

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ  
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН  
ИННОВАЦИОННЫЙ ЕВРАЗИЙСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

Допущен (а) к защите:

зав. кафедрой «Прикладная биотехнология»,

доцент, кандидат технических наук,

профессор

\_\_\_\_\_ В.А.Овсянникова

(подпись)

«\_\_\_» \_\_\_\_\_ 200\_\_ г.

Магистерская диссертация

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ ДЛЯ  
ПОЛУЧЕНИЯ КИСЛОМОЛОЧНОГО НАПИТКА НА ОСНОВЕ КОЗЬЕГО  
МОЛОКА

специальность: 6N0707 - БИОТЕХНОЛОГИЯ

Магистрант \_\_\_\_\_ З.В.Каткадамова

(подпись) (фамилия, инициалы)

Научный руководитель,

доктор технических наук, профессор \_\_\_\_\_ А.Ю. Камербаев

(подпись) (фамилия, инициалы)

ПАВЛОДАР– 2011

## РЕФЕРАТ

Магистерская диссертация выполнена на 120 страницах, данные анализа результатов работы приводятся в виде 34 таблиц, 21 рисунка. Количество использованных источников литературы 65.

Наиболее употребляемые в работе термины и ключевые слова: функциональные продукты питания, пробиотические микроорганизмы, пребиотики, лактобактерии, лактулоза, козье молоко, обрат, безопасность пищевых продуктов, микрофлора, патогенная и условно-патогенная микрофлора, бактерицидная активность.

Цель исследования - создание кисломолочного напитка на основе козьего молока с использованием биотехнологических приёмов.

При выполнении экспериментальной части работы проводились микробиологические и физико-химические исследования.

На сегодняшний день в основном вырабатываются молочнокислые напитки на основе коровьего молока. В этой связи, безусловный интерес представляет возможность биотехнологии получения кисломолочного напитка на основе козьего молока функциональной направленности с высокими качественными показателями и показателями безопасности. Использование козьего молока в качестве альтернативы коровьему, имеет значительные преимущества, связанные с его высокой биологической ценностью.

В результате проведённой работы была разработана биотехнология получения кисломолочного напитка на основе козьего молока, позволяющий расширить ассортимент кисломолочных продуктов, обладающие функциональными свойствами. Оптимизирован рецептурный состав с учётом биосочитаемости и биодоступности компонентов.

Актуальным является реализация принципа безотходного производства, который осуществляется за счет использования обрат с целью нормализации козьего молока.

В качестве ценной заквасочной культуры выбран штамм *Lactobacillus acidophilus* Er 317/402.

Обогащение кисломолочного напитка сиропом лактулозы позволяет активизировать биотехнологический процесс, а также повысить пищевую и биологическую ценность разработанного продукта. Определен этап введения сиропа лактулозы в кисломолочный напиток.

Выявлено бактерицидное действие кисломолочного напитка в отношении условно-патогенной микрофлоры *Echerichia coli* и *Staphylococcus aureus*

В процессе выполнения магистерской диссертации был определен срок и режим хранения кисломолочного напитка.

Результаты исследований стали основой биотехнологии получения нового вида продукта на основе козьего молока, обладающий бактерицидными свойствами.

## СОДЕРЖАНИЕ

НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ	5
ОПРЕДЕЛЕНИЯ, ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ	7
ВВЕДЕНИЕ	10
1 ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР	12
1.1 Продукты функционального назначения в питании населения	12
1.2 Современные тенденции разработки продуктов функционального назначения	14
1.3 Основное сырье и компоненты, используемые при производстве функциональных кисломолочных продуктов	18
1.3.1 Молоко – как основа кисломолочных продуктов	18
1.3.2 Сравнительное изучение биологических свойств коровьего и козьего молока	19
1.3.3 Про- и пребиотики и их функциональные свойства	30
1.4 Особенности бактериального препарата «Наринэ»	34
1.4.1 Исследования в области применения бактериального препарата «Наринэ»	40
1.4.2 Сравнительные признаки лактобактерина и «Наринэ»	49
Заключение по литературному обзору	54
2 Организация и проведение эксперимента, объекты и методы исследования	56
2.1 Объекты исследований	56
2.2 Методы исследований	57
2.2.1 Методы определения физико-химических свойств козьего молока	57
2.2.2 Методы идентификации микроорганизмов	63
2.2.3 Микробиологические методы исследования безопасности кисломолочных напитков	69
3 Экспериментальная часть	73
3.1 Создание кисломолочного напитка с изучением показателей качества	73
3.2 Обоснование выбора сырья и компонентного состава кисломолочного напитка	74
3.3 Оптимизация рецептуры кисломолочного напитка	77
3.4 Разработка биотехнологического процесса производства кисломолочного напитка	83

3.5	Исследование качественных показателей продукта	87
3.5.1	Исследование физико - химических свойств молока	88
3.5.2	Определение эффективного способа внесения сиропа лактулозы	97
3.5.3	Изучение органолептических и качественных показателей продукта	99
3.5.4	Изучение срока хранения кисломолочного напитка	97
3.6	Изучение микрофлоры кисломолочного напитка	98
3.7	Изучение биологических свойств кисломолочного напитка	101
3.8	Экономические расчеты производственной себестоимости кисломолочного напитка на основе козьего молока	107
4	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	111
	СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ	113
	ПРИЛОЖЕНИЕ А	118
	ПРИЛОЖЕНИЕ Б	119
	ПРИЛОЖЕНИЕ В	120

## НОРМАТИВНЫЕ ССЫЛКИ

В данной диссертации были использованы ссылки на следующие стандарты:

ГОСТ 13928-84 Молоко и сливки заготавливаемые. Правила приемки, методы отбора проб и подготовка их к анализу.

ГОСТ 3623-73 Молоко и молочные продукты. Методы определения пастеризации.

ГОСТ 26668-85 Продукты пищевые и вкусовые. Методы отбора проб для микробиологических анализов.

ГОСТ 3624-92 Молоко и молочные продукты. Титриметрические методы определения кислотности.

ГОСТ 26781-85 Молоко. Методы определения pH.

ГОСТ 5867-90 Молоко и молочные продукты. Методы определения жира.

ГОСТ 3626-73 Молоко и молочные продукты. Методы определения влаги и сухого вещества.

ГОСТ 3627-81 Молочные продукты. Методы определения хлористого натрия.

ГОСТ 25179-90. Молоко. Методы определения белка

ГОСТ 3628-78 Продукты молочные. Методы определения сахара.

ГОСТ 9225-84 Молоко и молочные продукты. Методы микробиологического анализа

ГОСТ 10444.11-89 Продукты пищевые. Метод определения молочнокислых микроорганизмов

ГОСТ 10444.12-88 Продукты пищевые. Метод определения дрожжей и плесневых грибов.

ГОСТ 30347-97 Молоко и молочные продукты. Методы определения *Staphylococcus aureus*

ГОСТ 30518-97 Продукты пищевые. Методы определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформные бактерии)

ГОСТ 30519-97 Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Salmonella*

ГОСТ 26927-86 Сырье и продукты пищевые. Методы определения ртути.

ГОСТ 26930-86 Сырье и продукты пищевые. Метод определения мышьяка.

ГОСТ 26931-86 Сырье и продукты пищевые. Метод определения меди.

ГОСТ 26932-86 Сырье и продукты пищевые. Метод определения свинца.

ГОСТ 26933-86 Сырье и продукты пищевые. Метод определения кадмия.

ГОСТ 26934-86 Сырье и продукты пищевые. Метод определения цинка.

СТ РК Кефир. Технические условия.

ГОСТ 26927-86 Сырье и продукты пищевые. Метод определения ртути.

ГОСТ 1770-74Е Посуда мерная лабораторная стеклянная. Цилиндры, мензурки, колбы, пробирки.

ГОСТ 26670-91 Продукты пищевые. Методы культивирования микроорганизмов.

ГОСТ 4517-87 Реактивы. Методы приготовления вспомогательных реактивов и растворов, применяемых при анализе.

ГОСТ 4919.2-77 Реактивы и особо чистые вещества. Методы приготовления буферных растворов.

ГОСТ 6709-72 Вода дистиллированная. Технические условия.

ГОСТ 17206-96 Агар микробиологический. Технические условия.

ГОСТ 29112-91 Среды питательные плотные. Общие технические условия.

СанПиН № 4.01.071.03 «Гигиенические требования к безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов».

СанПиН 1.2.006 Санитарные правила по безопасности работы с микроорганизмами.

## **ОПРЕДЕЛЕНИЯ, ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ**

**Анаэробная микрофлора** – микроорганизмы, живущие без свободного кислорода (кишечная палочка, иерсинии, стафилококки, стрептококки, шигеллы др.).

**Антагонизм** – конкуренция сочленов микробиоценоза за пищу и жизненное пространство.

**Аэробная микрофлора** – микроорганизмы, жизнедеятельность которых возможна только при наличии свободного кислорода (микобактерии туберкулеза, возбудитель дифтерии др.).

**Безопасность пищевых продуктов** - соответствие продуктов питания техническим, санитарным, ветеринарным, фитосанитарным стандартам, нормам, правилам и требованиям, гарантирующих их безопасность для жизни и здоровья людей.

**Дисбактериоз** – любые качественные и количественные изменения типичной для данного биотопа микрофлоры человека и животных, возникающие в результате воздействия на макро- и микроорганизм различных факторов экзогенного и эндогенного характера, влекущие за собой клинические проявления со стороны макроорганизма или являющиеся следствием каких-либо патологических процессов в организме.

**Дисбиоз** – микробиологический дисбаланс в организме, который со временем проявляет себя местными симптомами, а затем и общими нарушениями, которые отягощают течение различных заболеваний

**Дисбактериоз кишечника** - это микробиологическое понятие, характеризующее нарушения в качественном составе и количественном соотношении бактериальных представителей кишечной микрофлоры.

**Защитная микрофлора кишечника** – флора, представленная бифидобактериями, лактобактериями, полноценными кишечными палочками.

**Нормальная микрофлора** - совокупность типичных для определенного биологического вида ассоциаций микроорганизмов, естественная жизнедеятельность которых происходит в тех органах и тканях макроорганизма, которые сообщаются с внешней средой (представлена бифидобактериями, лактобактериями и кишечными палочками).

**Пищевая ценность продукта** - совокупность свойств пищевого продукта, удовлетворяющих физиологические потребности человека в необходимых веществах и энергии.

**Качество пищевых продуктов** - совокупность характеристик пищевых продуктов, определяющие их потребительские свойства.

**Патогенная микрофлора** - микроорганизмы способные вызывать заболевания людей, животных и растений.

**Пищевые продукты** - продукты, используемые человеком в пищу в натуральном или переработанном виде.

**Пищевые добавки** - натуральные и искусственные вещества и их соединения, специально вводимые в пищевые продукты в процессе их изготовления в целях придания им определенных свойств и (или) сохранения их качества.

**Пробиотические продукты** - пищевые продукты, изготовленные с добавлением живых культур пробиотических микроорганизмов и пребиотиков.

**Пробиотические микроорганизмы** - живые непатогенные и нетоксигенные микроорганизмы - представители защитных групп нормального кишечного микробиоценоза человека и природных симбиотических ассоциаций, благотворно влияющие на организм человека путем поддержания нормального состава и биологической активности микроорганизмов пищеварительного тракта (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Propionibacterium* и другие).

**Пребиотики** - пищевые вещества, избирательно стимулирующие рост и (или) биологическую активность защитной микрофлоры кишечника и способствующие поддержанию ее нормального состава и биологической активности.

**Санитарно-показательные микроорганизмы** - индикаторные микроорганизмы, свидетельствующие о возможном фекальном загрязнении и потенциальной опасности присутствия в пищевых продуктах возбудителей инфекционных заболеваний.

**Симбиоз** - одна из разновидностей взаимоотношений между организмами различных биологических видов, в основе которой лежит принцип взаимной выгоды совместного сосуществования. Взаимоотношения между микроорганизмами и макроорганизмом не определяются только этими понятиями.

**Условно-патогенная микрофлора** - микроорганизмы, которые в обычных условиях обитания в организме человека или животных не вызывают инфекционного процесса, но могут стать причиной заболевания.

**Функциональные продукты питания** — продукты питания натурального или искусственного происхождения, обладающие приятным вкусом и выраженным оздоровительным эффектом для человека, удобные в использовании, предназначенные для каждодневного систематического применения и прошедшие длительные клинические испытания, имеющие подтвержденную медицинскую документацию.

Список сокращений, используемых в работе:

АК - аминокислоты

ФП – функциональные продукты питания

ЖКТ – желудочно-кишечный тракт

ПС – питательная среда

L.acidophilus – Lactobacillus acidophilus

МПА – мясopептонный агар

ФАО – продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН (Food and Agriculture Organization – FAO)

ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения ООН (World Health Organization – WHO)

Л-за – лактулоза

Ж - жирность

## **ОПРЕДЕЛЕНИЯ, ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ**

**Анаэробная микрофлора** – микроорганизмы, живущие без свободного кислорода (кишечная палочка, иерсинии, стафилококки, стрептококки, шигеллы др.).

**Антагонизм** – конкуренция сочленов микробиоценоза за пищу и жизненное пространство.

**Аэробная микрофлора** – микроорганизмы, жизнедеятельность которых возможна только при наличии свободного кислорода (микобактерии туберкулеза, возбудитель дифтерии др.).

**Безопасность пищевых продуктов** - соответствие продуктов питания техническим, санитарным, ветеринарным, фитосанитарным стандартам, нормам, правилам и требованиям, гарантирующих их безопасность для жизни и здоровья людей.

**Дисбактериоз** – любые качественные и количественные изменения типичной для данного биотопа микрофлоры человека и животных, возникающие в результате воздействия на макро- и микроорганизм различных факторов экзогенного и эндогенного характера, влекущие за собой клинические проявления со стороны макроорганизма или являющиеся следствием каких-либо патологических процессов в организме.

**Дисбиоз** – микробиологический дисбаланс в организме, который со временем проявляет себя местными симптомами, а затем и общими нарушениями, которые отягощают течение различных заболеваний

**Дисбактериоз кишечника** - это микробиологическое понятие, характеризующее нарушения в качественном составе и количественном соотношении бактериальных представителей кишечной микрофлоры.

**Защитная микрофлора кишечника** – флора, представленная бифидобактериями, лактобактериями, полноценными кишечными палочками.

**Нормальная микрофлора** - совокупность типичных для определенного биологического вида ассоциаций микроорганизмов, естественная жизнедеятельность которых происходит в тех органах и тканях макроорганизма, которые сообщаются с внешней средой (представлена бифидобактериями, лактобактериями и кишечными палочками).

**Пищевая ценность продукта** - совокупность свойств пищевого продукта, удовлетворяющих физиологические потребности человека в необходимых веществах и энергии.

**Качество пищевых продуктов** - совокупность характеристик пищевых продуктов, определяющие их потребительские свойства.

**Патогенная микрофлора** - микроорганизмы способные вызывать заболевания людей, животных и растений.

**Пищевые продукты** - продукты, используемые человеком в пищу в натуральном или переработанном виде.

**Пищевые добавки** - натуральные и искусственные вещества и их соединения, специально вводимые в пищевые продукты в процессе их изготовления в целях придания им определенных свойств и (или) сохранения их качества.

**Пробиотические продукты** - пищевые продукты, изготовленные с добавлением живых культур пробиотических микроорганизмов и пребиотиков.

**Пробиотические микроорганизмы** - живые непатогенные и нетоксигенные микроорганизмы - представители защитных групп нормального кишечного микробиоценоза человека и природных симбиотических ассоциаций, благотворно влияющие на организм человека путем поддержания нормального состава и биологической активности микроорганизмов пищеварительного тракта (*Bifidobacterium*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Propionibacterium* и другие).

**Пребиотики** - пищевые вещества, избирательно стимулирующие рост и (или) биологическую активность защитной микрофлоры кишечника и способствующие поддержанию ее нормального состава и биологической активности.

**Санитарно-показательные микроорганизмы** - индикаторные микроорганизмы, свидетельствующие о возможном фекальном загрязнении и потенциальной опасности присутствия в пищевых продуктах возбудителей инфекционных заболеваний.

**Симбиоз** - одна из разновидностей взаимоотношений между организмами различных биологических видов, в основе которой лежит принцип взаимной выгоды совместного сосуществования. Взаимоотношения между микроорганизмами и макроорганизмом не определяются только этими понятиями.

**Условно-патогенная микрофлора** - микроорганизмы, которые в обычных условиях обитания в организме человека или животных не вызывают инфекционного процесса, но могут стать причиной заболевания.

**Функциональные продукты питания** — продукты питания натурального или искусственного происхождения, обладающие приятным вкусом и выраженным оздоровительным эффектом для человека, удобные в использовании, предназначенные для каждодневного систематического применения и прошедшие длительные клинические испытания, имеющие подтвержденную медицинскую документацию.

Список сокращений, используемых в работе:

АК - аминокислоты

ФП – функциональные продукты питания  
ЖКТ – желудочно-кишечный тракт  
ПС – питательная среда  
L.acidophilus – Lactobacillus acidophilus  
МПА – мясопептонный агар  
ФАО – продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН (Food and Agriculture Organization – FAO)  
ВОЗ – Всемирная организация здравоохранения ООН (World Health Organization – WHO)  
Л-за – лактулоза  
Ж - жирность

## **1. ЛИТЕРАТУРНЫЙ ОБЗОР**

### **1.1 Продукты функционального назначения в питании населения.**

Полноценное и здоровое питание является одним из наиболее важных и необходимых условий для сохранения жизни и здоровья человека в детском и подростковом возрасте. В последние годы в науке о питании получило развитие новое направление - так называемое функциональное питание (ФП), интенсивно развивающееся в Японии, Англии, Германии, США и других странах. Под термином «функциональное питание» подразумевается «использование таких

продуктов естественного происхождения, основные ингредиенты которых при систематическом употреблении оказывают регулирующее действие на макроорганизм или те или иные его органы и системы, обеспечивая безмедикаментозную коррекцию их функции».

В настоящее время к основным категориям ФП принято относить:

- продукты, ферментированные лакто- и бифидобактериями;
- олигосахариды;
- пищевые волокна;
- витамины;
- антиоксиданты;
- органические кислоты;
- минеральные вещества.

Японские исследователи оценивают три основных качества функциональных продуктов: пищевая ценность, вкусовые качества и физиологическое воздействие; причём, последнее формируется введёнными в состав продукта функциональными ингредиентами. Одной из основных категорий ФП являются кисломолочные продукты, содержащие бифидобактерии. Лакто- и особенно бифидобактерии способствуют нормализации микробиоценоза кишечника и повышению иммунного статуса организма человека [1]. Олигосахариды являются высокоэффективными бифидогенными факторами, стимулирующими развитие бифидобактерий в желудочно-кишечном тракте. Пищевые волокна (пектин, целлюлоза) оказывают позитивное влияние на процессы пищеварения, а также холестерина обмен [2], снижают количество липидов и жирных кислот в крови [3], выводят из организма токсичные вещества [4]. Среди полиненасыщенных жирных кислот наиболее эффективными функциональными ингредиентами считаются омега -3- жирные кислоты: линоленовая, эйкозапентаноиковая и докозагексаноиковая, участвующие в расщеплении липопротеинов, холестерина и стимулирующие репродуктивную функцию организма [5]. Витамины А, D, группы В необходимы в процессе метаболизма. Антиоксиданты, к которым относятся βкаротин, действие, связывают активные-витамины С, Е, оказывают антиканцерогенное свободные радикалы [6]. Органические кислоты, образующиеся в процессе ферментации молочных продуктов, способствуют увеличению общей кислотности желудочного сока, активизируют действие пищеварительных ферментов, стимулируют секреторную деятельность желудочно - кишечного тракта. Так, молочная кислота, являющаяся основным продуктом молочнокислого брожения, способствует повышению усвоения организмом фосфора и кальция, а также ингибирует развитие вредных бактерий в кишечнике [7]. Минеральные вещества: кальций, калий, фосфор, натрий, йод, магний, марганец, цинк, селен, железо, фтор необходимы для нормального протекания физиологических и биохимических процессов в организме человека, функционирования нервной и сердечно - сосудистой систем, для поддержания кислотно - щелочного равновесия, обмена веществ, активирования ферментных систем [8,9].

По мнению учёных, развитие индустрии функционального питания

является самым перспективным направлением в пищевой промышленности в настоящее время, т. к. оно в наибольшей степени отвечает запросам потребителей. 7 июня 1999 г. правительством РК была одобрена «Концепция здорового образа жизни и питания», одним из принципов которой является следующий: «питание должно не только удовлетворять физиологические потребности организма человека в пищевых веществах и энергии, но и выполнять профилактические и лечебные функции». В документе прослеживается тесная связь между здоровьем, продолжительностью жизни, с одной стороны, и рациональным питанием с другой. По данным отечественных исследователей, последние годы характеризуются нарушениями в структуре питания населения Республики Казахстан, что обусловлено экономической ситуацией в стране, снижением покупательской способности. Отмечается ухудшение демографических показателей: сокращение средней продолжительности жизни, увеличение общей заболеваемости населения, повышение смертности. Среди причин смертности и потери здоровья ведущее место занимают сердечно - сосудистые, онкологические, гастроэнтерологические заболевания, развитие которых в первую очередь связано с нарушением структуры питания; у большинства населения выявлен дефицит и недостаточное потребление витаминов, макро- и микроэлементов [10].

Активизировать защитные силы организма, нормализовать обмен веществ и функции пищеварительной системы позволяет правильное, здоровое питание, являющееся в данном случае мощным профилактическим средством.

В сохранении и повышении здоровья потребителей огромную положительную роль играют кисломолочные продукты, пользующиеся большой популярностью, благодаря высокой питательной ценности и специфическим органолептическим свойствам [11].

Кисломолочные продукты содержат достаточное для полноценного питания количество незаменимых аминокислот, а также витаминов А, Д, Е; богаты солями фосфора, кальция, магния, участвующими в обмене веществ организма человека [12]. В ферментированном молоке содержание свободных аминокислот в 7-11 раз выше, чем в свежем [13]. Молочная кислота, диоксид углерода, следы алкоголя (в кефире, кумысе) оказывают сильное секреторное воздействие на пищеварительные железы, что улучшает процесс пищеварения и усвоения пищи [14]. Кисломолочные продукты обогащают желудочно-кишечный тракт молочнокислыми и др. бактериями, которые имеют способность существенно повышать иммунную активность организма, а некоторые также приживаться в кишечнике.

Следует отметить, что кальций из ферментированных молочных продуктов легче усваивается организмом человека в связи с переходом его в кислой среде в растворимое состояние и частичным высвобождением его из состава белковых молекул за счёт гидролиза белков заквасочными микроорганизмами. Регулярное потребление кальция с молоком и молочными продуктами, особенно в детском и юношеском возрасте, оказывается решающим фактором повышения прочности костной ткани и предупреждения

заболевания остеопорозом.

Таким образом, кисломолочные продукты представляют большую ценность для человека с точки зрения физиологии питания, но современные подходы к проблеме функционального питания требуют дополнительного использования при их выработке определённых видов и штаммов заквасочных и других микроорганизмов и ингредиентов состава с целью усиления функциональной направленности этих продуктов [15].

## **1.2 Современные тенденции разработки продуктов функционального назначения.**

В условиях экономической нестабильности структура питания претерпевает существенные изменения в сторону дисбаланса основных компонентов рациона. По мнению большинства зарубежных и отечественных исследователей, ошибки в структуре питания стали одной из причин развития многих тяжелых заболеваний. Так заболевания, обусловленные дисбактериозами, достигли значительных размеров среди взрослого населения и детей (в том числе в возрасте до одного года).

Возникновению кишечных дисбактериозов способствуют, помимо заболеваний органов пищеварения, длительное лечение антибиотиками, антибактериальными препаратами и другими химиопрепаратами, а также экологические и другие факторы.

При дисбактериозах наблюдается уменьшение абсолютного числа полезных микроорганизмов в желудочно-кишечном тракте и соответственно увеличения общего количества анаэробов, в том числе оказывающих токсичное действие на организм человека. Следует отметить, что снижение адаптивной мощности организма человека и его иммунитета также связывают с изменением состава микроорганизмов в ЖКТ.

Таким образом, стабильность микробных ассоциаций в кишечнике имеет чрезвычайно важное значение для жизнедеятельности «хозяина» и является показателем его здоровья. В этой связи особого внимания заслуживает вопрос о поддержании микрoэкологического равновесия в ЖКТ как важнейшего защитного фактора жизнедеятельности человека.

Именно с дефектами питания в большой степени связаны показатели здоровья населения Республики Казахстан. Поэтому многие ведущие отечественные и зарубежные нутрициологи считают наиболее быстрым, экономически приемлемым и научно-обоснованным путем решения обсуждаемой проблемы – в том числе для экономически развитых стран – широкое применение в повседневной практике питания биологически активных добавок (БАД) с пробиотическим действием.

Пробиотики являются продуктами физиологичными для человека. Передозировка их практически невозможна. В отличие от фармакопейных препаратов пробиотики в детском возрасте назначают почти в тех же дозах, что и взрослым.

К пробиотикам относят представителей нормальной микрофлоры

кишечника, молочнокислые микроорганизмы *Lactobacillus* и бифидобактерии. Их иногда называют классическими пробиотиками, которые выполняют защитную и детоксицирующую функцию в организме человека, нормализуют моторику кишечника [16].

Многочисленными исследователями установлено, что регулярное потребление в пищу пробиотических продуктов приводит к быстрому восстановлению нормофлоры в кишечнике, способствует лечению при язвенных болезнях, колитах, острых кишечных инфекциях. Особенно эффективны эти продукты для профилактики различных желудочно-кишечных заболеваний [17].

В настоящее время пробиотики получили широкое распространение и поступают к потребителю в виде фармацевтических препаратов, биологически активных добавок (БАД) к пище, а также натуральных пищевых продуктов, особое место среди которых занимают кисломолочные продукты, ферментированные пробиотическими микроорганизмами или обогащённые ими.

Систематическое употребление продуктов и препаратов с пробиотическими свойствами, которые оказывают регулирующее действие на организм или те или иные органы и системы человека, обеспечивает оздоровительный эффект без применения лекарственных средств. Достоинством пробиотиков является их безвредность для организма, практическое отсутствие побочных явлений и привыканий к ним при длительном потреблении [18].

Объемы производства пробиотических продуктов в последние годы постоянно увеличиваются. Эти продукты продвигают на рынке не только производители, но и медики, опираясь на достигнутые ранее знания о благотворном воздействии на организм пробиотиков в виде медицинских иммунобиологических препаратов и лечебных продуктов на основе монокультур. Однако таких же убедительных данных по пробиотическим продуктам пока нет. Наоборот, многие создатели пробиотических продуктов распространяют положительные эффекты штаммов-пробиотиков, полученные *in vitro* или в клинических испытаниях лечебных продуктов, на любые продукты с теми же штаммами, но с другим составом пищевой основы, в том числе при наличии в ней разнообразных заквасочных микроорганизмов. Зачастую пробиотическим продуктам просто присваивают те свойства и функции, которые выполняет в организме нормальная микрофлора кишечника, и эта информация включается в этикетки без соответствующей проверки. В результате в науке возникло направление, из-за которого в мире сейчас множество дебатов,- это сущность и оценка благотворного воздействия пробиотических продуктов на здоровье человека.

Определилась устойчивая тенденция обогащать кисломолочные продукты широким спектром специальной заквасочной микрофлоры, т. к. живые клетки этих заквасочных культур, а также продукты их метаболизма, играют очень важную роль в профилактике различных заболеваний [19,20]. Потребление таких кисломолочных продуктов способствует защите от желудочно-кишечных

инфекций, улучшению функционирования иммунной системы, снижению содержания холестерина в крови и даже защите против онкологических заболеваний, предупреждению появления атеросклероза, восстановлению нитратов в нитриты. При употреблении кисломолочных продуктов целевого назначения происходит улучшение обменных процессов в организме, восстанавливаются силы, снижается усталость. Представляет интерес использование данных продуктов даже в психотерапии [21].

Отмечая перспективность и целесообразность использования специально подобранных видов и штаммов бактериальных культур для производства функциональных кисломолочных продуктов, следует отметить, малоизученным остаётся вопрос о дополнительных функциональных свойствах микроорганизмов.

Таким образом, одним из самых ответственных этапов на пути продвижения пробиотических продуктов к потребителю становится доказательство их эффективности, которая должна быть реальной, а не декларируемой. Необходимо дальнейшее совершенствование системы, регулирующей все звенья от создания до употребления пробиотических продуктов, и единой методологии для оценки благотворного действия и квалификационных характеристик пробиотических продуктов.

Прежде всего, нужны правильно проведенные доклинические испытания. Безусловно, последние могут проводиться только при полностью решенных вопросах безопасности и допуска для производства пробиотических продуктов, штаммов продуцентов с точными таксономическими характеристиками, доказанной апатогенностью и вирулентностью и тд. Требования к штаммам должны базироваться на критериях безопасности функциональной активности и технологичности. На практике тестируется в основном такие параметры, как фенотипический профиль, резистентность к кислоте и желчи; антагонизм против патогенов; способность к симбиозу с резидентной флорой и к адгезии. Значительно реже определяются показатели, которые в большей степени характеризуют потенциальную пробиотическую активность продукция активных субстанций; иммуностимулирующий эффект *in vitro* и *in vivo*; способность размножаться и проявлять метаболическую активность в физиологическом биотопе *in vitro*, а также выдерживание при концентрации в продукте  $10^6$  -  $10^7$  КОЕ/г. [16].

В связи с природной изменчивостью микроорганизмов, проявление генномодифицированных штаммов назрела необходимость определения таксономического статуса на уровне генотипа и таких характеристик как генная стабильность, история безопасного использования (статус GRAS).

Все эти задачи должны решаться путем введения стандартного протокола исследований и регистра пробиотиков-продуцентов пищевых продуктов.

Созданные на основе отобранных штаммов пробиотические продукты наряду с доклинической проверкой должны пройти соответствующую оценку уже в готовом виде. Для надежного обоснования их положительного действия на организм, подтверждения эффективности и разработки рекомендаций рационального применения у детей и взрослых клинические исследования

также должны быть основаны на стандартизированном подходе и предусматривать три этапа:

I – Оценка переносимости и выявления возможных неожиданных эффектов в стационарных условиях на ограниченных группах людей;

II - оценка специфического ожидаемого эффекта на больших группах;

III – постмаркетинговый мониторинг по типу обратной связи уже одобренных и выпускающих продуктов.

Основные рекомендации для первых двух этапов, на которые должны быть установлены и уточнены качественные параметры пробиотических продуктов, их воздействие на кишечную микрофлору, обосновано количество на прием и сроки применения, а для лечебных продуктов – клиническая эффективность, показания и противопоказания [16].

Таким образом, можно сделать определенные выводы и определить основные тенденции и направления развития в области функционального питания вообще и в молочной промышленности в частности:

1. Ассортимент продуктов, содержащих традиционные про- и пребиотики, быстро расширяются, что свидетельствует о востребованности этой продукции;

2. Ведется активный поиск новых видов про- и пребиотиков, новых форм, сферы и способов применения уже положительно зарекомендовавших себя препаратов – в частности, в составе синбиотиков;

3. В молочной промышленности ведутся интенсивные исследования по возможности использования биологически активных растительных ингредиентов в составе молочных продуктов с целью придания им функциональных свойств, улучшения органолептических показателей повышения эффективности производства за счет замены части молочного сырья растительным;

4. Возможности генной инженерии уже сейчас позволяют направленно изменять метаболизм микроорганизмов – улучшать их технологические свойства, придавать способность синтезировать определенные биологически активные вещества – в том числе пробиотические.

С большой вероятностью можно утверждать, что в ближайшем будущем и перед молочной промышленностью встанет вопрос использования рекомбинантных микроорганизмов для производства функциональных продуктов [31].

### **1.3 Основное сырье и компоненты, используемые при производстве функциональных кисломолочных продуктов**

#### **1.3.1 Молоко – как основа кисломолочных продуктов**

Основа всех кисломолочных напитков – это молоко. Молоко — один из важнейших продуктов питания человека. Молоко и великое множество молочных продуктов вносят разнообразие в питание, улучшают вкус, повышают питательность нашей пищи и имеют огромное диетическое и

целительное значение. Академик И. П. Павлов писал, что между сортами человеческой еды в исключительном положении находится молоко... пища, приготовленная самой природой, отличающаяся легкой удобоваримостью и питательностью, по сравнению с другими видами пищи. Молоко незаменимо для питания истощенных, утомленных и ослабленных людей. Оно повышает сопротивляемость организма и нормализует обмен веществ.

Молоко – белая непрозрачная жидкость с желтоватым оттенком, сладковатого вкуса и слабого своеобразного запаха. Цвет молока в значительной степени зависит от содержания в молоке провитамина А-каротина, придающий ему желтоватый оттенок.

Плотность молока несколько выше плотность воды – 1,028-1,034, снятого – шариков размером 1-5 мкм

Состав молока и количество содержания в нем различных веществ соответствуют потребности в развитии и роста тех или иных видов животных. Установлено, что чем выше в молоке концентрация белков и минеральных веществ, тем выше скорость роста новорожденных. По концентрации белков в молоке ведется селекция одомашненных животных [32].

Основной белок молока - казеин. Он составляет 80 % общего содержания белка. 20 % приходится на сывороточные и так называемые второстепенные белки. Все они по содержанию незаменимых аминокислот относятся к полноценным.

Важно и то, что белки в молоке находятся в коллоидном растворе, благодаря чему легко поддаются воздействию ферментов в желудочно-кишечном тракте и усваиваются на 96-98 %. В природе, пожалуй, нет другого такого продукта. Ежедневное потребление 0,5 литра цельного молока или кисломолочных продуктов покрывает около 35 процентов суточной потребности человека в животном белке. Тем самым в значительной мере удовлетворяются нужды организма в незаменимых аминокислотах, которых, как правило, недостает в белках растительного происхождения [33].

### **1.3.2 Сравнительное изучение биологических свойств коровьего и козьего молока.**

Всемирное ежегодное производство молока - приблизительно 524 миллиона тонн. На долю козьего молока приходится около 1,6% от общего количества. Козье молоко и молочные продукты из него играют важную роль в питании населения развивающихся стран. Высок интерес к нему и в некоторых развитых странах, где имеется тенденция к потреблению здоровой пищи. Исследования показали, что козье молоко выгодно отличается по составу от коровьего молока; белки, лактоза и липиды легче усвояемы, к тому же, козье молоко успешно применяется как для профилактики, так и для лечения некоторых болезней.

Козье молоко относится к группе казеинсодержащих продуктов, так как в белке его содержится не менее 75% казеина. По химическому составу и некоторым свойствам оно сходно с коровьим, от овечьего отличается меньшим

количеством жира и белка. В 200 г козьего молока содержится больше, чем в том же количестве коровьего, жира - на 4,5 г, альбумина - на 1 г, казеина - на 2,7 г. Аминокислотный состав белков молока коз гораздо ближе к женскому молоку, чем к коровьему. По цвету козье молоко белее коровьего, так как бедно пигментом каротином.

Основными пищевыми веществами козьего молока, так же, как и коровьего, являются белки, жиры и углеводы. Тем не менее, несмотря на количественное сходство содержания этих веществ, их качественный состав заметно различается.

Так, например, при попадании белков молока в желудок образуется сгусток, который характеризуется степенью упругости. Чем мягче сгусток, тем лучше он поддается действию пищеварительных ферментов и легче усваивается. Для коровьего молока показатель упругости сгустка в среднем в два раза выше, чем для козьего. Белки козьего молока из-за повышенного содержания в них альбуминов свертываются в мелкие хлопья, что характерно для женского молока. Это является причиной более легкого и быстрого переваривания молока козы.

По аминокислотному составу козье молоко так же близко к женскому, поэтому его с успехом можно применять для кормления детей грудного возраста при нехватке материнского молока.

Основным углеводом молока является лактоза. Она служит источником энергии, легко усваивается и быстро вступает в обмен веществ, способствует всасыванию в тонком кишечнике фосфора, кальция, магния, витамина D. Козье молоко отличается от коровьего более высокой биологической активностью по всем критериям, в том числе и по витаминной активности. Оно на 50% больше содержит витамина B1 и на 80% витамина B2. В отличие от коровьего молока, у которого слегка кислая реакция, у козьего она отчетливо щелочная и его можно успешно использовать при повышенной кислотности желудочного сока, даже с язвой желудка.

Молочный жир находится в молоке в виде мельчайших жировых шариков. Характеристики жировых компонентов козьего молока также положительно отличают его от коровьего. Так, жировые шарики в нем в 10 раз мельче, чем в коровьем и, соответственно, имеют большую поверхность, доступную для пищеварительных ферментов, что обеспечивает более легкую усвояемость [34].

Другое важное отличие козьего молока - большое количество ненасыщенных жирных кислот - линолевой и линоленовой в его жировой фазе. А полиненасыщенные жирные кислоты, как известно, повышают устойчивость организма к инфекционным заболеваниям и нормализуют холестериновый обмен, то есть обладают противоатеросклеротическим действием. Хорошей усвояемости этих жиров способствует также присутствие в козьем молоке среднецепочечных триглицеридов - это жиры, которые имеют любопытную способность всасываться в кишечнике без участия желчи - сразу в венозную сеть, минуя лимфатические капилляры. Жир козьего молока усваивается более полно и не перегружает пищеварительную систему взрослых и детей.

Козье молоко содержит меньшее количество оротовой кислоты, что может

играть важную роль в предотвращении синдрома ожирения печени.

Содержание углеводов, а именно лактозы, в коровьем молоке выше, хотя разница небольшая. Высокая пищевая ценность козьего молока так же обусловлена повышенным содержанием в нем кальция, фосфора, калия, магния, кобальта, витаминов. А, В<sub>2</sub>, РР, С и D.

Ученые показали, что, несмотря на довольно скромное содержание в козьем молоке железа, всасывается оно в кишечнике человека значительно более эффективно, чем железо коровьего молока.

Козье молоко почти не содержит аллергенов, полезно ослабленным детям и людям, страдающим заболеваниями, связанными с нарушением обмена веществ. Оно отличается повышенными антиинфекционными, антианемическими антигеморрагическими свойствами.

Козье молоко обладает бактерицидными свойствами. В нем содержатся биологически активные вещества, благодаря которым, козье молоко долго сохраняется свежим и убивает вредную микрофлору. Оно не скиснет в течение трех дней даже при комнатной температуре, а в холодильнике храниться неделю и больше. Коза чистое животное и разборчива в еде, она выбирает только богатую питательными веществами пищу. Коза никогда не болеет туберкулезом, то есть можно спокойно пить даже сырое козье молоко, а вот сведения о том, что козьим молоком лечат туберкулез, вполне достоверны.

Многие люди в наше время страдают аллергией на пищевые продукты, сюда относятся и те, кто не может пить коровье молоко из-за реакции организма на его белок. По статистике 9 из 10 аллергиков (молочных) замечательно переносят козье молоко. В козьем молоке содержится много калия, роль которого особенно велика в деятельности сердечно-сосудистой системы. Кальций, фосфор, железо, витамины в козьем молоке находятся в хорошо усваиваемой форме.

Основные характеристики следующие:

- козье молоко более богато минеральными веществами, витаминами и микроэлементами, чем коровье
- белки козьего молока образуют менее плотный сгусток в желудке, благодаря чему легче перевариваются
- жир козьего молока практически на 100% усваивается организмом человека, т.к. жировые шарики в 10 раз меньше, чем в коровьем
- козье молоко содержит меньше лактозы, поэтому может быть рекомендовано людям с лактозной недостаточностью

Главными буферами молока являются белки и фосфаты. Хорошие буферные свойства козьего молока делают его идеальным средством для лечения желудочно-кишечных расстройств. Козьим молоком также успешно лечат заболевания щитовидной железы. Оно служит профилактическим средством против опухолей, оказывает положительный эффект при заболеваниях дыхательных путей, туберкулезе, а также при различных аллергиях [35].

Козье молоко обладает рядом выгодных преимуществ, которые позволяют эффективно использовать его в питании взрослых и детей с непереносимостью

коровьего молока и аллергией к его белкам в качестве альтернативы коровьему [36].

Химический состав молока животных очень сложный. В молоке содержатся аминокислоты, белки, углеводы, липиды, фосфатиды, стероиды, витамины, ферменты, соли, газы, вода, кальций. С технологической и экономической точки зрения молоко можно разделить на воду и сухое вещество, в которое входит молочный жир и сухой обезжиренный молочный остаток (СОМО).

Наибольший удельный вес в молоке занимает вода (85 - 89 %), которая неоднородна по физико-химическим свойствам, и роль ее неодинакова. Большая часть воды молока (83,5 - 84%) находится в свободном состоянии, т.е. в виде раствора различных органических и неорганических веществ (сахара, солей и пр.). Меньшая часть воды (3 - 3,5 %) находится в связанном состоянии за счет молекулярных сил около поверхности коллоидных частиц (белков, фосфолипидов, полисахаридов). Особая форма связанной воды - химически связанная вода. Это вода кристаллогидратов, или кристаллизационная. В молоке такая вода связана с кристаллами молочного сахара  $C_{12}H_{22}O_{11} \cdot H_2O$ .

В сухой остаток молока входят все химические составные части (липиды, белки, молочный сахар, минеральные вещества и др.), которые остаются в молоке после удаления из него влаги.

В таблице 1 представлен основной компонентный состав козьего молока. Таблица 1 - Содержание основных компонентов в козьем молоке, %

Компонент	Содержание	Суточная потребность взрослого человека (вес 65 кг),г
Вода	87,3	1975
Белки	3,2	90
Липиды	4,2	90
Углеводы	4,5	450
Зола	0,8	22,5

Из таблицы 1 видно, что литр козьего молока может удовлетворить суточную потребность взрослого человека в воде на 45%, в белках на 35, в углеводах на 10 и в минеральных веществах - на 36.

Молоко любого животного представляет собой единую полидисперсную систему. У каждого животного из большой семьи млекопитающих молоко свое, не похожее на молоко другого животного.

Химический состав молока некоторых видов животных представлен в таблице 2.

Таблица 2 - Химический состав молока различных млекопитающих, %

Животное	Содержание			
	воды	липидов	белка	лактозы

			всего	в т.ч. казеина		веществ
Корова	87,5	3,8	3,3	2,8	4,7	0,7
Коза	86,8	4,3	3,6	3	4,5	0,85
Буйволица	82,6	7,7	4,3	3,6	4,6	0,8
Кобылица	89,3	1,8	2,1	1,2	6,4	0,4
Ослица	90,1	1,4	1,9	0,7	6,2	0,45
Антилопа	77,2	10,6	7,2	6	3,9	1,1

Из таблицы 2 видно, что наибольшее содержание белка и липидов в антилопьем и овечьем молоке, минимальное содержание белка и липидов в кобыльем молоке и молоке ослиц. Наибольшим содержанием минеральных веществ отличается овечье и козье. Химический состав и свойства козьего молока в целом близки к составу и свойствам коровьего молока. Однако в козьем молоке содержание белка больше на 9%, липидов - на 12 и минеральных веществ - на 18, а содержание лактозы на 5% меньше, чем в коровьем молоке [37].

Белки молока более полноценны, чем белки мяса и рыбы, и быстрее перевариваются.

Козье молоко относится к группе казеиновых, также как и коровье, однако в козьем практически не содержится  $\beta$ -1s-казеина, который является основным источником аллергических реакций на коровье молоко, поэтому оно показано людям, страдающим аллергией на коровье молоко. Высокое содержание  $\beta$ -казеина приближает козье молоко к женскому грудному молоку. Большая часть белков козьего молока из-за повышенного содержания в них альбуминов расщепляется на составные части - свертывается в мелкие хлопья, а не всасывается в не переваренном виде, поэтому оно легче усваивается организмом, не вызывая расстройств пищеварительной системы. Молочный белок является важным защитным фактором, так как он в силу своей алектотерной природы связывает пары кислот и щелочей, а также нейтрализует ядовитые тяжелые металлы (следы) и другие вредные для здоровья вещества. Белки молочной сыворотки (лактальбумин, лактоглобулин и иммуноглобулин) имеют наивысшую скорость расщепления среди цельных белков. Степень усвоения белков молока составляет 96-98%.

Таблица 3 - Фракционный состав различных видов молока, %

Компонент	Молоко		
	Козье	Коровье	Женское
В том числе:			
$\beta_{s1}$ -казеин	0,40	0,84	0,04
$\beta_{s2}$ -казеин	0,13	0,26	-
в-казеин	2,17	0,93	0,30
к-казеин	0,14	0,37	0,12
г-казеин	-	0,12	-

Из таблицы 3 видно, что козье молоко, как и коровье относятся к казеиновым, так как в белковом составе данных продуктов содержится более 50% казеина. Соотношение казеина к общему белку в козьем молоке - 85, в коровьем - 75, а в женском - 33%. Большую часть всего казеина козьего молока (76%) составляет в-казеин, также как и в женском молоке, где он составляет 65% от общего числа казеинов, коровье молоко содержит только 32% в-казеина [38].

Содержание к-казеина в козьем молоке практически соответствует содержанию его в женском молоке, а также в козьем молоке, как и в женском отсутствует г-казеин, в отличие от коровьего, где содержание г-казеина соответствует 5% от всего количества казеина.

Электрофоретический анализ в полиакриламидном геле также подтвердил различие фракционного состава белков, в частности, большая часть сывороточных белков козьего молока относится к б-лактальбумину, а коровьего - к в-лактоглобулину [39].

Исследование аминокислотного состава выделенных фракций козьего молока позволили установить специфичность белковых оболочек жировых шариков. Характерной особенностью этих белков является высокое содержание лейцитина, глутаминовой и аспарагиновой аминокислот, необходимых для повышения степени высвобождения энкефалинов, уменьшающих боль и способствующих заживлению кожи.

Аминокислотный состав сырого козьего молока приведен в таблице 4.

Таблица 4 - Содержание незаменимых аминокислот в козьем молоке, мг/100г

Аминокислоты	Содержание	Суточная потребность человека (вес 65кг)	Аминокислотный скор
Валин	191	4000	88
Изолейцин	172	4000	105,5
Лейцин	298	6000	104
Лизин	233	5000	103,8
Метионин + цистин	100	7000	77
Триптофан	42	1000	102
Треонин	143	3000	88,3
Фенилаланин + тирозин	241	8000	98,5
Сумма незаменимых АК	1420	38000	

Из таблицы 4 видно, что в козьем молоке присутствуют все незаменимые аминокислоты, необходимые для нормального функционирования организма человека. Это значит, что белки козьего молока относятся к белкам первой

категории. При этом литр козьего молока может удовлетворить суточную потребность взрослого человека в незаменимых аминокислотах на 48%. Также из таблицы видно, что лимитирующими аминокислотами козьего молока являются метионин и цистин, т.к. их суммарный скор минимален (77%). Однако в целом аминокислотный состав белка козьего молока близок к аминокислотному составу наиболее сбалансированного идеального белка (эталону). Потенциальная биологическая ценность белка козьего молока равна 80,3%

Недостаток в пище даже одной незаменимой аминокислоты приводит к нарушению роста и общей дистрофии. Недостаточное поступление какой-либо аминокислоты проявляется также в виде заболеваний со специфическими признаками. Так, например, недостаток триптофана приводит к нарушению функций сердца и помутнению хрусталика, вследствие чего развивается катаракта. Снижение уровня метионина в организме приводит к поражению поджелудочной железы, жировой инфильтрации печени. Недостаток лизина сопровождается изменением процессов торможения в центральной нервной системе.

Следует подчеркнуть, что недостаточное поступление с пищей одной из незаменимых аминокислот ведет к неполному усвоению других аминокислот.

Аминокислотный состав сывороточных белков наиболее близок к аминокислотному составу мышечной ткани человека, а по содержанию незаменимых аминокислот и аминокислот с разветвленной цепью: валина, лейцина и изолейцина, они превосходят все остальные белки животного и растительного происхождения. Кроме того, примерно 14% белков молочной сыворотки находится в виде продуктов гидролиза (аминокислот, ди-, три- и полипептидов), которые являются инициаторами пищеварения и участвуют в синтезе большинства жизненно важных ферментов и гормонов. Также белки молочной сыворотки заметно снижают уровень холестерина в крови.

В молоке присутствуют различные группы липидов, в том числе жирные кислоты, нейтральные липиды, фосфолипиды, сфинголипиды, стероиды, простагландины.

Основными липидами молока являются триацилглицерины. Содержание нейтральных липидов в молоке может колебаться в пределах 2,8-4,5%. При этом содержание моно- и диацилглицеринов составляет около 1,2-2%. Основными фосфолипидами молока являются фосфотидилхолин и фосфотидилэтаноламин, содержание которых составляет более 60% всех фосфолипидов. При этом основная их часть входит в состав оболочки жировых шариков (60-70%). Основным стеарином молока является холестерин, который также входит в состав жировых шариков.

Жировые шарики в козьем молоке в 10 раз мельче, чем в коровьем (0.001 мм), и поэтому лучше усваиваются организмом.

Таблица 5 - Содержание липидов в козьем молоке, %

Компонент молока	Содержание	Суточная потребность человека (вес 65 кг), г

Липиды	4,2	100
В том числе:	4	95
Триглицериды		
Фосфолипиды	0,04	5
Холестерин	0,03	2

Таким образом, 95% липидов козьего молока составляют триглицериды

Из таблицы видно, что 1 литр козьего молока может восполнить 42% суточной потребности человека в липидах, 8 - в фосфолипидах, и 15 - в холестерине.

Таблица 6 - Содержание жирных кислот в липидах козьего молока

Жирные кислоты	Содержание
Сумма жирных кислот	3,98
Сумма насыщенных кислот, в т.ч	2,64

Продолжение таблицы 6

C <sub>14:0</sub> (миристиновая)	0,21
C <sub>16:0</sub> (пальмитолеиновая)	0,38
C <sub>18:0</sub> (стеариновая)	0,39
Сумма мононенасыщенных кислот, в т.ч.	1,14
C <sub>14:1</sub> (миристолеиновая)	0,03
C <sub>16:1</sub> (пальмитолеиновая)	0,1
C <sub>18:1</sub> (олеиновая)	0,93
Сумма полиненасыщенных кислот, в т.ч.	0,21
C <sub>18:2</sub> (линолевая)	0,13
C <sub>18:3</sub> (линоленовая)	0,08

Из таблицы 6 видно, что 66% всех жирных кислот в козьем молоке составляют насыщенные, 28 - мононенасыщенные и 5,7 - полиненасыщенные жирные кислоты. При этом 100г козьего молока может обеспечить организм 22% от суточной потребности в насыщенных жирных кислотах, на 7,6 - в мононенасыщенных и на 5,6 - в полиненасыщенных жирных кислотах.

А также 100г козьего молока может обеспечить организм 3,5% суточной нормы линолевой и 5,3% линоленовой кислот. Эти жирные кислоты повышают устойчивость организма к инфекционным заболеваниям и нормализуют холестериновый обмен, т.е. обладают противовоспалительным действием. Причем линолевая и линоленовая кислоты являются незаменимыми, т.к. не синтезируются в организме млекопитающих и должны поступать в организм вместе с растительной пищей.

В козьем молоке содержится 67% ненасыщенных жирных кислот, в коровьем - 61%. Эти кислоты обладают уникальной метаболической способностью препятствовать отложению холестерина в тканях организма человека.

Содержание жира в козьем молоке зависит от многих причин, например, от сезона года. В умеренном климате в конце лета в козьем молоке

зарегистрированы самые низкие показатели жира и белка и самые высокие показатели активной кислотности.

В зависимости от сезона, содержание жира в молоке может меняться на 2%, а содержание белка на 1%.

Таблица 7 - Содержание липидов и белка в козьем молоке в зависимости от сезона, %

Показатель	Сезон года		
	весна	лето	осень
Липиды	4,01±0,1	3,48±0,1	4,42±0,21
белок	3,67±0,11	3,51±0,09	3,79±0,06

Из таблицы 7 видно, что содержание белка и липидов в молоке сильно зависит от сезона. Осенью козье молоко содержит до 0,8% больше белка и до 2,1% больше липидов, по сравнению с летним периодом.

Наряду с сезонной зависимостью, на содержание жира и белка влияют и сроки лактации.

Рождение козлят и начало лактации приходятся, как правило, на начало весны. Низкий уровень жира и белка в козьем молоке в конце лета совпадает с низким уровнем, который обычно всегда наблюдается на четвертом месяце лактации.

#### *Минеральный и витаминный состав козьего молока*

Молоко содержит все необходимые для нормальной жизнедеятельности организма минеральные вещества - до 80 элементов периодической системы Менделеева. Минеральные вещества поступают в организм животного и переходят в молоко из кормов и минеральных добавок. Поэтому их количество в молоке находится в прямой зависимости от рационов кормления, окружающей среды, времени года и других факторов.

Исследование минерального состава золы молока показало наличие в ней более 50 элементов: ( Ca, P, Mg Na, Cl, K, S, Cu, Fe, Mn, Zn, Al, Si, I, Br, Mo, Cd, Pb, Co, F, Cr, Ba, Hg, Sr, Li, Sn, Se, Ni, As, Ag, Ti и др. )

Таблица 8 - Содержание макроэлементов в козьем молоке, мг/100г

Макроэлементы	Содержание	Суточная потребность взрослого человека (вес 65 кг), мг
Кальций	143	1100
Калий	145	4000
Магний	14	400
Натрий	47	5000
Фосфор	89	1000
Хлор	35	1800

Из таблицы видно, что 100 г козьего молока содержит 13% суточной нормы кальция, 3,7% суточной нормы калия, 3,5% суточной нормы магния, а

также 8,9% суточной потребности человека в фосфоре и 2% суточной потребности человека в хлоре.

Для лучшего усвоения фосфора отношение между кальцием и фосфором должно быть 1:1,5-2. Такое соотношение между этими элементами имеется в козьем молоке. Кальций и фосфор находятся в молоке в легкоусвояемой форме, а их высокое содержание в козьем молоке делает его особенно полезным для детей с признаками рахита. Микроэлементы необходимы для восстановления крови, лимфы, желудочного и кишечного сока, пота, слюны, слез и т.д. Без их участия была бы невозможна деятельность таких важных желез внутренней секреции, как щитовидная, половые и др. Недостаток в пище микроэлементов может привести к тяжелым расстройствам здоровья. Установлено, например, что медь необходима для образования гемоглобина, кобальт входит в состав витамина В<sub>12</sub>, цинк принимает участие в процессах размножения, марганец - в окислительно-восстановительных процессах и образовании витаминов С, В и D. Недостаток лития в организме ведет к психическим заболеваниям, фтор предупреждает кариес зубов. Отсутствие ванадия замедляет рост. Недостаток в пище йода вызывает тяжелое заболевание щитовидной железы. Минеральные соли поддерживают кислотно-щелочное равновесие в организме. Содержание минеральных солей в молоке сравнительно постоянно, т.к. при недостатке их в пище они переходят в молоко из костной ткани.

Таблица 9 - Содержание микроэлементов в козьем молоке, мкг/100 г

Микроэлемент	Содержание	Суточная потребность человека (вес 65 кг), мкг
Алюминий	22	40000
Железо	100	15000
Йод	2	150
Кобальт	7,4	100
Марганец	17,3	4000
Медь	20	2500
Молибден	7	270

Из таблицы 9 видно, литр козьего молоко может восполнить 0,55% суточной нормы алюминия, 0,7% суточной нормы железа, 1,33% суточной нормы йода, 7,4% суточной потребности в кобальте, 0,5% потребности в марганце, 0,8% потребности в меди и 2,7% суточной нормы молибдена.

Козье молоко, как и коровье, является бедным источником железа. Железо необходимо не только для синтеза гемоглобина крови, но и для обеспечения нормальной работы иммунной системы. У взрослых дефицит железа связывается с повышенной реакцией на охлаждение. Однако железо козьего молока усваивается намного лучше (30 %), чем железо коровьего молока (10 %), но не достигает уровня усвоения железа женского молока (50 %) В настоящее время количественно определено около 23 витаминов молока.

Таблица 10 - Содержание витаминов в козьем и коровьем молоке, мг %

Витамины	Молоко		Суточная потребность взрослого человека (вес 65 кг), мг
	Козье	коровье	
А	0,06	0,025	0,9
в-каротин	0,04	0,015	2,5

Продолжение таблицы 10

D	0,06	0,05	2,5
E	0,09	0,09	9
C	2	1,5	60
В <sub>6</sub>	0,05	0,05	5
В <sub>12</sub>	0,1	0,4	2
Биотин	0,0031	0,0032	0,07
Ниацин	0,3	0,1	17
Пантотеновая кислота	0,3	0,38	15
Рибофлавин	0,14	0,15	1,5
Тиамин	0,04	0,04	1,2
Фолацин	0,001	0,005	0,1
Холин	14,2	23,6	1000

Из таблицы 10 видно, что в козьем молоке содержится в 2,4 раза больше витамина А (влияющего на состояние кожи и глаз), в 2,7 раза больше в-каротина, в 1,2 раза больше витамина D, участвующего в регуляции фосфорно-кальциевого обмена, в 1,4 раза больше витамина С, активно участвующего в обмене веществ, в 3 раза больше ниацина, чем в коровьем молоке. Содержание рибофлавина, биотина, витамина В<sub>6</sub>, тиамин в обоих продуктах практически одинаково. В козьем молоке содержится меньше, чем в коровьем фолацина, холина и витамина В<sub>12</sub>.

Кроме того, литр козьего молока может обеспечить 6% суточной нормы витамина А, 1,6 - в-каротина, 2,4 - витамина D, 1 - витамина Е, 3,3 - витамина С, 1 - витамина В<sub>6</sub>, 5 - витамина В<sub>12</sub>, 4,42 - биотина, 1,7 - ниацина, 3,3 - тиамин, 9,3 - рибофлавина, 1 - фолацина и 1,5 - холина.

Козы обладают способностью практически на 100% превращать каротин корма в витамин А, поэтому козье молоко имеет более бледную окраску, чем коровье [38].

Козье молоко, полученное в хороших санитарных условиях, имеет прекрасные вкусовые качества без каких-либо посторонних запахов.

Можно сделать вывод о том, что козье молоко обогащает организм полноценными белками, жирами, минералами и микроэлементами, очень благотворно действует на нормализацию обмена веществ, что способствует здоровью и долголетию.

Из факторов, влияющих на состав и свойства молока, главными являются период лактации, порода, возраст и здоровье животного, условия кормления и

содержания, способ и частота доения.

Таким образом, козье молоко обладает большой биологической ценностью ввиду высокого содержания биологически активных веществ (незаменимых аминокислот, высокомолекулярных полиненасыщенных кислот, витаминов, минералов и др. веществ) [41].

### **1.3.3 Про- и пребиотики и их функциональные свойства**

Пища - главный источник поддержания жизни, она несет в организм все необходимые вещества и энергию, от ее качества и состава напрямую зависит и качество жизни. Активизировать защитные силы организма, нормализовать обмен веществ и функции пищеварительной системы позволяет правильное, здоровое питание, являющееся в данном случае мощным профилактическим средством.

Питание может называться «функциональным», если продукты, входящие в его состав положительно влияют на одну или несколько функций организма. При этом функциональное питание наряду с обычным нутритивным эффектом приводит либо к улучшению состояния здоровья, либо к снижению риска возникновения различных заболеваний [42].

Функциональное питание должно выполнять три основные функции:

- питательная функция – продукт оказывает влияние на нутритивный статус человека
- сенсорная функция – способность продукта и его ингредиентов положительно воздействовать на обонятельные, вкусовые и другие рецепторы человека
- регулирующая функция – участие в процессе регуляции процессов пищеварения функций иммунной, эндокринной, нервной и других систем организма.

Основными составляющими функционального питания являются продукты, содержащие:

- лактобактерии
- бифидобактерии;
- олигосахариды;
- пищевые волокна;
- эйкозапентаеновую кислоту;
- аминокислоты, пептиды;
- холины;
- витамины.

Таким образом, к компонентам функционального питания относятся пребиотики, пробиотики и синбиотики.

В настоящее время одним из наиболее доступных и эффективных способов экологической реабилитации являются пробиотики – продукты, биологически активные добавки и фармацевтические препараты на основе полезных микроорганизмов, прежде всего, бифидобактерий и лактобацилл, оказывающих многофакторное регулирующее и стимулирующее воздействие

на организм человека, укрепляющих иммунную систему, защищающих от болезнетворных микробов. И не случайно, согласно данным российских маркетологов, занятых анализом объемов потребления фармпрепаратов и БАД, начиная с 2000 года только два сегмента этого рынка имеют тенденцию к росту – антиканцерогенные и пробиотические препараты. Им принадлежит ведущая роль в нормализации микробиоценоза кишечника, поддержании неспецифической резистентности организма, улучшении процессов всасывания и гидролиза жиров, белкового и минерального обмена, синтезе биологически активных веществ.

Пребиотики - неперевариваемые ингредиенты пищи, стимулирующие рост и метаболическую активность одной или нескольких групп собственных бактерий (лактобактерий, бифидобактерий) в толстой кишке.

Пробиотики – живые микроорганизмы, которые, попадая в определенных количествах в желудочно-кишечный тракт при приеме пищи, оказывают благотворное влияние на здоровье человека.

Симбиотики – представляют собой сочетание пре - и пробиотиков, оказывающее положительное влияние на здоровье человека.

Пробиотики должны:

- быть изолированными от человека;
- быть полезными для организма хозяина, что подтверждено лабораторными исследованиями и клиническими испытаниями;
- быть безопасными при длительном применении;
- обладать высоким колонизирующим потенциалом (устойчивыми к низким значениям рН, желчным кислотам, антимикробным субстанциям, высокой адгезией к эпителию слизистой)
- обладать стабильными характеристиками в клиническом и технологическом плане
- при введении в больших количествах обладать минимальной способностью к транслокации во внутреннюю среду человеческого организма;
- обладать высокой скоростью роста

Наиболее часто применяемые микроорганизмы в пробиотических препаратах:

- Лактобактерии: *L. acidophilus*, *L. bulgaricus*, *L. casei*, *L. rhamnosus*, *L. brevis*, *L. celloblosus*, *L. fermentum*, *L. plantarum*
- Бифидобактерии: *B. bifidum*, *B. infantis*, *B. breve*, *B. adolescentis*, *B. longum*, *B. animalis*, *B. thermophilum*

Синтетическим пребиотиком является лактулоза. В тонкой кишке отсутствует дисахаридаза для ее гидролиза, в связи с чем лактулоза попадает в толстую кишку практически в неизменном виде, где толстой кишке бактериальными дисахаридазами осуществляется ее гидролиз до моносахаров и короткоцепочечных жирных кислот.

Под действием лактулозы:

- снижается внутрикишечный уровень рН,

- повышается осмотическое давление кишечного содержимого, что приводит к задержке в нем жидкости,
- активизируется перистальтика,
- происходит увеличение сахаролитической микрофлоры кишечника.

Лактулоза широко используется как профилактическое и терапевтическое средство при ряде заболеваний, особенно в случаях формирования дисбиотических явлений. Она считается классическим средством воздействия на метаболизм микрофлоры кишечника. Механизм действия лактулозы базируется на современных представлениях о роли бифидобактерий в сохранении здоровья человека. Лактулоза подвергается метаболизму не только бифидобактериями, но молочнокислыми бактериями. Это приводит к снижению активности образования аммиака из аминокислот и мочевины, а также уменьшается всасываемость его в кровь, в результате перехода в ионизированную аммонийную форму.

Выявлена перспективность применения лактулозы для профилактики и лечения алкогольных, медикоментозных и других поражений пищеварительного тракта и гепатобилиарной системы. Результаты исследований позволили рекомендовать применение концентратов лактулозы в различных отраслях пищевой промышленности, особенности в производстве детского и геродиетического питания.

На основании медико-биологических исследований и функционально-технологических свойств концентратов лактулозы созданы ряд пищевых продуктов нового поколения, удовлетворяющие не только физиологическим потребностям организма, но и способствующие оптимизации состава микробиологического пула. В первую очередь это продукты детского питания, молочно-белковые пасты, кисломолочные напитки, хлебобулочные изделия, безалкогольные и алкогольные напитки, пищевые добавки и лечебные препараты, а также бифидогенные кормовые средства для молодняка сельскохозяйственных животных.

Пищевые продукты, обогащенные лактулозой впервые появились в Японии в 80-х годах прошлого века. Лактоза обладает способностью адсорбировать запахи и ароматы, что позволяет использовать ее при производстве вкусоароматических добавок. Применение таких добавок даст возможность стабилизировать цвет и сохранить его при хранении, улучшить вкусоароматические характеристики и снизить себестоимость готовой продукции.

Дисахарид лактулоза, состоящий из остатков молекул галактозы и фруктозы, образуется при щелочной изомеризации лактозы. Лактулоза не переваривается в верхнем отделе желудочно-кишечного тракта, а проходит в толстый кишечник, где используется для развития бифидобактерий. Кристаллическая лактулоза представляет собой белый порошок. Она в два раза слаще лактозы, очень хорошо растворима в воде. Кристаллизация лактулозы весьма затруднительна, поэтому она обычно применяется в виде сиропа.

Лечебно-профилактические свойства лактулозы:

- стимулирует рост полезной микрофлоры;

- угнетает развитие патогенных бактерий;
- защищает от кишечных инфекций;
- способствует синтезу витаминов и усвоению минералов;
- ликвидирует запоры;
- оказывает противодиабетический эффект
- снижает уровень холестерина в крови;
- предупреждает образование камней в печени;
- излечивает пародонтоз;
- эффективна для детоксикации при заболеваниях печени и почек.

Лактулоза относится к классу веществ пребиотиков, то есть она:

- не расщепляется пищеварительными ферментами в верхних отделах желудочно-кишечного тракта (ЖКТ);
- в неизменном виде достигает нижних отделов ЖКТ (толстой кишки);
- избирательно стимулирует рост и развитие защитной (полезной) микрофлоры кишечника - бифидобактерий, лактобактерий и проч.

Уникальные свойства лактозы обусловили ее широкое применение. Основной областью применения лактозы в нашей стране является использование ее для производства продуктов детского питания и заменителей женского молока

Кисломолочные продукты относятся к продуктам с пробиотической активностью. Они обладают противомикробными свойствами. В молочнокислых напитках содержатся минеральные вещества (кальций, фосфор, железо), витамины (А, В, РР, провитамин А - каротин). В диетическом отношении все молочнокислые напитки отличаются хорошей усвояемостью белков и высокой биологической активностью. Они богаче натурального молока витаминами группы В, обладают выраженным антибактериальным действием, реже дают аллергические реакции. Расщепление белка молока идет медленнее, чем мелких и нежных хлопьев молочнокислых напитков. Один миллилитр свежего молока содержит лишь десятки тысяч микроорганизмов, а в таком же объеме кислого молока их не менее ста миллионов. Размножаясь и погибая в огромных количествах, они обогащают молочнокислые напитки полноценным белком. Молочная кислота и небольшое количество алкоголя (около 0,6 г %) повышают желудочную секрецию [43, 44].

Для приготовления кисломолочных продуктов применяются различные молочнокислые бактерии. В последнее время все больше используют ацидофильные микроорганизмы, обладающие высокой активностью по отношению к болезнетворным микробам. Ацидофильная палочка, которая используется для изготовления ацидофилина и других ацидофильных напитков, — одна из разновидностей молочнокислых бактерий. Она не разрушается под действием пищеварительных соков, лучше, чем другие молочнокислые бактерии приживается в толстых кишках человека, а продукты ее жизнедеятельности обладают широким бактерицидным действием. Оказалось, что выделяемые ею антибиотики: низин, лизин, лакталин, никозин и др. подавляют возбудителей туберкулеза, пневмонии, дифтерии, дизентерии и других болезней. Ацидофильная палочка, став постоянным обитателем

кишечника, улучшит кишечную микрофлору, от чего во многом зависят процессы пищеварения.

В процессе метаболизма лактобактерии продуцируют молочную кислоту, образование которой в настоящее время не расценивается, как единственный критерий антагонистической активности лактобацилл. Лактобактерии образуют антибиотикоподобные субстанции (бактериоцины), что обеспечивает их антибактериальный эффект по отношению к представителям патогенной и условно-патогенной флоры [45].

#### **1.4 Особенности бактериального препарата «Наринэ»**

Одной из важнейших систем поддержания и сохранения гомеостаза организма является его нормальная микрофлора, населяющая желудочно-кишечный тракт, мочеполовую систему, кожные покровы. Она оказывает многоплановое влияние на защитные, адаптационные и обменно-трофические механизмы организма, а ее нарушения под влиянием факторов эндогенной или экзогенной природы могут привести к утрате или искажению этих функций, которые влекут за собой проявления дисбактериоза – изменения качественного и количественного состава микрофлоры организма. Спектр клинических синдромов и патологических состояний, патогенез которых связан с дисбактериозом, в настоящее время очень широк и имеет тенденцию к увеличению.

На сегодняшний день на рынке представлено множество разнообразных продуктов питания. Такое изобилие подчас приводит потребителя в замешательство перед необходимостью выбора. Между тем, покупатель хочет видеть в пище не только источник энергии, но и залог здоровья и продления активного периода жизни. Здоровое питание становится особенно важным в условиях напряженного ритма работы и учебы, связанных с этим стрессов и эмоциональных нагрузок, которые приводят к ослаблению и снижению защитных функций организма.

В настоящее время во многих странах активно развивается производство продуктов функционального назначения, т. е. продуктов сохраняющих и улучшающих здоровье за счет введения в их состав физиологически функциональных пищевых ингредиентов. При этом, мы часто забываем, что самые уникальные продукты – это продукты, созданные природой [46].

Самыми молодыми представителями семейства кисломолочных напитков являются ацидофилин, ацидофильная паста, ацидофильное молоко и другие, заквашенные специфическими микроорганизмами. Если в свежее молоко ввести закваску из чистой культуры ацидофильных бактерий и все это выдержать в определенных условиях необходимое время, получится молочнокислый ацидофильный напиток. В 100 г этого продукта содержится 100 миллиардов полезных микроорганизмов [47].

В группе молочнокислых напитков наиболее ярким и выраженным профилактическим и лечебным действием обладает недавно разработанный и предложенный к практическому использованию продукт «Наринэ».

Преимуществом последнего является простота его приготовления в домашних условиях, хорошая переносимость, возможность постоянного введения в пищевой рацион и невысокая цена. Последний факт в наше нестабильное время имеет не последнее значение [33].

«Наринэ» представляет собой кисломолочный продукт, приготовленный из живых молочнокислых бактерии *Lactobacillus acidophilus* Er 317/402 (авторское свидетельство СССР № 163473 от 07.04. 1964 г).

«Наринэ» нормализует микрофлору кишечника. Имеет высокую антагонистическую активность в отношении широкого круга патогенных и условно-патогенных микроорганизмов (возбудителей дизентерии, сальмонеллеза, патогенной кишечной палочки, стрептококков, стафилококков, протей и др.), улучшает усвоение железа, кальция и других микроэлементов, нормализует уровень гемоглобина и обменные процессы, повышает устойчивость к инфекционным, токсическим и другим неблагоприятным факторам.

«Наринэ» – биологически активная добавка для профилактики и лечения дисбактериоза и его последствий; ацидофильная форма лактобактерина, источник пробиотических микроорганизмов. Используется для изготовления закваски и кисломолочного продукта для детского и лечебного питания. Применяется как самостоятельный продукт, так и в комплексе с другими средствами при дисбактериозе кишечника, в т.ч. после применения антибиотиков, при энтероколитах, кишечных инфекциях, аллергодерматозах, экземах и др. Кисломолочный продукт может применяться в качестве заменителя материнского молока или дополнительного питания для детей грудного возраста. Применяется также местно.

Лактобактерии содержащиеся в кисломолочном лечебном продукте «Наринэ», хорошо приживаются в кишечнике и устойчивы к действию многих антибиотиков и химиотерапевтических препаратов. Они обладают выраженной антагонистической активностью в отношении широкого круга патогенных и условно-патогенных микроорганизмов (возбудителей дизентерии брюшного тифа сальмонеллеза патогенных кишечных палочек стрептококков стафилококков протей и др.) вытесняя их из кишечника и способствуя тем самым восстановлению его нарушенной микрофлоры. Улучшают усвоение железа кальция других микроэлементов нормализуют уровень гемоглобина и обменные процессы в организме. Повышают устойчивость организма к инфекционным токсическим и др. агентам. Обладают радиопротекторным и адаптогенным эффектом.

Микробной флора в закваске должна содержать в себе количество жизнеспособных клеток ацидофильных бактерий в  $1 \text{ г/см}^3$  не менее  $1 \times 10^8$  в жидкой закваске и  $1 \times 10^7$  в лиофилизированном виде. Ацидофильные бактерии представляют из себя грамположительные неподвижные палочковидной формы клетки длиной от 4 до 30 мк, шириной от 0,5 до 1,0 мк. В закваске отсутствуют бактерии кишечной палочки, патогенные микроорганизмы, в том числе сальмонеллы, стафилококки и другие. Кроме того, в закваске нет никаких дополнительных примесей.

Хранение продукта должно осуществляться при температуре от 2°С и до 6°С и относительной влажности воздуха не более 80%. На каждой пачке и каждом флакончике указывается наименование препарата, фирма-изготовитель, номер серии, а также срок годности закваски. Закваска может быть использована в сухом лиофилизированном виде 2 года, в жидком - до 15 суток.

Молочнокислый напиток «Наринэ» готовится заквашиванием натурального молока особым штаммом ацидофильных бактерий.

Молоко должно быть цельным, восстановленным или приготовленным из сухого (6 столовых ложек сухого молока на 1 литр воды), жирность молока должна быть минимальна. Вкус свежего молока приятный, слегка сладковатый, цвет его желтовато-белый. Молоко обладает специфическим запахом, который хорошо ощущается при открывании сосуда (бутылка, пакет, фляга). Консистенция молока жидкая, однородная, при нагревании молоко становится более жидким, при охлаждении уплотняется [48].

Кисломолочный напиток «Наринэ» является эффективным оздоравливающим профилактическим средством широкого спектра действия и используется для профилактики и реабилитации здоровья в любом возрасте как фоновая терапия, бактерио- и антибиотикотерапия при любых заболеваниях.

Молочнокислые лактобактерии «Наринэ» играют важнейшую роль в нормализации жизнедеятельности организма и в любом виде используются для избавления от дисбактериоза и всех его последствий, в т.ч. вторичных иммунодефицитов и синдрома хронической усталости.

Бактерии «Наринэ» очень выносливы, отлично приживаются в кишечнике и устойчивы к действию многих антибиотиков, химиотерапевтических препаратов. Они обладают высокой антагонистической активностью в отношении широкого круга патогенных и условно-патогенных микроорганизмов (возбудителей дизентерии, брюшного тифа, сальмонеллёза, патогенных кишечных палочек, стрептококков, стафилококков, протей, и др.) вытесняют их из кишечника и восстанавливают собственную нормальную микрофлору (бифидум и лактобактерии) и моторику кишечника, нормализуют деятельность желудочно-кишечного тракта при любой этиологии.

Бактерии «Наринэ» вырабатывают и выделяют ряд жизненно важных аминокислот, ферментов, способствующих перевариванию и усвоению жиров, белков, углеводов, обладают высокой витаминообразующей способностью, синтезируют в организме до 70% витаминов (В1, В12, С, Е, Р, никотиновую и фолиевую кислоту, биотин, тиамин, рибофлавин); из молочного жира синтезируют лецитин, предохраняющий печень от лишнего жира; обогащают молоко органическими кислотами, повышают усвоение кальция, железа и др. микроэлементов; нормализуют уровень гемоглобина и количество лейкоцитов в крови и уменьшают лейкоцитарную интоксикацию; способствуют восстановлению обмена веществ, повышают устойчивость организма к инфекциям, токсическим и др. агентам; обладают радиопротекторным и адаптогенным эффектом.

«Наринэ» обладает комплексным противовоспалительным действием, активизирует процесс очищения организма, нейтрализует побочные действия

пищевых и лекарственных веществ, антибиотиков, стимулирует выработку собственного интерферона, который является определяющим фактором в противовирусной и противораковой защите, восстанавливает иммунную систему организма, сам продуцирует значительное количество безвредных, но сильнодействующих антибиотических веществ, сочетается с любыми медицинскими препаратами и пищевыми продуктами; устраняет синдром хронической усталости, оказывают омолаживающий эффект и улучшает качество жизни.

«Наринэ» положительно воздействует на энергоинформационную систему человека, на функциональное состояние всех органов и систем, нормализуя психоэмоциональный статус; эффективен при ранних стадиях атеросклероза, существенно улучшает деятельность нервной и сердечно-сосудистой систем (центральной, гуморальной и вегетативной регуляции) за счет уменьшения интоксикации продуктами жизнедеятельности патогенной микрофлоры.

Лактобактерии «Наринэ» обладают лимфотропными свойствами, стимулируют лимфатический аппарат кишечника, повышая активность гуморального и клеточного иммунитета, что очень важно при профилактике и лечении иммунологической недостаточности, аллергии и иммунопатологии.

«Наринэ» - дополнительное оздоравливающее питание для новорожденных детей с первых дней жизни (особенно недоношенных и ослабленных), а также при аллергических заболеваниях (диатезе, бронхиальной астме, различных поражениях кожи, слизистых и т.д.) [49].

#### **Преимущества штамма «Наринэ»**

Чем же отличается этот штамм от других ранее известных штаммов?

1. Обладает ярко выраженными адгезивными свойствами, обладает высокой приживаемостью и надолго задерживается в кишечнике (две недели)
2. Обладает высокой желче-, кислотоустойчивостью (РН=2,0)
3. Обладает высокой устойчивостью к антибиотикам
4. Обладает высокой антибактериальной, антибиотической и противогрибковой активностью
5. Зоны просветления на тестовые культуры (зоны подавления роста) сильно выражены (например, к *Staph. aureus*, *Proteus*, *E. coli*)
6. При микробиологическом исследовании при РН= 3,0 рост бактерии «Наринэ» очень активный по сравнению с другими пробиотиками.

#### **Механизмы биологической активности «Наринэ»**

1. Нормализатор микробного биоценоза кишечника.

“Наринэ” нормализует микробный биоценоз в кишечнике, в укороченные сроки восстанавливает анаэробную флору (бифидумбактерии и лактобактерии), подавляет рост условно – патогенной флоры, повышает активность нормальной кишечной палочки.

2. Обладает высокой антибактериальной, антибиотической активностью и противогрибковой активностью.

Благодаря способности образовывать молочную кислоту в процессе брожения, а также продуцировать лектолин, лактоцидин, ацидофиллин, лактобактерии «Наринэ» обладают высокой антибактериальной активностью. Так, в эксперименте показана их способность подавлять рост гнилостных и гноеродных микроорганизмов: *Pseudomonas*, *E. coli*, *Kl. pneumonia*, *Proteus Mirabilis*, *S. enteridis*, *S. gallinarum*, *S. cholerae suis*, *S. Typhimurium*, *Shigella Serrata marcences*, стафилококков, L – форм стрептококков, *Candida albicans*. Обладая слабовыраженными антигенными свойствами, лактобациллы способны вступать в тесный контакт со слизистой кишечника и предохранять ее от возможного внедрения патогенной флоры.

### 3. Иммуномодулятор.

Исследования последних лет показали способность препарата «Наринэ» стимулировать выработку  $\alpha$  - и  $\gamma$  - интерферона и повышать активность натуральных киллеров. In vitro доказана выработка интерферона под действием «Наринэ». «Наринэ» был добавлен на кровяную и лимфатическую культуру и было выявлено прямое индуцирование интерферона под действием «Наринэ»

4. Стимулирует синтез в организме витаминов и молочной кислоты

5. Обеспечивает усвоение кальция, фосфора, витаминов, белков, углеводов

6. Нейтрализует токсичные продукты метаболизма.

Молочнокислые бактерии и продукты их жизнедеятельности нейтрализуют токсичные продукты метаболизма (индол, скатол) и быстро выводят их из организма.

### 7. Заменитель материнского молока.

Из сухого порошка «Наринэ» можно получить молочнокислую смесь «Наринэ», которая может служить заменителем материнского молока, поскольку является легкоусвояемым продуктом, содержит большое количество витаминов, минералов, белков, жиров и углеводов. В 1 литре молочнокислой смеси «Наринэ», приготовленной из цельного молока, содержится от 30г до 45г молочного жира с определенным количеством лецитина, обладающего бактерицидными свойствами, от 27г до 37г различных белков (казеин, альбумин, глобулин). Белковые вещества молока богаты жизненно важными аминокислотами, в том числе лизином и метионином. Ценное физиологическое значение метионина заключается в том, что он способствует обезвреживанию и выводу из организма пиридиновых и прочих циклических соединений. «Наринэ» богат витаминами группы В, ароматическими веществами, благодаря чему и является биологически полноценным пищевым продуктом для детей и взрослых.

8. Молочнокислые бактерии характеризуются устойчивостью к действию антибиотиков и других химиотерапевтических препаратов, а также высокой приживаемостью в ЖКТ [50].

### **Показания к применению**

СБК «Наринэ» и приготовленный на его основе кисломолочный продукт «Наринэ» рекомендуется:

1. Детям с 6-ти месяцев в жидкой форме в качестве прикорма;

2. При кишечных инфекциях (колибактериоз, сальмонеллёз, дизентерия)

3. Клебсиеллёз, иерсиниоз, стафилококковые инфекции, и т.п.);
4. При различных формах дисбактериоза;
5. Во время и после применения антибиотиков;
6. Для очищения организма от ядов и шлаков;
7. При преждевременном старении общем дискомфорте после длительных стрессовых ситуаций;
8. Для нормализации деятельности кишечника (запоры, поносы и т. п.)
9. Как иммуностимулятор при вирусных и соматических заболеваниях;
10. При лечении последствий лучевых поражений, отравлений тяжелыми металлами и промышленными ядами;
11. При *Helicobacter pylori*-ассоциированных патологиях (хронический гастрит В-типа, язвенная болезнь)
12. При патологиях печени
13. При хроническом панкреатите
14. При гастроэзофагеальной рефлюксной болезни
15. При аллергиях
16. При лечении гинекологических заболеваний,
17. Для профилактики трещин сосков и омфалита
18. Для санации носовой полости новорожденных

#### **Побочные эффекты**

Побочные эффекты при применении пробиотика «Наринэ» не отмечены.

#### **Противопоказания**

Абсолютных противопоказаний нет.

#### **Сравнительная характеристика «Наринэ» и других видов ферментативного молока.**

Есть несколько форм ферментативного молока, таких как мацун, кефир и другие такие как «Наринэ» на Кавказе – регионе, который известен своими долгожителями в СССР.

Основные суммарные характеристики их следующие:

1. «Наринэ» выдается новорожденному ребенку в качестве замены материнского молока, а также при кормлении недоношенных детей. Мацун и кефир эти функции не выполняют.
2. «Наринэ» имеет высокую способность стимуляции синтеза в организме витаминов и молочной кислоты, в результате их быструю усвояемость из кишечника. Мацун и кефир не обладают этими свойствами.
3. «Наринэ» бактерии приживаются в кишечнике человека на долгое время, а бактерии мацуна и кефира в кишечнике долго не задерживаются. Этим объясняется длительный лечебный эффект «Наринэ»
4. Бактерии «Наринэ» не разрушаются под воздействием антибиотиков и химиопрепаратов, поэтому могут быть использованы в сочетании с ними.
5. Бактерицидный эффект «Наринэ» в 1,5-2раз дольше, чем мацуна и кефира. Поэтому «Наринэ» применяется в терапии многих заболеваний в отличие от мацуна и кефира.

Клинические испытания подтвердили эффективность «Наринэ» при коррекции микрофлоры кишечника у лиц подвергшихся воздействию

ионизирующей радиации. Положительные результаты получены при лечении сахарного диабета, аллергии (в частности к антибиотикам), парадантозе, гинекологических заболеваний, а также органов мочеполовой системы. Эффективно применение «Наринэ» в качестве общеукрепляющего профилактического средства для взрослых на предприятиях с вредными условиями труда.

Бактерии данного штамма являются киллерами всех без исключения дизентерие-подобных бактерий.

Положительные результаты получены при лечении сахарного диабета, аллергии (в частности к антибиотикам), парадантоза, гинекологических заболеваний. Эффективное применение «Наринэ» в качестве общеукрепляющего профилактического средства для взрослых на предприятиях с вредными условиями труда.

«Наринэ» может использоваться как самостоятельное лечебное средство, так и в комплексе с другими антибиотическими и химиотерапевтическими препаратами. Противопоказаний к применению закваски «Наринэ» и ферментированного молока не обнаружено.

Отдел здравоохранения Одессы дал рекомендации в профилактических целях для оздоровления детей, посещающих детские дошкольные учреждения, школы, интернаты, использовать в пищу молочнокислый напиток «Наринэ».

Кисломолочный лечебный продукт «Наринэ» разрешен к применению Государственным комитетом санитарно-эпидемиологического надзора Российской Федерации, рекомендован Институтом питания РАМН, одобрен Всемирной Организацией Здравоохранения [51]. .

Итак, резюмируя все вышеизложенное, следует подчеркнуть, что «Наринэ» рекомендуется широко использовать как профилактическое и лечебное средство.

#### **1.4.1 Исследования в области применения препарата «Наринэ»**

Исходя из вышеуказанных механизмов биологического действия ацидофильных лактобактерий, врачами и учеными в различных клиниках и научно-исследовательских центрах были проведены многочисленные многопрофильные клиничко-лабораторные исследования, результаты которых подтвердили эффективность препарата «Наринэ» при лечении и профилактике ряда заболеваний.

В Семипалатинской государственной медицинской академии и Павлодарском центре клинической иммунологии и репродукции (Республика Казахстан) предложена программа восстановления слизистой и тонкой кишки препаратом «Наринэ» и отваром овса. После saniрующих мероприятий и у больных, получавших много антибиотиков, требуется восстановление сурфактанта слизистой и нормальной микрофлоры. 50% питательных веществ для тонкой кишки и более 80% для толстой кишки поступает из их просвета. В течение одной недели голодания атрофируется слизистая толстой кишки. Одновременно активируются потенциально патогенные микроорганизмы. Если

питание состоит из простых углеводов, пептидов, аминокислот, жирных кислот, то ее большая часть всасывается в верхних отделах желудочно-кишечного тракта. Это также ведет к атрофии слизистой, но не так быстро, как при голодании. Назначение сложных волокон и белков предопределяет состояние нижних отделов желудочно-кишечного тракта. Нормальная флора толстой кишки их ферментирует с выработкой необходимых питательных веществ, например, аминокислот (аргинин, глутамин). В качестве субстрата для ферментации лучше всего подходит овес, поскольку он содержит в 100 раз больше мембранных липидов, чем любая другая пища. Мембранные липиды составляют основу сурфактанта - защитного слоя, покрывающего слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта.

Лактобактерии, употребляемые одновременно с овсом, подавляют потенциально патогенную флору и способствуют развитию нормальной флоры желудочно-кишечного тракта. Нормальная флора улучшает ферментацию, образование сурфактанта и способствует лучшей защите слизистой кишки. Результаты исследований подтверждены многочисленными экспериментальными моделями и в клинических испытаниях.

Зерна овса содержат жир (6-9%), крахмал (44-60%), белки (13-16%), ферменты, витамины групп В, РР, Е, А, глутамин, холин, тирозин, эфирное масло, минеральные соли - фосфорные, кальциевые и др. Аминокислотный состав овсяной крупы является наиболее близким к мышечному белку, что делает ее особенно ценным продуктом. Овес способствует выведению лишнего холестерина из организма.

Смесь овса и лечебного продукта «Наринэ» рекомендуется при желудочно-кишечных заболеваниях, истощении, снижении аппетита, тиреотоксикозе, заболеваниях почек, ожирении, атеросклерозе, сахарном диабете, хроническом гепатите и панкреатите, после инфекционных заболеваний, гриппа, простуд. Средство полезно выздоравливающим после тяжелых заболеваний, гипотоникам, при аменорее и дисменорее. Как дополнительное лечение рекомендуется при неврастении и бессоннице, от интенсивной умственной работы.

Поскольку «Наринэ» был способен лизировать патогенные бактерии и грибы, стимулируя нормальную микрофлору к развитию, его стало возможным назначать вслепую без трудоемкого предварительного обследования.

Новорожденные, питающиеся «Наринэ», увеличивают свой вес по сравнению с первоначальным к концу первого месяца жизни более гарантированно, чем при питании только грудным молоком.

По сравнению с коровьим молоком в «Наринэ» повышается содержание витаминов: фолиевой кислоты на 66%, тиамин (витамина В1) на 45-72%, рибофлавин (витамина В6) на 11-32%., свободных аминокислот в 2-4 раза.

«Наринэ» используется для кормления детей, для лечения и профилактики разнообразных желудочно-кишечных заболеваний, таких как дисбактериоз, диспепсия, сальмонеллез, брюшной тиф, дизентерия, стафилококковая инфекция, синдром раздраженной толстой кишки, спастический и атонический запор, функциональная диарея, острые и

хронические колиты, неспецифический язвенный колит и другие. Даже при непереносимости коровьего молока, кисломолочный продукт «Наринэ» может быть применен в качестве заменителя материнского молока, а также в качестве дополнительного питания для детей грудного возраста и старших возрастных групп, в том числе детей недоношенных, ослабленных, с пониженным содержанием гемоглобина в крови, имеющих гипотрофию, рахит, рожденных от матерей с отрицательным резус-фактором. Поскольку «Наринэ» лечит дисбактериоз, который встречается у 85% населения, то его употребление необходимо практически всем, учитывая и другие положительные свойства продукта. «Наринэ» эффективнее и быстрее других аналогичных препаратов нормализует микробный биоценоз кишечника, восстанавливает в более короткие сроки анаэробную флору (бифидобактерии и лактобактерии), подавляет рост патогенной и условно-патогенной флоры (сальмонеллы, шигеллы, стафилококки, энтеропатогенные эшерихии, клебсиеллы, энтеробактер, цитробактер, протей, грибы, лактозодефектные и гемолитические формы кишечной палочки), повышает активность нормальной кишечной палочки, обладает высокой антагонистической активностью в отношении грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов. «Наринэ» обладает достаточной устойчивостью в отношении антибиотиков, поэтому он не только снимает побочные эффекты антибиотикотерапии, но и усиливает лечебное действие антибиотиков.

При употреблении «Наринэ» улучшается общее состояние, отмечается нормализация функции желудочно-кишечного тракта, у детей наблюдается четкая прибавка в весе и росте. Назначение молока «Наринэ» сокращает сроки антибиотикотерапии и сроки лечения. Кроме того, «Наринэ» повышает усвоение железа, кальция, стимулирует витаминсинтезирующую функцию кишечной микрофлоры.

«Наринэ» обеспечивает уменьшение частоты послеоперационных гнойно-воспалительных осложнений (нагноение лапаротомной раны, недостаточность анастомоза, ограниченный перитонит, параколостомические абсцессы, нагноение промежностной раны и т.д.).

В настоящее время кисломолочный продукт «Наринэ» находит широкое применение при лечении различных гнойных и воспалительных заболеваний у детей и взрослых: стафилококковых инфекций, фурункулеза, маститов, гинекологических и урологических заболеваний.

«Наринэ» обеспечивает нормальную антигенную стимуляцию лимфатического аппарата кишечника, что необходимо для нормальной дифференцировки иммунокомпетентных клеток, лечения и профилактики иммунологической недостаточности, аллергии и иммунопатологии. Прием «Наринэ» обеспечивает своевременное проведение прививок, повышает их эффективность и снижает вероятность осложнений вакцинопрофилактики. Отмечен положительный эффект у больных аллергией, в частности, при непереносимости антибиотиков, у больных бронхиальной астмой. Положительные результаты получены при лечении различных воспалительных заболеваний различных локализаций: желудочно-кишечного тракта, полости

рта, органов дыхания, половой сферы и т.д.

«Наринэ» оказывает иммуностимулирующее, иммунокорректирующее и противовоспалительное действие, обладает радиопротекторными свойствами, подавляет гнилостные процессы в кишечнике, нормализует цитотоксическую активность естественных киллеров, ответственных за противоопухолевую защиту.

Эффект от лечения у большинства больных наблюдается на 5 - 15 день приема «Наринэ», реже на 25 день и позже. Коррекция дисбактериоза совпадает с положительной динамикой клинических и лабораторных данных, результатами эндоскопического обследования. Хорошо зарекомендовал себя продукт «Наринэ» в качестве массового общеукрепляющего профилактического средства для взрослых на предприятиях с вредными условиями труда. Может применяться напиток «Наринэ» и в широкой потребительской сети. Например, кефир, по сравнению с кисломолочным продуктом «Наринэ», имеет низкие лечебно-профилактические свойства, являясь, по существу, только продуктом питания. Дрожжевые грибки, стрептококки, содержащиеся в распространенных кисломолочных продуктах, не могут способствовать выздоровлению больных с хронической стрептококковой инфекцией (хронический тонзиллит, рецидивирующая рожа, стрептодермия, ревматизм и т.д.), а у лиц, страдающих экземой, экссудативно-катаральным диатезом их прием может вызвать ухудшение состояния, усиление зуда, если данные заболевания связаны с аллергией к стрептококкам. Больной не переносит не кисломолочный продукт, а стрептококк в нем. На прием «Наринэ» аллергической реакции не отмечается.

«Наринэ» используется как самостоятельное лечебно-профилактическое, так и с другими антибиотическими и химиотерапевтическими препаратами. В последнем случае, «Наринэ» препятствует заселению кишечника условно-патогенной микрофлорой, предотвращая побочные эффекты антибиотикотерапии и химиотерапии. В большинстве случаев назначение «Наринэ» позволяет избежать, казалось бы неизбежного применения антибиотиков у часто и длительно болеющих.

Продукт принимается внутрь. Курс лечения - 10-25 дней, но возможно и более длительное его употребление. При хронических формах желудочно-кишечных заболеваний курс лечения необходимо повторить 2-3 раза. При одновременном назначении антибиотиков или химиопрепаратов «Наринэ» дается за 2 часа до или после приема антибактериальных средств. «Наринэ» назначают: детям до 1 года-5-7 раз в суточной дозе 0.3-1 литр, детям от 1 до 5 лет-5-6 раз в суточной дозе- 1-1,2 литра, старше 5 лет - 4-6 раз в суточной дозе 1-1,5 литра, взрослым - 4-6 раз в суточной дозе 1-1.5 литра. В тяжелых случаях, когда больной не в состоянии принимать сразу большие дозы продукта, рекомендуется давать суточную дозу «Наринэ» чаще и малыми порциями. «Наринэ» после оздоровления может приниматься и как профилактическое средство с перерывами и без них - дозах 0,2-1 литр.

Целесообразно при коррекции дисбактериоза в первые 2-4 суток, кроме кисломолочного продукта «Наринэ» другой пищи не принимать (исключение

могут составить дети, кормящиеся грудью), а в последующие сутки ежедневная норма молока «Наринэ» может быть постепенно уменьшена с включением в питание других продуктов. Вышеуказанные дозы принимаются в первые дни, в последующем дозы могут быть уменьшены с постепенным переходом на прием «Наринэ» в дозах, аналогичных другим кисломолочным продуктам. Можно рекомендовать 1 день в неделю устраивать «кефирные» дни, принимая только «Наринэ». В другое время, «Наринэ» также целесообразно не смешивать с другими продуктами, принимая его в перерывах между приемами пищи, утром натощак, на ночь, так как разведение препарата снижает его эффективность. «Наринэ» еще способно лизировать стафилококк в разведении 1:2.

Грудным детям с 3-10 дня жизни в качестве питания при каждом кормлении следует давать по 20-30 мл «Наринэ» с постепенным увеличением дозировки. В возрасте 1 месяца при каждом кормлении ребенку можно давать до 120-150 мл кисломолочного продукта «Наринэ», если при этом грудь не дается. Продукт назначается несколько раз в сутки, при этом либо чередуется с другим детским питанием, либо им докармливают. При употреблении «Наринэ» можно добавить сахар, сироп, заменители сахара (сластилин, сладостен, сорбит и т.п.) или 1/10 часть кипяченого и остуженного отвара риса. Перед кормлением маленьких детей «Наринэ» следует подогреть примерно до температуры грудного молока, но не ниже 30 градусов по Цельсию. Если у кормящей матери имеется мастит или субклиническая форма мастита (значительное инфицирование грудного женского молока), кормление грудью следует временно прекратить, ребенку давать «Наринэ», а мать просанировать.

Во избежание детских поносов и дизентерии, детей до 1 года и старше целесообразно ежедневно кормить молоком «Наринэ», особенно, в летний период.

«Наринэ» показан практически любому часто и длительно болеющему. При синдроме Йова (поражение кожи) или Бакли (поражение внутренних органов и кожи), обусловленных аллергией к золотистому стафилококку, стрептококку или грибам кандиды и проявляющихся в виде экссудативно-катарального диатеза, экземы, нейродермита, бронхиальной астмы и др. — это один из самых основных лечебных препаратов. Например, если ребенок, вскармливаемый грудью, болен экссудативно-катаральным диатезом, то кисломолочный продукт «Наринэ» необходимо не только давать пить (лечение кишечного дисбактериоза), но и закапывать отфильтрованный напиток в нос ребенка (санация носоглотки от возбудителя), обрабатывать кисломолочным продуктом «Наринэ» кожные покровы ребенка, а также соски молочных желез до и после кормления (предупреждение инфицирования молочной железы, эффективная профилактика маститов, лечение и профилактика трещин сосков молочных желез).

Кисломолочный продукт «Наринэ» прекрасно переносится и по существу не имеет противопоказаний, кроме случаев непереносимости кисломолочных продуктов. При лечении «Наринэ» в первые двое суток лечения в отдельных случаях возможно ухудшение состояния больного, усиление болей в животе. Стул может несколько учащаться и сопровождаться обильным выделением

слизи. В редких случаях у больных могут быть кратковременные запоры. Однако, в таких случаях прием «Наринэ» необходимо продолжить и через 1-2 суток стул постепенно нормализуется. У больных с желудочно-кишечными заболеваниями прием бентонитовой глины по 1 чайной ложке в стакане воды до 1-3 раз в день в течение 2-3 дней быстро снимает указанные явления или предотвращает их. В последующем «Наринэ» принимается отдельно.

Для тех, кто не переносит кисломолочные продукты или не может по каким-либо причинам заквашивать молоко (нахождение в стационаре, отсутствие молока, неумение или нежелание вести постоянное заквашивание молока изо дня в день) можно рекомендовать один из двух способов приема продукта «Наринэ», приведенные ниже.

В сухом виде "Наринэ" может употребляться внутрь (при непереносимости молочных продуктов) в дозе 250—500 мг (содержимое флакона) в сутки ежедневно не менее 10 дней. При колитах, дисбактериозах возможно назначение микроклизм после очистительной клизмы по 5 мл в течение 5 дней (температура 37 градусов С). Применение микроклизм ускоряет выздоровление, особенно, при повышенной кислотности желудочного сока, так как в таких случаях часть лактобактерий гибнет в желудке, а введение их непосредственно в прямую кишку способствует более быстрому выздоровлению. Микроклизмы, вероятно, не следует назначать больным неспецифическим язвенным колитом, так как слизистая прямой кишки сильно эрозирована. В то же время, прием внутрь «Наринэ» больными неспецифическим язвенным колитом оказывает несомненное благотворное действие [52].

При бактериальных конъюнктивитах и при воспалении слизистых глаз, вызванных грибами, можно обрабатывать слизистые свежезаквашенным продуктом «Наринэ» несколько раз в день в течение дня, не забывая употреблять его внутрь.

В Онкологическом научном центре им. В.А.Фанарджяна проводились работы по «Модификации мутагенеза и канцерогенеза штаммом «Наринэ».

Многие химические, биологические и физические агенты обладают мутагенным эффектом. Мутации в половых клетках приводят к повышению генетического груза популяций, мутации в соматических клетках организма – к возникновению злокачественных образований (DeMarini, 1985). Исследования в области молекулярной биологии свидетельствуют о том, что нормальная клетка превращается в злокачественную в результате мутаций, активирующих онкогены, инактивирующих антионкогены или гены, ответственные за репарацию ДНК. Это положение подтверждается данными о том, что среди 180 химических агентов (безусловные, возможные и вероятные канцерогены для человека) более 90% способны повреждать ДНК клеток (Bartsch, Malaveille, 1990). Поэтому одной из важнейших задач современной биологии и медицины является защита уникальной генетической информации клеток человека от поражающего действия канцерогенных и мутагенных факторов. Одним из подходов к решению этой задачи является применение антимутогенов, которые способны снижать индуцированный различными средовыми факторами уровень мутационных изменений (Gebhart, Arutyunyan, 1990. Talalay, 1996.

Wattenberg, 1996). Одним из основных требований к соединениям, которые используются для химиопрофилактики рака, является наличие антимутагенной активности.

Одной из важнейших проблем клинической онкологии является поиск возможности для снижения побочного действия химио- и лучевой терапии (мутагенность, канцерогенность, токсичность) (Шлянкевич и др., 1993). С этой целью перспективно применение некоторых штаммов микробов и полисахаридов микробного и грибкового происхождения (Купин, 1992, 1993, Nio et al., 1996). Эпидемиологические исследования показали, что употребление молочных продуктов, содержащих лактобациллы, приводит к снижению заболеваемости раком молочной железы и кишечника. (Adachi, 1992. Van t Veer et al., 1989). Экспериментальные исследования показали, что некоторые штаммы лактобацилл обладают антимутагенной активностью (Pool-Zabel et al., 1994, 1995). Было выявлено, что микробные иммуномодуляторы способны ингибировать активность продуктов онкогенов (Umezawa, 1995. Reddy, 1996).

Впервые было показано, что лактобациллы «Наринэ» обладают антикластогенной активностью, слабым противоопухолевым действием и могут усиливать противоопухолевый эффект химиопрепаратов.

Известно, что многие штаммы лактобацилл снижают выработку в организме микрофлорой кишечника ферментов (нитроредуктаза, глюкозидаза, глюкозуридаза, азоредуктаза), которые метаболизируют канцерогены. Эпидемиологические исследования показали, что лактобациллы, потребляемые в пищу, снижают риск развития опухолей молочной железы и кишечника у человека (Adachi, 1992. Van t Veer et al., 1989). Механизмом антиканцерогенного и противоопухолевого действия лактобацилл является инактивация экзогенных канцерогенов в желудочно-кишечном тракте, ингибирование эндогенной продукции канцерогенов и повышение иммунореактивности организма (продукция INF, интерферонов и интерлейкинов).

На 15 крысах линии Вистар проведено испытание на наличие кластогенной активности этих лактобацилл, которые вводились грызунам внутрижелудочно в течение месяца, ежедневно, в дозах, используемых человеком с перерасчетом на крыс. В качестве контроля использовались 5 крыс, которые получали физ.раствор внутрижелудочно в течение месяца. Результаты экспериментов показали полное отсутствие кластогенных свойств у двух штаммов лактобацилл. В следующей серии экспериментов 50 крысам в течение 15 суток вводили «Наринэ» в дозах, употребляемых человеком. В качестве мутагенов были использованы ЦФ, тиоТЭФ и адрибластин в дозах, индуцирующих появление 20% аберрантных клеток в костном мозге крыс. 5 крыс получили пастеризованное молоко с убитыми лактобациллами. Показано, что лактобациллы «Наринэ» снижали кластогенный эффект ЦФ на 60,9%, тиоТЭФ – на 44,7% и адрибластин – на 58,8%. Убитые лактобациллы не влияли на кластогенную активность ЦФ.

Таким образом, было впервые показано, что лактобациллы «Наринэ» обладают антикластогенной активностью.

Изучение влияния лактобацилл «Наринэ» на генотоксическую активность

канцерогена и мутагена прямого действия N-метил-N-нитро-N-нитрозогуанидина было проведено в Институте физиологии питания (Карлсруэ, Германия) под руководством Prof. Dr. В. Pool-Zobel. Исследование проводилось на клетках кишечника крыс линии CD, которые инкубировались с канцерогеном и лактобациллами в течении 30 мин. После инкубации клетки подвергали микрогельэлектрофорезу («comet assay»).

Основным критерием генотоксического эффекта является длина миграции ДНК. Этот показатель, выраженный в специальных единицах (image units) был равен: интактный контроль  $-23,3 \pm 1,8$ ; позитивный контроль (клетки кишечника +канцероген) –  $117,3 \pm 6,5$ ; лактобациллы +МННГ  $-58,8 \pm 2,7$ . Лактобациллы достоверно снижали генотоксический эффект канцерогена на клетки крыс на 50% по сравнению с позитивным контролем. Это доказывает, что лактобациллы способны связывать метаболиты канцерогенов. Другим возможным механизмом антикластогенного действия лактобацилл «Наринэ» является их интерферогенная активность (Kita et al., 1986), т.к. индукторы интерферона обладают антимуtagenной активностью (Золотарева и др., 1993). [48]

Исследование противоопухолевого действия лактобацилл «Наринэ» проводилось на крысах с перевиваемыми опухолями –КСУ, ЛСП и ОЯ. Результаты экспериментов, проведенных на 80 крысах Вистар, показали, что введение лактобацилл за 5 суток до перевивки опухолей, а затем ежедневно достоверно удлиняет СПЖ крыс на 31-35% при солидных опухолях и на 22% при ОЯ. Введение лактобацилл в день перевивки опухолей и далее ежедневно недостоверно удлиняет СПЖ крыс на 21-27% (КСУи ЛСП) и на 18% (ОЯ). Воздействие лактобацилл в более поздние сроки, а также введение убитых лактобацилл не оказывало противоопухолевого эффекта.

Изучалось комбинированное действие лактобацилл «Наринэ» и химиопрепаратов на среднюю продолжительность жизни крыс с перевиваемыми опухолями КСУ, ЛСП и ОЯ[49]. Лактобациллы вводились внутрижелудочно крысам на 2-3 сутки после перевивки, когда опухоли стали прощупываться (КСУ, ЛСП) или через сутки после введения клеток ОЯ. Лечение химиопрепаратами начинали также в эти сроки и вводили их в\б, через день (ЦФ в дозе  $25 \text{ мг\кг} \times 3$ ; натулан  $-10 \text{ мг\кг} \times 4$ ; тиоТЭФ  $-1 \text{ мг\кг} \times 4$ ). Всего было использовано 154 крысы.

Результаты экспериментов показали, что во всех случаях СПЖ крыс, 10 получивших лактобациллы и химиопрепараты, достоверно превышает СПЖ животных, получивших только химиопрепараты. Лактобациллы снижали массу опухолей на 32,4%, натулан – на 44,6%, оба фактора вместе – на 67,6%. Сочетание антибиотика с лактобациллами повысило ИТ до 57,3%.

Таким образом, результаты экспериментов, проведенных на 210 крысах показали, что лактобациллы могут усиливать противоопухолевый эффект химиопрепаратов.

Выводы: обнаружено, что препарат «Наринэ» обладает антикластогенной, антиоксической и противоопухолевой активностью. Методом микрогельэлектрофореза показано, что лактобациллы «Наринэ» защищают ДНК клеток крыс от генотоксического действия канцерогенов, способны

усиливать противоопухолевый эффект химиопрепаратов, широко используемых в клинической онкологии (циклофосфана, адрибластин, тиоТЭФ и натулана).

Антагонистические свойства молочнокислых бактерий по отношению к ряду патогенных и условно-патогенных микроорганизмов общеизвестно. Была поставлена задача проверить антагонизм молочнокислых бактерий по отношению к различным вариантам коринебактерий дифтерии – токсигенных и нетоксигенных штаммов (12 штук) с *Diphtherial*. Параллельно определялась чувствительность коринебактерий к традиционно применяемым антибиотикам: пенициллину, эритромицину, а также дополнительно взятым препаратам: гентамицину, фузидину, ципрофлоксацилину. Определение антибиотикочувствительности проводилось методом диффузии в агар с использованием дисков и цилиндров.

Исследования показали, что по сравнению как с традиционно применяемыми препаратами – пенициллин, эритромицин (диаметр зон задержки роста 26-30 мм), так и дополнительно апробированными антибиотиками (30 мм), кислоломолочный продукт «Наринэ» имел зону задержки роста более 46 мм. Подавляющее действие его проявлялось как на токсигенные, так и нетоксигенные штаммы коринебактерий дифтерии.

Полученные результаты позволяют рекомендовать употребление «Наринэ» в качестве лечебного и профилактического средства при дифтерии [53].

В клиническом отделении Научно-исследовательского института радиологии Армении была проведена работа по коррекции микрофлоры кишечника у лиц, подвергшихся воздействию ионизирующей радиации, а именно у «ликвидаторов» Чернобыльской аварии. Прием «Наринэ» способствовал восстановлению защитной анаэробной микрофлоры кишечника у исследуемых (бифидумбактерий, лактобактерий), восстановлению кишечной палочки, подавлению роста энтеробактерий, патогенного стафилококка. Коррекция этих показателей была отмечена в достаточно укороченные сроки — в среднем в течение четырех недель. Положительная динамика в микрофлоре кишечника сопровождалась положительными сдвигами в клиническом течении заболевания. Следует выделить еще одно важное положение. Легкоусвояемый кальций молочнокислых напитков одновременно способствует выведению радионуклидов из организма и, прежде всего, радиоактивного стронция из костей.

Кроме всего вышеуказанного, следует подчеркнуть, что ацидофильные лактобактерий являются антагонистами стафилококка. А это значит, что молочнокислый продукт «Наринэ» прекрасное профилактическое и лечебное средство при всех заболеваниях, возбудителем которых являются стафилококки. Это ангина, хронический тонзиллит, хронический пиелонефрит, заболевания женской половой сферы (аднексит, оофорит, сальпингит и другие), хронический простатит, пневмония, послеоперационная инфекция, стафилококковая внутрибольничная инфекция в родильных домах и другие.

Бактериальный продукт «Наринэ» прошел клиническую апробацию в Ереванском медицинском институте, в Институте эпидемиологии имени

Н.Гамалеи, АМН Армении. Были сделаны выводы, что «Наринэ» должен широко использоваться при дисбактериозе, против носительства золотистого стафилококка, при сахарном диабете, после перенесенных пневмонии и ОРВИ, анемиях, а также как общеукрепляющее средство, способствующее повышению иммунной активности организма.

#### 1.4.2 Сравнительные признаки лактобактерина и «Наринэ»

Известны различные сухие бактериальные закваски и способы их приготовления с использованием ацидофильных молочнокислых бактерий, которые могут быть использованы в медицине при лечении дисбактериозов и других желудочно-кишечных заболеваний, а также при производстве кисломолочных продуктов.

Для определения качества сухого препарата изучались следующие основные признаки: бактериальная чистота (по микроскопическому препарату): продолжительность свертывания молока в зависимости от количества сухого препарата и сроков его хранения: характер сгустка: кислотность сквашиваемого молока: количество живых клеток: антимикробные свойства.

При изучении микроскопической картины сухого препарата в поле зрения обнаруживались короткие и длинные палочки молочнокислых бактерий *L.acidophilus*. Повторные микроорганизмы не обнаружены.

В табл. 11 приводятся данные по свертыванию молока, заквашенного сухой культурой при разных сроках хранения.

Таблица 11– Продолжительность свертывания молока сухим препаратом в процессе хранения

Количество сухого препарата, %	Продолжительность свертывания молока сухим препаратом, ч, при хранении в течении мес.					
	0	3	6	9	12	24
0,1	9	10	16	19	22	24
0,2	8	9	14	15	20	22

В результате заквашивания во всех вариантах получается однородный сгусток с тягучей консистенцией, с приятным кисломолочным вкусом и ароматом.

Кислотность сгустка, полученного в результате сквашивания молока сухой культурой, колеблется в пределах от 110 до 180°Т в зависимости от свежести сухого препарата. Так, сухая закваска сразу после изготовления свертывает молоко за 8-9 ч, а кислотность сгустка составляет 110-120°Т.

Сухая культура через 2 года хранения свертывает молоко в течение 22-24 ч и поднимает кислотность до 180°Т. С возрастом сухая закваска становится

менее активной, в результате чего продолжительность свертывания увеличивается, а кислотность сгустка повышается.

Одним из основных признаков качества сухого препарата является количество живых клеток в нем. Количество живых клеток в 1 г препарата при хранении в течение 0, 3, 6, 9, 12 и 24 мес. составляет 3,0-3,2; 2,4-2,5; 2,1-2,2; 1,9-2,0; 1,7-1,8 и 1,0-1,1 млрд. соответственно активность сухого препарата по отношению к тест-культурам *E.coli*, *Staph. aureus*, *Klebsiella*, *Salmonella typhimimum* весьма высока (см. табл. 12)

Таблица 12- Антагонистическая активность сухого препарата «Наринэ»

Препарат	Срок хранения, мес	Зона подавления роста, мм			
		<i>E.coli</i>	<i>Staph.aureus</i>	<i>Klebsiella</i>	<i>Salmonella typhimimum</i>

Продолжение таблицы 12

Лактобактерин	3	6-7	0	6-8	7-8
	6	5-6	0	5-6	6-7
	12	3-4	0	4-6	4-5
«Наринэ»	3	12-13	15-16	16-17	16-18
	6	11-12	14-15	14-15	15-16
	12	9-12	12-14	12-14	14-15

Сравнительное изучение всех основных, признаков известного (лактобактерин) и предложенного препаратов показывает, что живых клеток в лактобактерине ниже, чем в сухом препарате «Наринэ» (табл. 13)

Таблица 13- Сравнительное изучение признаков препаратов лактобактерина и «Наринэ»

Препарат	Количество клеток в 1 г препарата, млн., при хранении в течении мес.			
	3	6	9	12
«Лактобактерин»	4,0-4,2	3,3-3,5	2,9-3,0	2,1-2,2
«Наринэ»				

Кроме того, выживаемость клеток в препарате «Наринэ» значительно выше (почти в 600—800 раз), чем в лактобактерине

Испытание жидкого и сухого препарата при лечении дисбактериоза кишечника у лиц, подвергшихся воздействию малых доз ионизирующей радиации, проводились на базе Института медицинской радиологии МЭ Армении.

Под наблюдением находились 74 мужчины с дисбактериозом кишечника, принимавших участие в ликвидации последствий аварии на ЧАЭС, в возрасте

от 28 до 50 лет, проживающих на территории республики Армения, которые были распределены на три группы.

I группа - 44 «ликвидатора» с дисбактериозом I и II степени, получавшие в качестве лечения кисломолочный продукт «Наринэ» по 1,0-1,5 л в день за 4-6 приемов.

II группа - 10 «ликвидаторов» с дисбактериозом I и II степени, получавшие 15-20 раз в сутки сухой лактобактерин производства Горьковского НИИЭМ МЭ РСФСР.

III группа - 20 «ликвидаторов» с дисбактериозом I и II степени, получавшие сухую лиофилизированную микробную массу живых антагонистически активных молочнокислых бактерий штамма 317/402 «Наринэ». Во флакон с сухой массой добавляют стакан кипяченной остуженной воды и перемешивают. Препарат принимают внутрь 4 раза по 5.0 г в сутки по назначению врача.

Изучение кишечной микрофлоры больных производили до и после лечения, а также в процессе лечения на 15-е и 20-е сутки с учетом методических рекомендаций.

У обследованных больных до начала лечения были выявлены следующие изменения в кишечной микрофлоре: отсутствие анаэробной микрофлоры бифидо- и лактобактерий (менее  $10^8$  в 1 г кала) в 100% случаев, уменьшение количества кишечных палочек до  $10^4 - 10^3$  у 39 больных (52,7%), увеличение условно-патогенной микрофлоры, в частности энтеробактерий, у 30 больных (40,5%), патогенного стафилококка у 32 больных (43,2%). Из энтеробактерий высевались энтеробактер, клебсиелла, лактозоотрицательные и гемолитические эшерихии.

В группе I к концу лечения в 70,45% (31 человек) случаев наблюдалась нормализация в составе микрофлоры. у 16 (36,4%) больных  $D_2$  перешел в  $D_1$ . При этом отмечено уменьшение концентрации условно-патогенной микрофлоры (клебсиелла, энтеробактер, лактозоотрицательные и гемолитические эшерихии) до  $10^2 - 10^4$  и увеличение концентрации полноценных кишечных палочек. Восстановление количества бифидо- и лактобактерий не отмечалось.

Как показали исследования, в подавляющем большинстве случаев коррекция дисбактериоза с помощью кисломолочного продукта «Наринэ» достигалась в течение 15-20 дней. Так, у 23 (52,2%) больных  $D_1$  положительный эффект наступил на 15-20-й день, а у 16 (36,3%) больных, имевших  $D_2$  - на 25-30-й день.

У подавляющего большинства больных положительные изменения в состоянии кишечной микрофлоры и коррекции дисбактериозов совпадали с положительной динамикой клинических данных. У пяти (11,3 %) больных с  $D_1$  степень дисбактериоза в процессе лечения не изменилась.

В группе II у семи (70%) больных было выявлено  $D_1$ , а у трех (30%)  $D_2$ . Положительная динамика у больных этой группы отмечена на 30-е сутки, у трех (30%) больных с  $D_1$  и у одного (10%) больного с  $D_2$ . У остальных шести (60%) больных коррекция не наблюдалась.

Таким образом, кисломолочный продукт «Наринэ» восстанавливает анаэробную защитную флору (бифидо- и лактобактерии) в укороченные сроки, подавляет рост энтеробактерий и патогенного стафилококка, повышает активность нормальной кишечной палочки.

Основываясь на положительном эффекте воздействия кисломолочного продукта на микрофлору кишечника у лиц, подвергшихся воздействию малых доз ионизирующей радиации, задались целью получить лиофилизированный препарат данного продукта и изучить его корректирующие свойства.

В группе III у 10 (50%) больных с Д<sub>2</sub> на 15-й день исследования наблюдалось уменьшение условно-патогенной микрофлоры, в частности протеуса мирабилис, энтеробактера, клебсиеллы, до 10<sup>3</sup>-10<sup>4</sup> увеличение числа полноценных кишечных палочек до 10<sup>5</sup>-10<sup>6</sup>, но восстановления бифидо- и лактобактерий не отмечалось, т.е. Д<sub>2</sub> перешел в Д<sub>1</sub>. У этих больных коррекция дисбактериоза выявлена на 20-й день исследования.

У восьми (40%) больных с Д<sub>1</sub> эффект наступил на 15-20-й день, а у двух (10%) больных с Д<sub>1</sub> степень дисбактериоза в процессе лечения не изменилась. У большинства больных положительные изменения в состоянии кишечной микрофлоры и коррекция дисбактериозов совпадали с положительной динамикой клинических испытаний.

Таким образом, на микрофлору кишечника лиц, подвергшихся воздействию малых доз ионизирующей радиации, в одинаковой степени положительно воздействуют как кисломолочный продукт «Наринэ», так и его лиофилизированный препарат (табл. 14)

При сравнительном изучении молочнокислых бактерий штамм 317/402 и лактобактерина установлена эффективность штамма для коррекции дисбиотических изменений в микрофлоре кишечника. Срок коррекции дисбактериоза с помощью молочнокислых бактерий штамма 317/402 зависел от степени тяжести дисбиотических изменений.

Таблица 14 - Воздействие бактериальных препаратов на микрофлору кишечника лиц, подвергшихся малых доз ионизирующей радиации

Препарат	Содержание микробов в кишечнике у людей, получивший препарат Ig M ± m числа микробов в 1 г содержимого на 20-е сутки					
	кlost-ридии	про-тей	энтеро-бактерии	кишечная палочка	стафило-кокк	лактобакте-рии
Контроль	2,2 ± 0,19	Сплошной рост	5,6 ± 0,19	4,1 ± 0,2	5,1 ± 0,25	-
Лактобак-терин	2,0 ± 0,2	4,0 ± 0,17	3,7 ± 0,09	4,2 ± 0,15	4,4 ± 0,23	-

Сухой препарат «Наринэ»	-	-	$3,0 \pm 0$	$7,0 \pm 0,2$	-	+
Жидкий препарат «Наринэ»	$2,0 \pm 0$	-	$3,2 \pm 0,2$	$6,8 \pm 0,17$	$2,0 \pm 0,13$	+

Предлагаемый сухой препарат «Наринэ» может храниться до двух лет, по сравнению с лактобактерином он обладает более высокими антимикробными свойствами, при его использовании выживаемость клеток лучше и молоко свертывается быстрее [54].

### **Заключение по литературному обзору**

Резюмируя, отметим, что проблема сохранения здоровья, поиск путей снижения неблагоприятного воздействия на организм внешней среды являются в настоящее время крайне актуальными для нашей страны. Более 90% населения Республики Казахстан в настоящее время имеют отклонения от физиологической нормы по тем или иным показателям, характеризующим здоровье человека.

Техногенные и экологические катастрофы, инфекционные болезни, экспансия некачественных лекарственных средств и продуктов питания, самоотравление алкоголем и наркотиками, психоэмоциональное напряжение и множество других вредоносных факторов истощают защитные силы организма, снижают его адаптационный потенциал.

Это возводит проблему разработки средств, повышающих адаптационный потенциал организма человека, в ранг первостепенных задач не только медицинского, но и экономического и политического характера.

В настоящее время одним из наиболее доступных и эффективных способов экологической реабилитации являются пробиотики – продукты, биологически активные добавки и фармацевтические препараты на основе полезных микроорганизмов, прежде всего, лактобацилл, оказывающих многофакторное регулирующее и стимулирующее воздействие на организм человека, укрепляющих иммунную систему, защищающих от болезнетворных микробов. И не случайно, согласно данным маркетологов, занятых анализом объемов потребления фармпрепаратов и БАД, начиная с 2000 года только два сегмента этого рынка имеют тенденцию к росту – антиканцерогенные и пробиотические препараты. Им принадлежит ведущая роль в нормализации микробиоценоза кишечника, поддержании неспецифической резистентности организма, улучшении процессов всасывания и гидролиза жиров, белкового и минерального обмена, синтезе биологически активных веществ.

В связи с ухудшением в последние годы экологической обстановки,

увеличение стрессовых факторов и нарушения в структуре питания населения, значение продуктов функциональной направленности весьма велико.

Из известных отечественных, наиболее качественных в настоящее время продуктов, содержащих лактобактерии, является продукт «Наринэ».

Бактерии «Наринэ» приживаются в кишечнике человека на долгое время, а также не разрушаются под воздействием антибиотиков и химиопрепаратов, поэтому могут быть использованы в сочетании с ними.

При производстве лечебно-диетических продуктов основным сырьем является молоко. Сегодня для большинства населения интерес к козьему молоку существенно возрос. Во всем мире козы получили распространение за счет большого содержания в их молоке казеинового белка и поэтому козье молоко очень близко к составу женского молока. Современные познания в области диетологии позволяют разобраться в истинном значении козьего молока в рационе современного человека. Козье молоко лучше отвечает физиологическим потребностям организма человека, чем молоко коровье. Подавляющее большинство людей, страдающих аллергией к коровьему молоку, козье переносят безо всяких проблем.

Козье молоко, как сырье для промышленного производства молочных продуктов, недостаточно изучено. Однако, в коммерческом производстве оно обладает высоким потенциалом для того, чтобы в результате исследований и практических усилий увеличить производство и маркетинг молока и его продуктов.

В связи с этим создание специализированных кисломолочных продуктов из козьего молока, содержащих представителей полезной микрофлоры кишечника является актуальной проблемой, имеющей важное медицинское и народнохозяйственное значение.

## 2. ОРГАНИЗАЦИЯ И ПРОВЕДЕНИЯ ЭКСПЕРЕМЕНТА, ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Объекты исследований

При выполнении работы были использованы молочнокислые бактерии *Lactobacillus acidophilus* гр.Ер. - 2 штамм 317/402, сироп лактулоз, козье молоко и обезжиренное коровье молоко (обрат), которые сами по себе обладают функциональными свойствами, так как содержат биологически полноценные белки, эссенциальные жирные кислоты, биоактивные пептиды, аминокислоты, природные антиоксиданты, витамины, пищевые волокна (соединительнотканые белки), минеральные вещества, в том числе такие важные, как кальций, железо и цинк

**Козье молоко.** Аминокислотный состав его белков близок к аминокислотному составу белков женского молока. Казеин козьего молока содержит мало  $\alpha$ -фракций (10-15 %), поэтому при сычужном свертывании образует неплотный сгусток. От коровьего молока козье молоко отличается лишь более высоким количеством белка, жира и кальция. В жире козьего молока содержится больше каприновой и линолевой кислот, и шарики жира мельче, что способствует лучшему его усвоению организмом человека. Исклотность молока равна около 19°Т (рН = 6), плотность – 1030 кг/м<sup>3</sup>. Козье молоко менее термоустойчиво (выдерживает t = 130°С в течение 19 минут), так как содержит больше ионизированного кальция.

**Обезжиренное молоко** (устаревшее обрат), продукт, получаемый при отделении на сепараторе сливок от цельного молока. Содержит около 3,2% белков, 4,8% молочного сахара, 0,05% жира, 0,7% минеральных веществ. Плотность обезжиренного молока выше, чем средняя, плотность сливок ниже,

чем средняя плотность молока и равна  $1026 \text{ кг/м}^3$ , кислотность составляет  $11^{\circ}\text{T}$ .

**Lactobacillus acidophilus, штамм 317/402.** В состав рабочей закваски входит: молоко коровье, закваска из чистой культуры *Lactobacillus acidophilus* гр.Ер.- 2 штамм 317/402. Пищевая ценность в 100 грамм продукта: белки – 2,82 г, жиры – 2,5 г, углеводы – 4,73 г, органические кислоты – 0,14 г, минеральные вещества (мг): N-50; K-146; Ca-120; Mg-14; P-90; Fe-0,06. Количество молочнокислых микроорганизмов –  $10^8$  КОЕ/г.

**Лактулоза.** Лактулоза представляет собой белое кристаллическое вещество не имеющее запаха, хорошо растворимое в воде. Лактулоза является одним из наиболее эффективных пребиотиков, так как избирательно стимулирует рост бифидо- и лактобактерий. Именно, нормальная микрофлора кишечника, развиваясь под воздействием лактулозы и оказывает на организм хозяина благотворное воздействие

В соответствии эксперимента предусматривались изучения комплекса качественных показателей и показателей безопасности, с использованием стандартных и оригинальных методов, позволяющих получить информацию о составе и свойствах объектов исследований. Спроектированы модели рецептур натурального биологического корректора, и новых видов продуктов на мясной и молочной основе с использованием биотехнологических решения. Определяли качественные показатели (органолептические, физико-химические и микробиологические) и показатели безопасности продукта (наличие токсинов, солей тяжелых металлов, пестицидов, антибиотиков). Согласно современным требованиям они не должны содержать вещества, вызывающие аллергию и наносящие вред здоровью, должны соответствовать всем санитарно-гигиеническим требованиям и нормам Европейского союза и Республики Казахстан.

Реализация биотехнологий молочного и растительного сырья позволяет расширить ассортимент молочных продуктов, адаптированных к запросам физиологических и социальных групп потребителей, функциональной направленности, пониженной калорийности, обогащенных соединительнотканными аналогами пищевых волокон.

## **2.2 Методы исследований**

В соответствии эксперимента предусматривались изучения комплекса качественных показателей и показателей безопасности, с использованием стандартных и оригинальных методов, позволяющих получить информацию о составе и свойствах объектов исследований.

### **2.2.1 Методы определения физико-химических свойств козьего молока**

В соответствии с требованиями стандартов качества молока оценивают по следующим физико-химическим показателям: кислотности, плотности, содержание массовой доли влаги, сухих веществ и жира. Массовая доля белка

не нормируется стандартами. Однако по содержанию этих компонентов в молоке можно более полно судить о его пищевой ценности.

. Исследования проводились на основании санитарно-гигиенических требований для молочных продуктов по следующим показателям:

- определение органолептического показателя;
- определение микробиологических исследований по ГОСТ 9225-84;
- определение количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий) по ГОСТ 30518-97;
- определение содержания спор мезофильных анаэробных бактерий по ГОСТ 25102 – 82;
- определение массовой доли жира по ГОСТ 5867-90;
- определение массовой доли влаги и сухого вещества по ГОСТ 3626-73;
- определение титруемой кислотности по ГОСТ 3624-92;
- определение активной кислотности на рН-метре (рН-121).

**Определение плотности.** Плотность молока – отношение массы молока при температуре 20<sup>0</sup> С к массе такого же объема воды при температуре 4<sup>0</sup> С. Определяют плотность ареометром не ранее чем через 2 ч после доения (за это время улетучивается часть газов, а жир из жидкого состояния переходит в твердое) при температуре молока от 15 до 25<sup>0</sup> С (но показания ареометра приводят к 20<sup>0</sup> С путем прибавления или вычитания температурной поправки). Выражают плотность в градусах ареометра (<sup>0</sup>А) или в г/см<sup>3</sup>. Градусы ареометра – это сотые и тысячные доли истинной плотности.

*Ход анализа.* В стеклянный цилиндр по стенке (во избежание образования пены) наливают 170 – 200 мл хорошо размешанного молока и ставят на ровное место. Ареометр медленно погружают в цилиндр с молоком и оставляют в покое на 1 – 2 мин. При этом он не должен касаться стенок цилиндра. Температуру учитывают с точностью до 0,5<sup>0</sup> С. По шкале ареометра отсчет делают по верхнему мениску до половины наименьшего деления шкалы (глаза должны быть на уровне поверхности молока).

Если температура молока 20<sup>0</sup> С, то отсчитанный по шкале ареометра показатель отражает фактическую плотность его. А если температура выше или ниже 20<sup>0</sup> С, то показания ареометра приводят к 20<sup>0</sup> С, пользуясь специальной таблицей или расчетным путем определяя поправку, которую прибавляют к показаниям ареометра или вычитают.

Расчет поправки: на каждый градус выше или ниже 20<sup>0</sup> С делают поправку, равную 0,2<sup>0</sup> А, или 0,0002 г/см<sup>3</sup>. Если температура молока ниже 20<sup>0</sup> С, то полученную поправку вычитают из показаний ареометра, а если выше, то прибавляют.

**Определение содержания жира ГОСТ 5867-90.** Стандартным методом определения жирности молока является кислотный. Он основан на выделении молочного жира из жировых шариков и концентрировании его в градуированной части жиросмера. При этом белковые оболочки жировых шариков растворяют серной кислотой. Изоамиловый спирт используют для более полного и быстрого выделения жира (образующийся изоамилово-серный

эфир, понижая поверхностное натяжение на границе раздела жира и нежировой части, способствует слипанию освобожденных от белковых оболочек жировых шариков).

*Ход анализа.* В молочный жиромер, не смочив горлышка, вносят дозатором 10 мл серной кислоты (плотность 1,81 – 1,82), пипеткой вливают по стенке 10,77 мл молока, не смешивая его с кислотой (последнюю каплю молока из пипетки не выдувают) и вносят дозатором 1 мл изоамилового спирта (плотность 0,811 – 0,813). Если жиромер заполнен компонентами недостаточно, в него добавляют 1 – 2 мл серной кислоты.

Завернув в полотенце или тряпку, жиромер закрывают резиновой пробкой, вводя ее винтообразным движением до соприкосновения со спиртом. Затем, держа обернутый жиромер рукой за расширенную часть и придерживая пробку большим пальцем, встряхивают содержимое до полного растворения белка. При этом температура повышается до 70 – 75 °С. Для смешивания кислоты из узкой части жиромера со всем раствором жиромер 2 – 3 раза переворачивают. После этого жиромер пробкой вниз на 5 мин ставят в водяную баню с температурой воды  $65 \pm 2$  °С. Вода в бане должна находиться выше слоя содержимого в жиромерах. Вынув из бани, жиромеры вытирают насухо и вставляют в патроны центрифуги пробками к периферии, располагая их симметрично (для плавного хода). При необходимости вставляют один жиромер с водой. Если исследуют 1 – 2 пробы или жиромеры встряхивают одновременно и сразу центрифугируют, в баню можно не ставить.

Закрывают крышку центрифуги и центрифугируют 5 мин со скоростью не менее 1000 оборотов в минуту.

После центрифугирования жиромеры на 5 мин ставят пробками вниз в водяную баню при температуре воды  $65 \pm 2$  °С (измерение объема столбика жира по шкале жиромера рассчитано при данной температуре, т. е. при данной температуре расплавленный жир занимает истинный объем). Затем их вынимают и, быстро установив нижнюю границу столбика жира на ближайшем целом делении шкалы (ввинчивая или вывинчивая пробку жиромера), производят отсчет по нижней точке мениска. Держат жиромер вертикально. Жировой столбик должен быть на уровне глаз. Расхождение между параллельными определениями не должно превышать 0,1 %.

#### **Определения массовой доли сухих веществ в молоке ГОСТ 3626-73.**

Массовую долю сухих веществ в молоке определяют высушиванием навески до постоянной массы или ускоренным методом. Массовую долю сухих веществ определяют и расчетным путем по модифицированной формуле Фаррингтона

$$C=(4,9Ж+D)/4+0,5, (1)$$

где С - массовая доля сухих веществ в молоке, %; 4,9-постоянный коэффициент; Ж-массовая доля жира в молоке, %; D - плотность молока, град; 0,5-поправка на плотность молока.

Определение массовой доли сухих веществ в козьем молоке жирностью 4,4, 3,3 и 2,5%

$$C_{4,4\%}=(4,9 \times 4,4+29)/4+0,5=11,23$$

$$C_{3,3\%}=(4,9 \times 3,3+28)/4+0,5=9,81$$

$$C_{2,5\%}=(4,9 \times 2,5+27)/4+0,5=8,72$$

### **Определение массовой доли влаги в молоке (%)**

$$W=(100-C), (2)$$

где С- массовая дол сухих веществ в молоке, %.

$$W_{4,4\%}=(100-11.23)=88.77$$

$$W_{3,3\%}=(100-9.81)=90.19$$

$$W_{2,5\%}=(100-8.72)=91.28$$

Ориентировочно массовая доля сухих обезжиренных веществ в молоке (%)

$$СОМО=(D+2)/4+0,225 \times Ж, (3)$$

где D- плотность молока, град; Ж- масса дол жира в молоке, %.

$$СОМО_{4,4\%}=(29+2)/4+0,225 \times 4,4=7,82$$

$$СОМО_{3,3\%}=(28+2)/4+0,225 \times 3,3=8,24$$

$$СОМО_{2,5\%}=(27+2)/4+0,225 \times 2,5=12,94$$

### **Нормализация исходного сырья (козье молоко)**

Получить молоко заданной жирности можно путем смешивания исходных продуктов, в одном из которых жира содержится больше, чем в получаемом, а в другом – меньше. Нормализацию козьего молока проводили по правилу квадрата. до содержания жира 4,4%, 3,3% и 2,5%

### **Определения содержания белка в сыром молоке.**

Для определения содержания белка в сыром молоке руководствовались методом формального титрования. Метод заключается в блокировке  $\text{NH}_2$  – групп белков молока внесенным формалином с образованием метилпроизводных белков, карбоксильные группы которых могут быть нейтрализованы щелочью. Количество щелочи, пошедшее на титрование кислых карбоксильных групп, пересчитывают на массовую долю белков.

Особое внимание обращали на химические реактивы участвующие в данном методе. Дистиллированная вода должна быть по ГОСТ 6709, формальдегид должен быть свежеприготовленным по методике, а именно 37% формалин разбавляется следующим образом: 8,1г. данного формалина и 91,9  $\text{см}^3$  дистиллированной воды. Если использовать 30% формалин без пробоподготовки, описанной выше, получится завышение результата порядка 0,4 – 0,5% белка. Если проводить пробоподготовку 30%-го, а не 37%-го формалина, то результаты будут занижены на 0,2 – 0,4% белка.

Метод основан на нейтрализации карбоксильных групп моноаминодикарбоновых кислот белков раствором гидроксида натрия, количество которого, затраченное на нейтрализацию, пропорционально массовой доли белка в молоке.

Последовательность определения. В колбу вместимостью 100  $\text{см}^3$  отмеривают 20  $\text{см}^3$  молока, 0,25  $\text{см}^3$  (10-12 капель) 1%-ного раствора фенолфталеина и титруют 0,1 н. раствором гидроксида натрия до появления розовой окраски, соответствующей цвету эталона. Затем вносят прибором для автоматического отмеривания 4  $\text{см}^3$  (4 объема) нейтрализованного 40%-ного формалина и вновь титруют 0,1 н. раствором гидроксида натрия до окраски эталона. Количество щелочи, прошедшее на второе титрование ( при первом

титровании она расходуется на нейтрализацию веществ, обуславливающих кислотность молока), умножается на коэффициент 0,959 и получают массовую долю белков в молоке в процентах.

В том случае, когда требуется определить в молоке массовую долю казеина пользуются измененной методикой. Так, для контроля берут не 20, а 10 см<sup>3</sup> молока, добавляют 10-12 капель фенолфталеина и титруют 0,1н. раствором гидроксида натрия до слабо-розовой окраски, но без применения эталона окраски. Затем вносят 2 см формалина и титруют раствором щелочи до слабо-розовой окраски, аналогичной окраске пробы после первого титрования. Содержание казеина устанавливают, умножая количество щелочи, пошедшее на титрование пробы после добавления формалина, на коэффициент 1,51.

За окончательный результат измерения принимали среднеарифметическое значение результатов двух параллельных вычислений, округляя результат до второго десятичного знака [55].

#### **Колориметрический метод определения белка (ГОСТ 25179-90).**

Колориметрический метод основан на способности белков молока при pH ниже изоэлектрической точки связывать кислый краситель, образуя с ним нерастворимый осадок, после удаления которого измеряют оптическую плотность исходного раствора красителя относительно полученного раствора, которая уменьшается пропорционально массовой доле белка.

Методика определения массовой доли белков в молоке сводится к следующему. В пробирку отмеряют 1 см<sup>3</sup> молока, приливают 20 см<sup>3</sup> рабочего раствора сине-черного красителя (готовится путем смешивания водного раствора красителя и кислого буферного раствора с добавлением поверхностно-активного вещества) и смесь интенсивно перемешивают. Выпавший осадок центрифугируют или отфильтровывают. Полученный фильтрат разводят в 100 раз и колориметрируют на фотоколориметре КФК-3 при длине волны 500-600 нм в кювете с рабочей длиной 10 мм.

Массовую долю белков в молоке устанавливают в процентах, пользуясь градуировочным графиком.

Массовую долю белка X%, высчитывают по формуле:

$$X=7,78D-1,34 \quad (4)$$

Где D – оптическая плотность, ед. оптической плотности;

7,78 – эмпирический коэффициент %, ед. оптической плотности;

1,34 – эмпирический коэффициент %

**Определение содержания углеводов** проводили рефрактометрическим методом. Рефрактометрия - определение показателя преломления, а число рефрактометрии - условное число, показывающее величину преломления в единицах шкалы данного рефрактометра.

Луч света, проходя через различные среды, отклоняется от своего прямолинейного пути на больший или меньший угол, в зависимости от свойств сред, через которые он проходит.

#### *Методика определения*

Отмеривают пипеткой в пробирку 5 мл исследуемого молока, прибавляют 5-6 капель 4%-ного раствора хлористого кальция. Пробирки закрывают

пробками и помещают в баню с кипящей водой. Вынув пробирки из бани, их охлаждают до 15°C, при этом обращают внимание на то, чтобы капли конденсирующейся воды не оставались на стенках пробирки. Затем открывают пробку и осторожно втягивают сыворотку в стеклянную трубку, нижний конец которой закрыт ватой для фильтрации сыворотки.

Каплю прозрачной сыворотки наносят на поверхность нижней призмы рефрактометра и немедленно опускают верхнюю призму.

Специальным винтом устраняют расплывчатость и радужную окраску светотени. После этого передвижением окуляра добиваются полного отчетливого совпадения границы света и тени с указателем (пунктирной линией). Производят отсчет границы темного и светлого полей в рефрактометре, записывают показания шкалы (показатель преломления), через которую проходит эта граница.

Процентное содержание молочного сахара находят по таблице 15

Величина рефракции зависит от температуры, поэтому отсчет в рефрактометре необходимо производить при определенной температуре.

Шкала для определения молочного сахара в рефрактометре установлена для молочной сыворотки при температуре 17,5°C, температура призмы должна быть такая же.

Для этого через рефрактометр пропускают воду с температурой на 2-3°C выше данной температуры, если температура помещения ниже 17,5°C, а если температура выше 17,5°C, то вода на 2-3°C ниже данной температуры [55].

Таблица 15- Зависимость содержания углеводов от показателя преломления

Показатель преломления при 17,5°C	Содержание молочного сахара, %	Показатель преломления при 17,5°C	Содержание молочного сахара, %	Показатель преломления при 17,5°C	Содержание молочного сахара, %
1.3390	3.01	1.3405	3.72	1.3420	4.49
1.3391	3.06	1.3406	3.77	1.3421	4.54
1.3392	3.11	1.3407	3.82	1.3422	4.59
1.3393	3.16	1.3408	3.87	1.3423	4.64
1.3394	3.21	1.3409	3.92	1.3424	4.69
1.3395	3.26	1.3410	3.98	1.3425	4.74
1.3396	3.31	1.3411	4.03	1.3426	4.79
1.3397	3.36	1.3412	4.08	1.3427	4.84
1.3398	3.42	1.3413	4.13	1.3428	4.89
1.3399	3.47	1.3414	4.18	1.3429	4.95
1.3400	3.52	1.3415	4.23	1.3430	5.00

**Органолептическая оценка** определялась по ГОСТ 28283-89 внешний вид, запах, консистенция, цвет и вкус.

**Определение кислотности молока и кисломолочных продуктов ГОСТ 3624-92.** Кислотность определяют титрометрическим методом и исчисляют в градусах Тернера. Градусом кислотности называют количество миллилитров

децинормального раствора едкого натра (калия), израсходованного на нейтрализацию 100 мл молока или 100 г продукта.

Для определения кислотности в коническую колбу вместимостью 150-200 мл наливают 10 мл молока, 20 мл дистиллированной воды (свеже прокипяченной и охлажденной до комнатной температуры) и 3 капли 1%-ного спиртового раствора фенолфталеина. Содержимое колбы тщательно перемешивают, а затем добавляют из бюретки в колбу каплями децинормальный раствор щелочи до появления слабозащелоченного окрашивания, не исчезающего в течение одной минуты (сравнить с эталоном).

Количество миллилитров децинормального раствора щелочи, израсходованной на титрование, умноженное на 10, будет показывать градус титруемой кислотности молока.

**Определение рН** проводили потенциометрическим методом с использованием рН – метра «рН-340», согласно ГОСТ 26781-85 рН продукта определяли в водной вытяжке, приготовленной в соотношении 1: 10, после настаивания в течении 30 минут при температуре 20° С.

**Определение аминокислотного химического сора** проводили методом расчета отношения количества каждой аминокислоты в исследуемом белке к количеству этой же аминокислоты в гипотетическом белке с идеальной аминокислотной шкалой:

$$\text{Аминокислотный скор} = \frac{\text{мг АК в 1 г. исследуемого белка}}{\text{мг АК в 1 г. идеального белка}} \times 100, \quad (5)$$

где АК - любая незаменимая аминокислота, в идеальном варианте в 1 г. пищевого белка должно содержаться следующее количество незаменимых аминокислот, мг: изолейцин-40; лейцин-70; лизин-55; метионин+цистин-35; фенилаланин+тирозин-60; триптофан-10; треонин-40; валин-50 [193,194].

**Пищевую ценность** определяли расчетным путем по формуле:

$$\text{П.Ц.} = 4 \cdot (\text{Б} + \text{У}) + 9 \cdot \text{Ж} \quad (6)$$

где Б – массовая доля белка в продукте;

У – массовая доля углеводов в продукте;

Ж – массовая доля жира в продукте;

**Проводились исследования показателей экологической безопасности** продукта на токсичные элементы: [199]

– массовая доля ртути по ГОСТ 26927;

– массовая доля мышьяка по ГОСТ 26930;

– массовая доля меди по ГОСТ 26931;

– массовая доля свинца по ГОСТ 26932;

– массовая доля кадмия по ГОСТ 26933;

– массовая доля цинка по ГОСТ 26934.

на гормональные препараты:

– радионуклиды по НРБ-96 [56].

## 2.2.2 Методы идентификации микроорганизмов

Чистой культурой называют такую культуру, которая содержит микроорганизмы одного вида. Выделение чистых культур бактерий – обязательный этап бактериологического исследования в лабораторной диагностике инфекционных болезней, в изучении микробной загрязненности различных объектов окружающей среды, и, в целом, при любой работе с микроорганизмами. Исследуемый материал обычно содержит ассоциации микробов.

Выделение чистой культуры позволяет изучить морфологические, культуральные, биохимические, антигенные и другие признаки, по совокупности которых определяется видовая и типовая принадлежность возбудителя, то есть производится его идентификация.

Для выделения чистых культур микроорганизмов используют методы, которые можно разделить на несколько групп.

**Приготовление разведений.** Разведения делают в стерильном 0,5%-ном водном растворе NaCl. Готовят определенный объем этого раствора и стерилизуют его при 1 атм. В ходе одного опыта пользуются постоянным коэффициентом разведения, так как в этом случае уменьшается вероятность ошибки. Чаще всего делают десятичные разведения. Для этого стерильный раствор NaCl разливают стерильной пипеткой по 9 мл в стерильные сухие пробирки. Затем переносят стерильной пипеткой 1 мл исследуемого материала в пробирку с 9 мл стерильного раствора NaCl. Затем этой же пипеткой берут 1 мл полученного разведения и переносят его во вторую пробирку. В результате получаем разведения 1:100. Таким образом готовят и последующие разведения. Степень разведения определяется предполагаемым количеством микроорганизмов в образце и соответственно число разведений тем больше, чем больше микроорганизмов в исходном субстрате. Для приготовления каждого разведения обязательно используют отдельную пипетку. Пренебрежение этим правилом может привести к получению ошибочного результата, иногда в 100 и более раз превышающего истинный. Ошибка связана с адсорбцией микроорганизмов на стенках пипетки, в результате чего не все клетки удаляются из пипетки при приготовлении соответствующего разведения. Часть клеток, оставшаяся на стенках пипетки. Может затем попасть в одно из последующих разведений, что и явится причиной получения завышенного результата.

Изучение морфологии и строения клеток микроорганизмов, величина которых измеряется в большинстве случаев микрометрами (1 мкм=0,001 мм), возможно только с помощью микроскопов, обеспечивающих увеличение исследуемых объектов в сотни (световые микроскопы) и десятки (электронные микроскопы) тысяч раз.

Для просмотра микроорганизмов в оптических микроскопах готовят препараты живых и фиксированных (убитых) клеток

**Метод высева на плотные питательные среды (метод Коха).** Сущность метода заключается в высеве и культивировании определенного объема исследуемой суспензии на плотную среду в чашки Петри и последующем

подсчете выросших колоний. При этом считают, что каждая колония является результатом размножения одной клетки.

**Метод определения общего количества бактерий.** Метод основан на подсчёте колоний мезофильных аэробных и факультативно-аэробных микроорганизмов, вырастающих на плотно питательном агаре при  $(30 \pm 1) ^\circ\text{C}$  в течение 72ч.

Количество засеваемого продукта устанавливают с учётом наиболее вероятного микробного обсеменения.

Для определения общего количества бактерий выбирают те разведения, при посевах которых на чашке вырастает не менее 30 и не более 300 колоний. Из каждой пробы делают посев на две-три чашки. Каждое из разведений должно быть засеяно в количестве  $1\text{см}^3$  в одну чашку Петри с заранее маркированной крышкой и залито  $15\text{ см}^3$  расплавленной и охлажденной до  $t=40-50 ^\circ\text{C}$  питательной средой для определения общего количества бактерий

Допускается посев исследуемого продукта на чашке Петри из одного и того же разведения в количестве 1 и  $0,1\text{см}^3$  Сразу после заливки агара содержимое чашки Петри тщательно перемешивают путём лёгкого вращательного покачивания для равномерного распределения посевного материала.

После застывания агара чашки Петри переворачивают крышками вниз и ставят в таком виде в термостат с температурой  $30 \pm 1 ^\circ\text{C}$  72ч.

Количество выросших колоний подсчитывают на каждой чашке, поместив её вверх дном на тёмном фоне, пользуясь лупой с увеличением в 4-10 раз. Каждую подсчитанную колонию отмечают на дне чашке чернилами. При подсчёте колоний рекомендуется пользоваться счётчиками.

При большом числе колоний и равномерном их распределении дно чашки Петри делят на четыре и более одинаковых секторов, подсчитывают число колоний на двух-трёх секторах (но не менее чем на  $1/3$  поверхности чашки), находят среднее арифметическое число колоний и умножают на общее количество секторов всей чашки. Таким образом, находят общее количество колоний, выросших на одной чашке.

Общее количество бактерий в  $1\text{см}^3$  или 1г продукта (X) в единицах вычисляют по формуле:

$$X=n \cdot 10m, (7)$$

где n – количество колоний, подсчитанных на чашку Петри; m – число десятикратных разведений.

За окончательный результат анализа принимают среднее арифметическое, полученное по всем чашкам.

#### **Определение количества клеток ацидофильных бактерий.**

В стерильную чашку Петри вносят  $1\text{ см}^3$  соответствующего разведения исследуемого продукта и заливают охлажденной до  $40-45 ^\circ\text{C}$  стерильной средой с гидролизированным молоком и мелом. Среду готовят в соотношении к  $100\text{ см}^3$  гидролизованного молока 2% мела и агару. Сразу после заливки среды в чашку Петри, чашку тщательно перемешивают путем легкого вращательного покачивания для равномерного распределения посевного материала. после того,

как среда застынет, чашки переворачивают крышками вниз и ставят в термостат с температурой 37<sup>0</sup> С на 72 ч.

**Выделение чистой культуры микроорганизмов.** Чистой культурой микроорганизмов называют культуру, полученную из одной клетки. Выделению чистой культуры, как правило, предшествует получение накопительной культуры, т.е. культуры, обогащенной микроорганизмами с желаемыми свойствами.

Из накопительной культуры получают чистую культуру. Существует несколько методов получения чистых культур. Все они основаны на выделении из популяции одной - единственной клетки. Суть метода заключается в получении чистой культуры из отдельной колонии, которую считают результатом развития одной клетки. Бактериологической стерильной петлей отбирают клетки и вводят в пробирку со стерильным скошенным агаром почти до дна. Слегка касаясь петлей поверхности агара, проводят от дна вверх зигзагообразную или прямую черту - штрих. Затем пробирку помещают в термостат при температуре 30<sup>0</sup> С. продолжительность культивирования 2- 3 суток.

**Изучение культуральных свойств.** Микроорганизмы развиваясь на поверхности плотных питательных сред, образуют характерные для данного вида колонии. Поэтому описание колоний – один из признаков, который необходим для идентификации исследуемого микроорганизма.

При описании колонии отмечают следующие признаки:

- форму колонии – округлая, амебовидная, ризоидная, неправильная и т.д;
- размеры – величина колонии определяется ее диаметром. В зависимости от диаметра различают колонии точечные – диаметр меньше 1 мм, мелкие - диаметр 1-2 мм, средние – 2-4 мм, крупные – 4-8 мм;
- оптические свойства – прозрачная, полупрозрачная, непрозрачная, блестящая, матовая, флюоресцирующая;
- цвет - отмечают цвет колонии и выделяется или не выделяется пигмент в среду;
- поверхность - гладкая, шероховатая, бугристая, складчатая;
- профиль - плоский, выпуклый, кратерообразный, врастающий в агар и т.д.;
- край колонии - ровный, волнистый, лопастной, ризоидный и др.;
- структура колонии - однородная, мелко-или крупнозернистая, струйчатая;
- консистенцию - маслянистая, тестообразна, вязкая, пленчатая;
- способность к эмульгированию - равномерная или зернистая
- суспензия в воде, слабо или совсем не суспендируется в воде.

Край и структуру определяют при малом увеличении микроскопа; чашку Петри в этом случае помещают на столик микроскопа крышкой вниз. Консистенцию колонии устанавливают прикосновением к её поверхности микробиологической петлей.

Описание колоний часто дополняют описанием роста микроорганизмов по штриху на поверхности плотной питательной среды. Отмечают интенсивность роста по штриху: скудный, умеренный, обильный, - и его

особенности: налет сплошной с ровным или волнистым краем, четковидный в виде цепочки изолированных колоний, диффузный, перистый, древовидный или ризоидный. Характеризуют оптические свойства штриха, его цвет, поверхность и консистенцию.

**Для микроскопического исследования** готовили мазки готового продукта следующим образом:

На обезжиренное стекло наносили тонкий мазок напитка, фиксировали и обезжиривали спирт-эфиром и красили по Граму или метиленовой синькой.

**Приготовление препаратов фиксированных клеток.** Для приготовления мазка используют, выросшую культуру на плотной питательной среде. Фиксированные окрашенные препараты используют для выявления ряда морфологических особенностей, количественного учета микроорганизмов, а также для проверки чистоты культуры. Эти препараты удобны тем, что могут храниться длительное время. Фиксированные окрашенные препараты рассматривают с иммерсией. Их приготовление включает следующие этапы: приготовление мазка, высушивание, фиксацию и окраску.

*Приготовления мазка.* На середину чистого, хорошо обезжиренного стекла наносили каплю физиологического раствора, в нее вносили бактериальную петлю с небольшим количеством исследуемой микробной культуры так, чтобы капля жидкости стала слегка мутноватой. После этого излишек микробного материала на петле сжигали в пламени спиртовки и приступали к приготовлению мазка.

*Высушивание мазка.* Препарат сушат при комнатной температуре на воздухе. Тонкий мазок высыхает очень быстро. Если высушивание препарата замедленно, препарат можно слегка нагреть в струе теплого воздуха, держа предметное стекло высоко над пламенем горелки мазком вверх. Эту операцию проводят очень осторожно, не перегрева мазка, иначе клетки микроорганизмов деформируются.

*Фиксация* преследует несколько целей: обеспечить прикрепление клеток к стеклу и тем самым предохранить препарат от смывания; сделать мазок более восприимчивым к окраске, поскольку мертвые клетки окрашиваются лучше, чем живые; сделать безопасным дальнейшее обращение с мазком, что особенно важно, если клетки исследуемого материала являются патогенными. Фиксацию клеток осуществляют различными веществами и высокой температурой. Весьма распространенный способ фиксации – термическая обработка. Препарат трижды проводят через наиболее горячую часть пламени горелки, держа предметное стекло мазком вверх. Не следует перегревать мазок, так как при этом могут произойти грубые изменения клеточных структур, а иногда и внешнего вида клеток, например их сморщивание. После фиксации клетки микроорганизмов окрашивают.

### **Окраска бактериального препарата по Граму**

Этот метод в общепринятой модификации является важным методом для дифференциации различных видов микробов по тинкториальным свойствам. По отношению к этой окраске все бактерии делят на две группы: грамположительные (+), окрашиваются в фиолетовый цвет (генцианвиолет) и

грамотрицательные (-), красятся дополнительной краской (фуксин), в красный цвет.

На фиксированный мазок кладут полоску фильтровальной бумаги (по размеру уже и короче предметного стекла, наносят 8-10 капель фенолового (карболового) раствора генцианвиолетового на 1-2 минуты, краску сливают, снимают пинцетом бумагу, промывают водой, наносят раствор Люголя на 1-2 минуты до почернения препарата и, не промывая мазка, наливают 96°С спирт на 30 секунд (процесс обесцвечивания считается завершенным, когда от мазка перестают отделяться окрашенные в фиолетовый цвет струйки жидкости), тщательно промывают водой и докрашивают фуксином Пфейффера 1-2 минуты. Краску смывают, промывают мазок водой, высушивают и микроскопируют.

При простых способах окраски применяют метиленовый синий или водно-спиртовой раствор фуксина.

#### **Метод определения ферментативных свойств микроорганизмов.**

Сахаралитические свойства выявляют при посеве бактерий на дифференциально-диагностические среды с разными углеводами и индикатором. Чаще применяют среды Гисса (с индикатором Андресэ, но можно использовать бромтимолблау, бромкрезолпурпур, лакмус и др). набор сред с разными углеводами (глюкоза, лактоза, мальтоза, сахароза, манит, дульцит, сорбит и др.). Посевы культур осуществляют уколом по общепринятой методике бактериологической петлей или пастеровской пипеткой. После инкубирования в термостате учитывают результат ферментации углеводов: изменение цвета питательной среды означает расщепление углевода.

#### **Метод определения протеолитических свойств**

Мясопептонный желатин разливают в пробирки столбиком по 5-6 мл. Посев производят уколом, погружая петлю с исследуемой культурой в глубь питательной среды до дна пробирки. Микробы, способные расти при низкой температуре, оставляют стоять в комнате при 20-22 °С. Остальные посевы инкубируют в термостате при 37° С. Вместе с опытными пробирками в термостат ставят одну или две пробирки с незасаженным желатином для контроля. При температуре 37°С желатин плавится, поэтому после инкубации пробирки, вынутые из термостата, опускают в холодную воду или ставят в холодильник. После застудневания желатина в контрольных пробирках приступают к просмотру роста и учету изменений в питательной среде опытных пробирок. Там, где под действием фермента желатиназы произошло расщепление белков желатина, отмечается разжижение питательной среды. Пробирки, в которых после суточного инкубирования среда остается без изменения, оставляют в термостате. Наблюдение за изменением среды ведется в течение 20 суток. В протоколе исследования обязательно отмечают день появления признаков разжижения среды, степень и характер ее разжижения [57].

#### **Методы изучения бактерицидной активности**

Для определения бактерицидной активности кисломолочных напитков по отношению к условно-патогенной микрофлоре использовался метод, основанный на способности продуктов жизнедеятельности микроорганизма

диффундировать в толщу агара и задерживать рост или убивать патогенные и условно-патогенные микроорганизмы, находящиеся в зоне диффузии микроорганизма.

С целью изучения степени влияния бактерицидной активности кисломолочного напитка был использован метод совместного культивирования молочнокислых бактерий, содержащихся в продукте с условно-патогенными микроорганизмами на примере БГКП *Echerichia coli* и *Staphylococcus aureus* и изучение степени влияния молочнокислых бактерий на рост патогенной микрофлоры.

В нашем исследовании мы учитывали изменения количества колоний микроорганизмов группы БГКП на среде Эндо и *St. aureus* на МПА при совместном культивировании с молочнокислыми микроорганизмами. Идентифицировать кишечную палочку в такой среде можно по плоским красным колониям с металлическим блеском, *St. Aureus* на среде МПА дают колонии серовато-желтые с металлическим блеском, колонии же молочнокислых бактерий - прозрачные или белые. Дополнительно для подтверждения визуальной идентификации, делали мазки интересующих нас колоний, которые окрашивали по Грамму, после чего производили их микроскопию. В результате микроскопии молочнокислые бактерии, окрашивались в фиолетовый цвет (грамположительные), а кишечная в красный цвет (грамотрицательных). Для этого чистую культуру *E. coli* и *S.aureus*, каждую в отдельности высевали на МПА и выращивали в термостате при температуре 37° С в течение 24 ч. Затем смывали стерильным изотоническим раствором хлористого натрия и стандартизовали до содержания в 1 мл 2 млрд. микробных тел. Из этой взвеси производили посев на МПБ в пробирки и сутки выращивали в термостате при вышеуказанной температуре.

В стерильные чашки Петри разливали по 4,5 мл среду Эндо, затем добавляли по 0,5 мл испытуемого напитка и суточную бульонную культуру *E. coli* по одной бактериологической петле.

Контрольные чашки заполняли теми же компонентами, что и опытные с той лишь разницей, что в одну чашку вместо исследуемого материала добавили 0,5 мл стерильного изотонического раствора хлорида натрия. Содержимое всех чашек тщательно перемешивали, после чего все чашки ставили в термостат при температуре 37°С и производили подсчет колоний микроорганизмов через 0, 2, 4 и 24 ч.

### **2.2.3 Микробиологические методы исследования безопасности кисломолочных напитков**

#### **Определение бактерий группы кишечных палочек (БГКП)**

Метод основан на способности бактерий группы кишечных палочек (беспоровые, грамотрицательные, факультативно-анаэробные бактерии) сбрасывать в питательной среде лактозу при температуре 37±1°С в течение 24ч с образованием кислоты и газа (БККП). В настоящее время БГКП относятся представители родов эшерихий, цитробактер, клебсиелла, серация.

По 1см<sup>3</sup> соответствующих разведений продукта засевают в пробирки с 5см<sup>3</sup> среды Кесслер.

Пробирки с посевами помещают в термостат при 37±1°С на 18-24ч. Просматривают пробирки с посевами и определяют наличие бактерий группы кишечных палочек по газообразованию. При отсутствии газообразования через 18-24ч продукт считается не загрязнённым бактериями группы кишечных палочек.

**Метод выявления бактерий рода *Salmonella*** (ГОСТ 30519-97) основан на высеве определенного количества продукта в жидкую неселективную среду, инкубировании посевов, последующем выявлении в этих посевах бактерий, способных развиваться в жидких селективных средах, образующих типичные колонии на агаризованных дифференциально-диагностических средах, имеющих типичные для бактерий рода *Salmonella* биохимические и серологические характеристики.

После инкубирования посевов отмечают на дифференциально-диагностических средах рост колоний, характерных для бактерий рода *Salmonella*: на висмут-сульфит агаре колонии черные с характерным металлическим блеском, а также зеленоватые с темно-зеленым ободком и с пигментированием среды под колониями; на среде Плоскирева колонии бесцветные прозрачные, но более плотные, чем на среде Эндо; на среде Эндо колонии круглые бесцветные или слегка розоватые, прозрачные; на среде Левина колонии прозрачные, слабо-розовые или розовато-фиолетовые.

При отсутствии в посевах на дифференциально-диагностических средах характерных для бактерий рода *Salmonella* колоний дают заключение об отсутствии бактерий рода *Salmonella* в анализируемой навеске продукта.

При наличии хотя бы на одной дифференциально-диагностической среде характерных для бактерий рода *Salmonella* колоний проводят их дальнейшее изучение.

**Методы выявления и определения НВЧ *S. aureus*** (ГОСТ 10444.2-94) посевом с предварительным обогащением основаны на высеве навески продукта и (или) разведении навески продукта в жидкую селективную среду, инкубировании посевов, пересеве культуральной жидкости на поверхность агаризованной селективно-диагностической среды, подтверждении по биохимическим признакам принадлежности выделенных характерных колоний к *S. aureus*.

При определении количества *S. Aureus* посевом на агаризованные селективно-диагностические среды по 0,1 или 0,2 см<sup>3</sup> продукта или его разведения наносят на поверхность одной из сред, указанных в п.6.2: Байрд-Паркер агара, молочно-солевого агара, яично-желточно-азидного агара или яично-желточно-солевого агара. Преимущественно для посева используют Байрд-Паркер агар. Для посева продукта или каждого его разведения используют две параллельные чашки Петри со средой. Подготовку чашек Петри со средой к посеву и посев проводят по ГОСТ 26670.

На Байрд-Паркер агаре колонии *S. aureus* выглядят черными, блестящими, 1,5-2,5 мм в диаметре, окружены зоной лецитиназной активности.

На молочно-солевом агаре колонии *S. aureus* круглые, слегка возвышающиеся над поверхностью агара, с ровными краями, диаметром 2-2,5 мм, окрашены в желтый, золотистый, лимонно-желтый, кремовый, палевый или белый цвет.

На яично-желточно-азидном и яично-желточно-солевом агаре колонии *S. aureus* окружены зоной лецитиназной активности.

При наличии хотя бы на одной дифференциально-диагностической среде характерных для бактерий рода *S. aureus* колоний проводят их дальнейшее изучение.

#### **Методы определения экологической безопасности продуктов.**

Метод определения ртути (ГОСТ 26927-86). Метод основан на деструкции анализируемой пробы смесью азотной и серной кислот и осаждении ртути йодидом меди и последующим колориметрическом определении в виде тетраयोмеркуроата меди – путем сравнении со стандартной шкалой.

Метод определения свинца (ГОСТ 26932-86) основан на минерализации (озолении) пробы с использованием в качестве использования вспомогательного средства азотной кислоты и количественном определении свинца полярографированием в режиме переменного тока.

Метод определения мышьяка (ГОСТ 26930-86) основан на интенсивности окраски раствора комплексного соединения мышьяка с диэтилдитиокарбоматом серебра в хлороформе

Метод определения меди (ГОСТ 26931-86) основан на минерализации (озолении) пробы с использованием в качестве использования вспомогательного средства азотной кислоты и количественном определении меди полярографированием в режиме переменного тока.

Метод определения меди ГОСТ (26934-86) основан на минерализации (озолении) пробы с использованием в качестве использования вспомогательного средства азотной кислоты и количественном определении цинка полярографированием в режиме переменного тока.

Метод определения меди ГОСТ (26933-86) основан на минерализации (озолении) пробы с использованием в качестве использования вспомогательного средства азотной кислоты и количественном определении кадмия полярографированием в режиме переменного тока.

#### **2.2.4 Экономические расчеты**

Расчет производственной себестоимости продуктов проводился исходя из калькуляции издержек производств (основные вспомогательные материалы, транспортно-заготовительные расходы, пар и электроэнергия на технологические цели, заработная плата, отчисления от фонда заработной платы, накладные расходы), отражающиеся в производственной себестоимости [58].

В соответствии с поставленными в работе задачами экспериментальные исследования проводились в лаборатории «ИнеУ», и ИЛ Павлодарский

областной филиал РГП на ПХВ «Республиканская ветеринарная лаборатория» КГИ в АПК МСХ РК.

В качестве основы алгоритма проведения эксперимента в соответствии с анализом научно-технической литературы и патентной информации на предмет перспективности получения кисломолочного напитка на основе козьего молока, а также в соответствии с поставленной целью и задачами исследований была разработана схема организации и проведения исследований (рисунок 5).



Рисунок 1- Схема проведения исследований

### 3. ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

#### 3.1 Создание кисломолочного напитка с изучением показателей качества

Потребительские предпочтения при выборе кисломолочных продуктов на рынке XXI становятся все требовательнее к качеству продукции и ассортименту. В крупных городах люди заботятся о своем здоровье и хотят покупать натуральные продукты без использования сухого молока, изменить добавлению которого не возможно при изготовлении инновационных кисломолочных напитков. При этом потребителю трудно определить натуральные кисломолочные напитки в магазине. В ходе опроса 25% респондентов признаются, что не способны отличить натуральный кисломолочный продукт и 53% затруднились ответить на вопрос.

Эксперты Международной молочной федерации считают, что в XXI веке эти продукты будут занимать наибольший объем в производстве кисломолочных продуктов. Необходимость увеличения выпуска продуктов этой группы диктуется ухудшением экологической обстановки, качества питьевой воды и пр. поэтому увеличение производства таких продуктов актуально для нашей страны.

Одна из актуальных проблем современности – сохранение здоровья человека, которое во многом определяется его пищевым статусом. Нарушения в структуре питания на фоне сложной биохимической и экологической обстановки приводит к возникновению и прогрессированию ряда алиментарно-зависимых заболеваний.

Экологическая ситуация во многих странах, а в особенности в Казахстане не достаточно благоприятна и накладывает свой отпечаток на здоровье нации. Прежде всего, от нездоровой экологии страдает подрастающее поколение, как наиболее уязвимое звено в современном обществе. Как результат, многие дети рождаются с пониженным иммунитетом и врожденными заболеваниями, основное из которых – аллергия.

Все это объясняет тот факт, что уже сегодня разработка кисломолочных продуктов на основе натурального сырья стали неотъемлемым рецептурным компонентом функциональных или обогащенных пищевых продуктов для детского, специализированного и массового питания.

Учитывая все вышесказанное, был разработан натуральный продукт, отвечающий спросу и качеству предъявляемые потребителями.

Основным сырьем для промышленного получения кисломолочного напитка является козье молоко, обезжиренное коровье молоко (обрат),

*Lactobacillus acidophilus* гр.Ер штамм 317/402, и сироп лактулозы. Существует ошибочное мнение, что козье молоко можно употреблять только как молоко. Это не так, самый вкусный сыр, по мнению специалистов, получается именно из козьего молока. Кроме этого в Европе давно уже популярны сметана и йогурты из козьего молока. Такое разнообразие продуктов очень важно для психологического развития человека, и позволяет не акцентировать внимание на ограниченности в потреблении молочных продуктов.

Следует отметить, что использование обрата с целью нормализации козьего молока, позволяет реализовать биотехнологический принцип безотходного производства, поскольку обрат на молочных предприятиях находит ограниченное применение и является отходом молочной промышленности. Это способствует снижению нормативных потерь и исключение неиспользованных отходов, которые являются важнейшими резервами увеличения объемов вырабатываемой молочной продукции и повышения эффективности производства. Кроме того, безотходная технология обеспечивает исключение загрязнения окружающей среды и, таким образом, имеет экологическое значение.

Таким образом, наши исследования были направлены на адаптацию молочнокислых микроорганизмов в среде козьего молока, создавая наиболее благоприятные условия для их жизнедеятельности, сохранив при этом высокие органолептические показатели и показатели безопасности кисломолочного напитка на основе козьего молока.

### **3.2 Обоснование выбора сырья и компонентного состава кисломолочного напитка на основе козьего молока**

Оценка качества продуктов, реализуемых в настоящее время, показала необходимость разработки не только способа улучшения качества исходного сырья, но также оптимизации ингредиентного состава для улучшения потребительских свойств молочных продуктов.

Существенное значение на показатели качества готового продукта оказывают все его рецептурные ингредиенты, но особое значение и актуальность в настоящее время приобретает качество сырья используемого в производстве. Качество пищевых продуктов определяется комплексом характеристик, и в первую очередь, пищевой ценностью, объединяющей биологическую и энергетическую ценность, органолептические и санитарно-гигиенические, микробиологические показатели и показатели безопасности.

В соответствии с современными положениями физиологии и биохимии питания, вновь создаваемые продукты должны отвечать медико-биологическим требованиям, предъявляемым к продуктам питания общего назначения [59,60,61,62].

Согласно концепции сбалансированного питания, для нормальной жизнедеятельности человека необходимо не только поступление в организм необходимых количеств пищевых веществ, но и обеспечение определенных соотношений между ними.

Выбор сырья и подбор компонентного состава для создания нового кисломолочного напитка нами осуществлялся исключительно из натурального сырья, являющегося высокоэффективными адаптогенами, иммуномодуляторами и биокорректорами. Основанием служило содержание в них в оптимальном соотношении всех необходимых для построения белковой молекулы незаменимые и заменимые аминокислоты, витамины (А, В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, С, РР и D), ненасыщенные жирные кислоты, полноценных и легкоусваивающихся минеральных элементов (кальций, фосфор, магний, железо и др.).

Основным сырьем для производства нового напитка является козье молоко. Козье молоко относится к группе казеиновых, также как и коровье, однако в козьем практически не содержится альфа-1s-казеина, который является основным источником аллергических реакций на коровье молоко, поэтому оно показано людям, страдающим аллергией на коровье молоко. Высокое содержание бета-казеина приближает козье молоко к женскому грудному молоку. Большая часть белков козьего молока из-за повышенного содержания в них альбуминов расщепляется на составные части – свертывается в мелкие хлопья, а не всасывается в не переваренном виде, поэтому оно легче усваивается организмом, не вызывая расстройств пищеварительной системы. Низкое содержание лактозы (на 13% меньше, чем в коровьем молоке, и на 41% меньше, чем в женском молоке) позволяет употреблять этот продукт людям, страдающим непереносимостью лактозы. Жировые шарики в козьем молоке в 10 раз мельче, чем в коровьем (0.001 мм), и поэтому лучше усваиваются организмом. При жирности 4-4,4%, козье молоко усваивается практически на 100%. В козьем молоке содержится 67% ненасыщенных жирных кислот, в коровьем - 61%. Эти кислоты обладают уникальной метаболической способностью препятствовать отложению холестерина в тканях организма человека. Помимо вышеперечисленных особенностей козье молоко содержит много кальция (143.0 мг), магния (14.0 мг), фосфора (89.0 мг), марганца (17.0 мкг), меди (20.0 мкг), витаминов А (0.1 мг), В (0.04 мг), С (2.0 мг), и Д (0.06 мкг), аскорбиновой кислоты. Этот продукт обогащает организм полноценными белками, жирами, минералами и микроэлементами, очень благотворно действует на нормализацию обмена веществ, что способствует здоровью и долголетию. Однако, козье молоко, как и коровье, является бедным источником железа. Железо необходимо не только для синтеза гемоглобина крови, но и для обеспечения нормальной работы иммунной системы и адекватности поведенческих характеристик. У взрослых дефицит железа связывается с повышенной реакцией на охлаждение. Железо козьего молока усваивается намного лучше (30 %), чем железо коровьего молока (10 %), но не достигает уровня усвоения железа женского молока (50 %). Химический состав козьего молока не является постоянным и зависит от многих факторов: от породы, возраста и здоровья животного, периода лактации, условий содержания и кормления.

Жирность козьего молока достигает 6%. Нормализацию козьего молока до содержания жира 4,4, 3,3, 2,5% производили смешиванием с обезжиренным коровьим молоком (обрат). Обезжиренное молоко отличается от цельного

большим содержанием сухого обезжиренного молочного остатка (СОМО) и меньшим количеством жира, т. е. соотношением между нежировой и жировой частями. Так, если в цельном молоке на одну часть жира приходится 2,2-2,4 СОМО, то в обезжиренном - 90-170 частей [38].

Наиболее ценными компонентами обезжиренного молока являются белки липиды (молочный жир) и углеводы.

Кроме основных компонентов, в обезжиренное молоко переходят минеральные соли, небелковые азотистые соединения, витамины, ферменты, гормоны, иммунные тела, органические кислоты, т. е. практически все соединения, обнаруженные в цельном молоке.

Энергетическая ценность 1 кг обезжиренного молока составляет 1440 кДж, что меньше по сравнению с цельным молоком почти в 2 раза (2805 кДж) вследствие малого количества содержащегося в нем жира. Все остальные компоненты коровьего молока в обезжиренном молоке сохраняются практически полностью. Особенностью молочного жира в обезжиренном молоке является высокая степень дисперсности. Размер жировых шариков составляет 0,5-1 мкм (в цельном молоке в основном 3-6 мкм), что способствует более легкому эмульгированию, омылению и усвояемости (94-96 %) жира.

К белковым азотистым соединениям, содержащимся в обезжиренном молоке, относятся казеин и сывороточные белки (лактоальбумин, лактоглобулин, эвглобулин и псевдоглобулин). Обезжиренное молоко является источником высокоценного белка. Таким образом, при полном и рациональном использовании обезжиренного молока в пищевых целях можно значительно повысить уровень потребления молочного белка, который относится к лучшим видам животного белка [37].

Кисломолочные продукты, приготовленные на заквасках, состоящих из естественной микрофлоры кишечника, пользуются наибольшим спросом, так как обладают высокими биотехнологическими и лечебно-профилактическими свойствами.

При выборе компонентов закваски учитывали культуральные свойства лактобактерий.

Выбранная микрофлора закваски для кисломолочного напитка позволяет обеспечить в молочном продукте определенные функциональные свойства с учетом биотехнологических параметров его производства. В число их входит: время биологического сквашивания, достаточная кислотность готового продукта качественный и количественный состав микрофлоры, а также бифидогенный фактор и безусловно, высокая антагонистическая активность по отношению к патогенной и условно-патогенной микрофлоре.

Ценной заквасочной культурой для производства кисломолочного напитка является *Lactobacillus acidophilus* гр.Ер штамм 317/402. Данная культура отличается отличной приживаемостью в кишечнике, о чем свидетельствует, высокая фенолоустойчивость 0,5-0,6 %. Установлено, что штамм Ер317/402 стимулирует выработку гамма-интерферона, ответственного за иммунную систему, что позволяет повысить количественный показатель интерферона в 1,5 раза, приблизив его к норме. Бактерии «Наринэ»

вырабатывают и выделяют ряд жизненно важных аминокислот, ферментов, способствующих перевариванию и усвоению жиров, белков, углеводов, обладают высокой витаминообразующей способностью, синтезируют в организме до 70% витаминов (В1, В12, С, Е, Р, никотиновую и фолиевую кислоту, биотин, тиамин, рибофлавин); из молочного жира синтезируют лецитин, предохраняющий печень от лишнего жира; обогащают молоко органическими кислотами, повышают усвоение кальция, железа и др. микроэлементов; нормализуют уровень гемоглобина и количество лейкоцитов в крови и уменьшают лейкоцитарную интоксикацию; способствуют восстановлению обмена веществ, повышают устойчивость организма к инфекциям, токсическим и др. агентам; обладают радиопротекторным и адаптогенным эффектом.

Уникальные свойства лактулозы обусловило ее внесение в состав рецептуры разработанного напитка. Она является классическим средством воздействия на метаболизм микрофлоры кишечника, стимулируя рост полезной микрофлоры кишечника. Кроме того, отметим, что лактулоза способствует синтезу витаминов и усвоению минералов [47].

Как отмечалось в обзоре литературных данных, продукты, предназначенные для функционального питания, должны содержать кроме таких основных нутриентов, как жиры, белки и углеводы, повышающие энергетическую ценность молочных продуктов, функциональные ингредиенты: витамины и минеральные вещества в количествах, близких к профилактическим.

Таким образом, обоснован компонентный состав, используемый в комплексе при моделировании молочного продукта, позволяющий получить продукт функционального назначения.

### **3.3 Оптимизация рецептур кисломолочного напитка**

Для реализации задачи оптимизации рецептуры композиционного напитка по совокупности свойств с учетом современных требований к питанию нами был выбран подход, который предполагает обеспечение физико-химического состава продукта путем изменения соотношения ингредиентов рецептуры в заданных пределах.

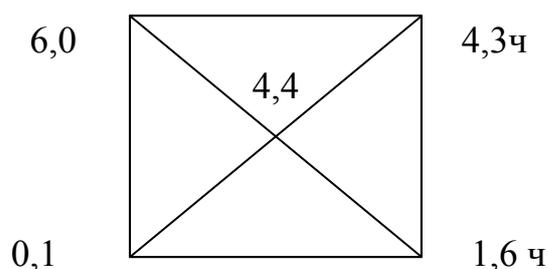
Задача расчета оптимальной рецептуры была сформулирована следующим образом: известен перечень ингредиентов, допустимых для производства кисломолочного напитка, их характеристики (содержание влаги, белка, в том числе незаменимых аминокислот, жира, в том числе сумма насыщенных, моно- и полиненасыщенных жирных кислот, микро-, макроэлементов, витаминов), стоимость ингредиентов, а также размер партии. Требовалось определить, в каких количествах целесообразно включить в рецептуру ингредиенты, чтобы при соблюдении требований к химическому составу готового продукта и содержанию отдельных ингредиентов обеспечить максимальную величину критерия оптимизации, с учетом биосочетаемости компонентов.

Из формулировки задачи были определены важнейшие этапы ее решения: выбор критериев, обоснование перечня ингредиентов, сбор их характеристик и обоснование ограничений на характеристики.

Целью оптимизации рецептур кисломолочного напитка – является получение кисломолочного напитка на основе козьего молока функционального назначения, сбалансированного по биологической ценности

Основным базовым сырьем разработанного кисломолочного напитка является козье молоко. Белки козьего молока из-за повышенного содержания в них альбуминов расщепляется на составные части - свертывается в мелкие хлопья, а не всасывается в не переваренном виде, поэтому оно легче усваивается организмом, не вызывая расстройств пищеварительной системы. Для приготовления кисломолочного напитка на основе козьего молока, жирность козьего молока снижали обезжиренным коровьим молоком (обрат) жирностью 0,1%, поскольку напиток, приготовленный на основе козьего молока 6% жирности имел неудовлетворительные органолептические показатели, в частности: жидкая консистенция, неприятный вкус и высокая кислотность 120° Т. Таким образом возникла задача адаптировать молочнокислые бактерии в среде козьего молока. Первым этапом адаптации являлось нормализация козьего молока жирностью 6,0% до содержания жира 4,4, 3,3 2,5% проводилось маркетинговому исследованию рынка продаж козьего молока последующей его пастеризацией [39]. Молоко заданной жирности удалось получить путем смешивания исходных продуктов, в одном из которых жира содержится больше (козье молоко), чем в получаемом, а в другом – меньше (обезжиренное коровье молоко - обрат).

Для получения молока 4,4% жирности необходимо рассчитать, сколько следует взять исходного молока и обрата, используя правило квадрата [55].



На одной из сторон квадрата, обычно это делают на левой стороне, проставляли жирность исходных продуктов: вверху – большую (6,0), внизу – меньшую (0,1), а на пересечении диагоналей ставят нужный % жира (4,4). Затем по диагоналям производят вычитания (от большего вычитают меньшее) и полученные результаты (4,3 и 3,6) проставляют в противоположных углах квадрата. По квадрату видно, что исходного продукта, который имеет жирность 6,0 % (молоко), необходимо взять 4,3, а продукта, имеющего жирность 0,1 %, – 1,6 частей. При необходимости количество исходных продуктов, которое следует взять, можно выразить в процентах (молоко – 72,88 %, обрат – 27,22) необходимо помнить, что всегда больше берут того исходного продукта, жирность которого ближе к жирности получаемого продукта.

Затем находим сумму исходных частей ( $4,3+1,6 = 5,9$ ) и определяем, сколько получаемого продукта приходится на 1 часть ( $1 \text{ кг}:5,9 \text{ ч} = 0,169$ ). После этого определяем, сколько необходимо взять исходных продуктов, чтобы получить 1л молока жирностью 4,4 %: молока – 0,730 кг ( $0,169 \times 4,3$ ), обраты – 0,270 кг ( $0,169 \times 1,6$ ).

Проверка (по жировому балансу):

$$0,730 \times 6,0 = 4,38 \text{ ж.ед.};$$

$$0,270 \times 0,1 = 0,027 \text{ ж.ед.};$$

$$4,38+0,027= 4,407 \text{ ж.ед. – количество ж.ед. в исходном сырье};$$

$$1 \times 4,4 = 4,4 \text{ ж.ед. – количество ж.ед. в полученном продукте.}$$

Этим же методом рассчитывают соотношение козьего молока и обраты для получения молока жирностью 3,3 и 2,5%. Таким образом, для получения 1 л. молока 3,3% жирности соотношение между козьим молоком и обратом должно составлять 0,540:0,460, а для молока 2,5% жирности 0,400:0,600.

Следующим этапом наших исследований являлось установление оптимального количества массы закваски для приготовления кисломолочного напитка на основе козьего. Основной заквасочной культурой кисломолочного напитка является штамм *L.acidophilus* 317/402.

На рисунке 2 изображена зависимость титруемой кислотности от количества внесенной закваски.

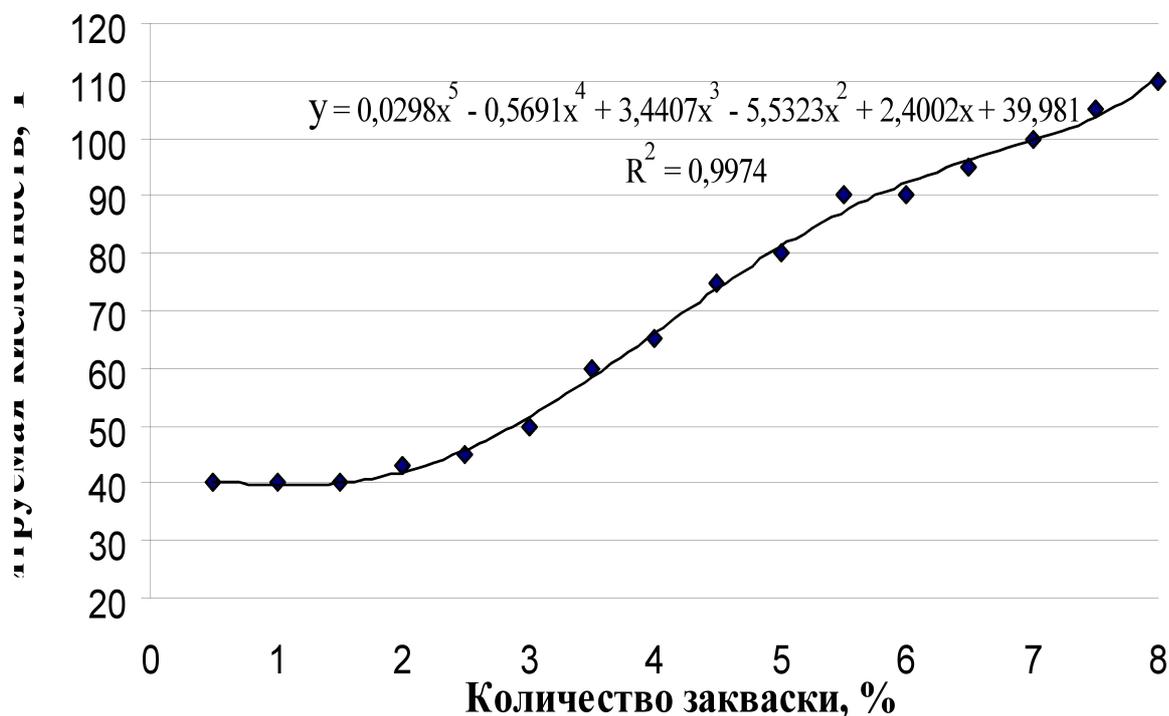


Рисунок 2 – Динамика увеличения кислотности напитка от количества закваски

Ключевым моментом при производстве кисломолочных продуктов является наиболее быстрое достижение требуемой кислотности продукта, что позволяет сократить время и производственные затраты на получение кисломолочного напитка. Как видно из графика, наиболее энергичное

нарастание титруемой кислотности кисломолочного напитка происходит при внесении закваски в количестве от 3 до 7% массы.

С целью выявления наиболее оптимального количества массы закваски исследовалась динамика кислотообразования козьего молока с массовой долей жира 4,4, 3,3, 2,5%

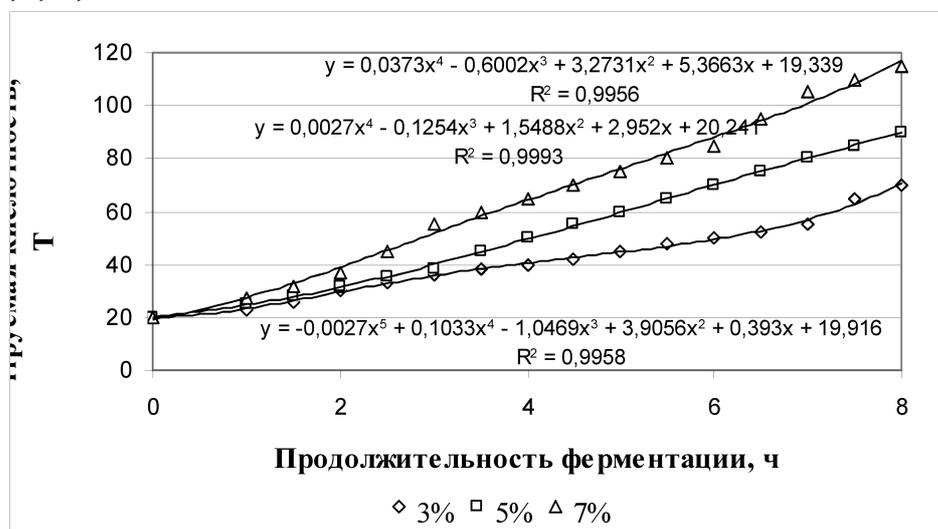


Рисунок 3— Динамика изменения кислотности козьего молока 4,4% жирности в зависимости от количества внесённой закваски

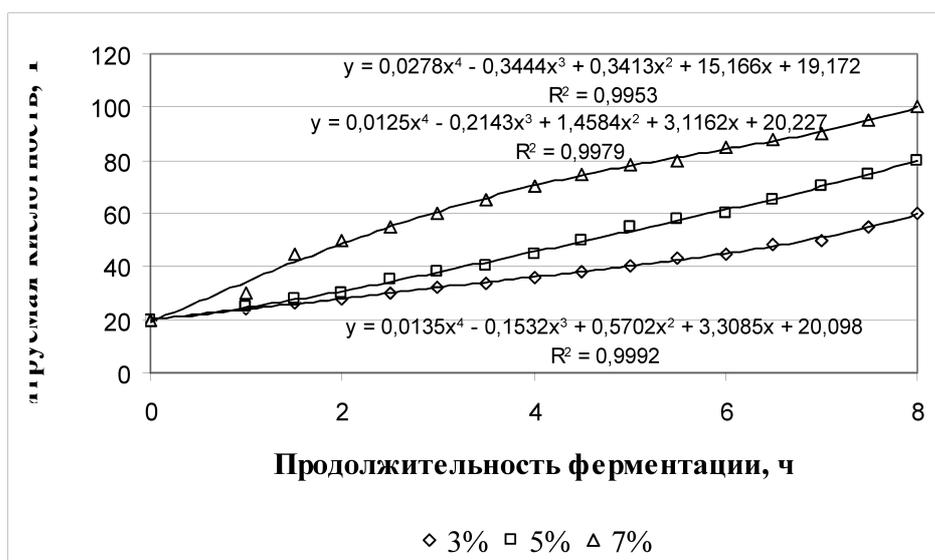


Рисунок 4 Динамика изменения кислотности козьего молока 3,3% жирности в зависимости от количества внесённой закваски

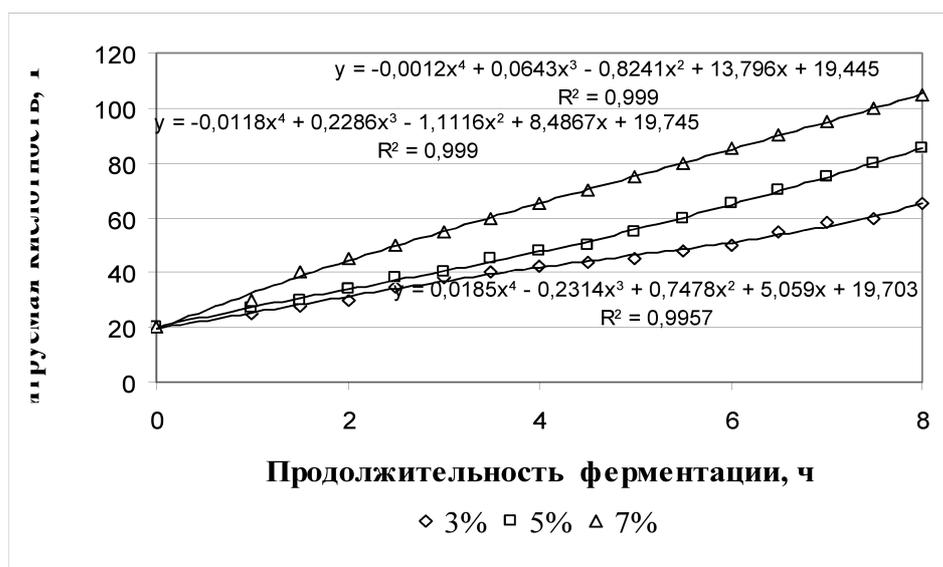


Рисунок 5– Динамика изменения кислотности козьего молока 2,5% жирности в зависимости от количества внесённой закваски

Анализируя, можно сделать вывод, что при внесении в среду ферментации 5% закваски в нормализованное козье молоко различной жирности происходит равномерное энергичное нарастание кислотности, что и обосновывает целесообразное внесение в молочную среду ферментации 5% закваски. При внесении рабочей закваски больше 5% наблюдалась повышенная кислотность готовых напитков, при внесении менее 3% напитки имели недостаточно плотную и однородную консистенцию, кроме того, процесс заквашивания затягивался до 15 ч.

Изучения влияния добавок на микробиологические (количество лактобактерий, физико - химические (титруемая кислотность), органолептические (консистенция, внешний вид, вкус, запах, цвет) показатели продукта проводили на опытных образцах заквасок для кисломолочного напитка на основе козьего молока. При этом в образцы вносили разные концентрации сиропа лактулозы (0,5, 1,0 1,5%). Органолептические показатели кисломолочного напитка при внесении разных концентраций сиропа лактулозы не изменяются по сравнению с контрольным образцом. Титруемая кислотность кисломолочного напитка при увеличении концентрации сиропа лактулозы растет незначительно в пределах нормы (рисунок 12). Количество лактобактерий при увеличении концентрации сиропа лактулозы увеличивается на порядок при внесении 1,0% и 1,5% сиропа. С учетом качественных показателей и экономической выгоды решено использовать сиропа лактулозы в количестве 1,0%. С целью определения зависимости количества клеток в кисломолочном продукте проводились сравнительные исследования кисломолочного продукта с добавлением лактулозы и без добавления.

В результате исследований количества жизнеспособных бактерий в кисломолочных напитках различной жирности существенного изменения их количества не наблюдалось. Логарифмы количества жизнеспособных бактерий в зависимости от количества внесения сиропа лактулозы представлены на рисунке 6

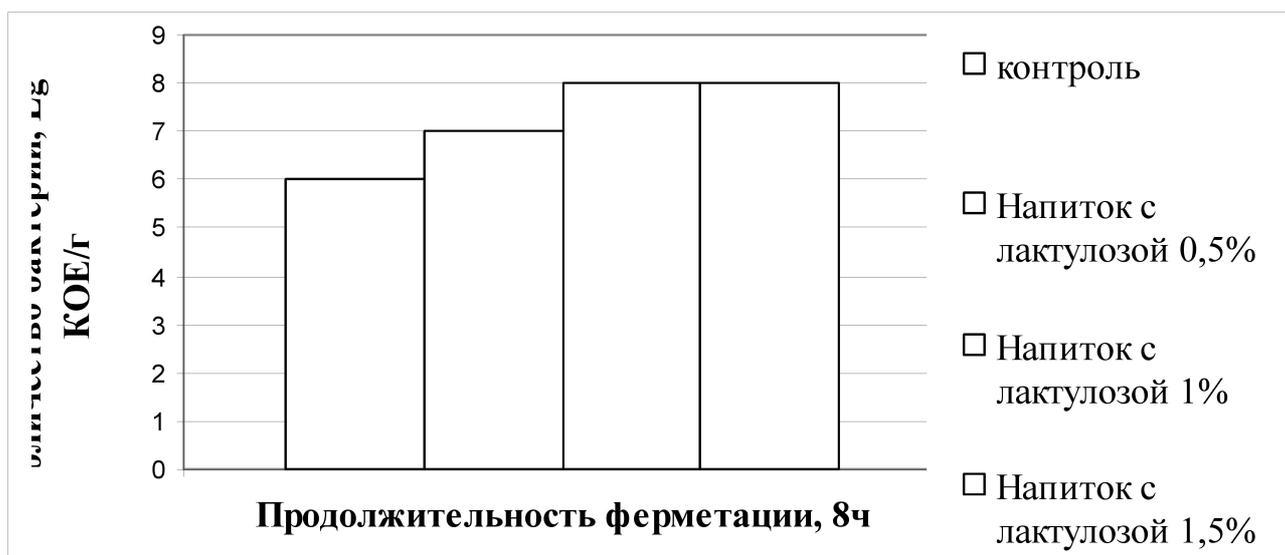


Рисунок 6- Зависимость количества жизнеспособных молочнокислых бактерий в зависимости от количества внесения сиропа лактулозы

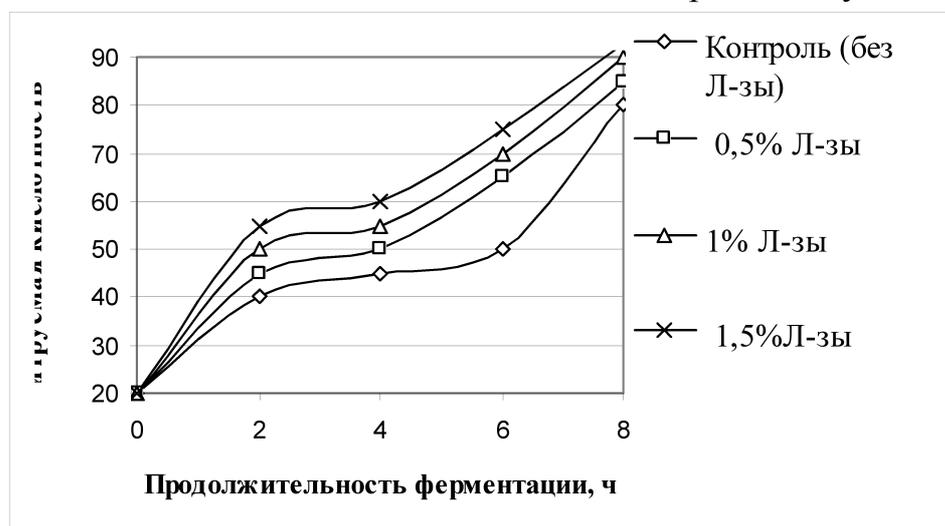


Рисунок 7 – Динамика изменения титруемой кислотности кисломолочного напитка, ж=4,4% в зависимости от внесения количества сиропа лактулозы

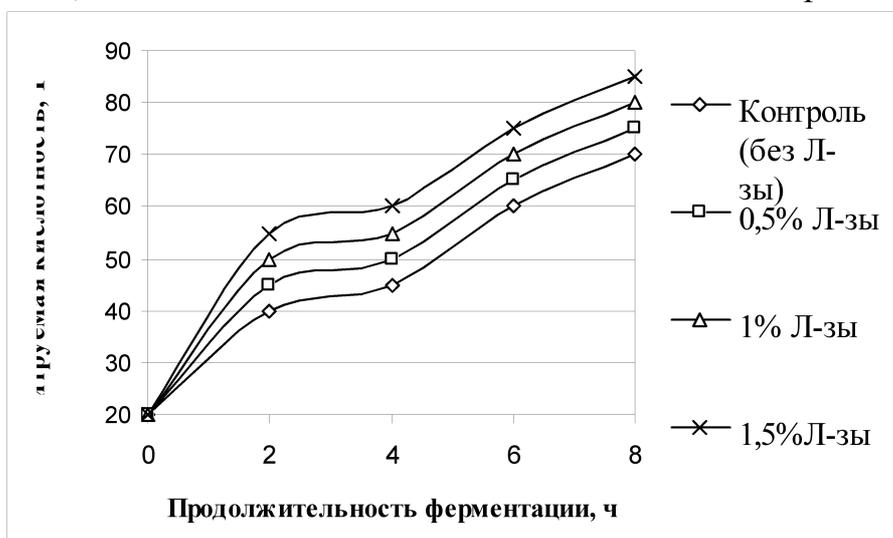


Рисунок 8 – Динамика изменения титруемой кислотности кисломолочного напитка, ж=3,3% в зависимости от внесения количества сиропа лактулозы.

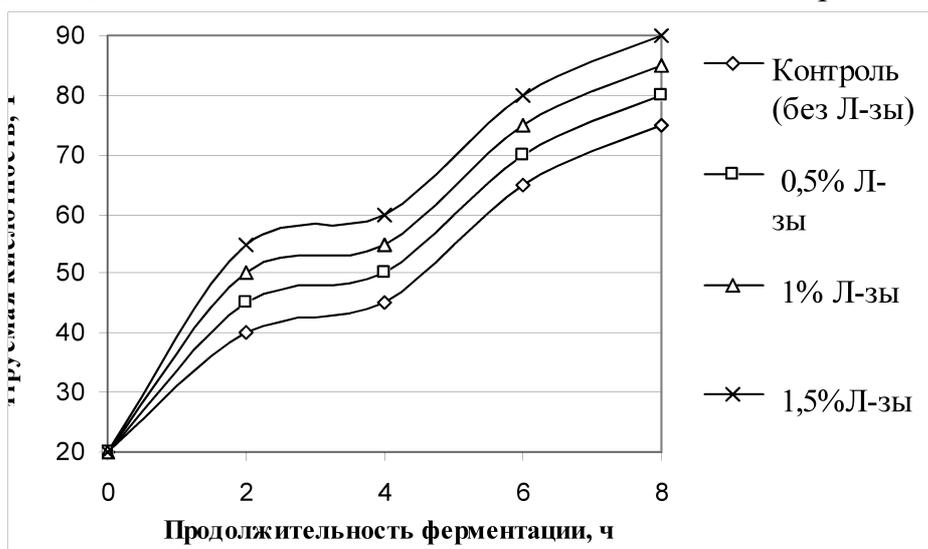


Рисунок 9 – Динамика изменения титруемой кислотности кисломолочного напитка ж=2,5% в зависимости от внесения количества сиропа лактулозы

Анализируя, можно выявить закономерность тенденции стабильности нарастания кислотности в интервал от 2 до 4 часов ферментации, она практически остается неизменной. Тенденция энергичного нарастания кислотности происходит на начальном этапе ферментации, а также при его завершении.

В результате изучения развития лактобактерий *L.acidophilus* в среде козьего молока при различных посевных дозах микроорганизмов установлено оптимальное количество закваски, использование которых обеспечивает достаточно высокий выход молочнокислых бактерий и сравнительно быстрое нарастание кислотности среды в процессе ферментации козьего молока.

Таким образом, разработан рецептурный состав нового вида кисломолочного напитка на основе козьего молока. Модели рецептурного состава кисломолочного напитка представлены в таблице 16.

Таблица 16- Рецептура кисломолочных напитков

Сырье и компоненты	Содержание в г на 100 г продукта
<i>Кисломолочный напиток на основе козьего молока, жирность 4,4%</i>	
Молоко козье, ж=6%	69,9
Обезжиренное молоко, ж=01%	24,1
<i>L. acidophilus</i> . штамм 317/402	5
Сироп лактулозы	1
<i>Кисломолочный напиток на основе козьего молока, жирность 3,3%</i>	
Молоко козье, ж=6%	51,2
Обезжиренное молоко, ж=01%	42,8
<i>L. acidophilus</i> . штамм 317/402	5

Сироп лактулозы	1
<i>Кисломолочный напиток на основе козьего молока, жирность 2,5%</i>	
Молоко козье, ж=6%	37,7
Обезжиренное молоко, ж=01%	56,3
<i>L. acidophilus</i> . штамм 317/402	5
Сироп лактулозы	1

### **3.3.3 Разработка биотехнологического процесса производства кисломолочного напитка на основе козьего молока.**

Биотехнологический процесс приготовления кисломолочного напитка заключается во внесении в нормализованное козье молоко заквасочной микрофлоры *L. acidophilus*. штамм 317/402 с титром  $10^8$  КОЕ/мл, в количестве 5%. В качестве стимулятора роста лактобактерий в продукт добавляется 1% лактулозы. Культивирование лактобактерий ведут при температуре 38-40° С в течение 8-10 часов. Данные режимы ферментации выбраны, исходя из культуральных свойств лактобактерий, согласно которым оптимальной является температура 37-41° С, рН 6-7. При этом образуется плотный стабильный сгусток с приятным вкусом и запахом.

Затем нами, как отмечалось выше, проводился процесс культивирования, который осуществлялся при температуре 38-40° С. Следует отметить, что данный интервал культивирования повышает вероятность контаминации продукта патогенной микрофлорой, например кишечной палочкой, которая оптимально растет при температуре 37-38°С. В этой связи необходимо строгое соблюдение условий асептичности технологического процесса и помещений при производстве данного продукта.

Показатели качества готового продукта консистенция, выраженность вкуса и аромата, микробиологические показатели в значительной степени зависят не только от свойств культур, входящих в состав закваски, но и от скорости развития заквасочной микрофлоры в процессе сквашивания, которую предлагается регулировать начальным соотношением культур в составе комбинированной закваски, дозой закваски и температурой сквашивания.

Температуру сквашивания поддерживали согласно видовому составу микробиоты бактериальной закваски (38-40 °С). Следует отметить, что при температуре культивирования 38-39 °С время ферментации составило 9-9,5 часов, 39-40 °С – 8,5-9 часов, 40-41 °С – 7-8 часов, при температуре культивирования ниже 37 °С время ферментации затягивалось до 12 часов.

Характеристика вариантов исследований зависимости времени ферментации от температуры представлены на рисунке 13.

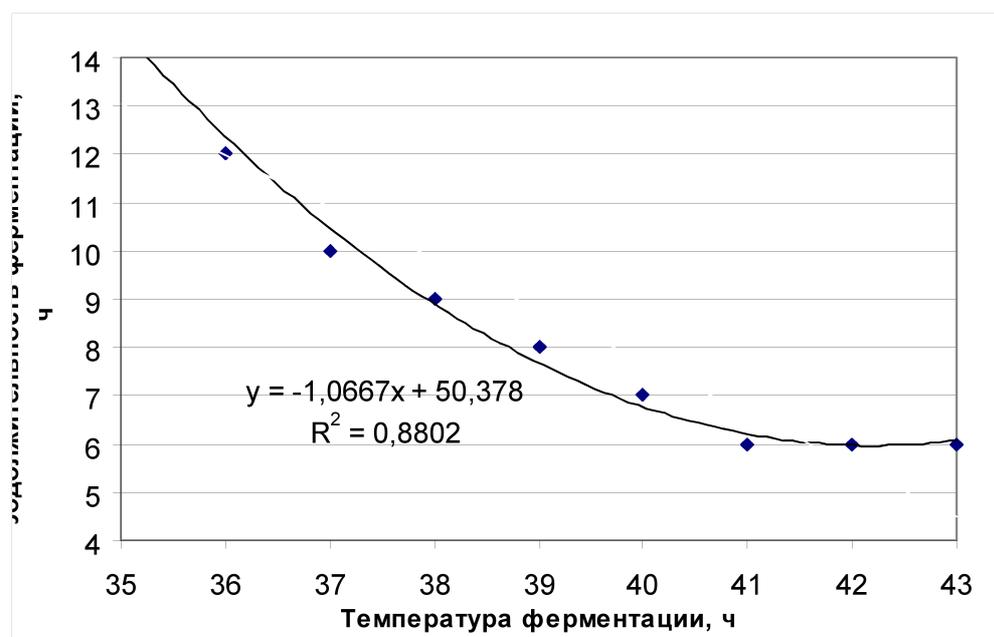


Рисунок 10– Зависимость времени ферментации от температуры сквашивания

График зависимости показывает, что чем выше температура, тем быстрее протекает процесс ферментации. Однако, устанавливая температурный режим культивирования необходимо учитывать культуральные свойства молочнокислых бактерий, выбирая наиболее оптимальную температуру для их развития.

Нами разработана биотехнология производства и оптимизирован рецептурный состав кисломолочного напитка на основе козьего молока

Кисломолочный напиток вырабатывается в следующей последовательности:

- приемка и подготовка молока;
- нормализация (по жиру);
- пастеризация и охлаждение;
- заквашивание и сквашивание;
- фасовка, созревание и хранение.

#### *Приемка и подготовка молока.*

Молоко и основные материалы, применяемые при выработке кисломолочного коктейля, принимают по количеству и качеству, устанавливаемые лабораторией предприятия. Молоко взвешивают, очищают от механических примесей на открытых фильтрах или сепараторах - молокоочистителях. Молоко перед фильтрованием рекомендуется подогреть до 30-40 °С.

#### *Нормализация*

Отобранное по качеству козье молоко нормализуют по содержанию жира. Козье молоко по жиру нормализуют следующим образом: добавляют к цельному молоку обезжиренное коровье молоко. Количество обезжиренного молока необходимого для нормализации, определяли, используя правило квадрата.

### *Гомогенизация*

Нормализованное молоко гомогенизируют при температуре 55-60<sup>0</sup>С при давлении 10-12,0 МПа.

### *Пастеризация и охлаждение*

Нормализованное козье молоко пастеризуют при температуре 74±2<sup>0</sup>С с выдержкой 10-15 мин на пастеризационно-охладительных установках. Затем пастеризованное молоко охлаждают до температуры заквашивания (38-40)<sup>0</sup>С

### *Заквашивание и сквашивание*

Охлажденное до температуры (38-40)<sup>0</sup>С молоко направляют в емкости для заквашивания. Заквашивание с закваской, состоящей из ацидофильной палочки в количестве 5% от заквашиваемого объема молока, а также лактулозу в количестве 1%. Молоко перемешивают в течении 15 минут и оставляют при этой температуре для сквашивания в течении 4-4,5 часа до достижения кислотности сгустка 80-90<sup>0</sup>Т.

### *Фасовка, созревание и хранение*

Готовый продукт фасуют в полистироловых стаканчики различной емкости (от 200-500мл), затем направляют в холодильные камеры для созревания в течении 8 часов при t не выше 8<sup>0</sup> С и хранят до реализации в течении 24 часов с момента окончания биотехнологического процесса.

Следует отметить, что производство данного продукта возможно на технологических оборудовании действующих молочной промышленности.

Общая схема производства кисломолочных напитков термостатом и резервуарным способами приведена на рисунке 2.

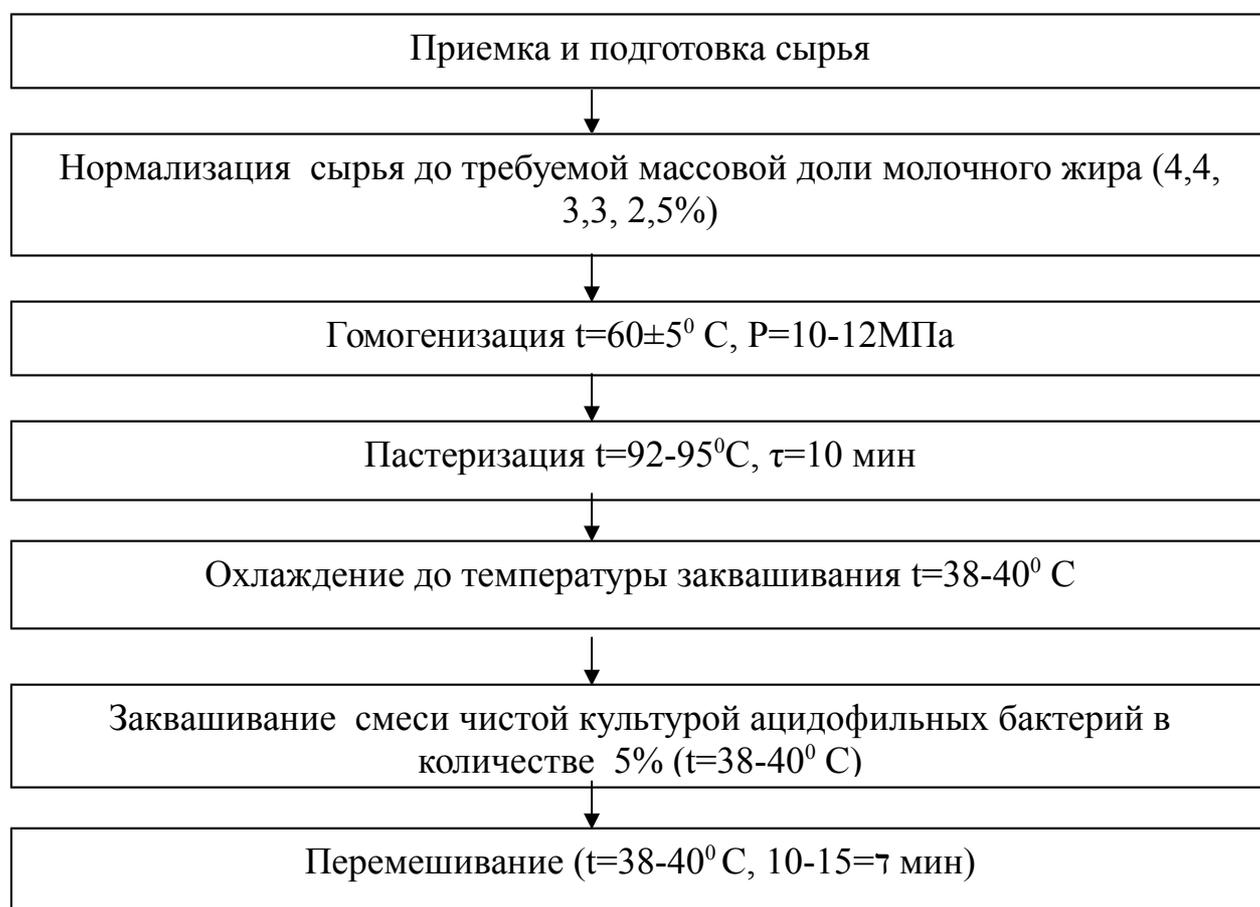




Рисунок 11 - схема производства кисломолочного напитка

*Дефекты, охлаждение, созревание и хранение кисломолочных напитков*

По окончании сквашивания кисломолочные продукты постепенно охлаждают в холодильной камере до температуры не выше  $6\pm 2^{\circ}\text{C}$ , за этот период продукт должен приобрести плотную однородную консистенцию. Ряд период продукт должен приобрести плотную однородную консистенцию. Ряд кисломолочных продуктов после охлаждения (кефир, кумыс) выдерживают определенное время в холодильных камерах для созревания. По окончании созревания продукты передают на хранение и реализацию. Температура воздуха в камерах хранения до реализации должна быть не выше  $6-8^{\circ}\text{C}$ . Срок хранения не более 18 ч. Соблюдение правил охлаждения и хранения является важнейшим гигиеническим требованием.

Готовую продукцию контролируют на наличие бактерий группы кишечной палочки и по микроскопическому препарату от одной-двух партий не реже одного раза в 5 дней. Микробиологические показатели готовой продукции должны быть по коли-титру не ниже 0,3 мл. Особого внимания требует оборудование, непосредственно соприкасающееся с продуктом в процессе, производства. Перед началом технологического процесса следует провести тщательную санитарную обработку такого оборудования. При ухудшении санитарных показателей готового продукта осуществляют тщательный анализ и дополнительный контроль хода технологического процесса для установления причин вторичного обсеменения продукта, проверяют качество закваски, а также санитарно-гигиеническое состояние цеха.

Наиболее распространенными являются пороки вкуса и консистенции:  
 - пресный, недостаточно выраженный вкус - появляется при использовании малоактивной закваски и при низкой температуре сквашивания.

- металлический привкус появляется в продуктах при длительном хранении в плохо луженной посуде;
- кислый вкус (повышенная кислотность) - возникает при нарушении температуры и продолжительности сквашивания и хранения продукта.
- горьковатый привкус - дефект, характерный для ацидофильных продуктов, так как ацидофильная палочка способна выделять протеолитические ферменты, которые расщепляют белки с накоплением пептонов, имеющих горький вкус.
- газообразование- дефект, когда в закваске присутствуют дрожжи.
- выделение сыворотки, происходит при низком содержании сухих веществ или при переквашивании продукта [63].

### **3.5 Исследование качественных показателей кисломолочного напитка**

В лабораторных условиях нами был выработан кисломолочный напиток на основе козьего молока с регулируемым жирно-кислотным составом.

Разработанный кисломолочный напиток на основе козьего молока позволяет:

- улучшить качество напитка за счет повышенной пищевой, биологической и энергетической ценности, высоких органолептических показателей;
- получить напиток функционального назначения с регулируемым жирно-кислотным составом;
- повысить биологическую эффективность;
- получить напиток, обладающий профилактическими свойствами;
- увеличить срок годности напитка.

Формирование пробиотических свойств кисломолочных напитков во многом зависит от состава микробиоты закваски, поэтому необходимы исследования по подбору специальных штаммов бактерий, продуцирующих комплекс биологически активных веществ и ферментов.

#### **3.5.1 Исследование физико-химических свойств молока**

Основным базовым сырьем для производства, разрабатываемого кисломолочного продукта является козье молоко с различной массовой долей жира, нормализованное обезжиренным коровьим молоком (таблица 1). Высокая питательная и биологическая ценность козьего молока, а также лучшая их усвояемость по сравнению с другими видами молока, позволит создать продукт, отвечающий физиологическим потребностям организма в основных пищевых веществах и энергии.

Немаловажный вопрос при производстве молока – срок годности, ведь козье молоко – это дорогостоящий брендовый продукт, и от возможностей его хранения зависит сбыт. Натуральное козье молоко обладает бактерицидными свойствами, в нем содержатся биологически активные вещества, которых нет в

коровьем молоке. Благодаря этим веществам сырое козье молоко долго не скисает при комнатной температуре.

Следует отметить, что козье молоко, как среда обитания молочнокислой микрофлоры, является менее изученным, чем коровье молоко (цельное, обезжиренное, концентрированное и т.д.).

Плотность натурального молока не должна быть ниже 1027кг/м<sup>3</sup>. Плотность молока является функцией его состава, то есть зависит от содержания жира, что подтверждает наши исследования по изучению свойств козьего молока, которые отражены в таблице 17.

Таблица 17 - Свойства молока

Жирность, %	Массовая доля жира, %	Плотность, кг/м <sup>3</sup>	Кислотность	
			Титруемая, °Т	Активная, рН
Козье молоко				
6	6 ± 0,1	1030	19	6,55
Нормализованное козье молоко				
4,4	4,4 ± 0,1	1029	19	6,50
3,3	3,3 ± 0,1	1028	16	6,45

Продолжение таблицы 17

2,5	2,5 ± 0,1	1027	16	6,45
Обезжиренное коровье молоко (обрат)				
0,1	0,1	1026	11	6,42

Следующим этапом являлся изучение содержания белка в козьем молоке различной жирности, а также в обезжиренном коровьем молоке.

Для определения содержания белков использовали метод формалинового титрования. Результаты отражены в таблице 18.

Таблица 18 - Белковый состав молока

Жирность, %	Массовая доля белка, %	Содержание казеина, %
Козье молоко		
6,0	4,31±0,1	3,53±0,1
Нормализованное козье молоко		
4,4	4,12±0,1	3,37±0,1
3,3	3,83±0,1	3,14±0,1
2,5	3,83±0,1	3,14±0,1
Обезжиренное коровье молоко (обрат)		
0,1	1,9±0,1	1,42±0,1

По результатам исследования видно, что жирность молока не оказывает влияние на содержания белков в нем, т.к. белки находятся в водной фракции молока. Анализируя, можно сделать вывод, что казеин в козьем молоке содержится в большем количестве, чем в коровьем.

Пищевая ценность пищевого продукта — совокупность свойств пищевого продукта (содержание углеводов, жиров и белков в продукте), при наличии которых удовлетворяются физиологические потребности человека в необходимых веществах и энергии.

При изучении пищевой ценности было выяснено, что она зависит от содержания в молоке жиров, белков и углеводов. Результаты исследований приведены в таблице 19.

Таблица 19 - Пищевая ценность молока

Жирность молока, %	Содержание белков, %	Содержание жиров, %	Содержание углеводов, %	Пищевая ценность, ккал
Козье молоко				
6,0	4,31±0,1	6,0±0,1	4,85	84,34
Нормализованное козье молоко				
4,4	4,12±0,1	4,4±0,1	4,85	68,68
3,3	3,83±0,1	3,3±0,1	4,85	58,06
2,5	3,83±0,1	2,5±0,1	4,85	50,62
Обезжиренное коровье молоко (обрат)				
0,1	1,9±0,1	1,9±0,1	4,1	32,12

Массовую долю сухих веществ молока можно определить расчетным путем по модифицированной формуле Фаррингтона:

$$C=(4,9Ж+D)/4+0,5, (1)$$

где С - массовая доля сухих веществ в молоке, %; 4,9-постоянный коэффициент; Ж - массовая доля жира в молоке, %; D - плотность молока, град; 0,5-поправка на плотность молока.

Соответственно, зная массовую долю сухих веществ нетрудно определить и массовую долю влаги в молоке по формуле:  $W=(100-C)$ ,

где С - массовая доля сухих обезжиренных веществ в молоке, %

Доля сухого обезжиренного остатка высчитывается по формуле:

$$СОМО=(D+2)/4+0,225Ж, (2)$$

Где D – плотность молока, град; Ж - массовая дол жира в молоке, %

Результаты исследования молока приведены в таблице 20

Таблица 21 - Содержание массовой доли влаги и сухих веществ в нормализованном молоке

Жирность молока, %	Массовая доля сухих веществ, %	Массовая доля влаги, %	СОМО
4,4±0,1	11,23	88,77	7,82
3,3±0,1	9,81	90,19	8,24
2,5±0,1	8,72	91,28	12,94

### 3.5.2 Определение эффективного способа внесения сиропа лактулозы

В качестве стимулятора роста лактобактерий и обогащения продукта предусматривалось внесение сиропа лактулозы. При включении лактулозы в молочные продукты для взрослых количество полезных микроорганизмов нашего здоровья (бифидобактерий и лактобактерий) увеличивается с 7,5 до 57% [22].

Для определения этапа внесения лактулозы, было изучено влияние способа внесения лактулозы на содержание молочнокислых бактерий.

С этой целью были выработанные два вида напитка с внесением сиропа

лактолозы до и после процесса сквашивания.

Результаты исследования представлены в таблице 22

Таблица 22 - Зависимость количество молочнокислых бактерий от способа внесения сиропа лактулозы

Образец	Время наблюдения, сутки			
	2	4	6	8
<i>Кисломолочный напиток на основе козьего молока, жирность 4,4%</i>				
Контроль	$4 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^7$	$7 \cdot 10^6$	$3 \cdot 10^6$
до сквашивания	$2 \cdot 10^8$	$5 \cdot 10^7$	$4 \cdot 10^7$	$1 \cdot 10^7$
после сквашивания	$7 \cdot 10^7$	$5 \cdot 10^8$	$4 \cdot 10^8$	$2 \cdot 10^8$

Продолжение таблицы 22

<i>Кисломолочный напиток на основе козьего молока, жирность 3,3%</i>				
Контроль	$5 \cdot 10^7$	$3 \cdot 10^7$	$6 \cdot 10^6$	$4 \cdot 10^6$
до сквашивания	$6 \cdot 10^8$	$4 \cdot 10^8$	$7 \cdot 10^7$	$3 \cdot 10^7$
после сквашивания	$7 \cdot 10^7$	$6 \cdot 10^8$	$5 \cdot 10^8$	$4 \cdot 10^8$
<i>Кисломолочный напиток на основе козьего молока, жирность 2,5%</i>				
Контроль	$6 \cdot 10^7$	$4 \cdot 10^7$	$5 \cdot 10^6$	$4 \cdot 10^6$
до сквашивания	$7 \cdot 10^8$	$5 \cdot 10^8$	$6 \cdot 10^7$	$3 \cdot 10^7$
после сквашивания	$8 \cdot 10^7$	$7 \cdot 10^8$	$5 \cdot 10^8$	$4 \cdot 10^8$

Анализ полученных данных показал, что существуют различия в конечном содержании молочнокислых бактерий при внесении лактулозы до и после сквашивания молока. Это можно объяснить следующим образом: при внесении лактулозы до сквашивания происходит резкий рост молочнокислых бактерий в первые сутки за счет ферментации ими лактулозы во время сквашивания напитка и соответствующего температурного режима, который служит пусковым механизмом специфической перестройки метаболизма бактерий. Но уже через на 3-5-е сутки рост бактерий прекращается и снижается до уровня контроля. В то время как внесение лактулозы после сквашивания на этапе охлаждения напитка нарастание молочнокислых бактерий идет постепенно и содержание их остается высоким и на 7-10-е сутки.

Таким образом оптимальным является добавление сиропа лактулозы в кисломолочный напиток после процесса сквашивания молока т.к численность молочнокислых бактерий к концу предлагаемого срока хранения (7 суток) выше, чем при внесении лактулозы до сквашивания.

### 3.5.3 Изучение органолептических и качественных показателей продукта

Далее нами проведены исследования по определению качественных показателей полученного нового вида молочного продукта кисломолочного напитка. При изучении органолептических свойств напитков было выяснено: кисломолочный напиток, приготовленный на основе козьего молока 4,4% жирности имеет молочнокислый вкус, однородную консистенцию, молочно-белый цвет с кисломолочным запахом; кисломолочный напиток 3,3% жирности имеет нежный чистый вкус, вязкую, однородную консистенцию, чистый кисломолочный запах и молочно-белый цвет; кисломолочный напиток жирностью 2,5% имеет молочнокислый вкус, однородную консистенцию, молочно-белый цвет со специфическим кисломолочным запахом.

Следует отметить, что все кисломолочные напитки имели однородную консистенцию, без сгустков с приятным кисломолочным запахом.

Более густую консистенцию имел напиток, приготовленный из козьего молока 4,4% жирности и напиток, приготовленный из козьего молока жирностью 3,3%, более жидкую по сравнению с ними имел кисломолочный напиток, приготовленный из козьего молока жирностью 2,5%.

Отметим, что основным процессом при получении кисломолочных продуктов является образование молочной кислоты из лактозы. Молочная кислота не только подавляет развитие вредной микрофлоры, но и вызывает в молоке ряд химических и физико-химических изменений. Молочная кислота отщепляет от кальциевой соли казеина кальций с образованием молочнокислого кальция и свободного казеина. Одновременно повышается концентрация ионов водорода в молоке, и, после достижения изоэлектрической точки (pH=4.6), казеин коагулирует, что приводит к образованию студня, плотность которого зависит от кислотности молока; чем выше последняя, тем больше плотность [5]. Что и подтверждается тот факт, что кисломолочные напитки жирностью 4,4% и 2,5% имели более густую консистенцию по сравнению с кисломолочным напитком 2,5% жирности, и соответственно более высокую кислотность (Таблица 23)

Для экспертной оценки качества продукции рекомендуется использовать шкалы с нечетным числом уровней качества, чаще применяют балловые шкалы, имеющие три, пять, семь, девять градаций качества, которые могут совпадать или не совпадать с количеством баллов.

Разработана унифицированная пятибалльная шкала по органолептической оценке, опираясь на ГОСТ 28283-89

Таблица 23 – Качественные уровни органолептической оценки кисломолочного напитка

Качественные уровни				
5 баллов	4 балла	3 балла	2 балла	1 балл
Цвет				
Белый, равномерный по	Белый, равномерный	Белый, равномерный	Белый, не равномерный	Белый, не равномерный

всей массе	по всей массе	по всей массе	по массе	по массе
<b>Вкус</b>				
Чистый, кисломолочный, без посторонних привкусов	Более кислый, без посторонних привкусов	Сильно кислый	Не чистый, сильно кислый с посторонним и привкусами	Не характерный вкус с явными признаками порчи и дефектов

Продолжение таблицы 3

<b>Запах</b>				
Чистый кисломолочный, без посторонних запахов	Более кислый без посторонних запахов	Сильнокислый без посторонних запахов	Менее чистый и свежий, кисломолочный со слабым ароматом	Кисломолочный, с посторонним запахом, не характерный запах, с явными признаками порчи
<b>Консистенция</b>				
Однородная, с нарушенным или ненарушенным густотком, без газообразования	Менее однородная, с нарушенным или ненарушенным густотком, без газообразования	Менее однородная, с нарушенным или ненарушенным густотком, без газообразования, с незначительным выделением сыворотки	Не однородная, с большим количеством сыворотки, могут быть не явные признаки газообразования или тягучести	Не однородная, с очень большим количеством сыворотки, с явными признаками газообразования или тягучести

Органолептические свойства кисломолочного напитка отражены в таблице 25.

Таблица 25 - Органолептические показатели разрабатываемого продукта

<b>Показатель</b>	<b>Характеристика</b>
Внешний вид и	Однородная, в меру вязкая.

консистенция	Допускается консистенция слегка вязкая. Поверхность и масса Однородная, без отделения сыворотки
Вкус и запах	Чистый, кисломолочный, без посторонних привкусов и запахов
Цвет	Белый, равномерный по всей массе

Результаты органолептической оценки кисломолочных напитков по пятибалльной шкале приведены в таблице 7.

Таблица 24 – Результаты органолептических оценок разработанных кисломолочных напитков.

Продукт	Качественные уровни			
	цвет	запах	вкус	консистенция
Вариант 1	5	4	4	5
Вариант 2	5	5	5	5
Вариант 3	5	5	4	5

Таким образом, по результатам дегустации, наиболее высоким органолептическим качеством обладал кисломолочный напиток на основе козьего молока 3,3% жирности.

Результаты оценки внешнего вида, консистенции, вкуса, запаха и цвета кисломолочного напитка полностью соответствует характеристики к данному виду продукта.

Органолептически полученный кисломолочный продукт имеет вкус кефира и ацидофильного молока и содержит в 1 мл  $1 \times 10^8$  КОЕ ацидофильных бактерий «Наринэ».

Определение микробиологических показателей разработанного нами кисломолочного продукта представлены в таблице 26.

Таблица 26 - Микробиологические показатели кисломолочного напитка 4,4, 3,3 и 2,5% жирности

Наименование показателей	Фактические данные
БГКП (колиформы), в 0,1 г продукта	не обнаружено
Патогенные, в т. ч. сальмонеллы, в 25 г продукта	не обнаружено

<i>S. aureus</i>	не обнаружено
Плесени, КОЕ/г, не более	не обнаружено

Результаты исследования показывают высокие качественные показатели, т.е. отсутствие в исследуемом объекте наличие бактерии группы кишечной палочки как патогенной, так и условно-патогенной микрофлоры.

Пищевые продукты по своему качеству должны соответствовать требованиям государственных стандартов. При санитарной оценке пищевого продукта определяют пригодность или непригодность его в пищу. Продукт считается доброкачественным, если он лишен признаков порчи и безвреден для здоровья

Нами проведены исследования по определению показателей безопасности кисломолочного напитка таблица 27.

Таблица 27 – Показатели безопасности кисломолочного напитка на основе козьего молока 4,4, 3,3 и 2,5% жирности

№	Наименования показателей	Результаты исследований	Допустимые уровни
1	Токсичные элементы: мг/кг, не более: Свинец Мышьяк Кадмий Ртуть	Менее 0,02 Менее 0,01 Менее 0,005 Менее 0,0008	0,1 0,05 0,03 0,005
2	Микотоксины: мг/кг, не более Афлатоксин М1	не обнаружено	0,0005
3	Пестициды: мг/кг, не более Гексахлорциклогексан ДДТ и его метаболиты	не обнаружено не обнаружено	0,05 0,05
4	Цезий-137 Бк/кг	0,01±1,64	не более 100
5	Стронций-90 Бк/кг	0,01±4,21	не более 25

Наличие токсичных элементов, микотоксинов, пестицидов в исследуемом объекте не были обнаружены, наличие солей тяжелых металлов обнаружены в пределах допустимой нормы.

Пищевая ценность продуктов питания – показатель, отражающий всю полноту полезных свойств продукта, характеризующийся химическим составом, в том числе и органолептическими достоинствами.

Пищевая ценность определялась по формуле:

$$П.Ц. = 4 (Б + У) + 9 Ж \quad (3)$$

Результаты пищевой ценности разработанных кисломолочных напитков отражены в таблице 28.

Таблица 28 - Пищевая и биологическая ценность продукта

Показатель	Нормируемые значения
<i>Кисломолочный напиток на основе козьего молока, жирность 4,4%</i>	
Массовая доля жира, % не менее	4,4±0,1
Массовая доля белка, % не менее	4,12
Массовая доля углеводов, % не менее	4,85
Кислотность, °Т	90
Активная кислотность, рН	4-5
Температура при выпуске с предприятия, С	4±2
Энергетическая ценность, ккал, не менее	75,48

Продолжение таблицы 28

<i>Кисломолочный напиток на основе козьего молока, жирность 3,3%</i>	
Массовая доля жира, % не менее	3,3±0,1
Массовая доля белка, % не менее	3,83
Массовая доля углеводов, % не менее	4,85
Кислотность, Т	80
Активная кислотность, рН	4-5
Температура при выпуске с предприятия, С	4±2
<i>Кисломолочный напиток на основе козьего молока, жирность 2,5%</i>	
Массовая доля жира, % не менее	2,5±0,1
Массовая доля белка, % не менее	3,83
Массовая доля углеводов, % не менее	4,85
Кислотность, Т	85
Активная кислотность, рН	4-5
Температура при выпуске с предприятия, °С	4±2
Энергетическая ценность, ккал, не менее	57,22

Как видно из таблицы физико-химические показатели молочного продукта массовая доля жира, белка, углеводов, а также титруемая и активная кислотность соответствуют требуемым нормам к данному виду продукта.

Для оценки биологической ценности кисломолочного коктейля был определен аминокислотный состав и рассчитан аминокислотный скор.

Таблица 29 - Аминокислотный состав и аминокислотный скор кисломолочного напитка на основе козьего молока

Аминокислоты	Содержание аминокислот в г, в 100 г, белка,		Скор, %
	ФАО /ВОЗ	Кисломолочный напиток на основе козьего молока	
Валин	50,0	44,67±0,02	89
Лизин	55,0	57,76±0,03	105

Треонин	40,0	42,86±0,05	107
Метионин + цистин	35,0	28,37±0,01	86
Изолейцин	40,0	48,94±0,07	122
Лейцин	70,0	90,26±0,11	129

Продолжение таблицы 29

Фенилаланин + тирозин	60,0	55,39±0,02	163
Триптофан	10,0	10,99±0,02	110

Данные, представленные в таблице 12 свидетельствуют о том, что незаменимые аминокислоты в кисломолочных напитках хорошо сбалансированы. Следует отметить высокий процент сора фенилаланин + тирозин и лейцина, которые являются лимитирующими биологическую ценность продукта.

Таким образом, на основании проведенных теоретических и экспериментальных исследований определена пищевая, биологическая и энергетическая, который позволяет сделать вывод, что разработанный продукт сбалансирован по пищевой, биологической и энергетической ценности и отвечает требованиям, предъявляемым к данной группе кисломолочных продуктов.

### 3.5.4 Изучение срока хранения кисломолочного напитка

В целях изучения хранимособности кисломолочного продукта отслеживалась кислотность продукта на протяжении восьми дней хранения. В процессе 72-часового хранения значительного изменения органолептических показателей продукта не происходило. Однако после 72 ч хранения произошло их ухудшение лишь у кисломолочных продуктов 4,4 жирности, а именно появление излишне кислого вкуса (таблица 30). У кисломолочного продукта 3,3 % и 2,5% жирности значительные изменения органолептических показателей произошли лишь после 96 ч. хранения. Следует отметить, что консистенция продуктов на протяжении всего времени хранения сохранялась однородной, отделения сыворотки не наблюдалось.

Таблица 30. Изучение хранимособности продукта

Жирность молока, %	Продолжительность хранения продукта, ч								
	0	24	48	72	96	120	144	168	192
Титруемая кислотность, °Т									
Кисломолочный напиток на основе козьего молока									
4,4	90	95	105	110	120	125	130	135	140

3,3	80	85	90	95	100	105	110	115	120
2,5	85	90	95	100	105	110	115	120	125

Сравнительный анализ производственных свойств изучаемых комбинаций молочнокислых культур свидетельствует, что они проявляют себя как более энергичные кислотообразователи в козьем молоке с содержанием жира – 4,4 %, чем в козьем молоке с большим 3,3% и меньшим содержанием жира (2,5%).

Проведенные исследования позволяют сделать вывод о том, что в качестве основы для разрабатываемого кисломолочного продукта целесообразнее использовать козье молоко 3,3% и 2,5% жирности, позволяющее получить ферментированный продукт с улучшенными органолептическими показателями и, в частности, с умеренной кислотностью. Кроме того, именно в козьем молоке 3,3 % жирности наблюдается наибольшая активность и жизнеспособность изучаемых комбинаций культур.

Совокупность органолептических, химических и микробиологических характеристик, полученных в процессе ферментации козьего молока с массовой долей жира 2,5, 3,3 и 4,4% позволяет рекомендовать в качестве основного сырья для кисломолочного комбинированного напитка козье молоко с массовой долей жира 3,3%.

Изменения функционально – технологических свойств (кислотообразование) кисломолочного напитка в процессе хранения при различных температурных режимах представлены на рисунке 12

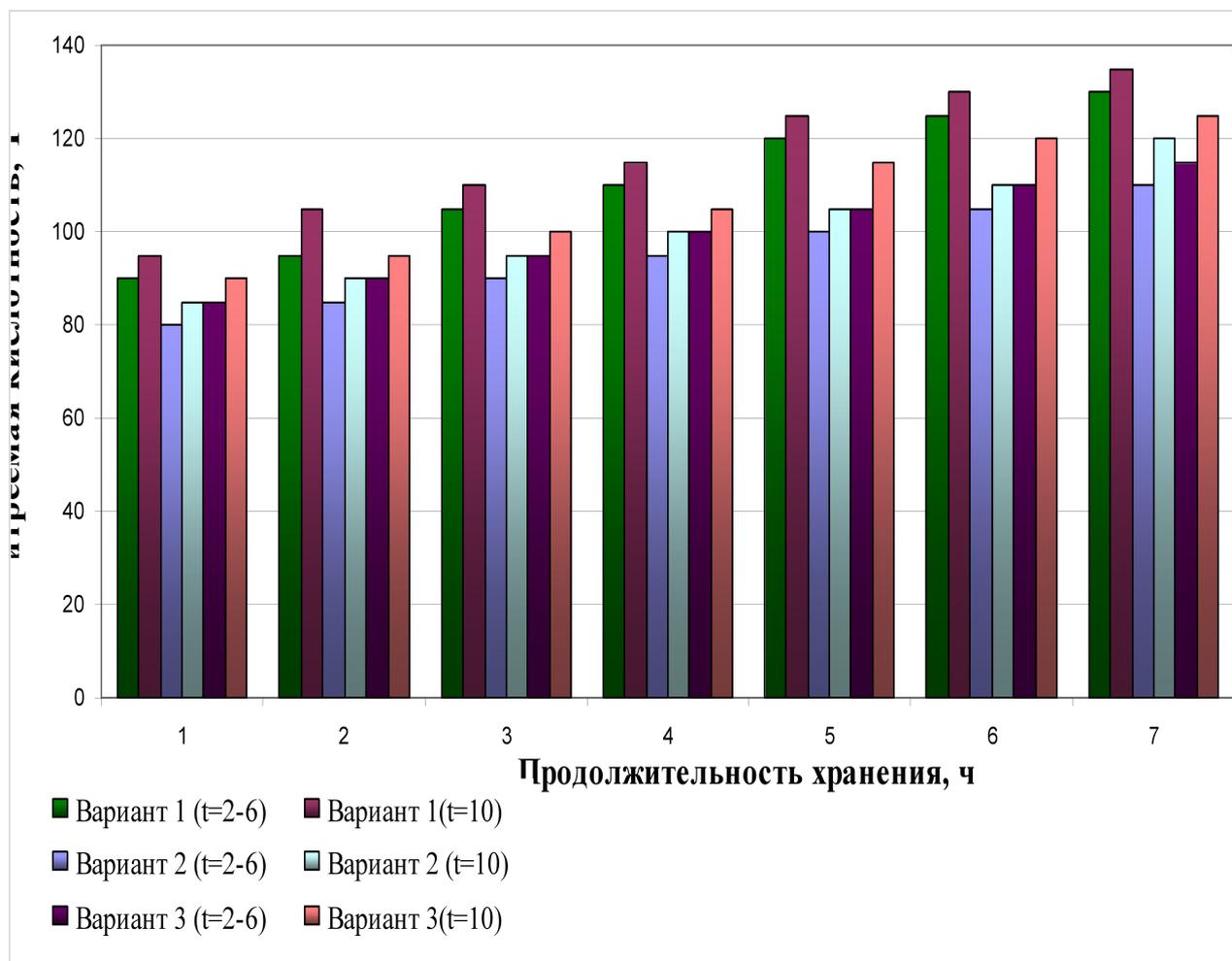


Рисунок 12 - Изменения титруемой кислотности кисломолочного напитка в процессе хранения при различных температурах

Для исследования изменения структурно - механических свойств кисломолочного напитка была изучена условная вязкость кисломолочных напитков.

Данная величина структурно-механических свойств кисломолочного напитка отражена в таблице 31.

Таблица 31 – Структурно-механические показатели опытных образцов кисломолочного напитка в процессе хранения при различных температурах

Показатель	T= (2-6) °C			T= 10 °C		
	Вариант 1	Вариант 2	Вариант 3	Вариант 1	Вариант 2	Вариант 3
Условная вязкость, с	30	27	25	26	23	20

Исследование изменения кислотности показывает, что нарастание кислотности кисломолочного напитка в процессе хранения зависит от температуры и от срока продолжительности хранения.

Данные таблицы 14 и рисунка 15 показывают, что с увеличением температуры продукта и продолжительности хранения изменяется и структурно

– механические показатели.

На основании проведенных исследований химического состава, функционально - технологических, структурно-механических и реологических свойств кисломолочного напитка в процессе хранения, установлен срок хранения кисломолочного напитка:

- при температуре (+2) – (+ 6 ) °С – 7 суток;
- при температуре (+10) °С – не более 5 суток

### 3.6 Изучение микрофлоры кисломолочного напитка

В качестве закваски для приготовления кисломолочного напитка использовалась культура ацидофильных бактерий *Lactobacillus acidophilus* шт. Ер. 317/402

Для установление культуральных, тинкториальных и морфологических признаков

Для изучения морфологии микроорганизмов кисломолочного напитка готовились мазки, которые окрашивали метиленовым синим. Микроскопия напитка показала наличие слегка изогнутых и прямых тонких палочек, 2,2•0,8-0,9 мкм с закругленными концами, неподвижных, отдельных и в цепочках (рис.13).

При окрашивании метиленовой синью в клетках наблюдаются четко выраженные метахроматические зерна

При микроскопии мазков обнаружены палочковидные микроорганизмы, что свидетельствует о присутствии в продукте специфической молочнокислой микрофлоры.

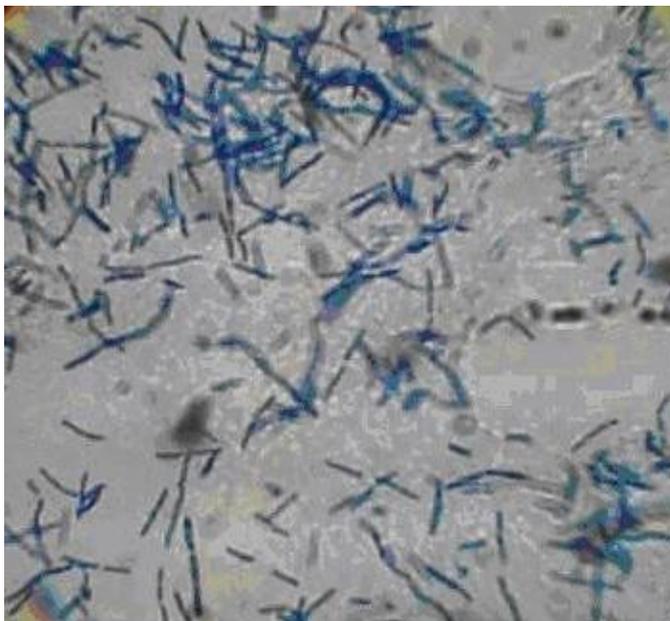


Рисунок 13 – Микроскопическая картина кисломолочного напитка

С целью изучения морфологии микроорганизмов содержащихся в кисломолочном напитке мы использовали элективные питательные среды для получения накопительной культуры. Продукт высевался на питательный агар.

По истечению сроков культивирования подсчитывали количество выросших колоний и описывали их морфологию. При посеве продуктов наблюдался рост белых колоний, характерных для кисломолочных бактерий (рис.7). Колонии на агаризованных средах белого или кремового цвета, глубинные, мелкие, выпуклые, непрозрачные, гладкие или шероховатые, образуют клубки в виде перепутанных нитей или ватных комочков.



Рисунок 14 - Результат посева продукта на МПА.

Следующим этапом микробиологических исследований было изучение морфология колоний. Для изучения морфологических особенностей, а также для проверки чистоты культуры производили микроскопию мазка, окрашенного по методу Грама (рис. 8).

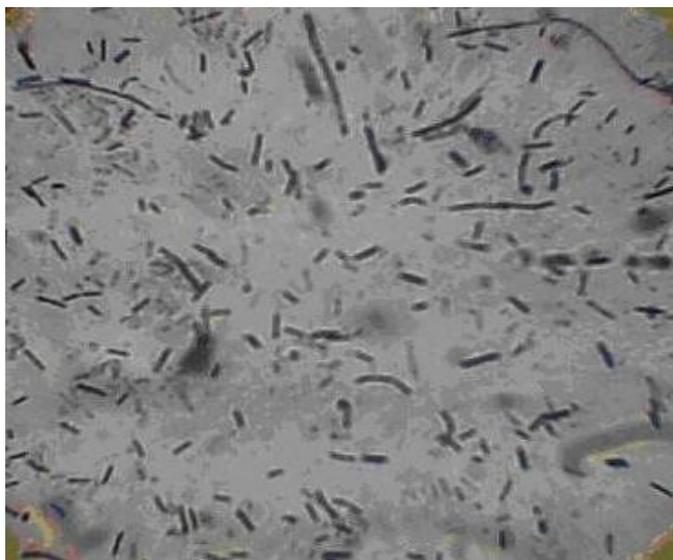


Рисунок 15 – Микроскопическая картина ацидофильных бактерий,

## окрашенных по Граму

При изучении микроскопической картины напитка в поле зрения обнаруживались грамположительные слегка изогнутые, прямые короткие и длинные палочки молочнокислых бактерий *L.acidophilus*.

Таким образом, исследованы морфологические, тинкториальные и культуральные признаки микрофлоры кисломолочного напитка. Установлено, что *Lactobacillus. acidophilus* – это действительно гомоферментативные неподвижные грамположительные микроаэрофильные палочки

### 3.7 Исследование биологических свойств кисломолочного напитка

Следующим этапом являлось исследование ферментативных, протеолитических и антагонистических свойств кисломолочного напитка.

#### Исследования ферментативных свойств продуктов

Сахаролитические свойства микроорганизмов выявляют при посеве бактерий на дифференциально-диагностические среды с разными углеводами. Чаще всего применяют среды Гисса. Для изучения ферментативных свойств кисломолочных напитков продукты засеивались на среды Гисса с лактозой, глюкозой, сахарозой, фруктозой и маннитом. Посев производился уколом бактериологической петлём в толщу среду, после чего инкубировались в термостате при температуре 37 °С в течении в течении 24 часов.

После инкубирования учитывают результат ферментации углеводов по изменению цвета питательной среды (рис. 16-18).

Результаты данных исследований приведены в таблице 32.

Таблица 32 - Результаты ферментативного расщепления углеводов продуктов

Продукт	Углеводы				
	лактоза	глюкоза	фруктоза	сахароза	маннит
Кисломолочный напиток на основе козьего молока, жирность 4,4%	не полное расщепление	полное расщепление	полное расщепление, незначительное газообразование	не полное расщепление, незначительное газообразование	полное расщепление, незначительное газообразование
Кисломолочный напиток на основе козьего молока, жирность 3,3%	не полное расщепление	полное расщепление, незначительное газообразование	полное расщепление	полное расщепление	полное расщепление, незначительное газообразование

		ние			ние
Кисломолочный напиток на основе козьего молока, жирность 2,5%	не полное расщепление	полное расщепление	не полное расщепление	не полное расщепление	не полное расщепление, незначительное газообразование

В результате изучения ферментативных свойств напитков было выяснено, что наиболее выраженными ферментативными свойствами обладает кисломолочный напиток на основе козьего молока жирностью 3,3%

**Исследование протеолитических свойств продуктов.** С целью исследования протеолитических свойств продукты засеивались на МПЖ. Посев производился уколом в толщу среды. Засеянные пробирки с МПЖ инкубировались в термостате в течение 24 ч. По окончании периода инкубации пробирки, вынутые из термостата, опускались в холодную воду.

При изучении протеолитических свойств напитков произошло полное расщепление белков желатина, о чем свидетельствует разжижение питательной среды МПЖ.

Установлено, что кисломолочный напиток на основе козьего молока с различной массовой доли жира обладает протеолитической активностью.

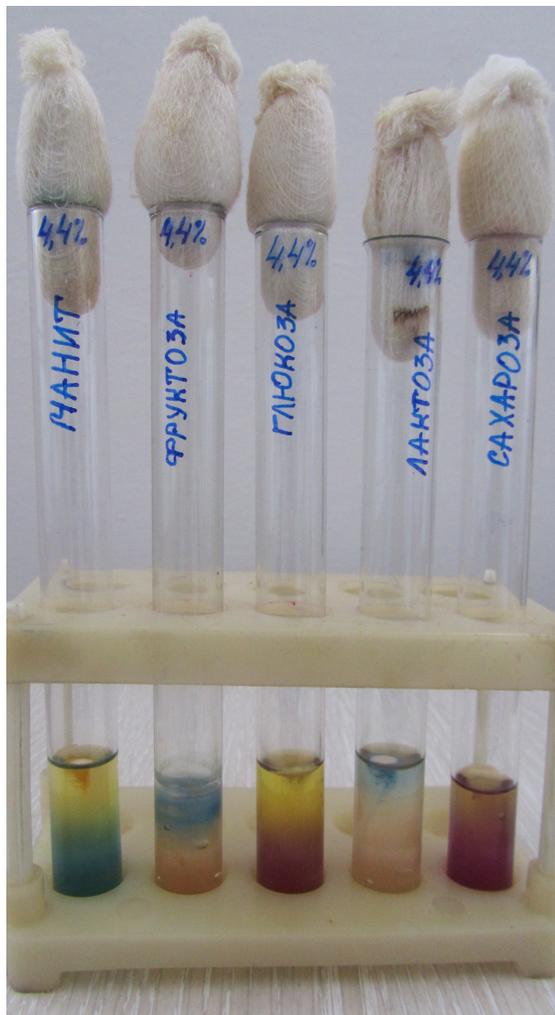


Рисунок 16. Ферментативное расщепление углеводов  
Вариант 1

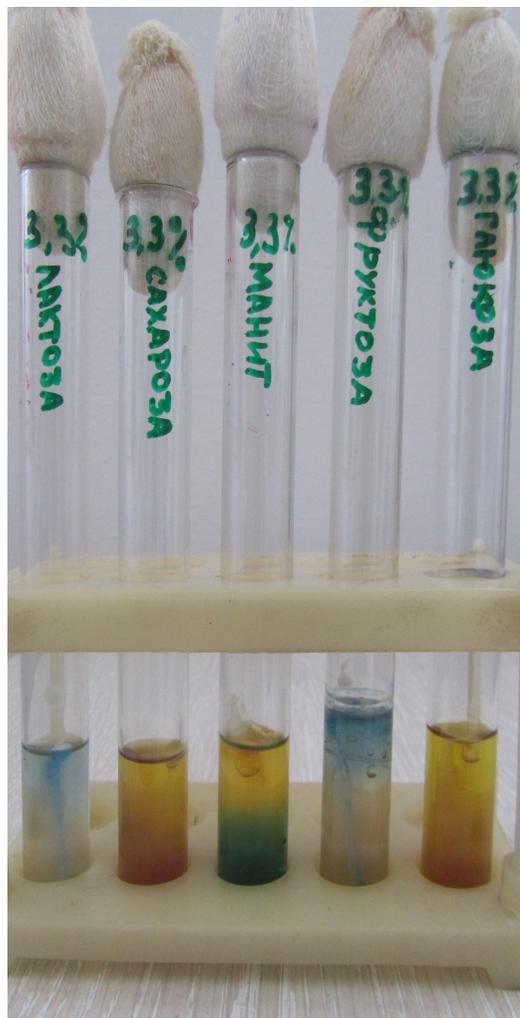


Рисунок 17. Ферментативное расщепление углеводов  
Вариант 2

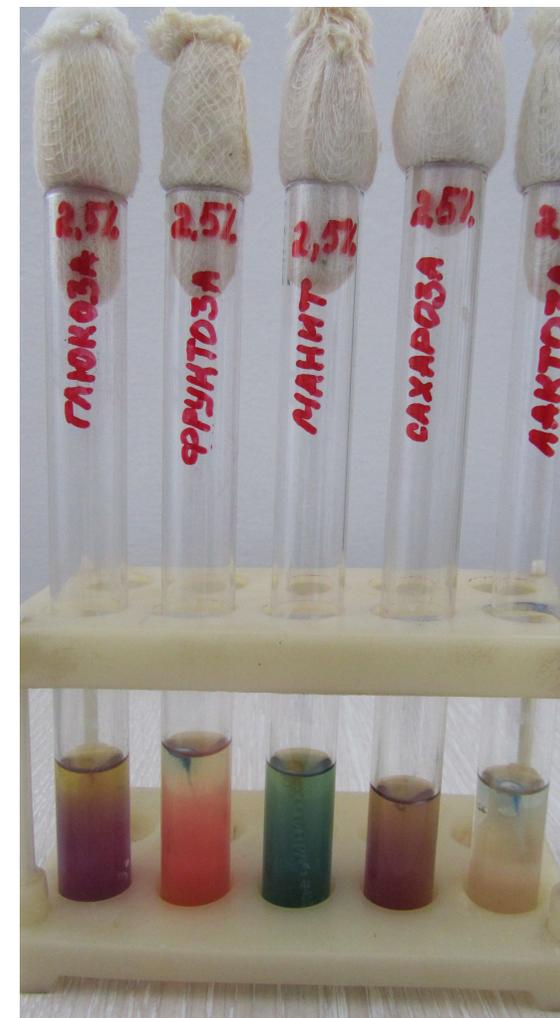


Рисунок 18. Ферментативное расщепление углеводов  
Вариант 3

### Исследование бактерицидных свойств напитка по отношению к условно-патогенной микрофлоре (БГКП).

← Антагонистическая активность бактерий определяет выживание микроорганизмов при их взаимодействии в бактериальных ассоциациях, которые являются частью ассоциативного симбиоза - многокомпонентной системы, где кроме хозяина и доминантного микросимбионта учувствуют ассоциативные симбионты, выполняющие функцию формирования и обеспечения стабильности и продуктивности симбиоза. При этом антагонистическая активность доминантной микрофлоры регулируется ассоциативными бактериями.

← Антагонистическое действие молочнокислых бактерий в отношении различных патогенных агентов обусловлено продукцией этими микроорганизмами антибиотикоподобных веществ типа ацидофилина, лактоцидина, ингибиторов широкого спектра действия, что и определяет взаимодействие между микроорганизмами в ассоциациях, способствуя стимуляции бактериального антагонизма против широкого круга патогенных микроорганизмов[64].

Проявление бактерицидных свойств лактобактерий прежде всего связана с продуцированием в больших количествах органических кислот (главным образом, молочной), антибиотикосхожих субстанций различного химического состава, спектра и механизма действия (лактоцины), перекиси водорода. Установлен факт выраженного влияния *L.acidophilus* на иммунную систему организма через стимуляцию миграции моноцитов, активацию фагацитарной активности [65].

Для исследования бактерицидных свойств кисломолочного напитка использовался метод диффузии в агар. Суть метода заключается в том, что фильтровальные диски диаметром 8 мм, предварительно простерилизованные в сушильном шкафу, опускались в готовый продукт и суспензию микроорганизмов. После чего стерильным пинцетом пропитанные диски вносились в чашки Петри с питательным агаром, куда заранее засеивалась кишечная палочка в разведении 1:1000000 и культивировались при температуре 28-30 °С в течение 24 ч. По окончании периода культивирования определялась чувствительность тест-организма (*E.coli*) к продуктам и культуре, путем измерения расстояние от диска с микроорганизмом-антагонистом до начала роста тест-организма (рис.9).

Результаты зоны задержки роста кишечной палочки приведены в таблице 32.

Таблица 32 – Результаты изучения антагонистической активности

Продукт	Зона задержки роста <i>E.coli</i> ,мм
1.Вариант 1 в разведении 1:100	1,7±0,2
2. Вариант 2 в разведении 1:100	1,60±0,3

3. Вариант 3 в разведении 1:100	1,4±0,1
Продолжение таблицы 32	
4.Вариант 1	2,0±0,1
5. Вариант 2	2,5±0,1
6. Вариант 3	2,2±0,2

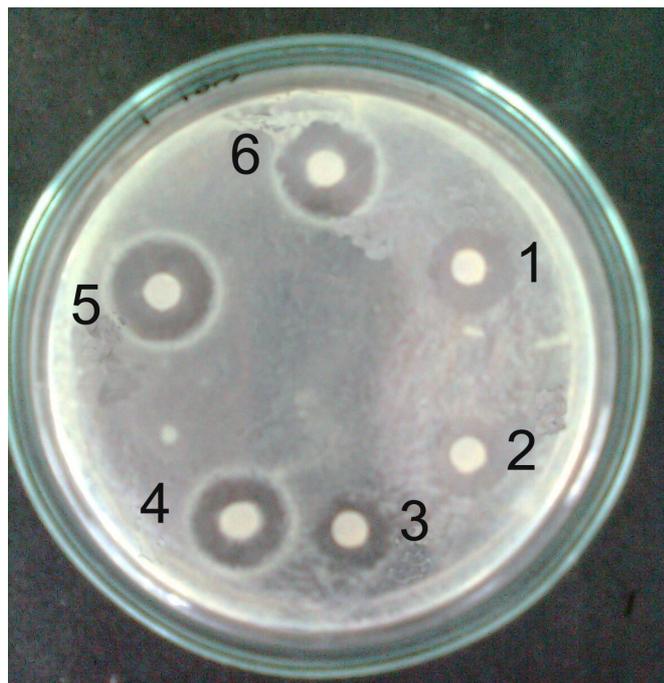


Рисунок 19. Бактерицидная активность кисломолочного напитка на основе козьего молока с различной массовой долей жира

- 1 - диск, пропитанный Вариантом 1 в разведении 1:100;
- 2 - диск, пропитанный Вариантом 2 в разведении 1:100;
- 3 диск, пропитанный Вариантом 3 в разведении 1:100;
- 4 - диск, пропитанный Вариантом 1;
- 5 - диск, пропитанный Вариантом 2;
- 6 - диск, пропитанный Вариантом 3

Из таблицы 10 видно, что все продукты и исследуемые микроорганизмы обладают антагонистической активностью.

Наибольшими бактерицидными свойствами обладает кисломолочный напиток, приготовленный из козьего молока 3,3 % жирности. Следовательно, можно сделать вывод, что лактобактерии ведут себя более активно в козьем молоке жирностью 3,3%

В состав кисломолочного напитка входят молочнокислые бактерии, обладающие разной антимикробной специфичностью. Нами было изучено

влияние композиционного напитка на жизнеспособность условно-патогенной микрофлоры на примере БГКП *Echerichia coli* и *Staphylococcus aureus*.

Динамика роста исследуемых бактерий присутствующие в нашем кисломолочном напитке представлена на рисунке 7-8.

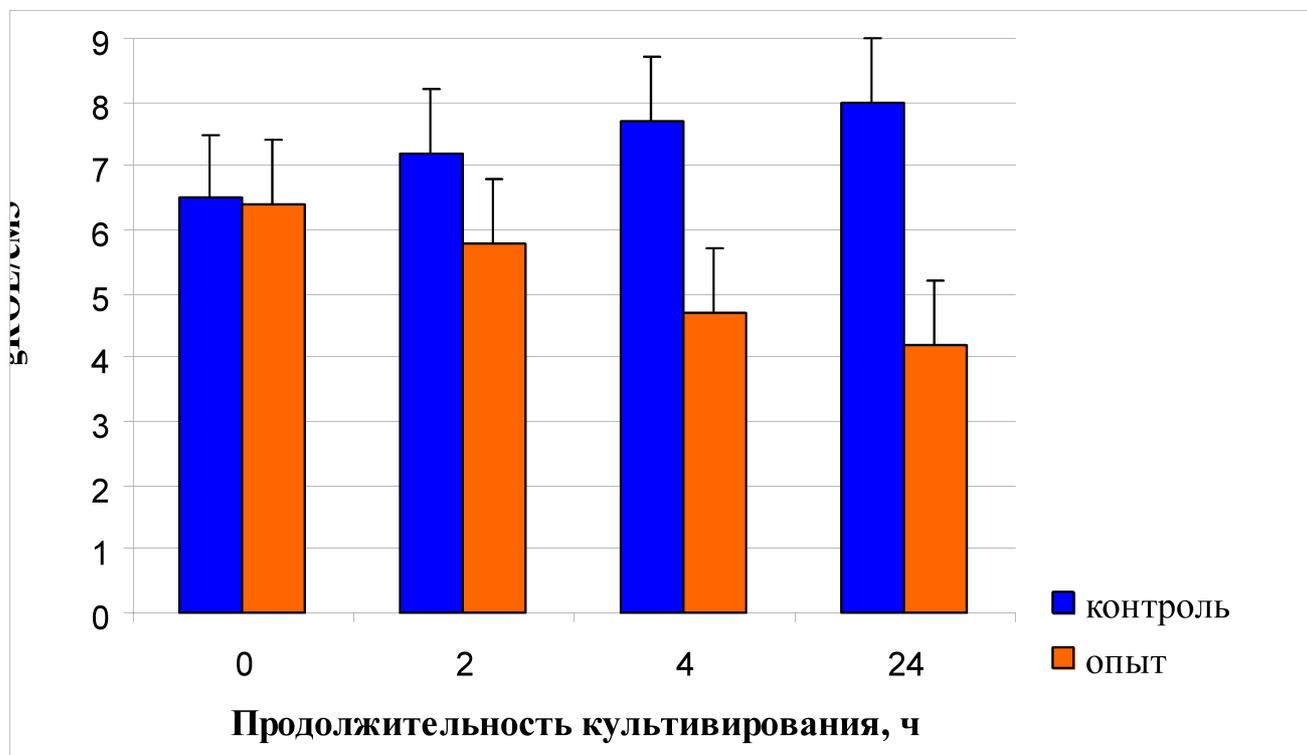
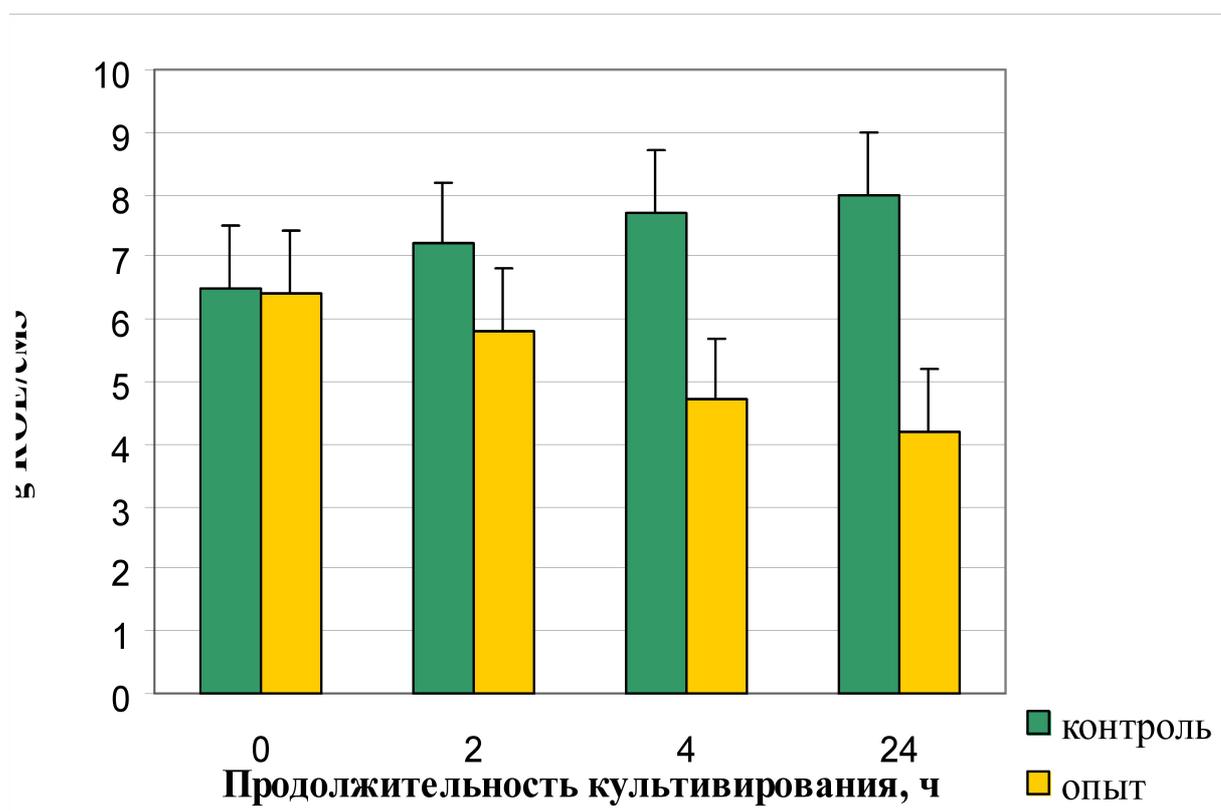


Рисунок 20 – Влияние микрофлоры кисломолочного напитка на развитие *E.coli* в процессе культивирования



## Рисунок 21– Влияние микрофлоры кисломолочного напитка на развитие *S. aureus* в процессе культивирования

Полученные данные свидетельствуют о том, что компонентный состав напитка вызывает снижение количества жизнеспособных клеток тест-культуры. Характер антимикробного действия кисломолочного напитка на тест-культуру различен. В отношении *Echerichia coli* действие компонентов напитка наиболее выражено при двухчасовом культивировании с последующим снижением степени подавления развития микроорганизма, тогда как в отношении *Staphylococcus aureus* максимальное ингибирование роста наблюдается в более поздние сроки и в период 4-24 часов культивирования рост остается сниженным. Следует отметить оптическое изменение питательной среды, а именно ее осветления в процессе совместного культивирования.

Таким образом, комплексный биологически активный кисломолочный продукт обладает антимикробным действием в отношении как грамположительных, так и грамотрицательных условно-патогенных микроорганизмов, в связи с чем, он может рассматриваться в качестве эффективного антимикробного средства с более широким спектром действия.

На основании проведенных теоретических и экспериментальных исследований определена пищевая, биологическая и энергетическая ценность, который позволяет сделать вывод, что разработанный продукт сбалансирован по пищевой, биологической и энергетической ценности и отвечает требованиям, предъявляемым к данной группе кисломолочных продуктов.

По данным проведенных исследований на разработанный продукт оформлено санитарно-гигиеническое заключение [Приложение А, В, С].

Таким образом, отработаны рецептуры и биотехнологический регламент производства опытных образцов кисломолочного напитка на основе козьего молока, апробированный в производственных условиях, с определением комплекса качественных показателей, которые соответствуют требованиям СанПиН 4.01.071.03. РК. Основным сырьем разработанного кисломолочного напитка является козье молоко. Актуальным считается использование принципа безотходного производства, который реализуется за счет использования обрата с целью нормализации козьего молока до определенной жирности. На сегодняшний день в основном вырабатываются молочнокислые напитки на основе коровьего молока. В этой связи, безусловный интерес представляет возможность биотехнологии получения кисломолочного напитка на основе козьего молока функциональной направленности с высокими качественными показателями и показателями безопасности.

### **3.8 Экономические расчеты производственной себестоимости кисломолочного напитка на основе козьего молока.**

При проведении расчетов использовались следующие данные:

- сменная производительность в процессе производства кисломолочного коктейля – 1000 л.
- продолжительность рабочей смены – 8 часов, эффективный фонд рабочего времени – 240 дней;
- количество работников занятых на производстве – 2 человека;
- стоимость сырья и вспомогательных материалов для производства кисломолочного коктейля указана в калькуляции производственной себестоимости (таблица 33);
- производственная себестоимость 1 л – 155 тенге (4,4%), 117тенге (3,3%), 102 тенге (2,5%)

Таблица 33 – Калькуляция стоимости сырья и материалов для выработки кисломолочного напитка , жирность 4,4, 3,3, 2,5% 1000 л продукта

<b>Сырье и материалы</b>	<b>Норма/л</b>	<b>Цена/тг</b>	<b>Сумма/тг</b>
<i>Кисломолочный напиток на основе козьего молока (ж=4,4%)</i>			
Молоко козье	699	150	104 850
Молоко коровье обезжиренное (обрат)	241	10	2 410
Закваска	50	666	33 300
Лактулоза	10	200	5 000
Выход			145 560
<b>Стоимость 1 л. коктейля - 145 тенге</b>			
<i>Кисломолочный напиток на основе козьего молока (ж=3,3%)</i>			
Молоко козье	437	150	64 650
Молоко коровье обезжиренное (обрат)	373	10	3 730
Закваска	50	666	33 300
Лактулоза	10	200	5 000
Выход			106 680
<b>Стоимость 1 л напитка - 106 тенге</b>			
<i>Кисломолочный напиток на основе козьего молока (ж=2,5%)</i>			
Молоко козье	322	150	48 300
Молоко коровье обезжиренное (обрат)	508	10	5 080
Закваска	50	666	33 300
Лактулоза	10	500	5 000
Выход			91 680
<b>Стоимость 1 л напитка – 91 тенге</b>			

На практике калькуляция затрат используется при оценке эффективности работы подразделений, ценообразовании, управлении издержками компании. Для того чтобы рассчитать себестоимость выпускаемой продукции, финансовому директору потребуется выбрать метод расчета себестоимости, а также определить принципы распределения косвенных затрат.

Для расчета производственной себестоимости 1л. кисломолочного коктейля необходимо провести калькуляцию издержек производства, отраженных в производственной себестоимости [58].

Таблица 34 – Калькуляция производственной себестоимости 1л. кисломолочного напитка на основе козьего молока, жирность 4,4%3,3 ,2,5%

Статьи издержек производства	Сумма в тенге
<i>Кисломолочный напиток на основе козьего молока (ж=4,4%)</i>	
Основные вспомогательные материалы	145
Транспортные - заготовительные расходы	1,72
Эл./энергия на тех. цели	3,45
Зар. плата	3,27
Отчисления от фонда заработной платы	1,03
Накладные расходы	0,69
Производственная себестоимость	155
<i>Кисломолочный напиток на основе козьего молока (ж=3,3%)</i>	
Основные вспомогательные материалы	106
Транспортные - заготовительные расходы	2,36
Эл./энергия на тех. цели	3,45
Зар. плата	3,27
Отчисления от фонда заработной платы	1,03
Накладные расходы	0,94
Производственная себестоимость	117
<i>Кисломолочный напиток на основе козьего молока (ж=2,5%)</i>	
Основные вспомогательные материалы	91
Транспортные - заготовительные расходы	2,75
Эл./энергия на тех. цели	3,45
Зар. плата	3,27

Отчисления от фонда заработной платы	1,03
Накладные расходы	0,91
Производственная себестоимость	102

При сравнении производственной себестоимости трех вариантов разработанных кисломолочных напитков с различной массовой долей жира получены следующие результаты. Производственная себестоимость варьируется в зависимости от изменения структуры основных и вспомогательных материалов. При жирности продукта 4,4% себестоимость ( $\Pi/c_1$ ) составляет 155 тг/л при жирности 3,3% - 117 тг/л, а самая низкая себестоимость продукта была зафиксирована при жирности 2,5%, равная 102 тг/л.

Экономический эффект от производства кисломолочных напитков с различной массовой долей жира будет выражаться:

$$\begin{aligned} \text{Э}_k &= \Pi/c_1 \geq \Pi/c_2 \geq \Pi/c_3, \text{ т.е.} \\ 155 &> 117 > 102 \end{aligned}$$

При производстве продукта жирностью 3,3% получены следующие значения:

$$\text{ЭЭ} = 155 \text{ тг/л} - 117 \text{ тг/л} = 38 \text{ тг/л}$$

При производстве продукта жирностью 2,5% получены следующие значения:

$$\text{ЭЭ} = 155 \text{ тг/л} - 102 \text{ тг/л} = 53 \text{ тг/л}$$

Экономический эффект от производства кисломолочного напитка с различной жирностью составляет: 38 тенге при производстве 1 л. напитка жирностью 3,3% и 53 тенге от производства кисломолочного напитка с массовой долей жира 2,5%.

Рассчитаем годовой экономический эффект при различных вариантах:  
при снижении жирности до 3,3%:  $240000 \text{ л} * 38 \text{ т/л} = 9\,120\,000 \text{ тенге}$ .  
при снижении жирности до 2,5%:  $240000 \text{ л} * 53 \text{ т/л} = 12\,720\,000 \text{ тенге}$ .

Таким образом, годовой экономический эффект при производстве кисломолочного напитка 3,3% жирности составит 9 120 000 тенге, что на 25% ниже, чем при производстве напитка 4,4%, а при производстве 2,5% жирности 12 720 000 тенге, что составит 34% экономии.

Новый разработанный нами кисломолочный напиток может внедряться на действующие молочные предприятия и не требует дополнительных капиталовложений, т.е. дополнительного технологического оборудования. Это позволяет легко внедрить данный разработанный нами кисломолочный напиток в производство.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

В результате экспериментальных исследований разработан кисломолочный напиток на основе козьего молока функционального назначения. Полученные в настоящей работе результаты исследований стали основой биотехнологии получения нового вида продукта на основе козьего молока, обладающий бактерицидными свойствами. Производство нового кисломолочного напитка позволяет реализовать принцип безотходного производства путем использования побочного продукта молочной промышленности обрат.

Компонентный состав кисломолочного напитка позволил повысить биологическую ценность продукта, и биохимическую активность с высокими качественными показателями и показателями безопасности.

**На основании проведенных исследований можно сделать следующие выводы:**

1. Разработана биотехнология производства и оптимизирован рецептурный состав кисломолочного напитка на основе козьего молока.
2. Изучен процесс ферментации козьего молока с различной массовой доли жира лактобактериями с внесением стимулятора роста кисломолочных бактерий сиропа лактулозы
3. Экспериментально обосновано влияние сиропа лактулозы на рост молочнокислых бактерий. Установлено, что оптимальным является добавление сиропа лактулозы в кисломолочный напиток в количестве 1 % после процесса сквашивания, т.к численность молочнокислых бактерий в процессе хранения выше, чем при внесении сиропа лактулозы до сквашивания.
4. Установлено оптимальное количество заквасочной микрофлоры *L.acidophilus* 5%.
5. Разработаны рациональные параметры биотехнологии получения и хранения кисломолочного напитка.
6. Установлен срок хранения кисломолочного напитка:
  - при температуре (+2) – (+ 6 ) °С – 7 суток;
  - при температуре (+10) °С – не более 5 суток.
7. Определены качественные показатели кисломолочного напитка на основе козьего молока
8. Показана высокая биологическая ценность разработанного кисломолочного напитка

9. Выявлено бактерицидное действие кисломолочного напитка в отношении грамположительной и грамотрицательной условно-патогенной микрофлоры *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus*.

10. Проведена оценка экономической эффективности разработанных биотехнологий и рецептур. Биотехнологии указанных новых видов продуктов не требуют применения какого-либо специального оборудования, и поэтому внедрение их не сопряжено с дополнительными затратами.

В результате проведенных работ на основе изучения биосочетаемости компонентного состава разработана биотехнология получения кисломолочного напитка на основе козьего молока, позволяющий расширить ассортимент кисломолочных продуктов, обладающие функциональными свойствами.

Разработан биотехнологический процесс производства нового кисломолочного напитка.

Определены качественные показатели с установлением срока хранения, подобраны и оптимизированы компоненты напитка.

#### **Рекомендации по практическому использованию результатов**

На основании полученных данных можно дать следующие рекомендации для использования в практических целях:

1. Разработан кисломолочный напиток на основе козьего молока исключительно из натуральных ингредиентов функционального назначения.

2. Создан функциональный продукт на основе козьего молока с учетом биосочетаемости вводимой закваски и обоснованием уровня введения их в состав продукта.

3. Биотехнологии указанных новых видов продуктов не требуют применения какого-либо специального оборудования, и поэтому внедрение их не сопряжено с дополнительными затратами.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 Бондаренко В.М., Рубакова Э.И., Лаврова В.А. Иммуностимулирующее действие лактобактерий, используемых в качестве основы препаратов пробиотиков // Журн. микробиол. - 1998. - №5. - С.107-112
- 2 Дудкин М.С., Черно Н.К. и др. Пищевые волокна. Киев: Урожай, 1988. - 215 с
- 3 Постановление Правительства Республики Казахстан «О концепция здорового образа жизни и питания» от 7 июня 1999 года № 710
- 4 Зайко Г.М., Таманова М.Ю. Получение очищенного пектина для использования в лечебных и профилактических целях // Изв. ВУЗов. Пищевая технология. - 1998. - №1. - С.13-19.
- 5 Шендеров Б.А, Манвелова М.А. Функциональное питание и пробиотики: микроэкологические аспекты. - М.: Агар, 1997. - 24 с.
- 6 Спиричев В.Б. Медико - биологическое обоснование обогащения продуктов детского питания витаминами: Труды первой межд. конф. «Науч. и практич. аспекты совершенствования качества продуктов детского и геродиетического питания». - М.: Пищепромиздат, 1997. - С.98-108.
- 7 Соколовский В.П., Вольфсон Г.Г. Пищевая и лечебная ценность молока и молочных продуктов. - М.: Пищевая промышленность, 1986. - 80 с.
- 8 Войнар А.И. Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека. М.: Высшая школа, 1960. - 544 с.
- 9 Ноздрюхина Л.Р. Биологическая роль микроэлементов в организме животных и человека. - М.: Наука, 1977. - 183 с
- 10 Максимов В.И., Бондаренко В.М., Родоман В.Е. Влияние пектина на микрофлору желудочно-кишечного тракта // Журн. микробиол. - 1998. - №6. - С.107-108.
- 11 Урбене С.К., Ляскаускайте Д.Б. реологические показатели новых биологически ценных кисломолочных напитков: Тез. докл. Третьей Всес. науч. - техн. конф. «Теор. и практич. аспекты применения методов физ - хим. мех. с целью соверш. и интенсиф. технол. процессов пищ. производств». - М.: ИФХМ, 1990. - С.7.
- 12 Харитонов В.Д., Зобкова З.С. Молочные продукты Европейского стандарта // Изв. ВУЗов. - 1997. - №1. - С.41-42.
- 13 Квасников Е.И., Нестеренко О.А. Молочнокислые бактерии и пути их использования. - М.: Наука, 1975. - 210 с.
- 14 Семенихина В.Ф. Конференция по кисломолочным продуктам // Молочная промышленность. - 1983. - №12. - С.39-40.
- 15 Королёва Н.С. Кисломолочные продукты // Молочная промышленность. - 1983. - №1. - С.27-31.
- 16 Курмангалиев С.Г. Здоровое питание – забота государства // Пищевая и

- перерабатывающая промышленность. Алматы, 2001. – №1. – 7 с.
- 17 Самойлов В.А., Саян В.Ш., Нестеренко П.Г. Кисломолочных напитки с пробиотической активностью. // Переработка молока, 2007. №11.- С.26-28.
- 18 Медведева И.В., Шоломов И.Ф., Одышев Е.Ф. и др. //Клинико-патогенетические аспекты изменений клеточных мембран под воздействием факторов питания / Биологически активные добавки к пище и проблемы оптимизации питания: Материалы VI Международного симпозиума. Сочи, 5-7 ноября. – 2002. – С.161-163.
- 19 Воробьёв А.А., Лыкова Е.А. Бактерии нормальной микрофлоры: биологические свойства и защитные функции // Журн. микробиология. -1999. - №6. - С.102-105.
- 20 Семенихина В.Ф., Рожкова И.В., Сундукова М.Б. Кисломолочные продукты нового поколения // Молочная промышленность. - 1999. - №7. - С.29-30
- 21 Куваева И.Б., Кузнецова Г.Г. Антагонистическая активность микробных популяций защитной флоры и её связи с характеристикой микробиоценоза и факторами питания // Вопросы питания. - 1993. - №3. - С.46-50.
- 22 Семенихина В.Ф., Сундукова М.Б. Использование бифидобактерий при выработке детских кисломолочных продуктов // Молочная промышленность. - 1980. - №3. - С.33-34.
- 23 Патент Японии № 59-88085 Приготовление закваски, содержащей живые клетки *Lactobacillus bifidus* и молочные бактерии.
- 24 Красникова Л.В., Салахова И.В., Шаробайко В.И., Эрвольдер Т.М. Бифидобактерии и использование их в молочной промышленности: Обзорная информация. - М.: АгроНИИТЭИММП, 1991. - 32 с.
- 25 Крашенинин П.Ф., Гаврилова Н.Б., Гречук Е.Ю.: Тез докл. ч.1. Вторая Всерос. науч - техн. конф «Прогресс. экол. безопасн. технол. хранения и комплексн. перераб. сельхозпродукции для создания продуктов питания повыш. пищ. и биол. ценности», Углич, 1996. - 298 с.
- 26 Борисова Г.В. Использование бифидобактерий в производстве творога // Изв. ВУЗов. Пищевая технология. - 1987. - №3. - С.61-63.
- 27 Бондаренко В.М., Рубакова Э.И., Лаврова В.А. Иммуностимулирующее действие лактобактерий, используемых в качестве основы препаратов пробиотиков // Журн. микробиол. - 1998. - №5. - С.107-112
- 28 Гаврилова Н.Н., Ратникова И.А., Росляков А.А., Сагинова С.К. Электронно-микроскопические исследования характера роста сальмонелл лактобактерий // Биотехнология. - 1999. - №1. - С.48-54.
- 29 Якушенко М.Н., Тхагапсоева Ж.М., Бондаренко В.М. Регуляция микроэкологических нарушений кишечника у новорожденных детей с перинатальной патологией новым пробиотиком бифидумбактерином-форте // Журн. микробиол. - 1997. - №6. - С.18-22.
- 30 Хамагаева И.С. Доступный лизин кисломолочного продукта из козьего молока: 2 Всерос. науч - техн. конф. «Прогрессивные экологически безопасные технологии хранения и комплексной переработки сельхозпродукции для создания продуктов питания повышенной пищевой и

- биологической ценности». - Углич, 1-4 октября, 1996: Тез. докл. Ч.2. - Углич, 1996, с. 659
- 31 Чаблин О.В, Гостищева Н.М. Перспективы развития функциональных продуктов питания.// Функциональные продукты. 2007. №5.- С.32-35.
- 32 Ростроса Н.К. Технология молока и молочных продуктов. – М.: Пищевая промышленность. 1980. – С. 192
- 33 Тепел А. Химия и физика молока. - М.: Пищевая промышленность. 1979.- С. 187.
- 34 Горбатова К.К. Биохимия молока и молочных продуктов:Учебник/ 2-е изд., перераб. и доп..- М.: Колос, 1997.- 288с.
- 35 Остроумова Т.Л. Козье молоко - натуральная формула здоровья/ Т.Л. Остроумова и др.// журн. Молочная промышленность. - 2005 - №8 -С. 69-70
- 36 Шевчук В.Б. к.т.н., Малышева О.А. Козье молоко, ВГМХА им. Н.В. Верещагина
- 37 Горбатова К.К. Биохимия молока и молочных продуктов:Учебник/ 2-е изд., перераб. и доп..- М.: Колос, 1997.- 288с.
- 38 Меркушева И.Н. Пищевая и биологическая ценность козьего молока/ И.Н. Меркушева // журн. Изв. Вузов. Пищевая технология. - 2005 - № 2-3 - С. 44-46.
39. [http://www.pure-line.ru/catalog/koze\\_moloko.html](http://www.pure-line.ru/catalog/koze_moloko.html)
- 40 Протасова Д.Г. Свойства козьего молока/ Д.Г. Протасова// Молочная промышленность. 2001. - №8.
- 41 Кунижев С.М., Андрусенко, С.Ф. Направления использования козьего молока / С.М. Кунижев, С.Ф. Андрусенко // Переработка молока. – 1999. – №15. – С. 22 – 23.
- 42 Амбразевич Е.Г. Особенности европейского и азиатского подхода к ингредиентам для продуктов здорового питания // Пищевая промышленность. 2005. – №4. – С.12–13.
- 43 Кочеткова А.А., Колеснов А.Ю. и др. Современная теория позитивного питания и функциональные продукты // Пищевая промышленность. 1999. – №4. – С. 5–6.
- 44 Кроха Н.Г., Бурцева Г.А., Жилина Е.В, Сергиенко О.И., Титова Н.В. Продукты лечебно-профилактического назначения // Тезисы докладов научной конференции «Экология человека: проблемы и состояние лечебно-профилактического питания». 26-30 сентября. – М. –1994. – С.145–147.
- 45 Хлебников В.И., Крылов А.М., Устинова А.В., Бобрикова Е.Г. Влияние рецептуры и технологии производства на диетические свойства продукта для питания детей с заболеваниями тонкого кишечника. Тез. докл. 3 Всесоюзной научно-технической конференции / Разработка процессов получения комбинированных продуктов питания. М.: 1988. – 132 с.
- 46 Ковров Т.В. Создание новых продуктов повышенной и биологической ценности //Пищевая промышленность. – 1998. – №12. – С.43
- 47 Чаблин О.В, Гостищева Н.М. Перспективы развития функциональных продуктов питания.// Функциональные продукты. 2007. №5.- С.32-35
48. Кисломолочный продукт «Наринэ» ТОО «Экофлора», г. Павлодар.

- 49 Г.Г. Кузнецова, И.Б. Куаева, Т.Н. Сорвачева и др., Влияние пищевых биопродуктов с пробиотическими свойствами на микроэкологию кишечника детей раннего возраста // Мат.Всерос. Конференции «Пробиотики и пробиотические продукты в профилактике и лечении наиболее распространенных заболеваний человека», М., 1-23 апреля 1999г., С. 67-70
- 50 Петровская В.Г., Марко О.Н., Микрофлора человека в норме и патологии. – М., 1976г., стр.141-156
- 51 К.Ф.Амбарцумян, Б.Г. Саркисян., Д.В.Элоян, Л.А.Ерзинкян, Клиническая медицина №7 (1989), Москва
- 52 Семипалатинская гос. мед. Академия, Павлодарский центр клинической иммунологии и репродукции, Е.А. Бейсембаев, Т.К. Раисов, М.Д.Бугембаева, «Иммунореабилитация больных острыми и хроническими инфекциями», том 2, стр. 54-63, Алматы «Гылым», Республика Казахстан, 1997 г.
- 53 Модификация мутагенеза и канцерогенеза некоторыми биологически активными агентами», Онкологический НЦ им. В.А.Фанарджяна, Ереван, 1997, А.К. Нерсисян
- 54 Авторское свидетельство СССР № 604207, кл. С 12 N 1/20, 1976, 30.06.92. Бюл. № 24.
- 55 Шалак М.В. Технология переработки продукции животноводства /М.В. Шалак, М.С. Шашков. Минск: Бестпринт, 2004.
- 56 Лабораторные исследования в ветеринарии: Научно-методические указания/Под редакцией доктора ветеринарных наук, профессора Ш.Ж. Турсункулова. - Астана: ГУ»НЦМР» МСХ РК, 2005.-327 с.
- 57 Руководство по методам анализа качества и безопасности пищевых продуктов // Под редакцией Скурихина И.М., Тутельяна В.А.- М.: Брандес, Медицина. – 1998. – 342 с.
- 57 Костенко Т.С. и др. Практикум по ветеринарной микробиологии и иммунологии. – М.: Агропромиздат. 1989. – С. 272.
58. Методика определения экономической эффективности пользования новой техники, изобретений и рационализаторских предложений в мясной и молочной промышленности. ВНИМП и Специализированное проектно-конструкторское бюро автоматизированных систем управления мясной и молочной промышленности. Москва 1995 год. Издательство АО "Росмясомолпром" стр. 110. По заказу Министерства промышленности, науки и технологии РФ.
- 59 Определение безопасности и эффективности биологически активных добавок к пище: Методические указания.- М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России. – 1999. – 87 с.
60. Липатов Н.Н., Рогов И.А. Методология проектирования продуктов питания с требуемым комплексом показателей пищевой ценности // Известия вузов «Пищевая технология» – 1987. – №2. – С.9-15.
- 61 Фокина Н.З., Степанова Б.Н. Расчет рецептур с учетом содержания жира и белка // Молочная промышленность. – 2006. – №10. – С.34-37.
- 62 Финн Р.Э., Хилл О.М. Химия белка и пищевые исследования. Новое в

зарубежной пищевой промышленности // Сборник статей. – Англия-США. – 1996. – 27 с.

63 Шалыгина А.М., Л.В. Калинина Общая технология молока и молочных продуктов, - М.: КолосС, 2006. – 99 с.:ил. (Учебник и учебное пособие для студентов высш.учебн.заведений).

64 Албегова Л.Х., Дауров А.А., Кабисов Р.Г., Хетагов Т.К. Использование музейных штаммов молочнокислых микроорганизмов для производства кисломолочных напитков. // Материалы Международной практической конференции, посвященной 85-летию Горского ГАУ. Владикавказ, 2003, с. 92.

65 Кабисов Р.Г., Цугкиев Б.Г. Технологические свойства местных штаммов лактобактерий. // Вестник трудов молодых ученых Горского ГАУ. Выпуск 1. Владикавказ, 2003, с.51.