

На правах рукописи

ЧУЛУУНБАТ ЦЭНД-АЮУШ

**ТЕОРЕТИЧЕСКОЕ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ
ТЕХНОЛОГИИ МОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО
ПИТАНИЯ В УСЛОВИЯХ МОНГОЛИИ**

Научная специальность: – Технология молока и молочных
продуктов

АВТОРЕФЕРАТ

**диссертации на соискание ученой степени
доктора (Sc.D) технических наук**

2022

1

Научные консультанты:

1. Доктор Илиана Борисова Начена, профессор Института криобиологии и пищевых технологий, Академии сельского хозяйства
2. Доктор Васил Стоименов Николов – профессор Аграрного университета – Пловдива

Официальные оппоненты:

1. Доктор технических наук Галин Йорданов Иванов, профессор
2. Доктор Ангел Иванова Ангелов, профессор
3. Доктор Гюрга Стефанова Михайлова, профессор

Защита диссертации состоится «__» _____ 2022 г. в «__» часов на заседании Научного жури, созданного приказом РД16-824/13.07.2022, Ректора Аграрного университете Пловдив в составе:

Председатель: доктор наук Димитър Фердинандов Греков, профессор Аграрного университета – Пловдива, научное направление „Животноводство“

Члены:

1. Доктор технических наук Галин Йорданов Иванов, профессор Университета пищевых технологии – Пловдив, научное направление: Технические науки, „Пищевые технологии“.
2. Доктор Ангел Иванова Ангелов, профессор Университета пищевых технологии – Пловдив, научное направление: Технические науки, „Биотехнологии“
3. Доктор Гюрга Стефанова Михайлова, профессор Тракийский университет – Стара Загора, научное направление: Технические науки, „Пищевые технологии“
4. Доктор сельскохозяйственных наук Тодор Димитров Димитров, профессор Тракийский университет – Стара Загора, научное направление: Технические науки, „Пищевые технологии“
5. Доктор Светла Максимова Дянкова, доцент Института криобиологии и пищевых технологий, Академии сельского хозяйства, научное направление: Технические науки, „Пищевые технологии“
6. Доктор Мария Дончева Донева-Николова, доцент Института криобиологии и пищевых технологий, Академии сельского хозяйства, научное направление: Технические науки, „Пищевые технологии“

Работа выполнена в научно-исследовательской лаборатории “Пищевые исследования, инновационный открытый центр” Института производственной технологии Монгольского Государственного Университета Науки и Технологии, научно- исследовательской лаборатории (Япония), Московского Государственного Научно-исследовательского института генетики и селекции промышленных микроорганизмов, Научно-исследовательской лаборатории молока и молочных продуктов Конкук Университета (Южная Корея) и в лаборатории молока и молочных продуктов Московского государственного университета прикладной биотехнологии, Аграрном университете – Пловдиве,

Диссертационная работа состоит из следующих основных разделов: введение, аналитический обзор информационных источников, организация, объекты и методы исследований, результаты собственных исследований, практическая реализация результатов исследований, выводы и список литературы и приложения. Основное содержание работы изложено на 288 странице машинописного текста, содержит 73 таблиц и 25 рисунков. Список литературы включает 257 наименований.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Аграрного университета, по адресу: 4000, Болгария, г. Пловдив, бул. Менделеев 12, а с авторефератом и другими материалами на сайте у и на сайте <https://www.au-plovdiv.bg/>

Автореферат разослан: «29» июля 2022 года

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования. В последние годы в Монголии остро стоит проблема производства молочных продуктов функционального назначения.

Одним из направлений создания диетических и лечебных молочных продуктов является обогащение их защитными факторами, в частности микроорганизмами, входящими в состав нормальной микрофлоры кишечника человека.

В настоящее время получили широкое распространение пробиотические молочные продукты, так как пробиотики составляет основу нормального микробиоценоза и принимает непосредственное участие в процессе пищеварения.

В настоящее время в Монголии особое внимание уделяют проблеме производства детских, диетических молочных продуктов и сыра. В Монголии для производства пробиотических кисломолочных продуктов основным сырьем является коровье молоко. Вместе с тем возрос интерес к использованию козьего и овечьего молока как сырья для промышленного производства молочных продуктов, тем более в Монголии интенсивно развивается козоводство и козье молоко представляет собой ценный диетический продукт.

Козье и овечье молоко, как сырье для промышленного производства молочных продуктов в Монголии, недостаточно изучено и не разработаны научно-обоснованные технологии продуктов на основе козьего и овечьего молока.

В связи с этим разработка научно-обоснованных технологий производства продуктов на основе козьего и овечьего молока, содержащих представителей полезной микрофлоры кишечника является актуальной проблемой, имеющей важное медицинское и народнохозяйственное значение.

При этом выделение и изучение пробиотических штаммов из традиционных монгольских молочнокислых бактерий для использования в функциональном питании играет немаловажное место.

Цель работы и задачи исследований. Целью диссертационной работы являлась разработка научного обоснования и создание технологии молочных продуктов функционального назначения с использованием новых видов заквасок, приготовленных штаммов молочнокислых бактерий, выделенных из монгольских национальных молочных продуктов.

В соответствии с поставленной целью определены следующие задачи исследований:

1. Изучить химический состав молока козьего, овечьего и коровьего

- молока Монгольской породы;
2. Выделить штаммы микроорганизмов из национальных молочных продуктов Монголии;
 3. Идентифицировать и изучить свойства полезных микроорганизмов, выделенных из национальных молочных продуктов Монголии;
 4. Изучить пробиотические свойства штаммов новых микроорганизмов;
 5. Произвести научно-обоснованный выбор вида заквасочных культур для создания продуктов функционального назначения;
 6. Обосновать методологию полученных бактериальных заквасок для ферментированных молочных продуктов;
 7. Обосновать перспективность технологических режимов производства кисломолочных и белковых продуктов из козьего, овечьего и коровьего молока;
 8. Разработать технологии пробиотических, синбиотических и белковых продуктов на основе козьего, овечьего и коровьего молока;
 9. Определить пищевую, биологическую ценность новых видов продуктов функционального назначения;
 10. Определить пищевую, биологическую, энергетическую ценность новых видов продуктов функционального назначения;
 11. Провести клинические испытания молочных продуктов с пробиотическими свойствами;
 12. Провести промышленную апробацию и внедрение результатов исследований на промышленную технологию.

Научная новизна. Проведена комплексная оценка качества и технологических свойств молока коз и овец монгольской породы с использованием современных методов анализа. Проведены выделение, идентификация и изучены пробиотические свойства штаммов, выделенных из национальных молочных продуктов.

Установлено, что в состав микрофлоры национальных кисломолочных продуктов тараг, айраг, хоормог, бяслаг входят микроорганизмы и дрожжи.

Научно обоснован состав микроорганизмов, выделенных из национальных ферментированных продуктов для получения закваски: *Lactobacillus L. paracasei subsp. paracasei*, *Lactobacillus paracasei subsp. tolerans*, *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis*, *Lactobacillus fermentum*, *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus fermentum*.

Подобраны оптимальные условия ферментации молока новыми заквасками, выделенными из монгольских национальных кисломолочных продуктов. Научно обоснованы основные

технологические параметры производства и разработаны технологии ферментированных продуктов из козьего, овечьего и коровьего молока.

Теоретическая и практическая значимость работы. Диссертация представляет собой научно-квалификационную работу с изложенными научно обоснованными технологическими решениями, внедрение которых вносит значительный вклад в развитие молокоперерабатывающей отрасли.

Разработана технология получения закваски, содержащей в своем составе культуры молочнокислых бактерий, обладающих пробиотическими свойствами, выделенных из национальных кисломолочных продуктов.

Разработаны новые группы пробиотических, синбиотических и белковых продуктов, характеризующиеся повышенной пищевой и биологической ценностью и изготавливаемые по ресурсосберегающим технологиям.

Новизна технических решений, положенных в основу разработанных технологий, подтверждена авторскими свидетельствами и патенты на изобретение. Материалы исследований опубликованы в двух монографиях.

Теоретически обоснована и практически реализована инновационная технология ряда про-пребиотических и белковых продуктов в Монголии и за рубежом.

Публикации.

Основное содержание диссертационной работы опубликовано в 36 печатных работах, в том числе в 10 статьях, индексируемых в международных базах цитирования Scopus и Web of Science. (Journal of Food Science & Nutrition, Journal of Food Science and Technology Research, Journal of Functional Foods, Journal of International Immunopharmacology, Journal of Human Cell, Journal of Animal Science, Journal of Foods and Raw Materials, Journal of International Food Research, Korean Journal Dairy Science and Technology, Mongolian Journal of Chemistry), Журналы: Пищевая промышленность, Молочная промышленность, Хранение и переработка сельскохозяйственного сырья, Техника и технология пищевых производств, 8 статьях в журналах, рекомендованных ВАК для публикации основных материалов диссертационных исследований и материалы конференций, отчетах по НИОКР, а также патентах Монголии.

Структура и объем диссертационной работы.

Диссертация состоит из 8 глав, включающих введение, аналитический обзор литературы, методическую часть, результаты собственных исследований. Основное содержание изложено на 281 страницах.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ОБСУЖДЕНИЕ

Аналитический обзор: состоит из разделов, в которых проводится анализ информации источников зарубежной и отечественной литературы по изучаемой проблеме.

Определено медико-биологические обоснование создания продуктов функционального питания.

Приведена характеристика молочного сырья: молока козьего, овечьего и коровьего, как объекта для детских, пробиотических и белковых продуктов из данных видов молока. Из представленного в обзоре материала следует, что современный уровень молочной промышленности страны и состояние ее сырьевой базы требует создания и внедрения технологий продуктов функционального назначения. Рассмотрены особенности национальных молочных продуктов.

Показаны перспективы развития биотехнологии ферментных молочных продуктов и препаратов с пробиотическими свойствами. Определено их значение в оздоровлении населения на современном этапе. Обосновывается состав полезной микрофлоры, которые целесообразно использовать для производства ферментных молочных продуктов и препаратов с пробиотического действия.

Приводятся данные о современных достижениях генетики и генно-инженерных методов исследования.

Рассмотрены вопросы получения одно- и многовидовых ассоциаций микроорганизмов, а также тенденция и перспективы производства пробиотиков.

Организация работы, объекты и методы проведения исследований

Объектом исследований служило козье, овечье и коровье молоко, собранное в частном секторе на территории Монголии. Кроме этого объектами исследований также служили некоторые монгольские национальные кисломолочные продукты: тараг (идентичен йогурту, хоормог- кисломолочный продукт из верблюжьего молока, айраг - кисломолочный напиток из кобыльего молока, бяслаг (типа сыра) и другие продукты. Образцы традиционной монгольской молочной продукции были отобраны из регионов. Для создания заквасок использовали штаммы из национальных монгольских молочных продуктов. Общая схема проведения исследований представлена на рисунке 1.

В исследованиях применяли стандартные методы микробиологических исследований и генетические методы, в частности 16S-рибосомальной ДНК. При организации и проведении исследований применялся комплекс общепринятых стандартных, в том числе физико-химических, микробиологических, биохимических, реологических, а также



Рисунок 1. Схема проведения экспериментальных исследований

математические методы статистической обработки результатов исследований и построения математических моделей.

I. Изучение физико-химического состава и безопасности молока некоторых сельскохозяйственных животных монгольских пород

В Монголии в отличие от других стран мира традиционно готовятся молочные продукты из молока от пяти видов животных (коровье, кобылье, козье, овечье, верблюжье), что является одной из отличительных черт. Однако промышленным способом перерабатывается в основном коровье молоко, а молоко других видов животных используется для приготовления национальных молочных продуктов в небольшом объеме в индивидуальных хозяйствах.

В Монголии по статистическим данным в 2020 году насчитывалось около 67,0 млн голов скот из них 27,2 млн. составляют козы и 30,0 овцы, в связи с этим выросли потенциальные ресурсы козьего и овечьего молока.

Так, например, в 2020 году промышленностью могло быть переработано примерно 259,6 млн. литров козьего молока, 165,6 млн. литров овечьего молока.

Изучение физико-химического состава молока сельскохозяйственных животных Монголии

В целях обоснования организации мер по промышленной переработке молока коз, овец монгольской породы пастбищного содержания проведены исследования общего химического, аминокислотного, фракционного состава, минерального и витаминного состава козьего и овечьего и коровьего молока.

В результате исследований молоко монгольского местная пастбищного скота характеризуется высоким показателем сухих веществ, богато жиром и белком.

Как известно, биологическая ценность молока, определяется не только абсолютным содержанием белковых веществ, но и содержанием незаменимых аминокислот, входящих в его состав.

В связи с этим нами было проведено исследование аминокислотного состава белков в сборных образцах молока. Результаты исследования приведены в таблице 1.

Представленные в таблице 2 данные показывают, что доля незаменимых аминокислот в общем белке козьего, овечьего, коровьего молока монгольской породы составляет соответственно 43,64%, 45,41%, и 44,49%. По этим данным как козье, так овечье и коровье.

Как видно из приведенных в таблице данных, козье молоко по содержанию сероальбумина, β -глобулина и α -лактальбумина отличается от коровьего. По количеству α -лактальбуминовой фракции белок козьего молока значительно превосходит белок коровьего молока.

Таблица 1. Аминокислотный состав козьего, овечьего и коровьего молока монгольской породы

№	Аминокислоты, %	Молоко		
		Козье	Овечье	Коровье
1	Валин	6,34	6.39	5.89
2	Изолейцин	5.19	5.41	5.27
3	Лейцин	9.38	9.69	9.73
4	Лизин	8.11	8.55	8.16
5	Метионин	1.73	2.38	2.08
6	Триптофан	4.44	4.15	4.04
7	Тирозин+треонин	3.32	3.47	3.54
8	Фенилаланин	4.61	4.81	4.41
9	Аланин	3.93	2.77	4.82
10	Аргинин	3.13	3.63	3.12
11	Аспаргиновая кислота	8.05	8.10	8.21
12	Гистидин	1.74	1.80	1.79
13	Глицин	2.03	2.04	2.20
14	Глутаминовая кислота	22.56	21.50	22.40
15	Пролин	10.00	9.85	8.82
16	Серин	4.32	4.06	4.46
17	Цистин	2.17	2.03	1.80
	Сумма	101.05±0.72	100.63±0.58	100.64±0.50

Таблица 2. Фракционный состав сывороточных белков козьего молока

Молоко	Сывороточная белковая фракция, %			
	Сероальбу мин	β-глобулин	α-лактальбумин	Иммуноглоб улины
Козье	8,95±1,50	20,87±1,90	58,3±1,90	11,80±0,80
Коровье	10,20±0,88	45,5±1,59	18,11±2,09	12,62±1,36

Как видно из табл. 3, по содержанию кальция козье молоко превосходит коровье, но при сравнении с овечьим молоком полученные

Таблица 3. Минеральный состав молока пастбищного скота Монголии

Элементы	Содержание минеральных веществ в молоке, мг% золы		
	Козье	Овечье	Коровье
Кальций	22,88±1.50	28,56±2.27	18,83±1.46
Натрий	4,15±2.42	7,03±2.56	4,76±1.95
Калий	16,90±0.06	13,0 ±0.41	22,4±0.59
Магний	1,53±1.17	2,16±1.60	1,64±3.46
Фосфор	17,48±0.44	15,12±0.51	18,40±0.74
Цинк	0,05±0.86	0,08±2.20	0,04±0.41

результаты намного ниже. Овечье молоко отличается от козьего и коровьего молока не только высоким содержанием кальция, но также натрия и магния. Из полученных результатов видно, что овечье молоко содержит приблизительно в два раза большее количество натрия, чем козье и коровье молоко, содержание натрия в которых приблизительно одинаково. По сравнению с двумя другими видами молока коровье молоко содержит несколько большее количество калия.

Из данных, приведенных в табл. 4, видно, что по количественному содержанию витамина В₁ и В₂ овечье намного выше по сравнению с козьим и коровьим молоком. По содержанию витамина А коровье молоко уступает козьему и овечьему.

Таблица 4. Витаминный состав козьего, овечьего и коровьего молока

Витамины	Содержание витаминов в молоке, мг%		
	козье	овечье	коровье
В ₁	38,96	74,85	30,08
В ₂	156,12	417,66	180,37
А	381	465	146
Е	1717	1870	1855

Изучение показатели безопасности козьего и овечьего молока из полученных разных регионов Монголии

Определены токсичные элементы и радионуклиды и дать оценку безопасности козьего и овечьего молока.

Таблица 5. Показатели тяжелых металлов и пестициды козьего и овечьего молока

Вещества	Содержание, мг/кг, молоке		Допустимый уровень, мг/кг (л), не более
	Козье	Овечье	
Свинец	0,057	0,048	не более 0,1
Мышьяк	0,0024	0,012	не более 0,05
Кадмий	0,019	0,010	не более 0,03
Ртуть	0,004	0,003	не более 0,005
ГХЦГ- изомеры	0,008	0,008	не более 0,05
ДДТ и его Метаболиты	0,005	0,005	не более 0,05

Результаты анализа данных показали, что содержание исследуемых элементов во всех образцах молока не превышало предельно допустимых концентраций, установленных требованиями.

Таблица 6. Содержание радионуклидов козьего и овечьего молока

Вещества	Содержание, Бк/кг (л)		Допустимый уровень, Бк/кг (л)
	Козье	Овечье	
Стронций-90	0,48	0,33	25
Цезий-137	1,11	3,19	100

При определении содержания радионуклидов (табл. 6) козьего и овечьего молока были получены следующие результаты: содержание стронций-90 0,48, цезий-137 1,11 в козьем молоке, а в овечьем молоке 0,33; 3,19 соответственно. Следует отметить, что радионуклидов выше содержат в молоке овечьего сравнительно с козьим.

Таким образом, анализируя полученных данных, необходимо отметить, что этих видов сырья безопасным для производства продуктов питания.

Результаты исследований подтверждают большую ценность козьего и овечьего молока монгольского скота, безопасность использования в качестве сырья для производства продуктов питания, а также необходимость проведения дальнейших детальных исследований для обоснования параметров промышленной технологии продуктов профилактической направленности. Оценку качества козьего и овечьего молока проводили в соответствии с требованиями, предъявляемыми к коровьему молоку.

II. Выделение и идентификация штаммов молочнокислых бактерий и изучение их пробиотических свойств.

В Монголии готовят из молока от пяти видов животных (коровье, кобылье, козье, овечье, верблюжье) молочные продукты традиционным способом, что является одной из отличительных черт по сравнению с другими странами. Однако промышленным способом перерабатывается в основном коровье молоко, а молоко других видов животных используется для приготовления национальных молочных продуктов в небольшом объеме в индивидуальных хозяйствах.

В других странах для получения кисломолочных продуктов применяют стартовые культуры, состоящие из определенных штаммов бактерий, то для изготовления монгольских продуктов используют естественную закваски. Естественные закваски хранятся, возобновляются и распространяются по технологии, исходящей из давних времен. При этом в домашних условиях используется передаваемая из поколения в поколение жидкая закваска, микрофлора которой практически не изучена и не организовано собственное производство заквасок для кисломолочных продуктов в том числе функционального назначения.

В связи с этим выделение и идентификация штаммов, входящих в состав микрофлоры молочных продуктов, приготовленных по традиционной технологии, является актуальной задачей и исследование возможности использования в промышленных целях представляет научно-практический интерес.

Выделение и идентификация штаммов молочнокислых бактерий

Объектом нашего исследования были кисломолочные продукты, вырабатываемые по традиционному методу. Всего 88 образцов традиционных кисломолочных продуктов (тараг, хоормог, айраг, ааруул, бяслаг, ээзгий) были собраны из разных регионов Монголии.



Рисунок 2. Регионы сбора образцов молочных продуктов на карте Монголии; а – город Улаанбаатар, б – Алтанбулаг, Тов аймак, с – Мурен, Хубсугул аймак, д – Сайншанд, Дорноговь аймак, е – Омноговь аймак.

Анализ полученных, показал, что в национальный кисломолочных продуктах содержатся микроорганизмы и дрожжи: Выделены микроорганизмы: *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactococcus lactis ssp. lactis*, *Lactobacillus pentosus*, *Weissella confuse*, *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus. paracasei ssp. tolerans*, *Pediococcus parvulus*, *Lactobacillus. paracasei ssp. paracasei*, *Leuconostocitreum, mesenteroides*, *Weissellaviridescens*, *Lactobacillus sakei*, *Weissella confuse*, *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus buchri*, *Leuconostocitreum*, *Leuconostocgarlicum*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus faecium*, *Leuconostocmesenteroides*, *Bacillus lechiformis*, *Brevibacillusinvocatus* и дрожжи.

Идентификация молочнокислых бактерий

Для предварительной идентификации все колонии, выделенные с питательных сред MRS и GYP, окрашивали по Граму и тестировали на каталазную активность. Из образцов национальных молочных продуктов выделили 587 изолята, все они были грамположительными и каталазанегативными. Штаммы, которые были грампозитивными и каталазанегативными, отнесены к молочнокислым бактериям.

Штаммы, выделенные из вышеперечисленных национальных молочных продуктов, идентифицировали на основе 500 пар оснований цепи, начиная с 5' конца 16S-рибосомальной ДНК (16S rДНК).

Таблица 7. Количество выделенных штаммов из кисломолочных продуктов

Название продукта	Количество, выделенных штаммов молочнокислых бактерий	
	Количество	%
Тараг и хоормог	420	77,3
Айраг	67	12,3
Ааруул	41	7,6
Бяслаг	15	2,7

Большинство штаммов молочнокислых бактерий выделено из тарага и хоормога - 77,3%, а из айрага - 12,3%, из ааруула - 7,6%, из бяслага - 1,3% от общего количества всех выделенных штаммов.

462 штаммов были выделены из тарага и хоормога и классифицированы на 17 видов методом 16S-рибосомальной ДНК. Среди них выделены *L.delbrueckii ssp. bulgaricus*, *L. helveticus*, *L. fermentum*, *S. salivarius subsp. thermophilus*, которые были основными среди обнаруженных видов. При этом *L.delbrueckii ssp. bulgaricus* доминировал в тараге 36,2%. Как известно, полезной микрофлорой в типовых йогуртах является *L. delbrueckii ssp. bulgaricus* и *S. salivarius subsp. thermophilus*, которые производятся по схожей технологии. Поэтому тараг можно рассматривать как одинаковый с йогуртом тип кисломолочного продукта, но только с включением нехарактерных для йогурта микроорганизмов, что связано с национальными особенностями получения молочных продуктов в Монголии.

Из айрага были выделены 67 штаммов, и они классифицированы на 12 видов. Доминирующими видами штаммов в айраге были *L. helveticus*, *L. delbrueckii ssp. lactis*, *L. fermentum* и *Weissella*. Эти данные отличаются от сообщенных ранее работах (Uchida и др., 2007 и Watanabe и др., 2008).

Из ааруула выделены 41 штамма, которые классифицированы на 10 видов, наиболее часто обнаруживаемым видом был *L.fermentum* (26,8 %). Из бяслага были выделены 15 штаммов.

Доминирующими представителями LAB в ааруул являлись *L. fermentum*, *L. helveticus*, *L. buchneri* и *W. confuse*, в то время как из бяслаге доминировали *L. delbrueckii ssp. lactis* и *L.lactis spp.lactis*.

Обнаружено, что в аарууле присутствуют гомоферментативные молочнокислые бактерии *L. helveticus* и *L. delbrueckii ssp. lactis*, а также гетероферментативные молочнокислые бактерии *L. fermentum*, *L. buchnerii* и *W. confuse*, в то время как из бяслаге доминировали *L. delbrueckii ssp. lactis* и *L. lactis spp. lactis*. Есть вероятность того, что гетероферментативные молочнокислые бактерии в аарууле могли быть внесены из внешней среды, так как по традиционной технологии ааруул изготавливают кипячением тарага и последующей сушкой на солнце.

В бяслаге доминировали *L. delbrueckii ssp. lactis* и *L. lactis spp. lactis* в количестве 25% каждая.

Большинство выделенных штаммов отнесено к следующим таксономическим группам: *Lactobacillus. delbrueckii ssp. bulgaricus*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus fermentum*, *Streptococcus thermophilus*. Представленные результаты идентификации штаммов микроорганизмов из продукта с одним названием, но полученного на основе молока разных сельскохозяйственных животных свидетельствуют и о разнообразном составе присутствующей в них микрофлоры. Это можно объяснить тем, что культура и получение монгольских молочных продуктов различны, а поэтому они могут включать потенциально необычные микроорганизмы. Результаты проведенных исследований позволяют заключить, что доминирующими видами молочнокислых бактерий в тараге и хоормоге являются *L. delbrueckii ssp. bulgaricus*, *L. helveticus*, *L. fermentum* и *S. thermophilus*, которые были основными среди обнаруженных видов.

Проверка выделенных штаммов на пробиотическую активность

Выделенные штаммы молочнокислых бактерий из монгольских молочных продуктов были проверены на пробиотическую активность. Одной из важнейших характеристик, применяемых при отборе пробиотических штаммов, является их резистентность к желудочному соку и желчным кислотам. Выживаемость бактерий в искусственном желудочном соке анализировали путем проведения теста на толерантность к желчным кислотам путем выращивания в GYP бульоне, содержащем 0,2 % бычьей желчи.

Результаты исследований показали, что из 587 исследованных штаммов только 126 росли в среде бульона с добавлением 0,25 % желчи, т.е. были толерантны к желчным кислотам. Далее эти штаммы были тестированы на толерантность к желудочному соку. Считали, что штаммы толерантны к желудочному соку, если после их инкубации в течение 3 часов с 0,04 % пепсином (рН 3,0) количество клеток составляло не менее

7 log КОЕ/мл. Из 126 штаммов, толерантных к желчным кислотам, 114 были толерантны к желудочному соку.

К важнейшей характеристической особенности пробиотических бактерий относят их адгезивную способность. Порогом адгезии считали, что количество прикрепленных клеток к эпителию должно составлять $5,0 \times 10^4$ КОЕ/мл. 42 штамма, проявляющих гомоферментативные свойства, были тестированы на адгезивность к Сасо-2 клеткам. Установлено, что 10 штаммов с числом колоний от $7,0 \times 10^3$ до $7,5 \times 10^4$ КОЕ/мл и штамм *L. plantarum* 05DTS23 имели наивысшие значения адгезии к Сасо-2 клеткам.

Таблица 8. Результаты изучения пробиотических свойств штаммов, выделенных из национальных молочных продуктов Монголии

Наименование штаммов	Количество	Выживаемость в желчи	Толерантность к низкому pH	Газообразование (-)	Адгезия на Сасо-2 клетках
<i>Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus</i>	155	8	2	2	0
<i>Lactobacillus helveticus</i>	115	0			
<i>Lactobacillus fermentum</i>	78	50	50	0	
<i>Streptococcus thermophilus</i>	43	5	0		
<i>Enterococcus durans</i>	17	0			
<i>Weissella confuse</i>	16	16	16	0	
<i>Lactococcus lactis ssp. lactis</i>	20	2	2	2	0
<i>Lactobacillus buchneri</i>	7	1	1	0	
<i>Lactobacillus kefir</i>	10	0			
<i>Lactobacillus plantarum</i>	11	11	11	11	5
<i>Lactobacillus pentosus</i>	13	9	9	9	0
<i>Lactobacillus delbrueckii ssp. lactis</i>	21	2	2	2	1
<i>Pediococcus parvulus</i>	5	5	5	5	0
<i>Enterococcus faecium</i>	5	0			
<i>Weissella viridescens</i>	6	6	6	0	
<i>Lactobacillus paracasei ssp. torelans</i>	6	5	5	5	2
<i>Lactobacillus paracasei ssp. paracasei</i>	4	4	4	4	2
<i>Lactobacillus sakei</i>	2	2	2	2	0
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	2	0			
<i>Leuconostoc citreum</i>	6	0			
<i>Leuconostoc garlicum</i>	1	0			
	587	125	114	42	10

Из исследованных 587 штаммов 148 обладали толерантностью к желчным кислотам, 114 – толерантностью к желудочному соку, 10 – способностью адгезироваться на Сасо-2 клетках кишечника человека. При этом самые хорошие результаты по всем исследованным показателям были обнаружены у штаммов *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei*, *Lactobacillus paracasei ssp. tolerans*, выделенных из разных образцов национальных молочных продуктов.

Таблица 9. Характеристика молочнокислых бактерий, тестируемых на пробиотическую активность

Штаммы	Толерантность к желчным кислотам (%)	Выживаемость при низких pH	Адгезия на Сасо-2 клетках	Продукты	Молоко
<i>L. plantarum</i>	97.0	8.1	75.0	айраг	кобыла
<i>L. plantarum</i>	88.9	8.2	7.0	тараг	верблюды
<i>L. paracasei ssp. paracasei</i>	87.9	8.0	11.0	тараг	верблюды
<i>L. paracasei ssp. paracasei</i>	92.6	8.0	12.0	тараг	верблюды
<i>L. paracasei ssp. tolerans</i>	87.4	7.3	18.0	тараг	верблюды
<i>L. plantarum</i>	85.4	7.7	13.0	тараг	верблюды
<i>L. paracasei ssp. paracasei</i>	85.6	7.0	16.0	тараг	верблюды
<i>L. plantarum</i>	97.0	8.7	13.0	ааруул	корова
<i>L. delbrueckii ssp. lactis</i>	83.0	8.5	27.0	тараг	корова
<i>L. plantarum</i>	92.6	8.0	8.0	ааруул	корова

* Процент выживших колоний в GYP бульоне, содержащем 0,2 % бычьей желчи по сравнению с контролем; ** Число выживших колоний LAB после обработки 0,04 % пепсином при pH 3,0 в течение 3 часов; *** Число выживших колоний LAB, адгезированных на Сасо-2 клетках после инкубации.

Углеводный профиль штаммов LAB, выбранных в качестве пробиотиков

Известно, что микроорганизмы отличаются друг от друга по биохимическим свойствам – способности метаболизировать питательные вещества, антибиотические вещества, различные кислородсодержащие органические соединения, такие как углеводы, сахара, спирты и органические кислоты, синтезировать ферменты, белки, аминокислоты и витамины. Изучение физиолого-биохимических свойств бактерий позволяет разделять их с помощью специальных питательных сред, выявлять их видовую принадлежность и разделять по штаммам. Это актуально для чистых культур, молочнокислых и других видов бактерий, используемых в пищевой промышленности.

Выделенные штаммы с высокой адгезивной способностью были проанализированы по способности к сбраживанию углеводов. Полученные данные приведены в Табл. 10.

Таблица 10. Углеводный профиль штаммов LAB, выбранных в качестве пробиотиков

№	05DTS23	06TSD8	06TSD19	06TSD22	06TSD39	06TSD40	06TSD43	06LH2	06DTS3	06LH9
Углеводы	1	1	2	2	2	1	2	1	3	1
D-Арабиноза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-Арабиноза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Рибоза	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
D-Кислота	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L- Кислота	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Галактоза	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
D-Глюкоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-Фруктоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-Манноза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
L-Рамноза	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-Маннитол	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
D-Сорбитол	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Амигдалин	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Эскулин	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Салицин	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
D-Целлобиоза	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
D-Мальтоза	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
D-Лактоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-Мелибиоза	+	+	-	-	-	+	-	+	-	+
D-Сахароза	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
D-Трегалоза	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-Мелизитоза	+	+	+	+	+	-	+	-	-	+
D-Рафиноза	-	-	-	-	-	+	-	+	-	+
Глюконат	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+
Крахмал	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Примечание: 1 – *L. plantarum*; 2 – *L. paracasei ssp. paracasei*; 3 – *L. delbrueckii ssp. lactis*; + позитивный; –негативный.

Результаты идентификации изучаемых штаммов молочнокислых бактерий, за исключением 06TSD39 штамма, совпадали с результатами 16S-рибосомальной ДНК.

Дифференциация LAB штаммов, выбранных в качестве пробиотиков

Для определения возможности применения вновь выделяемых штаммов молочнокислых бактерий в технологии молочных продуктов следует очень тщательно проверять все их характеристики. Интересным представлялось определение гомологии между штаммами молочнокислых бактерий, отнесенных к одному виду, выделенных из одинаковых продуктов и одного места происхождения.

Проведен RAPD-ПЦП анализ для определения гомологии между LAB штаммами, выделенными из одинаковых продуктов, из одного места и происхождения, в частности между *L. plantarum* 06TSD8 – *L. plantarum* 06TSD40, *L. plantarum* 06LH2 - *L. plantarum* 06LH9, *L. paracasei* spp. *paracasei* 06TSD19 - *L. paracasei* spp. *paracasei* 06TSD22 - *L. paracasei* spp. *paracasei* 06TSD43. На основе этого метода штаммы 06TSD8-06TSD40, 06LH2-06LH9 и 06TSD19-06TSD22-06TSD43.

Анализ полученных результатов с применением этого метода позволяет сделать заключение, что штаммы 06TSD8 – 06TSD40, 06LH2 – 06LH9 и 06TSD19 – 06TSD22 – 06TSD43 могут представлять индивидуальные изоляты (Рис. 3).

Результаты исследований показали, что штаммы 06TSD8 и 06TSD40, выделенные из хоормога, изготовленного из верблюжьего молока местности Сайншанд Дорноговь региона, и штаммы 06LH2 и 06LH9, выделенные из тарага, изготовленного из коровьего молока местности Алтанбулаг Тов аймака, относятся к *L. plantarum*. Штаммы 06TCA19, 06TSD22 и 06TSD43, выделенные из хоормога, изготовленного из верблюжьего молока местности Сайншанд Дорноговь региона, относятся к *L. paracasei* spp. *paracasei*.

Основной и полезной микрофлорой в типовых йогуртах является *L. delbrueckii*ssp. *bulgaricus* *S. thermophilus*. Технология производства тарага идентична технологии производства йогурта. На основе результатов проведенных исследований можно заключить, что доминирующими видами молочнокислых бактерий в тараге являются *L. delbrueckii*ssp. *bulgaricus*, *L. helveticus*, *L. fermentum* *S. thermophilus*. Поэтому тараг и йогурт можно рассматривать как одинаковый тип молочного продукта. Поскольку культура получения молочных продуктов в Монголии отличается от производства в других странах, они могут включать нехарактерные для йогурта микроорганизмы.

В результате проведенных исследований выявлено, что доминирующими видами молочнокислых бактерий в айраге были *L. helveticus*, *L. delbrueckii*ssp. *lactis*, *L. fermentum*. Нами обнаружено, что в ааруле присутствуют гомоферментативные молочнокислые бактерии *Lac. helveticus* *L. delbrueckii*ssp. *lactis*, а также гетероферментативные молочнокислые бактерии *L. fermentum*, *L. buchnerii* *W. confuse*.

В бяслаге доминировали *L. delbrueckii* ssp. *lactis* и *L. lactis* spp. *lactis*.

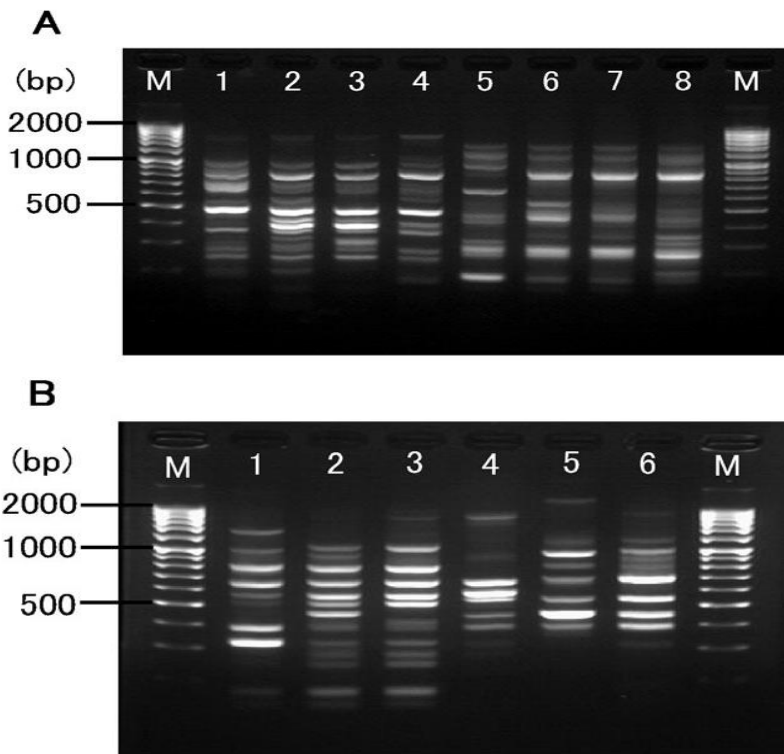


Рисунок 3. Профили семи изолятов молочнокислых бактерий при проведении ПЦР со случайной амплификацией: а – дорожка 1, 2, 5 и 6 – использован праймер р7, дорожка 3, 4, 7 и 8 – использован праймер р11, дорожка М – маркер ДНК, дорожка 1 и 3 – 06TSD8, дорожка 2 и 4 – 06TSD40, дорожка 5 и 7 – 06LN2, дорожка 6 и 8 – 06LN9; б – дорожка 1, 2 и 3 – использован праймер АТ41, дорожка 4, 5 и 6 – использован праймер ВТ05, дорожка М – маркер ДНК, дорожка 1 и 4 – 06TSD19, дорожка 2 и 5 – 06TSD22, дорожка 3 и 6 – 06TSD43.

Есть вероятность того, что гетероферментативные молочнокислые бактерии в ааруле могли быть внесены из внешней среды, так как по традиционной технологии ааруул изготавливают кипячением тарага и последующей сушкой на солнце.

Эзгий изготавливают кипячением и упариванием на медленном огне створоженного молока с последующим дроблением стустка и сушкой на солнце. Вероятно, из-за продолжительного высокотемпературного технологического процесса приготовления в эзгий молочнокислых бактерий не обнаружили.

Установлено, что 6 из 10 штаммов молочнокислых бактерий, выделенных из хоормога, обладают пробиотической активностью. Из 54 молочнокислых бактерий, идентифицированных как *L. plantarum* или *L. paracasei* ssp., 10 выделены из хоормога, изготовленного из верблюжьего молока.

Таким образом, выделенные и идентифицированные штаммы молочнокислых бактерий, обладающие пробиотическими свойствами, можно рекомендовать для включения в коллекцию микроорганизмов Монголии и создания заквасок, применяемых в производстве кисломолочных продуктов.

Новые штаммы микроорганизмов, выделенные из монгольских национальных кисломолочных продуктов, послужат основой создания национальной коллекции культур микроорганизмов в Монголии и использование их в составе заквасок для промышленного производства кисломолочных продуктов, в том числе обладающих функциональными свойствами.

III. Научное и экспериментальное обоснование принципов подбора культур микроорганизмов для закваски и продуктов

В настоящее время в Монголии на производственных предприятиях и в цехах по переработке молока используют закваски импортного производства, контроль качества и безопасность которых не всегда удается осуществить компетентным органам.

Поэтому создание отечественной индустрии по производству заквасочных культур, которые могут быть использованы при производстве кисломолочных продуктов, является актуальным для молочной промышленности Монголии.

В приготовления закваски использовали 10 штаммов: *L. paracasei* subsp. *paracasei* (06TSD19), *L. paracasei* subsp. *tolerans* (06TSD39), *L. delbrueckii* subsp. *lactis* (06DTS3), *L. plantarum* (05DTS23), *L. plantarum* (06TSD8), *L. paracasei* (06TSD22), *L. plantarum* 06TSD40, *L. paracasei* (06TSD43), *L. plantarum* (06LH2), *L. plantarum* (06LH9) с пробиотическими свойствами, а также 4 штамма: *Lactobacillus fermentum*, *Str. salivarius* subsp. *thermophilus*, *L. Helveticus*, *L. delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, наиболее перспективные для использования в молочной промышленности, выделенные из национальных молочных продуктов.

Научно обоснован подбор микроорганизмов для создания заквасок, наиболее часто используемых в молочной промышленности. Для

приготовления закваски использовались штаммы молочнокислых бактерий *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* TSI/1216, *Lactobacillus helveticus* TSDI/11, *Lactobacillus fermentum* DTS/143.

Сухие штаммы активизировали путем культивирования на молоке. Активизацию культур проводили в соответствии с разработанным способом

Из лабораторной закваски, хранившейся после приготовления при температуре 0-6 °С, готовили производственную закваску.

При изготовлении производственной закваски лабораторную закваску вносили в стерилизованное молоко в различном количестве (3%, 5% и 8%) от общего объёма молока. Ферментацию заквасок проводили при температуре 38, 42 и 45 °С для *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* TSI/1216, *Lactobacillus helveticus* TSDI/11, *Lactobacillus fermentum* DTS/143 соответственно. Измерение pH производили через каждые 2 ч, и по достижении pH 4,6, закваску ставили на охлаждение. В процессе ферментации определяли активную кислотность, устанавливали время ферментации.

В Табл.11 приведены данные по времени заквашивания в зависимости от количества вносимой закваски и вида молочнокислых микроорганизмов.

Таблица 11. Влияние вида и дозы культуры в процессе ферментаций производственной закваски

Закваска состоящая из:	Доза закваски %	Время ферментации, ч		Момент образования сгустка	
		2 ч	4 ч	pH	Продолж. фермент.ч
		pH	pH		
<i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i> TSI/1216	3	6,1±0.04	5,2±0.15	4,7±0.09	5,3
	5	5,1±0.13	4,9±0.05	4,6±0.00	5,1
	8	5,9±0.10	4,8±0.03	4,7±0.08	5,0
<i>Lactobacillus helveticus</i> TSDI/11	3	5,3±0.04	4,7±0.00	4,6±0.01	4,0
	5	4,9±0.05	4,8±0.10	4,6±0.09	3,6
	8	5,0±0.01	4,7±0.30	4,6±0.02	3,4
<i>Lactobacillus fermentum</i> DTS/143	3	5,6±0.02	4,9±0.66	4,7±0.10	5,4
	5	5,3±0.10	5,1±0.48	4,6±0.05	5,3
	8	5,2±0.12	4,9±0.60	4,6±0.01	4,3

Как видно из таблицы, по времени ферментация *Lactobacillus helveticus* TSDI/11 обладает наиболее высокой активностью по сравнению с другими штаммами.

Исходя из органолептических показателей закваски и времени сквашивания, для приготовления производственной закваски были

выбраны три образца из пересадочной закваски. Производственную закваску готовили с внесением различного количества пересадочной закваски: первый образец *Lactobacillus helveticus* TSDI/11 вносили в количестве 3% и 5%, второй образец *Streptococcus salivarius* subsp. *thermophilus* TSI/1216 – 5% и 8% и третий образец *Lactobacillus fermentum* DTS/143 – 5% и 8% от общего объема молока.

Сквашивание закваски производили при температуре 38–45 °С. Измерение pH производили через каждые 2 ч до pH 4,6, после чего закваску охлаждали. Результаты эксперимента приведены в Табл. 12.

Таблица 12. Влияние вида и дозы культур в процессе ферментации производственной закваски

Закваска, состоящая из:	Доза массовая доля закваски, %	Момент образования сгустка	
		pH	Продолжительность ферментации, ч
<i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i> TSI/1216	5	4,6±0.01	5,5
	8	4,7±0.11	4,9
<i>Lactobacillus helveticus</i> TSDI/11	3	4,7± 0.09	4,1
	5	4,7± 0.01	3,6
<i>Lactobacillus fermentum</i> DTS/143	5	4,7± 0.17	5,3
	8	4,6±0.04	4,3

Ферментировали при 38–45 °С до образования сгустка с pH 4.6. Закваски вносили в нормализованное молоко в количестве 3–8 % от объема (в зависимости от вида закваски).

Таким образом, для приготовления производственной закваски необходимо вносить в стерилизованное или пастеризованное обезжиренное молоко 3–8 % лабораторной закваски и проводить сквашивание в течение 4–6 ч.

Выбор штаммов пробиотиков МКБ для использования в молочных продуктах. Для этого исследовали 10 штаммов МКБ на формирование сгустка, pH, способность отбраковывать молочную кислоту, и количество живых бактерий в продуктах ферментации обезжиренного молока

Использование штаммов молочнокислых бактерий с пробиотическими свойствами в тесте на ферментацию

Основные биохимические и микробиологические изменения в молоке при производстве кисломолочных продуктов вызваны микроорганизмами, входящими в состав заквасок для этих продуктов. Поэтому большое внимание в последнее время уделяется подбору определенных штаммов микроорганизмов с пробиотическими свойствами (т.е. пробиотикам).

Ранее нами выделены штаммы МКБ из национальных молочных

продуктов Монголий и исследованы их устойчивость к низким значениям рН, желчным кислотам, способность к адгезии к Caco-2 клеткам, что дало основание предположить об их пробиотическом действии (Sh. Takeda, Tsend-Ayush.Ch *et al.*, 2011).

Как известно, пробиотики должны проявить свою активность в кишечнике. В настоящей работе проведены исследования МКБ, выделенных из национальных молочных продуктов Монголий, в процессе ферментации, определены рН, концентрация молочной кислоты и число живых микроорганизмов.

Выбор штаммов пробиотиков МКБ для приготовления закваски

Пробиотические штаммы МКБ, используемые для приготовления закваски должны обладать хорошим потенциалом роста и иметь высокое количество живых бактерий.

Для этого исследовали 10 штаммов МКБ на формирование сгустка, рН, способность отбраковывать молочную кислоту, и количество живых бактерий в продуктах ферментации обезжиренного молока.

Для проведения теста на ферментацию в обезжиренном молоке штаммы микроорганизмов культивировали в среде MRS при температуре 37 °С в течение 24 ч. Образование сгустка прослеживалось визуально. Число образующих колонии бактерий в ферментированном молоке просчитывали после посева.

В качестве основных критериев исследования биотехнологического потенциала выбраны: титруемая и активная кислотность; накопление молочной кислоты; количество клеток и образование сгустка. Результаты исследования приведены в Табл. 13.

Из данных таблиц видно, что при всех используемых заквасках в конце ферментации количество жизнеспособных клеток составляет 7,1–8,9 log₁₀ КОЕ/мл. По сравнению с другими штаммами *L. paracasei* 06TSD19, *Lactobacillus paracasei subsp. tolerans* 06TSD39, и *Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis* 06DTS3 образовывали сгусток и обладали большей кислотообразующей способностью. При этом способность накапливать молочную кислоту была выше для двух штаммов *L. paracasei subsp. paracasei* (06TSD19, 06TSD39).

Кроме этого закваски, приготовленные с использованием штаммов *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* 06TSD19 и *L. paracasei subsp. tolerans* 06TSD39 по сравнению с другими заквасками, имели наибольшее количество жизнеспособных клеток и характеризовались более приятным вкусом и ароматом, имели нежную консистенцию.

Эти результаты показывают целесообразность использования закваски приготовления из штамма (*L. paracasei subsp. paracasei* 06TSD19), (*L. paracasei subsp. tolerans* 06TSD39 и *L. delbrueckii subsp. lactis* 06DTS3 для производства ферментированных продуктов, а именно йогурт.

Таблица 13 – Сравнительная характеристика штаммов микроорганизмов на формирование сгустка, накопление молочной кислоты, изменение pH и количество клеток

Штаммы МКБ	Активная кислотность сгустка	Концентрация молочной кислоты, %	Количество клеток, \lg_{10} КОЕ/мл	Образование сгустка
Контроль (обезжиренное молоко)	6,58±0,02	0,128±0,004	–	–
<i>L. paracasei subsp. paracasei</i> 06TSD19	4,81±0,26	0,533±0,080	8,9±0,1	+
<i>L. paracasei subsp. tolerans</i> 06TSD39	5,05±0,12	0,453±0,021	8,6±0,1	+
<i>L. delbrueckii subsp. lactis</i> 06DTS3	3,80±0,08	1,091±0,131	8,1±0,2	+
<i>L. plantarum</i> 05DTS23	6,31±0,06	0,157±0,003	7,1±0,1	–
<i>L. plantarum</i> 06TSD8	6,33±0,06	0,159±0,003	7,3±0,1	–
<i>L. paracasei paracasei</i> 06TSD22	5,12±0,10	0,420±0,048	8,1±0,2	–
<i>L. plantarum</i> 06TSD40	6,35±0,05	0,148±0,004	7,3±0,2	–
<i>L. paracasei paracasei</i> 06TSD43	5,25±0,10	0,403±0,048	8,7±0,1	–
<i>L. plantarum</i> 06LH2	6,37±0,05	0,151±0,005	7,2±0,1	–
<i>L. plantarum</i> 06LH9	6,12±0,04	0,183±0,006	7,3±0,1	–

Примечание: Начальное количество бактерий: 6.7 ± 0.2 (\log_{10} КОЕ/мл); Значения выражены как среднее \pm стандартное отклонение. + положительный; – негативный.

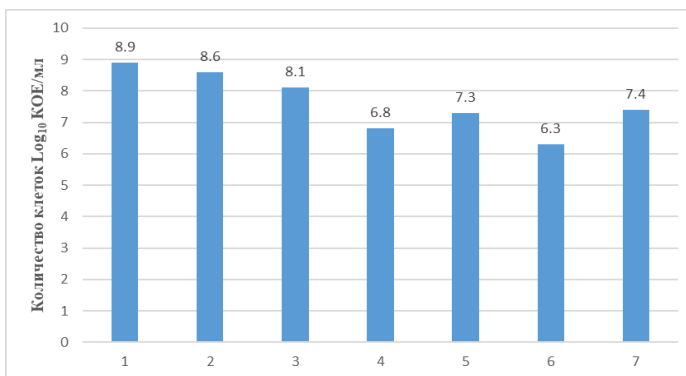


Рисунок 6.2.1 – Количество клеток молочнокислых микроорганизмов в образцах заквасок: 1. *L. paracasei subsp. paracasei* (06TSD196); 2. *L. paracasei subsp. tolerans* (06TSD396); 3. *L. delbrueckii subsp. lactis* (06DTS36); 4. *L. fermentum* (DTS/143); 5. *S. salivarius subsp. thermophilus* (TSL/1216); 6. *L. helveticus* TSD1/11; 7. *L. fermentum*

Штаммы *Lactobacillus paracasei*, *Lactobacillus casei* и *Lactobacillus rhamnosus* используются как пробиотики (Collins et al., 1991). Эксперименты на добровольцах продемонстрировали, что при пероральном применении некоторые из исследованных видов обладали высокой выживаемостью, заселяли кишечный тракт и улучшали микрофлору кишечника человека (Matsumoto et al., 2006; Nishida et al., 2008; Verdenelli et al., 2011).

Всего 7 изолятов молочнокислых бактерий, кислотообразующая способностью отобранных для приготовления продуктов функционального назначения.

Приготовление комбинированных заквасок

В связи с вышеизложенным наши дальнейшие исследования посвящены созданию комбинированной закваски, состоящей из разных видов молочнокислых бактерии, выделенных национальных молочных продуктов.

В ходе технологического исследования по получению заквасок с применением молочнокислых бактерий, выделенных из национальных молочных продуктов, *L. fermentum* проявил наилучшие качества. Поэтому для дальнейших исследований для приготовления всех видов комбинированной закваски была выбрана данная культура.

Из отдельных заквасочных культур готовили комбинированные закваски, состоящие из заквасочных культур в соотношении 1:1; 1:1:1.

IV. Разработка технологии пробиотических, синбиотических и белковых продуктов на основе козьего, овечьего и коровьего молока

Одним из выдающихся достижений конца XXI века является разработка принципиально новой концепции «пробиотики и функциональное питание», затрагивающей многие фундаментальные и прикладные аспекты здоровья человека, медицины, нутрициологии и биотехнологии.

В последние годы проблема здорового питания очень актуальна. В связи со снижением иммунитета, различными стрессовыми ситуациями, ухудшением экологической обстановки население больших городов в том числе Улан-Баторе, подвергается риск таких заболеваний, как атеросклероз, сахарный диабет, остеопороз, заболеваний желудочно-кишечного тракта и другие.

В этой связи создание новых продуктов функционального назначения актуально для Монголии, тем более что в мире наблюдается тенденция роста потребления продуктов функционального питания, в том числе пробиотических, для предупреждения желудочно-кишечных заболеваний и укрепления общего состояния организма.

Разработка технологии кисломолочных продуктов на основе козьего молока

В настоящее время широкое распространение получили пробиотические продукты, вырабатываемые на основе бифидобактерий и ацидофильной палочки.

Совместное культивирование бифидобактерий с лактобактериями, в частности с ацидофильной палочкой, ускоряет развитие бифидобактерий и улучшает органолептические свойства продукта.

Комбинированные закваски обладают высокой активностью и устойчивостью к неблагоприятным факторам среды в сравнении с заквасками, приготовленными на отдельных культурах. В связи с этим нами проведены исследования по созданию комбинированной закваски, состоящей из бифидобактерии ВВ-12 и ацидофильной палочки АВТ-2. Оптимальное сочетание культур в комбинированной закваске устанавливали с учетом активности кислотообразования, количества жизнеспособных клеток, продолжительности образования сгустка, а также органолептических показателей.

Как показывают данные табл. 14, наиболее благоприятные условия для развития бифидобактерий отмечены в третьем варианте (соотношении культур 8:1), где наблюдается наибольшее количество жизнеспособных клеток бифидобактерий.

Таблица 14. Выбор оптимального соотношения культур в комбинированной закваске

Вариант закваски	Продолжительность сквашивания, ч	Кислотность, °Т	рН	Количество клеток в 1 см ³ , к.о.е.	
				Бифидобактерии ВВ-12	ацидофильной палочки АВТ-2
2:1	4.5	73-78	4.64	7x10 ⁷	4x10 ⁹
5:1	6.0	70-75	4.72	5x10 ⁸	3x10 ⁸
8:1	6.5	60-65	4.80	3 x 10 ⁹	2x10 ⁸

При выбранном соотношении культур наблюдалось наибольшее количество жизнеспособных клеток бифидобактерий и продукт при этом характеризовался хорошими органолептическими показателями.

Технология получения кисломолочного продукта с использованием различных заквасок.

Для приготовления кисломолочных продуктов козье молоко стерилизовали при 90-95°C с выдержкой 10 мин, охлаждали до 42°C и вносили закваску из ацидофильной палочки АВТ-2 (в количестве 3%). При использовании бифидобактерии ВВ-12, а также комбинированной закваски закваску вносили при 37±1°C в количестве 10% в обоих вариантах.

При выработке продукта окончание процесса ферментации козьего

молока определяли по нарастанию их кислотности до 55 °Т, 78 °Т, 65 °Т – для варианта с применением бифидобактерии, ацидофильной палочки и комбинированной закваски соответственно. Продолжительность ферментации молока составляла для вышеперечисленных заквасок 9 ч., 4-4,5 ч. и 8-9 ч. соответственно.

Как известно, бифидобактерии и ацидофильная палочка обладают различной биохимической активностью, что проявляется в процессе ферментации молока. Так сокращение продолжительности сквашивания молока, отмечено при использовании ацидофильной палочки по сравнению с бифидобактериями. При этом время ферментации сократилось до 4-4,5 ч. и титруемая кислотность повысилась до 78 °Т. Это объясняется более высокой биохимической активностью ацидофильной палочки.

Обобщая полученные результаты можно сделать вывод, что козье молоко является благоприятной средой для развития бифидобактерий, ацидофильной палочки и комбинированной закваски.

Изучены физико-химические и микробиологические показатели кисломолочных продуктов, полученных с применением трех вариантов заквасок.

Готовые кисломолочные продукты, приготовленные на основе козьего молока, с применением трех заквасок характеризуются низкой кислотностью и содержат высокое количество жизнеспособных клеток. Кроме того, продукты во всех трех вариантах имели нежную однородную консистенцию.

Биологическая ценность кисломолочных продуктов.

Качество продуктов питания характеризуется их химическим составом, физическими свойствами, а также пищевой и биологической ценностью. При этом биологическая ценность является ведущим показателем качества, так как определяет степень соответствия продуктов питания оптимальным потребностям человека по физиологическим нормам.

Как известно, биологическая ценность отражает, в основном, качество белковых компонентов продукта и степень сбалансированности его аминокислотного состава.

Аминокислотный состав кисломолочных продуктов из козьего молока, полученных с применением заквасок на основе культуры бифидобактерии ВВ-12 и ацидофильной палочки АВТ-2, а также комбинированной закваски приведен рис 5.

Представленные в рисунке 2, данные показывают, что кисломолочный продукт с применением комбинированной закваски характеризуется более высоким содержанием таких аминокислот, как валин, лейцин, пролин, серин, гистидин, изолеуцин, триптофан и глутаминовая кислота.



Рисунок 5. Аминокислотный состав кисломолочных продуктов на основе козьего молока

Биологическая ценность белков в значительной степени характеризуется составом незаменимых аминокислот по сравнению с «идеальным» белком ФАО/ВОЗ. Для оценки биологической ценности кисломолочных продуктов был рассчитан их аминокислотный скор, результаты приведены в Табл. 15.

Таблица 15. Биологическая ценность кисломолочных продуктов на основе козьего молока, полученных с применением различных заквасок

Аминокислоты	Аминокислотный скор кисломолочных продуктов, %		
	с ацидофильными палочками АВТ-2	с бифидобактериями ВВ-12	с комбинированной закваской
Валин	122,6	108,0	133,7
Лейцин	143,6	140,5	124,0
Изолейцин	109,6	104,5	145,6
Лизин	134,2	130,1	131,2
Метионин+ цистин	115,1	110,2	118,9
Треонин	133,5	122,6	133,7
Триптофан	144,3	156,0	124,0
Фенилаланин + тирозин	145,2	137,3	145,6

Данные, представленные в табл. 15 свидетельствуют, что кисломолочных продукты, полученные с использованием всех трех вариантов заквасок,

хорошо сбалансированы по содержанию незаменимых аминокислот и, следовательно, обладают высокой биологической ценностью.

Таким образом, проведенные нами экспериментальные исследования позволили научно обосновать основные технологические параметры производства кисломолочных продуктов на основе козьего молока.

Разработка технологии кисломолочных продуктов с использованием новых видов заквасок

Проведенные исследования позволили разработать технологию производства кисломолочных продуктов с использованием новых видов заквасок.

Кисломолочные продукты приготавливались по традиционному технологическому регламенту: в качестве сырья использовали сухое нежирное коровье молоко. Для нормализации жира использовали свежие сливки. Нормализованное молоко имело следующий состав: жир - 3.5%, белки - 3.1 %; лактоза - 4.5 %; сухие вещества - 12.3%.

Для уточнения технологических параметров получения кисломолочных продуктов, произведенных с новыми заквасками, штаммы которых выделены из Монгольских кисломолочных продуктов, изучали их процесс ферментации (по сравнению с контрольным образцом, выработанным с использованием заквасочной культуры ТСС-3).

Сквашивание производили при температурах 40⁰С (новые культуры) и 42⁰С (контрольный образец).

Закваски вносили в нормализованное молоко в количестве 5% от объема. Ферментацию заканчивали по достижении рН 4,6. Измерение рН проводили каждые два часа.

Далее в полученных продуктах определяли физико-химические, микробиологические показатели и их структурно-механические свойства. Также проведены тесты на ангиотензин превращающий фермент (Angiotensin Converting Enzyme) и антиоксидантный эффект (Antioxidant effect).

Из данных, представленных в Табл. 16 видно, что продукты, приготовленные закваски с использованных молочнокислых бактерий, выделенных из Монгольских национальных молочных продуктов, обладают высокой кислотообразующей активностью. Это позволило использовать их в восстановленном молоке, но и на свежем коровьем молоке.

Разработка технологии мягкого сыра из козьего молока с использованием заквасочной микрофлоры с пробиотическими свойствами

В настоящее время в мире четко проявляется тенденция применения различных сырьевых ресурсов молочного сырья, в частности более

Таблица 16. Физико-химические и микробиологические показатели кисломолочных продуктов

Наименование показателя	Характеристика кисломолочных продуктов, используемых следующих видов заквасочной культуры					
	<i>S. thermophilus</i> : <i>b. helveticus</i>	<i>S. thermophilus</i> : <i>L. fermentum</i>	<i>S. thermophilus</i> : <i>L. helveticus</i> : <i>L. fermentum</i>	<i>L. delbrueckii</i> lactis; : <i>Lac.</i> fermentum	<i>S. thermophilus</i> ; : <i>L. delbrueckii</i> ssp. bulg	<i>S. thermophilus</i> : <i>L. bulg</i> (контроль)
Массовая доля сухих веществ, %	11,8	12,0	11,5	12,1	12	11,7
Массовая доля жира, %	2,3	2,3	2,4	3,2	3,9	2,6
Массовая доля белка, %	3,4	3,0	3,3	3,2	3,9	2,7
Массовая доля лактозы, %	3,70	3,7	3,8	3,7	3,7	3,8
Активная кислотность, ед. рН	4,4	4,4	4,3	4,5	4,3	4,6
Титруемая кислотность, °Т	82	78	80	82	78	78
Количество клеток, КОЕ/ см ³	1x10 ⁶	8x10 ⁶	2x10 ⁶	5x10 ⁷	3x10 ⁷	3x10 ⁶
Активность ангиотензин превращающего фермента	84,29	78,41	59,76	73,72	82,2	76,10
Антиоксидантный тест	5,8	27,80	24,70	12,63	14,5	27,26
Продолжительность сквашивания, ч	4-5	4-5	5-6	4-5	4-5	5

широкого использования козьего молока для производства сыров и продуктов детского и лечебного питания.

Рациональное использование козьего молока может вносить вклад в благосостояние сельского населения за счет продажи молока по экономически обоснованным ценам и реализации продукции из него. С использованием козьего молока проводили исследования по разработке технологии мягкого сыра.

На основании полученных результатов исследований разработана биотехнология мягкого сыра из козьего молока.

Технологический процесс производства мягкого сыра

В подготовленное для созревания молоко - пастеризованное при $(75\pm 2^\circ\text{C})$ выдержкой (3-5) мин и охлажденное до $(10-12^\circ\text{C})$ - вносят от 0.1 до 0.3% закваски, перемешивают и выдерживают при указанной температуре в течение (12-24) часов. Титруемая кислотность молока в конце созревания должна составлять не более 23°T , активная - 6.3 единиц рН.

Нормализацию молока по жиру проводят с учетом получения в сыра массовой доли жира 45 и 50 % в зависимости от вида сыра. Молоко пастеризуют $(74\pm 2^\circ\text{C})$ с выдержкой (3-5) мин и охлаждают до температуры $(32-36^\circ\text{C})$, вносят 40%-ный раствор хлористого кальция из расчета (10-30) г на 100 кг молока и (1.5-2.0) г молокосвертывающего фермента в виде 1% раствора на 100 кг смеси. В подготовленное к свертыванию молоко вносят бактериальную закваску в количестве от 1 до 3 %. Температуру свертывания смеси устанавливают $(33\pm 2^\circ\text{C})$.

Для приготовления сыров образцов были использованы культура, содержащая *Lactobacillus. paracasei*, *Lactobacillus. acidophilus* и *Streptococcus thermophilus*.

Далее молоко с внесенными компонентами вымешивают и оставляют в покое для получения сгустка. Температуру свертыванию смеси устанавливают 36°C . Продолжительность свертывания молока составляет от 35 до 40 мин. Готовы сгусток разрезают на частицы с размером граней от 20 до 25 мм и оставляют в покое 4 ± 1 мин для закрепления и вымешивают в течение 5 минут. В конце вымешивания проводится удаление сыворотки, удаляют от 25 до 30% сыворотки 25- 30 мин затем удаляют еще 25-30% (общий объем удаленной сыворотки 50-60%).

К концу самопрессования сыр приобретает необходимую форму, а его тесто становится достаточно монолитным. При необходимости допускается прессование в течение 1.5 часов.

Сыр после самопрессования солят водной рассоле с концентрацией 18-20% при температуре 12- 14 $^\circ\text{C}$. Продолжительность посолки сыра, в зависимости от содержания в нем влаги, составляет от 1.5 до 2.5 часов. При необходимости допускается прессование в течение 1.5 часов.

После посолки сыр обсушивают 2-3 часа в помещении и переносят в камеру для созревания на 3-5 суток, при этом его переворачивают 1-2 раза.

В свежем мягком сыре, который получали с применением новой закваски, после прессования активная кислотность составляла $5,15\pm 0,01$; массовая доля влаги – $53,4\pm 0,1\%$; массовая доля жира в сухом веществе – $26\pm 0,1\%$. Результаты изменения физико-химических показателей выработанного мягкого сыра из козьего молока с применением новой закваски при 10–12 $^\circ\text{C}$ представлены в Табл. 17.

Поскольку главным отличием нового вида мягкого сыра является применение закваски с пробиотическими свойствами, то большой интерес представляло изучение количества живых клеток в продукте, которое в

Таблица 17. Изменение основных показателей сыра из козьего молока в процессе хранения

Показатели	Продолжительность хранения, сут.	Заквасочная культура с пробиотическими свойствами
Массовая доля влаги, %	1	53,4± 0,5
	7	52,9± 0,2
	14	49,2 ± 0,3
Активная кислотность, ед. рН	1	5,15±0,01
	7	5,10±0,02
	14	4,82±0,02
Массовая доля жира в сухом веществе, %	1	26,0± 0,2
	7	25,9± 0,3
	14	26,3± 0,2

среднем составляло $8,1 \pm 0,2$ КОЕ/1г. Такое количество клеток пробиотических бактерий оставалось практически неизменным в течение 14 суток, что является существенным показателем качества мягкого сыра из козьего молока, полученного с применением новой пробиотической закваски.

Таким образом, в результате проведённых исследований обоснованы и определены рациональные биотехнологические режимы производства мягкого сыра из козьего молока с применением новой монгольской пробиотической закваски, который назвали “Шим”. Мягкий сыр «Шим», выработанный из козьего молока с использованием нового вида заквасок с пробиотическими свойствами, рекомендуется позиционировать в качестве диетического профилактического продукта питания.

Разработка технологии рассольной брынзы на основе овечьего молока

В Монголии традиционно, при содержании летом коров, овец и коз на горных пастбищах, из цельного коровьего, овечьего и козьего молока вырабатывается брынза.

Таким образом, Монголия располагает крупной базой для производства коровьего и овечьего молока и использования его не только в разных традиционных продуктов особенно рассольной брынзы, изготовление которой является национальной традицией.

Целью исследований являлось усовершенствование существующей технологии и разработка эффективных способов переработки овечьего в новые виды рассольной брынзы.

При выработке рассольной брынзы нормализацию овечьего молока по жиру и сухому веществу обезжиренным коровьим молоком, жирностью 0,05%.

Для получения брынзы с определенным показателем жирности

сырной массы сборное молоко нормализуют, т.е. цельное овечье молоко с высокой жирностью разбавляют обезжиренным коровьем молоком для получения в нормализованном молоке 3,5% жира.

Брынза вырабатывается кислотно-сычужным способом. Овечье молоко с кислотностью не выше 22-23⁰T фильтруется, затем его нормализуют обезжиренным коровьим молоком.

Молоко пастеризуется при температуре 70-72⁰C в течении 20-30 секунд и охлаждается до 30-32⁰C, затем вносится 40%-ный водный раствор хлористого кальция из расчетов 30-40 г безводной соли на 100 кг молока, а также для свертывания в пастеризованное молоко вносят бактериальную в количестве (10%) 1,5% хэмжээгээри молокосвертывающий сычужный фермент из расчета 0,2-2,0% на 100 кг молока соответственно.

В сырной ванне смеси тщательно перемешивается, что обеспечивает свертывание молока в течение 30 минут. Молоко свёртывается при температуре 30-32⁰C в течение 30-40мин. Готовый сгусток проводится разрезанием сырного сгустка сырными лирами в течение 10-15 минут. Получив сырные зерна величиной 7-8 мм, снова их вымешивают 10-15 минут, а затем нагревают до 38-41⁰C, вымешивая 15-20 мин до получения готового зерна величиной 5-6 мм.

В посолке из неё удаляется основная часть сыворотки. Посолку свежей брынзы производят в чанах с насыщенным рассолом.

Рассол для посолки брынзы изготавливают из прокипяченной воды. При этом пищевую соль вносят в горячую воду до полного её растворения, а затем профильтровывают и охлаждают до температуры 10- 12⁰C.

Установление оптимальных солевого и температурного режимов послужило основой для выработки брынза.

Степень использования жира, белков и сухих веществ нормализованного молока в брынзах “Традиционная” составила соответственно 92,0.

При таком физико-химическом составе нормализованного молока рассольная брынза содержит 41,0% жира в сухом веществе, а на 1 кг брынзы расходуется 8,5 кг, в том числе, 4,5 кг.

Таблица 18. Химический состав разных брынз “Традиционная”

Показатели	Содержание, %
Влага	56,0±1,8
Жир	18,0±0,4
Белки	19,0±0,5
Минеральные вещества	4,0±0,1
Органические кислоты	3,0±0,1

Разработка технологии йогурта с пробиотическими свойствами

Для технологических исследований по разработке технологии новых видов йогурта с пробиотическими свойствами с использованием коровьим молоком.

Для разработки технологии йогурта использовали в качестве основной заквасочной культуры использованных штамм *L. paracasei*, выделенных из национальных молочных продуктов и функциональные ингредиенты (сварочный белок, глюкозу и желатин).

Для повышения биохимической активности заквасочной микрофлоры в процессе сквашивания и направленного регулирования микробиологических процессов при производстве кисломолочных продуктов целесообразно использование определенных стимуляторов роста.

Все добавки, включая молоко, сварочный белок, глюкозу и желатин добавляли в одинаковом количестве.

Ингредиенты могут быть добавлены в молоко перед пастеризацией, или в горячее молоко после пастеризации, или в молочный сгусток после сквашивания, гомогенизацию при давлении 15,0 МПа и температуре 65 °С, пастеризацию при температуре 90–92°С с выдержкой в течение 2 мин и охлаждение до температуры заквашивания 37 °С. В подготовленную молочную смесь вносили бактериальную закваску на чистых культурах (*L. paracasei paracasei*).

Исследуемые образцы йогурта вырабатывали по традиционной технологии термостатным способом.

Окончание этого процесса определяют по формированию плотного сгустка и достижению титруемой кислотности 75–85 Т. По окончании сквашивания необходимо немедленно охладить готовый продукт с целью предотвращения нарастания в нем титруемой кислотности. Краткосрочное охлаждение сформированных сгустков до температуры прекращения развития молочнокислой микрофлоры 10–12 °С.

Готовый продукт исследовали по органолептическим и микробиологическим показателям при хранении в холодильнике (6-8 °С) в течение 10 суток для определения сроков его годности. По результатам количество жизнеспособных микроорганизмов в кисломолочном продукте установлено их содержание в первые сутки хранения 10.9 КОЕ/мл, на 7 сутки – 10.9 КОЕ/мл. Изменение органолептических показателей не наблюдалось в течение 7 суток хранения. Поэтому срок годности продукта ограничен 7 сутками, что при соблюдении условий хранения гарантирует высокую численность живых активных клеток пробиотических микроорганизмов и хорошие органолептические показатели.

Разработка технологии белковых продуктов

Творог – традиционный белковый кисломолочный продукт, который является наиболее востребованным в рамках растущего интереса населения к здоровому питанию. Его пищевую и биологическую ценность обуславливает высокое содержание аминокислот, в том числе серосодержащих – метионина и лизина, а также холина, кальция, фосфора и др.

В современном мире огромную популярность набирают творожные продукты, обогащённые функциональными компонентами для специализированного питания. Такие творожные продукты в основном применяются для питания детей и спортсменов.

Для производства белковых кисломолочных продуктов, вырабатываемых по технологии творога, получения сгустка выбран кислотный способ коагуляции.

Разработка творожных продуктов с пробиотическими свойствами предполагает совместное использование в составе микрофлоры закваски, содержащую *Lactobacillus. helveticus* и *Lactobacillus. delbrueckii subsp. lactis* в соотношении 1:1.

В ходе исследований было установлено, что для технологии молочно-белковой основы творога необходимо использовать следующие параметры производства: Молока пастеризовали при температуре $(86 \pm 2)^\circ\text{C}$ выдержкой 20 сек.

После пастеризации охлаждали до температуры $(32 \pm 1^\circ\text{C})$ и вносили CaCl_2 в виде 40%-ного водного раствора и закваску в активизированной форме. Закваска вносится в количестве 5 % к объёму заквашиваемой молочной основы.

Коагуляцию проводили путем внесения и 10-15 %-го раствора кальция хлористый при температуре $33-34^\circ\text{C}$.

В качестве культур для ферментации использовали два штамма лактобактерий: В состав закваски ДЦ -50 (*L. helveticus*: *L. delbrueckii subsp. lactis*) входят пробиотические культуры *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*. Закваска иннокулировалась в активизированном виде. Активизация проводилась на стерильном обезжиренном молоке.

Сквашивание (свёртывание) осуществляют при нынешних температуре до образования достаточно прочного сгустка с кислотностью $(80 \pm 2^\circ\text{T})$ (продолжительность сквашивания составляет 8-9 час.)

Способ свёртывания для получения творог основы выбран кислотный. Все выработки проводились в 5-кратной повторности, результаты обрабатывались с использованием методов математической статистики.

Затем сгусток подвергали обработке с целью для отделения сыворотки (разрезке, выдержке) и подогрев до температуры $(40 \pm 2)^\circ\text{C}$ для отделения сыворотки, при перемешивании и постепенном отделении сыворотки в течение 60-90 минут. Самопрессование при температуре $(20 \pm 2^\circ\text{C})$, в

течение 1,5 ч до получения сгустка с массовой долей влаги (65-70%) и охлаждение до температуры 10-12 °С.

Для композиции творожного продукта были выбраны сывороточных белков и облепихового сока.

С целью установления рациональной дозы внесения сывороточных белков творожной сыворотки изучено влияние его массовой доли на органолептические, структурно-механические свойства и консистенцию продукта. Вносили сывороточный белок творожной сыворотки в количестве 20 %.

Облепиха является одним из ценнейших природных источников водо- и жирорастворимых витаминов и витаминopodobных соединений; органических кислот, минеральных и других веществ.

Для приготовления сиропа из облепихи использовали осветленный сок облепихи и сахара питьевую воду, подогретую до температуры 40 – 45°С, и после того смеси фильтровали. Пастеризацию смеси проводили при температуре 85 ± 2°С с выдержкой 15 минут и охлаждали до температуры 8–10°С.

Для улучшения вкусовых качеств продукта предлагается использование ягодных наполнителей (облепиховую сироп) в количестве 18-20 % от общего объема продукта.

Изучены физико-химические показатели, микробиологические показатели и показатели безопасности продукта, а также витаминный состав обогащенного творожного продукта.

Таблица 19. Физико-химические и микробиологические и показатели

Показатели	Нормт хэмжээ
Жир, %	18
Белок, %	15
Лактоз, %	10-15
Кислотность, °Т	150-170
Влаги, %	76-78
Количество живых микроорганизмов, КУН/мл	10 ⁸
Группа кишечных палочек	Отсутствует

Исследована биологическая ценность творожных продуктов, отражающая качество белкового компонента и сбалансированность его аминокислотного состава. Для характеристики биологической ценности белка продуктов использовали метод аминокислотного сора, который представляет отношение фактического показателя количества незаменимых аминокислот к его содержанию в «идеальном белке».

Для характеристики биологической ценности белка продуктов использовали метод аминокислотного сора, который представляет

Таблица 20. Аминокислотный скор белкового продукта

Аминокислоты	Массовая доля аминокислот, %			
	эталон по ФАО/ВОЗ		Белковой продукт	
	А	Б	А	Б
Лизин	5,5	100	7,9	148
Треонин	4,0	100	4,3	109
Валин	5,0	100	6,0	170
Изолейцин	4,0	100	5,8	145
Лейцин	7,0	100	9,2	131
Метионин + цистин	3,5	100	4,9	138
Фенилаланин + тирозин	6,0	100	8,6	143
Триптофан	1,0	100	1,5	150

Примечание: А- массовая доля незаменимой аминокислоты, %; Б- аминокислотный скор, % относительно справочной шкалы ФАО/ВОЗ

отношение фактического показателя количества незаменимых аминокислот к его содержанию в «идеальном белке».

Анализ данных, представленных в таблице 20, позволяет сделать вывод о том, что в продукте отсутствуют лимитирующие аминокислоты, т.е. продукт относится к биологически полноценным молочным продуктам.

А также изучены микробиологические показатели и показатели безопасности продукта.

Разработка технологий и оценка антиоксидантной активности и качественных характеристик йогурта с добавлением порошка зеленых оливок

Разработаны технологий йогурта, содержащего порошок зеленых оливок изучены технологических характеристик, содержание полифенольных соединений и антиоксидантной активности продукта.

Обезжиренное молоко, пектин, сахар и порошок зеленых оливок в количестве 0%, 1%, 3% и 5% гомогенизировали в течение 5 мин. Полученную смесь стерилизовали при 85°C в течение 30 мин и затем охладили до 42°C на водяной бане. После внесения культуры молочнокислых бактерий смесь инкубировали при 37°C в течение 8 часов до достижения рН среды 4.5. После ферментации образцы йогурта хранили при 4°C в холодильнике. Образцы продуктов исследовали в 1, 5, 10 и 15 дни.

(GY0: контроль), 1%, (GY1:1% йогурт с добавкой зеленых оливок), 3% (GY3: йогурт с добавкой 3% зеленых оливок) и 5% (GY5: йогурт с добавкой 5% зеленых оливок) гомогенизировали в течение 5 мин.

Молочнокислые бактерии *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii* ssp. *bulgaricus*, *Lactobacillus Lactobacillus acidophilus* и

Bifidobacterium animalis ssp. *Lactis* использовались как закваска для йогурта.

Полученную смесь стерилизовали при 85°C в течение 30 мин и затем охладили до 42°C на водяной бане. После внесения культуры молочнокислых бактерий смесь инкубировали при 37°C в течение 8 часов до достижения pH среды 4.5. После ферментации образцы йогурта хранили при 4°C в холодильнике. Образцы продуктов исследовали в 1, 5, 10 и 15 дни.

Результаты измерения pH и титруемой кислотности образцов йогурта с добавлением порошка зеленых оливок в процессе хранения при 4°C в течение 15 дней. pH значение йогуртов в конце ферментации имели значения от 4.38 до 4.41, то в процессе хранения возросли от 4.44 до 4.55. В процессе хранения pH образца GY5 не изменился. Это возможно связано с метаболическим превращением лактозы при воздействии молочнокислых бактерий до молочной кислоты (Tseng and Zhao, 2013). Согласно Lee and Hwang (2006), оптимум pH ферментированных молочных продуктов, поступающих на продажу, колеблется от 3.27 до 4.59. В нашем исследовании при хранении йогурта в течение 15 дней при 4°C pH образцов входит в этот диапазон. Это означает, что качество йогурта с добавкой порошка зеленых оливок, соответствует требованиям.

Титруемая кислотность исследуемых образцов йогурта составляла 0.92-0.94%, затем вовремя 15 дней хранения возросла до значений 1.07-1.14%.

Таблица 21. Количество молочнокислых бактерий (Log КОЕ/г) при хранении йогурта с добавлением зеленых оливок

Срок хранения (день)	GY0	GY1	GY3	GY5
1	9.38 ± 0.80	9.18 ± 1.32	9.00 ± 0.98	8.95 ± 0.37
5	9.33 ± 0.29	9.13 ± 0.53	8.95 ± 1.37	8.94 ± 0.57
10	9.15 ± 0.12	8.74 ± 0.30	8.64 ± 0.17	8.55 ± 0.15
15	8.65 ± 0.03	7.82 ± 0.24	7.72 ± 0.02	7.69 ± 0.20

Общее количество молочнокислых бактерий не было значительным в экспериментальной группе, за исключением GY5, до 10 дней. При сенсорной оценке он показывает аналогичный балл с GY0. Это исследование показало, что йогурт с добавлением 3% зеленых оливок дает приемлемый продукт, который оказывает существенное положительное влияние на здоровье. Таким образом, потенциальная функциональность йогурта с добавлением зеленых оливок может быть подтверждена.

Результаты сенсорной оценки образцов йогурта с разным количеством

добавки порошка зеленых оливок, образец GY3 имел самую высокую оценку по цвету 4.63, образец GY0 имел самую высокую оценку по вкусу. Вкусовая оценка GY0 и GY3 не имела достоверного различия, данные образцы были оценены 4.53 и 4.25 баллами. Сладость образца GY3 была оценена самым высоким баллом 3.06.

Общие оценки GY0 и GY3 составили 3,94 по органолептической оценке.

Содержание полифенольных соединений и антиоксидантная активность

Результаты определения полифенольных соединений в образцах с добавлением порошка зеленых оливок во время 15 дней хранения при 4°C. В первый день хранения содержание фенольных соединений в образцах GY0, GY1, GY3, и GY5 составило 4.30, 4.51, 5.85, и 6.96 мг GAE/кг, соответственно. При хранении йогуртов содержание полифенольных соединений снизилось TPC ($p > 0.05$). Эти результаты соответствуют тому, что содержание фенольных соединений в йогуртах с добавлением экстрактов винограда и каллуса снижалось во время хранения (Karaaslan et al., 2011). Вполне возможно, что снижение концентрации фенольных соединений, происходит из-за их разрушения под воздействием молочной (Dalling, 1986).

На 15-ый день хранения восстанавливающая способность GY0, GY1, GY3 и GY5 не различались достоверно.

DPPH радикал связывающая активность образцов GY5 и GY3 имела наибольшую активность и составляла соответственно 47% и 44%. DPPH радикал связывающая активность GY0, GY1, GY3 и GY5 образцов снизилась до 21%, 26%, 27% и 29%, соответственно. Это соответствует исследованиям Karaaslan et al., 2011, в которых DPPH радикал связывающая способность йогурта с добавлением экстракта винограда и каллуса снизилась в 1.16-3.78 раза). В нашем исследовании главным фенольным соединением, содержащимся в добавке зеленых оливок, является олеоропеин (Amiot et al., 1986). Кроме этого, гидролиз молочных белков и выработка органических кислот влияет на антиоксидантную активность йогурта с добавлением порошка зеленых оливок.

Антиоксидантная активность йогурта с добавлением порошка зеленых оливок была выше, чем у GY0 в течение 15 дней. Йогурт с добавлением 3% порошка зеленых оливок обладает лучшим антиоксидантным действием, чем GY0. Обогащение йогурта и молочных продуктов клетчаткой улучшает качества и помогает здоровью. GY3 и GY5 имели более высокую вязкость по сравнению с GY0 и GY1 при хранении до 5 суток. Жизнеспособных молочнокислых бактерий в образцах не различалось достоверно в течение 10 дней, за исключением образца GY5. Все образцы с добавлением порошка зеленых оливок имели высокие значения антиоксидантной активности по сравнению с контролем GY0.

Исследование сенсорных характеристик

Вкусовую оценку образцов GY0, GY1, GY3 and GY5 (хранение при 4°C) проводили 30 обученных панелистов после 3 дней изготовления йогурта.

Исследования проводили с трехкратным повтором и были анализированы one-way анализом вариации с использованием программы SPSS/PC Statistics 18.0 software (SPSS Inc., Chicago, IL, USA). После 10 дней хранения вязкость образца GY1 не имела достоверных отличий от начального. После 5 дневного хранения вязкость образцов GY1, GY3, и GY5 была выше, чем GY0 ($p > 0.05$). Со временем вязкость GY5 снизилась в GY3 не наблюдалось достоверных различий в течение 5 дней, но после 10 дней хранения вязкость снизилась ($p < 0.05$). GY0 и GY1 не имели достоверных изменений за 5 дней хранения.

Обогащение йогурта и молочных продуктов клетчаткой улучшает качества и помогает здоровью. GY3 и GY5 имели более высокую вязкость по сравнению с GY0 и GY1 при хранении до 5 суток. Жизнеспособных молочнокислых бактерий в образцах не различалось достоверно в течение 10 дней, за исключением образца GY5. Все образцы с добавлением порошка зеленых оливок имели высокие значения антиоксидантной активности по сравнению с контролем GY0.

Разработки технологии синбиотических молочных продуктов

Производство обогащенных функциональными ингредиентами пищевых продуктов для профилактики заболеваний и оздоровления населения экологически неблагоприятных регионов находится в центре внимания мировой науки.

Пребиотические продукты питания - это пищевые продукты, содержащие пребиотические ингредиенты, которые часто придают продуктам пищевую ценность. В качестве наиболее важных пребиотиков обычно используются инулин и олигофруктоза (Oliveira et al., 2009a). Синбиотики могут оказывать более благоприятное воздействие, чем отдельные пробиотики или пребиотики. Для комбинации пребиотиков будут использоваться инулин и ФОС.

В исследовании инулин и ФОС будут сочетаться со штаммами молочнокислых бактерий для использования в разработке технологии синбиотических продуктов.

В настоящее время перспективным является использование в качестве бифидогенного фактора фруктоолигосахаридов (ФОС).

Для сквашивания образцов использовалась закваска, состоящая из *Streptococcus thermophilus*, *L. paracasei subsp. olerans* и *Bifidobacterium longum* 2:1:1.

Выбор дозы внесения инулина для синбиотического продукта

Инулин характеризуется своими биохимическими и физиологическими свойствами, способствующими и поддерживающими здоровую функцию желудочно-кишечного тракта (Robertfroid et al., 2011).

Благодаря своим технологическим характеристикам, некоторые пребиотики могут привести к улучшению качества пищевых продуктов в отношении сенсорных свойств, текстуры и физико-химических характеристик, при добавлении волокон и частичной замене сахаров и жиров (Delgado-Fernández et al. 2019).

В эксперименте использовался препарат инулина, который вносили в разной концентрации инулина (1,5, 2 и 2,5%) добавляли к образцам кисломолочных продуктов и заквасок с пробиотическими свойствами. Для приготовления продуктов использовали молока с жирностью 2,5% и сухие вещества 8,6%.

Молоко нагревали до температуры 40 °С, добавляли инулин и тщательно перемешивали до растворения. Перед пастеризацией вносим инулин, в количестве 1,5, 2 и 2,5%.

После чего молоко пастеризуют при температуре 92°С с выдержкой 30 мин, затем охлаждаем до 43 °С для заквашивания. В молоко, которое охлаждено до температуры заквашивания добавим закваску, требуемого количества и перемешиваем до растворения закваски и оставим в термостате. Во время ферментации измерение pH проводили в каждые два часа. Ферментацию заканчивали по достижению pH 4,6-4,7.

После ферментации образцов продуктов хранили в холодильнике при температуре 4°С.

После охлаждения в первый день исследовании органолептические показатели, уровень синерезиса и вязкость во всех образцах.

Исследовали влияние инулина на вязкость образцов продуктов. Измерение проводили после сквашивания экспериментальных образцов. Результаты представлены на рисунке 6.

При проведении органолептической оценки образцов сквашенных смесей было отмечено, что опытные образцы имели мягкий кисло-сладкий вкус. Образец №2 имел вязкую и однородную консистенцию. Внесение инулина не оказало влияния на цвет сквашенных смесей.

Провели сенсорную оценку синбиотического йогурта с различными концентрациями инулина и результаты оценки показывают, что синбиотический йогурт, внесение инулина в концентрации 2% позволяет значительно повысить вязкость смеси и улучшить консистенцию кисломолочного продукта.

Установлено, что целесообразно добавить в пребиотические продукты инулин на 2%. Таким образом, результаты проведенных исследований позволяют сделать вывод о том, что такие пребиотики как,

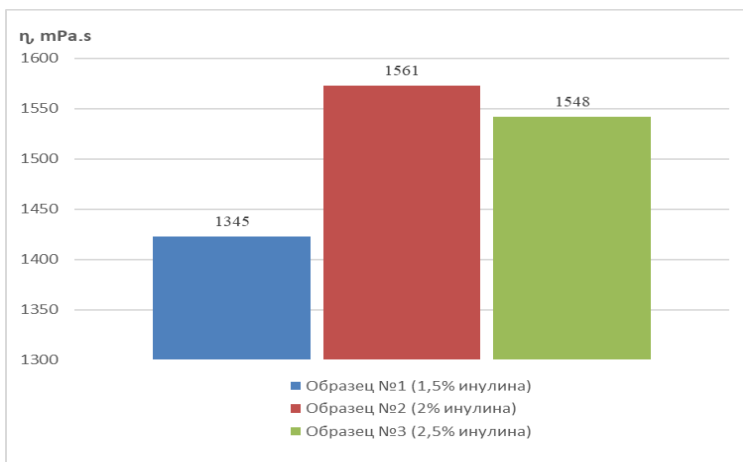


Рисунок 6. Влияние инулина на вязкость продуктов

фруктоолигосахариды и инулин могут быть использованы в производстве кисломолочного продукта для улучшения функциональных, структурно-механических и органолептических показателей.

Изучали влияния дозы ФОС на физико-химические, синергетические и микробиологические показатели данного образца.

При проведении эксперимента использовалось 5 образцов обезжиренного молока с добавлением ФОС в количестве от 1,0 до 2,0 % от массы молока. Выбранный интервал дозы ФОС определяется необходимостью сохранения требуемого количества микроорганизмов.

В качестве контроля применяли обезжиренное молоко без добавления ФОС.

Образец приготовления состоит из следующих операций:

- приемка и подготовка сырья;
- внесение ФОС;
- термическая обработка смеси;
- заквашивание и сквашивание смеси;
- охлаждение

Коровье молоко при необходимости нормализуют по массовой доле жира и сухих веществ. Нормализованное молоко нагревали до температуры 40 °С, добавляли инулин и ФОС тщательно перемешивали до растворения, смесь гомогенизируют и направляют на пастеризацию при 92-95°С с выдержкой 30 минут. Затем охлаждают до температуры заквашивания, вносят заквасочные культуры, разливают и проводят сквашивание, охлаждают до температуры 4-6°С, разливают и доохлаждают.

Результаты исследования показали, что совместное использование

фруктоолигосахарид и инулина оказывает положительное влияние на органолептические показатели кисломолочного продукта.

Таким образом, результаты проведенных исследований позволяют сделать вывод о том, что такие пребиотики как фруктоолигосахариды и инулин могут быть использованы в производстве кисломолочного продукта для улучшения функциональных, структурно-механических, органолептических и микробиологических показателей.

Состав и свойства разработанного продукта с пребиотиками

При разработке технологии новых продуктов необходимо ориентироваться на создание безопасной, сбалансированной по пищевой и биологической ценности продукции, удовлетворяющей не только физиологические потребности человека, но и способствующей сохранению и укреплению здоровья населения, профилактике заболеваний, связанных с несбалансированным питанием взрослых и детей.

В связи с этим на данном этапе исследований была проведена комплексная оценка кисломолочных продуктов, обогащенных фруктоолигосахарид и инулином, представленная в таблице 22.

Таблица 22. Физико-химические показатели кисломолочных продуктов с пребиотиками

Физико-химические показатели	Показатель
Массовая доля молочного жира, %	2.5
Массовая доля сухих веществ, %	14.6
Кислотность, °Т, не более	78
Вязкость, 4°С mPa.s	1560-1561

Витаминов А, Е, В₁, В₂, С были определены в таблице 23 результаты приведенных.

Таблица 23. Витаминный состав продукта

Продукт	Витамины, мг/ 100г				
	В ₁	В ₂	А	Е	С
	17,2	109,9	21,7	12,5	1,8

Охлаждённый синбиотический йогурт хранили в холодильнике и хранится при температуре 4 °С в течение 14 дня.

pH и титруемую кислотность, и количество жизнеспособных клеток определяли через каждые 7 дней в табл. 24.

При хранении синбиотического йогурта, количество жизнеспособных клеток, pH и кислотность постепенно снижались.

При хранении в холодильнике pH синбиотического йогурта снижался, тогда как вязкость повысилась (вырос). Синерезис понижается до 14-х

Таблица 24. pH, титруемая кислотность и жизнеспособное количество продукта течение 14 дня хранения

Продукт	День		
	1	7	14
pH	4.45±0.02	4.31±0.03	4.27±0.01
Кислотность, °Т	82±1.1	88±1.2	93±1.3
Количество клеток, КОЕ/см ³	8.42	8.38	8.15

суток, а затем увеличивается.

Количество пробиотических бактерий увеличилось до 1-го неделя, а затем понижалась. Количество пробиотических бактерий в синбиотике йогурт было выше 8.9 log КОЕ/мл.

V. Результаты клинической апробации

V.1 Исследование *in vitro* и *in vivo* антихеликобактерной активности

При тестировании на антихеликобактерную активность штаммов молочнокислых бактерий их культивировали вместе со штаммом *H. pylori* № 130 в течение 2 дней. Затем подсчитывали количество жизнеспособных клеток *H. pylori* № 130 методом подсчета колоний.

Рост хеликобактерий при совместном культивировании с молочнокислыми бактериями показан в Табл.25.

Все протестированные молочнокислые бактерии подавляли рост *H. pylori* № 130.

При культивировании со штаммами *L. paracasei* 06TSD196 соотношение роста бактерий составляло 46,2%, а со штаммами *L. plantarum* 07MRD446 – 35,4% и 05DTS23 – 37,3%. При этом достоверное снижение роста хеликобактерии наблюдалось при совместном культивировании с *L. plantarum* штаммами 05DTS23в (37,3 %) и 07MRD446 (35,4%) по сравнению с контрольной средой. *L. paracasei* штамм 06TSD196 сильно подавляет рост хеликобактерий (46,2%), хотя разница оказалась статистически недостоверной в сравнении с другими изученными штаммами.

Штамм 06TSD196 *Lactobacillus paracasei* и штамм 07MR044 *L. plantarum* продемонстрировали наибольшую активность в подавлении роста *H. pylori* по сравнению с остальными изученными штаммами.

Таким образом, подавление роста *H. pylori* молочнокислыми бактериями зависит не только от вида микроорганизма, но также и от конкретно используемого штамма. Результаты наших экспериментов выявили антибактериальной эффект штаммов 06TSD196 и 07MR044, относящихся к видам *L. paracasei* и *L. plantarum* соответственно.

Была установлена высокая антихеликобактерная активность у

Таблица 25. Влияние молочнокислых бактерий на рост *H. pylori*

Название штаммов	Вид	Рост <i>H. pylori</i> , %
06TSD196	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>paracasei</i>	46,2 ± 11,2
06TSD226		56,8 ± 19,0
06TSD436		49,3 ± 11,8
06TSD396	<i>Lactobacillus paracasei</i> subsp. <i>tolerans</i>	53,5 ± 15,0
07LHD080В		57,1 ± 22,7
08LFH34Г		59,5 ± 18,0
08LFH65В		86,1 ± 6,4
08LFH75В		66,2 ± 5,8
05DTS23В	<i>Lactobacillus plantarum</i>	37,3 ± 2,9*
06LH2Г		48,6 ± 4,4
06LH9Г		41,4 ± 3,6
06TSD86		41,6 ± 4,8
06TSD406		42,6 ± 10,0
07MRD446		35,4 ± 7,3*
08MRD29д		61,7 ± 2,7
06DTS36	<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i>	61,3 ± 11,9
PBS (фосфатно-солевой буфер)		100,0 ± 8,1

штаммов 06TSD196 и 07MRD446, они заметно подавляли рост хеликобактерии. Данные исследования приведены на Рис. 10 Поэтому посчитали целесообразным провести дальнейшие исследования с этими штаммами.

Для сравнения эффективности ингибирования хеликобактерии штаммами 06TSD196 и 07MRD446 провели совместное культивирование молочнокислых бактерий с *H. pylori* № 130. При этом начальное количество молочнокислых бактерий довели до 6,0 log₁₀ КОЕ/см³ и по ходу эксперимента подсчитывали количество бактериальных клеток, а также изменение pH культуральной среды. Результаты исследований показаны на Рис. 10.

Приведены результаты трех независимых экспериментов. Вертикальные линии указывают на стандартное отклонение (SD). Значения, отмеченные прописными буквами, статистически достоверно отличаются по двухфакторному дисперсионному анализу ANOVA с поправкой Бонферрони ($p < 0.05$).

Как видно из Рис. 7А, численность хеликобактерий, которые культивировали в течение 24 и 48 ч совместно с молочнокислыми бактериями штамм 06TSD196, статистически достоверно меньше, по сравнению с контролем и штаммом 07MRD446.

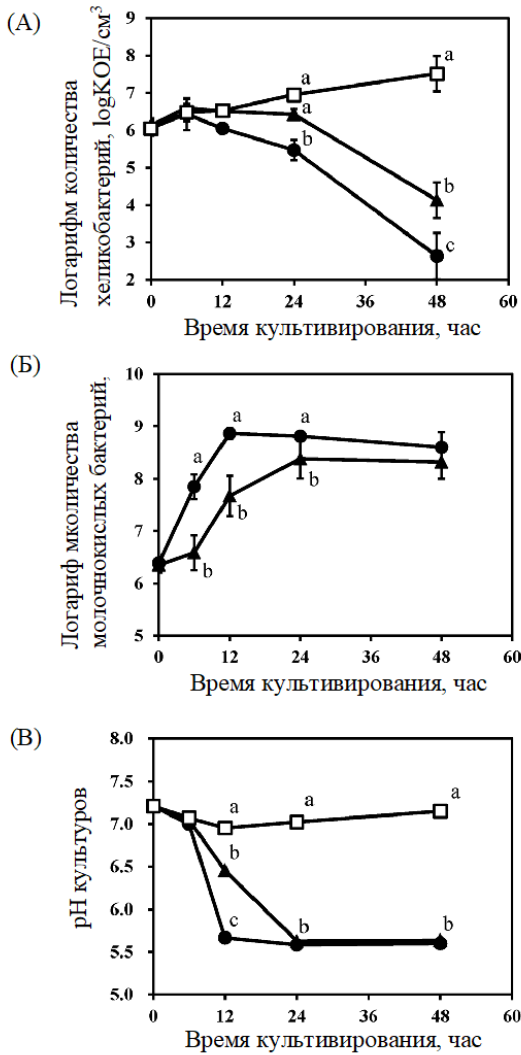


Рисунок 7. Влияние молочнокислых бактерий на *H. pylori* при их совместном культивировании.

Примечание: (А) Численность хеликобактерий при совместном культивировании со штаммом 06TSD196 (●), 07MRD446 (▲) и PBS (□). (Б) количество клеток молочнокислых бактерий при совместном культивировании *H. pylori* № 130 со штаммом 06TSD196 (●) и штаммом 07MRD446 (▲). (В) рН питательной среды при совместном культивировании *H. pylori* № 130 со штаммом 06TSD196 (●), штаммом 07MRD446 (▲) и PBS (□).

При подсчете количества молочнокислых бактерий на 6, 12 и 24 ч культивирования хеликобактерий со штаммом 06TSD196 было обнаружено большее количество жизнеспособных клеток молочнокислых бактерий, чем со штаммом 07MRD446 (Рис. 7Б и 7В).

Кроме этого значение pH культуральной среды было ниже при совместном культивировании *H. pylori* со штаммом 06TSD196. Наблюдалась корреляция между снижением численности хеликобактерий и pH среды, что в свою очередь влияло на увеличение количества клеток молочнокислых бактерий штамма 06TSD196. Таким образом, ингибирование роста хеликобактерий при совместном культивировании со штаммом 06TSD196 может быть связано не только с действием органических кислот, но и выделением определенных метаболитов, влияющих на рост микроорганизмов.

Обнаружение активных антихеликобактерных соединений в культурах молочнокислых бактерий.

Культуральная жидкость штаммов 06TSD196 и 07MRD446, а также их супернатанты, продемонстрировали достаточно широкие зоны подавления роста хеликобактерии (Табл. 25). При этом фракции супернатанта с нейтрализованным pH и супернатанта, обработанного каталазой, продемонстрировали меньшую зону при сравнении с необработанными культуральными жидкостью и супернатантами. Зоны фракций из клеток штаммов 06TSD196 и 07MRD446 также оказались меньшими, чем с культуральной средой или необработанными супернатантами. Кроме этого, применение инактивированных кипячением клеток штаммов 06TSD196 и 07MRD446 не приводило к образованию зон подавления роста хеликобактерий.

Супернатанты штаммов 06TSD196 и 07MRD446 имели высокую антихеликобактерную активность, Табл. 26.

Как видно из результатов эксперимента, приведенных в таблицах, нейтрализация pH среды и обработка каталазой приводит к заметному снижению ингибирующего действия штаммов 06TSD196 и 07MRD446 на рост хеликобактерий. Это позволило нам предположить, что именно органические кислоты, продуцируемые штаммами 06TSD196 и 07MRD446, влияют на подавление роста хеликобактерий. Кроме этого уровень органических кислот, включая молочную кислоту, был намного ниже у молочнокислых бактерий, которые продемонстрировали слабую активность подавления роста хеликобактерий по сравнению со штаммами 06TSD196 и 07MRD446.

*Анализ органических кислот в культурах при совместном культивировании *H. pylori* и молочнокислых бактерий.*

Было определено количество органических кислот при совместном

Таблица 26. Влияние культур штаммов молочнокислых бактерий на рост *H. Pylori*

Фракции культур молочнокислых бактерий	Диаметр зоны подавления роста (мм)	
	06TSD196	07MRD446
PBS	Н.ид.	Н.ид
Культуральная суспензия (содержащая клетки)	17,1 ± 2,3а	18,0 ± 0,2а
Супернатант	17,7 ± 1,8а	18,7 ± 2,8а
Супернатант, нейтрализованный до 6,5	3,9 ± 0,9б	2,7 ± 0,7б
Супернатант, нейтрализованный до 6,5, обработанный каталазой	2,9 ± 1,1б	1,6 ± 0,6б
Клеточная биомасса	2,8 ± 0,8б	2,2 ± 0,1
Инактивированные кипячением клетки молочнокислых бактерий	Н.ид	Н.ид

Примечание: Приведены результаты трех экспериментов ± SD. Н.ид. – не идентифицировано. а, б – статистически достоверная разница согласно однофакторному эксперименту ANOVA с использованием критерия Тьюки ($p < 0.05$).

Таблица 27. Количество органических кислот, образуемых штаммами при совместном культивировании с *H. pylory*

Штаммы	Молочная кислота (ммоль/л)				Уксусная кислота (ммоль/л)			
	6 ч	12 ч	24 ч	48 ч	6 ч	12 ч	24 ч	48 ч
PBS	Н.ид.	Н.ид.	Н.ид.	Н.ид.	72,9 ± 2,3	68,2 ± 3,3	69,4 ± 2,9	69,8 ± 2,8
06TSD196	9,0 ± 1,0	25,0 ± 0,5*	24,5 ± 0,6	23,3 ± 0,3	71,2 ± 2,6	73,4 ± 3,4	74,8 ± 4,9	79,3 ± 2,6
07MRD446	8,7 ± 1,1	15,1 ± 2,2	22,6 ± 2,5	22,2 ± 1,5	69,6 ± 2,2	66,8 ± 2,5	71,0 ± 2,1	72,8 ± 5,3

Примечание: Приведены результаты HPLC-анализа трех независимых экспериментов. Среднее значение ± SD. Н.ид. – не идентифицировано. Уровень молочной и уксусной кислот на начало ингибирования составлял ND 63.2 ± 2.0 ммоль/л, соответственно. Порог определения для молочной кислоты – 2,5 ммоль/л и для уксусной кислоты – 12,4 ммоль/л. * – штамм 07MRD446 статистически различается по количеству выработанной молочной кислоты на 12 час культивирования по двухфакторному ANOVA с поправкой Бонферрони ($p < 0.05$).

культивировании хеликобактерий и молочнокислых бактерий. Для этого проводили определение органических кислот в супернатантах культуральных растворов в определенные интервалы времени. Концентрация молочной кислоты в культуральной среде при совместном выращивании хеликобактерии и молочнокислых бактерий увеличивалась с течением времени, в то время как молочная кислота не образовывалась в

среде с добавлением PBS (контроль). При совместном культивировании со штаммом 06TSD196 концентрация молочной кислоты достигла 25,0 ммоль/л на 12 час инкубирования. Это значение было статистически выше, по сравнению со штаммом 07MRD446 на 12 час инкубирования. С другой стороны, различий в выработке уксусной кислоты исследованными штаммами при совместном культивировании с хеликобактерией не наблюдалось.

Что касается штамма 06TSD196, то он по сравнению со штаммом 07MRD446 не только более эффективно подавляет рост хеликобактерии, но и более интенсивно снижает активную кислотность в питательной среде. При определении органических кислот проведен анализ совместного культивирования супернатанта *H. pylori* № 130 со штаммами 06TSD196 и 07MRD446. Выявлена высокая антихеликобактерная активность у штаммов 06TSD196 и 07MRD44. Установлено, что органические кислоты, образующиеся в результате развития штаммов 06TSD196 и 07MRD44, ингибируют рост *H. pylori* №130 более интенсивно, чем бактериционы этих штаммов.

Как показано в Табл. 27 рост концентрации молочной кислоты мог иметь место по причине роста количества микроорганизмов, в то время как в контроле концентрация молочной кислоты была ниже порога детекции.

Концентрация молочной кислоты в среде со штаммом 06TSD196 была значительно выше, чем в среде со штаммом 07MRD446 после 12-часовом совместном ингибировании с хеликобактерией. Именно эта способность штамма 06TSD196 продуцировать молочную кислоту в большом количестве обеспечила его более высокую антибактериальную активность. Хотя в контрольной среде наблюдался рост концентрации уксусной кислоты, но достоверной разницы между штаммами не наблюдалось. Поэтому мы заключили, что штаммы 06TSD196 и 07MRD446 не продуцируют уксусной кислоты в количестве, достаточном для ингибирования роста хеликобактерии.

Влияние молочной кислоты, продуцируемой молочнокислыми бактериями, на рост H. pylori на ранней стадии их совместного культивирования.

Для исследования влияния молочной кислоты, продуцируемой штаммами 06TSD196 и 07MRD446, на рост хеликобактерии на ранней стадии их совместного культивирования на 12 час в среду добавили 25 ммоль/л L-молочной кислоты и 15 ммоль/л DL-молочной кислоты. Добавление L- и DL-молочной кислот регулировали, опираясь на данные Табл. 9. Ранее нами было обнаружено, что штаммы 06TSD196 и 07MRD446 продуцируют L- и DL-молочную кислоту, соответственно.

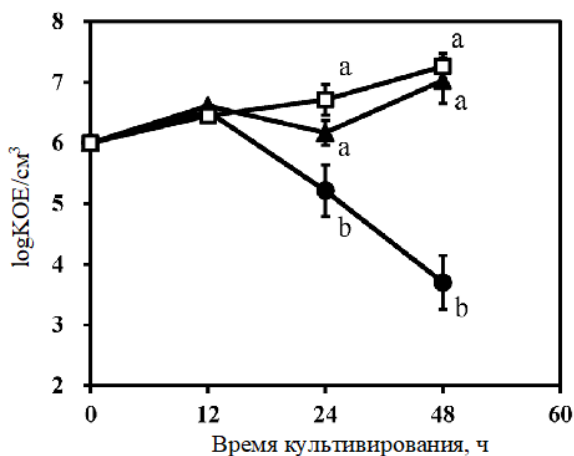


Рисунок 8. Влияние молочной кислоты на количество клеток *H. Pylori*

Примечание: Количество клеток хеликобактерии в питательной среде с 25 ммоль/л L-молочной кислоты (●), с 15 ммоль/л DL-молочной кислоты (▲), с PBS (□) при 12-часовом ингибировании. Приведены результаты трех независимых экспериментов. Значения, отмеченные прописными буквами, статистически достоверно отличаются по двухфакторному ANOVA с поправкой Бонферрони ($p < 0.05$).

Как показано на Рис. 8, добавление в культуральную среду 25 ммоль/л L-молочной кислоты после 12 часового инкубирования значительно снижало количество хеликобактерий в культуральной среде по сравнению с контролем или добавлением 15 ммоль/л DL-молочной кислоты на 24 и 48 ч инкубирования. При этом было замечено, что добавление 15 ммоль/л DL-молочной кислоты не способствует снижению численности хеликобактерий в зависимости от продолжительности времени культивирования.

Об антихеликобактерной активности молочной кислоты имеются сведения в работах исследователей. Как показано на Рис.8, добавление 25 ммоль/л L-молочной кислоты после 12 часовой инкубирования более значительно уменьшало численность хеликобактерий, чем добавление 15 ммоль/л DL-молочной кислоты. Данный эффект проявился в опыте *in vitro* со штаммом 06TSD196 (Рис. 7А). Активность D- и L-молочной кислот на рост хеликобактерий проявилась в одинаковой дозе для обоих изомеров (IC50 приблизительно 23,0 ммоль/л). Таким образом, нами выявлено, что высокая продуктивность L-молочной кислоты у штамма 06TSD196 на ранней стадии совместного культивирования с хеликобактериями влияет на подавление роста хеликобактерий. Мы можем предположить, что штамм 06TSD196, продуцирующий

значительное количество молочной кислоты, будет препятствовать адгезии хеликобактерий на клетках желудка человека.

Влияние перорального приема молочнокислых бактерий на количество бактерий, заселяющих желудок мышей, зараженных хеликобактерией. Для исследования влияния штаммов 06TSD196 и 07MRD446 на хеликобактерии, колонизировавшие желудок мышей, после их заражения давали перорально молочнокислые бактерии. Численность хеликобактерий в желудке мышей, принимавших штамм 06TSD196 после заражения, была статистически достоверно меньше, чем в контроле или принимавших штамм 07MRD446 (Рис. 7А). Более того, в группе, принимавшей штамм 07MRD446, не наблюдалось изменений в численности хеликобактерий. Количество молочнокислых бактерий в желудке мышей, принимавших штамм 06TSD196, было выше, чем у мышей, принимавших 07MRD446 (Рис. 11Б).

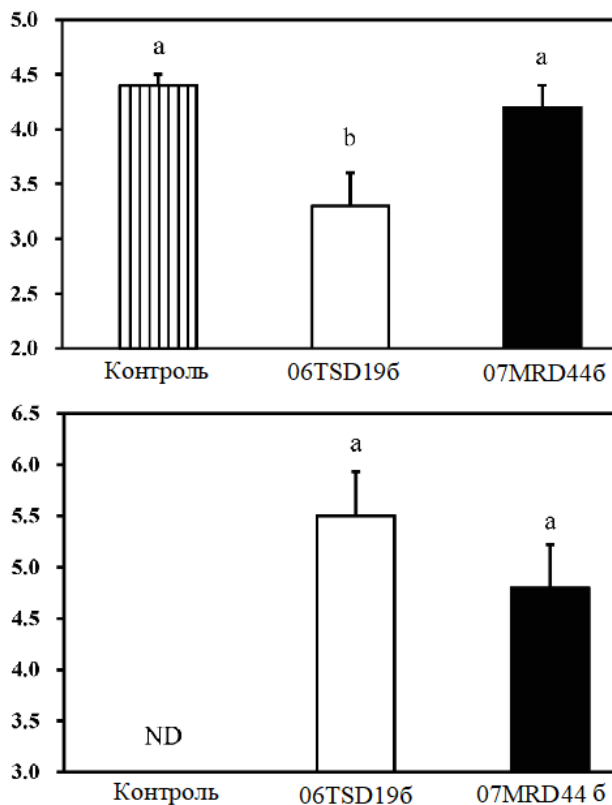


Рисунок 9. Влияние перорального применения МКБ на численность бактерий желудка у мышей, инфицированных *H. pylori*

Результаты исследований показали достоверную эффективность перорального приема штамма 06TSD196 у мышей, зараженных хеликобактерией, и снижение их численности в желудке в эксперименте *in vivo* (Рис. 12А). Описано, что пероральный прием *L. salivarius* WB1004 инфицированными мышами оказал благотворное влияние. Штамм *Lactobacillus gasseri* OLL2716 показывает антихеликобактерную активность, при этом закрепляется на стенках пищеварительного тракта человека, что подавляет инфекцию хеликобактерий. В наших предыдущих работах показана толерантность штамма 06TSD196 к желудочному соку в условиях *in vitro*. Исследованием обнаружено, что штамм 06TSD196 устойчив к искусственному желудочному соку, вследствие чего считаем, что поступая с пищей в желудок штамм 06TSD196 может выживать в кислой среде. Примечательно, штамм 06TSD196 хорошо растет в молоке и ферментированное молоко имеет приятный вкус, улучшает деятельность кишечного тракта.

Это дополнительно подтвердилось в данном эксперименте *in vivo*, кроме того обнаружено, что клетки штамма 06TSD196 способны прикрепляться к стенке желудка у зараженных хеликобактерией мышей (Рис. 4Б). Более того, штамм 06TSD196 обладает высокой способностью продуцировать L-молочную кислоту *in vitro*. Все это вместе взятое может пояснить способность штамма 06TSD196 к снижению численности *H. pylori*, колонизирующих желудок инфицированных мышей.

Таким образом установлено, что *L. paracasei* 06TSD196, выделенный из национальных кисломолочных продуктов, обладает не только пробиотическим действием, но показал антихеликобактерную активность.

В условиях *in vitro* штамм 06TSD196 продемонстрировал, что ингибирует рост *H. pylori* штамм № 130, продуцирует L-молочную кислоту в достаточно большом количестве. Штамм 06TSD196 прикрепляется к эпителиальным клеткам желудка инфицированных *H. pylori* мышей и уменьшает колонизацию желудка мышей хеликобактерией.

По полученным результатам данный микроорганизм можно рекомендовать для использования в качестве стартовых культур и пробиотиков в пищевой биотехнологии, в частности, в молочной промышленности, для производства функциональных продуктов питания.

V.2 Клинические испытания молочного продукта с пробиотическими свойствами

Для кисломолочного продукта с *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* 06TSD196 была проведена клиническая апробация. Клинические испытания проводились на здоровых женщинах, а также мышах.

Влияние продукта на дефекацию, оценивали методом двойного слепого перекрестного метода. Всего в эксперимент были вовлечены 46

женщин возрастом от 18 до 39 лет, по случайному выбору участники были разделены на две группы. Лицам, участвующим в эксперименте, запрещалось принимать другие кисломолочные продукты, а также продукты, содержащие пробиотики и олигосахариды. За 7 дней до начала эксперимента участники находились под наблюдением для определения базового состояния. С началом эксперимента участники принимали по 100 г ферментированного молочного продукта 2 раза в день (утром и вечером) в течение 3 недель. После этого эксперимент приостанавливали на неделю, в течение которой участники не употребляли ферментированный продукт.

В конце каждой недели экспериментального периода были собраны образцы фекалий в стерильные контейнеры с анаэробной средой. Полученный материал анализировали в течение 1 дня после отбора. Все исследования были проведены в согласии с Хельсинкской декларацией этических принципов.

В течение всего периода эксперимента участники заполняли специальный опросник и вели запись о частоте, количестве, консистенции кала и проводили оценку по баллам.

Продукт улучшал характеристику фекал с повышением концентрации L-молочной кислоты в кишечной среде и изменением кишечной микрофлоры.

Прием ферментированного продукта улучшал характеристику кала с повышением концентрации L-молочной кислоты в кишечной среде и изменением кишечной микрофлоры. RAPD анализ *Lactobacilli* из образцов кала свидетельствует о том, что *L. paracasei*, достигают кишечника и остаются живыми.

Проведена промышленную апробацию и внедрение результатов исследований на промышленную технологию.

ВЫВОДЫ

По результатам проведенного диссертационного исследования были получены следующие выводы:

1. Проведены исследования общего химического, аминокислотного, фракционного состава, минерального и витаминного состава козьего, овечьего коровьего молока пастбищного монгольского молочного скота местных пород. Установлено что молоко местных пород имеет огромную ценность и является доступным сырьем для производства кисломолочных и белковых продуктов профилактической направленности.
2. Выделены и идентифицированы микроорганизмы и дрожжи. Установлено, что в состав микрофлоры национальных кисломолочных продуктов тараг, айраг, хоормог, бяслаг входят следующие микроорганизмы: *Lactobacillus delbrueckii sub sp. bulgaricus*,

Streptococcus salivarius subsp. thermophilus, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactococcus lactis ssp. lactis*, *Lactobacillus delbrueckii ssp. Lactis*, *Lactobacillus pentosus*, *Weissella confuse*, *Lactobacillus kefir*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus paracasei ssp. tolerans*, *Pediococcus parvulus*, *Lactobacillus paracasei ssp. paracasei*, *Leuconostoc mesenteroides*, *Weissella viridescens*, *Lactobacillus sakei*, *Lactobacillus pentosus*, *Lactobacillus buchneri*, *Leuconostoc citreum*, *Leuconostoc garlicum*, *Enterococcus durans*, *Enterococcus faecium*, *Leuconostoc argentinum*, *Leuconostoc Lactis*, *Bacillus lechiformis* и *Brevibacillus invocatus*

3. Изучены пробиотических свойств молочнокислых бактерий, выделенных из кисломолочных продуктов. Выделенные штаммы тестированы на толерантность к низким значениям pH и желчным кислотам, газообразованию и адгезии на Caco-2 клетках.
4. Выбраны микроорганизмов с более высокой кислотообразующей способностью с целью получения закваски. Выбранные микроорганизмы имели наибольшее количество жизнеспособных клеток и характеризовались более приятным вкусом и ароматом, имели нежную консистенцию. По полученным результатам данный микроорганизм можно рекомендовать для использования в качестве стартовых культур и пробиотиков в пищевой биотехнологии, в частности, в молочной промышленности, для производства функциональных продуктов питания. Разработана технология закваски.
5. Как технологическими исследованиями, так и *in vitro* и *in vivo* экспериментами показана эффективность и перспективность использования штаммов молочнокислых бактерий, выделенных из традиционных монгольских молочных продуктов для создания функциональных продуктов, обладающих пробиотическими свойствами.
6. Разработаны технологии кисломолочных, белковых и синбиотических продуктов функционального назначения для детей и для населения разных возрастных групп.
7. Проведены комплексные исследования пищевой и биологической ценности разработанных продуктов. Исследованы закономерности изменения биохимических, микробиологических, структурно-механических и показателей продуктов в процессе хранения. Установлен срок годности.
8. Проведены клинические испытания кисломолочных продуктов, антихеликобактерий и терапевтическую эффективность желудочно-кишечного тракта.
9. Разработана техническая документация и проведены опытно-промышленные выработки кисломолочного продукта с пробиотических свойств, которые подтвердили воспроизводимость разработанных технологий.

ПРИНОСИ

1. Выделены штаммы молочнокислых бактерий с высокой пробиотической активностью. На основе 16S-рибосомальной гДНК анализа и углеводного профиля их идентифицировали как *Lactobacillus (L.) plantarum* и *L.paracase spp. paracasei*.

Оригинальный вклад с теоретическим и научно-прикладным значением

2. Изучены пробиотических свойств молочнокислых бактерий выделенных штаммов. В результате проведенных исследований микрофлоры национальных молочных продуктов, получили 10 гомоферментативных пробиотических штаммов молочнокислых бактерий. Они были идентифицированы и классифицированы как *L. plantarum*, *L. paracasei spp. paracasei*. Установлено, что 6 из 10 штаммов молочнокислых бактерий, выделенных из хоормога, обладают пробиотической активностью.

Оригинальный вклад с теоретическим и научно-прикладным значением

3. Созданы коллекцию микроорганизмов Монголии и приготовления заквасок, применяемых в производстве кисломолочных продуктов.

Оригинальный вклад с научно- прикладным значением

4. Проведены клинические испытания кисломолочных продуктов, установлена антихеликобактерная и терапевтическая эффективность желудочно-кишечного тракта.

Оригинальный вклад с теоретическим и научно-прикладным значением

5. Установлено, что *L. paracasei spp. paracasei* (06TSD196), выделенный из национальных кисломолочных продуктов, обладает не только пробиотическим действием, но показал антихеликобактерную активность.

Оригинальный вклад с теоретическим и научно-прикладным значением

6. Впервые в нашей стране было проведено комплексное исследование к характеристике свойств микроорганизмов, выделенных из Монгольских кисломолочных продуктов, приготовленных по традиционным технологиям. Практически реализована инновационная технология ряда кисломолочных продуктов с пробиотическими свойствами в Монголии и за рубежом.

Оригинальный вклад с теоретическим и научно-прикладным значением

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ ОПУБЛИКОВАНО В СЛЕДУЮЩИХ РАБОТАХ:

Монография

1. Цэнд-Аюуш. Ч., Химический состав молока сельскохозяйственных животных, Улан-Батор, 2018. С. 93.
2. Цэнд-Аюуш. Ч., Рациональное питание / Ш.Жадамбаа, Улан-Батор, 2008. С.166.
3. Цэнд-Аюуш. Ч., Ш.Жадамбаа. Биологические активных веществ, Улан-Батор, 2020. С. 82.

Статьи, опубликованные в зарубежных и отечественных научных изданиях:

1. Цэнд-Аюуш. Ч., Особенности химического и аминокислотного состава молока монгольского скота, Журнал: Пищевая промышленность. 2008. № 3, С. 22-24.
2. Цэнд-Аюуш. Ч., В.И Ганина., Жирнокислотный состав Монгольских молочных продуктов, Журнал: Молочная промышленность – 2007. – № 2. С. 58.
3. Цэнд-Аюуш. Ч., В.И Ганина, Микрофлора монгольских традиционных кисломолочных продуктов- Журнал: Молочная промышленность- № 2. 2009. С. 61-62.
4. Цэнд-Аюуш. Ч., В.И Ганина, Микронутрентный состав молока мелкого пастбищного скота Монголии-Журнал: Хранение и переработка сельскохозяйственного сырья – 2009. – № 9. 45-51.
5. Tsend-Ayush Ch., Functional characteristics of lactic acid bacteria (LAB) isolated from the Mongolian traditional fermented milk- Book “Asia: Perspectives and Insights---Development through Collaborations, 2012.- P.637-651.
6. Цэнд-Аюуш. Ч., В.И Ганина Показатели безопасности козьего и овечьего молока. Журнал: Молочная промышленность, 2012. № 4. С. 41-42.
7. Tsend-Ayush, Ch. & Yoon Y. Ch. (2013). Development of fermented goat milk using probiotic starter cultures. Journal of Foods and Raw Materials. 1 (2), 30-32.
8. Цэнд-Аюуш. Ч., Ганина В.И., Изучение пробиотических свойства молочнокислых бактерий, выделенных из национальных кисломолочных продуктов Монголии- Журнал: Техника и технология пищевых производств, 2013, №1. С. 44-51.
9. Ch. Tsend-Ayush, Yoon Y. Ch Physico-chemical characteristics of Mongolian goat, sheep and cow milk - Korean Journal Dairy Science and Technology. 2013.- № 2. P. 93-98.
10. Tsend-Ayush, Ch. Yoon Y.-Ch., Takeda, Sh., Development of Technology of Starter Cultures Using Strains of LAB Isolated from

- Mongolian Traditional Fermented Milk- The 8th International Forum on Strategic Technology. PROCEEDINGS. Volume I, 2013, 500-502.
11. Ч.Цэнд-Аюуш, Машенцева Н.Г, Ганина В.И Новые заквасочные культуры Монголии продуктов – Журнал: Молочная промышленность-№ 12. 2016.- С. 50-51.
 12. Tsend-Ayush Ch , ChiHo Lee at al Antioxidant Activity and Quality Characteristics of Yogurt Added Green Olive Powder during Storage- Korean Journal Dairy Science and Technology. 2017.- № 4. P. 865-872.
 13. Ч.Цэнд-Аюуш Особенности технологии национального напитка “ШИМИЙН АРХИ” в разных регионах Монголии -/ Б.Даваадорж, Ц.Энхтуул, Д.Цэрэндулам / Труды Университета науки и технологии Монголии.- 2005. - № 6/78 - С. 52-57.
 14. Цэнд-Аюуш, Ч., Жирнокислотный состав козьего молока монгольской породы. Труды Монгольского государственного университета науки и технологии-МГУНТ. 2005. № 6/78- С. 39-40.
 15. Цэнд-Аюуш, Ч., Энхтуул, Ц., Делгерма, С., Использование чистых культур микроорганизмов для производства кисломолочных продуктов. Труды Университета науки и технологии Монголии. 2005. № 6/78 - С. 71-76.
 16. Цэнд-Аюуш. Ч., (2005) Результаты микробиологического исследования применения штаммов молочнокислых бактерий продуктов. Труды Университета науки и технологии Монголии. 2005. №6/77– С. 140-144.
 17. Tsend-Ayush Ch, Fermented dairy product enriched lactulose. Proceerings of 3rd international symposium in chemistry‘ Chemistry and Food Safety. 2008. С. 138-139.
 18. Tsend-Ayush Ch. Specific features of Mongolian traditional fermented milk and lactic acid bacteria, isolated from the dairy products. Научно-технический журнал МГУНТ № 8/105. 2009. С. 186-187.
 19. Цэнд-Аюуш, Ч., (2011) Возможности использования козьего молока в детской и диетической питании. Труды Университета науки и технологии Монголии, № 1/117. - С. 81-84. ISSN 1560-8794.
 20. Цэнд-Аюуш, Ч., (2014), Новое направление исследовательской работы в области молочной промышленности, в том числе разработка технологии функционального питания –“Разработка технологии йогурта с пробиотическим свойством”. Сборных научных труд ИПТ, С.186-189.
 21. Цэнд-Аюуш, Ч., Ресурс мелкого пастбищного скота и его биологическая ценность. Реформы животноводства, 2009. № 10.С. 94-98.
 22. Цэнд-Аюуш Ч., Штаммы молочнокислых бактерий с пробиотическими свойствами- Наука, технологии и инновации в отрасли продовольствия и сельского хозяйства, (Science, Technology

- and Innovation in Food and Agriculture Sector) Каталог продукции, С.260.
23. Цэнд-Аюуш, Ч., Генетический ресурс естественной закваски и возможности использования для приготовления пищевой технологии, - “Развитие биотехнологии и Использование Генетических Ресурсов” . Теоритическая -практическая конференция.2018.06.08.
 24. Цэнд-Аюуш, Ч., Разработка технологии мягкого сыра из козьего молока с использованием заквасочной микрофлоры с пробиотическими свойствами, Сборных научных труд МГУНТ, 2022. №1.- С. 54-61.
 25. Батжаргал, Б., Цэнд-Аюуш, Ч., Лхагвадорж В. (2010). Isolation of Lactic Acid Bacteria with High Biological Activity From Mongolian Airag /Mare Milk Industrialization Base Construction Project Symposium, China.- P. 9-20.
 26. Sh.Takeda, Ch.Tsend-Ayush et al The investigation of probiotic potential of lactic acid bacteria isolated from traditional Mongolian dairy products-Animal Science Journal (ASJ-2010-0068), UK. 2013, 82 -P. 571-579.
 27. Sh.Takeda, Ch. Tsend-Ayush et al Application of Probiotics from Mongolian Dairy Products to Fermented Dairy Products and its Effects on Human Defecation- Food Science and Technology Research Journal. 2013. P.245-253.
 28. Sh.Takeda, Ch. Tsend-Ayush et al Antiallergic activity of probiotics from Mongolian dairy products on type I allergy in mice and mode of antiallergic action- Journal of Functional Foods 9, 2014. P. 60-69.
 29. Sh. Takeda, Ch. Tsend-Ayush, et al *In Vitro* and *In Vivo* Anti-*Helicobacter Pylori* Activity of Probiotics Isolated from Mongolian dairy products- Journal of Food Science and Technology Research 21(3), 2015, P. 399-406.
 30. Tatsuya Matsusaki, Sh. Takeda, Ch. Tsend-Ayush at al Augmentation of T helper type 1 immune response through intestinal immunity in murine cutaneous herpes simplex virus type 1 infection by probiotic *Lactobacillus plantarum* strain 06CC2- International Immunopharmacology Journal 39 (2016) P. 320–327.
 31. Sh.Takeda, Ch. Tsend-Ayush at al *Lactobacillus paracasei* strain 06TCa19 suppresses inflammatory chemokine induced by *Helicobacter pylori* in humun gastric epithelial cells -Journal of Human Cell. 2017.- № 30 (4)- P. 258-266.
 32. Yisi Ai, Tsend-Ayush Chuluunbat, Tuyatsetseg Jambal “Effect of Camel Milk and Medicine on Antioxidant Capacity And Hypolycemia in Rats Suffering from Type-2 Diabetes Mellitus”, "International Conference on

- the Belt and Road: Camel Science Industry and Culture, West Alxa, Inner Mongolia, China. 2017. P.46-48.
33. Znao Yiping, Wi Jing, Tsend-Ayush Chuluunbat, Tuyatsetseg Jambal, BAI Dongui, D.Manlai, Analysis of nutrient composition in fresh and sour milk for Ujimqin white horse //Journal of INNER MONGOLIA AGRICULTURAL UNIVERSITY. 2019.- Vol. 40 - P. 69-75.
 34. Masao Yamasaki, Kenjiro Ogawa, Chuluunbat Tsend-Ayush et al, Lactobacillus plantarum 06CC2 reduces hepatic cholesterol levels and modulates bile acid deconjugation in Balb/c mice fed a high-cholesterol diet //Journal of Food Science & Nutrition. 2020, P.6164-6173.
 35. B.Sarangol, Ch.Tsend-Ayush, Munkhbileg The application of cholesterol lowering yeast and lactic acid bacteria, isolated from Mongolian dairy products- Журнал: Сборных научных труд ИПТ 2018- P.16-21.
 36. B.Sarangol, Ch.Tsend-Ayush, Munkhbileg, Development technology of starter cultures using lactic acid bacteria isolated from fermented camel Mongolian Journal of Chemistry, 2022. milk with DOI: 10.5564/mjc.v 23i49.1404.

Патенты и авторские свидетельства

1. Ч.Цэнд-Аюуш, Технология производства закваски из культур микроорганизмов национальных кисломолочных продуктов – Монголия, Патент № 10-0005087, 2020 г.
2. Ч.Цэнд-Аюуш, Б. Доржринчин, Технология производства йогурта с пробиотическим действием – Монголия , Патент № 10-0005088, 2020 г.
3. Ч.Цэнд-Аюуш, Технология производства мягкого сыра из козьего молока – Монголия, Патент № 3802, 2013 г.
4. Ч.Цэнд-Аюуш, Технология производства кисломолочного продукта для детского питания – Монголия, Патент № 2035, 2012
5. Ч.Цэнд-Аюуш, Технология получения “Био” йогурта – Монголия, Авторское свидетельство № 2004, 2013 г.
6. Ч.Цэнд-Аюуш, Технология получения йогурта “Лечебный” – Монголия, Авторское свидетельство № 2003, 2013 г.
7. Ч.Цэнд-Аюуш, Технология получения белкового продукта.