

Пищевые системы и биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ

Food systems and biotechnology of food and bioactive substances

Оригинальная статья / Original paper

<https://doi.org/10.47370/2072-0920-2024-20-3-11-27>
УДК 637.146.34:635.657



Разработка напитка молокосодержащего, сквашенного с экстрактом нута

М. Ахангаран, Г.А. Мариненкова, И.И. Ионова, Я.М. Савинов,
Н.Г. Машенцева✉

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
образования «Российский биотехнологический университет»;
г. Москва Российская Федерация,
✉natali-mng@yandex.ru

Аннотация. В последнее время повышенным спросом пользуются молочные напитки с растительными экстрактами, поскольку такие продукты, благодаря растительному компоненту, способны восполнить дефицит важных для человека питательных веществ. Перспективным растительным сырьем для таких напитков могут быть бобовые, например, нут (*Cicer arietinum L.*): он является богатым источником биологически доступного белка, витаминов и пищевых волокон. К тому же ферментация таких напитков молочнокислыми бактериями с пробиотическими свойствами может придать продукту еще большую пользу. Целью исследования является разработка технологии напитка молокосодержащего с экстрактом нута, сквашенного молочнокислыми микроорганизмами с пробиотическими свойствами для повышения пищевой ценности и улучшения органолептических показателей продукта. Молочнокислые бактерии, используемые в работе, были ранее выделены из естественно ферментированных продуктов, идентифицированы и депонированы в национальный Биоресурсный центр ВКПМ НИЦ «Курчатовский институт». У штаммов были изучены пробиотические и технологические свойства, в том числе способность к утилизации антипитательных факторов нута. Напиток молокосодержащий с экстрактом нута сквашивали микроорганизмами при температуре 37 °С в течение 24 ч.

Рецептура продукта содержала 45% нутевого экстракта и 55% коровьего молока жирностью 0,5%. Были составлены две композиции: № 1 – напиток молокосодержащий с экстрактом нута, сквашенный *Limosilactobacillus fermentum* SB-2 и *Latilactobacillus sakei* SD-8; № 2 – напиток молокосодержащий с экстрактом нута, сквашенный *Lactiplantibacillus plantarum* PC-7 и *Leuconostoc mesenteroides* CH-5. В продукт вносились штаммы в количестве 1×10⁷ КОЕ/мл. Оба напитка соответствовали микробиологическим требованиям и обладали приятным кисломолочным вкусом, однако первый напиток отличился легкими цветочными нотками, а второй напиток оставлял бобовое послевкусие. По результатам исследований композиция № 1 позволила получить напиток молокосодержащий сквашенный с экстрактом нута, который по органолептическим показателям был наиболее приемлемым.

Ключевые слова: молоко, нут, молочнокислые бактерии, пробиотические свойства

Для цитирования: Ахангаран М., Мариненкова Г.А., Ионова И.И., Савинов Я.М., Машентцева Н.Г. Разработка напитка молкосодержащего сквашенного с экстрактом нута. *Новые технологии / New technologies*. 2024;20(3):11-27. <https://doi.org/10.47370/2072-0920-2024-20-3-11-27>

Development of a milk-containing drink fermented with chickpea extract

M. Ahangaran, G.A. Marinenkova, I.I. Ionova, Ya.M. Savinov,
N.G. Mashentseva✉

Russian Biotechnological University; Moscow, the Russian Federation
✉natali-mng@yandex.ru

Abstract. In recent times dairy drinks with plant extracts are in great demand, since such products, thanks to the plant component, can compensate for the deficiency of important nutrients for humans. Legumes, for example, chickpeas (*Cicer arietinum L.*), can be promising plant raw materials for such drinks: they are rich in biologically available protein, vitamins and dietary fiber. In addition, fermenting such drinks with lactic acid bacteria with probiotic properties can provide even greater benefits to the product. The goal of the research is to develop a technology for a milk drink containing chickpea extract, fermented with lactic acid microorganisms with probiotic properties, to increase the nutritional value and improve the organoleptic characteristics of the product. Lactic acid bacteria used in the research were previously isolated from naturally fermented products, identified and deposited in the national Bioresource Center of the All-Russian Communist Party of Moscow Scientific Research Center “Kurchatov Institute”. The strains were studied for their probiotic and technological properties, including the ability to utilize chickpea antinutritional factors. A milk-containing drink with chickpea extract was fermented with microorganisms at a temperature of 37 °C for 24 hours.

The product recipe contained 45% of chickpea extract and 55% of cow milk with a fat content of 0.5%. Two compositions were composed: No. 1 – a milk-containing drink with chickpea extract, fermented with *Limosilactobacillus fermentum* SB-2 and *Lactilactobacillus sakei* SD-8; No. 2 – milk drink with chickpea extract, fermented with *Lactiplantibacillus plantarum* PC-7 and *Leuconostoc mesenteriodes* CH-5. Strains were added to the product in an amount of 1×10^7 CFU/ml. Both drinks met microbiological requirements and had a pleasant sour-milk taste, but the first drink had light floral notes, while the second drink left a bean aftertaste. According to the research results, composition No. 1 made it possible to obtain a milk-containing drink fermented with chickpea extract, which was the most acceptable in terms of organoleptic indicators.

Keywords: milk, chickpeas, lactic acid bacteria, probiotic properties

For citation: Ahangaran M., Marinenkova G.A., Ionova I.I., Savinov Ya.M., Mashentseva N.G. Development of a milk-containing drink fermented with chickpea extract. *Novye tehnologii / New technologies*. 2024;20(3):11-27. <https://doi.org/10.47370/2072-0920-2024-20-3-11-27>

Введение. С ростом популярности здорового образа жизни потребители все чаще задумываются о важности правильного питания. Покупатели больше не воспринимают продукты питания как обычный источник энергии, а ищут в продуктах определенную функциональность. Прогнозируется, что российский рынок функцио-

нальных продуктов питания вырастет с 306,7 млрд. рублей в 2021 году до 405,6 млрд. рублей к 2026 году. Однако, несмотря на активное развитие рынка функциональных продуктов, только 23% потребителей полностью устраивает их ассортимент [1, с. 36]. Соответственно, в настоящее время наблюдается тенденция расши-

рения ассортимента путем разработки новых продуктов.

Молочные напитки с растительными экстрактами – это быстрорастущий сегмент в ныне популярной категории функциональных напитков по всему миру, поскольку такие продукты, благодаря растительной составляющей, способны восполнить дефицит витаминов, пищевых волокон, белка и других важных нутриентов. Перспективным растительным сырьем для таких напитков являются бобовые, поскольку они обладают хорошо сбалансированным питательным составом. Среди бобовых особенно выделяется нут (*Cicer arietinum L.*): он является богатым источником биологически доступного белка, углеводов, витаминов, пищевых волокон и содержит минимальное количество липопротеинов высокой плотности [2, с. 2]. К тому же нут гипоаллергенен в отличие сои или овса [3, с. 2]. К сожалению, органолептические показатели напитка молочносодержащего с экстрактом нута не соответствуют потребительским ожиданиям, что ограничивает его популярность. Перспективным методом улучшения органолептических показателей и питательной ценности подобных напитков является сквашивание молочнокислыми микроорганизмами.

Микробная ферментация с древних времен применяется к растительному сырью. Во время технологического процесса микроорганизмы за счет своей ферментативной активности изменяют структуру и химический состав растений под свои питательные потребности [4, с. 105; 5, с. 5]. Ферментация способна улучшать органолептические свойства продуктов за счет снижения содержания углеводов и повышения уровня витаминов (тиамина, ниацина) и аминокислот (лизина) [6, с. 3]. В результате повышается пищевая ценность продуктов. К тому же ферментация придает продуктам антимикробные, антиканцерогенные, противоопухолевые и имму-

номодулирующие свойства [7, с. 2]. Для ферментации растительного сырья наиболее используемыми в промышленности микроорганизмами являются молочнокислые бактерии (МКБ) [8, с. 311]. В ферментированных продуктах МКБ формируют органолептику, вырабатывают полезные метаболиты и биологически активные пептиды, которые влияют на функциональные свойства пищевых продуктов [9, с. 2].

Помимо повышения пищевой ценности и улучшения органолептических показателей МКБ улучшают микробиоценоз потребителей за счет своих пробиотических свойств. Известно, что кишечная микробиота имеет важное значение в поддержании здоровья: нарушение ее структуры может привести к иммунным и онкологическим заболеваниям, а также ряду серьезных заболеваний желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) и нервной системы. Пробиотические бактерии улучшают баланс и структуру микробиоты, а также обеспечивают защиту от патогенных микроорганизмов [10, с. 2]. Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН и Всемирная организация здравоохранения определяют пробиотики как «живые микроорганизмы, которые при попадании в организм в достаточных количествах улучшают здоровье хозяина» [11, с.]. Существует множество исследований, подтверждающих положительное влияние функциональных напитков на основе пробиотиков на микробиом ЖКТ человека [12, с. 6; 13, с. 5]. Помимо этого, пробиотические напитки обладают большим преимуществом перед твердыми пробиотическими продуктами, поскольку они быстрее усваиваются и не пребывают долго в кислой среде желудка, тем самым обеспечивая большую жизнеспособность пробиотических штаммов [14, с. 4].

Согласно рекомендациям ФАО/ВОЗ (FAO/WHO) [15, с. 2], каждый потенциальный штамм пробиотика должен быть пра-

вильно идентифицирован с последующим проведением различных тестов *in vitro* для изучения его функциональных свойств [16, с. 1].

Целью исследования является разработка технологии напитка молокосодержащего с экстрактом нута, сквашенного молочнокислыми микроорганизмами с пробиотическими свойствами, для повышения пищевой ценности и улучшения органолептических показателей продукта.

Материалы и методы.

Сырье и реактивы

Бобы нута типа кабули были приобретены на рынке г. Тегерана (Иран); коровье молоко жирностью 0,5% – в местном супермаркете. Все реагенты, использованные в исследовании, были предоставлены кафедрой «Биотехнологии и технологии продуктов биоорганического синтеза» ФГБОУ ВО «Российский биотехнологический университет (РОСБИОТЕХ)».

Штаммы бактерий

Пробиотические молочнокислые бактерии *Limosilactobacillus fermentum* SB-2 (B-14054), *Latilactobacillus sakei* SD-8 (B-14053), *Levilactobacillus brevis* VY-1 (B-14052), *Pediococcus pentosaceus* FC-9 (B-14055), *Pediococcus pentosaceus* FC-10 (B-14056), *Leuconostoc mesenteroides* FM-4 (B-14057), *Lactiplantibacillus plantarum* PC-7 (B-14058), *Leuconostoc mesenteroides* CH-5 (B-14059), *Limosilactobacillus fermentum* AS-3 (B-14060), *Lacticaseibacillus paracasei* CA-6 (B-14061) были взяты из коллекции культур микроорганизмов ФГБОУ ВО «РОСБИОТЕХ» кафедры «Биотехнологии и технологии продуктов биоорганического синтеза». Все штаммы были ранее выделены из природных источников, идентифицированы по фенотипическим и протеомным (MALDI-TOF) признакам и депонированы в БРЦ ВКПМ НИЦ «Курчатовский институт» [17].

Питательные среды

В ходе исследования использовались следующие среды:

среда для выращивания лактобактерий *Lactobacillus* MRS Broth («Hi-Media», Индия);

скрининговая агаризованная среда MSA с добавлением галактозы и фитата натрия («Hi-Media», Индия);

бульонная среда с феноловым красным с добавлением раффинозы (ООО «Биотехновация», Россия);

среда для выявления молочнокислых бактерий – среда Бликфельдта (ФБУН ГНЦ ПМБ, Россия).

Определение устойчивости штаммов к желчи

Использовались клеточные суспензии штаммов с концентрацией клеток 10⁹ КОЕ/мл. В пробирку вносились клеточная суспензия в количестве 1 мл и желчь медицинская консервированная («Самсон-Мед», Россия) в количестве 9 мл. В контрольные образцы вместо желчи вносился физраствор. Культивирование производилось при 37 °С в течение 2 ч. Количество жизнеспособных клеток определялось по стандарту Мак-Фарланда.

Определение устойчивости штаммов к повышенной кислотности и щелочности среды.

В данном эксперименте использовалась среда *Lactobacillus* MRS Broth. Питательную среду доводили до pH 2,2 (нормальная кислотность желудка) с помощью HCl для определения устойчивости штаммов к повышенной кислотности. Для тестирования устойчивости штаммов к щелочной реакции среды питательную среду доводили до pH 7,5 (нормальная кислотность в пищевом) с помощью NaOH. Питательная среда засеивалась клеточной суспензией исследуемых штаммов в концентрации клеток 10⁹ КОЕ/мл. Посевы выдерживались в термостате при 37 °С в течение 48 ч. Количество жизнеспособных клеток определялось по стандарту Мак-Фарланда.

Определение устойчивости штаммов к фенолу

Использовалась жидкая питательная среда *Lactobacillus* MRS Broth с добавлением фенола в концентрации 0,4% от объема среды. Питательная среда засеивалась клеточной суспензией исследуемых штаммов в концентрации клеток 10⁹ КОЕ/мл. Посевы выдерживались в термостате при 37 °С в течение 24 ч. Количество жизнеспособных клеток определялось по стандарту Мак-Фарланда.

Определение активности кислотообразования

Определение активности кислотообразования исследуемых штаммов проводилось по ГОСТ 3624-92. Штаммы культивировались в стерильном обезжиренном молоке, а затем к 10 мл культуральной жидкости добавляли 20 мл дистиллированной воды и 3 капли фенолфталеина. Полученная смесь титровалась децинормальной щелочью NaOH до образования стойкого слабо-розового окрашивания.

Исследование способности штаммов к утилизации раффинозы

Для исследования способности штаммов к утилизации раффинозы использовался бульонная среда с феноловым красным с добавлением раффинозы. В стерильные пробирки с питательной средой инокулировали исследуемые штаммы в концентрации клеток 10⁹ КОЕ/мл в количестве 1 мл на 15 мл среды. Посевы выдерживались в термостате при 37 °С в течение 48 ч. Образование кислоты из раффинозы определяли по изменению окраски с красной на желтую.

Определение фитазной активности штаммов

Определение фитазной активности проводили качественным методом: на поверхность агаризованной среды, содержащей фитат натрия, D-глюкозу и микробиологический агар, короткими штрихами засеивались исследуемые штаммы бактерий.

В качестве контроля на поверхность среды засеивались аналогичным образом *Candida tropicalis* RCAM 00331 и *Saccharomyces cerevisiae* Y-100. После чего чашки культивировали при 37 °С в течение 24 ч. Фитазную активность штаммов определяли по образованию зон просветления вокруг линии роста бактерий.

Исследование антагонистической активности штаммов

Для определения антагонистической активности исследуемых штаммов использовался метод перпендикулярных штрихов на агаризованной среде *Lactobacillus* MRS Broth. В качестве тест-культур использовались *Salmonella typhimurium* 5715, *Proteus vulgaris* 14 и *Staphylococcus aureus subsp. aureus* 209P. Микроорганизмы выращивали в термостате при 37 °С в течение 48 ч. Результаты антагонистической активности определялись по наличию зон задержки роста тест-культур.

Отсутствие антагонизма молочнокислых штаммов по отношению друг к другу, что важно при составлении многоштаммовых заквасок, определялось также методом перпендикулярных штрихов.

Технология приготовления нутового экстракта

Нутовые бобы замачивались в течение 12 ч в воде в соотношении 1:2 (вес/объем). Затем они смешивались с водой в соотношении 1:3 и растирались в течение 5 мин с помощью блендера Braun Multiquick 3. Полученная эмульсия центрифугировалась в течение 15 мин при 4000 об/мин, а затем фильтровалась через марлю. После чего нутовый экстракт пастеризовался на водяной бане при 65 °С в течение 15 мин.

Технология ферментации напитка молокосодержащего с экстрактом нута

Опытный образец содержал 45% нутового экстракта и 55% коровьего молока жирностью 0,5%. В качестве контроля использовалось коровье молоко жирностью

0,5%. Напитки заквашивали композицией молочнокислых микроорганизмов в количестве 109 КОЕ/мл при температуре 37 °С в течение 72 ч. Готовые продукты хранились при 4 °С во время проведения исследований.

Определение микробиологических показателей продукта

Определение микробиологических показателей полученных образцов проводилось согласно ТР ТС 033/2013. Определение количества молочнокислых микроорганизмов в продукте производилось методом культивирования на питательной среде Бликфельдта ГОСТ 10444.11-2013. Определение количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов и идентификация бактерий группы кишечных палочек проводились по ГОСТ 32901-2014 методом культивирования с использованием среды КМАФАнМ и среды Кесслер.

Определение органолептических свойств продукта

Определение органолептических показателей полученных образцов проводилось согласно ТР ТС 033/2013 и ГОСТ 31450-2013. Определялись такие показатели как: внешний вид, консистенция, вкус, запах и цвет.

Определение содержания сухих веществ (СВ)

Массовая доля СВ определялась по ГОСТ Р 54668-2011. Образцы для высушивания в сушильном шкафу использовались в количестве 1 мл каждый.

Определение содержания «сырого» протеина

Содержание «сырого» протеина определяли по методу Кьельдаля. Исследуемые образцы для сжигания использовались в количестве 2 мл каждый.

Определения аминокислотного профиля

Определение аминокислотного профиля проводилось методом тонкослойной хроматографии.

В качестве аминокислот-свидетелей использовались аргинин, валин, гистидин, лейцин, лизин, метионин, треонин, триптофан, фенилаланин, глицин, аспарагин и пролин в концентрации 0,01 М каждая. Навески аминокислот-свидетелей растворялись в 10%-ом спиртовом растворе. Образцы продукта разводились с водой в соотношении 1:1. В качестве адсорбента использовалась силикофоловая пластинка, на которую по линии старта наносились аминокислоты-свидетели и образцы. Растворителем в хроматографической камере служил раствор бутанола, уксусной кислоты и дистиллята (3:1:1 соответственно). Для проявления аминокислот использовался 1% раствор нингидрина в ацетоне.

Результаты и их обсуждение.

Определение устойчивости штаммов к условиям желудочно-кишечного тракта

Среди десяти изучаемых штаммов наиболее устойчивыми по отношению к желчи оказались *Lactilactobacillus sakei* SD-8, *Levilactobacillus brevis* VY-1, *Pediococcus pentosaceus* FC-9 и *Leuconostoc mesenteroides* CH-5. *Limosilactobacillus fermentum* SB-2 и *Pediococcus pentosaceus* FC-10 были чувствительны к желчи, а *Limosilactobacillus fermentum* AS-3 проявил слабую устойчивость.

При определении устойчивости штаммов к pH 2,2 наиболее устойчивыми оказались *Lactilactobacillus sakei* SD-8, *Levilactobacillus brevis* VY-1, *Lactiplantibacillus plantarum* PC-7, *Limosilactobacillus fermentum* AS-3, *Lactocaseibacillus paracasei* CA-6. Штаммы *Limosilactobacillus fermentum* SB-2, *Pediococcus pentosaceus* FC-9, *Leuconostoc mesenteroides* FM-4 и *Leuconostoc mesenteroides* CH-5 проявили слабую

устойчивость к к рН 2,2, а рост *Pediococcus pentosaceus* FC-10 полностью ингибировался кислой средой.

рН среды 7,5 не является ингибирующим для большинства бактерий. Наибольшую устойчивость к щелочной среде проявили штаммы *Latilactobacillus sakei* SD-8 и *Lacticaseibacillus paracasei* CA-6. У штаммов *Limosilactobacillus fermentum* SB-2, *Pediococcus pentosaceus* FC-10 и *Limosilactobacillus fermentum* AS-3 наблюдалось полное отсутствие роста.

Содержание в среде 0,4% фенола не угнетало рост большинства изучаемых бактерий. Среди них *Latilactobacillus sakei* SD-8, *Pediococcus pentosaceus* FC-10 и *Lacticaseibacillus paracasei* CA-6 обладали наибольшей устойчивостью к фенолу. У *Pediococcus pentosaceus* FC-9 и *Leuconostoc mesenteroides* FM-4 была слабая устойчивость, а рост *Limosilactobacillus fermentum* AS-3 полностью ингибировался.

При анализе полученных результатов, видно, что степень выживаемости в условиях ЖКТ является штаммоспецифичным признаком. Наиболее жизнеспособными штаммами в условиях ЖКТ являются *Latilactobacillus sakei* SD-8, *Levilactobacillus brevis* VY-1, *Lactiplantibacillus plantarum* PC-7, *Leuconostoc mesenteroides* CH-5 и *Lacticaseibacillus paracasei* CA-6 (рис. 1).

Определение активности кислотообразования штаммов

Все изучаемые штаммы хорошо сквашивают молоко и образуют плотный сгусток (табл. 1). Наиболее активными кислотообразователями были штаммы *Latilactobacillus sakei* SD-8, *Pediococcus pentosaceus* FC-9, *Leuconostoc mesenteroides* FM-4, *Lactiplantibacillus plantarum* PC-7 и *Limosilactobacillus fermentum* AS-3, а самые маленькие показатели кислотообразования были у штаммов *Pediococcus pentosaceus* FC-10 и *Lacticaseibacillus paracasei* CA-6. Значения активной кислотности (рН) были в пределах от 4,43 до 5,65. Вкус сгустка, образованного разными штаммами, чистый, кисло-молочный, а консистенция однородная.

Исследование способности штаммов к утилизации антинутриентных факторов нута

Самыми активными по утилизации раффинозы были штаммы *Latilactobacillus sakei* SD-8, *Leuconostoc mesenteroides* CH-5 и *Levilactobacillus brevis* VY-1 (рис. 2).

Исследование фитазной активности чашечным тестом показало наличие зон просветления у контрольных образцов, однако зон просветления не было обнаружено у тестируемых штаммов (рис. 3). Из этого следует, что фитазная активность у исследуемых штаммов отсутствует.

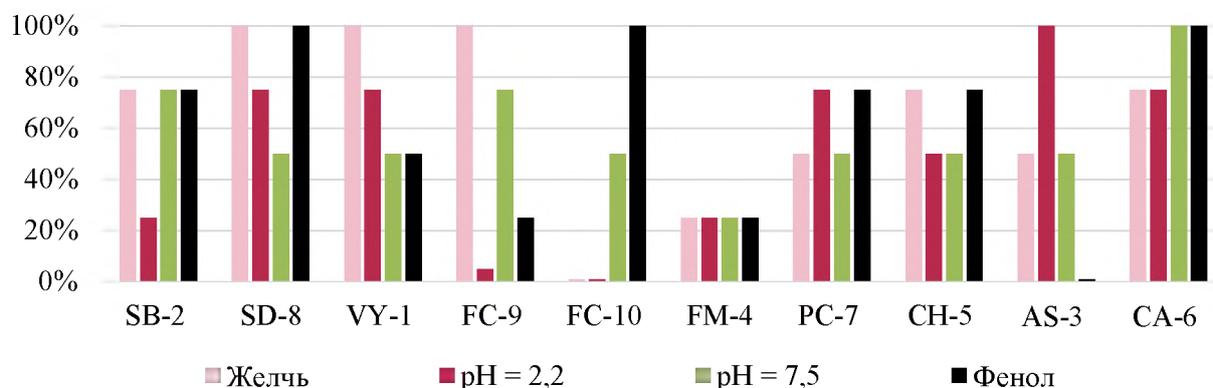


Рис. 1. Устойчивость штаммов к условиям ЖКТ
Fig. 1. Resistance of strains to gastrointestinal conditions

Таблица 1. Кислотообразующая активность штаммов
Table 1. Acid-forming activity of strains

Штамм	Время образования сгустка, ч	Кислотность		
		активная, рН	титруемая, оТ	предельная (через 7 сут), оТ
<i>Limosilactobacillus fermentum</i> SB-2	24	5,37	105	153
<i>Latilactobacillus sakei</i> SD-8	20	5,25	110	162
<i>Levilactobacillus brevis</i> VY-1	22	4,58	108	154
<i>Pediococcus pentosaceus</i> FC-9	24	4,64	100	170
<i>Pediococcus pentosaceus</i> FC-10	48	5,33	85	122
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> FM-4	22	5,24	112	148
<i>Lactiplantibacillus plantarum</i> PC-7	24	4,43	113	210
<i>Leuconostoc mesenteriodes</i> CH-5	22	4,57	102	174
<i>Limosilactobacillus fermentum</i> AS-3	20	5,65	117	173
<i>Lacticaseibacillus paracasei</i> CA-6	21	5,35	94	123

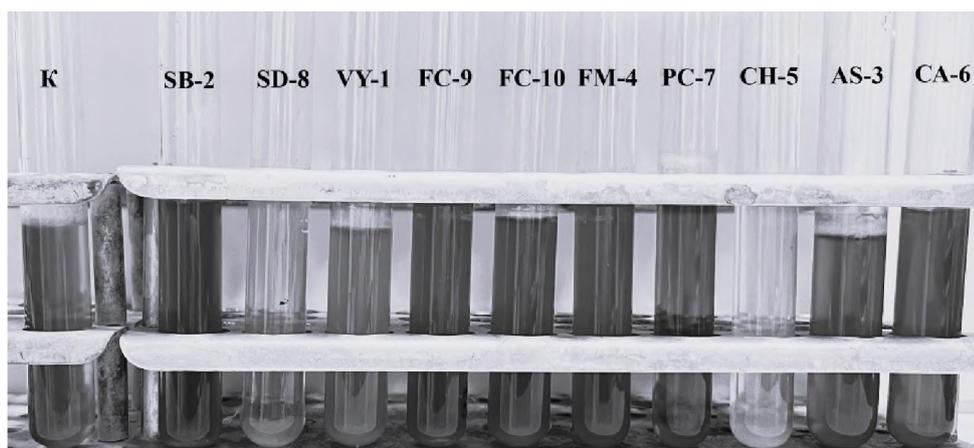


Рис. 2. Способность штаммов к утилизации раффинозы
Fig. 2. The ability of strains to utilize raffinose

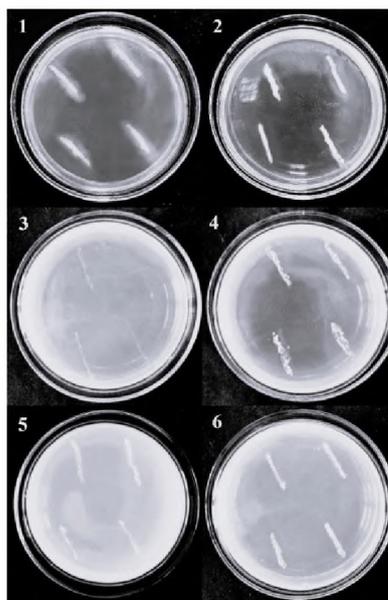


Рис. 3. Чашечный тест на фитазную активность штаммов бактерий:
1 – *Candida tropicalis* RCAM 00331 (контроль); 2 – *Saccharomyces cerevisiae* Y-100 (контроль); 3 – *Limosilactobacillus fermentum* SB-2; 4 – *Latilactobacillus sakei* SD-8; 5 – *Lactiplantibacillus plantarum* PC-7; 6 – *Leuconostoc mesenteroides* CH-5

Fig. 3. Plate test for phytase activity of bacterial strains:
1 – *Candida tropicalis* RCAM 00331 (control one); 2 – *Saccharomyces cerevisiae* Y-100 (control one); 3 – *Limosilactobacillus fermentum* SB-2; 4 – *Latilactobacillus sakei* SD-8; 5 – *Lactiplantibacillus plantarum* PC-7; 6 – *Leuconostoc mesenteroides* CH-5

Относительно фитатов как антипитательных факторов мнение неоднозначно. Фитаты были отнесены к антипитательным факторам еще в 1920-х годах, поскольку фитиновая кислота образует нерастворимые комплексы с важными двухвалентными катионами (например, Fe, Zn, Ca и Mg), делая их биологически недоступными для всасывания и утилизации в тонком кишечнике. Более поздние исследования показали, что фитаты не оказывают негативного влияния на биодоступность металлов при соблюдении сбалансированной диеты. Более того, некоторые исследования доказывают пользу комплексообразования с фитиновой кислотой, поскольку сами по себе ионы металлов при определенных обстоятельствах вредны и при неблагоприятных условиях могут привести к ряду серьезных заболеваний. Фитаты также обладают антиоксидантной активностью

и противоопухолевым эффектом, а также оказывают терапевтическое действие при болезни Паркинсона, болезни Альцгеймера и других заболеваниях [18, с. 2082].

В свете данных исследований достаточно трудно назвать фитаты антипитательными факторами и нежелательными компонентами в растительной пище.

Выбор штаммов для сквашивания напитка

При составлении композиций учитывали полученные результаты исследований. Согласно полученным данным, штаммы *Latilactobacillus sakei* SD-8, *Leuconostoc mesenteroides* FM-4, *Lactiplantibacillus plantarum* PC-7 и *Leuconostoc mesenteroides* CH-5 хорошо сквашивали обезжиренное молоко. Наиболее жизнеспособными штаммами в условиях ЖКТ являются *Latilactobacillus sakei* SD-8, *Levilactobacillus brevis* VY-1,

Lactiplantibacillus plantarum PC-7, *Leuconostoc mesenteriodes* CH-5 и *Lacticaseibacillus paracasei* CA-6. Лучше всего утилизировали раффинозу штаммы *Latilactobacillus sakei* SD-8 и *Leuconostoc mesenteriodes* CH-5. С учетом полученных данных в результате исследований были составлены следующие композиции штаммов: № 1 – *Limosilactobacillus fermentum* SB-2 и *Latilactobacillus sakei* SD-8; № 2 – *Lactiplantibacillus plantarum* PC-7 и *Leuconostoc mesenteriodes* CH-5.

Исследование антагонистической активности штаммов

Важной особенностью пробиотических бактерий является их способность ингибировать патогенные и условно-патоген-

ные микроорганизмы в ЖКТ человека. Были проведены исследования по антагонистической активности выбранных штаммов в отношении следующих тест-культур: *Salmonella typhimurium* 5715, *Proteus vulgaris* 14 и *Staphylococcus aureus subsp. aureus* 209P. *Limosilactobacillus fermentum* SB-2 и *Latilactobacillus sakei* SD-8, *Lactiplantibacillus plantarum* PC-7 ингибировали рост *Salmonella typhimurium* 5715, *Proteus vulgaris* 14 и *Staphylococcus aureus subsp. aureus* 209P, что можно объяснить действием антимикробных метаболитов, таких, как молочная кислота. *Leuconostoc mesenteriodes* CH-5 не проявил антагонистической активности к тест-культурам (рис. 4).

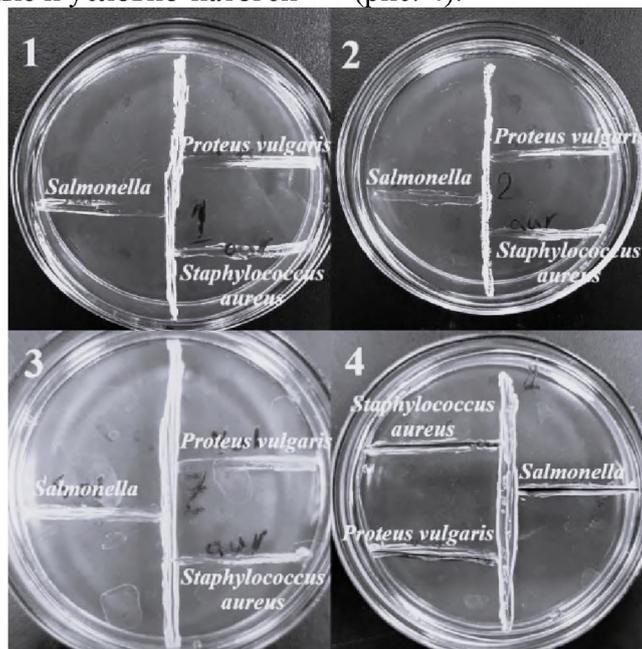


Рис. 4. Антагонистическая активность штаммов:

1 – *Limosilactobacillus fermentum* SB-2; 2 – *Latilactobacillus sakei* SD-8; 3 – *Lactiplantibacillus plantarum* PC-7; 4 – *Leuconostoc mesenteriodes* CH-5

Fig. 4. Antagonistic activity of strains:

1 – *Limosilactobacillus fermentum* SB-2; 2 – *Latilactobacillus sakei* SD-8; 3 – *Lactiplantibacillus plantarum* PC-7; 4 – *Leuconostoc mesenteriodes* CH-5

Определение отсутствия антагонизма между заквасочными штаммами.

Поскольку планируется использование композиций штаммов, необходимо

установить их антагонистическую активность по отношению друг к другу, чтобы избежать ингибирования одного штамма другим. Было установлено отсутствие

антагонизма между штаммами *Limosilactobacillus fermentum* SB-2 и *Latilactobacillus sakei* SD-8, а также штаммами *Lactiplantibacillus plantarum* PC-7 и *Leuconostoc mesenteriodes* CH-5, поэтому их можно использовать в совместной композиции (рис. 5).

Ферментация напитка молочносодержащего с нутовым экстрактом

В ходе сквашивания напитка выбранными композициями штаммов оценивалась активность кислотообразования. Во всех образцах было замечено активное повышение кислотности среды, что свидетельствует о сквашивании напитка молочносодержащего с нутовым экстрактом выбранными штаммами (табл. 2).

Определение микробиологических показателей

Оба напитка соответствовали микробиологическим требованиям ТР ТС 033/2013 для жидких кисломолочных продуктов и содержали не менее 1×10^8

КОЕ/мл молочнокислых микроорганизмов. БГКП, в т.ч. *E. coli*, сальмонеллы, *L. Monocytogenes* и *S. aureus* обнаружены не были.

Определение органолептических показателей полученного продукта

Согласно ТР ТС 033/2013 и ГОСТ 31450-2013, продукт должен обладать жидкой и однородной консистенцией, иметь характерный для кисломолочных продуктов вкус и запах и белый/светло-кремовый/кремовый цвет. Лучшие результаты показал напиток молочносодержащий с нутовым экстрактом, сквашенный композицией штаммов № 1 в течение 24 ч: по консистенции, цвету и запаху он был максимально близок к установленным нормам. Напиток, сквашенный композицией № 2, проигрывал по органолептическим показателям, поскольку имел неприятное бобовое послевкусие и обладал легким бобовым запахом (табл. 3). К 72 ч ферментации вкус обоих продуктов становился кислым, их органолептика ухудшалась.

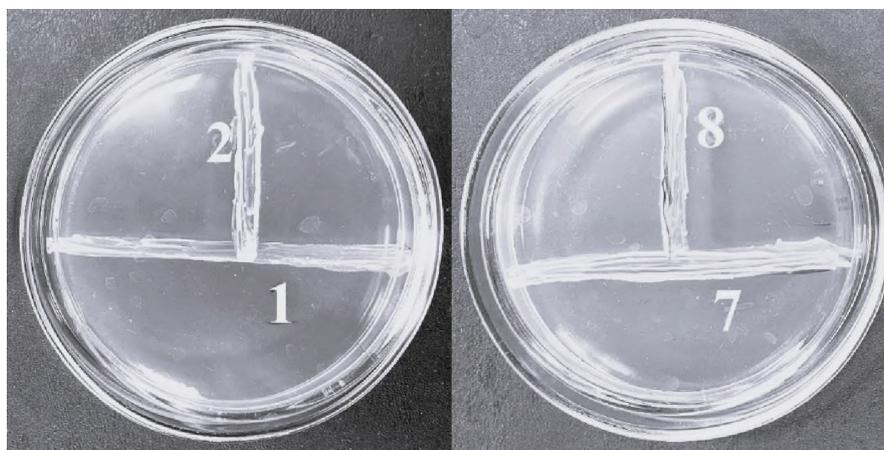


Рис. 5. Отсутствие антагонизма у штаммов:

1 – *Limosilactobacillus fermentum* SB-2; 2 – *Latilactobacillus sakei* SD-8; 7 – *Lactiplantibacillus plantarum* PC-7; 8 – *Leuconostoc mesenteriodes*

Fig. 5. Lack of antagonism in strains:

1 – *Limosilactobacillus fermentum* SB-2; 2 – *Latilactobacillus sakei* SD-8; 7 – *Lactiplantibacillus plantarum* PC-7; 8 – *Leuconostoc mesenteriodes*

Таблица 2. Кислотообразующая активность композиций в сквашенном напитке
молокосодержащем с нутовым экстрактом

Table 2. Acid-forming activity of compositions in fermented milk-containing drink with chickpea extract

Образец	Длительность ферментации, ч	Кислотность	
		активная, рН	титруемая, оТ
Напиток молкосодержащий с нутовым экстрактом, заквашенный композицией № 1	0 ч	6,69	27
	24 ч	3,5	107
	72 ч	3,5	164
Напиток молкосодержащий с нутовым экстрактом, сквашенный композицией № 2	0 ч	6,69	27
	24 ч	3,88	98
	72 ч	3,57	180
Молоко коровье жирность 0,5%, сквашенное композицией № 1 (контроль)	0 ч	5,56	25
	24 ч	5,18	88
	72 ч	3,8	135
Молоко коровье жирность 0,5%, сквашенное композицией № 2 (контроль)	0 ч	5,56	25
	24 ч	4,98	79
	72 ч	4,03	120

Таблица 3. Органолептические показатели продуктов после 24 ч сквашивания
Table 3. Organoleptic characteristics of products after 24 hours of ripening

Образец	Внешний вид	Консистенция	Вкус	Запах	Цвет
Напиток молкосодержащий с нутовым экстрактом, сквашенный композицией № 1	Непрозрачная жидкость	Жидкая, однородная	Кисломолочный с легкими цветочными нотками	Кисломолочный	Светлокремовый
Напиток молкосодержащий с нутовым экстрактом, сквашенный композицией № 2	Непрозрачная жидкость	Жидкая, однородная	Кисломолочный с бобовым послевкусием	Кисломолочный с бобовыми нотками	Светлокремовый

Определение содержания СВ, общего азота и «сырого» протеина

Как говорилось ранее, ферментация позволяет повысить содержание белка в продукте. По показателям пищевой ценности продукта напиток молкосодержащий с нутовым экстрактом, сквашенный композицией № 1, имел более высокие показатели по сравнению с образцом, заквашенным композицией штаммов № 2 (табл. 4).

Определение аминокислотного профиля

В напитке молкосодержащем с нутовым экстрактом, сквашенном композицией № 1, было отмечено содержание аргинина, валина, лейцина, треонина, триптофана, а в напитке, сквашенном композицией штаммов № 2 – валина, лейцина, треонина, фенилаланина (рис. 6).

Таблица 4. Химический состав продуктов
Table 4. Chemical composition of products

Образец	СВ, %	Сырой протеин, %
Напиток молокосодержащий с нутовым экстрактом, сквашенный композицией № 1	14,3	10,60
Напиток молокосодержащий с нутовым экстрактом, сквашенный композицией № 2	12,7	9,78

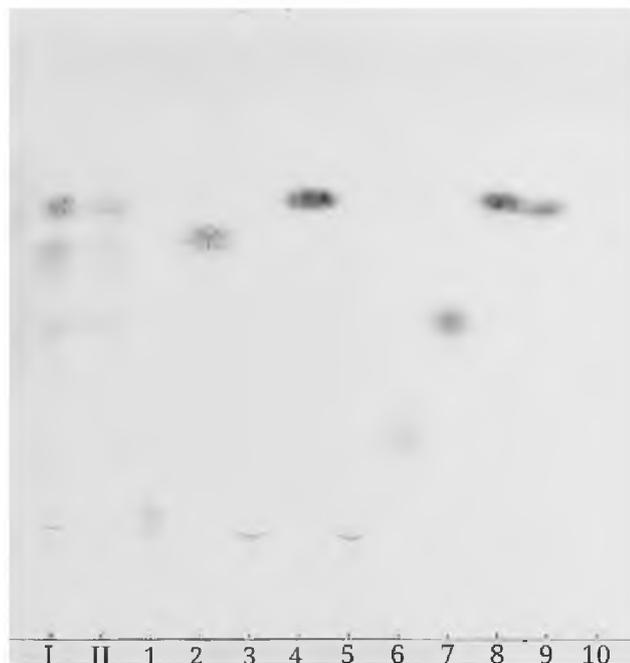


Рис. 6. Аминокислотный профиль полученных образцов:

I – напиток молокосодержащий с нутовым экстрактом, заквашенный композицией № 1; II – напиток молокосодержащий с нутовым экстрактом, заквашенный композицией № 2; 1 – аргинин; 2 – валин; 3 – гистидин; 4 – лейцин; 5 – лизин; 6 – метионин; 7 – треонин; 8 – триптофан; 9 – фенилаланин; 10 – глицин

Fig. 6. Amino acid profile of the obtained samples:

I – milk drink with chickpea extract, fermented with composition No. 1; II – milk-containing drink with chickpea extract, fermented with composition No. 2; 1 – arginine; 2 – valine; 3 – histidine; 4 – leucine; 5 – lysine; 6 – methionine; 7 – threonine; 8 – tryptophan; 9 – phenylalanine; 10 – glycine

Выводы. Из десяти изученных штаммов по своим технологическим и пробиотическим свойствам были выбраны *Limosilactobacillus fermentum* SB-2, *Lactilactobacillus sakei* SD-8, *Lactiplantibacillus plantarum* PC-7 и *Leuconostoc mesenteriodes* CH-5. Были составлены две композиции: № 1 – *Limosilactobacillus fermentum* SB-2 и *Lati-*

lactobacillus sakei SD-8; № 2 – *Lactiplantibacillus plantarum* PC-7 и *Leuconostoc mesenteriodes* CH-5.

Напиток молокосодержащий с нутовым экстрактом, сквашенный композицией штаммов № 1, показал лучшие органолептические и биохимические показатели, чем образец, сквашенный композицией № 2 в

течение 24 ч сквашивания. Сырого протеина напитков с композицией № 1 содержал 10,60%, с композицией № 2 – 9,78%. Таким

образом, полученный продукт имеет потенциальную пользу для здоровья потребителя.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

CONFLICT OF INTERESTS

The authors declare no conflict of interests

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Асякина Л.К., Степанова А.А., Тамарзина Т.В. и др. Российский рынок функциональных продуктов питания для здорового образа жизни человека. Социально-экономический и гуманитарный журнал. 2022; 2: 29-41. DOI: 10.36718/2500-1825-2022-3-29-41.
2. Duarte C.M., Mota J., Assunção R. et al. New Alternatives to Milk From Pulses: Chickpea and Lupin Beverages With Improved Digestibility and Potential Bioactivities for Human Health. *Frontiers in Nutrition*. 2022; 9. DOI: 10.3389/fnut.2022.852907.
3. Zhang P., Tang F., Cai W. et al. Evaluating the effect of lactic acid bacteria fermentation on quality, aroma, and metabolites of chickpea milk. *Frontiers in Nutrition*. 2022; 9. DOI: 10.3389/fnut.2022.1069714.
4. Espirito-Santo A. P. do, Mouquet-Rivier C., Humblot C. et al. Influence of cofermentation by amylolytic *Lactobacillus* strains and probiotic bacteria on the fermentation process, viscosity and microstructure of gruels made of rice, soy milk and passion fruit fiber. *Food Research International*. 2014; 57: 104-113. DOI: 10.1016/j.foodres.2014.01.028.
5. Peyer L.C., Zannini E., Arendt E.K. Lactic acid bacteria as sensory biomodulators for fermented cereal-based beverages. *Trends in Food Science & Technology*. 2016; 54: 17-25. DOI: 10.1016/j.tifs.2016.05.009.
6. Rasika D.M., Vidanarachchi J.K., Rocha R.S. et al. Plant-based milk substitutes as emerging probiotic carriers. *Current Opinion in Food Science*. 2020; 38: 8-20. DOI: 10.1016/j.cofs.2020.10.025.
7. Costa G.M., Paula M.M., Costa G.N. et al. Preferred attribute elicitation methodology compared to conventional descriptive analysis: a study using probiotic yogurt sweetened with xylitol and added with prebiotic components. *Journal of Sensory Studies*. 2020; 35(6). DOI: 10.1111/joss.12602.
8. Steinkraus K.H. Classification of fermented foods: worldwide review of household fermentation techniques. *Food Control*. 1997; 8(5/6): 311-317. DOI: 10.1016/S0956-7135(97)00050-9.
9. Zhang X., Liu Sh., Xie B. et al. An Approach to Processing More Bioavailable Chickpea Milk by Combining Enzymolysis and Probiotics Fermentation. *Journal of Food Quality*. 2022; 11: 1-11. DOI: 10.1155/2022/1665524.
10. Panghal A., Janghu S., Virkar K. et al. Potential non-dairy probiotic products: a healthy approach. *Food Bioscience*. 2018; 21: 80-89. DOI: 10.1016/j.fbio.2017.12.003.
11. Shori A.B., Aljohani G.S., Al-Zahrani A.J. et al. Viability of probiotics and antioxidant activity of cashew milk-based yogurt fermented with selected strains of probiotic *Lactobacillus* spp. *LWT*. 2022; 153. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.112482.

12. Spencer C.N., McQuade J.L., Gopalakrishnan V. et al. Dietary fiber and probiotics influence the gut microbiome and melanoma immunotherapy response. *Science*. 2021; 374(6575): 163-1640. DOI: 10.1126/science.aaz7015.
13. Azad M.A.K., Sarker M., Li T. et al. Probiotic Species in the Modulation of Gut Microbiota: An Overview. *Biomed Res Int*. 2018; 9(4): 78-94. DOI: 10.1155/2018/9478630.
14. Aspri M., Papademas P., Tsaltas D. Review on Non-Dairy Probiotics and Their Use in Non-Dairy Based Products. *Fermentation*. 2020; 6(1): 30. DOI: 10.3390/fermentation6010030.
15. Food and Agriculture Organization/World Health Organization: «Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food». London, Ontario, Canada: Author. 2002.
16. Shokryazdan P., Faseleh Jahromi M.F., Liang J.B. et al. Probiotics: From Isolation to Application. *Journal of the American College of Nutrition*. 2017; 36(8): 666-676. DOI: 10.1080/07315724.2017.1337529.
17. Машенцева Н.Г., Ахангаран М., Гаравири М. и др. Сравнительная характеристика современных методов идентификации микроорганизмов: преимущества и недостатки. Новые информационные технологии и системы в решении задач инновационного развития: сборник статей Международной научно-практической конференции. *OMEGA SCIENCE*. 2022: 9-13.
18. Wang R., Guo S. Phytic acid and its interactions: Contributions to protein functionality, food processing, and safety. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2021; 20(2): 2081-2105. DOI: 10.1111/1541-4337.12714.

REFERENCES

1. Asyakina L.K., Stepanova A.A., Tamarzina T.V. et al. Russian market of functional food products for a healthy lifestyle. *Socio-economic and humanitarian journal*. 2022; 2: 29-41. DOI: 10.36718/2500-1825-2022-3-29-41. (In Russ.)
2. Duarte C.M., Mota J., Assunção R. et al. New Alternatives to Milk From Pulses: Chickpea and Lupine Beverages With Improved Digestibility and Potential Bioactivities for Human Health. *Frontiers in Nutrition*. 2022; 9. DOI: 10.3389/fnut.2022.852907.
3. Zhang P., Tang F., Cai W. et al. Evaluating the effect of lactic acid bacteria fermentation on quality, aroma, and metabolites of chickpea milk. *Frontiers in Nutrition*. 2022; 9. DOI: 10.3389/fnut.2022.1069714.
4. Espirito-Santo A. P. do, Mouquet-Rivier C., Humblot C. et al. Influence of cofermentation by amylolytic *Lactobacillus* strains and probiotic bacteria on the fermentation process, viscosity and microstructure of gruels made of rice, soy milk and passion fruit fiber. *Food Research International*. 2014; 57: 104-113. DOI: 10.1016/j.foodres.2014.01.028.
5. Peyer L.C., Zannini E., Arendt E.K. Lactic acid bacteria as sensory biomodulators for fermented cereal-based beverages. *Trends in Food Science & Technology*. 2016; 54: 17-25. DOI: 10.1016/j.tifs.2016.05.009.
6. Rasika D.M., Vidanarachchi J.K., Rocha R.S. et al. Plant-based milk substitutes as emerging probiotic carriers. *Current Opinion in Food Science*. 2020; 38: 8-20. DOI: 10.1016/j.cofs.2020.10.025.
7. Costa G.M., Paula M.M., Costa G.N. et al. Preferred attribute elicitation methodology compared to conventional descriptive analysis: a study using probiotic yogurt sweetened with

xylitol and added with prebiotic components. *Journal of Sensory Studies*. 2020; 35(6). DOI: 10.1111/joss.12602.

8. Steinkraus K.H. Classification of fermented foods: worldwide review of household fermentation techniques. *Food Control*. 1997; 8(5/6): 311-317. DOI: 10.1016/S0956-7135(97)00050-9.

9. Zhang X., Liu Sh., Xie B. et al. An Approach to Processing More Bioavailable Chickpea Milk by Combining Enzymolysis and Probiotics Fermentation. *Journal of Food Quality*. 2022; 11:1-11. DOI: 10.1155/2022/1665524.

10. Panghal A., Janghu S., Virkar K. et al. Potential non-dairy probiotic products: a healthy approach. *Food Bioscience*. 2018; 21: 80-89. DOI: 10.1016/j.fbio.2017.12.003.

11. Shori A.B., Aljohani G.S., Al-Zahrani A.J. et al. Viability of probiotics and antioxidant activity of cashew milk-based yogurt fermented with selected strains of probiotic *Lactobacillus* spp. *L.W.T.* 2022; 153. DOI: 10.1016/j.lwt.2021.112482.

12. Spencer C.N., McQuade J.L., Gopalakrishnan V. et al. Dietary fiber and probiotics influence the gut microbiome and melanoma immunotherapy response. *Science*. 2021; 374(6575): 163-1640. DOI: 10.1126/science.aaz7015.

13. Azad M.A.K., Sarker M., Li T. et al. Probiotic Species in the Modulation of Gut Microbiota: An Overview. *Biomed Res Int*. 2018; 9(4): 78-94. DOI: 10.1155/2018/9478630.

14. Aspri M., Papademas P., Tsaltas D. Review on Non-Dairy Probiotics and Their Use in Non-Dairy Based Products. *Fermentation*. 2020; 6(1): 30. DOI: 10.3390/fermentation6010030.

15. Food and Agriculture Organization/World Health Organization: "Report of a Joint FAO/WHO Working Group on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food." London, Ontario, Canada: Author. 2002.

16. Shokryazdan P., Faseleh Jahromi M.F., Liang J.B. et al. Probiotics: From Isolation to Application. *Journal of the American College of Nutrition*. 2017; 36(8): 666-676. DOI: 10.1080/07315724.2017.1337529.

17. Mashentseva N.G., Akhangaran M., Garaviri M. et al. Comparative characteristics of modern methods for identifying microorganisms: advantages and disadvantages. New information technologies and systems in solving problems of innovative development: collection of articles of the International Scientific and Practical Conference. *OMEGA SCIENCE*. 2022: 9-13. (In Russ.)

18. Wang R., Guo S. Phytic acid and its interactions: Contributions to protein functionality, food processing, and safety. *Compr Rev Food Sci Food Saf*. 2021; 20(2): 2081-2105. DOI: 10.1111/1541-4337.12714.

Информация об авторах / Information about the authors

Ахангаран Махбубех, аспирант, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский биотехнологический университет», 125080, Российская Федерация, г. Москва, Волоколамское ш., д. 11, e-mail: ahangaran@hotmail.com

Мариненкова Галина Александровна, магистр, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский биотехнологический университет», 125080, Российская Федерация, г. Москва, Волоколамское ш., д. 11, e-mail: faust-fel@ya.ru

Ионова Инна Исааковна, кандидат технических наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский биотехнологический университет», 125080, Российская Федерация, г. Москва, Волоколамское ш., д. 11, e-mail: inna-ionova@yandex.ru

Савинов Ярослав Михайлович, аспирант, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский биотехнологический университет», 125080, Российская Федерация, г. Москва, Волоколамское ш., д. 11, e-mail: yaric3333@mail.ru

Машенцева Наталья Геннадьевна, доктор технических наук, профессор РАН, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Российский биотехнологический университет», 125080, Российская Федерация, г. Москва, Волоколамское ш., д. 11, e-mail: natali-mng@yandex.ru

Ahangaran Mahbubeh, Post graduate student, Russian Biotechnological University, 125080, the Russian Federation, Moscow, 11 Volokolamskoye sh., e-mail: ahangaran@hotmail.com

Galina A. Marinenkova, Master's degree, Russian Biotechnological University, 125080, the Russian Federation, Moscow, 11 Volokolamskoye sh., e-mail: faust-fel@ya.ru

Inna I. Ionova, PhD (Eng.), Associate Professor, Russian Biotechnological University, 125080, Russian Federation, Moscow, Volokolamskoye sh., 11, e-mail: inna-ionova@yandex.ru

Yaroslav M. Savinov, Post graduate student, Russian Biotechnological University, 125080, the Russian Federation, Moscow, 11 Volokolamskoye sh., e-mail: yaric3333@mail.ru

Natalya G. Mashentseva, Dr Sci. (Eng.), Professor, the Russian Academy of Sciences, Russian Biotechnological University, 125080, the Russian Federation, Moscow, 11 Volokolamskoye sh., e-mail: natali-mng@yandex.ru

Заявленный вклад соавторов

Все авторы настоящего исследования принимали непосредственное участие в планировании, выполнении и анализе данного исследования. Все авторы настоящей статьи ознакомились и одобрили представленный окончательный вариант.

Claimed contribution of co-authors

All authors of the research were directly involved in the design, execution, and analysis of the research. All authors of the article have read and approved the final version submitted

Поступила в редакцию 16.04.2024
Поступила после рецензирования 18.05.2024
Принята к публикации 21.05.2024

Received 16.04.2024
Revised 18.05.2024
Accepted 21.05.2024