

БИОТЕХНОЛОГИЯ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ /  
BIOTECHNOLOGY OF FOOD AND BIOLOGICAL ACTIVE SUBSTANCES

DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2024.52.15>

ПЕРСПЕКТИВЫ ПРИМЕНЕНИЯ КРИОРЕЗИСТЕНТНОГО ШТАММА *LACTOBACILLUS CASEI* 32 В  
ТЕХНОЛОГИИ ЗАМОРОЖЕННЫХ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ

Научная статья

Китаевская С.В.<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>ORCID : 0000-0002-2211-8742;

<sup>1</sup>Казанский национальный исследовательский технологический университет, Казань, Российская Федерация

\* Корреспондирующий автор (kitaevskayas[at]mail.ru)

**Аннотация**

В статье представлены результаты исследования влияния использования криорезистентного штамма *Lactobacillus casei* 32 в сочетании с классической заквасочной культурой *Lactobacillus bulgaricus* на качественные показатели йогуртов, а также на устойчивость микроорганизмов к замораживанию. Цель работы – оценить возможность применения штамма *L. casei* 32 в технологии замороженных кисломолочных продуктов. В образцах определяли массовую долю белка, лактозы, жира, синерезис и плотность сгустков, количество жизнеспособных клеток молочнокислых бактерий, а также органолептические характеристики продукции. Показано, что совместное внесение данных штаммов приводит к ускорению процесса сквашивания молока и образованию плотного сгустка без значительного изменения массовой доли белка, лактозы и жира. Органолептическая оценка экспериментальных образцов йогуртов выявила высокие вкусовые и ароматические характеристики, аналогичные продуктам, полученным с использованием традиционной закваски. Исследования выживаемости микроорганизмов в процессе хранения при -18 °С в течение 90 сут. продемонстрировали, что введение *L. casei* 32 снижает гибель клеток молочнокислых бактерий на 21,5%. Результаты исследования подтверждают эффективность применения данного штамма в производстве замороженных кисломолочных продуктов, открывая новые возможности для создания продукции с пробиотическими свойствами.

**Ключевые слова:** *Lactobacillus*, заквасочные культуры, ферментированные молочные продукты, замораживание.

PROSPECTS OF APPLICATION OF CRYORESISTANT STRAIN *LACTOBACILLUS CASEI* 32 IN THE  
TECHNOLOGY OF FROZEN FERMENTED DAIRY PRODUCTS

Research article

Kitaevskaya S.V.<sup>1,\*</sup>

<sup>1</sup>ORCID : 0000-0002-2211-8742;

<sup>1</sup>Kazan National Research Technological University, Kazan, Russian Federation

\* Corresponding author (kitaevskayas[at]mail.ru)

**Abstract**

The article presents the results of research on the effect of using cryoresistant strain *Lactobacillus casei* 32 in combination with the classical starter culture *Lactobacillus bulgaricus* on the quality parameters of yoghurts, as well as on the resistance of microorganisms to freezing. The aim of the work was to evaluate the possibility of using *L. casei* 32 strain in the technology of frozen fermented dairy products. The mass fraction of protein, lactose, fat, syneresis and density of clots, the number of viable cells of lactic acid bacteria, as well as organoleptic characteristics of products were determined in the samples. It is shown that the joint introduction of these strains leads to the acceleration of the process of milk fermentation and the formation of a dense clot without significant changes in the mass fraction of protein, lactose and fat. Organoleptic evaluation of the experimental yoghurt samples indicated high flavour and aromatic characteristics similar to the products obtained using traditional starter. Studies of microbial survival during storage at -18 °C for 90 days demonstrated that the introduction of *L. casei* 32 reduced the cell death of lactic acid bacteria by 21.5%. The results of the study confirm the effectiveness of using this strain in the production of frozen fermented dairy products, opening up new opportunities for creating products with probiotic properties.

**Keywords:** *Lactobacillus*, starter cultures, fermented dairy products, freezing.

**Введение**

Современные тенденции в области пищевого производства направлены на создание продуктов, способных не только удовлетворить базовые потребности организма в питательных веществах, но и оказывать позитивное влияние на здоровье человека. Одним из ключевых направлений в этой сфере является разработка функциональных продуктов, среди которых особую значимость приобретают кисломолочные продукты, обогащённые пробиотическими культурами [1], [2].

Регулярное потребление пробиотических продуктов может способствовать профилактике ряда заболеваний желудочно-кишечного тракта, снижению риска инфекционных болезней и укреплению общего состояния здоровья [3], [4], [5], [6].

Разработка новых биопродуктов с ассоциатами молочнокислых бактерий, обладающих уникальными полезными свойствами, рассматриваются как стратегическое направление современных пищевых технологий [7]. Замороженные

кисломолочные десерты с пробиотиками представляют собой перспективное направление в пищевой промышленности и могут стать важным элементом здорового питания.

Наиболее широко применяемым способом обогащения молочных продуктов пробиотической микрофлорой является её использование в составе закваски. На наш взгляд, в технологии замороженных йогуртовых десертов наиболее целесообразно применение заквасок молочнокислых бактерий, отличающихся помимо пробиотических свойств, высокой устойчивостью к низкотемпературному воздействию. В ходе многолетней селекционной работы нами получен криорезистентный штамм *L. casei* 32, отличающийся высоким биотехнологическим потенциалом и пробиотическими свойствами [8].

Целью данной работы – оценить возможность применения штамма *L. casei* 32 в технологии замороженных кисломолочных продуктов.

#### Методы и принципы исследования

Объектом исследования явились образцы йогурта, приготовленные с применением нового функционально-активного штамма *Lactobacillus casei* 32 [8] и классической закваски для йогурта *Lactobacillus delbrueckii subsp. bulgaricus*.

Для приготовления йогурта цельное гомогенизированное молоко (массовая доля жира 3,6%, кислотность 16 °Т) подвергали пастеризации при температуре 87 °С и выдерживали в течение 10-15 мин. при постоянном перемешивании, после чего молоко охлаждали до температуры 40 °С, вносили закваску и перемешивали в течение 15 минут. Сбраживание проводили в термостате при температуре 37 °С в течение 6-8 ч, затем продукт охлаждали до температуры 4±2 °С в течение 24 ч. Замораживание образцов йогурта проводили при температуре -18 °С в течение 90 сут.

Определение массовой доли белка, лактозы, жира в йогурте определяли на приборе InfraLUM® FT-12 (Россия). Для определения количества клеток молочнокислых бактерий производили посев на агаризованную среду MRS [8]. Для определения синерезиса образцы охлажденные до 4 °С массой 20 г центрифугировали в течение 5 мин. при 1000 об./мин. Синерезис определяли как количество выделившейся сыворотки в процентах от массы продукта [9]. Плотность сгустков определяли как соотношение объема продукта к его массе при температуре 20 °С [9]. Органолептическая оценка йогуртов проводилась нетренированной некурящей группой из 16 испытуемых (8 мужчин и 8 женщин в возрасте от 19 до 60 лет) по пятибалльной шкале.

Полученные данные представляют средние арифметические значения трех повторностей эксперимента и их среднеквадратичное отклонение. Достоверность различий между группами данных определяли с помощью t-критерия Стьюдента ( $p \leq 0,05$ ).

#### Результаты исследования и их обсуждение

В технологии кисломолочных продуктов, в том числе йогурта, существенное влияние оказывают физиолого-биохимические характеристики заквасочных культур. В работе совместно с классической заквасочной культурой для йогурта *L. bulgaricus* в молоко вносили криорезистентную закваску *L. casei* 32 в соотношении 1:1. Данный штамм характеризуется пробиотическими свойствами, высокой антиоксидантной и антагонистической активностью [8].

Анализ научно-технической литературы свидетельствует о том, что в технологии йогуртов целесообразно использовать закваски, имеющие высокую активность сквашивания и образующие плотный сгусток молочно-белого цвета с нежным кисломолочным вкусом [10], [11].

В таблице 1 представлены результаты исследования образцов йогурта с применением различных заквасочных культур молочнокислых бактерий.

Таблица 1 - Характеристика образцов йогурта

DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2024.52.15.1>

Показатель	Заквасочная культура		
	<i>L. casei</i> 32	<i>L. bulgaricus</i>	<i>L. bulgaricus</i> + <i>L. casei</i> 32
Массовая доля жира, %	3,23	3,04	3,10
Массовая доля лактозы, %	3,96	4,05	4,01
Массовая доля белка, %	3,52	3,68	3,64
Массовая доля молочной кислоты, %	1,09	1,16	1,13
pH	4,37	4,14	4,22
Синерезис, %	0,20	0,12	0,19
Плотность, г/см <sup>3</sup>	1,16	1,19	1,17
Количество молочнокислых бактерий, КОЕ г/см <sup>3</sup>	(83±5)×10 <sup>9</sup>	(74±6)×10 <sup>10</sup>	(36±5)×10 <sup>10</sup>

Результаты изучения влияния микрофлоры на качество ферментированного молока свидетельствуют о том, что штамм *L. casei* 32 является активным кислотообразователем (конечное значение рН=4,37) и может применяться в качестве заквасочной культуры. Наибольшее содержание молочной кислоты отмечено в образцах с использованием *L. bulgaricus* и комбинации данного штамма с *L. casei* 32. Выбранные бактериальные концентраты характеризуются высоким количеством жизнеспособных клеток – не менее  $10^9$  КОЕ/см<sup>3</sup>, что является не только гарантией их быстрого размножения при ферментации молочных сред, но и свидетельствует о высоких пробиотических свойствах. Установлено, что массовая доля белка, лактозы и жира в сквашенном молоке существенно не зависят от видового состава закваски.

При изучении сочетаемости микроорганизмов *L. bulgaricus* и *L. casei* 32 наблюдается ускорение процесса образования сгустка, что указывает на стимулирующее действие микроорганизмов заквасок друг на друга. Исследуемые культуры образуют сгустки различной степени плотности в пределах 1,16-1,19 г/см<sup>3</sup>. Установлено, что *L. casei* 32 образует молочнокислый гель с низким уровнем синерезиса.

Результаты исследования органолептических характеристик йогуртов представлены на рис. 1.

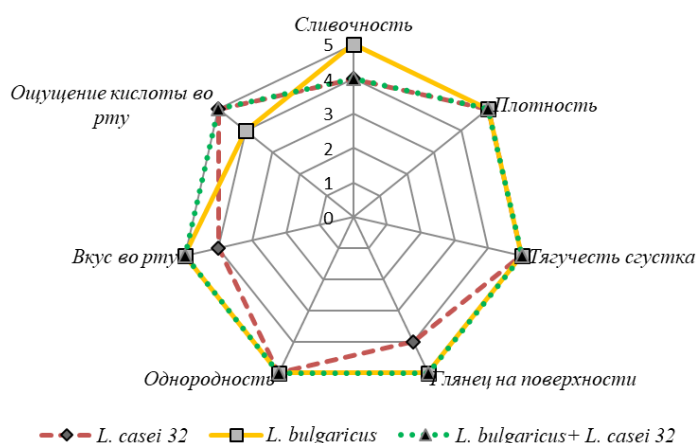


Рисунок 1 - Органолептические показатели йогуртов  
DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2024.52.15.2>

Выявлено, что образец йогурта с применением комбинации штаммов *L. bulgaricus* и *L. casei* 32 по органолептическим характеристикам существенно не отличается от образцов, приготовленных на классической закваске *L. bulgaricus*. Экспериментальные образцы обладают отличным вкусом и ароматом, плотной и однородной консистенцией, имеют глянец на поверхности сгустка.

Таким образом, результаты исследований физико-химических и органолептических характеристик опытных образцов свидетельствуют о том, что штамм, *L. casei* 32 является перспективным для введения в основную закваску при производстве йогуртовой продукции.

Основной задачей при производстве замороженных продуктов на кисломолочной основе является сохранение жизнеспособности молочнокислых бактерий после длительного низкотемпературного хранения. Нами проведены исследования изменения выживаемости клеток заквасочной микрофлоры при хранении йогуртов в замороженном виде при температуре -18 °С.

Показано, что при низкотемпературном воздействии происходит снижение выживаемости клеток лактобацилл во всех исследуемых объектах. Однако, наибольшая гибель клеток молочнокислых бактерий отмечается в образцах, приготовленных с применением классической закваски *L. bulgaricus* (рис. 2). Так, после трехмесячного хранения образцов в замороженном виде гибель клеток штамма *L. bulgaricus* составляет 48,8%, тогда как *L. casei* 32 – 21,6%.

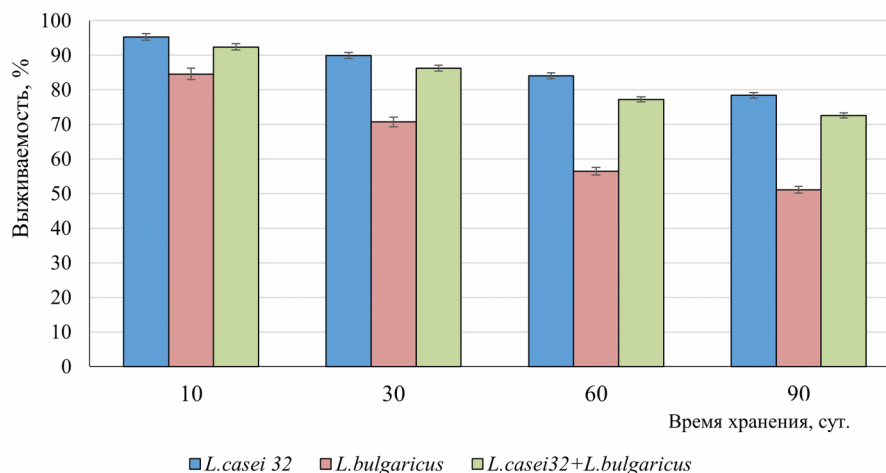


Рисунок 2 - Выживаемость лактобацилл при хранении йогуртов в замороженном виде  
DOI: <https://doi.org/10.60797/JAE.2024.52.15.3>

В ходе исследования установлено, что введение в состав классической заквасочной микрофлоры криорезистентного штамма *L. casei 32* способствует увеличению количества жизнеспособных клеток молочнокислых бактерий на 21,5% в замороженном йогурте при хранении в течение 90 сут.

*L. casei 32* представляет значительный интерес для технологии замороженных кисломолочных продуктов благодаря своим криорезистентным и пробиотическим свойствам. Однако успешное внедрение данного штамма требует дальнейших исследований в области технологических процессов и разработки стандартов качества готовой продукции. Последующие исследования будут направлены на оптимизацию технологических процессов производства замороженной продукции на йогуртовой основе с данным штаммом и оценку долгосрочных эффектов их потребления на здоровье людей.

#### Заключение

Результаты исследования показали, что штамм *L. casei 32* является активным кислотообразователем и может быть использован в составе заквасочных культур для производства кисломолочных продуктов. Совместное культивирование *L. bulgaricus* и *L. casei 32* ускоряет процесс сквашивания молока, указывая на биосовместимость между микроорганизмами. Образцы йогуртов с использованием комбинации этих штаммов демонстрируют отличные органолептические характеристики, сопоставимые с классическим йогуртом. Полученные результаты подтверждают эффективность применения криорезистентного штамма *L. casei 32* в технологии замороженных кисломолочных продуктов и послужат основой для разработки новых видов замороженной продукции на йогуртовой основе с пробиотическими свойствами. Применение криорезистентного штамма *L. casei 32* может значительно улучшить функциональные и технологические свойства продукции, что повысит их конкурентоспособность среди замороженных кисломолочных продуктов на рынке молочной продукции.

#### Конфликт интересов

Не указан.

#### Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

#### Conflict of Interest

None declared.

#### Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

#### Список литературы / References

1. Волкова Г.С. Изучение производственных свойств отдельных штаммов молочнокислых бактерий для создания пробиотиков / Г.С. Волкова, Е.В. Куксова, Е.М. Сербя // Пищевая промышленность. — 2020. — № 3. — С. 8–11. — DOI: 10.24411/0235-2486-2020-10024.
2. Хромова Н.Ю. Поиск перспективных пробиотических штаммов лакто- и бифидобактерий в комбинации с оценкой витамин-В-продуцирующего потенциала для создания биообогащенных продуктов / Н.Ю. Хромова, Ю.М. Епишкина, Н.В. Хабибуллина [и др.] // Актуальная биотехнология. — 2022. — № 1. — С. 204–207.
3. Веснина А.Д. Разработка пробиотического консорциума для людей с онкологическими заболеваниями / А.Д. Веснина, А.Ю. Просеков, О.В. Козлова [и др.] // Вестник ВГУИТ. — 2021. — № 1 (87). — С. 219–232. — DOI: 10.20914/2310-1202-2021-1-219-232.
4. Rajoka M.S.R. Lactobacillus exopolysaccharides: New perspectives on engineering strategies, physiochemical functions, and immunomodulatory effects on host health / M.S.R. Rajoka, Y.G. Wu, L.Q. Zhao // Trends in Food Science & Technology. — 2020. — № 103. — P. 36–48. — DOI: 10.1016/j.tifs.2020.06.003.

5. Maske B.L. A review on enzyme-producing lactobacilli associated with the human digestive process: From metabolism to application / B.L. Maske, G.V. Pereira, A.S. Vale [et al.] // *Enzyme and Microbial Technology*. — 2021. — Vol. 149. — 109836 p. — DOI: 10.1016/j.enzymtec.2021.109836.
6. Бегунова А.В. Потенциал молочнокислых бактерий в снижении уровня холестерина / А.В. Бегунова, И.В. Рожкова, Т.И. Ширшова [и др.] // *Пищевая промышленность*. — 2020. — № 11. — С. 12–15. — DOI: 10.24411/0235-2486-2020-10119.
7. Sanlier N. Health benefits of fermented foods / N. Sanlier, B.B. Gokcen, A.C. Sezgin // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. — 2019. — Vol. 59. — № 3. — P. 506–527. — DOI: 10.1080/10408398.2017.1383355.
8. Китаевская С.В. Оценка биотехнологического потенциала новых штаммов молочнокислых бактерий с криорезистентными свойствами / С.В. Китаевская, О.А. Решетник, Д.Р. Камартидинова, А.Н. Волостнова, Н.К. Романова // *Вестник ВГУИТ*. — 2023. — Т. 85. — № 4. — С. 63–69. — DOI: 10.20914/2310-1202-2023-4-63-69.
9. Юнусов Э.Ш. Оценка перспективы использования незаквасочного штамма *Lactiplantibacillus plantarum* AG15 в технологиях ферментированных молочных продуктов / Э.Ш. Юнусов, В.Я. Пономарев, Е.В. Никитина // *Индустрия питания*. — 2022. — Т. 7. — № 3. — С. 5–17. — DOI: 10.29141/2500-1922-2022-7-3-1.
10. Стоянова Л.Г. Метабиотические свойства штаммов *Lactobacillus acidophilus*, входящих в комплексные закваски для производства пробиотических молочных продуктов / Л.Г. Стоянова, С.Д. Дбар, И.С. Полянская // *Биотехнология*. — 2022. — Т. 38. — № 1. — С. 3–12. — DOI: 10.56304/S0234275822010070.
11. Bai M. Fermentation characteristics of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* T50 and *Streptococcus thermophilus* S10 complex starter: Enhancing fermentation performance, metabolic interaction, and storage stability / M. Bai, S. Yang, Q. Zhao [et al.] // *LWT*. — 2024. — № 208. — P. 116716. — DOI: 10.1016/j.lwt.2024.116716.

### Список литературы на английском языке / References in English

1. Volkova G.S. Izuchenie proizvodstvennykh svoystv otdel'nykh shtammov molochnokislykh bakterij dlja sozdaniya probiotikov [Study of production properties of individual strains of lactic acid bacteria for probiotics] / G.S. Volkova, E.V. Kuksova, E.M. Serba // *Pishhevaja promyshlennost'* [Food Processing Industry]. — 2020. — № 3. — P. 8–11. — DOI: 10.24411/0235-2486-2020-10024. [in Russian]
2. Hromova N.Ju. Poisk perspektivnykh probioticheskikh shtammov lakto- i bifidobakterij v kombinatsii s otsenкой vitamin-B-produtsirujuschego potentsiala dlja sozdaniya bioobogashennykh produktov [Search for promising probiotic strains of lacto- and bifidobacteria in combination with an assessment of vitamin-B-producing potential for the creation of bioenriched products] / N.Ju. Hromova, Ju.M. Epishkina, N.V. Habibullina [et al.] // *Aktual'naja biotehnologija* [Topical Biotechnology]. — 2022. — № 1. — P. 204–207. [in Russian]
3. Vesnina A.D. Razrabotka probioticheskogo konsortsiума dlja ljudej s onkologicheskimi zabolevanijami [Development of a probiotic consortium for people with cancer] / A.D. Vesnina, A.Ju. Prosekov, O.V. Kozlova [et al.] // *Vestnik VGUIT* [Bulletin of VSUET]. — 2021. — № 1 (87). — P. 219–232. — DOI: 10.20914/2310-1202-2021-1-219-232. [in Russian]
4. Rajoka M.S.R. *Lactobacillus* exopolysaccharides: New perspectives on engineering strategies, physiochemical functions, and immunomodulatory effects on host health / M.S.R. Rajoka, Y.G. Wu, L.Q. Zhao // *Trends in Food Science & Technology*. — 2020. — № 103. — P. 36–48. — DOI: 10.1016/j.tifs.2020.06.003.
5. Maske B.L. A review on enzyme-producing lactobacilli associated with the human digestive process: From metabolism to application / B.L. Maske, G.V. Pereira, A.S. Vale [et al.] // *Enzyme and Microbial Technology*. — 2021. — Vol. 149. — 109836 p. — DOI: 10.1016/j.enzymtec.2021.109836.
6. Begunova A.V. Potentsial molochnokislykh bakterij v snizhenii urovnja holesterina [The potential of lactic acid bacteria in cholesterol level reduction] / A.V. Begunova, I.V. Rozhkova, T.I. Shirshova [et al.] // *Pishhevaja promyshlennost'* [Food Processing Industry]. — 2020. — № 11. — P. 12–15. — DOI: 10.24411/0235-2486-2020-10119. [in Russian]
7. Sanlier N. Health benefits of fermented foods / N. Sanlier, B.B. Gokcen, A.C. Sezgin // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. — 2019. — Vol. 59. — № 3. — P. 506–527. — DOI: 10.1080/10408398.2017.1383355.
8. Kitaevskaja S.V. Otsenka biotehnologicheskogo potentsiala novyx shtammov molochnokislykh bakterij s kriorezistentnymi svoystvami [Evaluation of biotechnological potential of new strains of lactic acid bacteria with cryoresistant properties] / S.V. Kitaevskaja, O.A. Reshetnik, D.R. Kamartidinova, A.N. Volostnova, N.K. Romanova // *Vestnik VGUIT* [Bulletin of VSUET]. — 2023. — Vol. 85. — № 4. — P. 63–69. — DOI: 10.20914/2310-1202-2023-4-63-69. [in Russian]
9. Junusov E.Sh. Otsenka perspektivy ispol'zovaniya nezakvasochного shtamma *Lactiplantibacillus plantarum* AG15 v tehnologijah fermentirovannykh molochnykh produktov [Prospects for the use of non-starter strain *Lactiplantibacillus Plantarum* AG15 in dairy technology] / E.Sh. Junusov, V.Ja. Ponomarev, E.V. Nikitina // *Industrija pitaniya* [Food Industry]. — 2022. — Vol. 7. — № 3. — P. 5–17. — DOI: 10.29141/2500-1922-2022-7-3-1. [in Russian]
10. Stojanova L.G. Metabiотические свойства shtammov *Lactobacillus acidophilus*, vhodjaschih v kompleksnye zakvaski dlja proizvodstva probioticheskikh molochnykh produktov [Metabiotic properties of *Lactobacillus acidophilus* strains included in complex starter cultures for probiotic dairy products] / L.G. Stojanova, S.D. Dbar, I.S. Poljanskaja // *Biотehnologija* [Biotechnology]. — 2022. — Vol. 38. — № 1. — P. 3–12. — DOI: 10.56304/S0234275822010070. [in Russian]
11. Bai M. Fermentation characteristics of *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* T50 and *Streptococcus thermophilus* S10 complex starter: Enhancing fermentation performance, metabolic interaction, and storage stability / M. Bai, S. Yang, Q. Zhao [et al.] // *LWT*. — 2024. — № 208. — P. 116716. — DOI: 10.1016/j.lwt.2024.116716.