Региональная конференция
по научно-техническому творчеству школьников
«Лабиринты науки»

Секция биотехнология

Изучение влияния срока хранения на количество бифидобактерий в кисломолочном продукте «Бифилайф»

Выполнена ученицей
11 естественно-научного класса
ГОУ ЯО Средняя школа
«Провинциальный колледж»
Ивановой Дарьей

Научные руководители:
врач-микробиолог высшей категории
Полетаева Елена Дмитриевна
кандидат биологических наук,
учитель биологии
Фомичева Анна Николаевна

Ярославль, 2023

Оглавление

Введение	2
Материалы и методы исследования	3
Результаты исследования и их обсуждение	6
Выводы	10
Список использованной литературы	11
Приложение	13

Введение

В XI веке известный персидский учёный, философ и врач Авиценна считал, что самое лучшее лекарство – это еда, которой ежедневно питается человек.

Качество продуктов питания является важнейшим фактором формирования здорового образа жизни человека. Принятая постановлением Правительства РФ в 2016 году «Стратегия повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 года» является основой управления качеством пищевой продукции. В соответствии со стратегией производимые на рынке пищевые продукты должны быть, с одной стороны, безопасными по микробиологическим показателям и, с другой, надлежащего качества.[1]

Для кисломолочных продуктов понятие микробиологического качества связано с отсутствием патогенных бактерий и наличием жизнеспособных молочнокислых микроорганизмов. К наиболее важным заквасочным культурам относятся бифидобактерии и молочнокислые бактерии.[2]

Мое внимание в проектной работе обращено на уникальные бифидобактерии.

Актуальность данной работы состоит в том, что кисломолочные продукты, обогащенные бифидобактериями, являются одними из распространенных пробиотических биопродуктов питания населения. Их назначают детям и взрослым при заболеваниях ЖКТ и нарушении пищеварения, для лечебного и профилактического питания, поэтому они требуют особого контроля качества. Иными словами, пробиотическими биопродуктами или пробиотиками – называются живые микробы, которые в норме заселяют микрофлору человека и приносят ему пользу.

---

[1]Распоряжение Правительства РФ от 29.06.2016г. № 1364-р «Об утверждении Стратегии повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 года».

[2]Бифидобактерии: [Электронный ресурс]// ООО «ПРОПИОНИКС». URL: https://propionix.ru/bifidobakterii (Дата обращения: 23.03.2023).

Морфология и систематика бифидобактерий: [Электронный ресурс] // ООО «ПРОПИОНИКС» URL: https://propionix.ru/morfologiya-bifidobakteriy?ysclid=lekh54cjqp207801830 (Дата обращения: 30.03.2023).

Цель исследования – изучить влияние срока хранения на количество бифидобактерий в кисломолочном продукте «Бифилайф».

Задачи исследования:

1. Оценить количество жизнеспособных бифидобактерий в кисломолочном продукте «Бифилайф» в зависимости от продолжительности периода хранения в условиях холодильника (+4°С);
2. Определить влияние сроков хранения на основные показатели качества кисломолочного продукта «Бифилайф»;
3. Оценить кисломолочный продукт «Бифилайф» на соответствие требованиям стандарта при различных сроках хранения;
4. Изучить количество бифидобактерий в кишечнике до и после двухнедельного курса приема «Бифилайфа».

Обзор литературы по теме исследования представлен в приложении.

1. Материалы и методы исследования

Определение бактериальной обсеменённости кисломолочного продукта «Бифилайф» бифидобактериями производили с применением методик по ГОСТ Р 33491-2015 «Продукты кисломолочные, обогащённые бифидобактериями Бифидум»; ГОСТ 9225-84 «Молоко и молочные продукты. Методы микробиологического анализа»; ГОСТ 33924-2016 «Молоко и молочная продукция. Методы определения бифидобактерий»; ГОСТ ISO 6887-1-2015 «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Подготовка проб, исходной суспензии и десятикратных разведений для микробиологических исследований.

Таблица 5

Характеристика исследуемого образца кисломолочного продукта «Бифилайф»

N образца	**Продукт, ГОСТ или ТУ**	**Производитель**	**Состав заквасочных и пробиотических микроорганизмов**	**Концентрация микроорганизмов в продукте, заявленная производителем, *м/о КОЕ/ ml***
1.	Биопродукт кисломолочный **«БИФИЛАЙФ из Вологды»,** ТУ 9222-001-14173891-04. Дата производства **06.02.2023г.**	АО « Учебно-опытный молочный завод» ВГМХА им. Н.В. Верещагина, Вологодская область, г. Вологда. Срок годности - 5 суток	Симбиотическая закваска бифидобактерий полного видового состава	Бифидобактерии не менее ***1*10-^{7} КОЕ/ml***
Обозначения: м/о – микроорганизмы; КОЕ/ml – Колониеобразующая единица в 1ml продукта.				

Методика основана на способности бифидобактерий расти в питательной среде, разлитой высоким столбиком в пробирках, при температуре 38 ± 1°С и образовывать в них через 24-72 ч. колонии с типичной для бифидобактерий морфологией.[3]

Проведение исследования и обработка результатов:

1) В лабораторных условиях использовали Среду Блаурокка (бифидум среда) – питательную среду для выделения и культивирования бифидобактерий готовую к применению, производства ООО «НИЦФ» Россия, Санкт-Петербург. Среда Блаурокка состоит из многих компонентов, таких как: печёночный бульон, агар, пептон ферментативный, лактоза, цистеина гидрохлорид и натрия хлорид.[4]

2) Перед употреблением Среду Блаурокка разогревали на кипящей водяной бане в течение 15 мин до полного расплавления среды и для снижения в ней содержания растворенного кислорода, создавая анаэробные условия. В момент использования температура питательной среды составляла (38 ± 1)°С.[4]

3) Учитывая, что концентрация микроорганизмов в продукте, заявленная производителем – не менее 10^{-7} КОЕ бифидобактерий/ml, то высевали в питательную среду Блаурокка четыре разведения: 10^{-7}, 10^{-8}, 10^{-9}, 10^{-10}.

4) Стерильной пипеткой по 1 ml из разведений: 10^{-7}, 10^{-8}, 10^{-9}, 10^{-10} дозированно погружали в пробирки с 9 ml предварительно подготовленной средой Блаурокка.

5) Посевы в бифидум среде выращивали в термостате при температуре 38 ± 1°С в течение 24 – 72 часов.[5]

6) Результат оценивали визуально, учитывая последнее разведение, в котором выросли типичные колонии для бифидобактерий – в виде «гвоздиков», «шариков»,

---

[3]Морозова Т.П., Домотенко Л.В., Подкопаев Я.В., Косилова И.С. Использование комплекса питательных сред для выявления заквасочных культур в кисломолочных продуктах // Бактериология. 2020. Том 5. №1. С.25-32.
ГОСТ ISO 29981-2013. Продукты молочные. Подсчет презумптивных бифидобактерий. Метод определения количества колоний при температуре 37°С. Введ. 2015-07-01. М.: Стандартинформ, 2014. 19 с.

[4]Морозова Т.П., Домотенко Л.В., Подкопаев Я.В., Косилова И.С. Использование комплекса питательных сред для выявления заквасочных культур в кисломолочных продуктах // Бактериология. 2020. Том 5. №1. С.25-32.
Инструкция по применению Среды Блаурокка. Научно-исследовательский центр фармакотерапии (НИЦФ). СПб.

[5]Морозова Т.П., Домотенко Л.В., Подкопаев Я.В., Косилова И.С. Использование комплекса питательных сред для выявления заквасочных культур в кисломолочных продуктах // Бактериология. 2020. Том 5. №1. С.25-32.
ГОСТ 33924-2016. Молоко и молочная продукция. Методы определения бифидобактерий. Введ. 2017-09-01. М.: Стандартинформ, 2016. 12 с.

«вытянутых веретен», в виде «полос», «комет с хвостом»,расположенных вдоль пробирки. Выросшие колонии подсчитывали.[6]

7) Принадлежность выросших микроорганизмов к бифидобактериям подтверждали бактериоскопией с помощью светового микроскопа. Из типичных колоний готовили мазки, окрашенные по Граму или метиленовым синим.[7] При приготовлении препарата на чистое предметное стекло наносили, распределяя петлёй, небольшую каплю исследуемого материала с выросшей колонией микроорганизма. Препарат высушили при комнатной температуре, фиксируя пламенем горелки, и окрасили метиленовым синим. Сине-фиолетовые («положительные» по Граму) бифидобактерии в мазках имели вид изогнутых палочек, располагались в виде римских пятерок (V), скоплений в виде китайских иероглифов, в виде «вилочек» или «рогаток».[8] (Рис.4)

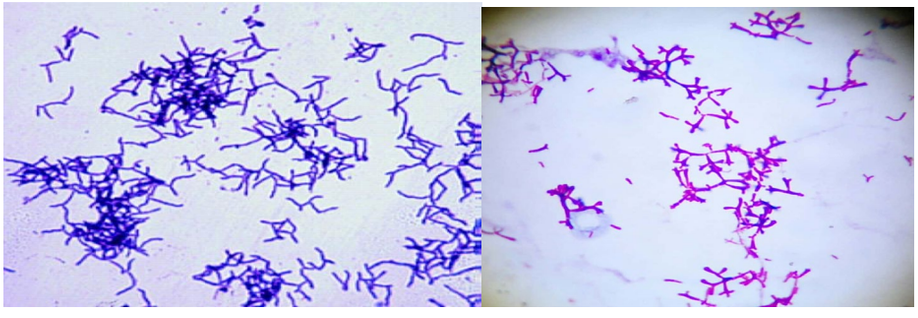


Рис.4 Микрофотографии окрашенных метиленовым синим бифидобактерий (увел.*1000)

8) По алгоритму действий представленному выше, заново, из экспериментального образца «Бифилайфа из Вологды» (дата производства 06.02.2023г.), ежедневно повторяли микробиологический высев в питательную бифидум среду, включительно по 10.02.2023г. По результатам роста через 24-72 часа визуально оценивали морфологию бактерий, подсчитывали количество бифидобактерий в разведениях: 10^{-7}, 10^{-8}, 10^{-9}, 10^{-10} и определяли последнюю пробирку с видимым ростом. Таким образом, рассчитывали максимальную степень разведения/ КОЕ жизнеспособных бифидобактерий в 1ml продукта.[9]

---

[6]Гудков А.В., Гудков С.А., Козловская М.Я., Перфильев Г.Д. Бифидобактерии: биология, роль в жизнедеятельности человека и животных. Производство бифидосодержащих продуктов, Рос. акад. с/х наук, Ин-т маслодельной и сыродельной промышленности. Углич, 1999. 43 с.
Методические указания. 4.2. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы определение количества бифидобактерий в кисломолочных продуктах. Введ. 2001-02-08. М., 4 с.

[7]ГОСТ ISO 6887-1-2015. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Подготовка проб, исходной суспензии и десятикратных разведений для микробиологических исследований. Часть 1. Общие правила подготовки исходной суспензии и десятикратных разведений. Введ. 2015-02-27. Минск: Изд-во стандартов, 2015. 9 с.

[8]Тейлор Д., Грин Н., Стаут У.; под ред. Сопера Р. Биология: в 3-х т. Том 2 14-е изд. М.: Лаборатория знаний, 2022. С. 58-60.

[9]Определение количества бифидобактерий в кисломолочных продуктах. Методические указания МУК 4.2.999-00 от 8.11.2000 г.

2. Результаты исследования и их обсуждение

Анализируя результаты, полученные бактериологическим методом, можно отметить совпадение состава заявленных заквасочных культур, где количество бифидобактерий в 1 ml биопродукта оказалось больше, относительно целевого показателя (10^{-7} КОЕ бифидобактерий/ml), и составило > 1* $10^{-10\text{-}11}$ КОЕ/ml.

В ходе исследования образца **№1 от 06.02.2023** на первые сутки видимый рост бифидобактерий в питательной среде отсутствовал. Через 48 часов инкубации наблюдалось «помутнение среды» без видимого роста. Через 72 часа инкубации бифидобактерии были выделены и идентифицированы в виде «маленьких комет» и «тяжей» в титре 10^{-7} КОЕ/ml. При микроскопии мазков из выросших колоний наблюдали грамположительные палочки, типичные для бифидобактерий. Рис.5.

При посеве образца **№ 2 от 07.02.23** через 48 часов инкубации наблюдали рост бифидобактерий в виде многочисленных «шариков», «манной крупы» в толще питательной среды, в разведении 10^{-7} КОЕ/ml. Через 48-72 часа инкубации бифидобактерии были визуально крупнее и выделены в разведении 10^{-8} КОЕ/ml.

При посеве образца **№ 3 от 08.02.23** через 24 часа инкубации наблюдали рост бифидобактерий в виде многочисленных «комет с хвостом», «гвоздиков» в толще питательной среды, в разведении 10^{-7} КОЕ/ml. Через 48-72 часа инкубации бифидобактерии были выделены в разведении >10^{-8} КОЕ/ml с наличием просветления среды в верхней части столбика.

При посеве образца **№ 4 от 09.02.23** через 24 часов инкубации наблюдали рост бифидобактерий в виде многочисленных вытянутых вдоль пробирки «тяжей», в толще питательной среды, в разведении >10^{-7} КОЕ/ml и в разведении 10^{-9} КОЕ/ml через 72 часа.

При посеве образца **№ 5 от 10.02.23** через 24 часов инкубации наблюдали рост бифидобактерий в виде многочисленных вытянутых вдоль пробирки «веретен», крупных «шариков», в разведении >10^{-8} КОЕ/ml и в разведении >$10^{-10\text{-}11}$ КОЕ/ml через 72 часа с наличием просветления всей толщи среды в столбике.

Стадии роста бифидобактерий, представлены на Рис.6

ГОСТ ISO 29981-2013. Продукты молочные. Подсчет презумптивных бифидобактерий. Метод определения количества колоний при температуре 37°С. Введ. 2015-07-01. М.: Стандартинформ, 2014. 19 с.

ГОСТ ISO 6887-1-2015. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Подготовка проб, исходной суспензии и десятикратных разведений для микробиологических исследований. Часть 1. Общие правила подготовки исходной суспензии и десятикратных разведений. Введ. 2015-02-27. Минск: Изд-во стандартов, 2015. 9 с.

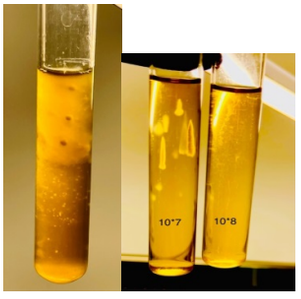


Рис.5 Рост бифидобактерий 10*7 КОЕ/ml из образца №1 через 48-72 часа



Рис.6 Рост колоний бифидобактерий из образца через 24- 72 часа (разведения10^{-7},10^{-8},10^{-9}), где «А» - «помутнения среды»; «Б» - рост типичных КОЕ бифидобактерий; «В» - максимум КОЕ.

Разнообразие форм колоний бифидобактерий полного видового состава (в зависимости от вида: *Bacterium bifidum, Bacterium longum, Bacterium adolescentis, Bacterium breve, Bacterium infantis*): «шарики», «кометы с хвостом», «гвоздики», «вытянутые полоски» из образца биопродукта через 48- 72 часа, представлены на Рис.7.

Таким образом, можно сделать вывод о полном соответствии продукта «Бифилайф Из Вологды» требованиям по данному микробиологическому показателю. Динамика показателей представлена в таблице 6.

Предоставленные данные показывают, что КОЕ/1 ml увеличивается в каждый из пяти дней периода срока годности, достигая максимума на 5-ый день. Значение КОЕ/1 ml во время всего периода срока годности соответствует норме.

В данном исследовании было проведено изучение количества бифидобактерий в кишечнике у добровольцев до и после двухнедельного курса приёма кисломолочного продукта «Бифилайф».

Изначально была собрана выборка из 4 испытуемых, представляющих различные возрастные группы и половозрастные категории. Все участники исследования были здоровы и не имели серьезных проблем с пищеварительной системой.

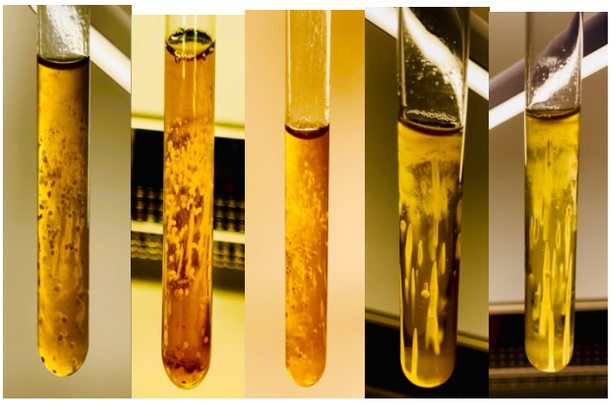


Рис.7 Разнообразие форм колоний бифидобактерий: «шарики», «кометы с хвостом», «гвоздики», «вытянутые полоски» из образца через 48- 72часа (разведения10^{-8},10^{-9},10^{-10})

Таблица 6

Показатели роста КОЕ бифидобактерий в 1 ml в зависимости от срока хранения «Бифилайфа из Вологды»

Дата	***Показатель***	***Инкубация, часы***		
		24 ч	***48 ч***	***72 ч***
06.02.2023	Помутнение среды/ начало роста	—	+	+
	Бифидобактерии/рост	—	+	+
	КОЕ/1 ml = Титр	***отсут.***	***< 10*7***	***10*7***
07.02.2023	Помутнение среды/ начало роста	+	+	+
	Бифидобактерии/ рост	—	+	+
	КОЕ/1 ml = Титр	***< 10*7***	***10*7***	***10*8***
08.02.2023	Помутнение среды/ начало роста	+	+	+
	Бифидобактерии/ рост	+	+	+
	КОЕ/1 ml = Титр	***10*7***	***10*8***	***>10*8***
09.02.2023	Помутнение среды/ начало роста	+	+	+
	Бифидобактерии/ рост	+	+	+
	КОЕ/1 ml = Титр	***>10*7***	***>10*8***	***10*9***
10.02.2023	Помутнение среды/ начало роста	+	+	+
	Бифидобактерии/ рост	+	+	+
	КОЕ/1 ml = Титр	***10*8***	***10*9***	***>10*10***

Обозначения: КОЕ/1ml — колониеобразующая единица в 1ml продукта

Для представления данных по КОЕ/1 ml в графической форме результаты были переведены в баллы. Таблица 7, 8.

Для определения количества бифидобактерий в кишечнике были использованы современные методы бактериологического анализа, включая культуральный метод. Исследование микрофлоры фекалий каждого участника эксперимента дважды (до и после двухнедельного курса) проводилось в бактериологической лаборатории Инфекционной клинической больницы г.Ярославля. Культивирование микроорганизмов из фекалий проводилось с целью получения чистых культур

бактерий и качественного определения их видового состава. Образцы фекалий помещались в питательные среды, подходящие для роста разных типов микроорганизмов. Это позволило вырастить колонии микроорганизмов, которые потом идентифицировали, классифицировали по виду и количественно их подсчитали (КОЕ/г фекалий).

Таблица 7

Оценка КОЕ/1 ml в баллах

КОЕ/1 ml	*балл*
*< 10*7*	1
*10*7*	2
*10*8*	3
*>10*8*	4
*10*9*	5
*>10*10*	6

Таблица 8

Оценка КОЕ/1 ml в баллах

Дата	*КОЕ/1 ml при инкубации, часы*		
	24 ч	*48 ч*	*72 ч*
06.02.2023	0	1	2
07.02.2023	1	2	3
08.02.2023	1	3	4
09.02.2023	2	4	5
10.02.2023	3	5	6

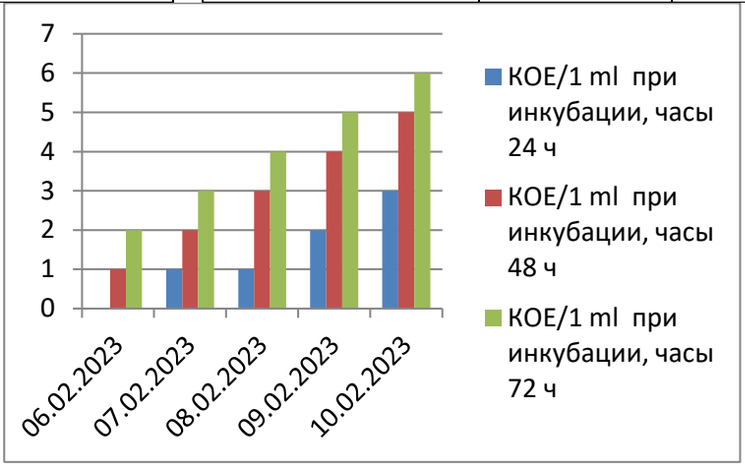


Рис.8 Показатели роста КОЕ/1 ml биопродукта в течение срока годности при различном времени инкубации

Для определения количества бифидобактерий в кишечнике были использованы современные методы бактериологического анализа, включая культуральный метод. Исследование микрофлоры фекалий каждого участника эксперимента дважды (до и после двухнедельного курса) проводилось в бактериологической лаборатории Инфекционной клинической больницы г.Ярославля. Культивирование микроорганизмов из фекалий проводилось с целью получения чистых культур бактерий и качественного определения их видового состава. Образцы фекалий помещались в питательные среды, подходящие для роста разных типов микроорганизмов. Это позволило вырастить колонии микроорганизмов, которые потом идентифицировали, классифицировали по виду и количественно их подсчитали (КОЕ/г фекалий).

У каждого участника микропейзаж кишечника был представлен бактериями семейства кишечной палочки, бифидо- и лактобактериями, патогенной микрофлоры обнаружено не было. Первичные результаты показали, что у большинства участников исследования количество бифидобактерий находилось ниже нормы (<10*8 КОЕ/г). Это свидетельствовало о нарушении микрофлоры кишечника и, возможно, имело отрицательное влияние на процессы пищеварения, а также работу иммунной системы.

После проведения двухнедельного курса приёма продукта «Бифилайф», наблюдалось значительное увеличение количества бифидобактерий у большей части испытуемых. По результатам эксперимента, количество бифидобактерий достигло в среднем значения в 10*12 КОЕ/г. Интересно было отметить, что у некоторых участников исследования количество бифидобактерий не только увеличилось, но и превысило норму (>10*12 КОЕ/г.). Это может свидетельствовать о дополнительной активации определенных обменных процессов и повышении защитных функций организма. Положительный эффект показал высокую эффективность кисломолочного продукта во восстановлении и поддержании баланса микрофлоры организма. Такое увеличение количества бифидобактерий может оказывать положительное влияние на здоровье и иммунную систему человека, способствуя нормализации пищеварительного процесса и укреплению общего состояния организма.

Таким образом, наша работа позволила выявить полезное влияние кисломолочного продукта «Бифилайф» на количество бифидобактерий в кишечнике. Эти результаты подтверждают важность включения кисломолочных продуктов в рацион питания, особенно детей школьного возраста, для поддержания кишечной микрофлоры и общего здоровья. Открывают новые перспективы в лечении и профилактике нарушений кишечной микрофлоры (дисбактериоза кишечника) и связанных с ней заболеваний.

Выводы

1. Установлено полное соответствие количества бифидобактерий в «Бифилайф из Вологды» нормативу (бифидобактерий не менее 10^{-7} КОЕ/ml) на всём протяжении срока годности биопродукта (5 суток) в условиях холодильника (+4°С).
2. Разнообразие форм колоний бифидобактерий: «шарики», «кометы с хвостом», «гвоздики», «вытянутые полоски» из образца через 48- 72 часа свидетельствуют о видовом разнообразии бифидобактерий «Бифилайфа из Вологды».
3. В период срока хранения «Бифилайфа из Вологды», увеличивается содержание бифидобактерий в 1 ml готового биопродукта (не менее $10^{-10\text{-}11}$ КОЕ/ml

бифидобактерий), что опровергает первоначальную рабочую гипотезу о снижении количества жизнеспособных бифидобактерий при увеличении срока хранения.

4. Производитель установил оптимальный срок годности (5 суток). Полагаю, из-за отсутствия консерванта в составе биопродукта. Поэтому наиболее полезным в употреблении «Бифилайф из Вологды» будет в последних числах срока годности биопродукта (4-5 сутки от даты производства), когда полный видовой состав бифидобактерий будет присутствовать в максимальном качестве и количестве (примерно 10^{-12} КОЕ/ml).

5. Общее количество бифидобактерий после двухнедельного приема кисломолочного напитка в организме увеличилось и составило 10^{-12} КОЕ/г.

Список использованной литературы

1. Бифидобактерии - целый мир внутри тебя: [Электронный ресурс] // Комсомольская Правда. URL: https://www.kp.ru/best/nsk/bifidobakterii-biovestin-i-bifilin/?ysclid=la4d1c2nk6499522607 (Дата обращения: 30.01.2023).
2. Бифидобактерии: [Электронный ресурс]// ООО «ПРОПИОНИКС». URL: https://propionix.ru/bifidobakterii (Дата обращения: 23.03.2023).
3. ГОСТ 33924-2016. Молоко и молочная продукция. Методы определения бифидобактерий. Введ. 2017-09-01. М.: Стандартинформ, 2016. 12 с.
4. ГОСТ 9225-84. Молоко и молочные продукты. Методы микробиологического анализа. Введ. 1986-01-01. М.: Стандартинформ, 1984. 16 с.
5. ГОСТ Р 33491-2015. Национальный стандарт Российской Федерации. Продукты кисломолочные, обогащённые бифидобактериями Бифидум. Введ. 2016-07-01. М.: Стандартинформ, 2016. 19 с.
6. ГОСТ ISO 29981-2013. Продукты молочные. Подсчет презумптивных бифидобактерий. Метод определения количества колоний при температуре 37°С. Введ. 2015-07-01. М.: Стандартинформ, 2014. 19 с.
7. ГОСТ ISO 6887-1-2015. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Подготовка проб, исходной суспензии и десятикратных разведений для микробиологических исследований. Часть 1. Общие правила подготовки исходной суспензии и десятикратных разведений. Введ. 2015-02-27. Минск: Изд-во стандартов, 2015. 9 с.
8. Гудков А.В., Гудков С.А., Козловская М.Я., Перфильев Г.Д. Бифидобактерии: биология, роль в жизнедеятельности человека и животных. Производство бифидосодержащих продуктов, Рос. акад. с/х наук, Ин-т маслодельной и сыродельной промышленности. Углич, 1999. 43 с.

9. Инструкция по применению Среды Блаурокка. Научно-исследовательский центр фармакотерапии (НИЦФ). СПб.
10. Карычева О.В. Чудо-продукт «Бифилайф» // Молочная промышленность. 2007. № 12. С. 20.
11. Методические указания. 4.2. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы определение количества бифидобактерий в кисломолочных продуктах. Введ. 2001-02-08. М., 4 с.
12. Морозова Т.П., Домотенко Л.В., Подкопаев Я.В., Косилова И.С. Использование комплекса питательных сред для выявления заквасочных культур в кисломолочных продуктах // Бактериология. 2020. Том 5. №1. С.25-32.
13. Морфология и систематика бифидобактерий: [Электронный ресурс] // ООО «ПРОПИОНИКС» URL: https://propionix.ru/morfologiya-bifidobakteriy?ysclid=lekh54cjqp207801830 (Дата обращения: 30.03.2023).
14. Определение количества бифидобактерий в кисломолочных продуктах. Методические указания МУК 4.2.999-00 от 8.11.2000 г.
15. Отраслевые стандарты. Протокол ведения больных. Дисбактериоз кишечника: Отраслевой стандарт: [утвержден приказом Минздрава России от 9 июня 2003 г. №231]
16. Преимущества пробиотических заквасок: [Электронный ресурс] // Propionix. URL: http://propionix.ru/preimuschestva-probioticheskih-zakvasok?ysclid=la4dxafjdc485411021 (Дата обращения: 17.12.2022).
17. Разработка и внедрение технологий обогащения продуктов питания пробиотиками: [Электронный ресурс] // ООО «Бифилайф». URL: http://www.bifilife.ru/ (Дата обращения: 17.01.2023).
18. Разработка и внедрение технологий обогащения продуктов питания пробиотиками и микронутриентами: [Электронный ресурс] // ООО «Бифилайф» URL: http://www.bifilife.ru/ (Дата обращения: 30.01.2023).
19. Распоряжение Правительства РФ от 29.06.2016г. № 1364-р «Об утверждении Стратегии повышения качества пищевой продукции в Российской Федерации до 2030 года».
20. Северинов К.В. Микробиота человека: [Электронный ресурс] // ПостНаука. URL: https://postnauka.ru/video/12291 (Дата обращения: 17.01.2023).
21. Тейлор Д., Грин Н., Стаут У.; под ред. Сопера Р. Биология: в 3-х т. Том 2 14-е изд. М.: Лаборатория знаний, 2022. С. 58-60.

22. Формирование качества кисломолочного продукта "Бифилайф": [Электронный ресурс] // Allbest. URL: https://otherreferats.allbest.ru/management/00126861_0.html?ysclid=la4bpexgfr260973302 (Дата обращения: 17.12.2022).

Приложение

Обзор литературы

1. Мир внутри нас

В последние десятилетия современная наука геномика показала, что самый большой орган в нашем организме по весу – это наш собственный микробиом. Микробиом – это всё микробное сообщество кишечника. Микробиота кишечника весит не менее 3-3,5 кг. «Мы только на 10% состоим из клеток нашего тела, и на 90% из клеток микроорганизмов, населяющих нас».[10] Состав микробиоты кишечника у каждого человека индивидуален – это своеобразное «удостоверение личности» (Human Microbiome Project (HMP)).[10]

Микробиом оказывает огромное влияние на организм человека: защищает от патогенных бактерий и вирусов, поддерживает иммунитет, участвует в переваривании пищи и обеспечивает производство важных компонентов питания (витамины, аминокислоты и т.д.). Нейтрализовать влияние вредных микробов
в микробиоте кишечника могут бактерии, обладающие способностью образовывать молочную кислоту и выделять бактерицидные вещества, например бифидин. Бифидин содержит две главные аминокислоты: фенилаланин и глютамин, оказывающие антибактериальное действие, напоминая антибиотик. Бифидин выдерживает нагревание при 100°С в течение 30 минут и сохраняет активность при 4°С в течение 3 месяцев, что объясняет стойкое антагонистическое действие по отношению к энтеропатогенным бактериям и вирусам.[11]

В 1985 г. исследования Московского института эпидемиологии и микробиологии имени Габричевского (МНИИЭМ) показали, что бифидобактерии имеют высокую антагонистическую активность по отношению к сальмонеллам и шигеллам.[11]

Создавать оздоравливающую организм среду способны кисломолочные продукты, а «Главные борцы за молодость организма – бифидобактерии».[10]

---

[10]Северинов К.В. Микробиота человека: [Электронный ресурс] // ПостНаука. URL: https://postnauka.ru/video/12291 (Дата обращения: 17.01.2023).

[11]Гудков А.В., Гудков С.А., Козловская М.Я., Перфильев Г.Д. Бифидобактерии: биология, роль в жизнедеятельности человека и животных. Производство бифидосодержащих продуктов, Рос. акад. с/х наук, Ин-т маслодельной и сыродельной промышленности. Углич, 1999. 43 с.

2. Бифидобактерии – полезные организмы

Бифидобактерии были выделены из фекалий грудных младенцев и впервые описаны французским ученым Тиссиером (Tissier) в 1899 году и названы им Bacillus bifidus. Изучению бифидобактерий уделялось мало внимания, главной причиной этого явились трудности в работе с бифидобактериями, обусловленными их чувствительностью к кислороду и слабым ростом в лабораторных условиях,

вплоть до 1957 года. В этот период был достигнут определенный прогресс в изучении питательных потребностей и факторов роста бифидобактерий, в разработке методов их выделения, в разработке питательных среди анаэробного культивирования бифидобактерий в лабораторных условиях.11

Широкое изучение бифидобактерий началось во второй половине XX века, когда были получены доказательства, что именно эти бактерии являются доминирующей микрофлорой кишечника человека. Бифидобактерии появляются в содержимом кишечника грудных детей в основном на 2-5 сутки после рождения с установлением стабильного для них уровня (85-99%) к концу первой недели жизни.10,11 Чем раньше после рождения давали младенцу грудное молоко, тем быстрее в его кишечнике появлялись бифидобактерии, которые подавляли рост нежелательной кишечной микрофлоры. Микробиота искусственно вскармливаемых младенцев напоминает микрофлору взрослых: содержание бифидобактерий в ней в 2 раза меньше, а условно-патогенных бактерий (клостридий, энтеробактерий, дрожжей и др.), не относящихся к бифидобактериям, наоборот, выше, чем у грудных младенцев, что заметно снижает становление их иммунитета.10

Влияние пониженного количества бифидобактерий на организм человека

Когда же рост и развитие бифидобактерий по каким-то причинам недостаточны, а присутствие в кишечнике снижено, наступают обратные процессы: активизируется патогенная микрофлора, ухудшается перистальтика кишечника, возникают запоры либо диарея, повышаются риски кишечных инфекций. Дисбактериоз, если его не устранять, приводит к таким недугам как аллергия, гастрит, язвенная болезнь двенадцатиперстной кишки и желудка.

При нем снижаются иммунные реакции организма, наблюдаются частые простудные заболевания, возникает повышенная утомляемость и снижается интеллектуальная деятельность.

Для профилактики дисбактериоза человеку необходимо регулярно принимать в пищу продукты с бифидобактериями.

Это, прежде всего, кисломолочные продукты (например, «Бифилайф»). О пользе последних говорят, что они усваиваются организмом практически полностью, в то время как цельное молоко всего на 32 %.12

3. Объект исследования – кисломолочный продукт «Бифилайф»

Перерабатывать молоко и употреблять его не только в натуральном виде умели еще наши далекие предки. Геродот в V веке до нашей эры сообщал, что самым любимым напитком скифов было особым образом приготовленное молоко кобыл - кумыс. Кумыс, простокваша в лечебниках XVII века упоминаются как лекарство против туберкулеза, брюшного тифа и лихорадки. Кефир появился в России относительно недавно, его промышленное производство началось в 1908 г.

«Бифилайф» — это кисломолочный напиток нового поколения. Для создания этого напитка понадобилось более 50 лет работы лучших микробиологов нашей страны. В итоге получился уникальный пищевой биопродукт, который защищает человеческий организм от многих неблагоприятных факторов. Ученые соединили в одном продукте пять основных видов бифидобактерий: Bacterium bifidum-1, Bacterium longum-2, Bacterium adolescentis-3, Bacterium breve-4, Bacterium infantis -5.13 Аналогов ему нет. Например, в кефире или ряженке всего один или два их вида. Исследования показали, что одновременное действие этих бифидобактерий дает наиболее выраженный оздоровительный эффект. Раньше бифилайф производился только в лабораториях, но сейчас налажено промышленное производство.

«Бифилайф» не только вкусный кисломолочный напиток приятной консистенции, но и превосходное средство, помогающее сохранить здоровье.

Он содержит до миллиарда живых бифидобактерий. Кроме того, в отличие от привычных биопродуктов при производстве «Бифилайф» бифидобактерии не просто

---

[12]Бифидобактерии: [Электронный ресурс]// ООО «ПРОПИОНИКС». URL: https://propionix.ru/bifidobakterii (Дата обращения: 23.03.2023).
Морфология и систематика бифидобактерий: [Электронный ресурс] // ООО «ПРОПИОНИКС» URL: https://propionix.ru/morfologiya-bifidobakteriy?ysclid=lekh54cjqp207801830 (Дата обращения: 30.03.2023).
Преимущества пробиотических заквасок: [Электронный ресурс] // Propionix. URL: http://propionix.ru/preimuschestva-probioticheskih-zakvasok?ysclid=la4dxafjdc485411021 (Дата обращения: 17.12.2022).
[13]Карычева О.В. Чудо-продукт «Бифилайф» // Молочная промышленность. 2007. № 12. С. 20.
Формирование качества кисломолочного продукта "Бифилайф": [Электронный ресурс] // Allbest. URL: https://otherreferats.allbest.ru/ management/00126861_0.html?ysclid=la4bpexgfr260973302 (Датаобращения: 17.12.2022).
Разработка и внедрение технологий обогащения продуктов питания пробиотиками и микронутриентами: [Электронный ресурс] // ООО «Бифилайф» URL: http://www.bifilife.ru/ (Дата обращения: 30.01.2023).

добавляются в готовый продукт в виде сухого порошка, а с самого начала участвуют в сквашивании. В результате в конечном продукте не только присутствуют биологически активные бифидобактерии, но и накапливаются полезные продукты их жизнедеятельности: аминокислоты, витамины (B1, B2, B6, B12, фолиевая кислота, никотиновая кислота, C), восстанавливающие иммунитет и успокаивающие нашу нервную систему. В состав «Бифилайфа» входят минералы, такие как кальций, железо, магний, калий, которые лучше всасываются. Бифидобактерии нормализуют белковый и жировой обмен. Эти крохи очищают человеческий организм от токсинов, подавляют рост вредных микробов, мягко обволакивая стенки кишечника и полностью покрывая его. Если вы принимаете антибиотики, то «Бифилайф» — это незаменимый для вас продукт, потому что после них нужно восстанавливать нормальную микрофлору в желудке. Таким образом, польза «Бифилайфа» неоспорима, он стоит на страже нашего здоровья.14

Лечебно-диетический продукт «Бифилайф» создан для детей с трёх лет и взрослых как высокоэффективное средство при лечении и профилактике кишечных инфекций. Продукт назначают при диареях, колитах, интоксикациях, стрессовых ситуациях, аллергиях, а также в составе комплексного лечения сердечно-сосудистых заболеваний, туберкулёза, травм и сложных хирургических и ортопедических операций. С его помощью быстрее заживают язвы, ожоги и раны. Заметную пользу он оказывает при заболеваниях печени и мочеполовой системы. Доказано, что регулярное употребление напитка снижает уровень холестерина в крови.

Опыт работ в 89 регионах России показывает, что производство продукта «Бифилайф» существенно помогает производителям расти в экономическом и научно-техническом плане.

Производство продуктов «Бифилайф» позволяет получать стабильную прибыль в сочетании с заботой о здоровье земляков.13

Наряду с традиционным кисломолочным продуктом «Бифилайф» 2,5% и его модификациями (сладкий, фруктово-ягодный и в зависимости от массовой доли жира), молочные заводы производят и выпускают йогурт и творог «Бифилайф».

4. Требования к показателям кисломолочного продукта «Бифилайф»[15]:

---

[14]Морозова Т.П., Домотенко Л.В., Подкопаев Я.В., Косилова И.С. Использование комплекса питательных сред для выявления заквасочных культур в кисломолочных продуктах // Бактериология. 2020. Том 5. №1. С.25-32.
Карычева О.В. Чудо-продукт «Бифилайф» // Молочная промышленность. 2007. № 12. С. 20.
[15]ГОСТ 33924-2016. Молоко и молочная продукция. Методы определения бифидобактерий. Введ. 2017-09-01. М.: Стандартинформ, 2016. 12 с.

1. **Информационные данные** о пищевой и энергетической ценности продукта «Бифилайф» в 100 г продукта представлены в таблице 1.

Таблица 1

	Жир, г	**Белок, г**	**Углеводы, г**	**Энергетическая ценность, ккал**
«Бифилайф»-2,5%-жирности:	2,5	2,8	4	52

2. **Органолептические характеристики продукта «Бифилайф»** отображены в таблице 2.

Таблица 2

Наименование показателя	**Характеристика продукта**
Внешний вид и консистенция	Однородная, допускается незначительное отделение сыворотки (не более 3% от объёма продукта).
Вкус и запах	Кисломолочный, без посторонних привкусов и запахов.
Цвет	Молочно-белый, слегка кремовый равномерный по всей массе.

3. **Физико-химические показатели продукта «Бифилайф»** указаны в таблице 3.

Таблица 3

Наименование показателя	**Норма для продукта**
Массовая доля жира, %, не менее	2,5
Кислотность, °Т	75-90
Температура при выпуске с предприятия, °С не выше	6

4. **Микробиологические показатели и требования безопасности продукта «Бифилайф»** представлены в таблице 4.

Таблица 4

Наименование показателя	**Норма**

Бактерии группы кишечных палочек в 0,1 $см^3$	Не допускается
Патогенные микроорганизмы, в то числе сальмонеллы в 25 $см^3$ продукта	Не допускается
Количество бифидобактерий в 1 $см^3$ продукта на конец срока годности, не менее	$1* 10^7$
Staphylococcus aureus в 1,0 $см^3$ продукта	Не допускается

1.3.2 Основы технологии производства продукта «Бифилайф» с использованием бифидобактерий

Основа биотехнологического производства «Бифилайф» - это управление ростом и развитием микроорганизмов (бифидобактерий).[16]

Технологический процесс производства кисломолочного продукта «Бифилайф» на молочных заводах осуществляется в следующей последовательности: приёмка сырья; гомогенизация, пастеризация и охлаждение смеси до температуры заквашивания; заквашивание и сквашивание; охлаждение и перемешивание; розлив, упаковка, маркировка и охлаждение готового продукта; транспортирование и хранение.[16,17]

Сырьё и материалы Для производства кисломолочного продукта «Бифилайф» применяются следующее сырьё и основные материалы: молоко коровье не ниже 1 сорта; закваска сухая «Бифилайф», которая поступает на молочные предприятия из Московского Научно-исследовательского института эпидемиологии и микробиологии имени Г.Н.Габричевского. Закваска содержит производственные штаммы

---

[16]ГОСТ 33924-2016. Молоко и молочная продукция. Методы определения бифидобактерий. Введ. 2017-09-01. М.: Стандартинформ, 2016. 12 с.
ГОСТ Р 33491-2015. Национальный стандарт Российской Федерации. Продукты кисломолочные, обогащённые бифидобактериями Бифидум. Введ. 2016-07-01. М.: Стандартинформ, 2016. 19 с.
Формирование качества кисломолочного продукта "Бифилайф": [Электронный ресурс] // Allbest. URL: https://otherreferats.allbest.ru/ management/00126861_0.html?ysclid=la4bpexgfr260973302 (Дата обращения: 17.12.2022).
[17]Определение количества бифидобактерий в кисломолочных продуктах. Методические указания МУК 4.2.999-00 от 8.11.2000 г.
Разработка и внедрение технологий обогащения продуктов питания пробиотиками и микронутриентами: [Электронный ресурс] // ООО «Бифилайф» URL: http://www.bifilife.ru/ (Дата обращения: 30.01.2023).
ГОСТ 9225-84. Молоко и молочные продукты. Методы микробиологического анализа. Введ. 1986-01-01. М.: Стандартинформ, 1984. 16 с.

бифидобактерий полного видового состава: B.bifidum, B.longum, B.adolescentis, B.breve, B.infantis.

Подготовка сырья Принятое молоко подвергают очистке на молокоочистителях. Охлаждение молока проводят сразу после его очистки, так как молоко является хорошей средой для молочнокислых и гнилостных бактерий. Отобранное молоко проходит нормализацию, которая представляет собой технологическую операцию, целью которой является получение кисломолочного продукта «Бифилайф» с массовой долей жира 2,5%, путём добавления к цельному молоку обезжиренного молока.

Пастеризация и охлаждение до температуры заквашивания Пастеризация кисломолочного продукта «Бифилайф» производится при температуре 95±2°С, затем молоко немедленно охлаждают на охладителях до температуры заквашивания. При производстве кисломолочного продукта «Бифилайф» эта температура составляет 37±2°С.

Заквашивание и сквашивание Охлаждённое молоко заквашивают закваской бифидобактерий, которые вносят в количестве 5% от массы нормализованной смеси. После перемешивания смеси с закваской её оставляют в покое для сквашивания. Этот процесс производится при температуре 37±2°С в течении 5-6 часов. Окончание сквашивания определяют по образованию достаточно прочного сгустка.

По окончании сквашивания в межстенное пространство подают ледяную воду в течение 45±15 минут. Затем сгусток перемешивают от 15 до 40 минут. По достижении однородной консистенции молочного сгустка мешалку останавливают на 1,0-1,5 часа. Дальнейшее перемешивание ведётся периодически, включая мешалку на 2-10 минут через каждый час. Продолжительность и кратность перемешивания сгустка зависит от показателя его вязкости в конце сквашивания.

Розлив, упаковка, маркировка и охлаждение готового продукта Для розлива и упаковывания продукта используются пакеты типа «Пюр-Пак». Продукт упаковывается в потребительскую тару вместимостью 500 ml, данная упаковка обеспечивает качество, безопасность и сохранность продукта в процессе его производства, транспортирования, хранения и реализации. На каждой единице потребительской тары нанесена маркировка с указанием следующих информационных данных: наименование предприятия-изготовителя, его адрес, товарный знак; наименование продукта; массовая доля жира в процентах; состав продукта; масса нетто в граммах; условия хранения; срок годности; дата изготовления; обозначение ТУ; пищевая и энергетическая ценность продукта; штрих-код; содержание в продукте

живых бифидобактерий не менее 10^7 клеток в 1 $см^3$ на конец срока годности; информация о сертификации.

Упакованный в транспортную тару продукт доохлаждают в холодильной камере до температуры не более 6°С, после чего технологический процесс считается законченным. После охлаждения в камере продукт считается готовым.

Транспортирование и хранение Транспортирование производится специализированным автотранспортом. Продукт должен храниться при температуре 2-6°С. Срок годности продукта до 10 суток с момента окончания технологического процесса, включая 2 суток на предприятии-изготовителе. После вскрытия упаковки продукт хранению не подлежит.