

На правах рукописи



Китаевская Светлана Владимировна

**БИОТЕХНОЛОГИЯ КРИОРЕЗИСТЕНТНЫХ МОЛОЧНОКИСЛЫХ
БАКТЕРИЙ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В ХЛЕБОПЕКАРНОЙ
ПРОМЫШЛЕННОСТИ**

1.5.6. Биотехнология

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
доктора технических наук

Казань – 2023

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет»

**Научный
консультант:**

доктор технических наук, профессор,
Решетник Ольга Алексеевна

**Официальные
оппоненты:**

Панфилов Виктор Иванович,
доктор технических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева», заведующий кафедрой биотехнологии;

Волкова Галина Сергеевна,
доктор технических наук, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии – филиал федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», заведующий лабораторией биотехнологии органических кислот, пищевых и кормовых добавок;

Пономарева Елена Ивановна,
доктор технических наук, профессор, федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Воронежский государственный университет инженерных технологий», профессор кафедры технологии хлебопекарного, кондитерского, макаронного и зерноперерабатывающего производств

**Ведущая
организация:**

федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный технологический институт (технический университет)», г. Санкт-Петербург

Защита состоится 20 декабря 2023 года в 14.00 часов на заседании объединённого диссертационного совета 99.2.028.02, созданного на базе ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет», ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» по адресу: 420015, г. Казань, ул. К. Маркса, д.68, Зал заседаний Ученого совета (А-330).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет», а также на официальном сайте <https://www.kstu.ru/servlet/contentblob?id=470718>.

Автореферат разослан «___» сентября 2023 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета 99.2.028.02



Хабибрахманова
Венера Равилевна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. За последние годы расширились знания о свойствах молочнокислых бактерий, их функциях в различных биотехнологических системах. В настоящее время установлено, что молочнокислые бактерии играют ключевую роль в процессах брожения различных видов сельскохозяйственного сырья и являются продуцентами таких биологически активных веществ, как ферменты, витамины, антибиотики. В силу неограниченности источников и широкого спектра действия молочнокислых бактерий особое значение приобретает углубленное изучение различных аспектов жизнедеятельности данной группы микроорганизмов. Промышленно-ценными культурами микроорганизмов, применяемыми в составе большинства заквасок для пищевых продуктов являются молочнокислые бактерии, относящиеся к роду *Lactobacillus*, и проявляющие высокую биохимическую активность.

Интенсивное внедрение в пищевой промышленности криогенных технологий требует новых подходов к разработке заквасочных культур, что обусловлено снижением жизнеспособности клеток и изменением функционально-технологических свойств заквасок при низкотемпературном воздействии. Существенной проблемой, сдерживающей реализацию криотехнологий продуктов питания, является ограниченный ассортимент криорезистентных заквасок на мировом рынке. Поиск и сравнительное изучение новых штаммов молочнокислых бактерий, обладающих криорезистентными свойствами, имеют важное теоретическое и практическое значение для совершенствования пищевой биотехнологии.

В настоящее время во многих странах мира, в том числе и России, востребованы криотехнологии по производству широкого ассортимента хлебопекарной продукции, так как они гарантируют сохранность качества изделий в необходимые для производства сроки, позволяют гибко реагировать на запросы рынка. С этих позиций разработка и внедрение криогенных технологий является важнейшей научно-практической задачей для пищевой промышленности, решение которой позволит удовлетворить растущий спрос рынка на замороженные полуфабрикаты и хлебопекарную продукцию, а также расширить ассортимент хлебобулочных изделий с высокими потребительскими характеристиками.

Замораживание полуфабрикатов хлебопекарного производства приводит к изменению их биохимических, реологических и теплофизических свойств. Ключевой проблемой при реализации криогенных технологий в хлебопечении является ухудшение качественных характеристик готовой продукции, связанное, в первую очередь, с гибелью микрофлоры и нарушениями процесса брожения полуфабрикатов после их низкотемпературного хранения в замороженном виде.

Во всем мире выпускается широкий ассортимент замороженных полуфабрикатов из пшеничной муки, проводятся исследования по разработке и совершенствованию криотехнологии ржанных и ржано-пшеничных изделий, зернового хлеба.

Одним из перспективных направлений решения имеющихся проблем является селекция криорезистентных молочнокислых бактерий, сохраняющих свою биологическую активность на различных этапах процесса приготовления

хлебобулочных изделий с применением криотехнологии, и разработка на их основе заквасок с криорезистентными свойствами.

Обеспечение высокого качества хлебопекарной продукции на основе замороженных полуфабрикатов может быть достигнуто биотехнологическими методами, в связи с чем работа, направленная на поиск, селекцию, изучение свойств новых заквасок молочнокислых бактерий с криорезистентными свойствами и разработку научно-практических аспектов их применения для усовершенствования и оптимизации технологии хлебобулочных изделий с применением криотехнологии является актуальной.

Степень разработанности темы. Фундаментальные основы промышленной биотехнологии микроорганизмов, направленной на получение продуктов питания нового поколения, заложены в трудах Ганиной В.И., Костенко Ю.Г., Липатова Н.Н., Рогова И.А., Семенихиной В.Ф., Соловьева В.И., Титова Е.И., Токаева Э.С., Хорольского В.В., De Vuyst L., Eerola S., Klaenhammer T.R., Liong M.T., Madsen S.M., Niinivaara F., Tanous C., Vandamme E.J. и др.

Исследованиям отдельных аспектов проблемы производства хлебобулочных изделий на основе замороженных полуфабрикатов посвящены работы многих отечественных и зарубежных исследователей: Лабутиной Н.В., Матвеевой И.В., Поландовой Р.Д., Пономаревой Е.И., Сокол Н.В., Суворова О.А., Тешитель О.В., Hsu K., Kline L. W., Lorenz K., Neureneuf O., Ribotta P.D. и др.

Развитие научно-практических основ биотехнологии молочнокислых бактерий позволит решить актуальные проблемы по разработке нового ассортимента и импортозамещению заквасок для пищевой промышленности, совершенствованию криотехнологий хлебопекарного производства и получению продуктов питания с высокими потребительскими характеристиками и биологической ценностью.

Цель диссертационной работы - разработка научно-практических основ биотехнологии криорезистентных молочнокислых бактерий, разработка на их основе новых технологий и рецептур хлебопекарной продукции с высокими показателями качества и биологической ценности.

Для достижения поставленной цели были определены следующие задачи:

- теоретически и экспериментально обосновать способы стабилизации процессов брожения и биотехнологических свойств полуфабрикатов хлебопекарного производства в условиях криотехнологии;
- провести селекционные исследования по направленному отбору криорезистентных штаммов молочнокислых бактерий;
- провести оценку биотехнологического потенциала выделенных изолятов молочнокислых бактерий с криорезистентными свойствами и идентификацию перспективных штаммов с применением классических фенотипических методов в сочетании с генетическими методами;
- разработать состав оптимизированной питательной среды для повышения криорезистентности лактобактерий;
- экспериментально обосновать параметры и режимы приготовления ржано-пшеничного хлеба на основе замороженных полуфабрикатов, сохраняющие высокую жизнеспособность молочнокислых бактерий и дрожжей, для увеличения

сроков хранения полуфабрикатов и обеспечения стабильного качества готовой продукции;

- экспериментально обосновать внедрение стадии молочнокислой ферментации диспергированной зерновой массы из пшеницы в технологии зернового хлеба на основе замороженных полуфабрикатов, позволяющей повысить потребительские свойства и биологическую ценность зернового хлеба;

- провести поиск эффективных пищевых криопротекторов в отношении молочнокислых бактерий и хлебопекарных дрожжей, моделирование рецептур и разработку технологических решений для производства хлебопекарной продукции на основе замороженных полуфабрикатов;

- разработать нормативно-техническую документацию на полуфабрикаты и новый ассортимент ржано-пшеничного и пшеничного зернового хлеба на основе замороженных полуфабрикатов, апробировать технологии в производственных условиях; рассчитать экономический эффект практической реализации новых видов хлебобулочных изделий.

Научная концепция исследования заключается в разработке научно-практических основ биотехнологии криорезистентных заквасок молочнокислых бактерий, разработке на их основе новых технологий и рецептур хлебобулочных изделий с высокими показателями качества и биологической ценности.

Научная новизна. Сформулирована научная концепция стабилизации биотехнологических свойств тестовых полуфабрикатов после низкотемпературной обработки за счет применения криорезистентных лактобактерий, пищевых добавок и ингредиентов с криопротекторными свойствами, обоснованы принципы разработки новых технологий и рецептур ржано-пшеничного и зернового хлеба из пшеницы на основе замороженных полуфабрикатов.

Из различных пищевых источников выделено пятнадцать перспективных штаммов молочнокислых бактерий *p. Lactobacillus*, обладающих высокой устойчивостью к низкотемпературному воздействию. Установлено, что штаммы *L. casei* 32, *L. plantarum* 24 и *L. fermentum* 10 обладают устойчивостью к различным стрессовым воздействиям – замораживанию, изменению pH среды, наличию в среде желчи, NaCl, фенола, антибиотикам и окислительному стрессу. Выявлено, что клетки и метаболиты лактобактерий *L. casei* 32, *L. fermentum* 10, *L. plantarum* 21, *L. acidophilum* 9 и *L. plantarum* 24 обладают антиоксидантными свойствами. При помощи различных лабораторных анализов *in vitro* и *in vivo* установлено, что штамм *L. casei* 32 проявляет высокую генопротекторную, антимуtagenную и антиоксидантную активность на уровне 60-80 %, 75-85 % и 70-80 % соответственно.

Отобраны перспективные для пищевой промышленности штаммы *L. casei* 32 и *L. plantarum* 24 с криорезистентными свойствами в результате оценки комплекса функционально-технологических свойств новых штаммов молочнокислых бактерий (кислотообразующей и ферментативной способности, антагонистической активности, устойчивости к различным стрессовым воздействиям, антимуtagenной и антиоксидантной активности); геномные последовательности данных штаммов зарегистрированы в базе данных Genbank с присвоением учетных номеров.

Разработан состав питательной среды для молочнокислых бактерий, оптимизированной по содержанию глюкозы, дрожжевого экстракта, сукцината аммония, ионов Mn^{2+} и Mg^{2+} , применение которой позволяет увеличить

выживаемость лактобактерий после низкотемпературной обработки в 2,5 раза, повысить удельную скорость роста клеток на 16,3 %.

Установлено, что в результате длительной низкотемпературной обработки в ржано-пшеничных полуфабрикатах происходит существенное изменение соотношения клеток дрожжей и молочнокислых бактерий: гибель клеток молочнокислых бактерий *p. Lactobacillus* составляет 53 %, дрожжей *p. Saccharomyces* – 41 %. Выявлено, что из молочнокислых бактерий ржано-пшеничного теста наиболее устойчивыми к низкотемпературному воздействию являются клетки *L. plantarum* и *L. fermentum*.

Впервые показано, что при применении криогенных технологий снижается активность собственных ферментов ржаной и пшеничной муки: активность протеаз в среднем уменьшается на 75 %, амилаз на 41 %.

Установлено, что применение криорезистентных молочнокислых бактерий *L. casei TMB-D* и *L. casei 32* в криотехнологии ржано-пшеничного хлеба позволяет интенсифицировать процесс брожения полуфабрикатов, а также улучшить органолептические, физико-химические и структурно-механические характеристики хлебопекарной продукции.

Впервые показано, что внедрение стадии ферментации разработанными молочнокислыми заквасками диспергированной зерновой массы при производстве хлеба из целого зерна пшеницы позволяет увеличить сроки хранения тестовых полуфабрикатов в замороженном виде с 3 до 5 месяцев, повысить качественные характеристики и антиоксидантную емкость зернового хлеба на 24,5 %.

Выявлены корреляционные зависимости выживаемости молочнокислых бактерий и дрожжей, биотехнологических свойств полуфабрикатов и показателей качества хлебобулочных изделий от концентраций ингредиентов и биологически активных добавок в разработанных рецептурах ржано-пшеничного хлеба: молока сухого обезжиренного, сыворотки молочной сухой, янтарной кислоты, сукцинатов калия и аммония, пшеничного солода, модифицированных кукурузных крахмалов и ферментной композиции (содержащей Пентопан 500 BG, Новамил 1500 MG и Нейтраза 1,5 MG в соотношении 6:2,5:1); расширены представления о технологических функциях данных компонентов для производства хлебобулочных изделий на основе замороженных полуфабрикатов.

Теоретическая и практическая значимость работы состоит в разработке научных основ биотехнологий в повышении качества ржано-пшеничного и зернового хлеба на основе замороженных полуфабрикатов за счет применения криорезистентных заквасок молочнокислых бактерий и пищевых добавок и ингредиентов с криопротекторными свойствами, а также в развитии основ создания новых видов хлебобулочных изделий с применением криотехнологии.

Селекционированы криорезистентные штаммы молочнокислых бактерий *L. casei 32* и *L. plantarum 24*, обладающие широким спектром функционально-технологических свойств для пищевой промышленности, в том числе хлебопекарной отрасли. Данные штаммы обладают высокими антиоксидантными, антимутагенными и генопротекторными свойствами и могут быть использованы при разработке пищевых продуктов с применением криогенных технологий, а также биологически активных добавок для пищевой, фармацевтической, косметической промышленности и ветеринарии.

Разработана нормативно-техническая документация на криорезистентную закваску лактобактерий для пищевой промышленности (ТУ 10.89.19.300–007–02069639–2023). Разработан состав оптимизированной питательной среды для лактобактерий, позволяющий увеличить их выживаемость после низкотемпературной обработки.

Разработаны режимы тестоприготовления, замораживания, хранения и дефростации полуфабрикатов хлебопекарного производства (ржано-пшеничного теста и полуфабрикатов из ферментированной зерновой массы), позволяющие сохранить высокую бродильную активность микроорганизмов и улучшить качественные характеристики хлебобулочных изделий.

Усовершенствована технология ржано-пшеничного хлеба на основе замороженных полуфабрикатов за счет использования криорезистентной закваски молочнокислых бактерий и пищевых ингредиентов и добавок с криопротекторным действием, позволяющая интенсифицировать процесс брожения теста, увеличить продолжительность хранения полуфабрикатов в замороженном виде до 5 мес., получить хлебопекарную продукцию с высокими потребительскими характеристиками, а также расширить ассортимент хлебобулочных изделий, увеличить конкурентоспособность продукции.

Разработана технология производства зернового хлеба на основе замороженных полуфабрикатов, предусматривающая внедрение стадии молочнокислой ферментации диспергированной зерновой массы и применение янтарной кислоты и ее солей, что позволит улучшить качественные характеристики готовой продукции, увеличить антиоксидантную емкость зернового хлеба на 24,5 %.

Разработаны технологические схемы производства, рецептуры и нормативно-техническая документация на полуфабрикаты и новый ассортимент ржано-пшеничного хлеба на основе замороженных полуфабрикатов с применением криорезистентных лактобактерий: хлеб «Морозко» с сухими молочными продуктами (ТУ 001–13981212–2004), «Морозко новый» с набухающим кукурузным крахмалом (ТУ 10.72.19–011–2003968806–2022), «Элита» с ферментной композицией (ТУ 10.72.19–016–2003968806–2022), «Злата» с солодовыми препаратами (ТУ 10.72.19–017–2003968806–2022), «Янтарный» с янтарной кислотой или ее солями (ТУ 10.72.19–014–2003968806–2022), а также на новые виды зернового хлеба на основе ферментированной зерновой массы: хлеб «Биозлак» (ТУ 10.71.11–009–2005989134–2021), «Биозлаковый» (ТУ 10.71.11–002–2005989134–2022) и «Янтарь» (ТУ 10.72.19–004–2005989134–2022).

Проведена промышленная апробация разработанных технологий на хлебопекарных предприятиях АО «Татхлеб» (г. Казань) и предприятиях малой мощности (ИП «Саляхетдинова Э.Ф.» (г. Казань), ИП «Рамеев Р.Р.» (г. Набережные Челны), обеспечивающих выпуск готовой продукции с высокими технологическими и потребительскими свойствами. Установлено, что экономический эффект от реализации разработанных видов замороженных полуфабрикатов ржано-пшеничного и зернового хлеба составит 5,4 тыс. руб./т и 6,06 тыс. руб./т соответственно.

Основные результаты исследований используются в учебном процессе в ФГБОУ ВО «КНИТУ» при реализации основных образовательных программ подготовки бакалавров и магистров по направлениям 19.03.02, 19.04.02 –

«Продукты питания из растительного сырья» и 19.03.04, 19.04.04 – «Технология и организация продукции общественного питания».

Предлагаемые технологии позволят рационально использовать сырьевую базу агропромышленного комплекса, повысить эффективность технологического процесса, увеличить срок хранения полуфабрикатов в замороженном виде и продлить сроки свежести хлебобулочных изделий.

Методология и методы исследований. Исследования проводили согласно методологии, основой которой является комплекс методов познания: теоретических, эмпирических, практических, базирующихся на естественно-научных закономерностях. В работе применяли общепринятые и специальные современные микробиологические, физические, химические, биохимические, органолептические и математические методы анализа. Обработка экспериментальных данных проводилась при помощи настроек «Анализ данных» и «Поиск решений» стандартной программы Microsoft Office Excel 2013 и программы Statistica 10.

Научные положения, выносимые на защиту:

- результаты селекционных исследований криорезистентных штаммов молочнокислых бактерий и оценки их биотехнологического потенциала для производства пищевых продуктов, в том числе хлебобулочных изделий;
- состав оптимизированной питательной среды для лактобактерий, позволяющий увеличить их выживаемость после низкотемпературной обработки;
- условия получения и стабилизации качества хлебобулочных изделий на основе замороженных полуфабрикатов за счет применения криорезистентных штаммов молочнокислых бактерий с высоким биопотенциалом и пищевых добавок и ингредиентов криопротекторного действия;
- технологические решения по определению условий производства ржанопшеничного хлеба с применением криотехнологии, сохраняющих высокую жизнеспособность молочнокислых бактерий и дрожжей, увеличивающих сроки хранения полуфабрикатов и обеспечивающих высокую конкурентоспособность и стабильное качество готовой продукции;
- экспериментальное обоснование применения молочнокислой ферментации зерновой диспергированной массы из пшеницы для улучшения биотехнологических свойств полуфабрикатов. повышения качественных характеристик и биологической ценности зернового хлеба.

Степень достоверности и апробация результатов работы.

Степень достоверности результатов проведенных исследований подтверждается проработкой научно-литературных и информационно-патентных данных в соответствии с тематикой диссертационной работы, применением современных методов анализа, математической обработкой результатов исследований, апробацией результатов исследований в промышленности, публикацией основных положений работы в научных изданиях.

Основные положения и результаты диссертационной работы доложены и обсуждены на международных научных, научно-практических, научно-технических мероприятиях разного уровня: ежегодных научных сессиях Казанского национального исследовательского технологического университета (2002-2023 гг.); Всероссийской научной конференции с международным участием «Пищевые технологии и биотехнологии» (Казань, 2002-2015, 2017, 2019, 2021, 2023 гг.); III межрегиональной научной конференции молодых ученых «Материалы и технологии XXI века» (Казань, 2003, 2014 г.); XVII Менделеевском съезде по общей и прикладной химии (Казань, 2003 г.); XI международной конференции «Синтез, исследование свойств, модификация и переработка высокомолекулярных соединений» (Казань, 2005 г.); X международном форуме «Высокие технологии XXI века» (Москва, 2009 г.); X научно-практической конференции с международным участием «Технологии и продукты здорового питания. Функциональные пищевые продукты» (Москва, 2012 г.); Международной школы-конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Биомедицина, материалы и технологии XXI века» (Казань, 2015 г.); Региональной конференции молодых ученых «Молодежь и инновации Татарстана» (Казань, 2015, 2016 гг.); V Международном Балтийском морском форуме в рамках VI Международной научно-практической конференции «Пищевая и морская биотехнология» (Калининград, 2017 г.); 2-ой Всероссийской школы-конференции молодых ученых «Биохимия - основа наук о жизни» (Казань, 2019 г.); International Conference on Agribusiness, Environmental Engineering and Biotechnologies - AGRITECH (2019, 2020 гг.); Enhancing Livelihood through Sustainable Agriculture in the Post-Pandemic Phase - ICARD (Индонезия, 2021 г.), Международной научно-практической конференции «Биотехнология: наука и практика» (Ялта, 2020, 2021 гг., Алушта 2022 г.).

Диссертационная работа выполнена в соответствии с основными направлениями исследований ФГБОУ ВО «КНИТУ» по приоритетным направлениям развития «Исследование механизма интенсификации процессов получения продуктов биосинтеза на базе использования ряда химических и биологических добавок» №01840017294 и «Разработка научных и практических основ технологии производства и комплексной переработки сырья растительного и животного происхождения для выработки конкурентно способных пищевых продуктов» № 01200305357. Исследования были поддержаны грантом РФФИ 20–016–00025 «Новые штаммы *Lactobacillus* с пробиотическим, антиоксидантным и генопротекторным действием для биотехнологических производств, основанных на молочнокислом брожении».

Личное участие автора состоит в выборе направления исследований, проведении анализа литературных и патентных источников по проблеме диссертационного исследования, в постановке задач и выполнении теоретических и экспериментальных исследований, апробации результатов исследований. Диссертационная работа является обобщением научных исследований, проведенных в 2000-2022 гг. лично автором и при его непосредственном участии в качестве руководителя научно-исследовательских работ бакалавров и магистров.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 74 научные работы, в т.ч. 17 статей в рецензируемых научных журналах, входящих в перечень ВАК Минобрнауки России для публикации результатов диссертационных исследований; 5 статей в журналах, индексируемых в международных базах цитирования Scopus/WoS; 3 статьи в российских журналах (РИНЦ/RSCI); 48 публикаций по материалам докладов на всероссийских и международных конференциях; монография.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, 6 глав, заключения, списка использованных источников и 6 приложений. Работа изложена на 419 страницах машинописного текста и содержит 169 рисунков и 89 таблиц. Список литературы включает 387 наименований, в том числе 233 на иностранных языках.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи исследования, определены основные направления реализации цели, показана научная новизна, теоретическая и практическая значимость результатов исследования.

Глава 1. Аналитический обзор. В данной главе произведен анализ имеющихся знаний о молочнокислых бактериях, их биологии и биотехнологическом потенциале. Произведен анализ ряда физиологических и биохимических особенностей молочнокислых бактерий, в частности морфологии, особенностей питания, метаболизма и др. Описан биотехнологический потенциал молочнокислых бактерий как биологически активных компонентов пищи. Подробно освещены микробиологические и биотехнологические основы производства хлебобулочных изделий. Проанализирована роль молочнокислых бактерий в процессах брожения полуфабрикатов хлебопекарного производства и формирования качества продукции хлебопекарного производства. Рассмотрены теоретические аспекты выживаемости клеток микроорганизмов при действии на них отрицательных температур. Охарактеризованы причины гибели микрофлоры при существующих способах низкотемпературной обработки полуфабрикатов хлебопекарного производства, приводящие к снижению качества готовых изделий, и способы стабилизации криозащитных свойств клеток микроорганизмов.

В результате проведенного анализа были намечены основные направления решения проблемы стабилизации процессов брожения и биотехнологических свойств тестовых полуфабрикатов в условиях криотехнологии (рис. 1), позволяющие:

- создать возможность направленного управления процессом созревания полуфабрикатов и предотвращения развития посторонней микрофлоры;
- обеспечить приготовление полуфабрикатов высокого качества в наиболее короткий период времени;
- создать оптимальные условия жизнедеятельности дрожжей и молочнокислых бактерий в тестовой среде с целью достижения наилучшего качества готовых изделий;
- увеличить продолжительность хранения тестовых полуфабрикатов в замороженном виде;

- получать продукты разнообразного вкуса и повышенной пищевой и биологической ценности, используя специфические свойства отдельных штаммов молочнокислых бактерий, пищевые добавки и ингредиенты.



Рисунок 1 – Поиск эффективных путей решения проблемы стабилизации биотехнологических свойств тестовых полуфабрикатов в условиях криотехнологии

Глава 2. Организация эксперимента, объекты и методы исследований.

В главе представлены основные этапы проведения экспериментальных исследований, объекты и применяемые методы анализа.

Планирование экспериментальных исследований включает постановку проблемы, формулирование цели и задач работы, выбор методов их решения, постановку эксперимента, анализ и статистическую обработку полученных данных, промышленную апробацию предлагаемых технологических решений. Схема проведения экспериментальных исследований представлена на рисунке 2.

В соответствии с целью и задачами работы объектами исследования служили: молочнокислые бактерии и дрожжи, участвующие в процессе брожения ржаной закваски и ржано-пшеничного теста; сухие молочнокислые закваски (предоставлены ФГБОУ ВО МГУПП), молочнокислые бактерии выделенные из различных пищевых источников; мука хлебопекарная – ржаная обдирная мука (ГОСТ 7045–2017), пшеничная мука первого сорта (ГОСТ 26574–2017); пшеница третьего класса (ГОСТ 9353-2016); молоко сухое обезжиренное (ГОСТ 33629–2015); сыворотка молочная сухая (ГОСТ 33958–2016); кислота янтарная (ГОСТ 6341–75), сукцинаты калия и аммония (ТУ 2634–007–33880306–96); дрожжи хлебопекарные прессованные (ГОСТ 171–81), дрожжи хлебопекарные сушеные (ГОСТ 54845–2011); ферментные препараты (Пентопан 500 BG, Новамил 1500 MG и Нейтраза 1,5 MG); кукурузные модифицированные крахмалы; солодовые препараты (сухой пшеничный, гречневый, ржаной и ячменные солод, а также солодовые экстракты); соль поваренная пищевая (ГОСТ 51574–2018); вода питьевая (СанПиН 1.4.1074–01), а также тестовые полуфабрикаты и хлебобулочные изделия. Все сырье соответствовало требованиям качества нормативной документации и безопасности по ТР ТС 021/2011, ТР ТС 029/2011.

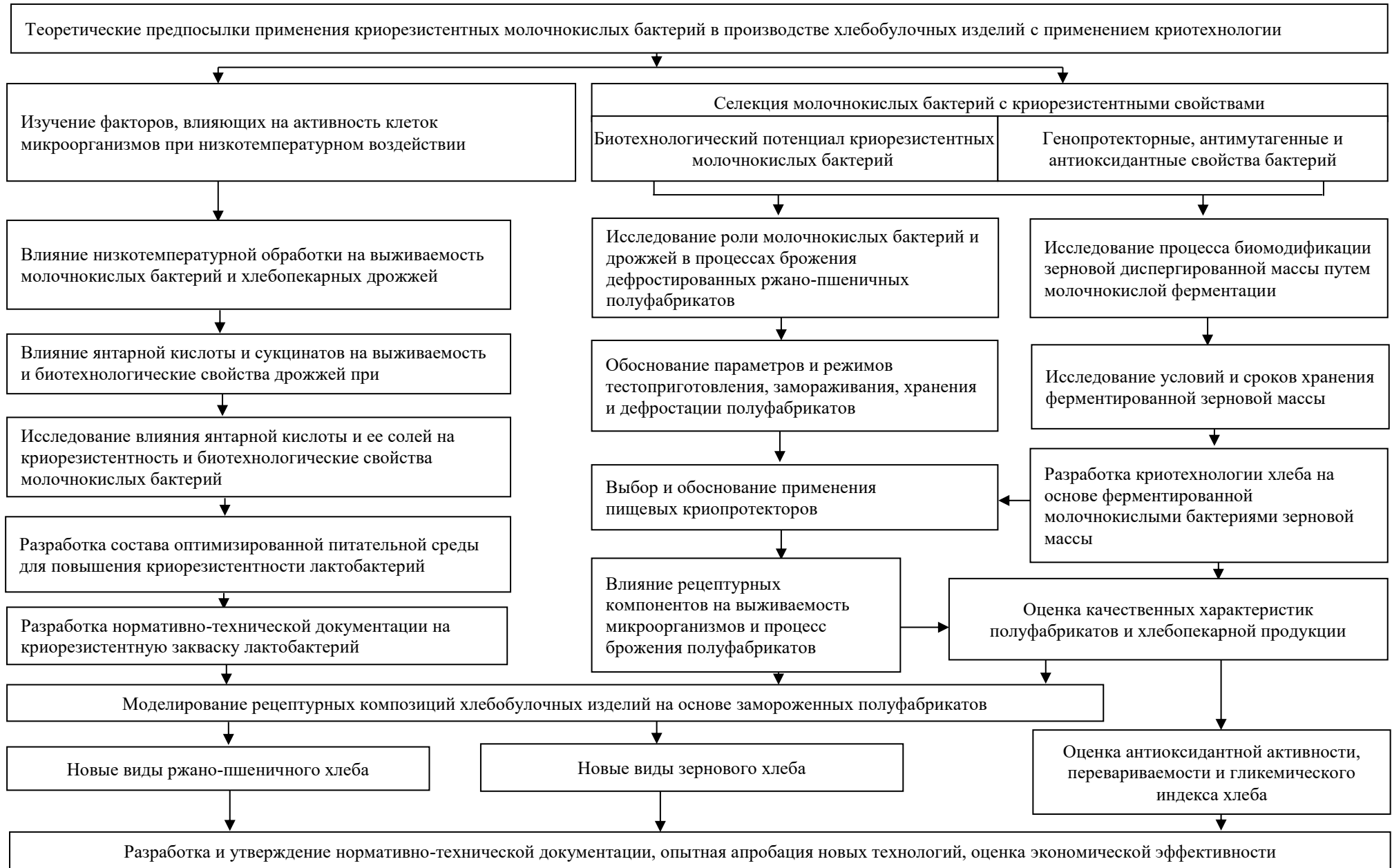


Рисунок 2 – Схема экспериментальных исследований

В работе использовали микробиологические, биохимические, физико-химические, сенсорные методы исследований с применением аттестованных методик. Обработку экспериментальных данных осуществляли методами математической статистики. Полученные данные обрабатывали в программе «STATISTIKA», статистическую обработку и построение графиков осуществляли с помощью Microsoft Office Excel 2013.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Глава 3. Селекция криорезистентных штаммов молочнокислых бактерий и оценка их биотехнологического потенциала

Определяющим этапом в создании микробиологических препаратов является подбор штаммов с высокими функционально-технологическими свойствами. Принципиальное значение имеет селекция продуктивных форм молочнокислых бактерий для производственных целей.

В результате направленного скрининга криорезистентных функционально-активных штаммов молочнокислых бактерий из различных пищевых источников растительного и животного происхождения было отобрано 15 перспективных штаммов молочнокислых бактерий *p. Lactobacillus*, обладающих высокой устойчивостью к низкотемпературному воздействию (выживаемость клеток при различных низкотемпературных режимах от минус 20 до минус 196 °С не менее 80 %). Данные штаммы хорошо размножаются в широком диапазоне температур (от 15 до 45 °С), температурный оптимум составляет 30-37 °С, оптимальное значение pH 5,5-6,2.

Результаты изучения динамики роста криорезистентных лактобактерий на среде MRS показали, что биомасса активно накапливается в первые 9-12 ч, достигает значений 5,27-6,31 г/100 мл в зависимости от штамма, продолжительность культивирования составляет 22-30 ч, длительность лаг-фазы 2-4 ч. Максимальное количество клеток на конец стационарной фазы составляет $0,8-2,1 \times 10^{10}$. Выявлено, что максимально сбраживают глюкозу *L. casei* 32, *L. fermentum* 13, *L. acidophilum* 9.

Результаты экспериментальных исследований показали, что активность свертывания молока при оптимальной температуре у исследуемых штаммов колеблется в интервале 4-8 ч, за исключением штамма *L. brevis* 3, который свертывает молоко через 14 часов (табл. 1).

По уровню ферментативной активности наиболее перспективны для производства хлебобулочных изделий на основе замороженных полуфабрикатов штаммы криорезистентных молочнокислых бактерий *L. casei* 32 и *L. fermentum* 10, отличающиеся высокой амилолитической и протеолитической активностью, а также штаммы, продуцирующие амилазы – *L. plantarum* 21, *L. plantarum* 24 и протеазы – *L. casei* 1, *L. casei* 16 (табл. 2).

Таблица 1 – Активность штаммов молочнокислых бактерий в молоке

№	Штамм	Активность ферментации, ч	Кислотность			Количество жизнеспособных клеток КОЕ/см ³
			Активная, pH	Титруемая, °Т	Предельная, °Т	
1	<i>L. casei</i> 1	6	4,64±0,05	106±2	154±4	2,2·10 ¹⁰
2	<i>L. casei</i> 7	6	4,63±0,06	108±3	158±3	1,8·10 ¹⁰
3	<i>L. casei</i> 16	7	4,70±0,05	108±3	154±3	1,0·10 ¹⁰
4	<i>L. casei</i> 23	6	4,68±0,05	110±3	158±2	5,3·10 ⁹
5	<i>L. casei</i> 32	4	4,59±0,04	120±4	170±3	3,0·10 ¹⁰
6	<i>L. casei</i> 36	6	4,71±0,05	110±3	156±3	1,8·10 ¹⁰
7	<i>L. fermentum</i> 10	7	4,70±0,05	104±3	142±2	5,4·10 ⁹
8	<i>L. fermentum</i> 12	8	4,76±0,05	106±3	148±3	9,5·10 ⁹
9	<i>L. fermentum</i> 13	6	4,75±0,06	100±3	138±2	3,6·10 ⁹
10	<i>L. plantarum</i> 24	7	4,77±0,06	112±4	154±3	2,4·10 ¹⁰
11	<i>L. plantarum</i> 1	6	4,71±0,06	104±3	176±3	7,7·10 ⁹
12	<i>L. plantarum</i> 21	6	4,70±0,06	102±3	178±4	1,5·10 ⁹
13	<i>L. acidophilum</i> 9	4	4,62±0,05	119±3	210±4	2,1·10 ⁹
14	<i>L. bavaricus</i> 6	6	4,67±0,04	112±3	174±3	1,9·10 ¹⁰
15	<i>L. brevis</i> 3	14	5,00±0,05	76±2	122±2	4,9·10 ⁸

Данные штаммы отличаются низкой липолитической активностью, что позволяет рекомендовать их для производства широкого спектра хлебобулочных изделий, в том числе и сдобных, в рецептурах которых предусмотрено повышенное содержание жиров.

Таблица 2 – Ферментативная активность молочнокислых бактерий

№	Штамм	Протеолитическая активность*, мкг тирозина/мл×мин.	Амилолитическая активность, ед. акт./мл	Липолитическая активность, ед. акт./мл
1	<i>L. casei</i> 1	20,60±0,61	35,86±0,69	5,91±0,23
2	<i>L. casei</i> 7	11,41±0,43	44,65±0,76	2,73±0,15
3	<i>L. casei</i> 16	21,26±0,22	77,81±1,08	0,56±0,10
4	<i>L. casei</i> 23	15,73±0,28	54,40±0,43	14,17±0,41
5	<i>L. casei</i> 32	22,18±0,33	101,17±2,14	0,83±0,19
6	<i>L. casei</i> 36	17,69±0,25	65,24±0,74	3,41±0,24
7	<i>L. fermentum</i> 10	21,90±0,40	110,38±0,98	7,8±0,38
8	<i>L. fermentum</i> 12	14,51±0,29	57,90±0,41	1,47±0,13
9	<i>L. fermentum</i> 13	16,03±0,21	53,10±0,45	4,31±0,27
10	<i>L. plantarum</i> 24	10,24±0,17	96,72±0,83	2,34±0,19
11	<i>L. plantarum</i> 1	8,57±0,23	81,88±0,79	1,89±0,14
12	<i>L. plantarum</i> 21	17,94±0,62	97,77±0,71	5,21±0,35
13	<i>L. acidophilum</i> 9	19,93±0,40	64,92±0,66	0,75±0,11
14	<i>L. bavaricus</i> 6	9,42±0,54	28,09±0,30	1,26±0,16
15	<i>L. brevis</i> 3	11,56±0,42	21,91±0,27	14,74±0,78

*при ферментации казеина

Результаты комплексного изучения функционально-технологических свойств криорезистентных лактобактерий показали, что все исследуемые штаммы могут быть использованы в пищевой промышленности, так как удовлетворяют главным технологическим требованиям к стартовым культурам ферментируемых продуктов питания – высокой кислотообразующей способностью и антагонистической активностью, устойчивостью к широкому спектру антибиотиков, способностью синтезировать протеолитические и амилолитические ферменты и др. Четыре штамма молочнокислых бактерий – *L. bavaricus* 6, *L. casei* 32, *L. plantarum* 21 и

L. plantarum 24 характеризуются как наиболее устойчивые к неблагоприятным факторам среды (низкое значение pH, высокие концентрации желчи, NaCl и фенола), что служит основой для прогнозирования их пробиотических свойств, то есть способности сохранения ферментативной активности при прохождении через желудочно-кишечный тракт и приживаемости в кишечнике; три из которых *L. bavaricus* 6, *L. casei* 32 и *L. plantarum* 24 проявляют наибольшую антибиотикоустойчивость и антагонистическую активность по отношению к патогенным и условно-патогенным микроорганизмам, что подтверждает их лечебно-профилактические свойства и делает перспективным их использование для создания новых продуктов питания с функциональными свойствами.

В результате изучения генопротекторной активности метаболитов криорезистентных лактобактерий были отобраны штаммы *L. casei* 1, *L. casei* 32, *L. fermentum* 10, *L. fermentum* 13, *L. bavaricus* 6 и *L. plantarum* 21, метаболиты которых проявляют максимальное генопротекторное действие (рис. 3). В качестве индикаторных бактерий в работе применяли тест-штаммы *Escherichia coli*, имеющие дефекты по следующим системам репарации: *uvrA*⁻ – с нарушениями в эксцизионной репарации; *polA*⁻ – с нарушениями в репарации ДНК-полимеразы 1; *recA*⁻ – с нарушениями в пострекомбинационной репарации. В качестве тест-объекта с нормальным функционированием всех систем репарации использовали дикий тип *E. coli* – *wp*.

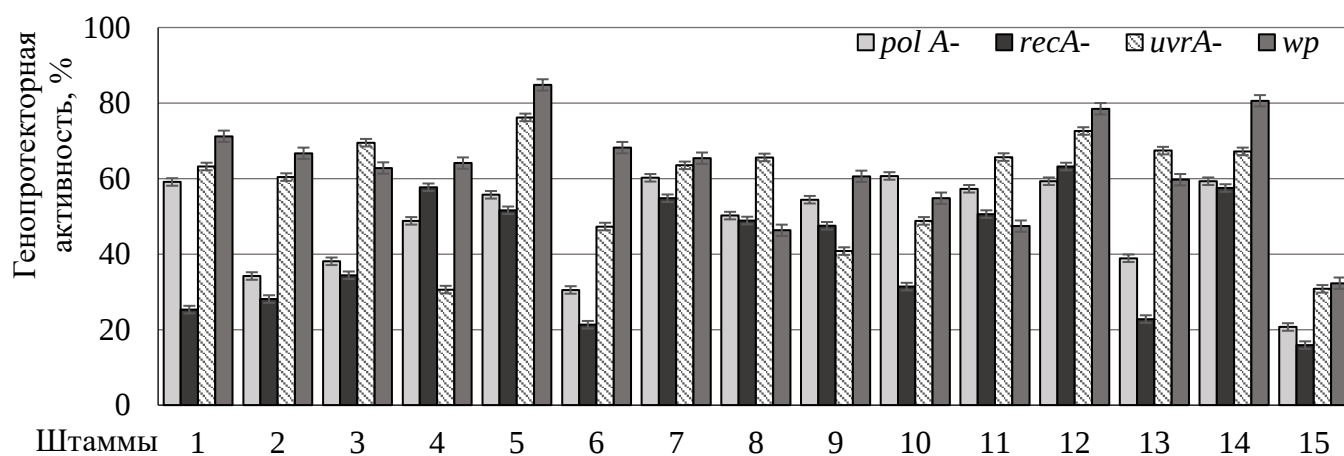


Рисунок 3 – Генопротекторный эффект культуральной жидкости (содержание сухих веществ 30 %) молочнокислых бактерий

Штаммы *L. casei* 1, *L. casei* 32, *L. fermentum* 10, *L. fermentum* 13, *L. bavaricus* 6 и *L. plantarum* 21 демонстрируют генопротекторный (рис. 3) и антимуtagenный эффект (рис. 4) на уровне 60-80 % и 70-82 % соответственно. Антимуtagenная активность других криорезистентных штаммов составляет 35-65 %, за исключением штамма *L. brevis* 3, метаболиты которого, как показали исследования, не проявляют генопротекторную и антимуtagenную активность.

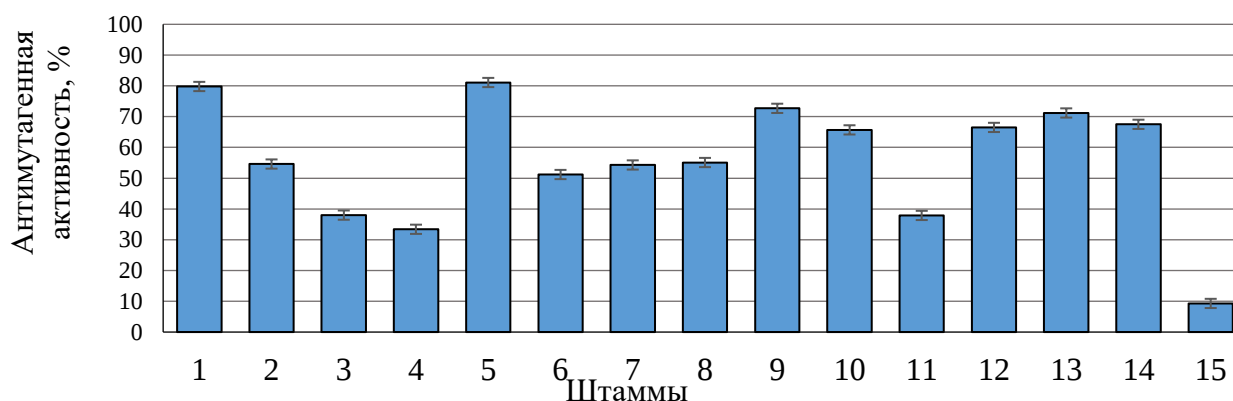


Рисунок 4 – Антимутагенное действие метаболитов штаммов против мутагенеза, индуцируемого нитритом натрия у *Salmonella typhimurium* TA 100

Выявлено, что штаммы *L. casei* 32, *L. fermentum* 10, *L. plantarum* 21, *L. plantarum* 24, *L. acidophilum* 9 и *L. bavaricus* 6 обладают высоким антиоксидантным потенциалом. Антиоксидантные свойства проявляют как клетки, так и метаболиты лактобактерий, о чем свидетельствуют результаты исследования в модельных системах *in vitro* (табл. 3).

Таблица 3 – Антиоксидантная активность молочнокислых бактерий

№ п/п	Штамм	Объект	Анти-радикальная активность, %	Ингибирование окисления липидов, %	Ингибирование деструкции β-каротина, %	Восстанавливающая сила, %	СОД, ед./мг белка
1	<i>L. casei</i> 1	БКЭ	64,3±2,2	50,3±2,4	73,4±3,1	40,8±1,7	0,71±0,12
		КЖ	66,5±2,5	66,5±2,9	78,9±3,6	37,0±1,4	-
2	<i>L. casei</i> 7	БКЭ	34,2±1,3	56,2±2,2	75,4±2,9	29,4±1,2	0,52±0,10
		КЖ	27,9±1,2	65,1±3,1	69,0±2,5	26,5±1,2	-
3	<i>L. casei</i> 16	БКЭ	42,7±1,9	53,0±2,4	69,7±2,8	32,7±1,4	0,82±0,15
		КЖ	39,0±1,4	67,4±3,0	78,5±3,7	34,6±1,5	-
4	<i>L. casei</i> 23	БКЭ	51,5±2,1	60,4±2,8	72,0±3,2	36,7±1,5	1,34±0,24
		КЖ	43,7±1,7	65,5±3,2	76,6±3,5	31,9±1,4	-
5	<i>L. casei</i> 32	БКЭ	84,7±2,5	62,3±2,9	82,1±3,9	57,3±1,8	2,07±0,31
		КЖ	78,2±2,5	75,1±3,4	94,5±4,1	52,1±1,6	-
6	<i>L. casei</i> 36	БКЭ	56,5±1,7	67,8±3,0	69,9±2,8	37,7±1,3	1,63±0,26
		КЖ	52,3±1,6	70,2±3,5	66,5±2,5	34,0±1,2	-
7	<i>L. fermentum</i> 10	БКЭ	60,8±1,9	64,9±3,1	87,4±3,7	40,1±1,5	2,16±0,35
		КЖ	49,2±1,4	78,0±3,7	83,3±3,5	39,2±1,4	-
8	<i>L. fermentum</i> 12	БКЭ	24,9±1,1	61,6±2,9	74,6±3,1	43,6±1,4	0,35±0,19
		КЖ	31,3±1,3	67,9±3,3	76,3±3,2	45,2±1,5	-
9	<i>L. fermentum</i> 13	БКЭ	43,4±1,5	67,4±3,2	70,2±3,0	24,9±0,9	0,96±0,27
		КЖ	39,5±1,5	66,2±3,0	68,4±3,1	26,4±1,2	-
10	<i>L. plantarum</i> 24	БКЭ	60,6±1,8	52,7±2,5	80,3±3,8	44,7±1,6	1,78±0,11
		КЖ	73,2±2,2	74,5±3,6	81,2±3,4	39,0±1,5	-
11	<i>L. plantarum</i> 1	БКЭ	52,0±1,7	53,1±1,2	73,7±3,2	32,2±1,4	0,67±0,18
		КЖ	34,2±1,5	69,0±1,2	79,2±3,5	30,5±1,2	-
12	<i>L. plantarum</i> 21	БКЭ	43,8±1,8	51,8±1,2	85,7±4,0	39,2±1,7	0,54±0,20
		КЖ	56,1±1,6	70,1±1,2	81,1±3,9	36,7±1,6	-
13	<i>L. acidophilum</i> 9	БКЭ	27,6±1,1	59,5±1,2	63,8±3,1	45,3±1,9	1,22±0,32
		КЖ	29,1±1,2	69,7±1,2	64,1±3,2	38,8±1,6	-
14	<i>L. bavaricus</i> 6	БКЭ	74,6±2,3	63,3±1,2	90,2±4,3	60,3±1,8	0,41±0,10
		КЖ	63,1±1,9	79,1±1,2	83,6±4,1	54,9±1,2	-
15	<i>L. brevis</i> 3	БКЭ	12,5±0,8	50,8±1,2	61,4±3,0	25,4±1,2	0,16±0,05
		КЖ	16,2±0,8	66,3±1,2	64,8±3,2	27,0±1,0	-

Примечание: БКЭ-внутриклеточный экстракт, КЖ-культуральная жидкость с содержанием сухих веществ 7 %, СОД-супероксиддисмутаза

Установлено, что наибольшей восстанавливающей силой (свыше 50 %) обладают молочнокислые бактерии *L. casei* 32 и *L. bavaricus* 6. Максимальную антирадикальную активность проявляют внутриклеточные экстракты *L. casei* 32 (84,7 %), *L. bavaricus* 6 (74,6 %) и культуральные жидкости штаммов *L. casei* 32 (78,2 %) и *L. acidophilum* 9 (73,2 %). Результаты исследования общей антиоксидантной активности, определяемой по продуктам окисления, реагирующими с 2-тиобарбитуровой кислотой, показали, что антиоксидантная активность культуральных жидкостей лежит в диапазоне 65-75%, внутриклеточных экстрактов 50-70 %. Максимальную антиоксидантную активность, определяемую по данному методу проявляют культуральные жидкости *L. casei* 32, *L. fermentum* 10, *L. acidophilum* 9 и *L. bavaricus* 6. При исследовании антиоксидантной активности культур молочнокислых бактерий в β -каротин- H_2O_2 – модели показано, что все исследуемые объекты обладают высоким антиоксидантным потенциалом, максимальной способностью тормозить процессы разрушения β -каротина под воздействием перекиси водорода (в пределах 80-95%) проявляют штаммы *L. casei* 32, *L. fermentum* 10, *L. plantarum* 21, *L. plantarum* 24 и *L. bavaricus* 6.

По уровню активности супероксиддисмутазы можно выделить штаммы *L. casei* 32, *L. plantarum* 24 и *L. fermentum* 10, отличающиеся максимальными значениями активности фермента антиоксидантной системы клеток.

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о том, что штаммы *L. casei* 32, *L. plantarum* 24 и *L. fermentum* 10 обладают устойчивостью к различным стрессовым воздействиям – замораживанию, изменению pH среды, наличию в среде желчи, NaCl, фенола, антибиотикам и оксидантному стрессу. Высокая антиоксидантная активность метаболитов и клеток данных штаммов, в частности активность супероксиддисмутазы, вероятно и объясняет их устойчивость к различным стрессовым факторам, в том числе и к низкотемпературной обработке.

Наиболее эффективным и перспективным штаммом в данном отношении является *L. casei* 32, проявляющий высокую антиоксидантную активность. Изучение антиоксидантного потенциала штамма *L. casei* 32 на лабораторных животных – белых крысах породы Вистар показало, что введение в рацион питания экспериментальных животных обезжиренного молока, сквашенного исследуемым штаммом, способствует улучшению показателей периферической крови, достоверному по сравнению с контролем снижению в крови животных уровня холестерина, триглицеридов и липопротеинов низкой плотности на 30,7 % и 24,6 %, на 25,2 % соответственно, увеличению содержания липопротеинов высокой плотности на 46,5 % как на фоне нормального, так и жирового рационов. Выявлено, что добавление в рацион животных молока, сквашенного штаммом *L. casei* 32 позволяет достоверно снизить уровень аланинаминотрансферазы в плазме крови белых крыс на 49,5 % на фоне жировой диеты.

Введение данного штамма *L. casei* 32 в рацион лабораторных животных позволяет нормализовать процессы окисления в клетках печени белых крыс, вызываемые жировой диетой, а также снизить тиобарбитуровые числа липидов в клетках печени и сыворотке крови животных на 25,2 % и 29,8 % соответственно.

Результаты проведенных исследований доказывают положительное влияние *L. casei* 32 на состояние липидного обмена у лабораторных животных как на фоне стандартной, так и жировой диеты, что свидетельствуют об антиоксидантной активности изучаемого штамма и указывает на целесообразность и перспективность его применения для производства продуктов питания повышенной пищевой ценности, а также пробиотических препаратов.

Таким образом, проведенные исследования по направленному отбору криорезистентных штаммов молочнокислых бактерий и оценке их биотехнологического потенциала позволяют рекомендовать штаммы лактобактерий с расширенным спектром функциональных свойств – *L. casei* 32 и *L. plantarum* 24 для дальнейшего применения в пищевой промышленности, данные штаммы могут быть использованы для разработки биологически активных добавок для пищевой, фармацевтической, косметической промышленности и ветеринарии. Геномные последовательности штаммов зарегистрированы в базе данных Genbank.

Глава 4. Разработка способов повышения криорезистентных свойств молочнокислых бактерий

Большой научный и практический интерес представляет поиск специальных веществ – криопротекторов, способных прямо или косвенно защищать клетки микроорганизмов от необратимых повреждений в процессах низкотемпературной обработки и последующей дефростации тестовых полуфабрикатов, что ведет к сохранению их физиологической и биохимической активности в размороженных полуфабрикатах. Изучение влияния процессов замораживания, хранения и последующей дефростации микробных клеток показало, что в период экспоненциального роста молочнокислые бактерии являются крайне чувствительными к таким стрессовым воздействиям.

Впервые показана возможность использования янтарной кислоты и ее солей в качестве криопротекторов в отношении молочнокислых бактерий, применяемых в составе заквасок для криогенной технологии хлеба. Янтарная кислота и ее соли оказывают криопротекторное действие на лактобактерии в диапазоне концентраций в среде $1-11 \times 10^{-3}$ масс. %.

Добавление оптимальных концентраций янтарной кислоты в среду культивирования позволяет увеличить выживаемость клеток после низкотемпературного воздействия в среднем на 15-20 %, использование сукцината калия и сукцината аммония – на 20-25 % и 25-30 % соответственно в зависимости от вида лактобактерий, причем при увеличении продолжительности хранения клеточной суспензии в замороженном виде отмечается более выраженный криопротекторный эффект янтарной кислоты и ее солей.

Интерпретируя полученные результаты исследований необходимо отметить определенную роль янтарной кислоты и ее солей в процессах метаболизма клеток микроорганизмов. Янтарная кислота может обладать криопротекторным действием благодаря химическому взаимодействию ее карбоксильных групп с молекулами воды с образованием водородных связей, в результате чего вода в клетках переводится в связанное состояние, и температура ее замерзания сдвигается в область более низких

значений, благодаря чему снижается губительное действие кристаллов льда на клетки. Предполагается также, что янтарная кислота запускает механизм образования энергии в клетках и восстанавливает их энергетический потенциал, благодаря чему выживаемость клеток микроорганизмов при криоанабиозе увеличивается.

Нами установлено, что включение янтарной кислоты и сукцинатов в состав питательной среды позволяет повысить активность амилолитических ферментов молочнокислых бактерий на 30–45 % при использовании янтарной кислоты и на 15–20 % при использовании сукцинатов, а также интенсифицировать процесс кислотообразования на 10–20 % в зависимости от вида молочнокислых бактерий.

Методом атомно-силовой микроскопии показано положительное влияние криопротектора (янтарной кислоты) на АСМ-характеристики клеток *L.casei* 32 после низкотемпературной обработки (рис. 5). Установлено, что при культивировании лактобактерий в среде с добавлением янтарной кислоты отмечается изменение морфологических параметров клеток: уменьшение их длины на 12 %, увеличение ширины на 10 %, при этом происходит увеличение силы адгезии клеток на 31 %, снижение их деформации на 53%.

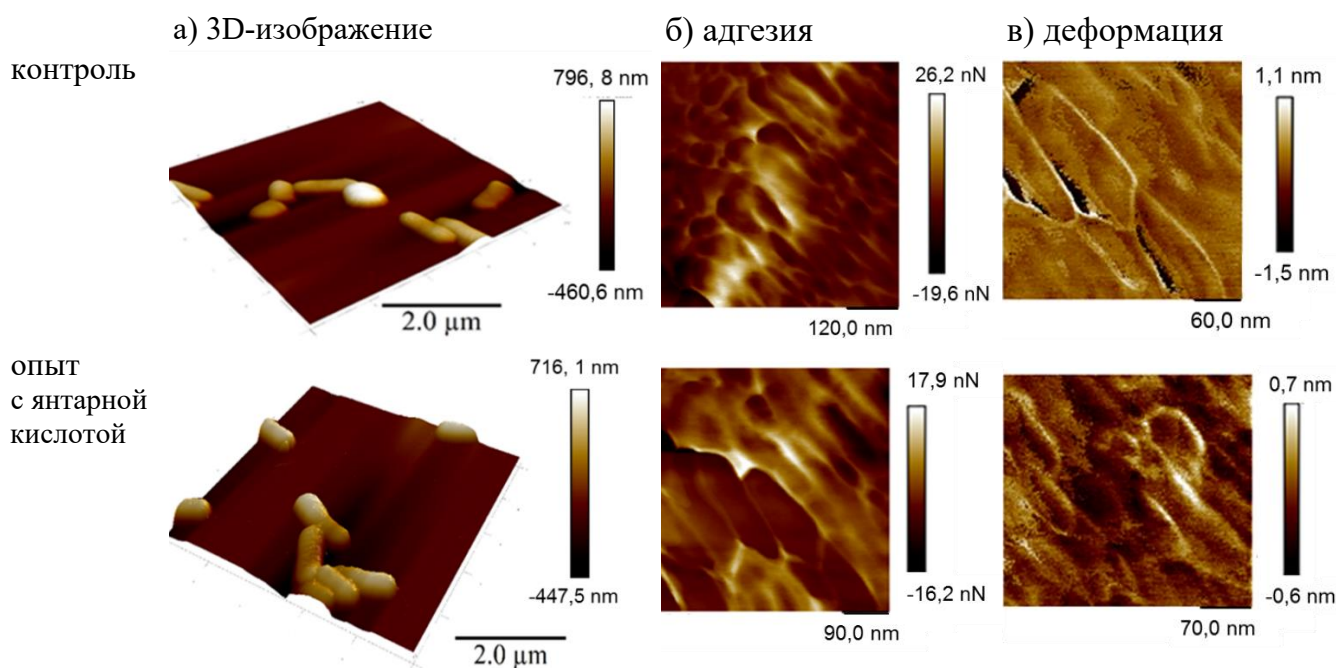


Рисунок 5 – Влияние янтарной кислоты на АСМ-характеристики клеток *L.casei* 32 после низкотемпературной обработки

Выявленное стимулирующее воздействие исследованных добавок на микроорганизмы позволит регулировать интенсивность и направленность микробиологических и биохимических процессов в полуфабрикатах хлебопекарного производства и, в конечном итоге, прогнозировать стабильное качество готовой продукции.

Исследованные добавки можно рекомендовать для использования в качестве компонентов среды культивирования молочнокислых бактерий, применяемых в криогенной технологии хлеба и хлебобулочных изделий.

Проведены исследования по оптимизации состава питательной среды для повышения криорезистентности лактобактерий, спланированные по схеме полного

факторного эксперимента, для выбранного числа уровней составляли матрицу для всех возможных при данном количестве уровней комбинаций факторов.

Получены математические зависимости изменения количества биомассы лактобактерий (Y_1) и процента выживаемости клеток (Y_2) от концентраций компонентов среды (глюкозы (X_1), дрожжевого экстракта (X_2), сукцината аммония (X_3), концентрации ионов Mn^{2+} (X_4) и Mg^{2+} (X_5)):

$$Y_1 = 1,26 + 0,24X_1 + 0,16X_2 + 0,95X_3 - 0,31X_4 + 0,12X_5 + 0,55X_1X_3 - 1,02X_1X_4 - 0,38X_2X_4 + 0,18X_2X_5 - 0,74X_3X_5 - 0,3X_1X_2X_3 + 0,97X_2X_3X_5 + 0,53X_1X_2X_3X_5 \quad (1)$$

$$Y_2 = 46,28 + 4,13X_1 + 6,81X_2 + 4,33X_3 - 1,52X_4 + 0,54X_5 + 6,74X_1X_3 - 1,93X_1X_4 - 1,81X_2X_4 + 2,34X_2X_5 - 1,63X_3X_5 - 1,09X_1X_2X_3 + 0,76X_2X_3X_5 + 1,98X_1X_2X_3X_5 \quad (2)$$

Результаты исследования подтвердили существенное влияние концентраций глюкозы (X_1), дрожжевого экстракта (X_2) и сукцината аммония (X_3) на выживаемость клеток лактобактерий (Y_2) после низкотемпературной обработки.

Поверхности отклика представляют собой трехмерную модель, поэтому для анализа пяти переменных было построено несколько поверхностей отклика, чередуя три параметра, принимаемых за константу (рис. 6). Используя полученные поверхности отклика, были определены оптимальные значения концентраций компонентов питательной среды (г/л): глюкоза – 24, дрожжевой экстракт – 10, сукцинат аммония – 0,06, $MgSO_4$ – 0,1, $MnSO_4$ – 0,075.

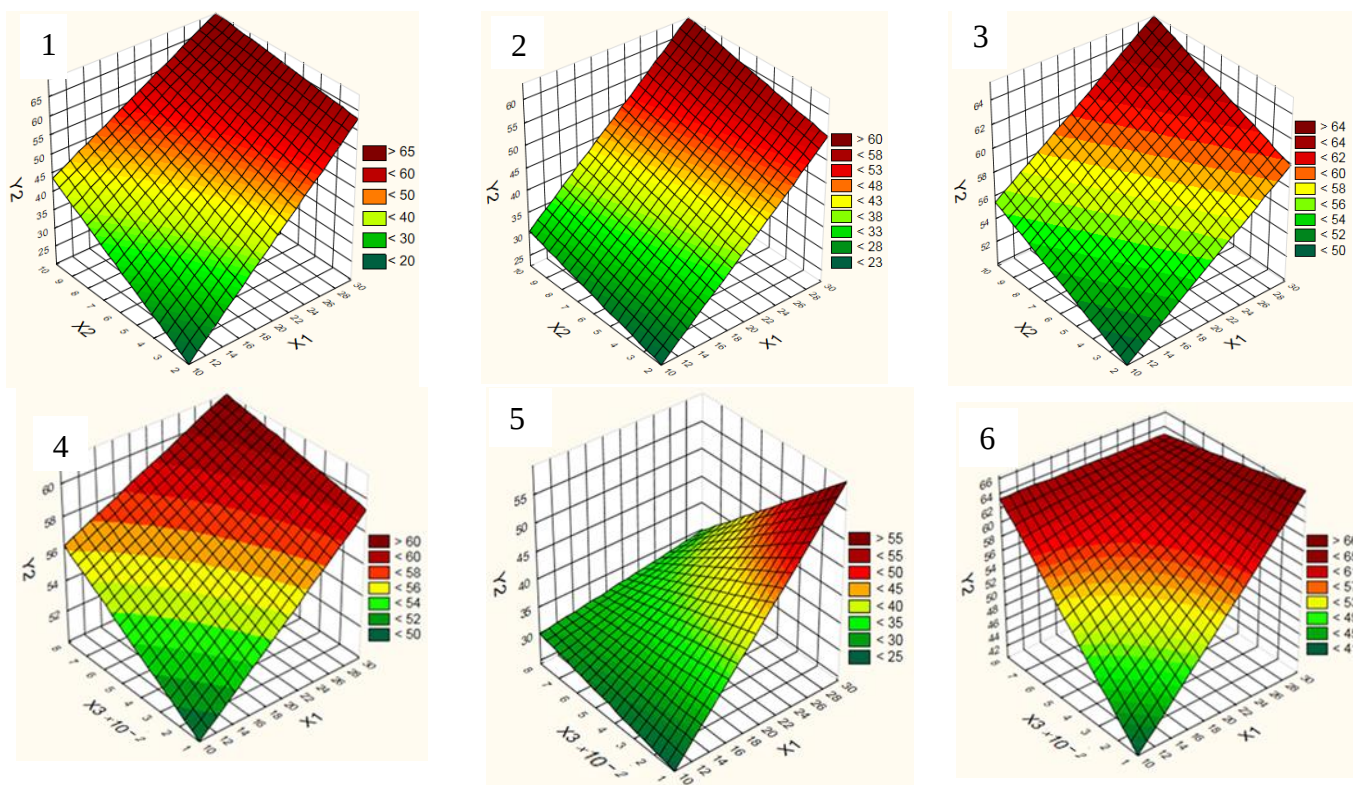


Рисунок 6 – Полученные поверхности отклика

1. X_1, X_2 – переменные, $X_3, X_4, X_5 = \text{const} = 0$
2. X_1, X_2 – переменные, $X_3, X_4, X_5 = \text{const} = -1$
3. X_1, X_2 – переменные, $X_3, X_4, X_5 = \text{const} = 1$

4. X_1, X_3 – переменные, $X_2, X_4, X_5 = \text{const} = 0$
5. X_1, X_3 – переменные, $X_2, X_4, X_5 = \text{const} = -1$
6. X_1, X_3 – переменные, $X_2, X_4, X_5 = \text{const} = 1$

Анализ кинетических показателей роста лактобактерий (табл. 4), а также результаты экспериментальных исследований по изучению влияния длительного низкотемпературного хранения клеточной суспензии в замороженном виде на количество жизнеспособных клеток (рис. 7) подтвердили эффективность разработанной оптимизированной питательной среды, применение которой позволяет в среднем увеличить удельную скорость роста лактобактерий в среднем на 16,3 %, выживаемость клеток в 2,5 раза по сравнению с контрольными значениями.

Таблица 4 – Кинетические параметры роста криорезистентных лактобактерий (логарифмическая фаза)

Штамм	Контрольная среда			Оптимизированная среда		
	Константа скорости деления, ч ⁻¹	Время генерации, ч	Удельная скорость роста, ч ⁻¹	Константа скорости деления, ч ⁻¹	Время генерации, ч	Удельная скорость роста, ч ⁻¹
<i>L. casei</i> 16	1,01±0,14	0,64±0,05	0,28±0,08	1,11±0,12	0,58±0,05	0,33±0,09
<i>L. casei</i> 32	1,09±0,10	0,69±0,05	0,34±0,08	1,17±0,15	0,62±0,05	0,39±0,07
<i>L. bavaricus</i> 6	0,82±0,07	0,91±0,06	0,20±0,05	0,91±0,11	0,95±0,07	0,24±0,06
<i>L. acidophilum</i> 9	1,13±0,12	0,48±0,05	0,39±0,06	1,28±0,14	0,41±0,05	0,46±0,10
<i>L. plantarum</i> 24	1,56±0,16	0,72±0,06	0,25±0,05	1,71±0,21	0,67±0,06	0,29±0,06
<i>L. fermentum</i> 10	1,45±0,10	0,70±0,06	0,31±0,06	1,54±0,15	0,61±0,05	0,36±0,07

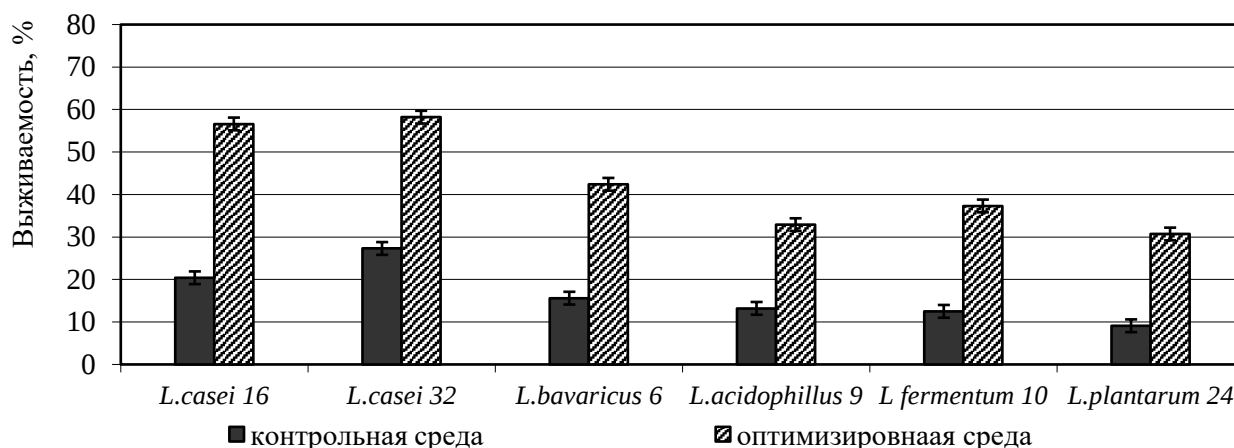


Рисунок 7 – Выживаемость молочнокислых бактерий после длительной низкотемпературной обработки (при температуре -30 °С в течение 4 нед.)

Проведенные исследования по изучению криорезистентных свойств функционально – активных штаммов молочнокислых бактерий и оценки их биотехнологического потенциала позволяют рекомендовать штаммы молочнокислых бактерий с расширенным спектром функциональных свойств – *L. casei* 32 и *L. plantarum* 24 для производства пищевых продуктов, вырабатываемых с применением криогенных технологий.

В результате проведенных исследований предложен способ повышения криорезистентных свойств молочнокислых бактерий на стадии культивирования их перед низкотемпературной обработкой. Разработана нормативно-техническая документация на криорезистентную закваску лактобактерий *L. casei* 32 для пищевой промышленности (ТУ 10.89.19.300–007–02069639–2023). Технологическая схема производства криорезистентной закваски включает в себя такие операции, как

подготовка оптимизированной питательной среды, внесение инокулята и наращивание биомассы, выделение и концентрирование лактобактерий, лиофильное высушивание (замораживание), упаковка и хранение. Органолептические и физико-химические показатели криорезистентной закваски представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Характеристика криорезистентной закваски

Наименование показателя	Характеристика	
	сухая закваска	замороженная закваска
Внешний вид	порошкообразная масса	столбик замороженной суспензии
Вкус и запах	чистый, кисловатый, без посторонних привкусов и запахов	
Цвет	от светло-кремового до светло-коричневого	
Массовая доля влаги, не более	6,0	52
Количество клеток КОЕ/г, не менее	2×10^{12}	1×10^{11}
Предельные значения pH	5,2-5,4	5,4-5,6
Активность ферментации, ч	5-6	6-8

В результате проведенных расчетов установлено, что экономический эффект от реализации 1 кг разработанной криорезистентной закваски составит 2,28 тыс. руб. Реализация предлагаемых технологических решений позволит расширить ассортимент заквасочных культур для пищевых промышленности и решить проблему получения биопрепаратов с криорезистентными свойствами.

Глава 5. Реализация биотехнологического потенциала криорезистентных лактобактерий в производстве ржано-пшеничного хлеба на основе замороженных полуфабрикатов.

Для совершенствования существующих научных разработок в области криотехнологии хлебобулочных изделий необходимы комплексные исследования, направленные на изучение микробиологических, физико-химических и биохимических процессов, происходящих при низкотемпературном воздействии на тестовые полуфабрикаты. Знание о степени влияния процессов замораживания и хранения на биотехнологические процессы в тесте позволит прогнозировать реологические свойства тестовых полуфабрикатов, структурно-механические и органолептические характеристики готовой продукции, а также более обоснованно и грамотно подойти к разработке рецептур и технологических параметров тестоприготовления нового ассортимента хлебобулочных изделий на основе замороженных полуфабрикатов.

В хлебопекарной промышленности для производства хлебобулочных изделий из ржаной муки помимо хлебопекарных дрожжей применяют заквасочные культуры молочнокислых бактерий, обеспечивающих созревание тестовых полуфабрикатов и формирование качества ржанных и ржано-пшеничных сортов хлеба, однако закваски, представленные на рынке, не обеспечивают требуемое качество хлебопекарной продукции, выработанной с применением криотехнологии. Управление ходом микробиологических процессов в тесте, в частности, регулирование жизнедеятельности дрожжей и молочнокислых бактерий, является важным

условием интенсификации процессов приготовления хлеба и улучшения качества готовой продукции.

Анализ литературных источников и собственные результаты исследований показывают, что доминирующими микроорганизмами заквасок и теста из ржаной муки являются молочнокислые бактерии. Установлено, что соотношение молочнокислых бактерий и дрожжей в густой закваске и тесте составляет 78:1 и 60:1, в жидкой – 35:1 и 38:1. В исследуемых образцах обнаружены также пропионовокислые бактерии. Уксуснокислые бактерии обнаружены только в ржаной густой закваске (табл. 6).

Таблица 6 – Состав микрофлоры полуфабрикатов из ржаной муки

Микроорганизмы	Количество, КОЕ/г			
	Жидкая закваска	Тесто на жидкой закваске	Густая закваска	Тесто на густой закваске
Дрожжи	$(25 \pm 4) \times 10^7$	$(29 \pm 6) \times 10^8$	$(56 \pm 6) \times 10^8$	$(94 \pm 6) \times 10^8$
Молочнокислые бактерии	$(87 \pm 9) \times 10^8$	$(109 \pm 7) \times 10^9$	$(44 \pm 3) \times 10^{10}$	$(15 \pm 4) \times 10^{10}$
Пропионовокислые бактерии	$(21 \pm 5) \times 10^2$	804 $\pm$ 12	$(54 \pm 9) \times 10^2$	$(17 \pm 8) \times 10^2$
Уксуснокислые бактерии	не обнаружены	не обнаружены	$(27 \pm 4) \times 10^2$	не обнаружены

Изучение состава молочнокислых бактерий ржано-пшеничных полуфабрикатов показало, что молочнокислые бактерии *p. Lactobacillus* существенно превышают количество клеток молочнокислых бактерий *p. Pediococcus* и *Leuconostoc* (табл. 7), молочнокислые бактерии *p. Streptococcus* в образцах не обнаружены.

Таблица 7 – Молочнокислые бактерии полуфабрикатов ржано-пшеничного хлеба

Род молочнокислых бактерий	Количество, КОЕ/г			
	Жидкая закваска	Тесто на жидкой закваске	Густая закваска	Тесто на густой закваске
<i>Lactobacillus</i>	$(87 \pm 9) \times 10^8$	$(101 \pm 9) \times 10^9$	$(44 \pm 3) \times 10^{10}$	$(14 \pm 8) \times 10^{10}$
<i>Pediococcus</i>	$(43 \pm 6) \times 10^3$	$(31 \pm 6) \times 10^2$	$(36 \pm 10) \times 10^4$	$(12 \pm 4) \times 10^2$
<i>Leuconostoc</i>	$(58 \pm 6) \times 10^5$	$(23 \pm 5) \times 10^5$	$(42 \pm 4) \times 10^6$	$(63 \pm 9) \times 10^5$

Результаты исследований показали, что в тестовых полуфабрикатах из ржаной муки преобладают гомоферментативные виды молочнокислых бактерий *L. plantarum* и *L. delbrückii*, количество которых в 2,5-3 раза выше, чем молочнокислых бактерий, осуществляющих гетероферментативное молочнокислое брожение, таких как *L. brevis*, *L. fermentum*, *L. buchneri* (табл. 8).

Таблица 8 – Количественный и качественный состав молочнокислых бактерий *p. Lactobacillus* в полуфабрикатах

Вид молочнокислых бактерий	Количество, КОЕ/г			
	Жидкая закваска	Тесто на жидкой закваске	Густая закваска	Тесто на густой закваске
<i>L. plantarum</i>	$(37 \pm 6) \times 10^8$	$(39 \pm 5) \times 10^9$	$(231 \pm 3) \times 10^9$	$(74 \pm 7) \times 10^9$
<i>L. delbrückii</i>	$(108 \pm 7) \times 10^7$	$(65 \pm 7) \times 10^8$	$(101 \pm 5) \times 10^9$	$(36 \pm 3) \times 10^9$
<i>L. brevis</i>	$(14 \pm 4) \times 10^7$	$(58 \pm 6) \times 10^8$	$(51 \pm 3) \times 10^9$	$(141 \pm 4) \times 10^8$
<i>L. fermentum</i>	$(36 \pm 5) \times 10^8$	$(44 \pm 8) \times 10^9$	$(56 \pm 6) \times 10^9$	$(133 \pm 5) \times 10^8$
<i>L. buchneri</i>	$(22 \pm 4) \times 10^7$	$(38 \pm 4) \times 10^8$	$(91 \pm 2) \times 10^8$	$(38 \pm 4) \times 10^8$

Низкотемпературная обработка значительно влияет на жизнеспособность клеток *p. Pediococcus* и *p. Leuconostoc* - чем ниже была температура замораживания, тем более чувствительными к ее воздействию оказывались клетки данных родов молочнокислых бактерий – загрязнителей хлебопекарного производства, и, напротив, для *p. Lactobacillus* – чем ниже была температура замораживания среды, тем лучше сохранялась их жизнеспособность (рис. 8).

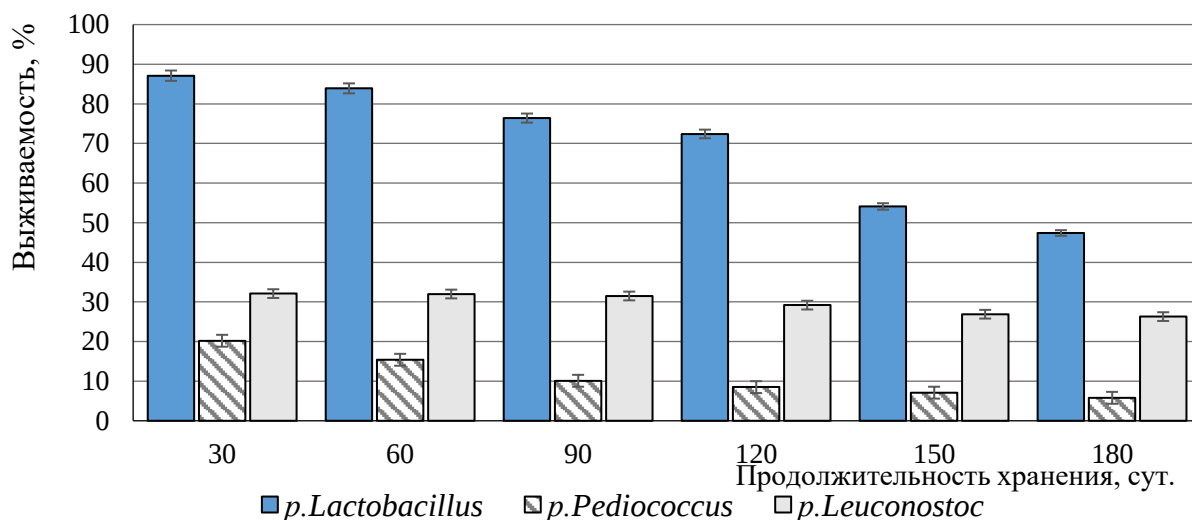


Рисунок 8 – Динамика выживаемости молочнокислых бактерий в тестовых полуфабрикатах

Выявлено, что из молочнокислых бактерий ржано-пшеничного теста наиболее устойчивыми к низкотемпературному воздействию являются представители *p.Lactobacillus*: клетки *L.plantarum* и *L.fermentum* обладают криорезистентными свойствами в отличие от клеток *L.delbruckii*, *L. brevis* и *L. buchneri*.

Установлено, что жизнеспособность дрожжей зависит от температуры замораживания тестовых заготовок и от исходного состояния клеток. Так выживаемость сухих дрожжей при температуре минус 10 °С в среднем составляет 77,3 %, прессованных – 68,5 %, тогда как при температуре минус 30 °С – 86,4 % и 84,3 % соответственно.

Установлено, что клетки дрожжей и молочнокислых бактерий, находящиеся перед замораживанием в лаг-фазе, проявляют большую устойчивость к низкотемпературной обработке по сравнению с клетками, находящимися в фазе активного роста (лог-фаза).

Исследование влияния низкотемпературного воздействия на выживаемость ключевой микрофлоры ржано-пшеничного теста показывает, что в результате длительной низкотемпературной обработки в полуфабрикатах происходит существенное изменение соотношения клеток дрожжей и молочнокислых бактерий (рис. 9): гибель клеток молочнокислых бактерий *p.Lactobacillus* составляет 53 %, дрожжей *p. Saccharomyces* – 41 %. На основании полученных данных установлено, что при разработке криотехнологии хлебобулочных изделий из ржаной и пшеничной муки следует обратить особое внимание на технологические параметры процесса, учитывающие сохранность активности не только клеток дрожжей, но и молочнокислых бактерий.

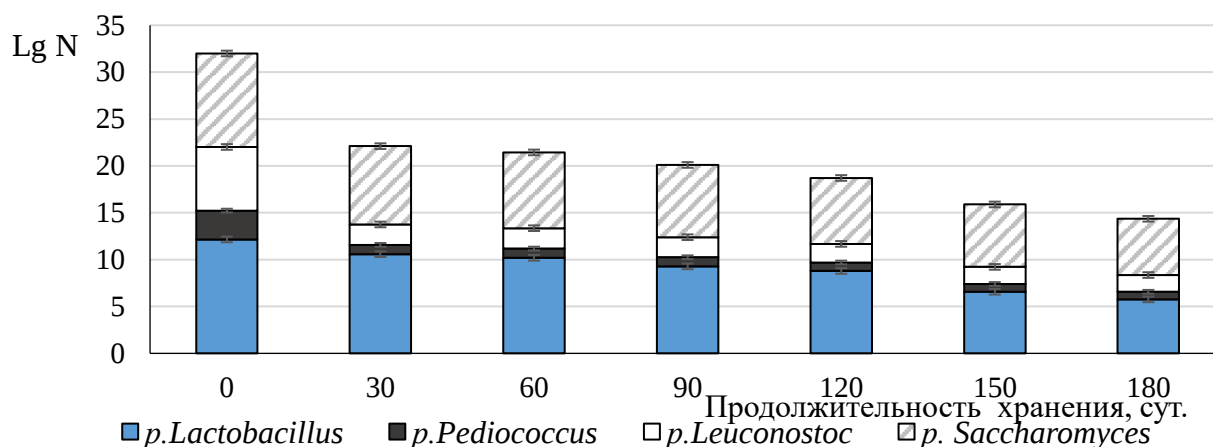


Рисунок 9 – Изменение соотношения микрофлоры тестовых полуфабрикатов при длительном низкотемпературном хранении

Таким образом, длительное низкотемпературное хранение полуфабрикатов хлебопекарного производства приводит к значительному изменению состава их микрофлоры, и, как следствие, к существенным изменениям протекания биотехнологических процессов при их созревании.

Проведены исследования по изучению изменения активности протеолитических и амилолитических ферментов ржаной и пшеничной муки различных сортов в зависимости от pH среды и продолжительности низкотемпературного воздействия. Установлено, что при кратковременной низкотемпературной обработке происходит резкое снижение протеолитической активности в исследуемых образцах вне зависимости от вида и сорта муки. В процессе длительного хранения теста в замороженном виде во всех исследуемых образцах наблюдается незначительное увеличение протеолитической активности (табл. 9).

Таблица 9 – Динамика активности протеолитических ферментов в полуфабрикатах при низкотемпературном хранении

Вид и сорт муки	Протеолитическая активность, ммоль тирозина/ч					
	Продолжительность низкотемпературной обработки					
	0 (контроль)	3 сут.	1 нед.	2 нед.	3 нед.	4 нед.
полуфабрикаты, не подвергавшиеся брожению						
пшеничная в/с	0,37±0,05	0,08±0,02	0,12±0,04	0,16±0,04	0,21±0,05	0,26±0,05
пшеничная 1 с	0,61±0,05	0,29±0,05	0,27±0,06	0,29±0,06	0,34±0,05	0,38±0,05
пшеничная обойная	1,52±0,08	0,55±0,06	0,57±0,06	0,59±0,06	0,75±0,06	0,88±0,06
пшеничная цельнозерновая	1,57±0,08	0,63±0,06	0,54±0,06	0,65±0,06	0,81±0,06	0,93±0,06
ржаная обдирная	1,49±0,05	0,51±0,06	0,48±0,05	0,41±0,06	0,46±0,06	0,48±0,06
ржаная обойная	1,56±0,05	0,34±0,06	0,37±0,05	0,39±0,06	0,43±0,06	0,49±0,06
ржаная цельнозерновая	1,72±0,05	0,47±0,06	0,45±0,06	0,49±0,06	0,54±0,06	0,72±0,06
полуфабрикаты, подвергавшиеся брожению						
пшеничная в/с	0,49±0,06	0,10±0,05	0,14±0,03	0,22±0,05	0,41±0,05	0,41±0,05
пшеничная 1 с	0,82±0,06	0,20±0,05	0,28±0,05	0,30±0,05	0,38±0,05	0,44±0,05
пшеничная обойная	1,77±0,08	0,45±0,06	0,57±0,06	0,69±0,06	0,82±0,08	0,83±0,08
пшеничная цельнозерновая	1,78±0,08	0,36±0,05	0,64±0,05	0,74±0,06	0,90±0,08	0,96±0,08
ржаная обдирная	1,59±0,08	0,33±0,05	0,35±0,05	0,44±0,05	0,53±0,05	0,54±0,05
ржаная обойная	1,83±0,08	0,41±0,05	0,48±0,06	0,51±0,05	0,58±0,05	0,64±0,06
ржаная цельнозерновая	1,92±0,08	0,43±0,06	0,47±0,05	0,56±0,06	0,59±0,06	0,61±0,06

Установлено, что при низкотемпературном хранении наблюдается тенденция к понижению активности кислых протеаз в среднем на 10 %. Активность слабокислых и слабощелочных протеаз под действием отрицательных температур при хранении зависит от вида исследуемой муки. По мере увеличения продолжительности низкотемпературного воздействия протеолитическая активность пшеничной муки при pH 5,5 снижается в среднем на 20 %, тогда как ржаной, напротив, увеличивается на 12 %. Под влиянием процессов замораживания и хранения происходит прирост активности слабощелочных протеаз всех исследуемых видов и сортов муки в среднем на 15,9 %.

Результаты исследования влияния низкотемпературной обработки на активность амилолитических ферментов муки показывают, что активность амилаз снижается на протяжении всего периода воздействия независимо от вида и сорта муки: так, активность α -амилазы уменьшается в среднем на 60,6 % и 32,4 %, β -амилазы – на 26,7 % и 52,1 % для пшеничной муки и ржаной муки соответственно.

Установлено, что наибольшее снижение суммарной активности происходит в образцах теста как из пшеничной, так и из ржаной муки, прошедших стадию брожения. Так, в полуфабрикатах из пшеничной и ржаной муки, подвергавшихся брожению после 4 недельного хранения при температуре минус 25-30 °С амилолитическая активность снижается на 38,7 % и 22,5 % соответственно, тогда как в тестовых полуфабрикатах, не подвергавшихся брожению данные значения в среднем на 10-15 % выше (табл. 10).

Таблица 10 – Изменение активности амилолитических ферментов в тесте при низкотемпературном хранении

Вид и сорт муки	Амилолитическая активность, ед. акт./г					
	Продолжительность низкотемпературной обработки					
	0 (контроль)	3 сут.	1 нед.	2 нед.	3 нед.	4 нед.
полуфабрикаты, не подвергавшиеся брожению						
пшеничная в/с	36,06±1,26	42,11±1,20	45,45±1,17	38,27±1,12	31,74±1,29	29,95±1,37
пшеничная 1 с	44,73±1,42	46,24±1,53	40,74±1,44	38,15±1,08	34,53±1,34	32,47±1,51
пшеничная обойная	46,47±1,36	50,66±1,48	51,07±1,60	47,35±1,59	40,37±1,41	35,34±1,21
пшеничная цельнозерновая	47,08±1,61	52,18±1,66	53,42±1,53	49,03±1,44	43,02±1,30	38,06±1,42
ржаная обдирная	67,41±1,06	69,72±1,20	71,20±1,48	64,17±1,26	47,92±1,26	41,13±1,26
ржаная обойная	72,39±1,13	74,52±1,56	75,92±1,23	70,12±1,83	52,91±1,45	44,18±1,40
ржаная цельнозерновая	78,20±1,77	80,65±2,01	75,1±1,25	61,33±1,72	53,36±1,34	48,23±1,46
полуфабрикаты, подвергавшиеся брожению						
пшеничная в/с	44,32±1,33	44,71±1,38	40,51±1,16	30,10±1,14	27,65±1,32	22,12±1,09
пшеничная 1 с	50,34±1,47	49,84±1,41	46,70±1,22	36,23±1,35	30,70±1,44	25,93±1,37
пшеничная обойная	54,30±1,54	55,81±1,62	51,78±1,45	45,32±1,40	36,91±1,28	31,83±1,49
пшеничная цельнозерновая	58,21±1,48	58,90±1,49	60,31±1,62	49,11±1,34	37,44±1,17	33,60±1,34
ржаная обдирная	82,37±1,75	80,95±2,18	73,42±1,55	61,73±1,72	50,15±1,43	46,72±1,46
ржаная обойная	93,67±2,12	89,82±2,37	80,67±1,96	56,72±1,51	47,37±1,45	45,34±1,33
ржаная цельнозерновая	98,60±2,41	90,14±2,56	73,22±1,73	68,13±1,99	52,93±1,56	47,32±1,52

Таким образом, полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что помимо существенных изменений в качественном составе и количественном соотношении ключевых микроорганизмов тестовых полуфабрикатов – дрожжей и молочнокислых бактерий под влиянием криообработки происходит также значительное снижение активности основных ферментов муки – протеаз и амилаз.

На данном этапе работы проведены комплексные исследования, направленные на разработку эффективных способов стабилизации качества замороженных ржано-пшеничных полуфабрикатов, основанные на изучении микробиологических, физико-химических и биохимических процессов, происходящих при низкотемпературном воздействии на тестовые полуфабрикаты.

Проведены исследования по определению оптимальных технологических параметров тестоприготовления, замораживания, хранения и дефростации ржано-пшеничных полуфабрикатов, использование которых позволяет сохранить высокую бродильную активность микрофлоры и повысить качественные характеристики ржано-пшеничного хлеба.

Установлена взаимосвязь между температурными режимами замораживания, хранения, размораживания и количеством жизнеспособных клеток молочнокислых бактерий и дрожжей ржано-пшеничного теста.

Установлены оптимальные параметры процесса «замораживание-дефростация» при производстве ржано-пшеничного хлеба с использованием замороженных полуфабрикатов:

- 1) время брожения полуфабрикатов перед замораживанием должно быть минимальным, поэтому при замесе следует использовать охлажденную воду до $2-5^{\circ}\text{C}$; после замеса формировать, упаковывать и немедленно замораживать заготовки;
- 2) замораживание полуфабрикатов необходимо производить при температуре минус $30-32^{\circ}\text{C}$ в течение 1,5-2 ч с последующим хранением при температуре минус $18-20^{\circ}\text{C}$;
- 3) дефростацию тестовых заготовок целесообразно вести при $40-45^{\circ}\text{C}$ до достижения температуры в центре тестовой заготовки $18-20^{\circ}\text{C}$.

Регулирование технологического процесса производства ржано-пшеничного хлеба на основе замороженных полуфабрикатов можно обеспечить путем применения заквасок молочнокислых бактерий с криорезистентными свойствами, что позволит обеспечить приготовление полуфабрикатов высокого качества в наиболее короткий период времени; создать оптимальные условия жизнедеятельности дрожжей и молочнокислых бактерий в тестовой среде с целью достижения наилучшего качества готовых изделий; получать продукты разнообразного вкуса, используя специфические свойства отдельных штаммов молочнокислых бактерий, в частности, их способность к кислотообразованию, а также увеличить продолжительность хранения теста в замороженном виде.

В исследованиях использовали пять видов сухих заквасок (табл. 11), содержащих лиофилизированные клетки молочнокислых бактерий.

Таблица 11 – Закваски молочнокислых бактерий

Обозначение	Состав заквасок	Источник
Закваска 1	<i>Lactobacillus casei</i> TMB-D	МГУПП, каф. ЗХКТ
Закваска 2	<i>Lactobacillus casei</i> TMB-D; <i>Streptococcus faecium</i> M	МГУПП, каф. ЗХКТ
Закваска 3	<i>Lactobacillus acidophilus</i> var. <i>Coccoileus</i> M; <i>Lactobacillus brevis</i>	МГУПП, каф. ЗХКТ
Закваска 4	<i>L. casei</i> 32	КНИТУ, каф. ТПП
Закваска 5	<i>L. plantarum</i> 24	КНИТУ, каф. ТПП

Подбор заквасок для криотехнологий хлебопечения производили по двум критериям: 1) высокая выживаемость клеток молочнокислых бактерий после низкотемпературного хранения тестовых полуфабрикатов; 2) благоприятное воздействие на процесс брожения дефростированных полуфабрикатов и качественные характеристики готовой продукции.

Результаты исследований показали (рис. 10), что выживаемость молочнокислых бактерий всех исследуемых заквасок после суточного хранения тестовых полуфабрикатов превышает 90 %, тогда как через 120 суток процент жизнеспособных клеток у заквасок 1, 3 и 4 составляет 70,5-74,7 %, у заквасок 2 и 5 снижается до значений 64,5 % и 62,3 % соответственно; максимальную криорезистентность в тестовой среде демонстрируют штаммы *L. casei* TMB-D и *L. casei* 32 (закваски 1 и 4).

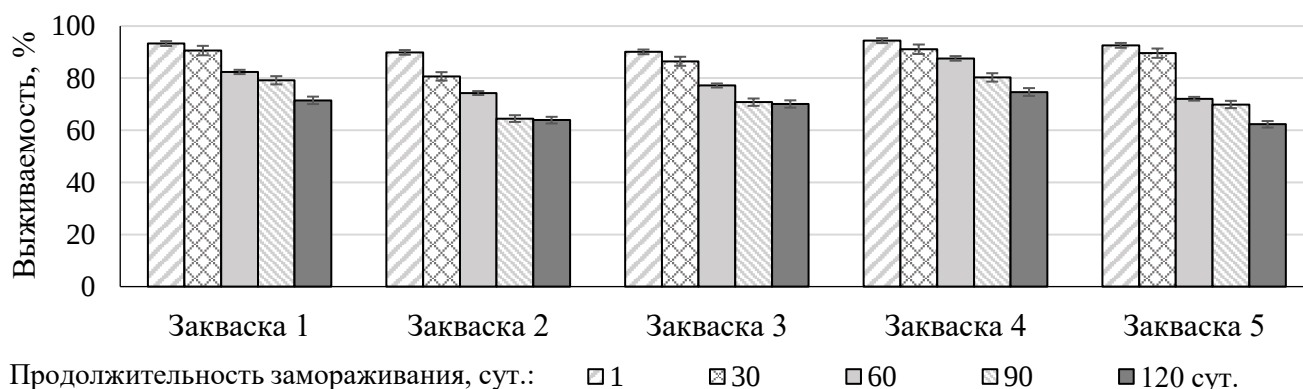


Рисунок 10 – Выживаемость молочнокислых бактерий в тестовых полуфабрикатах при использовании заквасок

Анализ данных, представленных на рисунке 11, свидетельствует о том, что закваски молочнокислых бактерий позволяют интенсифицировать процессы газообразования в ржано-пшеничном тесте. Установлено, что применение заквасок позволяет увеличить газообразующую способность дефростированного теста от 10,2 до 52,6 % по сравнению с контролем (без применения заквасок) в зависимости от их состава; максимальной газообразующей способностью отличаются полуфабрикаты с закваской 1.

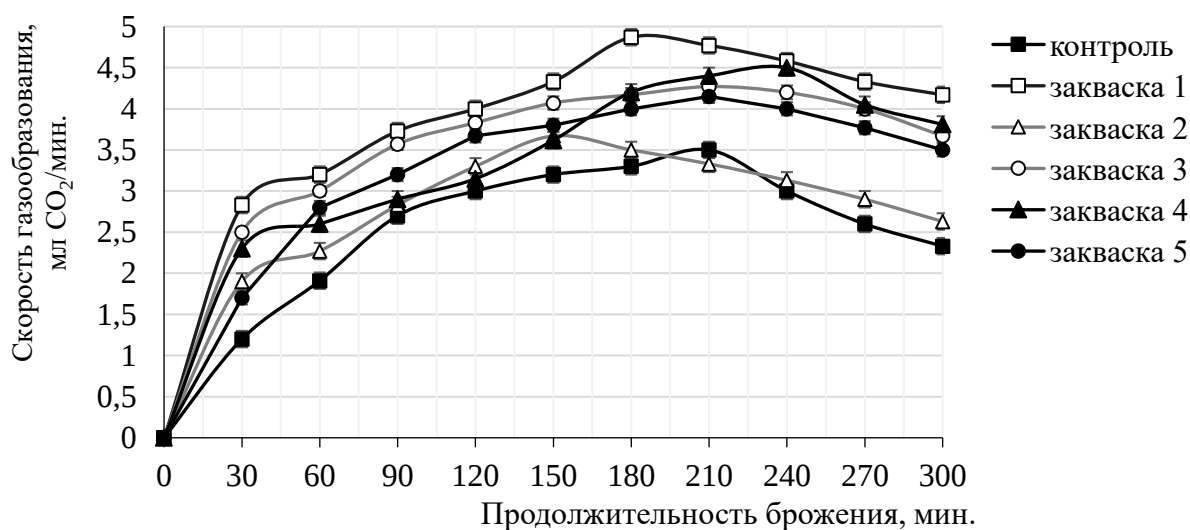


Рисунок 11 – Влияние заквасок на скорость газообразования дефростированных ржано-пшеничных полуфабрикатов

Методом электронной микроскопии выявлено, что при использовании заквасок в ржано-пшеничных полуфабрикатах отмечается большее количество воздушных полостей, тесто отличается меньшими размерами крахмальных зерен и наличием следов воздействия амилолитических ферментов (рис. 12).

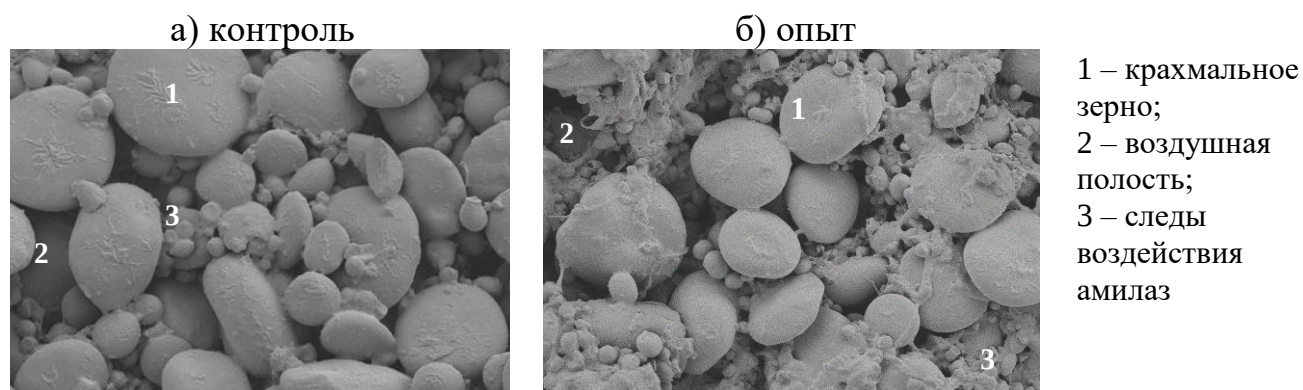


Рисунок 12 – Микроструктура ржано-пшеничного теста

Внесение в рецептуру замороженных полуфабрикатов сухих заквасок молочнокислых бактерий с криорезистентными свойствами позволяет повысить пористость готовых изделий до 61,5 %, удельный объем до 204,2 см³/100 г (табл. 12), улучшить структурно-механические характеристики мякиша ржано-пшеничного хлеба, выработанного с применением криотехнологии.

Таблица 12 – Влияние сухих заквасок молочнокислых бактерий на показатели качества ржано-пшеничного хлеба на основе замороженных полуфабрикатов

Образцы	Кислотность, град.	Влажность, %	Пористость, %	Удельный объем, см ³ /100 г	Крошковатость	Удельная набухаемость, см ³
Контроль	7,2±0,1	47,4±0,1	57,9±0,2	187,4±1,8	1,0±0,1	246±2
Закваска 1	7,9±0,1	47,6±0,1	61,5±0,2	204,2±2,6	0,7±0,1	230±2
Закваска 2	7,6±0,1	47,4±0,1	56,5±0,2	180,3±2,3	0,8±0,1	238±1
Закваска 3	7,6±0,1	47,8±0,1	57,9±0,2	198,1±2,1	0,8±0,1	234±1
Закваска 4	7,8±0,1	47,6±0,1	60,6±0,2	201,8±2,9	0,6±0,1	232±1
Закваска 5	7,8±0,1	47,6±0,1	59,8±0,2	197,2±2,6	0,7±0,1	238±1

Методом электронной сканирующей микроскопии показано, что образцы хлеба, приготовленные с применением сухой закваски, отличаются губчатой структурой и имеют более крупные поры по сравнению с контролем (рис. 13).

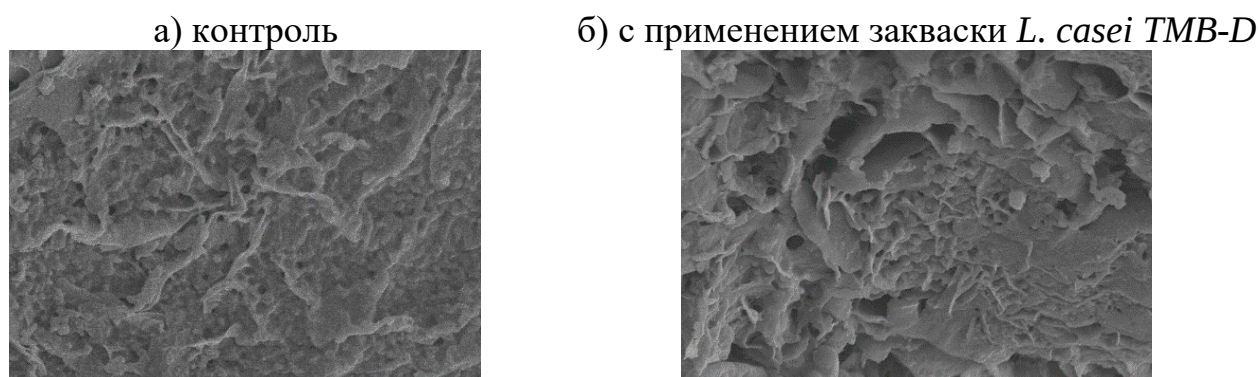


Рисунок 13 – Микроструктура хлебного мякиша, приготовленного по криотехнологии

Обоснована целесообразность использования криорезистентных штаммов молочнокислых бактерий, в частности, *L. casei* ТМВ-D, *L. casei* 32, в составе сухой закваски в криотехнологии ржано-пшеничного хлеба для интенсификации процессов брожения полуфабрикатов и улучшения качества готовых изделий.

Получены математические зависимости изменения пористости и удельного объема ржано-пшеничного хлеба от количества сухой закваски лактобактерий (от 0,05 до 1,15 %), дозировки прессованных дрожжей (от 0,5 % до 1,5 %), янтарной кислоты (от 0,05 % до 0,15 %); сукцинатов калия и аммония (от 0,1 % до 0,3 %), сухого молока и сухой молочной сыворотки (от 1% до 6 %), пшеничного солода (от 1% до 6 %), набухающего модифицированного крахмала (от 1 % до 3 %) и ферментной композиции (от 0,003 % до 0,010 %). В результате анализа полученных зависимостей определены оптимальные концентрации компонентов: сухой закваски молочнокислых бактерий 0,1-0,12 %, прессованных дрожжей – 0,7-1,0 %, сухого молока – 4 %, сухой молочной сыворотки – 3,4%, набухающего кукурузного крахмала – 1,3 %, янтарной кислоты – 0,08 %, сукцината калия – 0,17 % и сукцината аммония – 0,15 %, ферментной композиции (в составе ферментной композиции Пентопан 500 BG, Новамил 1500 MG и Нейтраза 1,5 MG в соотношении 6:2,5:1) – 0,0085 %, пшеничного солода – 4,2 % к массе муки.

Установлено, что сухие молочные продукты, модифицированные крахмалы, янтарная кислота и ее соли проявляют криопротекторный эффект и повышают выживаемость клеток дрожжей и молочнокислых бактерий в ржано-пшеничном тесте после низкотемпературного хранения.

Формализация исследуемых параметров и режимов получения замороженных полуфабрикатов, их математическая обработка позволила выбрать рациональные условия производства и прогнозировать качество хлебобулочных изделий с применением криотехнологии.

Разработана криотехнология производства ржано-пшеничного хлеба на основе использования сухих заквасок молочнокислых бактерий с различными добавками (рис. 14), позволяющая интенсифицировать процесс брожения теста, стабилизировать криорезистентные свойства ржано-пшеничных полуфабрикатов, увеличить продолжительность хранения полуфабрикатов, а также улучшить качественные характеристики готовых изделий.

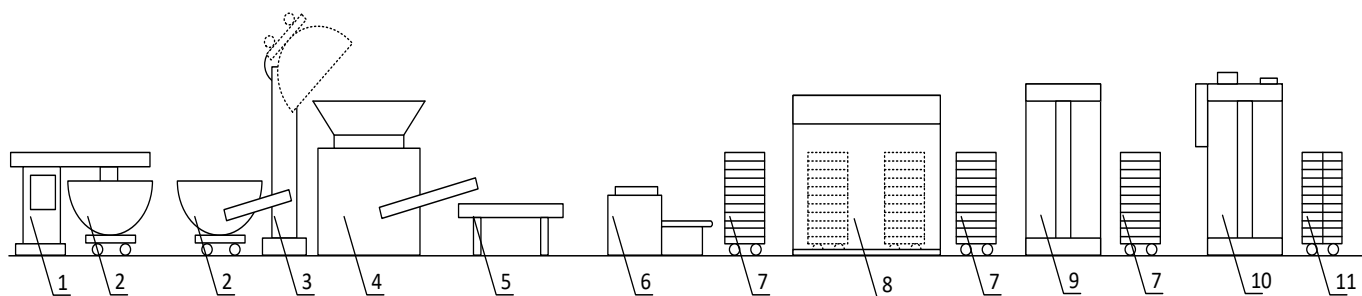


Рисунок 14 – Аппаратурно-технологическая схема производства ржано-пшеничных сортов хлеба на основе замороженных полуфабрикатов:

- 1 – тестомесильная машина; 2 – дежа; 3 – дежеподъемоопрокидыватель; 4 – тестоделительная машина; 5 – стол; 6 – упаковочная машина; 7 – вагонетка; 8 – шкаф шоковой заморозки; 9 – расстоечный шкаф; 10 – хлебопекарная печь; 11 – контейнер

Разработана нормативно-техническая документация на полуфабрикаты и новый ассортимент ржано-пшеничного хлеба на основе замороженных полуфабрикатов с применением разработанных криорезистентных заквасок лактобактерий: хлеб «Морозко» с сухими молочными продуктами (ТУ 001–13981212–2004), «Морозко новый» с набухающим кукурузным крахмалом (ТУ 10.72.19–011–2003968806–2022), «Элита» с ферментной композицией (ТУ 10.72.19–016–2003968806–2022), «Злата» с солодовыми препаратами (ТУ 10.72.19–017–2003968806–2022), «Янтарный» с янтарной кислотой или ее солями (ТУ 10.72.19–014–2003968806–2022), а также на новые виды зернового хлеба на основе ферментированной зерновой массы: хлеб «Биозлак» (ТУ 10.71.11–009–2005989134–2021), «Биозлаковый» (ТУ 10.71.11–002–2005989134–2022) и «Янтарь» (ТУ 10.72.19–004–2005989134–2022). Установлено, что экономический эффект от реализации 1 т разработанных видов замороженных полуфабрикатов ржано-пшеничного хлеба составит от 3,77 до 5,40 тыс. руб.

Разработанные технологические решения позволяют увеличить продолжительность хранения тестовых полуфабрикатов в замороженном виде до 5 мес., получить хлебопекарную продукцию с высокими потребительскими характеристиками, а также расширить ассортимент хлебобулочных изделий, приготовленных с применением криотехнологии, увеличить конкурентоспособность продукции.

Глава 6. Научно-практические основы биотехнологии цельнозернового хлеба.

Теоретически и экспериментально обосновано внедрение стадии молочнокислой ферментации диспергированной зерновой массы из пшеницы в технологии зернового хлеба, что позволяет обогатить изделия антиоксидантами, улучшить свойства полуфабрикатов и качество готовой продукции. Данное решение позволяет решить одну из основных проблем при производстве зернового хлеба – нестабильность качества полуфабрикатов и готовой продукции, вследствие повышенной активности ферментных систем диспергированной зерновой массы.

В ходе исследований установлено, что диспергированная зерновая масса является хорошей питательной средой для роста и развития молочнокислых бактерий: при её ферментации отмечается резкое снижение pH среды до значений 4–4,2, увеличение содержания молочной кислоты до 0,33–0,36 г/100 г, увеличение количества жизнеспособных клеток до 5×10^{11} КОЕ/г. Результаты проведенных экспериментальных исследований показали, что использование зерновой массы, ферментированной молочнокислыми бактериями *L. casei* 32, позволяет интенсифицировать процессы созревания полуфабрикатов, сократить продолжительность брожения теста на 40–60 мин., снизить амилолитическую и протеолитическую активность зерновой массы в среднем на 25 % и 50 % соответственно по сравнению с образцами, выработанными по традиционной технологии, что позволяет улучшить реологические свойства теста.

Основные функционально-технологические характеристики ферментированной молочнокислыми бактериями зерновой массы представлены в таблице 13.

Установлены сроки хранения ферментированной зерновой массы при холодильном хранении (температура ± 2 °C) и низкотемпературном хранении (температура минус 18–20 °C), которые составляют 5 сут. и 90 сут. соответственно.

Таблица 13 – Функционально-технологические свойства ферментированной молочнокислыми бактериями зерновой массы

Функционально-технологические свойства	Контроль	Закваска 1	Закваска 2	Закваска 3	Закваска 4	Закваска 5
Активная кислотность, pH	5,5±0,1	4,2±0,1	4,6±0,1	4,6±0,1	4,0±0,1	4,4±0,1
Титруемая кислотность, град.	2,5±0,1	4,0±0,1	3,2±0,1	3,0±0,1	4,4±0,1	3,6±0,1
Предельная кислотность, град.	4,2±0,1	8,8±0,2	7,0±0,2	7,2±0,2	7,6±0,2	6,8±0,2
Количество молочнокислых бактерий, КОЕ/г	9,5·10 ⁶	1,2·10 ¹¹	8,6·10 ¹⁰	6,4·10 ¹⁰	5,3·10 ¹¹	2,4·10 ¹⁰
Амилолитическая активность, ед.акт./г	0,068	0,044	0,049	0,053	0,038	0,050
Протеолитическая активность, ед.акт./г	0,207	0,109	0,167	0,155	0,096	0,121

Выявлено, что внедрение стадии ферментации молочнокислыми заквасками диспергированной зерновой массы при производстве хлеба из целого зерна пшеницы позволяет улучшить органолептические, физико-химические и структурно-механические характеристики зернового хлеба, увеличить количество органических кислот и ароматических соединений в готовых изделиях, а также повысить микробиологическую чистоту изделий, содержание связанной влаги, что приводит к увеличению срока сохранения свежести хлеба. На основе ферментированной лактобактериями *L. casei* 32 зерновой массы разработана технология зернового хлеба «Биозлак» (ТУ 10.71.11–009–2005989134–2021).

В результате проведенных исследований установлено, что применение ферментированной молочнокислыми заквасками зерновой массы позволяет увеличить антиоксидантную емкость хлебопекарной продукции и оказывает положительное влияние на перевариваемость зернового хлеба. Новые виды зернового хлеба относятся к пищевым продуктам с низким гликемическим индексом и могут быть рекомендованы для включения в рацион питания людей с целью профилактики сахарного диабета.

Нами установлено, что при низкотемпературной обработке тестовых полуфабрикатов снижаются потребительские свойства зернового хлеба – ухудшаются структурно-механические свойства мякиша и физико-химические показатели качества изделий (пористость, удельный объем, крошковатость и удельная набухаемость мякиша), снижается интенсивность аромата, содержание связанной влаги. Применение ферментированной криорезистентными лактобактериями *L. casei* 32 зерновой массы при замесе теста с последующим его замораживанием позволяет повысить качество зернового хлеба на основе замороженных полуфабрикатов, увеличить сроки хранения теста в замороженном виде до 3 мес. Применение предлагаемого способа приготовления зернового хлеба позволит, при необходимости, на предприятии быстро прекратить и возобновить работу, сократить продолжительность процесса приготовления зернового хлеба, а также произвести выпечку продукции в необходимых объемах на предприятиях малой мощности, пекарнях, в секторе розничной торговли, предприятиях сегмента HoReCa.

На основе ферментированной зерновой массы лактобактериями *L. casei* 32 разработана криотехнология зернового хлеба «Биозлаковый» (ТУ 10.71.11–002–2005989134–2022).

Обосновано применение янтарной кислоты и ее солей – сукцинатов калия и аммония в качестве добавок, позволяющих интенсифицировать процесс брожения дефростированных полуфабрикатов, увеличить количество жизнеспособных клеток молочнокислых бактерий и дрожжей, что приводит к стабилизации биотехнологических свойств полуфабрикатов зернового хлеба, подвергающихся низкотемпературной обработке, и обеспечению высоких потребительских характеристик готовой продукции.

Получены математические зависимости изменения пористости и удельного объема зернового хлеба от количества ферментированной зерновой массы закваской *L. casei* 32 (от 35 до 55 %), дозировки прессованных дрожжей (от 2,0 % до 3,0 %), янтарной кислоты (от 0,05 % до 0,15 %); сукцинатов калия и аммония (от 0,1 % до 0,3 %) которые позволяют прогнозировать качество зернового хлеба на основе замороженных полуфабрикатов. В результате анализа полученных зависимостей были определены оптимальные дозировки компонентов: янтарной кислоты – 0,07 %, сукцината калия – 0,22 %, сукцината аммония – 0,25 %, прессованных дрожжей – 2,4% и ферментированной зерновой массы – 45 % к массе зерна.

На рисунке 15 представлена микроструктура мякиша зернового хлеба, выработанного с применением криотехнологии (продолжительность хранения теста в замороженном виде 90 сут.). Методом электронной сканирующей микроскопии показано, что опытные образцы изделий имеют более организованную гелеобразную и хорошо разрыхлённую структуру по сравнению с контрольными.

Применение ферментированной зерновой массы совместно с янтарной кислотой или сукцинатами позволяет снизить негативное влияние низкотемпературной обработки на свойства дефростированных полуфабрикатов, возникающее в результате длительного хранения теста в замороженном виде, сократить продолжительность брожения теста в среднем на 40 мин., улучшить качественные характеристики зернового хлеба.

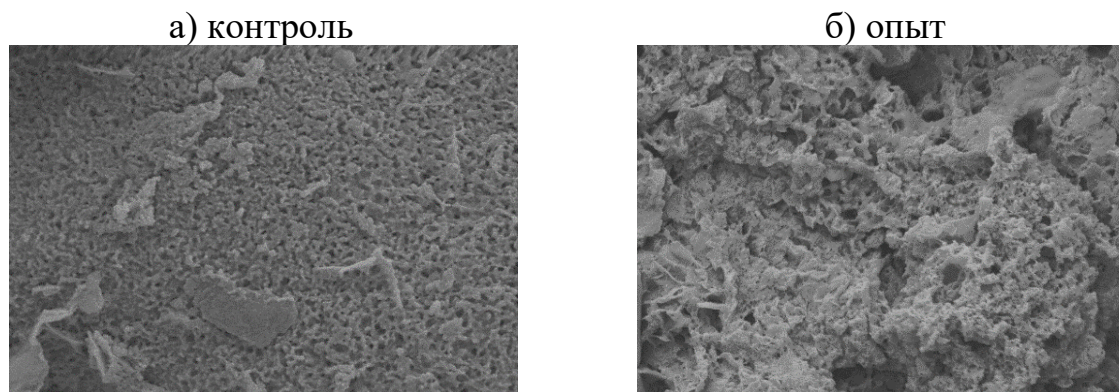


Рисунок 15 – Микроструктура мякиша зернового хлеба, приготовленного на основе криотехнологии а) контроль, б) с применением закваски и янтарной кислоты

Разработана технология приготовления зернового хлеба «Янтарь» на основе замороженных полуфабрикатов с применением ферментированной зерновой массы и янтарной кислоты или ее солей (ТУ 10.72.19–004– 2005989134–2022).

Разработанные технологические решения (рис. 16) позволяют увеличить продолжительность хранения тестовых полуфабрикатов в замороженном виде с 3 мес. до 5 мес. и получить продукцию для здорового питания с улучшенными потребительскими характеристиками.

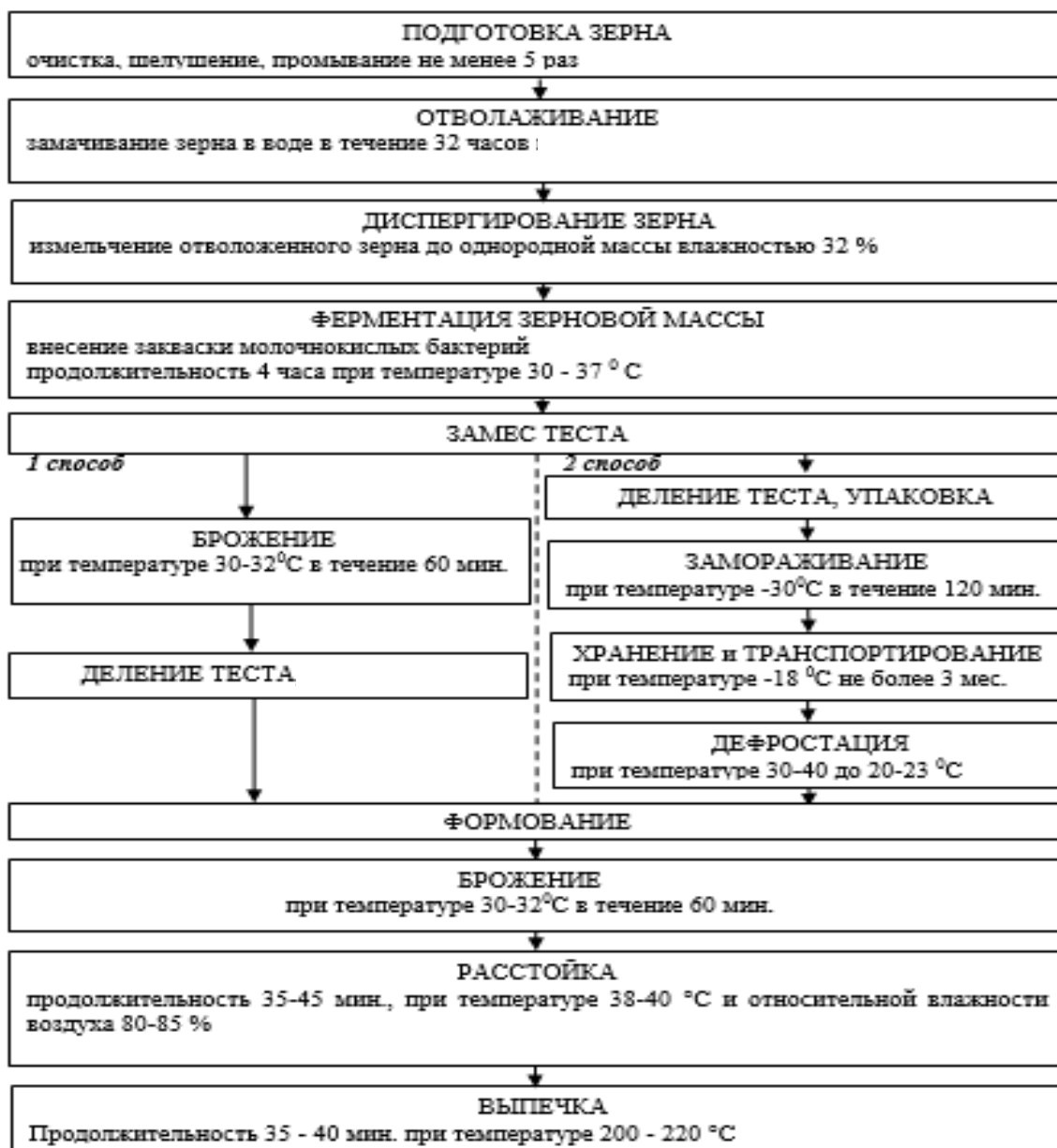


Рисунок 16 – Принципиальная технологическая схема производства зернового хлеба с ферментированной зерновой массой:

1 способ – без замораживания полуфабрикатов; 2 способ – по криотехнологии

Выявлено, что низкотемпературная обработка приводит к снижению антиоксидантной емкости зернового хлеба, способствует повышению перевариваемости его белков и незначительному повышению гликемического индекса.

Результаты проведенных нами исследований показали, что внедрение стадии молочнокислой ферментации диспергированной зерновой массы и применение янтарной кислоты и ее солей в технологии зернового хлеба позволяет увеличить антиоксидантную емкость зернового хлеба на 24,5 %, увеличить перевариваемость белков на 4-5 %.

При приготовлении хлеба «Янтарь» на основе замороженных полуфабрикатов гликемический индекс изделий незначительно повышается, однако значения показателя ниже уровня ≤ 55 %, что позволяет отнести их согласно классификации Всемирной организации здравоохранения к продуктам питания с низким гликемическим индексом. Таким образом, новые виды зернового хлеба могут быть рекомендованы как для широкого употребления, так и для профилактики сахарного диабета.

В результате проведенных расчетов установлено, что экономический эффект от реализации 1 т разработанных полуфабрикатов зернового хлеба в замороженном виде составит 6,06 тыс. руб. Разработанная технология позволит гарантировать простоту и надежность изготовления зернового хлеба из замороженных полуфабрикатов, обеспечит возможность транспортирования продукции в замороженном виде на различные расстояния с сохранением качественных характеристик, позволит регулировать колебания спроса на готовую продукцию, а также обеспечить потребителя всегда свежим зерновым хлебом.

Существенно, что применение предлагаемых ингредиентов, способа приготовления полуфабрикатов и зернового хлеба на их основе позволит улучшить его качество, расширить ассортимент, повысить прибыль и экономический эффект от реализации изделий, увеличить конкурентоспособность продукции.

Таким образом, результаты проведенных исследований обеспечивают решение важных теоретических и прикладных задач, связанных с разработкой научно-практических основ биотехнологии криорезистентных заквасок молочнокислых бактерий для пищевой промышленности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате завершеного теоретического и экспериментального исследования решен комплекс научно-практических задач по поиску криорезистентных культур молочнокислых бактерий, повышению их устойчивости к низкотемпературной обработке, а также по совершенствованию технологий хлебобулочных изделий путем применения криорезистентных заквасок молочнокислых бактерий и использования пищевых добавок с криопротекторными свойствами.

В основу разработки технологии хлебобулочных изделий из замороженных полуфабрикатов положена комплексная оценка микробиологических, биотехнологических, физико-химических и биохимических процессов, происходящих при низкотемпературном воздействии на тестовые полуфабрикаты для стабилизации их биотехнологических свойств и формирования совокупности показателей качества готовой продукции.

Результаты выполненной работы представлены в следующих выводах:

1. Теоретически обоснована и разработана концепция стабилизации процесса брожения и биотехнологических свойств полуфабрикатов хлебопекарного производства в условиях криотехнологии за счет применения криорезистентных заквасок лактобактерий, пищевых добавок и ингредиентов с криопротекторными свойствами.

2. В результате направленного отбора криорезистентных функционально-активных молочнокислых бактерий из различных пищевых источников растительного и животного происхождения отобрано пятнадцать перспективных штаммов молочнокислых бактерий *p. Lactobacillus*. Результаты оценки их биотехнологического потенциала позволяют рекомендовать штаммы лактобактерий с расширенным спектром функциональных свойств – *L. casei* 32 и *L. plantarum* 24 для производства пищевых продуктов с применением криогенных технологий, а также биологически активных добавок для пищевой, фармацевтической, косметической промышленности и ветеринарии. Данные штаммы характеризуются высокой кислотообразующей способностью и антагонистической активностью, устойчивостью к различным стрессовым воздействиям (изменению pH среды, наличию в среде желчи, NaCl, фенола, антибиотикам и окислительному стрессу), высокой антимутагенной и антиоксидантной активностью, способностью синтезировать протеолитические и амилалитические ферменты.

3. Установлено, что янтарная кислота, сукцинат калия и сукцинат аммония обладают криопротекторным действием в отношении хлебопекарных дрожжей и молочнокислых бактерий. Применение янтарной кислоты в среде культивирования позволяет увеличить количество жизнеспособных клеток лактобактерий и дрожжей после замораживания в среднем на 15-30 %. Включение янтарной кислоты и сукцинатов в питательную среду позволяет повысить активность амилалитических ферментов молочнокислых бактерий на 30-45 % и 15-20 % соответственно, интенсифицировать процесс кислотообразования на 10-20 %.

4. Проведены комплексные исследования по разработке состава питательной среды с этапом оптимизации для повышения криорезистентности молочнокислых бактерий. Применение оптимизированной питательной среды по содержанию глюкозы, дрожжевого экстракта, сукцината аммония, ионов Mn^{2+} и Mg^{2+} , позволяет увеличить выживаемость лактобактерий при низкотемпературной обработке в 2,5 раза по сравнению с контрольными значениями, повысить удельную скорость роста клеток на 16,3 %.

5. Разработана нормативно-техническая документация на криорезистентную закваску лактобактерий для пищевой промышленности (ТУ 10.89.19.300–007–02069639–2023), представляющей собой жизнеспособные клетки *L. casei* 32 или *L. plantarum* 24, предназначенную для производства продуктов питания, вырабатываемых с применением криогенных технологий. Установлено, что экономический эффект от реализации разработанной криорезистентной закваски составит 2,28 тыс. руб/кг.

6. Проведены исследования по унификации рецептуры, способа тестоприготовления и технологических режимов производства полуфабрикатов

хлебопекарного производства (ржано-пшеничного теста и полуфабрикатов из ферментированной зерновой массы), обоснована целесообразность и эффективность использования криорезистентных заквасок молочнокислых бактерий *L. casei* 32 и *L. casei TMB-D* в криотехнологии хлебобулочных изделий в целях интенсификации процессов брожения, улучшения органолептических, физико-химических и структурно-механических характеристик хлебопекарной продукции.

7. Проведены исследования по моделированию и оптимизации рецептур ржано-пшеничного хлеба на основе замороженных полуфабрикатов. Предложены эффективные пищевые криопротекторы в отношении молочнокислых бактерий и хлебопекарных дрожжей (сухое молоко и сухая молочная сыворотка, янтарная кислота и ее соли, набухающий кукурузный крахмал, пшеничный солод, ферментная композиция, содержащая Пентопан 500 BG, Новамил 1500 MG и Нейтраза 1,5 MG в соотношении 6:2,5:1). Усовершенствована криотехнология ржано-пшеничного хлеба с применением криорезистентных молочнокислых бактерий, разработанные технологические решения позволяют увеличить продолжительность хранения тестовых полуфабрикатов в замороженном виде до 5 мес., получить хлебопекарную продукцию с высокими потребительскими характеристиками, увеличить конкурентоспособность продукции, а также расширить ассортимент хлебобулочных изделий, произведенных на основе криотехнологии.

8. Экспериментально исследован процесс биомодификации зерновой диспергированной массы путем экзогенной молочнокислой ферментации с точки зрения изменений комплекса свойств полуфабрикатов и качественных характеристик зернового хлеба. Разработана криотехнология зернового хлеба на основе ферментированной молочнокислыми бактериями зерновой массы, позволяющая увеличить сроки хранения тестовых полуфабрикатов в замороженном виде с 3 до 5 месяцев, улучшить качественные характеристики и антиоксидантную емкость зернового хлеба на 24,5 %.

9. Разработана нормативно-техническая документация на полуфабрикаты и новый ассортимент ржано-пшеничного хлеба на основе замороженных полуфабрикатов с применением криорезистентных заквасок лактобактерий: хлеб «Морозко» с сухими молочными продуктами (ТУ 001–13981212–2004), «Морозко новый» с набухающим кукурузным крахмалом (ТУ 10.72.19–011–2003968806–2022), «Элита» с ферментной композицией (ТУ 10.72.19–016–2003968806–2022), «Злата» с солодовыми препаратами (ТУ 10.72.19–017–2003968806–2022), «Янтарный» с янтарной кислотой или ее солями (ТУ 10.72.19–014–2003968806–2022), а также на новые виды зернового хлеба на основе ферментированной зерновой массы: хлеб «Биозлак» (ТУ 10.71.11–009–2005989134–2021), «Биозлаковый» (ТУ 10.71.11–002–2005989134–2022) и «Янтарь» (ТУ 10.72.19–004–2005989134–2022).

10. Проведена промышленная апробация разработанных технологий, обеспечивающих выпуск готовой продукции с высокими технологическими и потребительскими свойствами. Установлено, что экономический эффект от реализации разработанных видов замороженных полуфабрикатов ржано-пшеничного и зернового хлеба составит 5,4 тыс. руб./т и 6,06 тыс. руб./т соответственно.

Перспективы дальнейшей разработки темы заключаются в развитии научно-практических основ биотехнологии молочнокислых бактерий для разработки нового ассортимента функциональных продуктов питания с применением криогенных технологий, а также новых конкурентоспособных биопрепаратов и биологически активных добавок для пищевой, фармацевтической, косметической промышленности и ветеринарии.

Основные публикации по теме диссертации:

Статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК для размещения материалов диссертации:

1. **Китаевская, С.В.** Способы стабилизации криозащитных свойств полуфабрикатов ржано-пшеничного хлеба / С.В. Китаевская, О.А. Решетник, Н.В. Лабутина // Вестник Международной академии холода. – 2003. – №2. – С. 42-44.
2. Лабутина, Н.В. Оптимизация процесса замораживания-размораживания полуфабрикатов ржано-пшеничного хлеба/ Н.В. Лабутина, **С.В. Китаевская**, О.А. Решетник // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. – 2003. – №4. – С. 34-37.
3. Лабутина, Н.В. Совершенствование криотехнологии ржано-пшеничного хлеба / Н.В. Лабутина, **С.В. Китаевская**, О.А. Решетник // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. – 2003. – № 5-6. – С. 46-48.
4. **Китаевская, С.В.** Применение молочнокислых бактерий в производстве ржано-пшеничного хлеба на основе замороженных полуфабрикатов / С.В. Китаевская, О.А. Решетник, Н.В. Лабутина // Вестник Международной академии холода. – 2003. – №3. – С.46 – 48.
5. Киямова, С.Н. Оценка влияния модифицированных крахмалов на жизнеспособность хлебопекарных дрожжей при замораживании / С.Н. Киямова, **С.В. Китаевская** // Естественные и технические науки. – 2009. – № 4(42). – С. 437-442.
6. **Китаевская, С.В.** Современные тенденции отбора и идентификации пробиотических штаммов молочнокислых бактерий // Вестник Казанского технологического университета. – 2012. – № 17. – С.184-188.
7. **Китаевская, С.В.** Резистентность пробиотических штаммов молочнокислых бактерий к антибиотикам // Вестник Казанского технологического университета. – 2012. – №21. – С.108-111.
8. **Китаевская, С.В.** Применение ферментных препаратов в технологии хлебобулочных изделий на основе замороженных полуфабрикатов / С.В. Китаевская, О.А. Решетник // Вестник Казанского технологического университета. – 2013. – №24. – С. 91-94.
9. **Китаевская, С.В.** Исследование резистентности молочнокислых бактерий к низкотемпературной обработке // Вестник Казанского технологического университета. – 2014. – № 23. – С. 214-217.
10. **Китаевская, С.В.** Продукты метаболизма молочнокислых бактерий как вещества, снижающие действие генотоксикантов / С.В. Китаевская, Т.А. Ямашев, О.Б. Иванченко, О.А. Решетник // Вестник технологического университета. – 2015. – №4. – С. 283-286.
11. **Китаевская, С.В.** Изучение способности молочнокислых бактерий продуцировать липолитические ферменты // Вестник технологического университета. – 2015. – №18. – С. 256-258.
12. **Китаевская, С.В.** Исследование влияния стартовых культур молочнокислых бактерий на химическую стабильность липидов мясных фаршей // Вестник технологического университета. – 2015. – №18. – С. 243-245.
13. **Китаевская, С.В.** Оценка устойчивости модифицированных крахмалов к низкотемпературной обработке // Вестник технологического университета. – 2016. – №8. – С. 131-133.
14. **Китаевская, С.В.** Оптимизация рецептурного состава ржано-пшеничного хлеба, выработанного на основе замороженных полуфабрикатов / С.В. Китаевская, Н.К. Романова, Е.В. Попова, Д.Р. Камартинова, О.А. Решетник // XXI век: итоги прошлого и проблемы настоящего плюс. – 2019. – Том 8. – № 4 (48). – С. 171-176.
15. **Китаевская, С.В.** Влияние низкотемпературной обработки на активность протеолитических ферментов различных видов муки / С.В. Китаевская, О.А. Решетник // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2020. – Т. 10. – № 3(34). – С. 439-449. (**Web of Science**).
16. **Китаевская, С.В.** Оценка протеолитической активности новых штаммов молочнокислых бактерий с криорезистентными свойствами / С.В. Китаевская, В.Я. Пономарев,

О.А. Решетник // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2022. – Т. 12. – № 1(40). – С. 76-86. (**Web of Science**).

17. Китаевская, С.В. Моделирование ферментной композиции и ее применение в криотехнологии хлебопечения // Индустрия питания|Food Industry. – 2023. – Т. 8. – № 1. – С. 5-13.

Статьи в изданиях, входящих в международные базы данных Web of Science, Scopus:

1. Bagayeva, T.V. The study of antioxidant potential of commercially valuable starter cultures of lactic acid bacteria / T.V. Bagaeva, **S.V. Kitaevskaya**, O.A. Reshetnik // International Journal of Pharmacy & Technology. – 2016. – № 8. – P. 24366-24372 (**Scopus**).

2. Agafonova, A.N. Study of the influence of lactic acid bacteria on hydrolytic and oxidation processes in stuffed meat / A.N. Agafonova, T.V. Bagaeva, **S.V. Kitaevskaya**, N. K. Romanova, O.A. Reshetnik // Helix. – 2019. – Vol. 9 (5). – P. 5318-5322 (**Web of Science**).

3. **Kitaevskaya, S.V.** Biotechnological potential of new strains of lactic acid bacteria / S.V. Kitaevskaya, V.Y. Ponomarev, A.F. Hasanova, N.K. Romanova // Overview of the II International Conference on Agribusiness, Environmental Engineering and Biotechnologies – AGRITECH – II – 2019 // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. – 2020. – Vol. 421(1). – № Art. 052018 (**Web of Science, Scopus**).

4. **Kitaevskaya, S.V.** Assessment of lactic acid bacteria new consortia proteolytic activity / S.V. Kitaevskaya, V.Y. Ponomarev, E.Sh. Yunusov, D.R. Kamartdinova // Overview of the IV International Conference on Agribusiness, Environmental Engineering and Biotechnologies – AGRITECH – II – 2020 // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. – 2021. Vol. 677 (1). – № Art. 052073 (**Web of Science, Scopus**).

5. **Kitaevskaya, S.V.** Research of fermentation processes of protein substrates by consortiums of lactic acid bacteria / S.V. Kitaevskaya, V.Y. Ponomarev, E.Sh. Yunusov // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science: 3, Enhancing Livelihood through Sustainable Agriculture in the Post-Pandemic Phase (ICARD). – 2022. – № Art. 012052. (**Scopus**).

Статьи в периодических изданиях, сборниках трудов и тезисы конференций:

1. Китаевская, С.В. Оптимизация параметров замораживания-дефростации в криотехнологии ржано-пшеничного хлеба / С.В. Китаевская, О.А. Решетник // Материалы III Межрегиональной конференции молодых ученых «Пищевые технологии». – Казань. – 2002. – С.28.

2. Китаевская, С.В. Совершенствование криотехнологии ржано-пшеничного хлеба / С.В. Китаевская, О.А. Решетник // В кн. «Химия и биотехнология биологически активных веществ пищевых продуктов и добавок». – Тверь. – 2002. – С.90-92.

3. Китаевская, С.В. Ферментные препараты в криотехнологиях хлебопечения / С.В. Китаевская, О.А. Решетник // Материалы III науч. конф. молодых ученых, аспирантов и студентов КГУ «Материалы и технологии XXI века». – Казань. – 2003. – С. 47.

4. Ямашев, Т.А. Антимутагенное действие продуктов жизнедеятельности молочнокислых бактерий/ Т.А. Ямашев, С.В. Китаевская, О.Б. Иванченко, О.А. Решетник // Материалы IV Межрегиональной конференции молодых ученых «Пищевые технологии». – Казань. – 2003. – С.8.

5. **Kitaevskaya, S.V.** Perspectives of lactobacterium cryostable strain application in bread baking industry/ S.V. Kitaevskaya, Reshetnik O.A., Labutina N.V.// Proc. Joint Intern. Conf. «New Geometry of Nature». – KSU, Kazan, Russia. – 2003. – Vol. II. – P.194-195.

6. Мыльникова, М.И. Новые аспекты в производстве ржаных сортов хлеба на основе замороженных полуфабрикатов/ М.И. Мыльникова, К.Р. Девятова, С.В. Китаевская, О.А. Решетник // Материалы IV Межрегиональной конференции молодых ученых «Пищевые технологии». – Казань. – 2003. – С.9.

7. Китаевская, С.В. Некоторые аспекты криотехнологии ржано-пшеничного хлеба / Сборник научных трудов 5-ой Межрегиональной научно-практической конференции «Современное хлебопекарное производство, перспективы его развития». – Екатеринбург: Изд-во УГЭУ. – 2004. – С. 34.

8. **Kitaevskaya, S.V.** Biotechnological aspects of bread making cryotechnology/ S.V. Kitaevskaya, O.A. Reshetnik //The 19 th international ICFMH Symposium Foodmicro – 2004. – Portototz, Slovenia. – Book of Abstracts. – P.225-226.

9. Китаевская, С.В. Биотехнология ржаных видов хлеба на основе заквасок молочнокислых бактерий / С.В. Китаевская, О.А. Решетник // Материалы научной конференции «Постгеномная эра в биологии и проблемы биотехнологии». – М.: МАКС Пресс. – 2004. – С.47- 48.

10. Китаевская, С.В. Изучение влияния низкотемпературного воздействия на ферментативную активность промышленных штаммов дрожжей / С.В. Китаевская, Е.В. Никитина, М.А. Халиуллина, О.А. Решетник // Материалы XIII международной научной конференции «Ферменты микроорганизмов: структура, функции, применение». – Казань. 2005. – С.47-48.
11. Китаевская, С.В. Разработка способов стабилизации криорезистентных свойств полуфабрикатов ржаных видов хлеба / С.В. Китаевская, О.А. Решетник // Материалы межрегиональной научно-практической конференции «Современное хлебопекарное производство, перспективы его развития». – Екатеринбург. – 2005. – С.34-38.
12. Китаевская, С.В. Криогенные технологии ржаных видов хлеба / С.В. Китаевская, О.А. Решетник // Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Перспективы развития пищевой промышленности России». – Оренбург. – 2005. – С.67-68.
13. Китаевская, С.В. Сравнительный анализ криорезистентных свойств промышленных штаммов дрожжей / С.В. Китаевская, Л.В. Сорокина, А.И. Сакаева, О.А. Решетник // Материалы общероссийской конференции молодых ученых «Пищевые технологии». – Казань. – 2005. – С.32.
14. Китаевская, С.В. Способы повышения криорезистентных свойств промышленных штаммов дрожжей / С.В. Китаевская, Л.Р. Мухаметзянова, В.Ф. Касимова, О.А. Решетник // Материалы общероссийской конференции молодых ученых «Пищевые технологии». – Казань. – 2005. – С.33.
15. Китаевская, С.В. Применение молочных белковых концентратов в криотехнологиях хлебопечения / С.В. Китаевская, Л.В. Сорокина, О.А. Решетник // Материалы XI международной конференции «Синтез, исследование свойств, модификация и переработка высокомолекулярных соединений». – Казань. – 2005 – С.268
16. Китаевская, С.В. Микробиологические аспекты криотехнологии ржаных видов хлеба / С.В. Китаевская, А.И. Сакаева, О.А. Решетник // Материалы XIII всероссийского форума «Конкурентоспособность территорий и предприятий во взаимозависимом мире». – Екатеринбург. – 2005. – С.203.
17. Китаевская С.В. Устойчивость молочнокислых бактерий к низкотемпературным воздействиям / С.В. Китаевская, А.И. Сакаева, О.А. Решетник // Материалы Международной научно – практической конференции «Пути повышения эффективности АПК в условиях вступления России в ВТО». Ч.2 – Уфа: Информреклама, 2006. – С.161-163.
18. Китаевская, С.В. Изучение криорезистентных свойств молочнокислых бактерий / С.В. Китаевская, Л.Р. Гильмутдинова, С.Е. Монастырская // Материалы VII Всероссийской конференции молодых ученых с международным участием «Пищевые технологии». – Казань: «Отечество». – 2007. – С.94.
19. Китаевская, С.В. Разработка способа повышения выживаемости хлебопекарных дрожжей при криообработке / С.В. Китаевская, М.Р. Измайлова // Материалы VII Всероссийской конференции молодых ученых с международным участием «Пищевые технологии». – Казань: «Отечество». – 2007. – С. 211.
20. Китаевская, С.В. Защита микрофлоры теста в криогенной технологии приготовления хлеба / С.В. Китаевская, Л.Р. Гильмутдинова // Материалы X Всероссийского форума молодых ученых и студентов «Конкурентоспособность территорий и предприятий меняющейся России». – Екатеринбург, 2007. – С.201.
21. Китаевская, С.В. Влияние низкотемпературной обработки на активность амилолитических ферментов молочнокислых бактерий / С.В. Китаевская, Л.Р. Гильмутдинова, С.Е. Монастырская // Материалы XI Всероссийского форума «Конкурентоспособность территорий и предприятий во взаимозависимом мире». – Екатеринбург. – 2008. – С.134
22. Китаевская, С.В. Изучение жизнеспособности молочнокислых бактерий при низкотемпературном воздействии / С.В. Китаевская, Л.Р. Гильмутдинова, С.Е. Монастырская, О.А. Решетник // Материалы IX международной конференции «Пищевые технологии и биотехнологии». – Казань: Изд-во «Отечество». – 2008. – С.77.
23. Китаевская, С.В. Повышение криорезистентных дрожжей в технологии замороженных тестовых полуфабрикатов / С.В. Китаевская, М.Р. Исмагилова // Материалы X всероссийского форума «Конкурентоспособность территорий и предприятий во взаимозависимом мире». – Екатеринбург. – 2008 г. – С.134.
24. Китаевская, С.В. Исследование функционально-технологических свойств новых культур молочнокислых бактерий // Материалы X юбилейного международного форума «Высокие технологии XXI века». – Москва. – 2009. – С.275-276.

25. Китаевская, С.В. Применение модифицированных крахмалов в качестве криопротекторов в хлебопечении / С.В. Китаевская, Л.Р. Абдрашитова // Материалы X международной конференции молодых ученых «Пищевые технологии и биотехнологии». – Казань. – 2009. – С.52.
26. Китаевская, С.В. Изучение криорезистентности молочнокислых бактерий, применяемых в хлебопечении // Материалы Международной научно-практической конференции «Аграрная наука и образование на современном этапе развития: опыт, проблемы и пути их решения». – Ульяновск. – 2009. – Т.2. – С.181-185.
27. Китаевская, С.В. Отбор и идентификация функционально-активных штаммов молочнокислых бактерий // Материалы X юбилейной научно-практической конференции с международным участием «Технологии и продукты здорового питания. Функциональные пищевые продукты». – Москва: МГУПП. – 2012. – С.156-158.
28. Китаевская, С.В. Биотехнологические основы разработки продуктов питания пробиотического назначения / С.В. Китаевская, С.В. Ткаченко // Материалы Всероссийской школы-конференции «Материалы и технологии XXI века». – Казань. – 2014. – С.63.
29. Китаевская, С.В. Оценка антиоксидантного потенциала новых штаммов молочнокислых бактерий / С.В. Китаевская, С.А. Китаевский, С.В. Ткаченко // Материалы Первой Международной школы-конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Биомедицина, материалы и технологии XXI века». – Казань, 2015. – С. 19.
30. Китаевская, С.В. Влияние заквасок молочнокислых бактерий на химическую стабильность липидов молока / С.В. Китаевская, С.А. Китаевский, Л.Р. Ахмадиева // Материалы XIV Международной конференций молодых ученых «Пищевые технологии и биотехнологии». – Казань. – 2015 – С. 216.
31. Китаевская, С.В. Исследование активности липолитических ферментов молочнокислых бактерий / С.В. Китаевская, С.А. Китаевский, С.В. Ткаченко // Материалы VIII региональной конференции молодых ученых «Молодежь и инновации Татарстана». – Казань, 2015. – С. 65-68.
32. Китаевская, С.В. Оценка эффекта ферментации модельных белковых субстратов заквасками молочнокислых бактерий / С.В. Китаевская, С.А. Китаевский, В.Я. Пономарев // Материалы VIII региональной конференции молодых ученых «Молодежь и инновации Татарстана». – Казань. – 2015. – С.116-120.
33. Китаевская, С.В. Изучение антиоксидантной активности различных видов муки // С.В. Китаевская, Д.Р. Камартдинова, З.Ф. Хайруллина, С.А. Китаевский // Сборник научных статей «Приоритетные направления развития пищевой индустрии» – Ставрополь: СГАУ. – 2016. – С. 289-290.
34. Китаевская, С.В. Изучение антиоксидантной активности муки разных видов / С.В. Китаевская, Д.Р. Камартдинова, З.Ф. Хайруллина // Материалы XV Международной конференции молодых ученых «Пищевые технологии и биотехнологии». – Казань. – 2016. – С. 392-393.
35. Китаевская, С.В. Использование низкотемпературных технологий с целью создания замороженных полуфабрикатов для предприятий общественного питания / С.В. Китаевская, С.В. Ткаченко, О.А. Решетник // Материалы XV Международной конференции молодых ученых «Пищевые технологии и биотехнологии». – Казань. – 2016. – С.409-410.
36. Китаевская, С.В. Антиоксидантный потенциал криорезистентных культур молочнокислых бактерий, применяемых в технологии функциональных продуктов питания / С.В. Китаевская, С.В. Ткаченко, О.А. Решетник // Вопросы питания. – 2016. – Том 85, №2. – С. 140-141 (RSCI).
37. Ткаченко, С.В. Влияние низкотемпературной обработки полуфабрикатов хлебопекарного производства на жизнеспособность молочнокислых бактерий // С.В. Ткаченко, С.В. Китаевская, О.А. Решетник // Сборник научных статей «Приоритетные направления развития пищевой индустрии» – Ставрополь: СГАУ. – 2016. – С. 569-570.
38. Китаевская, С.В. Исследование влияния молочнокислых бактерий на процесс ферментации диспергированной зерновой массы / С.В. Китаевская, О.А. Решетник // Материалы V Международного Балтийского морского форума: VI Международной научно-практической конференции «Пищевая и морская биотехнология». – Калининград. – 2017. – С.59-61.
39. Китаевская, С.В. Биотехнологический потенциал молочнокислых бактерий как биологически активных компонентов пищи // Материалы XVI Всероссийской конференции молодых ученых «Пищевые технологии и биотехнологии». – Казань. – 2019. – С. 19-24.

40. Китаевская, С.В. Разработка технологии замороженных изделий из цельнозерновых сортов муки на основе замороженных полуфабрикатов / С.В. Китаевская, А.Н. Семенова, О.А. Решетник // Материалы XVI Всероссийской конференции молодых ученых «Пищевые технологии и биотехнологии». – Казань. – 2019. – С. 251-254.
41. Китаевская, С.В. Влияние низкотемпературной обработки на активность протеолитических ферментов тестовых полуфабрикатов / С.В. Китаевская, Д.Р. Камартдинова, А.Н. Семенова, О.А. Решетник // Материалы II Всероссийской школы-конференции молодых ученых «Биохимия - основа наук о жизни». – Казань: ПФУ, 2019. – С. 152-155.
42. Китаевская, С.В. Антимутагенные свойства новых штаммов молочнокислых бактерий *p. Lactobacillus* / С.В. Китаевская, О.А. Решетник // Актуальная биотехнология. – №3 (34). – 2020. – С. 119-121.
43. Китаевская, С.В. Оценка биотехнологических свойств новых консорциумов молочнокислых бактерий / С.В. Китаевская, Д.Р. Камартдинова, Е.В. Романова, О.А. Решетник // Материалы Всероссийской конференции «Современные проблемы пищевой безопасности» – СПб: СПГУВМ. – 2020. – С.171-175.
44. Китаевская, С.В. Влияние низкотемпературного хранения на активность амилолитических ферментов тестовых полуфабрикатов / С.В. Китаевская, Д.Р. Камартдинова, О.А. Решетник // Материалы Международной научно-технической конференции «Продовольственная безопасность: научное, кадровое и информационное обеспечение» – Воронеж: ВГУИТ. – 2020. – С. 45-48.
45. Китаевская, С.В. Исследование влияния заквасок молочнокислых бактерий на качество зернового хлеба / С.В. Китаевская, Д.Р. Камартдинова, Романова Е.В., О.А. Решетник // Материалы Международной научно-технической конференции «Наука, образование и инновации для АПК: состояние, проблемы и перспективы». – Майкоп: МГТУ. – 2020. – С.484-487.
46. Китаевская, С.В. Разработка консорциумов молочнокислых бактерий с криорезистентными свойствами / С.В. Китаевская, Д.Р. Камартдинова, Е.В. Романова, О.А. Решетник // Материалы Всероссийской научной интернет-конференции «Интеграция науки и высшего образования в области био- и органической химии и биотехнологии». – Уфа: Издательство УГНТУ. – 2020. – С. 102-104.
47. Китаевская, С.В. Оценка амилолитической активности цельнозерновых видов муки / С.В. Китаевская, Д.Р. Камартдинова, Е.В. Романова, О.А. Решетник // Материалы Международной научно-технической конференции «Пища. Экология. Качество». – Новосибирск: СФНЦА РАН. – 2021. – С. 288-290.
48. Китаевская, С.В. Оценка жизнеспособности клеток дрожжей при низкотемпературном хранении тестовых полуфабрикатов / С.В. Китаевская, Д.Р. Камартдинова, Е.В. Романова // Материалы Всероссийской научно-практической конференции «Горизонты биотехнологии». – Орел: ОГУИм. И.С. Тургеньева. – 2021. – С.209-212.
49. Галиуллина, Д.Р. Разработка технологии зернового хлеба из полбы на заквасках / Д.Р. Галиуллина, С.В. Китаевская, О.А. Решетник // Сборник научных статей 9-й Международной молодежной научной конференции «Юность и Знания – Гарантия Успеха – 2022». Курск: ЮЗГУ. – 2022. – Том 2. – С. 295-297.
50. Китаевская, С.В. Влияние заквасок молочнокислых бактерий на качественные характеристики зернового хлеба / С.В. Китаевская, Д.Р. Камартдинова, Н.К. Романова, О.А. Решетник // Материалы Национальной научно-практической конференции с международным участием «Фундаментальные аспекты и практические вопросы современной микробиологии и биотехнологии». – Ульяновск: ГАУ. – 2022. – С.290-297.
51. Решетник, О.А. Разработка и применение ферментной композиции для производства ржано-пшеничного хлеба на основе замороженных полуфабрикатов / О.А. Решетник, С.В. Китаевская, Д.Р. Камартдинова // Актуальная биотехнология. – 2022. – № 1. – С. 119-123.

Монография:

Китаевская, С.В. Биотехнологические основы использования криорезистентных микроорганизмов в хлебопечении: монография / С.В. Китаевская, О.А. Решетник // Казань: Изд-во КГТУ. – 2006. – 268 с.