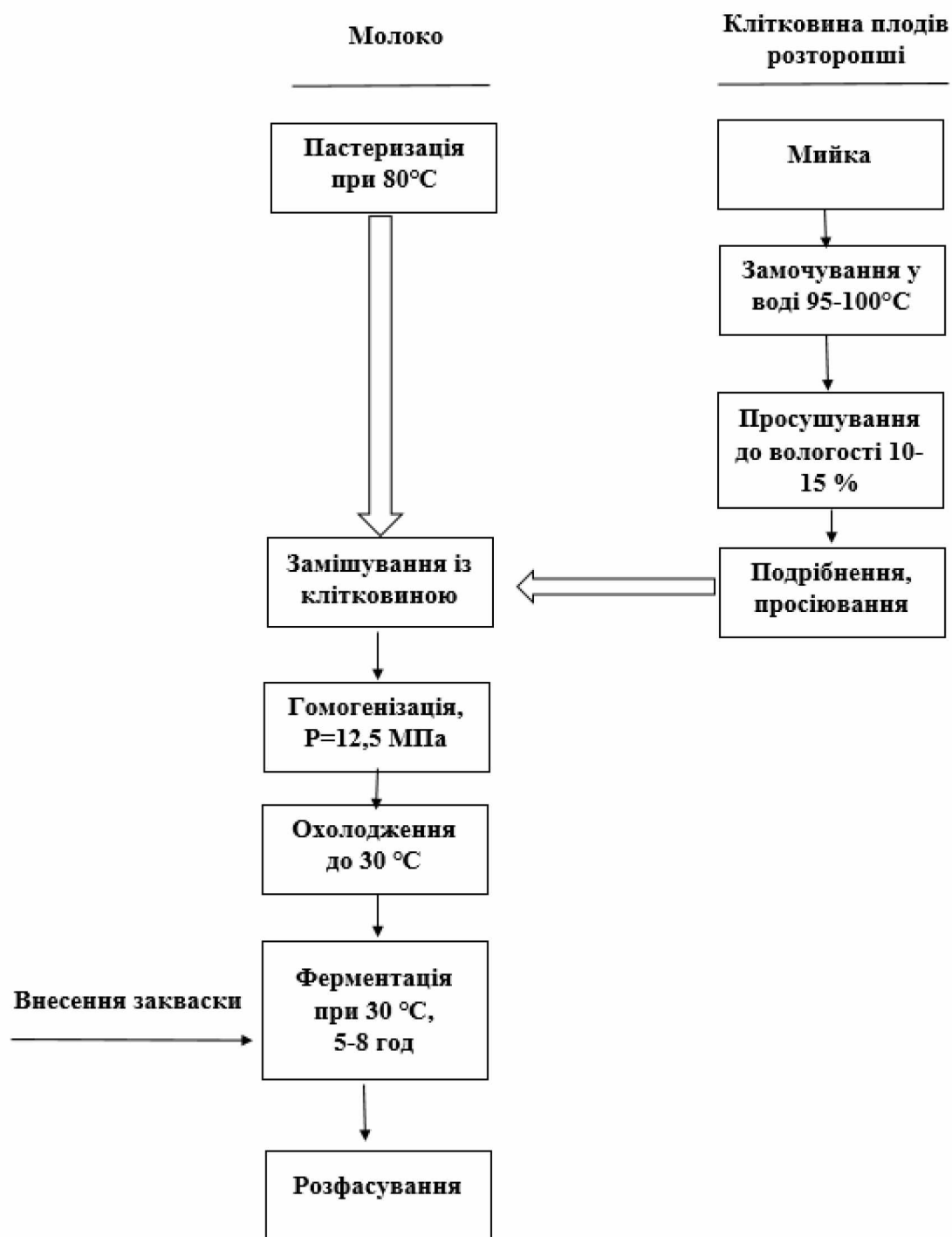


Рисунок 3.7. Технологічна схема виробництва йогурту із додаванням клітковини плодів розторопші

Таким чином, запропонована технологія дасть змогу отримати йогурт із широким спектром поживних речовин.

ВИСНОВКИ

Проведені експериментальні дослідження дозволили визначити вплив температури на біоактивність різних типів заквасок при молочнокислому бродінні, що дозволило зробити наступні висновки:

1. Показано, що температура є критичним фактором, що впливає на біоактивність молочнокислих бактерій, визначаючи швидкість ферментації, кінцеву кислотність йогурту. Оптимальний контроль температурного режиму дозволяє виробляти високоякісний йогурт з бажаними характеристиками. Нами визначено, що для досліджуваних типів заквасок оптимальним температурним режимом, з поміж використаних, є 30°C.

2. Визначено при порівннні значень активної та титрованої кислотності і водоутримуючої здатності зразків, що найбільшу біоактивність молочнокислих бактерій проявила закваска бактеріальна Vivo Ацидолакт (склад: *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium lactis* (2 штаму), Лактоза).

3. Додавання клітковини плодів розторопші є ефективним способом збагачення продукту харчовими волокнами та іншими корисними речовинами. Встановлено, що фізико-хімічні показники отриманого йогурту з даною дієтичною добавкою відповідають нормам ДСТУ 4343: 2004 Йогурти. Загальні технічні умови.

4. Розроблено та описано технологію приготування йогурту без добавок та із додаванням клітковини плодів розторопші, яка дає змогу отримати йогурт з більш широким спектром поживних речовин.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Albuquerque M., Bedani R., LeBlanc J., Saad S. Passion fruit by-product and fructooligosaccharides stimulate the growth and folate production by starter and probiotic cultures in fermented soymilk. *Int. J. Food Microbiol.* 2017. № 261. P. 35–41.
2. Ali N., Gong H., Giwa A., Yuan Q., Wang K. Metagenomic analysis and characterization of acidogenic microbiome and effect of pH on organic acid production. *Arc. Microbiol.* 2019. № 201. P. 1163–1171.
3. Alvarez-Sieiro P., Montalbán-López M., Mu D., Kuipers. Bacteriocins of lactic acid bacteria: extending the family. *Appl. Microbiol. Biot.* 2016. №100. P. 2939–2951.
4. Alvarez-Sieiro P., Redruello B., Ladero V., Martín M. C., Fernández M., Alvarez M. A. Screening sourdough samples for gliadin-degrading activity revealed *Lactobacillus casei* strains able to individually metabolize the coeliac-disease-related 33-mer peptide. *Can. J. Microbiol.* 2016. № 62. P. 422–430.
5. Azam M., Mohsin M., Ijaz H., Tulain U. R., Ashraf M. A., Fayyaz A., et al. Review-Lactic acid bacteria in traditional fermented Asian foods. *Pak. J. Pharm. Sci.* 2017. № 30. P. 1803–1814.
6. Azhar N., Md Zin N., Hamid T. Lactococcus lactis strain a5 producing nisin-like bacteriocin active against gram positive and negative bacteria. *Tro. Life. Sci. Res.* 2018. №28. P. 107–118.
7. Bai Y., Dobruchowska J., Gerwig G., Dijkhuizen L. Structural basis for the roles of starch and sucrose in homo-exopolysaccharide formation by *Lactobacillus reuteri* 35-5. *Carbohydr. Polym.* 2016. №151. P. 29–39.
8. Bancalari E., Savo Sardaro M., Levante A., Marseglia A., Caligiani A., Lazzi C., et al. An integrated strategy to discover *Lactobacillus casei* group strains for their potential use as aromatic starters. *Food Res. Int.* 2017. №100. P. 682–690.
9. Bandell M., Ansanay V., Rachidi N., Dequin S., Lolkema J. Membrane potential-generating malate and citrate transporters of lactic acid bacteria are homologous proteins. Substrate specificity of the 2-hydroxycarboxylate transporter family. *J. Biol. Chem.* 1997. №272. P. 18140–18146.
10. Bao W., Huang X., Liu J., Han B., Chen J. Influence of *Lactobacillus brevis* on metabolite changes in bacteria-fermented sufu. *J. Food Sci.* 2020. №85. P. 165–172.
11. Barbieri F., Montanari C., Gardini F., Tabanelli G. Biogenic amine production by lactic acid bacteria: a review. *Foods* 2021. №8. P. 17.
12. Barthelmebs L., Divies C., Cavin J. Knockout of the p-coumarate decarboxylase gene from *Lactobacillus plantarum* reveals the existence of two other inducible enzymatic activities involved in phenolic acid metabolism. *Appl. Environ. Microb* 2000. №66. P. 3368–3375.
13. Batista N., Ramos C. L., de Figueiredo Vilela L., Dias D. R., Schwan R. F. Fermentation of yam by indigenous phytase-producing lactic acid bacteria strains. *Braz. J. Microbiol.* 2019. №50. P. 507–514.

14. Bekal S., Van Beeumen J., Samyn B., Garmyn D., Henini S., Diviès C., et al. Purification of *Leuconostoc mesenteroides* citrate lyase and cloning and characterization of the cit CDEFG gene cluster. *J. Bacteriol.* 1998. №180. P. 647–654.
15. Ben Taheur F., Mansour C., Kouidhi B., Chaieb K. Use of lactic acid bacteria for the inhibition of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus carbonarius* growth and mycotoxin production. *Toxicon* 2019. №166. P. 15–23.
16. Ben-Harb S., Saint-Eve A., Panouillé M., Souchon I., Bonnarne P., Dugat-Bony E., et al. Design of microbial consortia for the fermentation of pea-protein-enriched emulsions. *Int. J. Food Microbiol.* 2019. №293. P. 124–136.
17. Bernardo M., Coelho L., Sass D., Contiero J. l-(+)-Lactic acid production by *Lactobacillus rhamnosus* B103 from dairy industry waste. *Braz. J. Microbiol.* 2016. №47. P. 640–646.
18. Biscola V., Choiset Y., Rabesona H., Chobert J., Haertlé T., Franco B. Brazilian artisanal ripened cheeses as sources of proteolytic lactic acid bacteria capable of reducing cow milk allergy. *J. Appl. Microbiol.* 2018. №10. P. 55–63.
19. Boels I., Kranenburg R., Hugenholtz J., Kleerebezem M., Vos W. Sugar catabolism and its impact on the biosynthesis and engineering of exopolysaccharide production in lactic acid bacteria. *Int. Dairy. J.* 2001. №11. P. 723–732.
20. Caggianiello G., Kleerebezem M., Spano G. Exopolysaccharides produced by lactic acid bacteria: from health-promoting benefits to stress tolerance mechanisms. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2016. №100. P. 3877–3886.
21. Cai Y., Augustin M. A., Jegasothy H., Wang J., Terefe N. Mild heat combined with lactic acid fermentation: a novel approach for enhancing sulforaphane yield in broccoli puree. *Food Funct.* 2020. №11. P. 779–786.
22. Capozzi V., Russo P., Dueñas M. T., López P., Spano G. Lactic acid bacteria producing B-group vitamins: a great potential for functional cereals products. *Appl. Microbiol. Biot.* 2012. №96. P. 1383–1394.
23. Cappello M., Zapparoli G., Logrieco A., Bartowsky E. Linking wine lactic acid bacteria diversity with wine aroma and flavour. *Int. J. Food Microbiol.* 2017. №243. P. 16–27.
24. Cerning J. Exocellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.* 1990. №7. P. 113–130.
25. Chammas G., Saliba R., Corrieu G., Béal C. Characterisation of lactic acid bacteria isolated from fermented milk “laban”. *Int. J. Food Microbiol.* 2006. №110. P. 52–61.
26. Chaves A., Fernandez M., Lerayer A., Mierau I., Kleerebezem M., Hugenholtz J. Metabolic engineering of acetaldehyde production by *Streptococcus thermophilus*. *Appl. Environ. Microb* 2002. №68. P. 5656–5662.
27. Chen H., Tian F., Li S., Xie Y., Zhang H., Chen W. Cloning and heterologous expression of a bacteriocin sakacin P from *Lactobacillus sakei* in *Escherichia coli*. *Appl. Microbiol. Biot.* 2012. №94. P. 1061–1068.

28. Chen J., Vestergaard M., Jensen T., Shen J., Dufva M., Solem C., et al. Finding the needle in the haystack-the use of microfluidic droplet technology to identify vitamin-secreting lactic acid bacteria. *mBio* 2017. №22. P. 36-40
29. Chen X., Levy C., Gänzle M. Structure-function relationships of bacterial and enzymatically produced reuterans and dextran in sourdough bread baking application. *Int. J. Food Microbiol.* 2016. №239. P. 95–102.
30. Christensen J., Dudley E., Pederson J., Steele J. Peptidases and amino acid catabolism in lactic acid bacteria. *Anton. Leeuw* 1999. №76. P. 217–246.
31. Coda R., Melama L., Rizzello C., Curiel J., Sibakov J., Holopainen U., et al. Effect of air classification and fermentation by *Lactobacillus plantarum* VTT E-133328 on faba bean flour nutritional properties. *Int. J. Food Microbiol.* 2015. №193. P. 34–42.
32. Coolbear T., Weimer B., Wilkinson M. G. Lactic acid bacteria | lactic acid bacteria in flavor development. Encyclopedia. *Dairy Scis* 2011. №73. P. 160–165.
33. Costa J., Bover-Cid S., Bolívar A., Zurera G., Pérez-Rodríguez F. Modelling the interaction of the sakacin-producing *Lactobacillus sakei* CTC494 and *Listeria monocytogenes* in filleted gilthead sea bream under modified atmosphere packaging at isothermal and non-isothermal conditions. *Int. J. Food Microbiol.* 2019. №297. P. 72–84.
34. Cotter P., Hill C., Ross R. Bacteriocins: developing innate immunity for food. *Nat. Rev. Microbiol.* 2005. №3. P. 777–788.
35. Cubas-Cano E., González-Fernández C., TomásIO-Pejó E. Evolutionary engineering of *Lactobacillus pentosus* improves lactic acid productivity from xylose-rich media at low pH. *Bioresource Technol.* 2019. №288. P. 12-20.
36. Cui Y., Miao K., Niyaphorn S., Qu X. Production of gamma-aminobutyric acid from lactic acid bacteria: a systematic review. *Int. J. Mol Sci.* 2020. №21. P. 99-105.
37. Daliri E., Lee B., Park B., Kim S., Oh D. H. Antihypertensive peptides from whey proteins fermented by lactic acid bacteria. *Food Sci. Biotechnol.* 2018. №27. P. 1781–1789.
38. Dallas D., Citerne F., Tian T., Silva V., Kalanetra K., Frese S., et al. Peptidomic analysis reveals proteolytic activity of kefir microorganisms on bovine milk proteins. *Food Chem.* 2016. №197. P. 273–284.
39. Deegan L., Cotter P., Hill C., Ross P. Bacteriocins: biological tools for bio-preservation and shelf-life extension. *Int. Dairy J.* 2006. №16. P. 1058–1071.
40. Deibel R. H., Niven C. F., Jr. Pyruvate fermentation by *Streptococcus faecalis*. *J. Bacteriol.* 1964. №88. P. 4–10.
41. Diaz M., Del Rio B., Ladero V., Redruello B., Fernández M., Martin M. C., et al. Histamine production in *Lactobacillus vaginalis* improves cell survival at low pH by counteracting the acidification of the cytosol. *Int. J. Food. Microbiol.* 2020. №321. P. 10-18.

42. Diep D., Nes I. F. Ribosomally synthesized antibacterial peptides in Gram positive bacteria. *Curr. Drug Targets* 2002. №3. P. 107–122.
43. Dorau R., Chen L., Liu J., Jensen P., Solem C. Efficient production of α -acetolactate by whole cell catalytic transformation of fermentation-derived pyruvate. *Microb. Cell Fact.* 2019. №18. P. 2-17.
44. Drinan D., Robin S., Cogan T. Citric acid metabolism in hetero- and homofermentative lactic acid bacteria. *Appl. Environ. Microb* 1976. №31. P. 481–486.
45. Eiteman M., Ramalingam S. Microbial production of lactic acid. *Biotechnol. Lett.* 2015. №37. P. 955–972.
46. Even S., Lindley N., Loubière P., Coccagn-Bousquet M. Dynamic response of catabolic pathways to autoacidification in *Lactococcus lactis*: transcript profiling and stability in relation to metabolic and energetic constraints. *Mol. Microbiol.* 2002. №45. P. 1143–1152.
47. Falasconi I., Fontana A., Patrone V., Rebecchi A., Duserm Garrido G., Principato L., et al. Genome-assisted characterization of *Lactobacillus fermentum*, *weissella cibaria*, and *weissella confusa* strains isolated from sorghum as starters for sourdough fermentation. *Microorganisms* 2020. №8. P. 13-18.
48. Fang R., Zhou W., Chen Q. Ethyl carbamate regulation and genomic expression of *Saccharomyces cerevisiae* during mixed-culture yellow rice wine fermentation with *Lactobacillus sp.* *Food Chem.* 2019. №292 P. 90–97.
49. Fijan S. Microorganisms with claimed probiotic properties: an overview of recent literature. *Int. J. Environ. Res. Public. Health* 2014. №11. P. 4745–4767.
50. Filannino P., Bai Y., Di Cagno R., Gobbetti M., Gänzle M. Metabolism of phenolic compounds by *Lactobacillus spp.* during fermentation of cherry juice and broccoli puree. *Food Microbiol.* 2015. №46. P. 272–279.
51. Filannino P., Di Cagno R., Gobbetti M. Metabolic and functional paths of lactic acid bacteria in plant foods: get out of the labyrinth. *Curr. Opin. Biotech.* 2018. №49. P. 64–72.
52. Fimland G., Johnsen L., Axelsson L., Brurberg M., Nes I., Eijsink V., et al. A C-terminal disulfide bridge in pediocin-like bacteriocins renders bacteriocin activity less temperature dependent and is a major determinant of the antimicrobial spectrum. *J. Bacteriol.* 2000. №182. P. 2643–2648.
53. Fuglsang A., Rattray F., Nilsson D., Nyborg N. Lactic acid bacteria: inhibition of angiotensin converting enzyme in vitro and in vivo. *Anton. Leeuw* 2003. №83. P. 27–34.
54. Gammacurta M., Lytra G., Marchal A., Marchand S., Christophe Barbe J., Moine V., et al. Influence of lactic acid bacteria strains on ester concentrations in red wines: specific impact on branched hydroxylated compounds. *Food Chem.* 2018. №239. P. 252–259.
55. Gänzle M., Follador R. Metabolism of oligosaccharides and starch in lactobacilli: a review. *Front. Microbiol.* 2012. №3. P. 34-40.

56. Gänzle M., Zheng J. Lifestyles of sourdough lactobacilli - do they matter for microbial ecology and bread quality? *Int. J. Food. Microbiol.* 2019. №302. P. 15–23.
57. Gänzle M. G. Lactic metabolism revisited: metabolism of lactic acid bacteria in food fermentations and food spoilage. *Curr. Opin. Food Sci.* 2015. №2. P. 106–117.
58. Gardini F., Özogul Y., Suzzi G., Tabanelli G., Özogul F. Technological factors affecting biogenic amine content in foods: a review. *Front. Microbiol.* 2016. №7. P. 12–18.
59. Ge Q., Chen S., Liu R., Chen L., Yang B., Yu H., et al. Effects of *Lactobacillus plantarum* NJAU-01 on the protein oxidation of fermented sausage. *Food Chem.* 2019. №295. P. 361–367.
60. Ge Y., Zhang J., Corke H., Gan R. Screening and spontaneous mutation of pickle-derived *Lactobacillus plantarum* with overproduction of riboflavin, related mechanism, and food application. *Foods* 2020. №9. P. 88–95.
61. Genay M., Sadat L., Gagnaire V., Lortal S. prtH2, not prtH, is the ubiquitous cell wall proteinase gene in *Lactobacillus helveticus*. *Appl. Environ. Microb* 2009. №75. P. 3238–3249.
62. George F., Daniel C., Thomas M., Singer E., Guilbaud A., Tessier F., et al. Occurrence and dynamism of lactic acid bacteria in distinct ecological niches: a multifaceted functional health perspective. *Front. Microbiol.* 2018. №9. P. 28–39.
63. Gerwig G. Structural analysis of exopolysaccharides from lactic acid bacteria. *Methods Mole. Biol.* 2019. №1887. P. 67–84.
64. Gómez-Torres N., ávila M., Delgado D., Garde S. Effect of reuterin-producing *Lactobacillus reuteri* coupled with glycerol on the volatile fraction, odour and aroma of semi-hard ewe milk cheese. *Int. J. Food Microbiol.* 2016. №232. P. 103–110.
65. Gong L., Ren C., Xu Y. Deciphering the crucial roles of transcriptional regulator GadR on gamma-aminobutyric acid production and acid resistance in *Lactobacillus brevis*. *Microb. Cell Fact.* 2019. №18. P. 108–112.
66. Górska S., Grycko P., Rybka J., Gamian A. Egzopolisacharydy bakterii kwasu mlekowego - biosynteza i struktura [Exopolysaccharides of lactic acid bacteria: structure and biosynthesis]. *Postepy. Hig. Med. Dosw.* 2007. №61. P. 805–818.
67. Hagting A., Kunji E., Leenhouts K., Poolman B., Konings W. The di- and tripeptide transport protein of *Lactococcus lactis*. a new type of bacterial peptide transporter. *J. Biol. Chem.* 1994. №269. P. 11391–11399.
68. Han X., Li L., Wei C., Zhang J., Bao J. Facilitation of l-lactic acid fermentation by lignocellulose biomass rich in vitamin b compounds. *J. Agr. Food Chem.* 2019. №67. P. 7082–7086.
69. Han X., Yang Z., Jing X., Yu P., Zhang Y., Yi H., et al. Improvement of the texture of yogurt by use of exopolysaccharide producing lactic acid bacteria. *BioMed. Res. Int.* 2016. №79. P. 45–67.

70. Hidalgo-Cantabrana C., Goh Y., Pan M., Sanozky-Dawes R., Barrangou R. Genome editing using the endogenous type I CRISPR-cas system in *Lactobacillus crispatus*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*. 2019. №116. P. 15774–15783.
71. Hsueh Y., Liaw W., Kuo J., Deng C., Wu C. Hydrogel Film-Immobilized *Lactobacillus brevis* RK03 for γ -aminobutyric acid production. *Int. J. Mol. Sci*. 2017. №18. P. 23–24.
72. Huang S., Ai Z., Sun X., Liu G., Zhai S., Zhang M., et al. Influence of arginine on the growth, arginine metabolism and amino acid consumption profiles of *Streptococcus thermophilus* T1C2 in controlled pH batch fermentations. *J. Appl. Microbiol*. 2016. №121. P. 746–756.
73. Hugenholtz J., Kleerebezem M., Starrenburg M., Delcour J., de Vos W., Hols P. *Lactococcus lactis* as a cell factory for high-level diacetyl production. *Appl. Environ. Microb* 2000. №66. P. 4112–4114.
74. Ibarra A., Acha R., Calleja M., Chiralt-Boix A., Wittig E. Optimization and shelf life of a low-lactose yogurt with *Lactobacillus rhamnosus* HN001. *J. Dairy Sci*. 2012. №95. P. 3536–3548.
75. Iseppi R., Stefani S., de Niederhausern S., Bondi M., Sabia C., Messi P. Characterization of Anti-*Listeria monocytogenes* properties of two bacteriocin-producing *Enterococcus mundtii* isolated from fresh fish and seafood. *Curr. Microbiol*. 2019. №76. P. 1010–1019.
76. Iwamoto H., Matsubara T., Okamoto T., Matsumoto T., Yoshikawa M., Takeda Y. Ingestion of casein hydrolysate induces oral tolerance and suppresses subsequent epicutaneous sensitization and development of anaphylaxis reaction to casein in mice. *Int. Arch. Allergy Imm*. 2019. №179. P. 221–230.
77. Jeske S., Zannini E., Lynch K., Coffey A., Arendt E. Polyol-producing lactic acid bacteria isolated from sourdough and their application to reduce sugar in a quinoa-based milk substitute. *Int. J. Food Microbiol*. 2018. №286. P. 31–36.
78. Kalschne D., Geitenes S., Veit M., Sarmiento C., Colla E. Growth inhibition of lactic acid bacteria in ham by nisin: a model approach. *Meat. Sci*. 2014. №98. P. 744–752.
79. Kêska P., Stadnik J. (2018). Stability of antiradical activity of protein extracts and hydrolysates from dry-cured pork loins with probiotic strains of LAB. *Nutrients* 2018. №10. P. 5–21.
80. Khalili M., Rad A., Khosroushahi A., Khosravi H., Jafarzadeh S. Application of probiotics in folate bio-fortification of yoghurt. *Probiotics. Antimicro* 2020. №12. P. 756–763.
81. Kim K., Chun B., Baek J., Roh S., Lee S., Jeon C. Genomic and metabolic features of *Lactobacillus sakei* as revealed by its pan-genome and the metatranscriptome of kimchi fermentation. *Food Microbiol*. 2020. №86. P. 103–114.
82. Komprda T., Burdychová R., Dohnal V., Cwiková O., Sládková P., Dvorácková H. Tyramine production in dutch-type semi-hard cheese from two different producers. *Food Microbiol*. 2008. №25. P. 219–227.

83. Kordesedehi R., Taheri-Kafrani A., Rabbani-Khorasgani M., Kazemi R., Mutangadura D., Haertle T. Modification of IgE binding to α S1-casein by proteolytic activity of *Enterococcus faecium* isolated from Iranian camel milk samples. *J. Biotechnol.* 2018. №27. P. 10–14.
84. Kuley E., Özyurt G., Özogul I., Boga M., Akyol I., Rocha J. M., et al. The role of selected lactic acid bacteria on organic acid accumulation during wet and spray-dried fish-based silages. *Microorganisms* 2020. №8. P. 17-22.
85. Kumar V., Ashok S., Park S. Recent advances in biological production of 3-hydroxypropionic acid. *Biotechnol. Adv.* 2013. №31. P. 945–961.
86. Kumariya R., Garsa A., Rajput Y., Sood S., Akhtar N., Patel S. Bacteriocins: classification, synthesis, mechanism of action and resistance development in food spoilage causing bacteria. *Microbial. Pathogenesis* 2019. №128. P. 171–177.
87. Kunji E., Mierau I., Hagting A., Poolman B., Konings W. The proteolytic systems of lactic acid bacteria. *Anton. Leeuw* 1996. №70. P. 187–221.
88. Laws A., Gu Y., Marshall V. Biosynthesis, characterisation, and design of bacterial exopolysaccharides from lactic acid bacteria. *Biotechnol. Adv.* 2001. №19. P. 597–625.
89. Lee K., Pi K., Kim E., Rho B., Kang S., Lee H., et al. Glutathione-mediated response to acid stress in the probiotic bacterium, *Lactobacillus salivarius*. *Biotechnol. Lett.* 2010. №32. P. 969–972.
90. Leemhuis H., Dobruchowska J., Ebbelaar M., Faber F., Buwalda P., van der Maarel M., et al. Isomalto/malto-polysaccharide, a novel soluble dietary fiber made via enzymatic conversion of starch. *J. Agr. Food Chem.* 2014. №62. P. 12034–12044.
91. Li Q., Loonen J., Gänzle M. G. Characterization of the extracellular fructanase fruA in *Lactobacillus crispatus* and its contribution to fructan hydrolysis in breadmaking. *J. Agr. Food Chem.* 2020. №68. P. 8637–8647.
92. Li Y., Ku S., Park M., Li Z., Ji G. Acceleration of aglycone isoflavone and γ -aminobutyric acid production from doenjang using whole-cell biocatalysis accompanied by protease treatment. *J. Microb. Biotech.* 2017. №27. P. 1952–1960.
93. Liao X., Guo L., Ye Z., Qiu L., Gu F., Lin J. Use of autochthonous lactic acid bacteria starters to ferment mango juice for promoting its probiotic roles. *Prep. Biochem. Biotechnol.* 2016. № 46. P. 399–405.
94. Liu T., Li Y., Yang Y., Yi H., Zhang L., He G. The influence of different lactic acid bacteria on sourdough flavor and a deep insight into sourdough fermentation through RNA sequencing. *Food Chem.* 2020. №307. 125-129.
95. Liu Y., van Bennekom E., Zhang Y., Abee T., Smid E. Long-chain vitamin K2 production in *Lactococcus lactis* is influenced by temperature, carbon source, aeration and mode of energy metabolism. *Microb. Cell. Fact* 2019. №18. 12-19.
96. Lonvaud-Funel A. Biogenic amines in wines: role of lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Lett.* 2001. №199 9–13.

97. Loponen J., König K., Wu J., Gänzle M. G. Influence of thiol metabolism of lactobacilli on egg white proteins in wheat sourdoughs. *J. Agr. Food Chem.* 2008. №56. P. 3357–3362.
98. Lu Z., Liu N., Wang L., Wu L., Gong J., Yu Y., et al. Elucidating and regulating the acetoin production role of microbial functional groups in multispecies acetic acid fermentation. *Appl. Environ. Microb* 2016. №82. P. 5860–5868.
99. Lyu C., Liu L., Huang J., Zhao W., Hu S., Mei L., et al. Biosynthesis of γ -aminobutyrate by engineered *Lactobacillus brevis* cells immobilized in gellan gum gel beads. *J. Biosci. Bioeng.* 2019. № 128. P. 123–128.
100. Majee S., Avlani D., Gopa R., Biswas G. Rheological behaviour and pharmaceutical applications of bacterial exopolysaccharides. *J. App. Pharm. Sci.* 2017. №7. P. 224–232.
101. Maruščáková I., Schusterová P., Bielik B., Toporčák J., Bíliková K., Mudroňová D. Effect of application of probiotic pollen suspension on immune response and gut microbiota of honey bees. *Probiotics Antimicro* 2020. №12. P. 929–936.
102. Mayer M., D'Amato A., Colquhoun I., Le Gall G., Narbad A. Identification of genes required for glucan exopolysaccharide production in *Lactobacillus johnsonii* suggests a novel biosynthesis mechanism. *Appl. Environ. Microb* 2020. №86. P. 2808–2819.
103. Meisel H., Bockelmann W. Bioactive peptides encrypted in milk proteins: proteolytic activation and thropho-functional properties. *Anton. Leeuw* 1999. №76. P. 207–215
104. Mokoena M. Lactic acid bacteria and their bacteriocins: classification, biosynthesis and applications against uropathogens: a mini-review. *Molecules* 2017. №22. P. 25–35.
105. Møller C., Ücok E., Rattray F. Histamine forming behaviour of bacterial isolates from aged cheese. *Food Res. Int.* 2020. №128. P. 10–19.
106. Montville T., Chen Y. Mechanistic action of pediocin and nisin: recent progress and unresolved questions. *Appl. Microbiol. Biot.* 1998. №50. P. 511–519.
107. Mu G., Li H., Tuo Y., Gao Y., Zhang Y. Antioxidative effect of *Lactobacillus plantarum* Y44 on 2,2'-azobis(2-methylpropionamidine) dihydrochloride (ABAP)-damaged Caco-2 cells. *J. Dairy. Sci.* 2019. №102. P. 6863–6875.
108. Mugampoza D., Gkatzionis K., Linforth R., Dodd C. Acid production, growth kinetics and aroma profiles of *Lactobacillus flora* from stilton cheese. *Food Chem.* 2019. №287. P. 222–231.
109. Mulet-Powell N., Lacoste-Armynot A., Viñas M., Simeon, de Buochberg M. Interactions between pairs of bacteriocins from lactic bacteria. *J. Food Protect.* 1998. №61. P. 1210–1212.
110. Müller G., Kalyani D., Horn S. LPMOs in cellulase mixtures affect fermentation strategies for lactic acid production from lignocellulosic biomass. *Biotechnol. Bioeng.* 2017. №114. P. 552–559.

111. Nam S., Ko J., Jun W., Wee Y., Walsh M., Yang K., et al. Enzymatic synthesis of chlorogenic acid glucoside using dextransucrase and its physical and functional properties. *Enzyme. Microb Tech.* 2017. №107. P. 15–21.
112. Nehal F., Sahnoun M., Smaoui S., Jaouadi B., Bejar S., Mohammed S. Characterization, high production and antimicrobial activity of exopolysaccharides from *Lactococcus lactis* F-mou. *Microb. Pathogenesis* 2019. №132. P. 10–19.
113. Nes I., Diep D., Håvarstein L., Brurberg M., Eijsink V., Holo H. Biosynthesis of bacteriocins in lactic acid bacteria. *Anton. Leeuw* 1996. №70. P. 113–128.
114. Oguntoyinbo F., Narbad A. Molecular characterization of lactic acid bacteria and in situ amylase expression during traditional fermentation of cereal foods. *Food Microbiol.* 2012. №31. P. 254–262.
115. Oguro Y., Nishiwaki T., Shinada R., Kobayashi K., Kurahashi A. Metabolite profile of koji amazake and its lactic acid fermentation product by *Lactobacillus sakei* UONUMA. *J. Biosci. Bioeng.* 2017. №124. P. 178–183.
116. Ortiz M., Bleckwedel J., Raya R., Mozzi F. Biotechnological and in situ food production of polyols by lactic acid bacteria. *Appl. Microbiol. Biot.* 2013. №97. P. 4713–4726.
117. Pandey N., Malik R., Kaushik J., Singroha G. Gassericin A: a circular bacteriocin produced by lactic acid bacteria *Lactobacillus gasseri*. *World J. Microb. Biot.* 2013. №29. P. 1977–1987.
118. Papadimitriou K., Alegría Á, Bron P., de Angelis M., Gobbetti M., Kleerebezem M., et al. Stress physiology of lactic acid bacteria. *Microbiol. Mol. Biol. R: MMBR* 2016. №80. P. 837–890.