

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РФ
НОВОСИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ АГРАРНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
Институт экологической и пищевой биотехнологии

Микроорганизмы кисломолочных продуктов

Учебно-методическое пособие



Новосибирск 2024

УДК 579.67:637.16(075)
ББК 28.4:36.95,я73
М 597

Кафедра Экологии

Составители: канд. биол. наук, доцент *Л.А. Литвина*,
старший преподаватель *И.Ю. Анфилофьева*

Рецензент канд. биол. наук, доцент *С.В. Баталова*

Микроорганизмы кисломолочных продуктов: учебно-методическое пособие / Новосибирский государственный аграрный университет, Институт экологической и пищевой биотехнологии; составители: Л.А. Литвина, И.Ю. Анфилофьева. – 2-е изд. перераб. и доп. – Новосибирск: Изд-во НГАУ, 2024. – 64 с.

Учебно-методическое пособие «Микроорганизмы кисломолочных продуктов» предназначено для студентов по направлениям подготовки 06.03.01 Биология, 19.03.02 Продукты питания из растительного сырья, 19.03.03 Продукты питания животного происхождения, 19.03.04 Технология продукции и организация общественного питания, 35.03.07 Технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции и 36.03.02 Зоотехния очной и заочной форм обучения.

Данные указания могут быть использованы на лабораторно-практических занятиях по дисциплинам «Микробиология», «Общая санитарная микробиология», «Микробиология с основами вирусологии», «Специальная микробиология».

Утверждено и рекомендовано к изданию учебно-методическим советом Института экологической и пищевой биотехнологии (протокол №5 от 17 июня 2024 года).

ВВЕДЕНИЕ

Одним из замечательных свойств молока является его способность к сквашиванию под действием ферментов определенных видов микроорганизмов. Люди заметили способность молока к сквашиванию задолго до того, как были открыты сами микроорганизмы. По одной из версий, это произошло благодаря древним тюркам. Они заливали в курдюки молоко, отправляясь в длительные походы. В результате перемешивания и действия содержимого курдюка, оно превращалось в продукт наподобие йогурта, который называли «белый кислород». Издавна русские готовили на основе молока кисломолочные продукты – простоквашу и варенец, грузины – мацони, казахи – кумыс, украинцы – ряженку, болгары – йогурт. Ассортимент этих продуктов у разных народов очень широк. Для получения кисломолочных продуктов может использоваться молоко коров, овец, коз, кобыл и других животных.

Вкус и консистенция этих продуктов зависят от очень многих факторов – свойств молока, видов заквасок, способов сбраживания и др. В качестве заквасок используются чистые культуры молочнокислых бактерий с добавлением или без добавления культур молочных дрожжей: молочнокислых стрептококков, болгарской палочки, ацидофильной палочки, ароматобразующих бактерий, бифидобактерий и др.

Как правило, различают две группы кисломолочных продуктов. Первую из них составляют продукты, получаемые в результате молочнокислого брожения (сметана, простокваша, ряженка, ацидофилин, йогурт, творог), вторую – продукты, получаемые в результате смешанного (молчнокислого и спиртового) брожения (кефир, ацидофильно-дрожжевое молоко, кумыс, курунга, шубат).

Продукты первой группы отличаются нежным вкусом, имеют плотный и однородный сгусток. В отличие от них продукты смешанного брожения обладают более резким, слегка щиплющим вкусом, обусловленным присутствием этилового спирта и углекислоты, и нежным сгустком, пронизанным мельчайшими пузырьками углекислого газа.

Ассортимент сегодняшних производителей кисломолочных продуктов очень разнообразен и напрямую связан с используемой закваской и видом животных, от которых получено молоко.

Историческая справка

Издавна считалось, что кисломолочные продукты оздоравливают организм. По мере совершенствования методов исследования, были научно обоснованы диетические, а затем и лечебные свойства этих продуктов, связанные с антибиотической активностью молочнокислых бактерий. Огромная заслуга в развитии этого направления принадлежит великому русскому ученому, Лауреату Нобелевской премии Илье Ильичу Мечникову (1845-1916). Первым из ученых он провел исследования по возможности восстановления кишечной микрофлоры с помощью болгарской молочнокислой палочки (*Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*). Занимаясь в начале XX в. проблемами долгожительства, ученый пришел к выводу, что одной из причин преждевременного старения явля-

ется постоянное отравление организма продуктами распада пищи. «Отсюда – единственный вывод, – писал И.И. Мечников, – чем больше изобилует кишечник микробами, тем более становится он источником зла, сокращающим существование».

Ученый установил, что идущее из толстого кишечника практически хроническое отравление не только ведет к преждевременному старению организма, но делает эту старость патологической, болезненной, дряхлой.

Придя к таким выводам, И.И. Мечников начал искать средство для борьбы с преждевременным старением. Для дезинфекции кишечника он пробовал применять различные антисептические средства, но удовлетворительных результатов это не дало. И.И. Мечников обнаружил способность молочнокислых микроорганизмов значительно тормозить развитие гнилостных бактерий. Исходя из этого наблюдения, ученый начал искать возможности культивирования молочнокислых микроорганизмов в кишечнике взрослых людей для противодействия другим, гнилостным микроорганизмам. Особое значение он придавал болгарской палочке, выделенной им из кислого молока (йогурта).

И.И. Мечников верил в целебную силу своей палочки, предохраняющей людей от преждевременной и болезненной старости. Действие болгарской палочки он решил испытать прежде всего на себе. В то время ему было 53 года. Он понимал, что в таком возрасте новый режим не сможет восстановить здоровье, потерянное в результате уже произошедших атрофических процессов, но был убежден, что дальнейшая атрофия будет значительно задержана. В день своего 70-летия он писал: «То, что я дожил до 70 лет в сравнительно удовлетворительном состоянии, я приписываю своей гигиене: более 18 лет я не ем ничего сырого, по возможности засеваю свои кишки молочнокислыми бактериями».

И.И. Мечников явился основоположником учения о пробиотиках в его современном понимании (**«пробиотики – апатогенные для человека бактерии, обладающие антагонистической активностью в отношении патогенных и условно патогенных бактерий и обеспечивающие восстановление нормальной микрофлоры» определение Всемирной организации здравоохранения**).

В 1903 г. русский врач И.О. Подгаевский открыл еще более действенную бактерию – ацидофильную палочку (*Lactobacillus acidophilus* из сем. *Lactobacillaceae*), препятствующую действию гнилостных бактерий в кишечнике и приживающуюся в нем. В настоящее время изготавливается несколько продуктов, обязательным компонентом которых является ацидофильная палочка (ацидофилин, ацидофильное молоко, ацидофильно-дрожжевое молоко, ацидофильная простокваша, ацидофильная паста).

Исследования действия этого микроорганизма открыли удивительные его способности: он значительно лучше, чем другие кисломолочные бактерии, приживается в кишечнике человека, подавляя развитие гнилостных и некоторых болезнетворных микроорганизмов. Более того, ацидофильная палочка, устойчива к действию многих антибиотиков, применяемых для лечения людей.

Поэтому питание ацидофильными продуктами во время лечения антибиотиками способствует восстановлению нормальной микробиоты кишечника.

Диетическое и лечебное действие на организм человека кисломолочных продуктов определяется содержанием в них различных полезных молочнокислых бактерий, молочной кислоты, углекислого газа, спирта, витаминов, белков, жиров, ферментов, микроэлементов, антибиотиков и других веществ, которые имеются в исходном продукте (молоке, сливках) или образуются в результате процессов брожения этих продуктов. Установлено, что кисломолочные продукты быстрее, чем молоко или сливки, перевариваются и всасываются в организме. Отчасти этому способствует и то, что под действием ферментов, выделяемых молочнокислыми бактериями, белок молока частично расщепляется и приобретает мелкодисперсную структуру, способствующую быстрому всасыванию. Кроме того, молочная кислота, вырабатываемая молочнокислыми палочками, свертывает белки молока, после чего они легче усваиваются организмом. А. И. Ивашура приводит такие данные: за один час после употребления усваивается 91% простокваши, а молока – только 32%.

В результате сбраживания молочного сахара молочнокислыми бактериями в кисломолочных продуктах образуется большое количество молочной кислоты, а в сильноокислой среде болезнетворные организмы существовать не могут, т.к. они предпочитают нейтральную среду. Кроме того, молочнокислые палочки образуют и другие антибактериальные вещества, создающие в толстом кишечнике слабоокислую среду, что способствует борьбе организма против развития чужеродных и болезнетворных бактерий. В кисломолочных продуктах при правильном их получении и соблюдении сроков хранения практически отсутствуют болезнетворные микробы, даже если они были в исходных продуктах – молоке и сливках.

1. Основные свойства заквасок для получения кисломолочных продуктов

Преобладающей микробиотой кисломолочных продуктов являются молочнокислые бактерии или эти бактерии в сочетании с дрожжами. В лабораториях микроорганизмы выделяют в чистом виде и специально выращивают (культивируют). Такие микроорганизмы, выращиваемые в специальных целях, называются «культурами» (например, культура молочнокислого стрептококка) и они являются заквасками для получения того или иного кисломолочного продукта.

Кисломолочные продукты имеют определенную кислотность, измеряемую в градусах Тернера (°Т). Для приготовления этих продуктов важно взять качественное молоко, в котором также измеряется кислотность в этих единицах.

Кислотность молока и молочных продуктов (кроме масла) выражается в градусах Тернера.

Градус Тернера показывает число миллилитров 0,1 н. раствора гидроксида натрия (или гидроксида калия), необходимое для нейтрализации 100 мл или 100 гр. продукта. Истинная кислотность молока рН 6,5-6,8, общая кислотность 15,99-20,99 °Т. Если показатель молока опустился ниже рН 6,5, это может говорить о том, что животное инфицировано. Если же он упал до рН 4,4 – животное серьезно болеет. Поэтому кислотности молока придают большое значение (табл.1).

Таблица 1 – Таблица соотношения кислотности в градусах Тернера и рН

Титруемая кислотность, в °Т	Пределы рН
16	6.75-6.72
17	6.71-6.67
19	6.60-6.55
20	6.54-6.49
21	6.48-6.44
22	6.43-6.39
23	6.38-6.34
24	6.33-6.29
25	6.28-6.24
26	6.23-6.19
27	6.18-6.14

Молоко, которое закупают перерабатывающие предприятия, должно собираться от здоровых коров в хозяйствах, благополучных по инфекционным

заболеваниям и в соответствии с правилами ветеринарного законодательства. Особенно важна бактериальная чистота молока, поскольку при сквашивании создаются оптимальные температурные условия для развития оставшейся микрофлоры, что приводит к ухудшению санитарных показателей продукции и может послужить причиной выпуска продукции, небезопасной в эпидемиологическом отношении.

По показателям качества, молоко должно соответствовать требованиям стандарта; оно должно быть профильтровано и охлаждено после доения; его хранение у производителей должно соответствовать требованиям Технического регламента Таможенного союза "О безопасности молока и молочной продукции" (ТР ТС 033/2013), утвержденных в установленном порядке.

Срок хранения молока до реализации не должен превышать 24 часа при температуре не выше 4 °С; 18 часов – при температуре не выше 6 °С; 12 часов – при температуре не выше 8 °С. Для производства кисломолочных продуктов молоко должно быть не ниже 16 °Т и не более 18 °Т.

Наибольшую потенциальную опасность в эпидемиологическом отношении представляет производство кисломолочных продуктов. Это связано с тем, что процесс производства кисломолочных продуктов протекает длительное время, в течение которого появляются благоприятные возможности для размножения микроорганизмов, оставшихся после пастеризации, а также попавших в молоко в результате вторичного обсеменения.

Поэтому ко всем операциям по изготовлению кисломолочных продуктов должны предъявляться повышенные санитарно-гигиенические и противоэпидемические требования. Для получения безопасных в эпидемиологическом отношении кисломолочных продуктов необходимо следующее: направлять на изготовление кисломолочных продуктов только пастеризованное сырье; нормализацию и гомогенизацию проводить до пастеризации: пастеризацию молока проводить при более жестких режимах, чем установлено технологическими инструкциями; закваску вносить немедленно после заполнения емкости или в процессе заполнения; не допускать выдержки молока при температуре сквашивания без закваски; строго контролировать количество и качество вносимой закваски, продолжительность сквашивания; максимально сокращать производство кисломолочных продуктов термостатным способом (полностью переходить на резервуарный способ).

Для выработки гарантированного по санитарным показателям качества кисломолочных продуктов требуется строгое соблюдение гигиенических правил и технологических режимов на всех участках производства продукции.

Молоко, сквашенное путем внесения в него определенных культур молочнокислых бактерий или дрожжей, является закваской, и предназначается для сквашивания больших объемов молока при производстве кисломолочных продуктов. Для приготовления заквасок применяются следующие чистые молочнокислые культуры и дрожжи: молочный стрептококк (*S. lactis*), болгарская палочка (*L. bulgaricum*), ацидофильная палочка (*L. acidophilum*), ароматообразующие бактерии (*S. diacetylactis*, *L. cremoris*, *S. acetoinicus*, *S. cremoris*) и мо-

лочные дрожжи (*Torula*), сбраживающие лактозу, а также бифидобактерии и другие пробиотические культуры.

Молочнокислые стрептококки повышают кислотность молока до 120 °Т, молочнокислые палочки (болгарская и ацидофильная) – до 200-300 °Т и являются наиболее сильными кислотообразователями.

Для приготовления производственных заквасок применяют закваски чистых культур молочнокислых бактерий, которые могут быть жидкими и сухими. На жидких или сухих заквасках сначала готовят первичную (лабораторную) закваску. Для этого в стерильное молоко вносят порцию жидкой или сухой закваски, перемешивают и выдерживают в термостатах при температуре, являющейся оптимальной для данного вида культур.

Из первичной (лабораторной) закваски готовят вторичную (пересадочную), для этого 5% первичной закваски вносят в охлажденное молоко и выдерживают при температуре сквашивания. Вторичную закваску можно использовать как основную для получения производственной закваски.

Кислотность производственной закваски на молочнокислых стрептококках должна быть 90-100 °Т, на молочнокислых палочках 100-110 °Т.

Перед использованием закваски проверяют ее органолептические показатели. Доброкачественная закваска должна достаточно быстро сквашивать молоко, иметь чистый вкус и запах.

Сгусток должен быть однородным, достаточно плотным, без газообразования и выделившейся сыворотки.

Для приготовления лабораторной закваски при производстве кефира используют кефирные грибки (зерна), которые представляют собой симбиоз молочнокислых стрептококков и палочек, ароматообразующих бактерий и молочных дрожжей, микодермы и уксуснокислых бактерий.

Активность и чистота заквасок во многом определяют качество готового продукта.

При снижении активности заквасок (продолжительности свертывания) молоко не сквашивается или образуется дряблый сгусток. При развитии термоустойчивых молочнокислых палочек появляется излишняя кислотность продукта. Дрожжи, участвующие в созревании кефира, кумыса, ацидофильно-дрожжевого молока, при излишнем размножении вызывают вспучивание этих продуктов. Попадание уксуснокислых бактерий в сметану, творог может вызвать пороки консистенции.

Окончание сквашивания определяют по образованию достаточно плотного сгустка и по кислотности, которая составляет 70-80 °Т для варенца, 75-85 °Т – йогурта, 80-90 °Т – напитка "Снежок", 65-70 °Т для ряженки.

Контрольные вопросы.

1. Приведите примеры кисломолочных продуктов
2. Что такое градусы Тернера?
3. Какая кислотность должна быть у молока, которое берут для производства кисломолочных продуктов.
4. Сравните по показателям кислотности продукты, полученные с помощью ацидофильной палочки и с молочнокислым стрептококком.

2. Основные понятия, используемые в нормативной документации для кисломолочных продуктов

2.1 Определение кисломолочных продуктов

Согласно документу ТР ТС 033/2013 и последующим уточнениям к нему, в данном пособии используются **следующие основные понятия**:

кисломолочный продукт – молочный продукт или молочный составной продукт, произведенные путем применения приводящего к снижению показателя активной кислотности (рН) и коагуляции белка сквашивания молока, и (или) молочных продуктов, и (или) их смесей с использованием заквасочных микроорганизмов, с добавлением не в целях замены составных частей молока немолочных компонентов (до или после сквашивания) или без добавления таких компонентов и содержащие живые заквасочные микроорганизмы;

айран – кисломолочный продукт, произведенный путем смешанного (молочнокислого и спиртового) брожения с использованием заквасочных микроорганизмов – термофильных молочнокислых стрептококков, болгарской молочнокислой палочки и дрожжей с последующим добавлением воды, соли или без их добавления;

ацидофилин – кисломолочный продукт, произведенный с использованием в равных соотношениях заквасочных микроорганизмов – ацидофильной молочнокислой палочки, лактококков и приготовленной на кефирных грибках закваски;

варенец – кисломолочный продукт, произведенный путем сквашивания молока и (или) молочных продуктов, предварительно стерилизованных или подвергнутых иной термической обработке при температуре 97 ± 2 °С с использованием заквасочных микроорганизмов – термофильных молочнокислых стрептококков до достижения характерных органолептических свойств;

йогурт – кисломолочный продукт с повышенным содержанием сухих обезжиренных веществ молока, произведенный с использованием смеси заквасочных микроорганизмов – термофильных молочнокислых стрептококков и болгарской молочнокислой палочки;

кефир – кисломолочный продукт, произведенный путем смешанного (молочнокислого и спиртового) брожения с использованием закваски, приготовленной на кефирных грибках, без добавления чистых культур молочнокислых микроорганизмов и дрожжей;

кумыс – кисломолочный продукт, произведенный путем смешанного (молочнокислого и спиртового) брожения и сквашивания кобыльего молока с использованием заквасочных микроорганизмов – болгарской и ацидофильной молочнокислых палочек, и дрожжей;

кумысный продукт – кисломолочный продукт, произведенный из коровьего молока в соответствии с технологией производства кумыса;

простокваша – кисломолочный продукт, произведенный с использованием заквасочных микроорганизмов – лактококков и (или) термофильных молочнокислых стрептококков;

мечниковская простокваша – кисломолочный продукт, произведенный с использованием заквасочных микроорганизмов – термофильных молочнокислых стрептококков и болгарской молочнокислой палочки;

ряженка – кисломолочный продукт, произведенный путем сквашивания топленого молока с добавлением молочных продуктов или без их добавления с использованием заквасочных микроорганизмов – термофильных молочнокислых стрептококков с добавлением болгарской молочнокислой палочки или без ее добавления;

сметана – кисломолочный продукт, который произведен путем сквашивания сливок с добавлением молочных продуктов или без их добавления с использованием заквасочных микроорганизмов – лактококков или смеси лактококков и термофильных молочнокислых стрептококков и массовая доля жира, в котором составляет не менее чем 9 процентов;

творог – кисломолочный продукт, произведенный с использованием заквасочных микроорганизмов – лактококков или смеси лактококков и термофильных молочнокислых стрептококков и методов кислотной или кислотно-сычужной коагуляции белков с последующим удалением сыворотки путем самопрессования, прессования, центрифугирования и (или) ультрафильтрации;

топленое молоко – сырое или питьевое молоко, подвергнутое термической обработке при температуре от 85 °С до 99 °С с выдержкой не менее 3 часов до достижения специфических органолептических свойств;

ферментные препараты – ферментные препараты для производства продуктов переработки молока – белковые вещества, необходимые для осуществления биохимических процессов, происходящих при производстве продуктов переработки молока.

2.2 Характеристика пробиотических микроорганизмов

Начиная с XX в. во многих странах по примеру Японии стала разрабатываться система функционального питания, направленная на улучшение функционирования определенных органов организма человека. Для этого используются дополнительные компоненты, добавляемые в пищу, а также микроорганизмы, называемые пробиотиками. Это, как правило, представители нормальной микрофлоры кишечника, которые культивируются отдельно и ими затем обогащаются те или иные продукты питания.

Пробиотические микроорганизмы могут также содержаться непосредственно в молочных продуктах (ГОСТ Р 56139-2014 Продукты пищевые специализированные и функциональные. Методы определения и подсчета пробиотических микроорганизмов):

пробиотические микроорганизмы: живые непатогенные, нетоксигенные микроорганизмы, поступающие в кишечник человека с пищей, благотворно воздействующие на организм человека и нормализующие состав и биологическую активность микрофлоры пищеварительного тракта (микроорганизмы родов *Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Propionibacterium*, а также используемые в ассоциациях с ними бактерии рода *Lactococcus*, вида *Streptococcus thermophiles*);

лактобациллы (*Lactobacillus*): Грамположительные, неподвижные, неспорообразующие палочковидные бактерии, имеющие форму от длинных и тонких палочек до коротких коккобацилл, обладают выраженным полиморфизмом, температурные пределы культивирования 5-53 °С, оптимум обычно 30-40 °С; факультативные анаэробы или микроаэрофилы, кислотолюбивые (рН 5,5-5,8 и менее), хемоорганотрофы; метаболизм сахаролитический по гомо- или гетероферментативному типу, всегда с образованием молочной кислоты, с образованием газа или без него; каталаза, нитратредуктаза- и цитохром-оксидаза отрицательные;

бифидобактерии (*Bifidobacterium*): Грамположительные, неподвижные, неспорообразующие бактерии, обладающие выраженным полиморфизмом: прямые, изогнутые или разветвленные палочки, часто раздвоенные Y- или V-образной формы, булавовидные, расположены одиночно, цепочками или скоплениями в виде "китайских иероглифов"; неустойчивы в кислой среде, температурные пределы культивирования 34-41 °С, оптимальная температура 36-38 °С; анаэробы, но при высоких концентрациях СО толерантны к кислороду; хемоорганотрофы; метаболизм сахаролитический; газа не образуют; глюкозу сбраживают преимущественно до уксусной и молочной кислот; каталазаотрицательные, но могут вырабатывать каталазу, если растут в аэробных условиях;

пропионовокислые бактерии (*Propionibacterium*): Грамположительные, неподвижные, неспорообразующие плеоморфные палочковидные бактерии, в зависимости от условий культивирования и цикла развития способны менять форму до кокковидной, изогнутой, булавовидной или раздвоенной; располагаются поодиночке, парами, цепочками или группами; температурный диапазон для роста – 25-46 °С, оптимальная температура – 30-37 °С и рН около 7,0; предпочитают строго анаэробные условия, но многие представители аэротолерантны; хемоорганотрофы; метаболизм сахаролитический; сбраживают субстраты преимущественно до пропионовой и уксусной кислот и углекислого газа;

стрептококки вида *Streptococcus thermophilus*: Грамположительные молочнокислые кокки, неподвижные, располагаются длинными цепочками; оптимальная температура развития – 40-45 °С, факультативные анаэробы, свертывают молоко при 50 °С; предел кислотообразования – 100-115 °Т; каталаза отрицательные; дифференциальные признаки – не развиваются при наличии в молоке 0,1% метиленового голубого, не дают роста в питательных средах с рН 9,6 и с содержанием 6,5% NaCl;

бактерии рода *Lactococcus*: мезофильные, грамположительные, неподвижные, неспорообразующие молочнокислые кокки; факультативные анаэробы, свертывающие молоко в течение первых 24 ч, формирующие точечные круглые колонии на плотных селективных средах при 30 °С; оптимальная температура для культивирования – 30-35 °С, сбраживают лактозу до молочной кислоты, растущие культуры имеют форму стрептококка.

См. Особенности культивирования пробиотических микроорганизмов в Приложении 1.

2.3 Требования к закваскам и ферментным препаратам

1. Микроорганизмы, в том числе пробиотические, используемые в монокультурах или в составе заквасок для производства продуктов переработки молока, должны быть идентифицированными, непатогенными, нетоксигенными и обладать свойствами, необходимыми для производства продуктов переработки молока.

2. Ферментные препараты, используемые для производства продуктов переработки молока, должны обладать активностью и специфичностью, необходимыми для конкретного технологического процесса, и соответствовать требованиям, установленным стандартами, нормативными документами федеральных органов исполнительной власти, сводами правил и (или) техническими документами.

3. Показатели микробиологической безопасности заквасок, ферментных препаратов, питательных сред для культивирования заквасочных и пробиотических микроорганизмов не должны превышать установленный допустимый уровень.

4. Другие показатели безопасности заквасок, пробиотических микроорганизмов, пребиотических веществ, ферментных препаратов и питательных сред для приготовления заквасок должны соответствовать требованиям законодательства РФ в области обеспечения качества и безопасности пищевых продуктов.

2.4 Требования к помещениям при производстве заквасок и пробиотических микроорганизмов

1. Готовые к применению закваски и пробиотические микроорганизмы должны быть произведены в организациях или в изолированных производственных помещениях организаций, территориально обособленных от других организаций. Приготовление из готовых к применению заквасок производственных заквасок и пробиотических микроорганизмов должно осуществляться изготовителем продуктов переработки молока в специальных производственных помещениях в соответствии с требованиями, установленными стандартами, нормативными документами федеральных органов исполнительной власти, сводами правил и (или) техническими документами.

2. Изготовителем продуктов переработки молока должна обеспечиваться безопасность заквасок, пробиотических микроорганизмов, процессов их производства и приготовления из них производственных заквасок посредством конструктивных особенностей (расположение и количество помещений, их состояние), организационных мероприятий (режимы работы, производственный контроль), соблюдения санитарно-эпидемиологических требований к условиям работы с микроорганизмами и техническому состоянию оборудования.

3. Приготовление производственных заквасок и (или) пробиотических микроорганизмов осуществляется изготовителем продуктов переработки молока в специальном производственном помещении, которое должно соответствовать следующим требованиям:

а) размещение в одном производственном здании с основными производственными помещениями, в которых используются производственные закваски и (или) пробиотические микроорганизмы, но изолированно от них;

б) наличие нескольких производственных помещений, в которых создаются и поддерживаются условия для защиты заквасок и (или) пробиотических микроорганизмов от загрязнения нежелательными микроорганизмами, бактериофагами и подобными посторонними агентами;

в) наличие приточно-вытяжной вентиляции и эффективной системы очистки и обработки воздуха.

4. Контроль за безопасностью заквасок и (или) пробиотических микроорганизмов при их производстве и приготовлении из них производственных заквасок и активизированных бактериальных концентратов изготовителем продуктов переработки молока на всех этапах производственного процесса осуществляется работниками, прошедшими специальную подготовку, а также аттестацию.

5. Весь процесс приготовления производственных заквасок и (или) пробиотических микроорганизмов (в том числе восстановление сухих питательных сред или сухого молока, пастеризация и (или) стерилизация, охлаждение, заквашивание, культивирование и охлаждение заквасок) осуществляется в закрытой системе.

6. Режимы мойки и дезинфекции производственных помещений, оборудования и инвентаря в помещении должны предусматриваться программой производственного контроля.

7. Не допускается использование производственных заквасок и (или) пробиотических микроорганизмов, которые не соответствуют требованиям безопасности, не израсходованы полностью из вскрытых упаковок и срок годности которых истек.

8. Каждая партия производственных заквасок и (или) пробиотических микроорганизмов, предназначенная для передачи из помещения в другие производственные помещения, должна сопровождаться документами, содержащими информацию о часе и дате ее производства, составе, назначении, об объеме, о показателях активности.

Контрольные вопросы.

1. *Дайте определение кисломолочным продуктам.*
2. *Дайте определение пробиотикам.*
3. *Перечислите микроорганизмы, которые относятся к пробиотическим.*
4. *Существуют ли определенные условия для производства пробиотических микроорганизмов.*

3. Типы брожений, используемые для получения кисломолочных продуктов

3.1 Общие сведения о брожении

Процесс брожения заинтересовал основоположника современной химии французского естествоиспытателя Антуана Лавуазье (1743-1794), который описал брожение как химическую реакцию, к которой живые организмы не имеют никакого отношения. Долгое время брожение так и рассматривалось, как химический процесс. В 1837 году несколько исследователей из разных стран (Шарль Каньяр де Ла-Тур, Теодор Шванн, Фридрих Кютцинг) независимо друг от друга опубликовали работы, в которых показали, что дрожжи способны размножаться посредством почкования, т.е. это живые организмы. Веками дрожжи использовались в пивоварении и виноделии, но никто об их значении для брожения не догадывался. Шванн, вскипятив виноградный сок и убив этим дрожжи показал, что брожение не могло начаться вновь, т.к. дрожжи в нем погибли при кипячении, а брожение могло начаться лишь после добавления к виноградному соку новых дрожжей. Но и после этих исследований многие химики продолжали отрицать роль живых организмов, в частности, дрожжей, в брожении.

В те годы в науке господствовало два направления – виталистическое, признававшее роль живого в процессах брожения и гниения, и механистическое – отрицавшее эту роль, объясняя происходящие процессы химическим катализом. Настоящее изучение природы брожений связано с именем основоположника микробиологии великого Луи Пастера (1822-1895). Прежде всего, в 1857-1863-х гг. он повторил эксперименты Шванна и других и подтвердил, что брожение осуществляют живые организмы и дал определение брожению: «*La fermentation est la vie sans l'air*» «Брожение – это жизнь без воздуха». В 1857 г. он показал, что молочнокислое брожение тоже осуществляется живыми организмами. В 1860 г. Пастер продемонстрировал, что сквашивание молока, которое прежде считалось независимым от живых организмов химическим процессом, вызывается бактериями. Оказалось, что существуют разные виды брожений, и вызываются они разными бактериями. Опыты по сбраживанию сахара в молочную кислоту Пастер опубликовал в 1857 г., в винную – в 1858 г., в масляную – в 1861 г. Он сумел установить связь между различными видами брожения и осуществляющими их разными видами микроорганизмов. Было выяснено, что эти процессы вызывают микроорганизмы, живущие без воздуха, Пастер описал и их морфологию. А вот в превращении спирта в уксусную кислоту он обнаружил аэробы, поэтому процесс не является по сути брожением, и в настоящее время называется неполным окислением.

Процесс брожения, по мнению Пастера, вызывался только живыми микроорганизмами. Ученый, придерживавшийся нейтралитета в споре между виталистами и механистами Мориц Траубе в 1858 г. высказал мысль, что процесс брожения вызывают ферменты, а не обязательно живые дрожжи. И только через 40 лет, в 1897 г., это предсказание обрело реальную форму. Эдуард Бюхнер показал, что «мертвая жидкость», т.е. растертые с песком дрожжи, сохраняла способность сбраживать глюкозу до этанола и углекислого газа. Активное

начало, находившееся в бесклеточной среде и вызывавшее брожение, получило название «en zyme, энзим» – «в закваске», или фермент – биокатализатор. За эти работы немецкий химик Э. Бюхнер в 1907 г. был удостоен Нобелевской премии и вошел в историю, как основоположник биохимии.

В 1885 г. Теодором Эшерихом была открыта кишечная палочка (*Escherichia coli*, названная тогда *Bacterium coli commune*), и началось изучение брожения, вызываемого этим микроорганизмом. Было установлено, что при брожении образуется водород, выделяющийся из муравьиной кислоты. В дальнейшем *E.coli* стала излюбленным объектом биохимиков, а биохимию и микробиологию с тех пор стали называть «родными сестрами» из-за близости процессов, которые они изучают.

По современным представлениям брожение – биохимический процесс, основанный на окислительно-восстановительных превращениях органических соединений в анаэробных условиях. В ходе брожения происходит выделение энергии и образование АТФ за счёт субстратного фосфорилирования.

При брожении субстрат окисляется не полностью, поэтому брожение энергетически мало эффективно в сравнении с дыханием, в ходе которого АТФ образуется не за счёт субстратного фосфорилирования, а за счет окислительного фосфорилирования.

Брожение осуществляют многие микроорганизмы, так называемые бродильщики, как прокариоты, так и эукариоты, (например, дрожжи рода *Saccharomyces*, вызывающие спиртовое брожение). Известны, кроме спиртового, два типа молочнокислого брожения – гомоферментативное и гетероферментативное, пропионовокислое, маслянокислое, муравьиновокислое, ацетобутиловое, брожение клетчатки с образованием метана и угольной кислоты, и каждое из этих брожений вызывается определенной группой микроорганизмов, обладающих необходимыми ферментами.

Брожение с древних времён используется человеком для получения разнообразных продуктов. Его используют в пивоварении, хлебопечении, виноделии, при получении кисломолочных продуктов.

Использование брожения стало особенно успешным при развитии биотехнологии. В XX в. брожение начали использовать для промышленного получения этанола, бутанола, ацетона, молочной кислоты, ацетальдегида. Развитие генетики микроорганизмов позволяет получать новые штаммы, способные вести процессы брожения особенно активно в анаэробных условиях за счет большей скорости роста, давать больше продуктов брожения, оставаясь при этом толерантными к небольшой концентрации кислорода.

Кисломолочные продукты – продукты, получаемые из молока в результате молочнокислого брожения, или молочнокислого брожения с участием спиртового брожения (смешанного брожения). Поэтому кисломолочные продукты делят на две группы – 1-ая группа продуктов вырабатывается только с использованием микроорганизмов, осуществляющих молочнокислое брожение и 2-ая группа – продукты, вырабатываемые за счет смешанного брожения.

3.2 Молочнокислое брожение

Молочнокислое брожение – это процесс превращения углеводов в молочную кислоту в анаэробных условиях с образованием молочной кислоты и выделением энергии, используемой микроорганизмами. Осуществляться молочнокислое брожение может разными микроорганизмами и поэтому конечными продуктами могут быть не только молочная кислота, но еще и дополнительные продукты.

Различают два типа молочнокислого брожения – гомоферментативное (конечный продукт – только молочная кислота) и гетероферментативное (кроме молочной кислоты образуются спирт и двуокись углерода, или другие продукты, в зависимости от вида микроорганизмов и его ферментов).

Молочнокислые бактерии – группа микроаэрофильных грамположительных микроорганизмов, сбраживающих углеводы с образованием молочной кислоты как одного из основных продуктов. Молочнокислое брожение стало известно людям на заре развития цивилизации. С тех пор им пользуются в домашних условиях и в пищевой промышленности для переработки и сохранения еды и напитков. Традиционно к молочнокислым бактериям относят неподвижных, неспорообразующих кокковидных или палочковидных представителей отряда *Lactobacillales* (например, *Lactococcus lactis* или *Lactobacillus acidophilus*). В эту группу входят бактерии, которые используются в ферментации молочных продуктов, овощей. Молочнокислые бактерии играют важную роль в приготовлении теста, какао и силоса. Несмотря на близкое родство, патогенные представители отряда *Lactobacillales* (например, пневмококки *Streptococcus pneumoniae*) обычно исключаются из группы молочнокислых бактерий.

С другой стороны, дальние родственники *Lactobacillales* из класса актинобактерий – бифидобактерии часто рассматриваются в одной группе с молочнокислыми бактериями. Некоторых представителей аэробных спорообразующих родов *Bacillus* (например, *Bacillus coagulans*) и *Sporolactobacillus* (например, *Sporolactobacillus inulinus*) иногда включают в группу молочнокислых бактерий из-за сходства в метаболизме углеводов и их роли в пищевой промышленности.

В природе молочнокислые бактерии встречаются на поверхности растений (например, на листьях, фруктах, овощах, зёрнах), в молоке, наружных и внутренних эпителиальных покровах человека, животных, птиц, рыб. Таким образом, помимо своей роли в производстве пищи и кормов, молочнокислые бактерии играют важную роль в живой природе, сельском хозяйстве и нормальной жизнедеятельности человека. Влияние ускоренной индустриализации производства молочнокислых бактерий, основанной на небольшом числе адаптированных для заводов штаммов, на природное разнообразие этих бактерий и здоровье человека пока остаётся недостаточно изученным.

3.2.1 Гомоферментативное молочнокислое брожение

Представляет собой энергетическую сторону образа жизни группы гомоферментативных молочнокислых бактерий (процесс добывания ее представителями энергии указывает на древность этой группы), или пути Эмбдена – Мей-

ергофа – Парнаса (Н. Embden, О. Meyerhof, Я. О. Парнас), по именам исследователей, внесших большой вклад в изучение этого процесса.

В процессе гомоферментативного молочнокислого брожения существуют 3 типа химических превращений:

- перестройка углеродного скелета исходного субстрата;
- окислительно-восстановительные превращения;
- образование АТФ.

В основе гомоферментативного брожения лежит гликолитический путь превращения глюкозы.

Энергетический выход процесса таков: образование 2 молекул АТФ на молекулу глюкозы. (Если исходный субстрат – полисахарид, образуются 3 молекулы АТФ на 1 молекулу сброженной глюкозы). Энергетическая эффективность процесса, т.е. эффективность запасаемой выделяемой свободной энергии в молекулах АТФ, составляет примерно 40%. Энергия запасается только в реакциях субстратного фосфорилирования. Как можно видеть из суммирования энергетических характеристик процесса, низкий энергетический выход сочетается в нем с высокой энергетической эффективностью, а в основе всего лежат простые механизмы получения энергии. Окислительно-восстановительные превращения имеют место на двух этапах процесса, именно они приводят к получению клеткой энергии. Если оценить общий окислительно-восстановительный баланс процесса ($C_6H_{12}O_6$ приводит к $2C_3H_6O_3$), можно видеть, что суммарного изменения степени окисленности при этом не происходит (если сравнить степень окисленности отдельных углеродных атомов глюкозы и молочной кислоты, получается другая картина). Это результат того, что процесс "замкнут на себя", т.е. субстрат является и источником веществ – доноров электронов и источником веществ – их акцепторов. Замкнутость процесса приводит к ограничению его окислительных и, следовательно, энергетических возможностей (но в данном конкретном случае еще не исчерпывает их). Все это, вместе взятое, определило "судьбу" гомоферментативного молочнокислого брожения.

Возникнув как первый, далекий от совершенства энергетический процесс, гомоферментативное молочнокислое брожение не было потом отброшено в процессе эволюции. Наоборот, оно закрепилось и существует сейчас в виде гликолиза у подавляющего большинства прокариот, дрожжей, грибов, а также у высших животных и растений, но только как первый этап более совершенного энергетического процесса, сформировавшегося в результате последующего развития способов получения энергии живыми организмами. Чем объясняется такая судьба гомоферментативного молочнокислого брожения? Вероятно, оказалось выгодным использовать его в качестве первого подготовительного этапа по следующим причинам:

- высокая энергетическая эффективность (не путать с энергетическим выходом процесса);
- простота механизмов получения энергии;
- перестройка исходного субстрата в форму, метаболически удобную для последующих превращений.



Процесс образования молочной кислоты чрезвычайно близок к процессу спиртового брожения. Глюкоза также расщепляется до пировиноградной кислоты. Но затем ее декарбоксилирование (отщепление CO₂), как при спиртовом брожении, не происходит, так как молочнокислые бактерии лишены соответствующих ферментов. У них активны дегидрогеназы (НАД). Поэтому пировиноградная кислота сама (а не уксусный альдегид, как при спиртовом брожении) принимает водород от восстановленной формы НАД и превращается в молочную кислоту. В процессе молочнокислого брожения бактерии получают энергию, необходимую им для развития в анаэробных условиях, где использование других источников энергии затруднено.

Таблица 2 – Представители гомоферментативных молочнокислых бактерий

Род бактерий	Морфология микроорганизмов	Виды микроорганизмов
Род <i>Streptococcus</i>	Сферические или овальные клетки; делятся в одной плоскости, в результате образуются пары или цепочки клеток	<i>S. lactis</i>
Род <i>Pediococcus</i>	Кокки; делятся в двух плоскостях, в результате образуются тетрады клеток	<i>P. cerevisiae</i>
Род <i>Lactobacillus</i> Подрод <i>Thermobacterium</i>	Палочки; делятся в одной плоскости, образуют пары или цепочки клеток	<i>L. delbruckii</i> , <i>L. acidophilus</i> <i>L. bulgaricus</i> <i>L. lactis</i> <i>L. jensenii</i>
Подрода <i>Streptobacterium</i>	Сбраживают гексозы по окислительному гликолитическому пути, осуществляя гомоферментативное молочнокислое брожение	<i>L. casei</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. xylosis</i>

Lactobacillus acidophilus – один из видов бактерий рода *Lactobacillus*. Эта бактерия используется в промышленности совместно со *Streptococcus salivarius* и *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* для изготовления ацидофилина и других ацидофильных напитков.

Lactobacillus acidophilus получили своё родовое название от лат. lacto – «молоко» и bacillus – «палочка», и видовое название от acidum – «кислота» и «philus» – «любить». Эта бактерия выживает в более кислых средах, чем другие виды (рН 4-5 и меньше) и оптимально растёт при температурах около 30 °С. *L. acidophilus* естественно встречается в пищеварительном тракте и вагине человека и некоторых других млекопитающих.

L. acidophilus ферментирует лактозу до молочной кислоты, подобно многим другим (хотя и не всем) молочнокислым бактериям. Некоторые родственные виды производят этанол, диоксид углерода и уксусную кислоту, однако *L. acidophilus* является гомоферментативным организмом, который производит только молочную кислоту. Как и большинство бактерий, *L. acidophilus* могут быть убиты нагреванием, излишней влажностью или прямым солнечным светом.

Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus (Ранее лат. *Lactobacillus bulgaricus*, болгарская палочка) – вид молочнокислых бактерий, подвида *Lactobacillus delbrueckii typus*, одна из двух бактерий, используемых для производства йогурта. Названа в честь Болгарии, в которой она была впервые открыта и использована.

Применяется для заквашивания молока, которое быстро свертывается под действием болгарской палочки при 45-50 °С.

3.2.2 Гетероферментативное молочнокислое брожение

Процесс более сложный, чем гомоферментативное: сбраживание углеводов приводит к образованию ряда соединений, накапливающихся в зависимости от условий процесса брожения. Одни бактерии образуют, помимо молочной кислоты, этиловый спирт и углекислоту, другие – уксусную кислоту; некоторые гетероферментативные молочнокислые бактерии могут образовывать различные спирты, глицерин, маннит.

Гетероферментативное молочнокислое брожение вызывают бактерии рода *Lactobacterium* и рода *Streptococcus*. Химизм этих брожений изучен не так хорошо, как спиртового или гомоферментативного молочнокислого брожения.

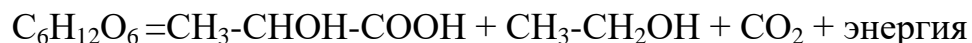
Гетероферментативные бактерии образуют молочную кислоту иным путем. Последняя стадия – восстановление пировиноградной кислоты до молочной – та же самая, что и в случае гомоферментативного брожения. Но сама пировиноградная кислота образуется при ином расщеплении глюкозы – гексозомонофосфатном. Выход энергии гораздо меньше, чем при спиртовом брожении.

Гетероферментативные бактерии сбраживают ограниченное число веществ: некоторые гексозы (причем определенного строения), пентозы, сахароспирты и кислоты.

К гетероферментативным молочнокислым бактериям, сбраживающим сахара с образованием молочной кислоты, CO₂, этанола и/или уксусной кислоты, относятся представители рода *Leuconostoc* и бактерии, объединенные в подрод *Betabacterium* рода *Lactobacillus* (*Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus brevis*). У них отсутствует ключевой фермент гликолитического пути – фруктозо-дифосфата-льдолаза, и поэтому сбраживание субстратов они могут осуществлять только по окислительному пентозофосфатному пути, т.е. являются облигатно гетероферментативными формами. Кроме того, представители подрода *Streptobacterium* (*Lactobacillus casei*, *Lactobacillus plantarum*, *Lactobacillus xylois*) этого же рода сбраживают гексозы по гликолитическому пути, а пентозы по окислительному пентозофосфатному пути, осуществляя в первом случае гомофер-

ментативное молочнокислое брожение, а во втором – гетероферментативное молочнокислое брожение.

Гетероферментативные молочнокислые бактерии *Leuconostoc mesenteroides* сбраживают глюкозу в молочную кислоту, этанол и CO₂ по следующему уравнению:



Гетероферментативные молочнокислые бактерии по морфологическим, культуральным признакам, особенностям конструктивного метаболизма близки к гомоферментативным формам. Некоторые признаки гетероферментативных молочнокислых бактерий представлены в табл. 3.

Таблица 3 – Представители гетероферментативных молочнокислых бактерий

Род бактерий	Морфология микроорганизмов	Виды микроорганизмов
Род <i>Leuconostoc</i>	Сферические или чечевицеобразные клетки; делятся в одной плоскости, в результате образуются цепочки	<i>L. mesenteroides</i> <i>L. lactis</i>
Род <i>Lactobacillus</i> Подрод <i>Betabacterium</i>	Палочки; делятся в одной плоскости	<i>L. fermentum</i> <i>L. brevis</i> <i>L. buchneri</i>
Подрода <i>Streptobacterium</i>	Сбраживают пентозы по окислительному пентозофосфатному пути, осуществляя гетероферментативное молочнокислое брожение.	<i>L. casei</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. xylois</i>

Молочнокислое брожение широко используется не только при выработке молочных продуктов: простокваши, ацидофилина, творога, сметаны. Молочнокислое брожение происходит на первом этапе изготовления сыра, затем молочнокислые бактерии сменяются пропионово кислыми.

Молочнокислые бактерии нашли широкое применение при консервировании плодов и овощей, в силосовании кормов. Чистое молочнокислое брожение применяется для получения молочной кислоты в промышленных масштабах.

Молочная кислота находит широкое применение в производстве кож, красильном деле, при выработке стиральных порошков, изготовлении пластмасс, в фармацевтической промышленности и во многих других отраслях. Молочная кислота также нужна в кондитерской промышленности и для приготовления безалкогольных напитков.

3.3 Бифидоброжение

Кроме известных двух типов молочнокислого брожения, используемых при изготовлении кисломолочных продуктов, когда бактерии одной группы в процессе брожения углеводов образуют только молочную кислоту, а бактерии

другой из каждой молекулы глюкозы «производят» по одной молекуле молочной кислоты, этанола и CO_2 , известно еще бифидоброжение.

Его осуществляют бактерии рода *Bifidobacterium*. В процессе брожения образуются ацетат и лактат и освобождается энергия. Для брожения необходима лактаза или β -галактозидаза, гидролизующая дисахарид лактозу на галактозу и глюкозу. При недостатке этого фермента у бактерий, обитателей кишечника человека, наблюдается непереносимость молочных продуктов. Примером бифидобактерий, используемых в приготовлении кисломолочных продуктов с пробиотическими свойствами, являются *Bifidobacterium bifidum*, *B.adolescentis*, *B.longum*, *B.longum*, *B.infantis*.



3.4 Спиртовое брожение

При производстве кефира, кумыса и некоторых других продуктов наряду с молочнокислым брожением, вызываемым бактериями, имеет место и спиртовое брожение, вызываемое дрожжами.

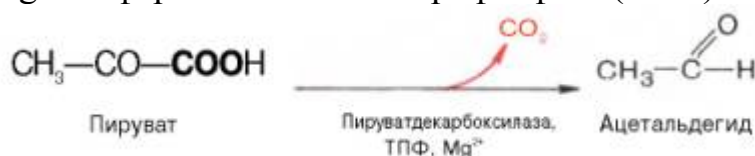
Спиртовое брожение – химическая реакция брожения, осуществляемая дрожжами, в результате которой одна молекула глюкозы преобразуется в 2 молекулы этанола и в 2 молекулы углекислого газа.

Спиртовое брожение осуществляется так называемыми дрожжеподобными организмами, а также некоторыми плесневыми грибами. Суммарную реакцию спиртового брожения можно изобразить следующим образом:



Механизм реакции спиртового брожения чрезвычайно близок к гликолизу. Расхождение начинается лишь после этапа образования пирувата. При гликолизе пируват при участии фермента ЛДГ (лактатдегидрогеназа) и кофермента НАДН восстанавливается в лактат. При спиртовом брожении этот конечный этап заменен двумя другими ферментативными реакциями – пируватдекарбоксилазной и алкогольдегидрогеназной.

В дрожжевых клетках (спиртовое брожение) пируват вначале подвергается декарбоксилированию, в результате чего образуется ацетальдегид. Данная реакция катализируется ферментом пируватдекарбоксилазой, который требует наличия ионов Mg и кофермента тиаминпирофосфата (ТПФ):



Образовавшийся ацетальдегид присоединяет к себе водород, отщепляемый от НАДН, восстанавливаясь при этом в этанол. Реакция катализируется ферментом алкогольдегидрогеназой:



Таким образом, конечными продуктами спиртового брожения являются этанол и CO_2 , а не молочная кислота, как при гликолизе.

Процесс молочнокислого брожения имеет большое сходство со спиртовым брожением. Отличие заключается лишь в том, что при молочнокислом брожении пировиноградная кислота не декарбоксилируется, а, как и при гликолизе в животных тканях, восстанавливается при участии ЛДГ за счет водорода НАДН.

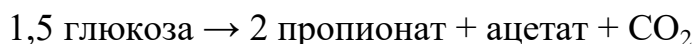
Существуют и другие виды брожения, конечными продуктами которых могут являться пропионовая, масляная и янтарная кислоты, а также другие соединения в зависимости от того, какие микроорганизмы вызывают брожение.

3.5 Пропионовокислое брожение

Пропионовокислое брожение происходит при приготовлении некоторых твёрдых сыров на стадии их созревания.

Пропионовокислое брожение осуществляют преимущественно бактерии подпорядка *Propionibacterineae* класса *Actinobacteria*, обитающие в рубце и кишечнике жвачных животных.

Суммарное уравнение реакции пропионовокислого брожения:



Субстратом для пропионовокислых бактерий служат моно- и дисахариды, а также некоторые органические кислоты, однако, в отличие от молочнокислых бактерий, они не способны разлагать лактозу и никогда не встречаются в молоке.

Если субстратом для пропионовокислого брожения служат сахара, то они по пути гликолиза превращаются в пировиноградную кислоту (пируват), а если, то лактатдегидрогеназа окисляет её до пирувата. Далее пируват под действием фермента транскарбоксилазы превращается в щавелевоуксусную кислоту (оксалоацетат) при участии в качестве кофермента. Биотин участвует в переносе карбоксильной группы от метилмалонил-КоА на пируват с образованием оксалоацетата и пропионил-КоА. Оксалоацетат восстанавливается до яблочной кислоты (малата) малатдегидрогеназой, используя $\text{NADH} + \text{H}^+$ как донор электронов. Далее малат дегидратируется фумаразой с образованием фумаровой кислоты (фумарата), а она восстанавливается в янтарную кислоту (сукцинат) с затратой восстановленного FADH_2 мембраносвязанным ферментом фумаратредуктазой, причём на этой стадии происходит образование АТФ за счёт окислительного фосфорилирования. Фумаратредуктазную систему пропионовокислых бактерий рассматривают как прототип сложных электрон-транспортных цепей

аэробных организмов. Таким образом, у пропионовокислых бактерий наблюдается сопряжение процессов брожения и дыхания.

Далее сукцинат активируется коферментом А, который высвобождается при образовании пропионата из пропионил-КоА. Сукцинил-КоА преобразуется в метилмалонил-КоА за счёт перемещения метильной группы при помощи витамина В₁₂ (цианокобаламина) – кофермента фермента мутаза. Метилмалонил-КоА выступает донором карбоксильной группы для пирувата, замыкая цикл. Параллельно с описанным процессом пируват подвергается окислительному декарбоксилированию пируватдегидрогеназным комплексом с образованием ацетил-КоА, который далее преобразуется в ацетат с образованием АТФ. Многие пропионовокислые бактерии при сбраживании глюкозы две молекулы пирувата восстанавливают до пропионата, одну окисляют до уксусной кислоты, при этом общий энергетический выход составляет 3,5 молекулы АТФ на молекулу глюкозы.

Бактерия *Clostridium propionicum* осуществляет особый вариант брожения, сопровождающийся образованием пропионата, ацетата и углекислого газа, при этом одним из промежуточных продуктов выступает акрилоил-КоА. При этом процессе (его также называют акрилоил-КоА-путь) при сбраживании трёх молекул молочной кислоты (лактата) две служат донорами, а одна – акцептором электронов. Общий энергетический выход этого пути составляет всего 0,3 молекулы АТФ.

Контрольные вопросы.

1. Перечислите типы брожений, которые могут быть использованы для получения кисломолочных продуктов.
2. В чем состоит разница между гомо- и гетероферментативным брожением (возбудители и продукты).
3. Какие свойства объединяют всех возбудителей брожений.
4. Где встречаются в природе молочнокислые бактерии.
5. Где встречаются в природе бифидобактерии.
6. Где встречаются в природе пропионовокислые бактерии.

4. Характеристика микроорганизмов молочнокислых брожений

4.1 Гомоферментативного брожения

Мезофильные стрептококки. К ним относятся *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris*. Морфологические, культурные и ферментативные свойства этих микроорганизмов одинаковые.

***Str. lactis* (молочнокислый стрептококк).** Клетки *Str. lactis* имеют круглую форму, располагаются в виде овальных, попарно соединенных клеток (диплококков) или коротких цепочек. При росте на поверхности твердых питательных сред образует мелкие, росинчатые колонии; глубинные колонии лодочкообразные или в форме чечевицы. Хорошо растут в присутствии глюкозы или лактозы. На гидролизованном агаре с мелом вокруг колоний образуют зоны просветления (в результате выделения молочной кислоты происходит растворение мела). Благоприятной средой для развития стрептококков является гидролизованное молоко. По росту на кровяном агаре относится к гамма-типу. Оптимальная температура роста 30 °С. При этой температуре они свертывают молоко за 10-12 ч. Сгусток ровный, плотный, колющейся консистенции, имеет чистый кисломолочный вкус и аромат. Некоторые расы (разновидности) образуют сгусток тягучей консистенции и поэтому непригодны для выработки большинства кисломолочных продуктов. *Str. lactis* никогда не сбраживают рамнозу, сахарозу, раффинозу. Часто разлагают казеин. Предельная кислотность, создаваемая в молоке при культивировании *Str. lactis*, колеблется в пределах 110-120 °Т (иногда 130 °Т), однако встречаются и малоактивные штаммы, предельная кислотность которых достигает в молоке 90-100 °Т. Некоторые разновидности *Str. lactis* продуцируют весьма активный антибиотик низин. Отдельные штаммы молочнокислых стрептококков могут вызывать пороки молочных продуктов: тягучесть, горечь (вследствие пептонизации молока) и др.

***Str. cremoris* (сливочный стрептококк).** Он отличается от *Str. lactis* тем, что его клетки чаще располагаются в виде цепочек. Форма и величина колоний аналогична форме и величине колоний *Str. lactis*. Оптимальная температура развития *Str. cremoris* 20-25 °С, максимальная 35-38 °С. Через 12 ч в молоке образует прочный сгусток сметанообразной консистенции. Предельная кислотность, образуемая *Str. cremoris* в молоке, 110-115 °Т. Ферментативные свойства также идентичны. *Str. cremoris* отличается от *Str. lactis* по способности сбраживать мальтозу, декстрин, сахарозу. *Str. cremoris* не растет при 40 °С в среде с 4% NaCl при pH 9,2. *Str. cremoris* не разлагает казеина, иногда и салицина.

***Streptococcus thermophilus*. (термофильный стрептококк).** Термофильные стрептококки по сравнению с мезофильными лучше развиваются при повышенной температуре. Термофильные стрептококки в отличие от мезофильных сбраживают сахарозу. Поэтому для их выделения из посевного материала к безуглеводной питательной среде добавляют сахарозу. Форма и расположение клеток в мазках идентична морфологии и расположению клеток *Str. cremoris*. Клетки несколько крупнее, располагаются в виде цепочек разной длины. Но *Str. thermophilus* имеет и свои особенности (оптимальная температура развития 40-45 °С, максимальная 45-50 °С).

При росте на твердых питательных средах *Str. thermophilus* образует округлой формы с зернистой структурой поверхностные и глубинные лодочкообразные, иногда с выростом колонии. При оптимальной температуре развития термофильный стрептококк свертывает молоко за 3,5-6 ч, образуя ровный, прочный сгусток сметанообразной консистенции; предельная кислотность 110-120 °Т. Некоторые штаммы стрептококка выделяют диацетил. Термофильный стрептококк не сбраживает мальтозы, декстрина и салицина; не разлагает казеина.

Лактобациллы (лат. *Lactobacillus*, от лат. *lact* – молоко) – род грамположительных факультативно анаэробных или микроаэрофильных бактерий семейства *Lactobacillaceae*. Особую значимость изучение антагонистических свойств лактобацилл приобретает в свете внедрения в технологические циклы метода совместного культивирования, который является перспективным при создании продуктов с пробиотическими свойствами. Морфология клеток – мелкие палочки правильной формы, расположение в цепочку, встречаются одиночные и парные, величина – от 0,5-0,6 до 5,1-6,5 мкм. Все клетки окрашиваются по Граму положительно, неподвижны, спор не образуют, факультативно-анаэробные, не образующим спор. Лактобациллы оказывают антагонистическое действие не только по отношению к микроорганизмам других семейств и родов, они способны подавлять развитие бактерий, относящихся к другим видам.

Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus (Ранее лат. *Lactobacillus bulgaricus*, болгарская палочка) – подвида *Lactobacillus delbrueckii* типус, одна из двух бактерий, используемых для производства йогурта. Названа в честь Болгарии, в которой она была впервые открыта и использована, как вид молочнокислых бактерий. Применяется для заквашивания молока, которое быстро свертывается под действием болгарской палочки при 45-50 °С.

Lactobacillus acidophilus – один из видов бактерий рода *Lactobacillus*. Эта бактерия используется в промышленности совместно со *Streptococcus salivarius* и *Lactobacillus delbrueckii ssp. bulgaricus* для изготовления ацидофилина и других ацидофильных напитков.

Lactobacillus acidophilus получили своё родовое название от лат. *Lacto* – «молоко» и *bacillus* – «палочка», и видовое название от *acidum* – «кислота» и «*philus*» – «любить». Эта бактерия выживает в более кислых средах, чем другие виды (рН 4-5 и меньше) и оптимально растёт при температурах около 30 °С. *L. acidophilus* естественно встречается в пищеварительном тракте и вагине человека и некоторых других млекопитающих.

L. acidophilus ферментирует лактозу до молочной кислоты, подобно многим другим (хотя и не всем) молочнокислым бактериям. Некоторые родственные виды производят этанол, диоксид углерода и уксусную кислоту, однако *L. acidophilus* является гомоферментативным организмом, который производит только молочную кислоту. Как и большинство бактерий, *L. acidophilus* могут быть убиты нагревом, влажностью или прямым солнечным светом.

4.2 Гетероферментативного молочнокислого брожения

К микроорганизмам этой группы относятся *Leuconostoc citrovorum* и ароматообразующие стрептококки *Str. diacetylactis*, *Str. acetoinicus*, *Str. paracitrovorus*), *Str. citrovorus* (*Leuconostoc citrovorum*).

Str. diacetylactis, **Str. acetoinicus**, **Str. paracitrovorus** (*Leuconostoc citrovorum*), **Str. citrovorus** (*Leuconostoc citrovorum*) – ароматообразующие стрептококки. Клетки их несколько мельче, чем у *Str. lactis* и *Str. cremoris*; располагаются в мазках в виде диплококков, одиночных клеток или цепочек различной длины.

При росте на плотных питательных средах ароматообразующие стрептококки образуют сходные со *Str. lactis* и *Str. cremoris* круглые или каплевидные колонии; глубинные колонии лодочкообразные. Оптимальная температура развития ароматообразующих бактерий 25-30 °С.

Ароматообразующие бактерии выделяют в молоке и молочных продуктах повышенное количество летучих, кислот (уксусная и пропионовая) и ароматических веществ (эфиры, диацетил). Большинство из них содержит фермент цитритазу, поэтому способны сбраживать лимонную кислоту; за эту способность их называют цитроворусами. Для культивирования чистых культур ароматообразующих бактерий рекомендуется делать посев на агар, содержащий лимоннокислый кальций. Вокруг колоний образуются зоны просветления в результате сбраживания лимоннокислого кальция. Колонии других молочнокислых бактерий не имеют зон просветления.

У ароматообразующих бактерий энергия кислотообразования неодинакова. Так, *Str. diacetylactis* – наиболее сильный кислотообразователь; его предельная кислотность около 100 °Т. Он вызывает образование сгустка в молоке через 16-18 ч, а менее активные штаммы – через 48 ч; *Str. paracitrovorus* свертывает молоко при оптимальной температуре и кислотности не более 80 °Т в течение 2-3 дней. *Str. citrovorus* не вызывает свертывания молока, так как он слабый кислотообразователь. Предельная кислотность, образуемая в молоке *Str. acetoinicus*, 110-115 °Т.

Lactobacillus plantarum широко распространен в природе, на растениях, встречаются в норме в слюне, в толстой кишке. *L. Plantarum* представляет альтернативу антибиотикам, так как пробиотик использует свой потенциал, чтобы блокировать рецепторы для грамотрицательных бактерий (шигелл, протей, кишечной палочки).

Lactobacillus casei в норме присутствуют в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) человека, начиная от слизистой оболочки рта и заканчивая прямой кишкой. В кислой среде желудка лактобактерии практически отсутствуют, в тонкой кишке лактобактерии располагаются, в основном, в пристеночном слое. Наибольшее число лактобактерий, в том числе *Lactobacillus casei* имеется в толстой кишке. Кроме включения в состав молочных продуктов для придания им свойств пробиотиков, *Lactobacillus casei* используются в производстве кисломолочных продуктов и напитков, сыров, простокваши, различных биопродуктов.

5 Характеристика продуктов молочнокислых брожений

5.1 Гомоферментативного молочнокислого брожения

В продуктах гомоферментативного молочнокислого брожения происходит образование только молочной кислоты. К таким продуктам относятся несколько видов простокваш («Обыкновенная», «Мечниковская», «Болгарская», «Южная», «Ацидофильная»), а также ряженка, варенец, снежок.

«**Обыкновенная простокваша**» готовится из пастеризованного молока с использованием в качестве закваски **мезофильных стрептококков молочнокислого (*Str.lactis*) и сливочного (*Str.cremoris*)**. Кислотность продукта достигает 90-120⁰Т и, а белок молока образует плотный сгусток.

«**Мечниковская простокваша (йогурт)**» готовится на основе **термофильных молочнокислых стрептококков (*Str.thermophilus*) и болгарской молочнокислой палочки (*Lactobact.bulgaricum*)**. Молоко пастеризуют при 85-90 °С и заквашивают при 40 °С. В ней содержатся полезные бактерии, которые препятствуют процессам гниения в кишечнике.

Простокваша содержит витамины: витамин В₁, витамин В₂, ниацин, витамин С, витамин В₆, биотин, пантотеновая кислота, витамин В₁₂. Этим она схожа с обычной простоквашей. Отличается Мечниковская простокваша от обычной большим содержанием витамина А, так как этот витамин является жирорастворимым. Традиционно Мечниковскую простоквашу готовят из молока с массовой долей жира 6%, обычная – 3,2%. Именно поэтому в простокваше Мечникова больше жирорастворимых витаминов и омега-3 жиров. Простокваша, изобретенная И. Мечниковым, содержит минералы: калий, кальций, магний.

«**Южная**» простокваша. Вырабатывается на основе пастеризованного и охлажденного до 30 °С молока, в которое вносится закваска, состоящая из **болгарской палочки, термофильного молочнокислого стрептококка** и культуры дрожжей, способных сбраживать лактозу. Скваживание ведут при 45-50 °С. Кислотность молока повышается до 130-140⁰Т.

«**Ацидофильная простокваша**». готовится на основе термофильных молочнокислых стрептококков (*Str.thermophilus*) и ацидофильной палочки палочки (*Lactobact. acidophilus*). Молоко пастеризуют при 85-90 °С и заквашивают при 40 °С. В ней содержатся полезные бактерии, которые препятствуют процессам гниения в кишечнике.

Ряженка – кисломолочный продукт, изготавливаемый сквашиванием топленого молока с добавлением или без добавления молочных продуктов заквасочными микроорганизмами **термофильных молочнокислых стрептококков** с добавлением или без добавления болгарской молочнокислой палочки, при этом общее содержание заквасочных микроорганизмов в готовом продукте в конце срока годности составляет не менее 10⁷ КОЕ в 1 г продукта. В зависимости от используемого молочного сырья ряженка может вырабатываться: из натурального молока, из нормализованного молока. Вообще в зависимости от массовой доли жира ряженку делят на обезжиренную (0,1%), нежирная (до 1%), маложирная (до 2,5%), классическая (до 4,5%). Скваживание проводится с целью нарастания кислотности и образования плотного сгустка. Скваживание

проводится в резервуаре при температуре 38-42 °С в течении 4-5 часов, до образования сгустка, кислотностью 65-70 °Т. Сущность сквашивания заключается в том, что при повышении кислотности в процессе образования сгустка происходит молочнокислое брожение, возбудителем которого являются молочнокислые стрептококки. Окончание процесса сквашивания определяют по плотности сгустка, времени и кислотности. В готовом продукте ощущается привкус пастеризации, что является нормой для продукта.

Варенец – для производства варенца используется молоко кислотностью не выше 19 °Т, которое предварительно подвергают очистке. Исходное молоко нормализуют до требуемой массовой доли жира. Нормализация молока осуществляется в потоке на сепараторах-нормализаторах или смешением. Нормализованное сырьё подвергают пастеризации (120 °С, 15 мин или при 95-98 °С с выдержкой 20 сек.) В результате пастеризации уничтожаются микроорганизмы в молоке и создаются условия благоприятные для развития микрофлоры закваски. Пастеризация молока обычно сочетается с гомогенизацией. Гомогенизация происходит при 55-60 °С и давлении 17,5 МПа. Гомогенизация улучшает консистенцию варенца. После пастеризации и гомогенизации молоко охлаждается до температуры заквашивания. Для заквашивания используется закваска, приготовленная на основе вязкого **термофильного стрептококка**. Заквашенное молоко охлаждают до 40-45 °С. В охлаждённое до температуры заквашивания молоко вносится производственная закваска в количестве 5%. Наиболее рационально вносить закваску в молоко в потоке. Для этого закваска через дозатор подаётся непрерывно в молокопровод и в смесителе смешивается с молоком. В готовом продукте ощущается привкус пастеризации, что является нормой для продукта.

Снежок – кисломолочный напиток, сладкий, фруктовый, напиток, вырабатывается резервуарным методом по типу простокваши, на закваске, приготовленной на культуре **термофильного стрептококка и болгарской палочки**. Консистенция напитка должна быть слегка вязкой и плотной. Вырабатывается из пастеризованного нормализованного молока, сквашенного чистыми культурами болгарской палочки и термофильного стрептококка, с добавлением сахара или плодово-ягодных сиропов и пюре. Охлаждение до температуры заквашивания: пастеризованная смесь охлаждается до температуры 38-40 °С. Заквашивание и сквашивание: продолжительность сквашивания составляет 2,5-3 ч до образования сгустка кислотностью 80-90 °Т.

Сметана. Сметана вырабатывается на основе сливок. Наибольшее распространение имеет сметана 30%-ной жирности, сквашенная чистыми культурами мезофильных молочнокислых стрептококков типа *Str. lactis* и *Str. cremoris*. В качестве ароматообразователей вводят *Str. acetoinicus*, *Str. diacetylactis*. Сметану готовят из пастеризованных при 85-95 °С и гомогенизированных сливок. Сливки охлаждают до 25-27 °С и вносят 1-5% закваски. В процессе сквашивания сливок под действием молочнокислых микроорганизмов происходит сбраживание молочного сахара с образованием молочной кислоты и ароматических веществ. В результате накопления в сливках молочной кислоты происходит кислотная коагуляция казеина и денатурированных при пасте-

ризации сывороточных белков с образованием сгустка. Сливки по сравнению с молоком содержат меньше плазмы, а, следовательно, и питательных веществ для развития молочнокислой микрофлоры. В связи с этим сквашивание сливок происходит медленнее и сгусток образуется через 12-16 ч. Окончание сквашивания определяют по кислотности сгустка, которая для сметаны 20% -ной жирности составляет 65-80 °Т, 25% -ной жирности – 60-75 °Т и 30% -ной жирности – 55-70 °Т.

Сыр – продукт, при выработке которого используется молочнокислое брожение, но также и фермент (сычужный или его микробный заменитель), который воздействует на белок молока (казеин), расщепляя его до пептонов. В качестве заквасок для осуществления брожения применяют *Streptococcus lactis*, *Streptococcus cremoris* и ароматобразующие стрептококки (*Str. diacetylactis*, *Str. paracitrovorus*, *Str. citrovorus*), *Str. thermophilus*, *Lactobacterium helveticum*, *Lactobact. plantarum*. Для выработки сыра используется молоко, обладающее определенными органолептическими и физико-химическими характеристиками и делающее его сыропригодным. Из пастеризованного молока получают сыры лучшего качества, чем из сырого молока. В зависимости от типа пастеризационных установок в сыроварении применяют длительную пастеризацию при 63-65 °С с выдержкой 20 мин или кратковременную – при 71-72 °С с выдержкой 20-25 с. Добавляемый фермент (1-2,5 г на 100 кг молока) действует на казеин молока при температуре 40-41 °С и рН 6,2. Образующиеся под действием фермента пептоны далее расщепляются молочнокислыми бактериями до аминокислот и аммиака. В процессе приготовления сыр подвергается различным дополнительным обработкам, вследствие которых все составные части сыра претерпевают существенные физико-химические изменения, которые определяют свойства, вкус, запах, консистенцию и рисунок сыра.

Масло сливочное – Различают два основных типа сливочного масла – сладкосливочное и кислосливочное. Сладкосливочное масло готовится из пастеризованных сливок, которые не заквашиваются микроорганизмами. Понижение численности микроорганизмов в сливках достигается их пастеризацией с последующей упаковкой и хранением масла при низких температурах (– 18-20 °С) и надлежащим уходом за оборудованием, чтобы избежать размножения микроорганизмов. В технологии этого типа масла микроорганизмы нежелательны.

Масло кислосливочное – технология кислосливочного масла основана на использовании молочнокислых бактерий для сквашивания сливок. Сырьем для получения этого масла являются сливки, которые должны быть свежими, чистыми, без посторонних запахов и привкусов. Сливки подвергаются пастеризации, которая может осуществляться при температуре 70-80 °С и непрерывном движении сливок, или при 70 °С – 30 мин. При этом погибает большинство микроорганизмов (до 99,9 %), а также разрушаются ферменты (липаза, пероксидаза, протеаза). После пастеризации сливок в них вносят закваску, состав которой имеет значение для повышения прочности (устойчивости при хранении) и аромата масла. В состав закваски входят *Str. lactis*, *Str. cremoris* и ароматобразующие бактерии: *Str. diacetylactis*, *Str. citrovorus* и *Str. paracitrovorus*. Под-

бирая разный состав заквасок добиваются сбалансированного аромата и хорошей сохранности масла.

Творог – есть несколько методов изготовления этого кисломолочного продукта, отличающихся между собой отдельными этапами технологического процесса или видами сырья. Для всех способов производства, за исключением термостатного, требуется одинаковое оборудование. Различают несколько способов получения творога, из которых традиционным является использования ферментов и хлористого кальция. Творог производят путём заквашивания пастеризованного молока с ферментами. Самым простым в организации будет именно этот способ производства творога, но он имеет один существенный недостаток – большая продолжительность изготовления.

При выработке творога **кисотно-сычужным способом** молоко сквашивают не только бактериальной закваской, но и сычужным ферментом с хлористым кальцием. Готовность сгустка устанавливают по кислотности, которая должна быть около 75 °Т. При ускоренном способе сквашивания в молоко вносят 2,5% закваски, приготовленной в заквасочнике на культурах мезофильного стрептококка, и 2,5% термофильного молочнокислого стрептококка.

5.2 Характеристика продуктов смешанного брожения

В основе получения этих продуктов лежит молочнокислое и спиртовое брожение. Примером таких продуктов является кефир, фруктовый кефир, ацидофильно-дрожжевое молоко, кумыс, курунга, шубат. Продукты смешанного брожения обладают более резким, слегка щиплющим вкусом, обусловленным присутствием этилового спирта и углекислоты, и нежным сгустком, пронизанным мельчайшими пузырьками углекислого газа.

Айран – кисломолочный продукт, произведенный путем смешанного (молчнокислого и спиртового) брожения с использованием заквасочных микроорганизмов – термофильных молочнокислых стрептококков, болгарской молочнокислой палочки и дрожжей с последующим добавлением воды, соли или без их добавления. Делается айран из коровьего или козьего молока, воды, соли, дрожжей и базилика. Получается своеобразный жидкий соленый кефир. У армянских горцев такой напиток называют таном и готовят его без базилика.

Ацидофилин – кисломолочный продукт, произведенный с использованием в равных соотношениях заквасочных микроорганизмов – ацидофильной молочнокислой палочки, лактококков и приготовленной на кефирных грибках закваски;

Кефир – кисломолочный продукт, произведенный путем смешанного (молчнокислого и спиртового) брожения с использованием закваски, приготовленной на кефирных грибках, без добавления чистых культур молочнокислых микроорганизмов и дрожжей. Кефир, получающийся в результате жизнедеятельности кефирного гриба, является продуктом одновременно и молочнокислого, и спиртового брожения. В кефире содержатся продукты брожения – молочная кислота, углекислота, спирт, а также ферменты, легко усваиваемые белки, полисахариды, и витамин D.

Кефирный гриб является симбиозом более десяти различных микроорганизмов, растущих и размножающихся вместе. В состав гриба входят лактобактерии, уксуснокислые бактерии, молочные дрожжи (дрожжеподобные микроорганизмы).

В химический состав кефира тибетского кефирного гриба входят следующие элементы в расчете на каждые 100 грамм продукта:

- Молочные бактерии (лактобактерии).
- Дрожжеподобные микроорганизмы.
- Спирт; кислоты (в том числе углекислота).

Так называемый «биокефир», помимо классических кефирных грибков, содержит бифидобактерии, помогающие усвоению продукта.



Кефирный грибок

Кумыс – кисломолочный продукт, произведенный путем смешанного (молочнокислого и спиртового) брожения и сквашивания кобыльего молока с использованием заквасочных микроорганизмов – болгарской и ацидофильной молочнокислых палочек, и дрожжей.

Кумысный продукт – кисломолочный продукт, произведенный из коровьего молока в соответствии с технологией производства кумыса.

Курунга – бурятско-монгольский кисломолочный напиток. Используют жирное молоко, в которое кроме закваски добавляются лекарственные травы в сухом виде или в виде выжатого сока.

Мацони (абхазская простокваша) – делается комбинированной закваской и с помощью дрожжей, так же, как тан и айран.

Шубат – напиток из скисшего верблюжьего молока, который с давних времён готовят казахские кочевники-скотоводы. В торсык (кожаный мешок) они кладут закваску, вливают свежее верблюжье молоко и оставляют на сутки, а перед тем, как подать к столу, хорошо перемешивают. Получается солёный густой напиток – более жирный, чем кумыс (8% жира).

Ассортимент кисломолочных продуктов в России значительно расширился в последние годы. Это и популярные во всем мире йогурты, и так называемые бифидопродукты, и традиционные кефир и простокваша, к которым присоединилась приставка «био».

6. Методика выполнения студентами лабораторных работ

Лабораторная работа №1

Цель работы: Ознакомление с общими правилами отбора проб при исследовании молочных продуктов.

Для решения поставленной цели на лабораторном занятии №1 необходимо выполнить следующие задачи:

1. Изучить общие правила отбора проб для исследования молочной продукции (ГОСТ 26809.1-2014).
2. Отобрать пробу предложенного продукта и приготовить два микроскопических препарата для окраски (метиленовым голубым и по Граму).
3. Провести оценку органолептических показателей выбранного образца и оценить его соответствие требованиям ТР ТС 033/2013.
4. Сделать выводы по занятию и записать.

Задание 1. Изучите Правила отбора проб молока и молочной продукции (ГОСТ 26809.1-2014, Часть 1) и письменно ответьте на вопросы, приведенные в конце.

Общие правила отбора проб

Отбор проб производят после проверки состояния тары и установления однородности партии. В случае смешения партий продукцию рассортировывают на однородные партии.

Осматривают всю партию полностью и отмечают недостатки в состоянии тары (неисправность тары, отсутствие пломб, загрязнение, наличие плесени, утечки, отсутствие маркировки или неясная маркировка и пр.).

От продуктов, доставленных в поврежденной таре, пробы отбирают отдельно.

Пробы отбирают от продуктов, упакованных только в исправную тару.

Отбор проб для микробиологического анализа молока и молочных продуктов производят в первую очередь;

Правила отбора проб и величина средней пробы для лабораторного исследования зависят от вида продукта и характера исследования.

Перед вскрытием упаковки с продукцией крышки очищают от загрязнений и протирают.

Записывают все данные, имеющиеся на упаковке:

- наименование предприятия-изготовителя;
- дата и время изготовления продукта;
- номер, объем партии;
- температура продукта в момент отбора пробы;
- дата и час изготовления продукта, и время отбора пробы;
- должность и подпись лица, проводившего отбор проб;
- показатели, которые должны быть определены в продукте;
- обозначения стандарта или технических условий на продукт.

До начала анализа пробы продуктов следует хранить при температуре от 2 °С до 8 °С, пробы мороженого – при температуре не выше минус 2 °С. Анализ проб продуктов проводят сразу после доставки их в лабораторию, но не позднее, чем через время для определения отдельных показателей – в соответствии с требованиями нормативной документации).

Посуда, пробки и крышки для отбора проб должны быть сухими, чистыми и не должны иметь постороннего запаха.

Металлические приборы должны быть изготовлены из нержавеющей стали, алюминия или покрыты антикоррозионным сплавом, разрешенным для пищевой промышленности.

Вопросы по Заданию 1.

1. Почему так важна сохранность упаковки тары при исследования молочной продукции?

2. Объем объединенной пробы жидких молочных продуктов составляет не менее 1,0 дм³. Переведите это значение в миллилитры.

3. Почему необходимо сохранение определенной температуры при исследовании кисломолочных продуктов

Задание 2. Отбор пробы кисломолочного продукта, приготовление микропрепаратов.

2.1. Отберите пробу предложенного продукта для приготовления микроскопического препарата (ГОСТ 32901-2014).

2.2. Приготовьте из отобранной пробы два микроскопических препарата.

2.3. Окрасьте один препарат простым методом метиловым голубым.

2.4. Окрасьте второй препарат сложным методом по Граму.

Задание 2.1 Отбор проб для микробиологических анализов.

Отбор проб для микробиологических анализов проводят перед отбором проб для физико-химических и органолептических анализов.

Продукцию в потребительской упаковке (бутылках, пакетах и т.д.), попавшую в выборку, перед отбором проб перемешивают пятикратным переворачиванием. Продукцию, которую нет возможности перемешать вышеописанным способом, следует перемешивать после вскрытия упаковки стерильным шпателем. После перемешивания необходимое для исследования количество продукта (не менее 15-20 см) отбирают стерильной пипеткой и помещают в стерильную посуду, которую затем закрывают стерильной пробкой.

Отбор проб проводят в стерильную посуду достаточной вместимости и удобной формы (стеклянные колбы, банки, чашки Петри и т.д.).

Головку сыра или сырного продукта, попавшую в выборку, в намеченном месте отбора пробы прижигают нагретым ножом или шпателем. Стерильный щуп вводят наклонно в середину головки на его длину. Из столбика сыра или сырного продукта на щупе отбирают стерильным шпателем 15-20 г сыра и помещают в стерильную посуду со стерильной пробкой или стерильную чашку Петри с крышкой. Верхнюю часть столбика сыра или сырного продукта на щупе

пе возвращают на прежнее место. Поверхность сыра или сырного продукта заливают подогретым до 100 ± 10 °С парафином или оплавливают нагретым металлическим шпателем.

Подготовка посуды и материалов для отбора проб.

Всю новую посуду, предназначенную для бактериологических работ, кипятят в подкисленной воде (раствор соляной кислоты объемной долей 1%-2%) в течение 15 мин, затем ополаскивают дистиллированной водой.

Посуда с питательными средами после подсчета на них БГКП, дрожжей, плесневых грибов обеззараживается перед мойкой путем стерилизации в автоклаве при температуре 121 ± 1 °С в течение 90 ± 1 мин или кипячением в течение 1 ч; для споровых микроорганизмов – при 132 ± 2 °С в течение 90 ± 1 мин.

Вымытую и высушенную посуду стерилизуют в сушильном шкафу при температуре 175 ± 5 °С в течение 1 ч, или при температуре 160 ± 5 °С в течение 2 ч, или в автоклаве при температуре 121 ± 1 °С в течение 30 ± 1 мин с последующим подсушиванием. Чашки Петри, пипетки и т.п. стерилизуют завернутыми в бумагу или в металлических пеналах. В конец пипетки предварительно вкладывают кусочек ваты. Резиновые пробки стерилизуют в автоклаве завернутыми в бумагу. Стерильную посуду хранят в плотно закрывающихся шкафах или ящиках с крышками. Срок хранения стерильной посуды – не более 30 суток.

Задание 2.2 Приготовление микроскопических препаратов.

Для приготовления препарата жидкого продукта на чистое предметное стекло наносят петлей каплю продукта и распределяют ее на площади $1-2\text{ см}^2$.

Для приготовления препарата из творога, творожных продуктов, творожных сырков, сырных и альбуминных паст на стекло наносят каплю воды, вводят в нее петлей исследуемый материал, тщательно перемешивают и растирают на площади $1-2\text{ см}^2$.

Для приготовления препарата из твердых продуктов – сыр, сырные продукты и т.д. их тщательно растирают со стерильной водой в стерильной ступке. Затем полученную массу петлей наносят на чистое предметное стекло и распределяют на площади $1-2\text{ см}^2$.

Приготовленные микропрепараты высушивают при комнатной температуре на воздухе.

Фиксирование микропрепарата.

Для закрепления клеток микроорганизмов на стекле высушенные микропрепараты фиксируют. Для этого предметное стекло с высушенным микропрепаратом, обращенным вверх, берут пинцетом и проводят 3-5 раз через верхнюю часть пламени горелки с промежутками в 5-6 с. Зафиксированный микропрепарат охлаждают на воздухе.

Задание 2.3 Окрашивание микропрепарата метиленовым голубым.

Зафиксированный микропрепарат помещают на подставку для окраски мазком вверх. Пипеткой наносят рабочий раствор метиленового голубого по так, чтобы покрыть весь мазок, по истечении 30-60 с краситель осторожно сливают. Препарат промывают водой.

Окрашенный мазок высушивают на воздухе.

Препарат будет исследован на следующем занятии, при выполнении Лабораторной работы №2.

Задание 2.4 Окрашивание микропрепарата по Граму (ГОСТ 32901-2014)

Зафиксированный микропрепарат помещают на подставку для окраски мазком вверх, накладывают полоску фильтровальной бумаги и наливают раствор кристаллического фиолетового. Окраску проводят в течение 1-2 мин.

Снимают бумагу, сливают избыток красителя и, не промывая препарат водой, наливают раствор Люголя на 1-2 мин до почернения препарата.

Раствор Люголя сливают. Предметное стекло погружают несколько раз в этиловый спирт. Процесс обесцвечивания считается законченным, когда от мазка перестают отделяться окрашенные в фиолетовый цвет струйки жидкости.

Микропрепарат тщательно промывают водой.

Повторную окраску микропрепарата проводят водно-спиртовым раствором фуксина в течение 2 мин.

Препарат промывают водой и просушивают фильтровальной бумагой.

Возможно окрашивание препарата по Граму в модификации Г.П. Калины. Для этого готовят два реактива.

Реактив 1. В мерную колбу вместимостью 100 см³ помещают 0,50±0,01 г кристаллического фиолетового, добавляют небольшое количество этилового спирта и тщательно перемешивают. Объем раствора доводят этиловым спиртом до метки.

Реактив 2. К 96 см³ спиртового раствора йодистого калия массовой концентрацией 5 г/дм, добавляют 2 см спиртового раствора основного фуксина массовой концентрацией 50 г/дм и 2 см спиртового раствора йода массовой концентрацией 50 г/дм³. Приготовление спиртового раствора йодистого калия проводят на водяной бане при температуре 45±5 °С при постоянном помешивании.

На предметное стекло в каплю воды с внесенной агаровой культурой вносят петлей каплю реактива 1, смесь распределяют на площади 1-2 см², просушивают при 20±2 °С и фиксируют. Препарат ополаскивают водой и тщательно просушивают фильтровальной бумагой. После просушивания на препарат наносят с избытком реактив 2, приготовленный, чтобы жидкость покрывала всю поверхность стекла. Продолжительность окрашивания 30-60 с. После окрашивания препарат ополаскивают проточной водой, направляя струю под углом на стекло, помещенное вертикально. Препарат просушивают фильтровальной бумагой. При микроскопическом исследовании грамположительные микроорганизмы приобретают темно-фиолетовый цвет, а грамотрицательные - красный цвет.

Микроскопические препараты будут исследованы на следующем занятии.

Задание 3. Исследовать органолептические показатели продуктов переработки молока. Составить таблицу, аналогичную приведенной, но с данными своих образцов.

Таблица 3. Органолептические показатели идентификации продуктов переработки молока (ТР ТС 033/2013)

Продукт переработки молока	Показатели		
	Внешний вид и консистенция	Вкус и запах	Цвет
Ряженка, варенец	Однородная с нарушенным или ненарушенным сгустком без газообразования жидкость	Чистые кисломолочные с выраженным привкусом пастеризации	Светло-кремовый равномерный, для варенца – от белого до светло-кремового
Ацидофилин	Однородная тягучая жидкость	Чистый кисломолочный, слегка острый вкус	Молочно-белый равномерный
Кефир, кисломолочные продукты жидкие	Однородная с нарушенным или ненарушенным сгустком жидкость. Для продуктов, изготовленных с применением дрожжей, допускается газообразование. При добавлении пищевкусовых компонентов с их наличием	Чистый кисломолочный, слегка острый вкус или вкус и запах, обусловленные добавленными компонентами. Для продуктов, изготовленных с применением дрожжей, допускается дрожжевой привкус	Молочно-белый равномерный. При добавлении пищевкусовых компонентов обусловленный цветом добавленных компонентов.
Йогурт	Однородная в меру вязкая жидкость. При добавлении стабилизатора желеобразная или кремообразная. При добавлении пищевкусовых компонентов с их наличием	Кисломолочный. При добавлении сахара или подсластителей в меру сладкий вкус. При добавлении пищевкусовых компонентов - обусловленный добавленными компонентами	Молочно-белый равномерный. При добавлении пищевкусовых компонентов обусловленный цветом добавленных компонентов
Творог и продукты на его основе, в том числе творожная масса	Мягкая мажущаяся или рассыпчатая масса, с наличием ощутимых частиц молочного белка или без их наличия. При добавлении пищевкусовых компонентов с их наличием	Чистый кисломолочный, допускается привкус сухого молока. При введении сахара или подсластителей вкус в меру сладкий. При добавлении пищевкусовых компонентов - обусловленный добавленными компонентами	Белый или с кремовым оттенком равномерный. При добавлении пищевкусовых компонентов обусловленный цветом добавленных компонентов
Сметана	Однородная масса с глянцевой поверхностью	Чистый кисломолочный. Допускается привкус топленого масла	Белый с кремовым оттенком, равномерный

Контрольные вопросы.

1. Почему прежде всего берут пробу для микробиологических исследований?
2. Достаточно ли оценить органолептику продукта, чтобы судить о его качестве.
3. С какой целью делается препарат для окраски по Граму?

Выводы по Лабораторной работе № 1 записать в тетрадь.

Лабораторная работа №2

Тема: Методы исследования микроскопических препаратов из кисломолочных продуктов

Цель работы – Изучение препаратов, окрашенных на предыдущем занятии простым и сложным методами и сравнение их с ТР ТС 033/13.

Задачи:

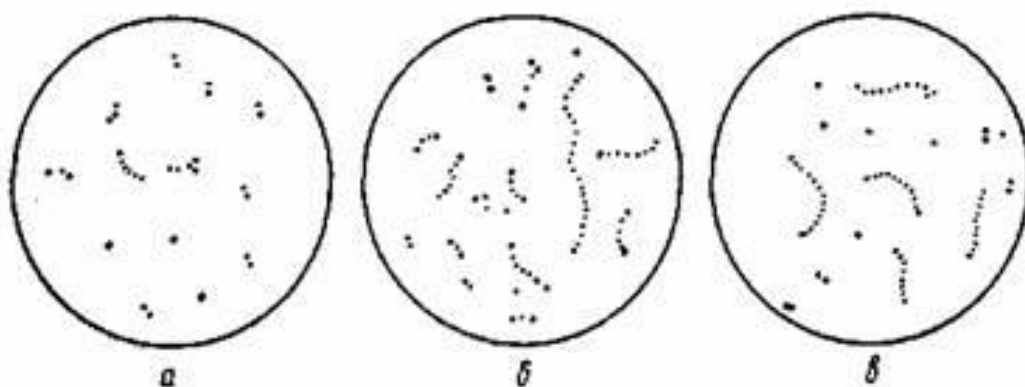
1. Изучить и зарисовать морфологические особенности микроорганизмов, входящих в состав кисломолочных продуктов, в препаратах, окрашенных метиленовым голубым.
2. Сравнить полученную микроскопическую картину с описанием микроорганизмов, приведенных в ТР ТС 033/13.
3. Изучить микроскопические препараты, окрашенные по Граму, с целью выявления грамотрицательных микроорганизмов.
4. Рассмотреть состав питательных сред для определения качества кисломолочных продуктов.

Задание 1. Исследовать препарат, окрашенный метиленовым голубым, с использованием иммерсионного объектива. Зарисовать. Сравнить с приведенными фотографиями и таблицей из ГОСТ 32901-2014.

Таблица 4 – Ориентировочный состав микрофлоры кисломолочных продуктов в микропрепаратах представлен в таблице ГОСТ 32901-2014

Наименование продуктов	Ориентировочный состав микрофлоры	Характеристика микропрепарата
1	2	3
Творог, творожные продукты, сметана	Лактококки или лактококки и термофильные молочнокислые стрептококки	Кокки, диплококки, короткие цепочки кокков или кокки, диплококки, короткие цепочки кокков, длинные цепочки кокков в виде бус
Простокваша	Лактококки и(или) термофильные молочнокислые стрептококки	Кокки, диплококки, короткие цепочки кокков и(или) длинные цепочки кокков в виде бус
Мечниковская простокваша, йогурт	Термофильные молочнокислые стрептококки и палочки	Кокки, диплококки, длинные цепочки кокков в виде бус, палочки одиночные, в парах, цепочки палочек
Ряженка	Термофильные молочнокислые стрептококки или молочнокислые стрептококки и болгарская палочка	Кокки, диплококки, длинные цепочки кокков в виде бус или кокки, диплококки, длинные цепочки кокков в виде бус, крупные па-

		лочки одиночные, в парах, цепочках
Варенец	Термофильные молочнокислые стрептококки	Кокки, диплококки, длинные цепочки кокков в виде бус
Кумыс, кумысный продукт	Болгарская и ацидофильная молочнокислые палочки, дрожжи	Крупные палочки одиночные, в парах, в цепочках, единичные дрожжи
Айран	Термофильные молочнокислые стрептококки, болгарская молочнокислая палочка, дрожжи	Кокки, диплококки, длинные цепочки в виде бус, крупные палочки с закругленными концами одиночные, в парах, цепочки, единичные дрожжи не в каждом поле зрения
Кефир	Лактококки, молочнокислые палочки, дрожжи	Кокки, диплококки, короткие цепочки кокков, прямые палочки одиночные, в парах, в цепочках, единичные дрожжи не в каждом поле зрения
Ацидофилин	Ацидофильная молочнокислая палочка, лактококки и дрожжи	Крупные прямые палочки одиночные и в парах, короткие цепочки палочек, кокки, диплококки, короткие цепочки кокков, возможно наличие дрожжей
Йогурт	Термофильные молочнокислые стрептококки, болгарская молочнокислая палочка	Кокки, диплококки, длинные цепочки в виде бус, крупные палочки с закругленными концами одиночные, в парах, в цепочках
Продукты, обогащенные бифидобактериями	Основная микрофлора продукта (лактококки, и/или термофильный стрептококк, и/или молочнокислые палочки, и/или дрожжи, и т.д.) и бифидобактерии	Картина микропрепарата соответствует основной микрофлоре продукта: кокки, диплококки, короткие цепочки кокков, и/или длинные цепочки в виде бус, и/или прямые палочки одиночные, в парах, в цепочках, и/или единичные дрожжи не в каждом поле зрения, и т.д. Кроме того, в поле зрения должны встречаться единичные палочки неправильной формы (изогнутые, булабовидные, V-образной формы) одиночные, парные, в коротких цепочках и скоплениях
Биойогурт, биоряженка	Термофильные молочнокислые стрептококки, болгарская палочка, бифидобактерии	Кокки, диплококки, крупные и тонкие палочки
Актифилин, биосметана	Лактококки, бифидобактерии, <i>L. casei</i>	Кокки, диплококки, цепочки кокков, тонкие палочки
Бифитон	Лактококки, пропионовокислые бактерии, бифидобактерии	Кокки, диплококки, тонкие палочки



Молочнокислые стрептококки:
а – Str. Lactis; б – Str.cremoris; в – ароматообразующие.



Streptococcus thermophilus



Молочнокислые бактерии

Задание 2. Исследовать микропрепарат, приготовленный из кисломолочных продуктов на занятии №1 и окрашенный по Граму, используя иммерсионную систему микроскопа. Препарат зарисовать и описать.

Грамположительные микроорганизмы выглядят фиолетовыми, а грамотрицательные – красными. Обнаружение последних в препаратах свидетельствует о наличии посторонних микроорганизмов, т.к. все заквасочные микроорганизмы для кисломолочных продуктов – грамположительные.

Обнаружение при микроскопировании дрожжей и плесневых грибов свидетельствует о порче продукции и непригодности к употреблению.

Задание 3. Изучить показатели качества исследуемых кисломолочных продуктов согласно нормативной документации и заполните таблицу 5, вычислив самостоятельно эти показатели.

Таблица 5 – Показатели качества кисломолочных продуктов

Название продукта	КМАФАнМ	БГКП на среде Кесслер	БГКП на среде Эндо	Дрожжи
Простокваша				
Йогурт				
Ряженка				
Сметана				

Рассмотрите показатели качества кисломолочных продуктов на примере КМАФАнМ и БГКП.

1. **КМАФАнМ. Количество Мезофильных Аэробных и Факультативно-анаэробных Микроорганизмов:** Количество микроорганизмов, вырастающих и образующих видимые колонии на твердом питательном агаре при температуре 30 ± 1 °С.

2. **БГКП. Бактерии Группы Кишечных Палочек;** коли-формы: Микроорганизмы семейства энтеробактерий родов эшерихия, цитробактер, энтеробактер, клебсиелла, серрация; бесспоровые, грамотрицательные, аэробные и факультативно-анаэробные палочки, сбраживающие лактозу с образованием кислоты и газа.

Приготовление питательной среды для определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов (среда КМАФАнМ).

Сущность метода. Метод основан на подсчете колоний мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, вырастающих на твердой питательной среде КМАФАнМ при температуре 30 ± 1 °С в течение 72 ч.

В колбу достаточной вместимости помещают необходимое количество сухой питательной среды для определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, регламентируемое инструкцией производителя, добавляют 1000 см³ питьевой воды и тщательно перемешивают. Допускается использование дистиллированной воды.

Состав среды КМАФАнМ.

Среда КМАФАнМ представляет собой смесь сухих компонентов, г/л:

Панкреатический гидролизат рыбной муки сухой (ПГРМ сухой)	7,5
Пептон сухой ферментативный для бактериологических целей	7,5
Панкреатический гидролизат казеина сухой (ПГК сухой)	10,0
Дрожжевой экстракт	2,0
Натрий хлористый	3,5
D-глюкоза	1,0
Агар бактериологический	10,0 \pm 3,0

Для определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов делают десятикратные разведения и выбирают те разведения, при посевах которых на чашках вырастает от 15 до 300 колоний. Посевы выполняют в трех повторностях, высчитывают среднее арифметическое.

Каждое из разведений должно быть засеяно в количестве 1 см³ в одну чашку Петри с заранее маркированной крышкой и залито (14 \pm 1) см³ расплавленной и охлажденной до температуры 40-45 °С питательной средой для определения КМАФАнМ.

Сразу после заливки среды содержимое чашки Петри тщательно перемешивают путем легкого вращательного покачивания для равномерного распределения посевного материала.

Культивирование. После застывания среды чашки Петри переворачивают крышками вниз и ставят в таком виде в термостат при температуре 30 ± 1 °C на 72 ч.

Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов вычисляют как среднеарифметическое или как средневзвешенное значение. За окончательный результат анализа принимают среднеарифметическое, полученное по всем чашкам. Средневзвешенное значение количества микроорганизмов рассчитывают по ГОСТ ISO 7218-2015 (подпункт 10.3.2.2).

Питательные среды для определения и идентификации БГКП. Используют жидкую среду Кесслер и плотную среду Эндо.

Среда Кесслер сухая, обеспечивающая размножение и газообразование тест-культуры *E. coli* через 24 ± 2 ч при температуре 37 ± 1 °C.

Сущность метода. Метод основан на способности БГКП сбраживать в питательной среде лактозу с образованием газа и кислоты при температуре 37 ± 1 °C в течение 24 ч. Признак роста БГКП на жидкой среде Кесслер – визуально наблюдаемое накопление газа в поплавке. Приготовление жидкой питательной среды Кесслер из сухой среды.

В колбу достаточной вместимости помещают необходимое количество сухой питательной среды Кесслер, регламентируемое инструкцией производителя, добавляют небольшое количество воды и перемешивают. Объем раствора доводят водой до 1000 см³. Допускается использование дистиллированной воды.

Смесь кипятят, постоянно перемешивая, до полного растворения. При наличии нерастворимого при кипячении осадка среду фильтруют и устанавливают значение активной кислотности $7,4 \pm 0,4$ ед. pH. Среду разливают в пробирки с поплавками по 5 см или колбы с поплавками по 40-50 см³ и стерилизуют при температуре 121 ± 1 °C в течение 11 ± 1 мин.

Готовая среда должна иметь темно-фиолетовый или темно-синий цвет и поплавки должны быть полностью заполнены средой.

Определение БГКП на среде Эндо.

Сущность метода. Метод основан на способности ферментирующих лактозу энтеробактерий (БГКП) образовывать на среде Эндо темно-красные колонии с характерным металлическим блеском вследствие взаимодействия образующихся альдегидов с фуксином в присутствии сульфита натрия при температуре 37 ± 1 °C в течение 24 ч. Метод предназначен для дифференциации энтеробактерий на лактозоположительные (БГКП) и лактозоотрицательные (патогенные сальмонеллы и шигеллы) по виду образуемых на среде колоний.

Необходимое количество сухой среды, регламентируемое инструкцией производителя, вносят в 1 дм³ дистиллированной воды, тщательно размешивают, затем нагревают и кипятят в течение 3-5 мин, не допуская пригорания. Среду готовят непосредственно перед посевом.

Посев на среду можно проводить двумя способами – поверхностным и глубинным.

При поверхностном способе посева перед выполнением анализа проводят подготовку питательной среды. Для этого свежеприготовленную среду или среду после хранения, расплавленную на водяной бане, охлаждают до $50,0 \pm 0,5$ °С и разливают в стерильные чашки Петри по 12-15 см³. Дно чашки должно быть равномерно покрыто слоем среды высотой около 2 мм. Чашки оставляют полуоткрытыми для подсушивания на 60 ± 5 мин в стерильных условиях (в боксе или специально обработанном термостате). После подсушивания среды чашки закрывают, маркируют и используют для проведения анализа.

При поверхностном способе посева каждое из выбранных разведений засевают по 0,1 или 0,2 см³ и равномерно по всей поверхности втирают посевной материал в питательную среду стерильным шпателем Дригальского.

При глубинном способе посева каждое разведение должно быть засеяно по 1 см³ в отдельную чашку Петри и залито расплавленной и охлажденной до 45 °С средой. После внесения среды содержимое чашки тщательно перемешивают путем легкого вращательного движения для равномерного распределения посевного материала. Чашки оставляют на горизонтальной поверхности для застывания агара.

Культивирование. После посева чашки Петри переворачивают крышками вниз и ставят в термостат с температурой 37 ± 1 °С на 16-24 ч. Подсчет колоний проводят через 24 ч.

Обработка результатов. При поверхностном посеве БГКП образуют розовато-фиолетовые колонии диаметром больше 0,5 мм с более светлым по сравнению с центром ореолом, которые подлежат подсчету.

При поверхностном посеве для пересчета результатов на 1 г или 1 см³ продукта число колоний, выросших на каждой чашке Петри, умножают на 10 и на соответствующее разведение при посеве 0,1 см; и умножают на 5 и на соответствующее разведение при посеве 0,2 см.

При глубинном посеве БГКП образуют мелкие колонии до 0,5 мм красного цвета (вокруг колоний обычно образуется красный ореол), которые подлежат подсчету.

Вывод по лабораторной работе №2 записать в тетрадь.

Контрольные вопросы.

- 1. В чем отличие препаратов, окрашенных простым методом и сложным, при изучении их в микроскопе.*
- 2. Что означает КМАФАНМ для кисломолочных продуктов.*
- 3. Как можно определить наличие БГКП в продукте и о чем это говорит.*
- 4. Почему нужно делать посев на среду Эндо после посева на среду Кларка.*
- 5. Как отличаются лактозопозитивные и лактозонегативные колонии.*

Приготовление питательных сред для культивирования пробиотических микроорганизмов

Среды сухие промышленного производства, готовят согласно рекомендациям изготовителей, указанным на этикетках. Допускается применение аналогичных сред лабораторного приготовления из отдельных компонентов.

Приготовление питательных сред для культивирования бактерий рода *Lactobacillus*

Среда MPC (MRS) агаризованная (Среду готовят по ГОСТ 0444.11-2013).

Среда mpc (mrs) полужидкая.

Среду готовят аналогично агаризованной, но с добавлением 0,6%-0,7% агара.

Ферментативный перевар казеина, г – 10,0.

Мясной экстракт, г – 10,0.

Дрожжевой экстракт, г- 1,0.

Триаммоний цитрат $[(\text{NH}_4)_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7]$, г – 2,0.

Натрия ацетат (CH_3COONa), г – 5,0.

Магния сульфат ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), г – 0,2.

Марганца сульфат ($\text{MnSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), г – 0,05.

Калия гидрофосфат (K_2HPO_4), г – 2,0.

Глюкоза ($\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$), г – 20,0.

Полиоксиэтиленсорбитан (Tween 80), г – 1,08.

Агар – 12,0-18,0.

Вода, см^3 – 1000.

Растворяют компоненты или дегидратированную готовую среду в воде при нагревании. С помощью рН-метра (см. 6.5) устанавливают рН, так чтобы после стерилизации он составлял $5,7 \pm 0,1$ ед. рН при температуре 25 °С.

Переносят среду в сосуды соответствующей вместимости и стерилизуют в автоклаве при температуре 121 ± 1 °С в течение 15 мин.

Если среду необходимо использовать немедленно, то ее охлаждают до температуры приблизительно 47 °С на водяной бане или любым другим способом, дающим аналогичные результаты.

Если среда не будет использоваться сразу, то перед началом микробиологических исследований среду полностью расплавляют на кипящей водяной бане, а затем охлаждают до температуры приблизительно 47 °С на водяной бане.

Если предполагается значительное содержание дрожжей в испытуемом продукте (например, в сухой колбасе), то добавляют сорбиновую кислоту в агар MRS. Для этого растворяют 1,4 г сорбиновой кислоты приблизительно в 10 см^3 раствора гидроксида натрия молярной концентрацией 1 моль/дм. Раствор сте-

рилизуют фильтрованием. Добавляют этот раствор в 1000 см³ стерилизованного агара MRS, предварительно охлажденного до температуры приблизительно 47 °С. Конечное значение рН среды должно быть 5,7±0,1 ед. рН при температуре 25 °С.

Стерилизованное обезжиренное молоко

Обезжиренное молоко (кислотностью от 16 °Т до 18 °Т) разливают в пробирки по 10,0 см³ и затем стерилизуют в автоклаве при 115±1 °С в течение 10±1 мин.

Приготовление питательных сред для культивирования Бактерий рода *Bifidobacterium*

Среды селективные для выделения бифидобактерий:

а) Модифицированная печеночно-цистеиновая среда Блаурокка;

Среду готовят по ГОСТ 33491-2015.

Свежую говяжью печень количеством 0,5 кг очищают от пленок и протоков, измельчают, заливают 1 дм³ дистиллированной воды и кипятят в течение 1,5-2 ч. Отвар профильтровывают, доводят до 1 дм³ дистиллированной водой. Добавляют на 1 дм³ раствора: хлористого натрия – 5,0 г, пептона – 10,0 г. Устанавливают активную кислотность 8,15±0,05 ед. рН с помощью 10%-ного раствора гидроокиси натрия. Кипятят 10 мин. Стерилизуют при температуре 121±3 °С в течение 15±1 мин или при температуре 112±5 °С в течение 30±1 мин. На следующий день печеночный бульон сливают, освободив от осадка, доливают дистиллированной водой до 1 дм³. Вносят на 1 дм³ бульона: глюкозу – 5,0 г, агар – 0,8 г, цистеин – 0,3 г. Кипятят 10 мин, доводят кислотность до 7,7±0,1 ед. рН. Разливают в пробирки по 10 см³ и стерилизуют при температуре 121±3 °С в течение 15±1 мин или при температуре 112±5 °С в течение 20±1 мин.

Среду проверяют на стерильность путем выдержки при температуре 37±1 °С в течение 2 суток.

Срок хранения среды при температуре 20±2 °С не более одного месяца и при температуре 4±2 °С не более 2 мес.

Ростовые качества каждой серии среды Блаурокка контролируют высевом лиофилизированной биомассы бифидобактерий; при этом рост бифидобактерий должен проявиться не позднее, чем через 48 ч при температуре 37±1 °С.

б) Тиогликолевая среда;

В 1000 см³ дистиллированной воды вносят 15,0 г ферментативного сухого гидролизата казеина неглубокой степени расщепления (триптона), 5,0 г сухого дрожжевого экстракта, 2,5 г хлорида натрия, 0,75 г микробиологического агара, размешивают и нагревают до температуры 60-70 °С. L-цистеин предварительно растворяют при постепенном добавлении раствора гидроокиси натрия (до полного растворения). Раствор цистеина вносят в приготовленную смесь, устанавливают активную кислотность 8,0-8,2 ед. рН с помощью раствора гидроокиси натрия, кипятят в течение двух-трех минут до полного расплавления агара. Добавляют 5,0 г глюкозы и 0,3 см³ тиогликолевой кислоты (или натрия тиогликолята – 0,5 г), фильтруют через фильтровальную бумагу, устанавливают рН 7,2-7,3 с помощью 5%-ного раствора соляной кислоты. Среду разливают в стериль-

ные пробирки высоким столбиком и стерилизуют автоклавированием при температуре 121 °С в течение 15 мин. Готовую среду хранят в защищенном от света месте при температуре 18-25 °С.

в) Бифидум-среда.

Среду готовят согласно прописи производителя, указанной на этикетке.

Среды селективные для определения количества бифидобактерий в продуктах со смешанной технологической микрофлорой

В качестве селективного агента для ингибиции роста сопутствующих биотехнологических микроорганизмов используют добавки антибиотиков и редуцирующие агенты, снижающие окислительно-восстановительный потенциал питательной среды.

а) TOS-MUP агар (TOS пропионатный агар с мупироцином лития);

Среду готовят по ГОСТ ISO 29981-2013.

Используют свежеприготовленную среду на основе обработанных транс-галактозой олигосахаридов с добавлением литиевой соли мупироцина (TOS-MUP), защищенную от прямого солнечного света:

пептон триптиказа – 10,0 г;
дрожжевой экстракт – 1,0 г;
 KH_2PO_4 – 3,0 г;
 K_2HPO_4 – 4,8 г;
 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 3,0 г;
 $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,2 г;
(R) – Цистеин·HCl·H₂O – 0,5 г;
пропионат натрия – 15,0 г;
TOS (см. 5.3.1.2) – 10,0 г;
агар-агар – 15,0 г;
вода – 950 см³.

Смесь олигосахаридов – трансгалактозы.

Смесь TOS получают ферментативным гидролизом лактозы, используя галактозидазу *Aspergillus oryzae*. Смесь TOS содержит галактозу (Gal) и глюкозу (Glc), вычисляемых по формуле 1:

$$[\text{Gal} \frac{x}{n} (\text{Gal})_n \frac{y}{n} \text{Glc}] \quad , \quad (1)$$

где $n = 1 \dots 4$

$$x = \beta - 1,6 > \beta - 1,4 \quad \text{и} \quad \beta - 1,3;$$

$$y = \beta - 1,4 >> \beta - 1,3 \quad \text{и} \quad \beta - 1,6.$$

Смесь TOS очищают с помощью хроматографии в определенных условиях. Общее содержание сахара (>97% по массе) включает определенную часть три-, тетра-, пента- и гексасахаридов. (Изменение соотношения олигосахаридов не оказывает заметного влияния на потенциал среды.)

Приготовление.

Суспендируют ингредиенты в 950 см³ воды при осторожном нагревании (например, на нагревательной плитке или водяной бане) при частом помешивании до полного растворения.

Распределяют по склянкам вместимостью 250 см по 190 см³ в каждую. Регулируют pH (6,6), при необходимости, так чтобы после обработки в автоклаве установился pH на уровне $6,3 \pm 0,2$ единиц при температуре 25 °C.

Обрабатывают в автоклаве основную среду при температуре 115 °C в течение 15 мин.

Если среду не используют сразу, то ее охлаждают. Хранят среду при температуре от 2 °C до 4 °C не более одной недели в условиях, не вызывающих изменения состава среды.

Среда TOS чувствительна к теплу, поэтому избыточная тепловая обработка может отрицательно сказаться на свойствах среды. Полные среды TOS-пропионат имеются в продаже и имеют состав, соответствующий настоящему стандарту. Если среду готовят в лаборатории, то результаты могут существенно отличаться для сред, приготовленных в разное время. Поэтому среды рекомендуется подтверждать, чтобы убедиться, что рост бифидобактерий, указанный в единицах КОЕ, остается на сопоставимом уровне (см. также ГОСТ ISO 11133-2016).

Вспомогательный раствор MUP [11].

Непосредственно перед применением, растворяют, например, 50 мг MUP в 50 см³ воды или другие количества в тех же пропорциях. Стерилизуют полученный раствор фильтрацией через мембрану (размер пор 0,22 мкм) в соответствии с 5.3.3.

Полная среда.

Непосредственно перед применением расплавляют порции по 190 см³ приготовленной основной среды (5.3.1) с помощью пара или аналогичным способом. Охлаждают на водяной бане (6.5) до температуры 48 ± 1 °C. Добавляют 10 см³ вспомогательного раствора MUP (5.3.2) в каждую склянку шприцем, оснащенным стерильным фильтром с размером пор 0,22 мкм (6.11) незадолго до разлива. Тщательно перемешивают, без образования пузырьков воздуха.

Снова помещают полную среду на водяную баню (6.5) при температуре 48 °C и держат, пока она не будет готова к разливу.

Полная среда TOS-MUP должна иметь конечную концентрацию MUP, равную 50 мг/дм.

б) Питательная среда MPC (MRS) с диклоксациллином

Приготовление раствора селективного агента.

25 мг диклоксациллина растворяют в 50 см³ дистиллированной воды, затем полученный раствор стерилизуют фильтрацией по ГОСТ 26670-91 при использовании мембранных фильтров с размером пор 0,2 мкм, срок хранения раствора – 15 сут при температуре 4 °C.

Допускается готовить раствор диклоксациллина без фильтрации с соблюдением правил асептики, при этом диклоксациллин в асептических условиях растворяют в стерильной дистиллированной воде.

Непосредственно перед использованием готовят рабочее разведение этого раствора 1:10.

Приготовление антиоксидантного раствора.

Растворяют 3 г L-цистеина гидрохлорида в 100 см³ дистиллированной воды, затем полученный раствор стерилизуют фильтрацией по ГОСТ 26670-91 при использовании мембранных фильтров с размером пор 0,2 мкм. Раствор разливают по 10 см³ в стерильные пробирки. Хранят раствор 15 сут при температуре 4 °С.

Допускается готовить раствор L-цистеина без фильтрации с соблюдением правил асептики, при этом в асептических условиях растворяют L-цистеин гидрохлорид в стерильной дистиллированной воде.

Приготовление питательной среды MPC (MRS).

Среду готовят по и разливают в бутылки или флаконы по 100 см³.

Перед использованием среду расплавляют и выдерживают в кипящей водяной бане в течение 20 мин для регенерации среды. Затем среду охлаждают до температуры 40-45 °С, после чего вносят на каждые 100 см³ среды по 1 см³ раствора селективного агента и 1 см³ раствора антиоксиданта. Смесь аккуратно перемешивают, не допуская насыщения среды воздухом.

Среды неселективные для культивирования изолятов бифидобактерий

а) Гидролизатно-молочная среда;

Среду готовят в два этапа.

- Натуральное или восстановленное обезжиренное молоко кипятят в течение 2±1 мин и охлаждают до температуры 45±2 °С. Доводят активную кислотность до рН 7,7±0,1, добавляя водный раствор гидроокиси натрия. К 1000 см³ молока добавляют 1,0 г порошка панкреатина. Затем к молоку добавляют от 5 до 6 см³ хлороформа. Колбу закрывают корковой пробкой и выдерживают при температуре 40±2 °С в течение 18-24 ч. В течение первых 3-5 ч молоко 2-3 раза перемешивают (пробку после перемешивания приоткрывают для удаления хлороформа).

Затем гидролизованное молоко фильтруют через бумажный фильтр, разводят дистиллированной водой в соотношении 1:1, устанавливают активную кислотность рН 7,1±0,1, добавляя водный раствор гидроокиси натрия. В случае хранения гидролизованное молоко стерилизуют в автоклаве при температуре 121±1 °С в течение 15 мин.

- Приготовление гидролизатно-молочной среды.

В небольшом количестве разведенного гидролизата молока расплавляют агар в количестве 2,5 г на 1000 см³ приготавливаемой среды. К остальному количеству гидролизата добавляют 20 г пептона и 3,5 г хлористого натрия, смесь нагревают до температуры 80±2 °С, после чего соединяют с расплавленным агаром. В смеси устанавливают активную кислотность 7,4±0,1 ед. рН, кипятят в течение 15±1 мин, дают отстояться, сливают с осадка, не фильтруя, доливают горячей дистиллированной водой до заданного объема и добавляют в нее 10 г лактозы и 0,15 г солянокислого цистина. Среду разливают в пробирки высоким

столбиком и стерилизуют при температуре 112 ± 1 °С в течение 30 ± 1 мин, рН готовой среды $7,1 \pm 0,1$ ед. рН при 25 °С.

б) Кукурузно-лактозная среда;

Среду готовят по ГОСТ 33491.

В небольшом объеме дистиллированной воды расплавляют 2,5 г агара из расчета на 1 дм³ приготавливаемой среды. К остальному объему дистиллированной воды добавляют 10 г пептона, 40 см водного раствора кукурузного экстракта, разбавленного дистиллированной водой в соотношении 1:2, 6,6 г трехзамещенного лимоннокислого натрия, 0,12 г сернокислого магния, 2 г двузамещенного фосфорнокислого калия. Смесь нагревают до температуры 80 ± 2 °С, после чего соединяют с расплавленным агаром, добавляют 10 г лактозы и 0,15 г солянокислого цистеина или 0,5 г аскорбиновой кислоты. Цистеин предварительно растворяют в небольшом количестве дистиллированной воды, в которой устанавливают $8,45 \pm 0,05$ ед. рН с помощью 10%-ного раствора гидроксида натрия и нагревают на водяной бане до полного растворения. Всю смесь доливают горячей дистиллированной водой до заданного объема (1 дм³) и устанавливают $7,05 \pm 0,05$ ед. рН с помощью 40%-ного раствора гидроксида натрия.

Среду разливают в пробирки по 10 или 20 см³ и стерилизуют при температуре 112 ± 5 °С в течение 30 ± 1 мин.

Кукурузно-лактозную среду для выращивания бактерий готовят из сухого концентрата (ГМК-1) следующим образом: 50 г концентрата вносят в 1000 см³ дистиллированной воды, нагревают до полного растворения, фильтруют, устанавливают ($7,2 \pm 0,2$) ед. рН, разливают по 10 или 20 см³ и стерилизуют при 121 ± 3 °С в течение 10 ± 2 мин.

Приготовление питательных сред для культивирования бактерий рода *Lactococcus* и вида *Streptococcus thermophilus*

Приготовление среды Ли (Lee)

Среду готовят по ГОСТ 10444.11.

Гидролизат казеина, г	10,0
Экстракт дрожжевой, г	10,0
Лактоза, г	5,0
Сахароза, г	5,0
Углекислый кальций, г	3,0
Калий гидрофосфат, г	0,5
Бромкрезоловый пурпурный, см ³ (по 5.4.3)	20,0
Агар, г	от 12 до 18,0
Вода, см ³	1000

Приготовление.

Растворяют компоненты или дегидратированную готовую среду в воде при нагревании. С помощью рН-метра (см. 6.5) устанавливают рН, так чтобы после стерилизации он составлял $7,0 \pm 0,2$ ед. рН при температуре 25 °С.

Переносят среду в сосуды соответствующей вместимости и стерилизуют в автоклаве (см. 6.1) при температуре 121 ± 1 °С в течение 20 мин.

Перед разливкой по чашкам Петри среду осторожно перемешивают, чтобы углекислый кальций распределился равномерно.

Приготовление питательной среды М-17.

а) Основа среды.

В 950 см³ дистиллированной воды на кипящей водяной бане растворяют 2,5 г триптического перевара казеина (триптона), 2,5 г пептического перевара мяса (пептона), 5,0 г перевара папаинового сои (пептона соевого), 2,5 г дрожжевого экстракта, 5,0 г мясного экстракта, 19,0 г глицерофосфата натрия, 0,25 г сернокислого магния ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), 0,5 г аскорбиновой кислоты, 9-18 г агара, охлаждают на другой водяной бане до 50 °С. Устанавливают активную кислотность среды таким образом, чтобы после стерилизации при 25 °С рН был в пределах $6,8 \pm 0,1$ ед. рН при посеве на *Lactococcus spp.* или $7,2 \pm 0,1$ ед. рН – при посеве на *Streptococcus thermophilus*. Готовую среду разливают в лабораторную посуду соответствующей вместимости по 95 см³. Стерилизуют в автоклаве при 121 ± 1 °С в течение 15 ± 1 мин.

б) Раствор лактозы.

10,0 г лактозы растворяют в 100,0 см³ дистиллированной воды, стерилизуют в автоклаве при 121 ± 1 °С в течение 15 мин.

в) Приготовление среды

Непосредственно перед использованием расплавляют 95 см³ основной среды в водяной бане и быстро охлаждают до 48-50 °С. Подогревают 5 см³ раствора лактозы до 48-50 °С. Добавляют раствор лактозы к основной среде и перемешивают.

Приготовление питательных сред для культивирования бактерий рода *Propionibacterium*

Плотная кукурузно-лактозная среда готовится по ГОСТ 33491-2015.

Агаризованная питательная среда для определения пропионовокислых бактерий.

В 1000 ± 50 см³ воды вносят 30 г пептона, 1 г дрожжевого автолизата, 20 г агара. Смесь тщательно перемешивают, затем нагревают и кипятят до расплавления агара, не допуская пригорания. Добавляют 20 см³ 40%-ного раствора молочной кислоты. В полученной среде проверяют активную кислотность и доводят ее раствором гидроокиси натрия до значения $7,1 \pm 0,1$ ед. рН. Среду перемешивают, разливают в пробирки, закрывают ватными пробками и стерилизуют при температуре 121 ± 2 °С в автоклаве в течение 15 ± 1 мин.

Подготовка питательных сред перед использованием.

Питательные среды расплавляют на кипящей водяной бане или другим способом, который дает аналогичный результат (например, текучим паром в автоклаве), избегая перегрева среды, для чего прекращают нагрев сразу же после расплавления. Перед использованием питательную среду содержат в рас-

плавленном состоянии на водяной бане с терморегулятором при температуре 47 ± 2 °С.

Сохраняют расплавленную питательную среду не более 6 ч. Неиспользованную полностью среду после ее затвердения не применяют.

При необходимости регенерации (деаэрирования для снижения растворенного кислорода) питательных сред, фосфатно-тиогликолевого буферного раствора и других растворов их прогревают непосредственно перед использованием в течение 20 мин на кипящей водяной бане. Далее пробирки или флаконы с растворами охлаждают в водяной бане до температуры 45 ± 2 °С.

Агаризованные питательные среды разливают в чашки Петри с толщиной слоя питательной среды не менее 2 мм и после застывания подсушивают. При подсушивании для удаления влаги с поверхности среды чашки переворачивают вверх дном и выдерживают в течение 30 мин в термостате при температуре 48-50 °С. Приготовленные таким образом чашки Петри накрывают крышками и используют немедленно или хранят при условиях, предупреждающих изменение их состава, т.е. в темноте и в холодильнике в течение рабочего дня.

Приготовление растворов и реактивов для анализа

Стерильная дистиллированная вода

Дистиллированную воду разливают в колбы или пробирки в необходимых количествах и стерилизуют в автоклаве в течение 20 ± 1 мин при 121 ± 1 °С.

Раствор натрия гидрокарбоната для нейтрализации проб

10 г натрия гидрокарбоната помещают в мерную колбу вместимостью 100 см³, растворяют в дистиллированной воде, доводят объем раствора до метки. Раствор разливают в пробирки и стерилизуют при 121 ± 1 °С в течение 30 ± 1 мин.

Приготовление реактивов для окраски по Граму

Реактивы готовят по ГОСТ ISO 7218-2015.

Приготовление раствора HCl с массовой долей 5%

11,5 см³ концентрированной соляной кислоты переносят в мерную колбу вместимостью 100 см³, доводят объем дистиллированной водой до метки.

Среда Кесслера

Среда Кесслера предназначена для обнаружения бактерий группы кишечной палочки по признаку ферментации лактозы при санитарном обследовании пищевых продуктов (молоко, вода) и объектов внешней среды.

СОСТАВ среды в граммах на литр (г/л):

- Пептон	7,0
- Панкреатический гидролизат рыбной муки	3,0
- Лактоза	10,0
- Желчь очищенная сухая	3,0
- Кристаллический фиолетовый	0,04
- Натрий карбонат	$0,02 \pm 0,05$
- pH готовой среды	$7,5 \pm 0,2$

Приготовление среды Кесслера

Препарат в количестве 23,0 г размешивают в 1 л дистиллированной воды, нагревают до кипения и кипятят в течение 2-3 мин.

Горячую среду фильтруют через ватно-марлевый или бумажный фильтр и разливают по 5 мл в стерильные пробирки с поплавками.

Среду в пробирках стерилизуют автоклавированием при температуре 112 °С в течение 20 мин

Готовая среда имеет фиолетовый цвет.

Среда Эндо

Среда Эндо – дифференциально-диагностическая питательная среда, предназначенная для выделения энтеробактерий. Названа по имени предложившего её японского бактериолога Шигеру Эндо (1869-1937). Обладает слабыми селективными свойствами, компоненты среды подавляют рост грамположительных бактерий.

СОСТАВ среды в граммах на литр (г/л):

- Пептон ферментативный	10,0
- Гидролизат казеина неглубокой степени расщепления ферментативный сухой	10,0
- Дрожжевой экстракт	1,0
- Натрия хлорид	3,4
- Натрия сульфит	0,8
- Натрия гидроортофосфат	0,75
- Лактоза	10,0
- Фуксин основной	0,2
- Агар микробиологический	10,5±2,5
- рН	7,3±0,2

Приготовление среды Эндо

Препарат в количестве 35,5 гр. размешать в 1л дистиллированной воды, нагреть до кипения и кипятить 3 мин до полного расплавления агара. Горячую среду профильтровать через ватно-марлевый фильтр и снова довести до кипения. Среду охладить до температуры 45-50 °С и разлить в стерильные чашки Петри слоем 4-5 мм. После застывания среду подсушить в термостате при температуре 37±1 °С в течение 40-60 мин. Готовая среда прозрачная или слегка опалесцирующая бледно-розового цвета.

Среду необходимо использовать в день приготовления. Хранить до посева в темноте.

Общая характеристика кисломолочных продуктов и методов их приготовления, представленные в научно-популярной литературе и в интернете в открытом доступе

«Грибной кефир», так как он не только усиленно выгоняет антибиотики из организма, но и защищает кишечную флору от гибели полезных бактерий.

Настой этого гриба совместно с пробиотиками, симбиотиками и кисло квашенными продуктами, прекращает развитие раковых клеток. Постоянный приём грибного кефира помогает поддерживать состояние бодрости и работоспособности. Он способствует омоложению организма. Полезен этот настой и при любых воспалительных заболеваниях ротовой полости. На курс необходимо 2-3 баночки.

«Индийский морской рис» – сухая закваска тибетской медицины.

Лечебно-профилактический напиток: избыточный вес, нарушения обмена веществ. Центральная нервная система: последствия после перенесенного инсульта, депрессивные расстройства, эпилепсия. Сердечно-сосудистая система: аритмия, реабилитация после инфаркта, гипертония. Желудочно-кишечный тракт: язва желудка, 12-перстной кишки, сахарный диабет в легкой и средней стадии. Нарушения иммунной системы. Суставы – артриты, артрозы, подагра.

«Кефир-Биовит» – как симбиотик широкого спектра действия.

Современный кисло-молочный симбиотический напиток. Применяют для лечения дисбактериоза, дисбиоза, нормализации кислотно-щелочного баланса ЖКТ, устранения запоров, для поднятия иммунитета взрослым, для ферментирования сухого и живого «жома» из лекарственных трав и ряда пищевых Айран, тан.

Айран – кисломолочный напиток, который в Средней Азии пьют уже не одну тысячу лет: считается, что он обладает чудодейственными свойствами и дает людям богатырское здоровье. Издревле на Востоке его использовали как лекарство едва ли не от всех болезней, связанных с желудком и кровеносной системой. Делается айран из коровьего или козьего молока, воды, соли, дрожжей и базилика. Получается своеобразный жидкий соленый кефир. У армянских горцев такой напиток называют таном и готовят его без базилика.

Ацидофилин. Ацидофилин предохраняет человека от многих болезней и считается прекрасным средством против старения. К тому же усваивается он гораздо лучше, чем молоко, и не такой кислый, как кефир, поскольку сквашивается совсем не долго – не более 6-8 часов. Чтобы приготовить ацидофилин, нужна ацидофильная палочка. Это исключительно жизнестойкая бактерия: она не разрушается даже под действием желудочных соков. Попадая в кишечник человека, палочка вытесняет оттуда вредные микробы и подавляет процессы гниения. Наряду с ацидофилином в нашей стране производят ацидофильную простоквашу и ацидофильную пасту. Все эти продукты хранятся недолго – около трех суток.

Варенец. Старинный кисло-молочный напиток родом из Сибири. Готовят его из топленого молока, как и ряженку, однако делают это по-другому: молоко томят в печи, пока оно не выпарится на треть и даже более, при этом сливочную пенку время от времени опускают на дно. Затем в загустевшую рыжеватую массу добавляют закваску, например сметану (интересно, что раньше в богатых домах для заквашивания клали в молоко серебряную ложку). В России варенец обычно подавали к чаю.

Йогурт – кисломолочный продукт, который заквашивается благодаря особой бактерии – «болгарской палочке». Её название возникло не случайно. В 1900 г. в Европе была проведена перепись населения; в результате выяснилось, что больше всего долгожителей проживает в Болгарии. Русский ученый Иван Мечников объяснил этот любопытный факт тем, что болгары едят йогурты. Только потом европейцы выяснили, что приписывать болгарам рецепт приготовления этого лакомства несправедливо: когда-то они позаимствовали йогурт у турков, да и назван он турецким словом (при этом настоящие турецкие йогурты достаточно экзотичны: например, даджик – с огурцом, а хайдари – с чесноком!)

Йогурты сейчас очень распространены по всему миру: их вырабатывают из коровьего молока с добавлением сливок и сухого обезжиренного молока. В йогуртах много кальция, столь важного для роста и состояния зубов и костей, они хорошо влияют на микрофлору кишечника.

Каймак придумали на Балканах. С молока в течение довольно долгого времени снимают сливки и перекладывают их слоями в глиняную тарелку, после чего несколько дней его держат в тепле. Получается необыкновенно нежная сливочная масса, которую едят как сметану или добавляют в тесто. Интересно, что в Черногории каймак подсаливают! Похожие кисломолочные лакомства есть в Татарии, Башкирии и Средней Азии.

Катык – кисломолочный напиток тюркских народов. Чтобы его приготовить, густое молоко заквашивают сметаной и ставят в теплое место на 8-10 часов. В следующий раз его делают с помощью катыка предыдущей закваски (причем чем старше кисломолочные грибки, тем крепче и плотнее получается новый катык). В Татарии и Башкирии его нередко готовят со свеклой или вишней. Свеклу варят или пекут в кожуре, затем очищают и нарезают соломкой. С вишней проще: у неё просто удаляют косточки и разминают мякоть толкушкой; получившуюся массу кладут в горячее, ещё не заквашенное молоко (на один литр идет примерно половина небольшой свеклы или 2-3 вишенки).

Кефир – кисломолочный напиток, заквашенный с помощью так называемых «кефирных грибков» (эта закваска представляет собой симбиоз множества микроорганизмов, молочнокислых стрептококков и палочек, уксуснокислых бактерий и дрожжей). Кефир благотворно влияет на микрофлору кишечника: всего пара стаканов этого напитка в день предотвращает развитие кишечных инфекций и быстро справляется с дисбактериозом, вызванным, например, антибиотиками. Кефир укрепляет иммунитет, побеждает хроническую усталость, незаменим при нарушениях сна и болезнях нервной системы, помогает похудеть (если пить его регулярно) и хорошо утоляет жажду в жаркие летние дни.

Родина кефира – северный склон Кавказского хребта. Живущие в тех местах долгожители-горцы (осетины и карачаевцы) считали кефирные грибки священным даром самого Аллаха. Они настолько дорожили этой закваской, что никогда никому её не дарили и не продавали (даже соплеменникам) – горцы верили, что Аллах в таком случае лишит грибки их волшебной силы. Проблему решали так: хозяин закваски позволял её выкрасть тому, кто этого сильно жаждал, а потом уже брал деньги, но не за грибки, а за какой-то другой, чаще всего чисто символический товар. Даже выходявшие замуж девушки получали закваску в приданое не просто так: они выкрадывали её у родителей, причём сценарий этой «ритуальной кражи» был разработан до мелочей.

Кумыс – напиток из голубоватого, сладко-терпкого молока кобылиц. Если верить древнегреческому историку Геродоту, кобылье молоко, сбитое в деревянных кадках, пили ещё скифы.

Кумыс любят казахи, киргизы, башкиры, калмыки. И не только потому, что эти народы ещё недавно вели кочевую жизнь, а существование степного кочевника невозможно без лошади. Кумыс невероятно полезен: он прекрасно действует на обмен веществ, помогает пищеварению, восстанавливает силы. Полтора века назад Сергей Аксаков красноречиво описывал чудодейственное влияние кумыса на самочувствие: «Дивно исчезают недуги холодной зимы и даже старости, полнотой одеваются осунувшиеся лица, румянцем покрываются бледные щеки». В начале XX в. в России кумысом даже лечили туберкулёз.

Курт распространён у тюркских народов. Его делают из сузьмы, которую растирают с солью и красным перцем до однородной массы, а затем скатывают в небольшие шарики, которые накрывают тканью и вялят на солнце 3-4 дня. По вкусу курт очень похож на сухой сыр.

Маргарин – состоит из растительных, молочных и животных жиров, а также красителей и ароматизаторов. Появился маргарин в 1860-х годах, после того как французский император Наполеон III пообещал вознаграждение тому, кто сделает хороший и дешёвый заменитель масла для солдат и бедняков. Эту задачу выполнил химик Ипполит Меже-Мурье.

К сожалению, изобретенный им продукт во многих странах очень скоро стали продавать под названием «масло». А чтобы он не слишком отличался от настоящего масла, добавляли в него жёлтый краситель.

Масло сливочное не только питательно, но и полезно – для кожи, волос, зрения, костной и мышечной ткани. Оно богато витаминами, кальцием, содержит фосфолипиды, необходимые для строения клеток, особенно нервных. Кроме того, в состав сливочного масла входят незаменимые аминокислоты – необходимые для нормального функционирования организма вещества, которые поступают только с продуктами питания. Так что в полезности сливочного масла сомневаться не приходится. Надо только помнить, что, когда мы растапливаем его на сковороде, витаминов в нём не остается. Именно поэтому кусочек масла лучше класть в уже готовую пищу.

Мацони, мацун. В Закавказье издавна готовят йогурты из кипяченого козьего, буйволиного, коровьего или овечьего молока; в Грузии это «мацони», в Армении – «мацун». В едва остывшее после кипячения молоко добавляют за-

кваску (чаще всего это мацони предыдущей закваски, а для первого раза можно использовать скисшие сливки) и ставят в тёплое место примерно на 6-8 часов. Получается густой кислый напиток, который не только пьют, но и добавляют в тесто для хачапури, заливают им горячие мясные и овощные блюда.

Нередко мацони заготавливают впрок: высушивают, превращая в сухой порошок, который очень долго хранится. Сухой мацони можно использовать в качестве закваски или, разведя водой, снова сделать из него напиток.

Пахта – это обезжиренные сливки, которые получаются при сбивании масла. В кулинарии её используют так же, как и сливки, а кроме того, из неё делают кисломолочные продукты и диетический сыр, применяют в кондитерском и хлебопекарном деле. Поскольку в пахте мало жира, её ценят сторонники диетического питания.

Простокваша. Само слово «простокваша» говорит о простоте приготовления этого продукта. Готовят её так: в охлажденное кипяченое молоко добавляют закваску (это может быть корочка черного хлеба, ложка сметаны, кефира или простокваши прошлого дня) и ставят на 10-12 часов в теплое место. Стоит помнить, что этот напиток хорош лишь в течение суток, потом он портится. Простокваша не столь кислая, как другие кисломолочные продукты, поэтому ею часто кормят детей. А если её делать из обезжиренного молока, она вполне подойдет и для диетического питания.

Ряженка – это особый вид простокваши из смеси молока со сливками. Родом ряженка из Украины: там её делают в «глечиках» – специальных низких глиняных горшочках. Молоко и сливки томят при высокой температуре, не доводя до кипения, пока она не принимает красивый кремовый цвет топленого молока. Потом её заквашивают: в домашних условиях – просто положив в неё немного сметаны, а в заводских для этого используют бактерии стрептококка.

Сливки молочные появляются на поверхности свежего молока уже через несколько часов после дойки. С давних времен этот густой, жирный слой снимали или сливали (так, кстати, и появилось слово «сливки») с поверхности молока и сбивали из них масло. Молочные сливки мы привыкли добавлять в кофе, они незаменимы при приготовлении соусов, супов-пюре, аппетитных кремов, коктейлей, домашнего мороженого. В России производят сливки разной степени жирности – 10-, 20- и 35-процентные. Выпускают и сухие сливки для кофе, но по вкусу и питательности они, конечно, не могут сравниться с настоящими.

Сметана – За границу сметана «проникла» только после Второй мировой войны, причем в некоторых странах сметану до сих пор называют «русскими сливками». Наши предки делали её просто: снимали («сметали» – отсюда и название) с молока всплывшие во время брожения сливки. Сейчас сметану по государственному стандарту готовят из сливок 32% жирности; в зависимости от технологии получается продукт различной консистенции – от 10 до 40 % жира.

Сузьма распространена в тюркских странах. Её делают из катыка, который подсаливают, выливают в мешочек из хлопка или марли, подвешивают стекать и подсыхать – примерно на сутки. Сузьму едят просто так или заправ-

ляют её супы. Кроме того, её можно через несколько дней развести и превратить в подобие сметаны или молока, а можно, наоборот, сбить из неё сливочное масло или сделать творог, подогрев в водяной бане.

Сыворотка молочная – побочный продукт производства сыра или творога. При нагревании скисшего молока оно распадается на белые сгустки (творог это или сыр – зависит от закваски) и мутноватую жёлто-зелёную жидкость – её и называют сывороткой.

Рикотта – «повторено сваренный сыр» (так его название переводится с итальянского языка). Если вторично нагреть сыворотку, оставшуюся от приготовления сыра или творога, можно сделать продукт под названием рикотта.

Тарак – своеобразный кисломолочный напиток, который распространен в Монголии, Бурятии, Туве и на Алтае. Главная особенность тарака в том, что его готовят из смеси разных видов молока (овечьего, коровьего, козьего, верблюжьего, ячьего), которую нагревают, не доводя до кипения, затем остужают, добавляют закваску из старого тарака и оставляют на несколько часов в закрытой посуде.

Творог, домашний сыр. Слово творог – славянское: в Европе и Америке похожий на него продукт называют «cottage cheese» («деревенский сыр»). Даже в нашей стране до XVIII века творог называли просто сыром, ведь до петровских времен на Руси не знали сыра в современном понимании. Молоко скисало само, благодаря содержащимся в воздухе бактериям, либо в него добавляли закваску (простоквашу), после чего немного подогревали в печи, и оно распадалось на белые сгустки творога («сыра») и сыворотку. В России изобрели даже рецепт «сухого сыра»: готовый творог высушивали в печи, прессовали, плотно укладывали в глиняные горшки и заливали сверху топленным маслом (в погребе такой продукт мог храниться месяцами!). Кстати, в русском языке слово «сыр» до сих пор употребляется в прежнем значении: подсоленный нежирный творог в России именуют «домашним сыром».

Шубат – напиток из скисшего верблюжьего молока, который с давних времён готовят казахские кочевники-скотоводы. В торсык (кожаный мешок) они кладут закваску, вливают свежее верблюжье молоко и оставляют на сутки, а перед тем, как подать к столу, хорошо перемешивают. Получается солёный густой напиток – более жирный, чем кумыс (8% жира).

Сухая симбиотическая закваска бурятско-монгольского кисломолочного напитка. Потрясающе дешёвый и полезный лечебно-профилактический, симбиотический продукт на основе древнего бурятско-монгольского кисломолочного напитка "хурунгэ". Нормализует обмен веществ, вылечивает аллергические заболевания, при желудочно-кишечных заболеваниях: язва желудка или 12-перстной кишки. Доброкачественные опухоли (миома матки, фиброзно-кистозная мастопатия и др.), в том числе при дисбактериозе, дисбиозе. Очищает организм от шлака (в том числе и камня), аденома простаты.

«Курунга» – применяют: для лечения дисбактериоза, дисбиоза, нормализации кислотно-щелочного баланса ЖКТ, запоров, для поднятия иммунитета взрослым и детям с момента прикорма, а матерям, кормящим детей грудью, с

первого дня их рождения, для ферментирования сухих и живого «жом» лекарственных трав и ряда пищевых растительных продуктов.

При этом лечебные травы подбирают специализированно под определенные заболевания. Например, для лечения сосудов, атеросклероза, тромбофлебита, гипертонии, склероза мозга рекомендуют лист фундука (орешника), цветы клевера и многие другие травы. Я же в своей практике еще предлагаю для этих же заболеваний использовать и лист гинкго. Все эти лекарственные травы (можно и комбинированные сборы) сушат и измельчают на кофемолке в порошок. Но еще лучше, когда эти травы применяют свежими, то есть живыми, тогда их надо измельчить в мясорубке или соковыжималке. Получается сырой жом.

Способы приготовления:

а) Для восстановления банальной микрофлоры ЖКТ, лечения дисбактериоза, дисбиоза, нормализации кислотно-щелочного баланса ЖКТ, для поднятия иммунитета взрослым и детям с момента прикорма, а матерям, кормящим детей грудью, с первого дня их рождения.

1 ч. ложка с горкой сухой закваски на 0.5 литра жирного молока. Заквашивать сутки при температуре + 20-25 °С. Молоко расслоиться на сгусток (творожок) и обрат. Верхнюю часть съедать утром, в обед и перед сном. Для получения слабительного эффекта при запорах, чистке кишечника от шлаков, каловых камней, обрат принимать теплым за 30-40 минут до еды в обед и ужин;

б) Для получения слабительного эффекта при различного рода чисток: 1 ч. ложка сухой закваски на стакан молока. Заквашивать 16-18 часов при температуре + 24-25 °С. Принимать перед сном или через час после ужина. Перед приемом перемешать;

в) При всех других показаниях: 1 ч. ложка с горкой сухой закваски на 0,5 литра жирного молока. Заквашивать сутки при температуре + 20-25 °С. Молоко расслоиться на сгусток (творожок) и обрат. Верхнюю часть съедать утром, в обед и перед сном;

г) При закваске с порошком лек. сборов трав, корней в стакан свежего молока добавляют по инструкции сухую закваску (1 ч. ложка без горки), а затем порошок лечебных трав или корней прописанных для лечения конкретного заболевания. Например, 1-2 чайные ложки молотого лек. сбора трав или корней и заквашивают при этом не 1-2 дня, а 3-5 дней. Указанный лечебный напиток применяют по 1 стакану в день. При этом бактерии закваски так переработают этот порошок, так сферментируют его, что он будет более усвояемый для организма. Повысится его лечебное свойство, а самое главное – применение лекарственных трав в таком виде минует такие негативные для них воздействия, как нагревание для получения отвара или экстракция их на водке или спирту для получения настоек.

Любые такие воздействия резко ослабляют лечебный потенциал этих трав, убивает в нем ферменты, витамины, фитогормоны, фитоалексины и др. Поэтому многие целители и травники сторонники преимущественного применения трав в виде порошка или натурального виде.

Предлагаемая нами методика применения лечебных трав учитывает все эти требования, а кроме того еще имеет и значительное преимущество. Указанные закваски имеют широкий спектр необходимых ферментов, которые «раскрывают» эти лечебные травы, разрушают частично мембраны оболочки клеток, оживляют их. Такие комплексы из пробиотических заквасок и лечебных трав многократно взаимно усиливают лечебные свойства каждого по отдельности, а также лечение становится более целенаправленным, комплексным и многоплановым.

Также рекомендуется ферментировать живой «жом» из трав. Для этого гомогенат из необходимой травы в виде полужидкого фарша пересыпают сухим порошком данной закваски. Обычно соотношение травы и закваски: 30-50 г травы на 1 г закваски. Все тщательно перемешивают. Если нет сухого порошка закваски, то можно использовать отцеженную от сыворотки створоженную массу. Затем все плотно укладывают в банку и утрамбовывают толкушкой. Закладывать надо эту массу плотно под самое горлышко банки, чтобы не было воздуха. Затем плотно закрывают полиэтиленовой крышкой и ставят в темноту в теплое место, где температура 25-30 °С. Держат так от 5 до 15 дней, можно иногда и до 30 дней, не бойтесь, что эта растительная масса «забродит» и испортится. Указанная закваска действует как антагонист всем нежелательным или патогенным бактериям. В ее присутствии они долго не смогут развиваться.

Нечто в этом есть что-то похожее от заквашивания капусты. Затем, начиная с 10-15 дня этот травяной ферментат можно использовать в качестве лечебного и в качестве усиленного пробиотика. Используют его обычно по 1-2 чайной ложки в день. Можно добавить другую пищу: кашу или с хлебом. В зависимости от вида травы дозу подбирают соответственно. Но большинство трав общеукрепляющего, очищающего действия и т.д. можно применять по несколько ложек.

Также с помощью этих заквасок можно ферментировать не только лекарственные травы, но и многие пищевые листья, салаты. Употреблять их затем можно по 100-200 г в день в качестве замены растительным салатом. Особенно это полезно и нужно делать людям с нарушенной и недостаточной работой желудочно-кишечного тракта, которым живая растительная пища не приемлема, не усваивается и они вынуждены перейти на изнеженную щадящую диету. В этом случае ферментаты растительного происхождения для них будут просто спасением, находкой, так как они легко усваиваются, не дают чрезмерного газообразования. Они уже частично переработаны ферментами бактерий, то есть организму легче их усваивать. Это как бы дополнительное, «искусственное» пищеварение для организма.

Особенно полезна будет такая ферментированная пища и для чрезмерно ослабленных, изнуренных длительной болезнью людей. Это укрепит их аппетит, улучшит обмен веществ, усилит иммунитет, позволит восстановить вес. Конечно, заквашивать можно любые другие продукты, например, овощи, фрукты, размолотые крупы. Но подробно об этом в следующей нашей статье.

Если у вас получен ферментат в избыточном количестве и сразу его в ближайшие дни вы не сможете использовать, то его можно хранить в холо-

дильнике, а лучше в морозилке, достаточно долго. Иногда этот ферментат можно высушить, тогда он может долго храниться в банках.

Тибетский грибок или «Кефир индийских йогов», сухая закваска.

Этот гриб – детище тибетской медицины. Он представляет собой шаровидное белое тело диаметром 5-6 мм в начальной стадии и 40-60 мм в конце развития перед делением. Был выведен народностями Тибета и долгое время оставался тайной их медицины. По сути, это тоже особое симбионтное биотело, но морфологически и по составу существенно отличающееся от «индийского риса». Целебные свойства этого гриба поистине уникальны. Одна из самых главных его способностей – излечение аллергических заболеваний, что является, похоже, следствием излечения от первичных дисбактериоза и дисбиоза.

Лечебно-профилактический молочно-кислый напиток индийской медицины, полученный из сухой закваски тибетского грибка, нормализует обмен веществ, вылечивает аллергические заболевания, при желудочно-кишечных заболеваниях: язва желудка или 12-перстной кишки. Доброкачественные опухоли (миома матки, фиброзно-кистозная мастопатия и др.), в т.ч. при дисбактериозе. Очищает организм от шлака (в том числе и камня), аденома простаты.

Способ приготовления: 1 ч. ложка сухой закваски без горки на стакан жирного молока. Заквашивать сутки при температуре +18 °С. Принимать перед сном, или утром до еды.

Применение сквашенного молока не только облегчает сердечнососудистые заболевания, но и излечивает их. Употребление этого кефира при повышенном давлении в течение 2-3 лет позволяет излечиться от довольно серьезной гипертонии. Прекрасно помогает он при атеросклерозе – останавливает известкование стенок капилляров. Лечит болезни печени и желчного пузыря, растворяет камни в желчном пузыре, лечит язвы желудка и двенадцатиперстной кишки. После тяжелых болезней с применением антибиотиков желательно сразу же растительных продуктов. При онкозаболеваниях применяют совместно с приемом увеличенных доз пробиотиков Стелкор или Депрекан и новейшим симбиотиком «Витагросс».

Ферментированная пища, приготовленная с применением сухой закваски «Кефир-Биовит». Особенно полезна для профилактики онкозаболеваний. Ферментат из живого жема живых лекарственных трав рекомендуется использовать в качестве лечебного и в качестве усиленного симбиотика. Используют его обычно по 1-й столовой ложки 2-3 раза в день.

Ассортимент кисломолочных продуктов в России значительно расширился в последние годы. Это и популярные во всем мире йогурты, и так называемые бифидопродукты, и традиционные кефир и простокваша, к которым добавлена приставка био.

Приложение 3

Таблица 1 – Сравнительный состав женского, коровьего и козьего молока (г в 1 литре)

Вид молока	Белки, г	Жиры, г	Углеводы, г	Калории, ккал
Женское	14	35	75	690
Коровье	33	35	47	660
Козье	41	44	44	800

Таблица 2. Содержание аминокислот (в % к белку) в женском и коровьем молоке

Аминокислоты	Женское молоко	Коровье молоко
Валин	8,19	6,6
Лейцин	10,58	9,6
Изолейцин	6,35	5,5
Треонин	5,76	4,3
Фенилаланин	5,05	5,2
Лизин	10,95	7,8
Метионин	2,85	2,5
Триптофан	2,29	1,4
Гистидин	3,2	1,9

Таблица 3 – Содержание витаминов в женском и коровьем молоке (мг %)

Витамины	Женское молоко	Коровье молоко
А	0,037	0,082
Д	0,00012	0,0002
Е	0,63	0,180
В ₁	0,015	0,041
В ₂	0,038	0,144
В ₆	0,022	0,044
В ₁₂	0,000045	0,0034
РР	0,279	0,1
С	4,24	1,54
Биотин	0,001	0,0022
Пантотеновая кислота	0,154	0,233

Таблица 4 – Сравнительная характеристика женского, коровьего молока и молочных смесей, адаптированных заменителей грудного молока, в 100 мл

Показатели	Зрелое женское молоко	Коровье молоко	Адаптированная смесь (обновлен.)
Белок, г	0,9-1,3	3,3-3,5	1,5-1,9
Сывороточный протеин/казеин, %	80/20 или 60/40	18/82	60/40
Жир, г	3,9-4,5	3,2-3,5	3,0-3,8
Линолевая кислота (% от количества жира)	13,6	3,8	15- 16
Углеводы, г	7,0	4,5-4,8	6,9-8,0
Энергетич. ценность, ккал	65	65	67-70
Осмолярность, мосм/л	260-270	400-420	250-280*

Таблица 5 – Содержание минеральных веществ в женском и коровьем молоке

Минеральные вещества	Женское молоко	Коровье молоко
Калий	55,0	140,0
Кальций	34,0	130,0
Магний	4,0	—
Натрий	19,3	60,0
Фосфор	16,6	40,0
Сера	15,0	—
Хлор	40,0	100,0
Железо	0,16	—
Медь	0,04	0,007
Марганец	0,0007	—
Цинк	0,12	—

П р и м е ч а н и е:

**Адаптированные молочные смеси для детей с малой массой тела при рождении (меньше 2,5 кг) имеют меньшую осмолярность в пределах 230-250 мосм/л (миллиосмоль на литр).*

Список рекомендуемой литературы

1. Мячикова Н.И. Товароведение продовольственных товаров. – Белгород: ИПК НИУ БелГУ, 2011. – 84 с.
2. Дмитриченко М.И. Товароведение и экспертиза пищевых жиров, молока и молочных продуктов / М.И. Дмитриченко, Т.В. Пилипенко. – СПб: Питер, 2010. – 352 с.
3. Колесник А.А. Теоретические основы товароведения продовольственных товаров: Учеб. для вузов / А.А. Колесник, Л.Г. Елизарова. – М.: Экономика, 2012. – 287 с.
4. Экспертиза качества молока и кисломолочных продуктов: Методическое руководство МВШЭ МР-010-2001. / Автор-составитель: Кузьмина В.А. – М.: АНО Московская высшая школа экспертизы, 2010. – 77 с.
5. Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы. СанПиН 2.3.2.1078-01. – М.: ФГУП «Интер СЭН», 2002. – 168 с.
6. Дмитриченко М.И. Товароведение и экспертиза пищевых жиров, молока и молочных продуктов: Учебник / М.И. Дмитриченко, Т.В. Пилипенко. – СПб.: Питер, 2009. – 97 с.
7. Шидловская В.П. Органолептические свойства молока и молочных продуктов: Справочник. – М.: Колос, 2010. – 280 с.
8. Шепелов А.Ф. Товароведение и экспертиза молока и молочных продуктов: учебное пособие / А.Ф. Шепелов, О.И. Кожухова. – Ростов-на-Дону: Издательский центр «МарТ», 2011. – 128 с.
9. ТР ТС 033/2013 Технический регламент Таможенного союза "О безопасности молока и молочной продукции".
10. Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 033/2013 «О безопасности молока и молочной продукции» (утвержден решением Совета Евразийской экономической комиссии от 9 октября 2013 года №67). Москва, 2014. (с изменениями на 10 июля 2020 года)
11. Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции» (утвержден решением комиссии Таможенного союза от 9 декабря 2011 года №880). Москва, 2011. (с изменениями на 8 августа 2019 года)
12. Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 005/2011 «О безопасности упаковки» (утверждён решением комиссии Таможенного союза от 16 августа 2011 года №769). Москва, 2011. (с изменениями на 18 октября 2016 года)
13. Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 022/2011 «Пищевая продукция в части ее маркировки» (утверждён решением комиссии Таможенного союза от 9 декабря 2011 года №880). Москва, 2011. (с изменениями на 23 апреля 2021 года)
14. ГОСТ 31454-2012. Кефир. Технические условия. – М.: Изд-во стандартов, 2019. – 8 с.

15. ГОСТ 31455-2012. Ряженка. Технические условия. – М.: Изд-во стандартов, 2019. – 6 с.
16. ГОСТ Р 31981-2013. Йогурты. Общие технические условия. – М.: Изд-во стандартов, 2019. – 19 с.
17. ГОСТ 3622-68. Молоко и молочные продукты. Отбор проб и подготовка их к испытанию. – М.: Изд-во стандартов, 2009. – 10 с.
18. ГОСТ 3624-92 Молоко и молочные продукты. Титриметрические методы определения кислотности. – М.: Изд-во стандартов, 2009. – 7 с.
19. ГОСТ Р ИСО 707-2010. Молоко и молочные продукты. Руководство по отбору проб. – М.: Изд-во стандартов, 20011. – 36 с.
20. ГОСТ 33491-2015. Продукты кисломолочные, обогащенные бифидобактериями бифидум. Технические условия. – М.: Изд-во стандартов, 2016. – 20 с.
21. ГОСТ 32923-2014. Продукты кисломолочные, обогащенные пробиотическими микроорганизмами. Технические условия. – М.: Изд-во стандартов, 2019. – 14 с.
22. ГОСТ Р 56139-2014. Продукты пищевые специализированные и функциональные. Методы определения и подсчета пробиотических микроорганизмов. – М.: Изд-во стандартов, 2015. – 23 с.
23. ГОСТ 32901-2014. Молоко и молочная продукция. Методы микробиологического анализа. – М.: Изд-во стандартов, 2015. – 25 с.
24. ГОСТ ISO 29981-2013. Продукты молочные. Подсчет презумптивных бифидобактерий. Метод определения количества колоний при температуре 37 °С. – М.: Изд-во стандартов, 2014. – 15 с.
25. ГОСТ 10444.11-2013 (ISO 15214:1998). Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета количества мезофильных молочнокислых микроорганизмов. – М.: Изд-во стандартов, 2014. – 15 с.
26. ГОСТ 31928-2013. Средства лекарственные для ветеринарного применения пробиотические. Методы определения пробиотических микроорганизмов. – М.: Изд-во стандартов, 2014. – 17 с.

Литвина Лидия Алексеевна,
Анфилофьева Ирина Юрьевна

Микроорганизмы кисломолочных продуктов

Учебно-методическое пособие

Печатается в авторской редакции
Оператор электронной верстки Н.Е. Карачева

Подписано в печать ____ г.
Формат 60×84 1 /16. Объем ____ уч.-изд. л., 1,75 усл. печ. л.
Тираж ____ экз. Изд.№ ____ . Заказ № ____ .

Отпечатано в Издательском центре «Золотой колос»
630039, РФ, г. Новосибирск, ул. Добролюбова, 160, офис 106
Тел. факс (383) 267-09-10. E-mail: 2134539@mail.ru