

УДК 57.579.6

ПОЛУЧЕНИЕ АНАЛОГОВ КИСЛОМОЛОЧНЫХ ПРОДУКТОВ ИЗ ШРОТА СЕМЯН С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ НОВЫХ ШТАММОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ

© 2024 г. А. В. Синельников^{1, 3, *}, Т. В. Колганова², Р. В. Уланова^{3, *}

¹Российский университет дружбы народов, Москва, 117198 Россия

²Институт биоинженерии им. К. Г. Скрябина, Федеральный исследовательский центр
“Фундаментальные основы биотехнологии” РАН, Москва, 117312 Россия

³Институт микробиологии им. С. Н. Виноградского, Федеральный исследовательский центр
“Фундаментальные основы биотехнологии” РАН, Москва, 117312 Россия

*e-mail: sinelnikov11@ya.ru

Поступила в редакцию 07.09.2023 г.

После доработки 24.10.2023 г.

Принята к печати 15.12.2023 г.

Разработан способ получения аналогов кисломолочных напитков из шрота тыквенных семян — массового отхода масличного производства — с использованием новых штаммов молочнокислых бактерий (МКБ), выделенных из разных образцов кумыса. По результатам скрининга 50 изолятов МКБ, способных сквашивать молоко и водные экстракты шрота в широком диапазоне pH, было отобрано 3 штамма с наилучшими ростовыми характеристиками. Эти штаммы были идентифицированы как представители рода *Lactocaseibacillus*, наиболее близкие к *L. rhamnosus* и *L. casei* (со сходством в 99.93% и 99.65% по последовательностям гена 16S рРНК). Подобрана оптимальная схема получения напитков, включающая: измельчение шрота, оптимизированную экстракцию щелочными растворами, термическую обработку экстракта для удаления посторонней микрофлоры, внесение инокулята (3–5% об./об.) новых штаммов МКБ, сквашивание при 37°C в течение 10 ч. По сравнению с кисломолочным продуктом, полученным при сквашивании молока этими же МКБ, напиток из экстрактов шрота отличался отсутствием лактозы и холестерина, повышенным содержанием ненасыщенных жирных кислот (в 2.3 раза), белка (в 1.7 раза) и наличием незаменимых аминокислот в составе белков. Таким образом, шрот тыквенных семян, пока еще неэффективно используемый, является хорошей основой для получения аналогов кисломолочных продуктов с полезными свойствами. Разработанный способ получения лактоферментированных напитков может быть адаптирован для переработки других типов шротов и жмыха.

Ключевые слова: шрот, молочнокислые бактерии, аминокислоты, жирные кислоты

DOI: 10.31857/S0555109924030088 EDN: EWMUMU

В последнее время существенно возрос интерес к получению растительных аналогов молока и кисломолочных продуктов на их основе в связи с высоким содержанием белка и ненасыщенных жирных кислот и отсутствием лактозы и холестерина, что привлекательно для определенных групп населения [1, 2]. Источниками аналогов молока и получаемых из него ферментированных продуктов являются ценные для пищевых производств семена масличных культур, орехи, бобы [3–5]. Основные стадии получения аналогов молока включают измельчение растительного сырья, экстракцию водными растворами, удаление крупных частиц [6–8].

Растительные экстракты с хорошим содержанием белка, витаминов, минеральных компонентов и микроэлементов — подходящие субстраты для сквашивания монокультурами или

консорциумами молочнокислых бактерий (МКБ) родов: *Lactobacillus* (*L. acidophilus*, *L. brevis*, *L. helveticus*, *L. delbrueckii*); *Lactocaseibacillus* (*L. casei*) и *Levilactobacillus* (*L. brevis*), *Streptococcus* (*Str. salivarius*) и получения ферментированных напитков [9, 10]. Их свойства определяются множеством параметров, в том числе, составом исходного растительного сырья, его предварительной подготовкой и самими микроорганизмами — агентами сквашивания.

Общим и существенным ограничением для массового получения новых ферментированных напитков становится ценность цельных семян для пищевой и перерабатывающей промышленности, поэтому актуален поиск доступного и подходящего сырья. Таким исходным сырьем может быть шрот тыквенных семян (pumpkin seed meal) с относительно

богатым составом, высоким содержанием белка и ненасыщенных жирных кислот и других компонентов [11], который используется, в основном, в качестве кормовой добавки для сельскохозяйственных животных [12]. Судя по оценкам ежегодного урожая тыквы в десятки миллионов тонн [12] и растущему мировому производству тыквенного масла, шрот, получаемый при его производстве, является массовым отходом. Однако к настоящему времени не описаны исследования по получению аналогов кисломолочных продуктов непосредственно из экстракта шрота тыквенных семян.

Данная работа была направлена на выделение и подбор штаммов молочнокислых бактерий – наиболее эффективных агентов сквашивания экстракта, поскольку применяемые культуры МКБ не обязательно адаптированы к новым субстратам, что было показано ранее [13, 14]. Среди источников выделения потенциально ценных штаммов представляет интерес кумыс – национальный напиток в регионах Азии, с высоким титром бактерий и дрожжей (5×10^7 КОЕ/мл и $1-2 \times 10^7$ КОЕ/мл) [15], а также широким разнообразием МКБ, зависящим от места происхождения и способа приготовления [16, 17].

Цель работы – выделение новых штаммов молочнокислых бактерий из кумыса и использование их для ферментации экстракта шрота тыквенных семян, подбор оптимальной схемы получения лактоферментированного напитка и его характеристика.

МЕТОДИКА

В качестве исходного объекта для выделения МКБ было отобрано 7 образцов кумыса, произведенного в летний период в Башкирии (Россия). Образцы шрота семян тыквы урожая 2020 г. были предоставлены предприятием “Маслодел”, Россия.

Аликвоты кумыса разводили в серии десятикратных разведений в стерильной воде и высевали на плотную питательную среду MRS (“Merck KGaA”, Германия) с pH 5.7 или сусло-агар. Чашки с посевами инкубировали при 37°C в течение 2 сут.

Принадлежность выросших и пересеваемых колоний к молочнокислым бактериям определяли по тесту на сквашивание стерильного обезжиренного молока. Рабочие культуры МКБ, выращенные в жидкой среде MRS, хранили при 4°C. Численность жизнеспособных клеток МКБ оценивали по титрам колониеобразующих единиц (КОЕ) после высевов на чашках с MRS-агаром и инкубации при 37°C в течение 48 ч. Наиболее ценные для использования при производстве кисломолочных продуктов штаммы были депонированы в ЦКП “Коллекция уникальных и экстремофильных микроорганизмов различных физиологических групп биотехнологического назначения” (UNIQEM) ФИЦ Биотехнологии РАН под регистрационными

номерами UQM 41618, UQM 41619, UQM 41620 и хранятся в криоконсервированном виде.

Морфологию клеток выделенных изолятов МКБ изучали при просмотрах препаратов под микроскопом Axioplan (“Carl Zeiss”, Германия). Резистентность к различным значениям pH оценивали по результатам роста на стандартно применяемой MRS и других жидких средах (молоке, слабощелочных белковых экстрактах). Кислотность измеряли с использованием pH-метра 150 МИ (ООО “Измерительная техника”, Россия).

Выделенные штаммы идентифицировали по результатам анализа нуклеотидной последовательности фрагментов гена 16S рРНК, выполненного в ЦКП “Биоинженерия” ФИЦ Биотехнологии РАН в соответствии с ранее описанными методиками [18].

Схема подготовки сырья для сквашивания включала: измельчение шрота тыквенных семян до муки на лабораторной мельнице Stegler LM-1000, экстракцию компонентов щелочными растворами pH от 6.2 до 9.0, при нагревании до 90°C (30 мин) с перемешиванием, удаление нерастворимых частиц фильтрованием. Для оптимальной экстракции были подобраны соотношения экстрагента и муки. Для удаления посторонней микрофлоры полученные экстракты подвергали термообработке при 0.5 атм 30 мин и затем охлаждали до 37°C.

Экстракты шрота семян инокулировали новыми штаммами из кумыса и штаммами *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. bulgaricus*, *Streptococcus* sp. из коллекции лаборатории выживаемости микроорганизмов Института микробиологии им. С. Н. Виноградского РАН. Культуры для инокуляции выращивали на стерильном обезжиренном молоке в течение 7–24 ч при 37°C и вносили в среду в соотношении 0.3–0.5% (об./об.) до достижения начального титра клеток 10^4 КОЕ/мл. В контрольных экспериментах вместо экстракта из шрота использовали обычное стерильное молоко. Сквашивание экстрактов и молока осуществляли в статических условиях (без перемешивания) при 37°C в течение 7–24 ч.

Массу сухих веществ в образцах, полученных при сквашивании экстракта из шрота, цельного молока, а также муки тыквенных семян, определяли гравиметрически с высушиванием при 105°C до постоянного веса. Общее содержание белка определяли методом Лоури или по сумме аминокислот. Содержание лактозы определяли методом, основанным на ферментативном гидролизе и колориметрическом определении продуктов его расщепления [19]. Содержание пищевых волокон (г/100 г) определяли гравиметрическим методом после их осаждения в этаноле и высушивании [20].

Образцы продуктов сквашивания для последующего анализа высушивали на лиофильной установке FreeZone (“Labconco”, США) на базе ЦКП

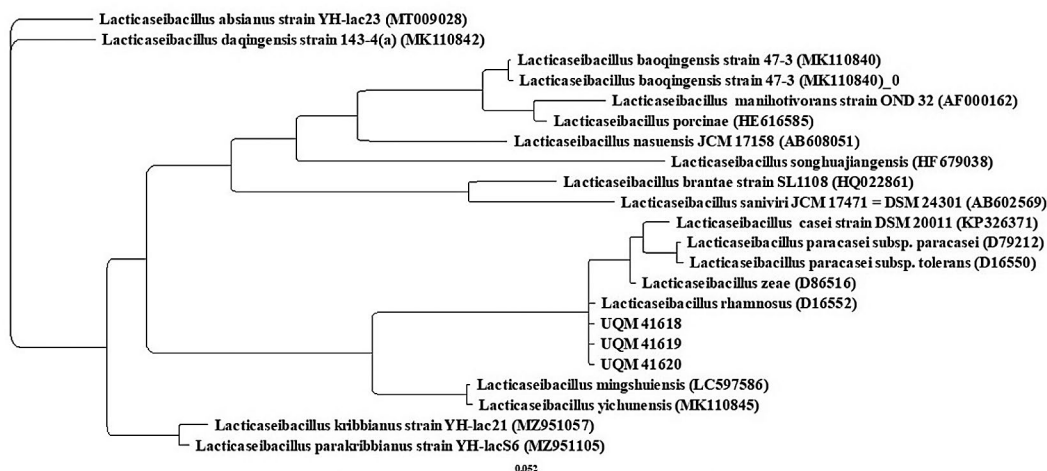


Рис. 1. Результаты идентификации штаммов по последовательностям фрагмента гена 16S рНК.

“Коллекция UNIQEM” в вакууме при -80°C . Аминокислотный состав определяли с использованием жидкостного хроматографа фирмы “Hitachi” (Япония) в стандартном режиме анализа белковых гидролизатов с сульфированным сополимером стирола с дивинилбензолом и ступенчатым градиентом натрий-цитратного буферного раствора с возрастающим значением рН и молярности. Липиды из лиофилизированных образцов экстрагировали смесью хлороформ: солянокислый метанол (2: 1) (Methanolic-HCl 0.5, н “Supelco”, Германия), по методу Фолча. Жирнокислотный состав липидов исследовали на хроматографе с масс-детектором Simadzu GCMS-QP2010 Ultra (“Shimadzu”, Япония). Исследования аминокислотного состава и профиля жирных кислот осуществляли на базе ЦКП “Промышленные биотехнологии” ФИЦ Биотехнологии РАН и НИИ Физико-химической биологии им. А. Н. Белозерского МГУ. Базовые эксперименты проводили в трехкратной повторности.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По результатам посевов 7 образцов башкирского кумыса на MRS и сусло-агар установлено его высокая общая обсемененность бактериями $(5.0 \pm 0.7) \times 10^8$ КОЕ/мл и дрожжами $(1.5 \pm 0.7) \times 10^7$ КОЕ/мл, что соответствовало показателям численности микроорганизмов в кумысе из других регионов [15]. Доля МКБ в исследуемом кумысе варьировала от 46 до 68%, а средняя численность — от 2.3×10^8 КОЕ/мл до 3.4×10^8 КОЕ/мл, что выявлено по тесту на сбразивание стерильного молока. Путем многократных (3–5 раз) пассажей на MRS-агаре было отобрано 50 чистых изолятов МКБ, которые инокулировали в стерильное молоко и адаптировали к новому субстрату — экстракту из шрота тыквенных семян. Все выделенные из кумыса изоляты были способны сквашивать

экстракты с разной скоростью при 37°C в течение 7–24 ч. По наилучшим показателям скорости роста и органолептическим свойствам полученных продуктов было отобрано три новых штамма, которые депонированы в коллекцию UNIQEM под номерами UQM 41618, UQM 41619, UQM 41620.

Отобранные МКБ были представлены палочковидными неспорообразующими неподвижными одиночными или собранными в цепочки клетками и росли при $27-37^{\circ}\text{C}$ с образованием белого осадка в жидких средах. По результатам молекулярно-генетической идентификации путем анализа фрагмента гена 16S рНК была установлена принадлежность штаммов к роду *Lacticaseibacillus*, недавно выведенному из р. *Lactobacillus* и валидно описанному [21]. Штаммы оказались наиболее близкими к *L. rhamnosus* и *L. casei*, судя по показателям сходства их последовательностей на 99.93 и 99.65% с известными депонированными последовательностями NR_113332.1 и NR_041893.1 соответственно. По результатам филогенетического анализа установлено высокое родство штаммов UQM 41618, UQM 41619 и UQM 41620 между собой и с типовым штаммом *Lacticaseibacillus rhamnosus* (рис. 1). Важной особенностью выделенных штаммов *Lacticaseibacillus* была толерантность к изменениям рН среды с верхним пределом до 9.5. Оптимальный диапазон рН для роста лактобацилл находится в пределах 5.5–6.2 [22], толерантность к повышению щелочности среды известна, а верхний предел рН варьировал у разных видов *Lactobacillus* и даже штаммов [23]. Таким образом, из кумыса были выделены новые изоляты молочнокислых бактерий, потенциал использования которых рассмотрен ниже.

По эффективности сквашивания шрота тыквенных семян новыми штаммами МКБ, а также другими заквасками, установлена необходимость оптимизации первичных стадий получения аналогов молока. Использование в качестве экстрагента воды

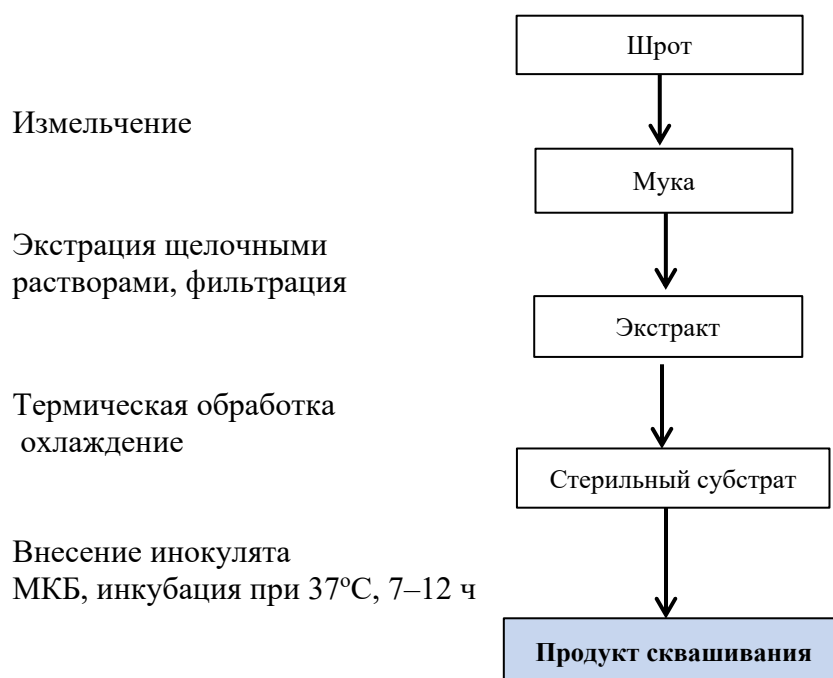


Рис. 2. Базовая схема получения лактоферментированного напитка на основе шрота тыквенных семян. Разработанные модификации выделены жирным шрифтом.

с близким к нейтральному значению рН, достаточное для получения аналогов молока из цельных семян или орехов [1, 24], оказалось неэффективным для тыквенного шрота: водные экстракты не сквашивались МКБ, что, по-видимому, объяснялось низким выходом белка. Использование щелочной экстракции, как в работах по получению аналогов молока из семян люпина [25], оказалось более эффективным для тыквенного шрота только после подбора оптимальных условий. Так, подщелачивание суспензии муки шрота с исходного значения рН 6.2 до рН 7.5 улучшало сквашиваемость; однако образующийся продукт обладал неудовлетворительными органолептическими признаками. Повышение рН экстрагируемой смеси до 9.0 обеспечивало получение субстрата, эффективно сквашиваемого при 37°C в течение 10 ч новыми штаммами МКБ из кумыса с образованием продукта однородной и плотной консистенции с кисломолочным вкусом и запахом. Использование других штаммов МКБ: *L. acidophilus*, *L. casei*, *L. bulgaricus*, *Streptococcus* sp., оказалось менее эффективным: сбраживание проходило в течение 24 ч, титр МКБ не превышал 10^5 КОЕ/мл, а конечный продукт не обладал хорошими качествами. Для улучшения экстракции также были подобраны оптимальные соотношения шрот-экстракт. Эти и остальные технологические параметры экстракции были ранее описаны в работе [26].

В связи с обсемененностью тыквенных семян бактериями и грибами, судя, например, по средним кумулятивным данным $\sim 1.4 \times 10^5$ КОЕ/г [27], в схему подготовки субстрата для сквашивания

была включена стадия термической обработки, без которой происходила порча конечного продукта. Установлено, что режимы термической обработки при 80–85, 90–95°C в течение 10 мин были недостаточными для уничтожения посторонней микрофлоры; необходимым был более длительный (30 мин) прогрев при 115°C. Таким образом, была подобрана оптимальная схема получения экстракта из тыквенного шрота для эффективного сквашивания, основные элементы которой с учетом модификаций приведены на рис. 2.

Важным свойством, определившим выбор этого исходного сырья для подготовки пригодного субстрата, было высокое содержание (около 30%) общего белка (рис. 3). По данным, полученным методом Лоури, степень экстракции белка из муки шрота в подобранных оптимальных условиях соответствовала 50%, и его содержание было достаточным для развития МКБ. Штаммы *Lacticaseibacillus* sp. UQM 41618, UQM 41619 и UQM 41620 эффективно сквашивали экстракт семян тыквенного шрота: численность МКБ возрастала с 10^4 КОЕ/мл с момента инокуляции до 10^8 КОЕ/мл после 10 ч инкубации при 37°C в стационарных условиях. Во время роста происходило подкисление среды с 8.5–9.5 до нейтральных рН. Важно отметить, что численность жизнеспособных молочнокислых бактерий в сквашенном продукте сохранялась на стабильном уровне (10^8 КОЕ/мл) при хранении в течение 1 месяца при 4°C. В образующихся продуктах сквашивания происходило увеличение доли водорастворимых

Таблица 1. Аминокислотный состав белка и жирнокислотный состав липидов муки из шрота тыквенных семян, продукта сквашивания экстрактов шрота и стерилизованного молока выделенными штаммами МКБ (г/100 г)

Компоненты	Мука шрота	Продукт из экстракта шрота	Продукт из молока
Аминокислоты			
Аспарагиновая кислота	2.96	3.8847	1.997
Треонин*	0.998	1.2066	0.371
Серин	1.673	2.5253	0.186
Глицин	6.188	8.9396	5.512
Пролин	1.316	1.609	2.549
Глутаминовая кислота	1.843	2.5498	0.557
Аланин	1.485	2.3934	0.908
Цистеин	0.332	0.2332	0.243
Валин*	1.579	2.1538	1.762
Метионин*	0.603	0.5759	0.66
Изолейцин*	1.281	1.4658	1.592
Лейцин*	2.419	3.0945	2.578
Тирозин	1.093	1.6608	1.271
Фенилаланин*	1.733	2.0485	1.271
Лизин*	1.236	1.5921	2.087
Гистидин	0.78	0.9823	0.714
Аргинин	5.353	6.8827	0.953
Насыщенные жирные кислоты			
Капроновая кислота	0.0	0.0	2.5
Каприловая кислота	0.0	0.0	1.6
Каприновая кислота	0.0	0.0	3.2
Масляная кислота	0.0	0.0	4.7
Миристиновая кислота	0.18	0.24	10.28
Пальмитиновая кислота	17.20	17.50	30.3
Стеариновая кислота	9.05	7.92	13.5
Маргариновая кислота	0.18	0.17	0.0
Ненасыщенные жирные кислоты			
Линолевая кислота*	40.53	53.04	3.5
Олеиновая кислота	30.78	19.54	25.5
Пальмитолеиновая кислота	0.21	0.17	1.5
Петрозелиновая кислота	1.87	1.42	0.0

* Незаменимые компоненты.

белков в 1.7 раза и снижение в 1.3 доли щелочерастворимых белков. Кроме того повышалась доля незаменимых аминокислот и ценных ненасыщенных жирных кислот (ННЖК) по сравнению с исходным шротом семян (табл. 1, рис. 3). Таким образом, экстракт из шрота тыквенных семян может быть подходящим субстратом для сквашивания новыми отобранными штаммами МКБ. Из анализа работ по получению кисломолочных продуктов из

растительного сырья, тыквенный шрот пока использовали лишь в качестве компонента смеси с верблюжьим молоком [28].

Выявлены следующие преимущества нового сквашенного продукта на основе тыквенного шрота по сравнению с кисломолочным продуктом, полученным с использованием тех же штаммов МКБ. Новый продукт характеризовался повышенным содержанием белка (в 1.7 раз)

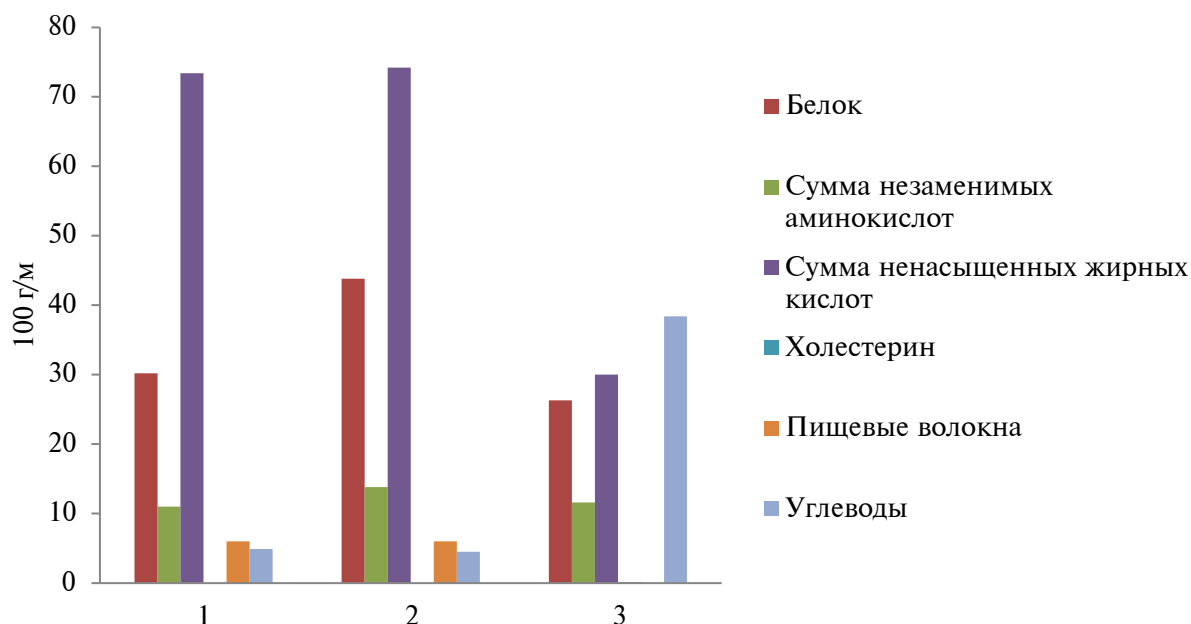


Рис. 3. Состав шрота семян тыквы (1), продукта сквашивания шрота тыквенных семян (2) и кисломолочного продукта (3).

и ценных пищевых компонентов, особенно ряда незаменимых аминокислот и полиненасыщенной линолевой кислоты.

Другими важными свойствами нового продукта было высокое соотношение ННЖК/НЖК, отсутствие лактозы и холестерина (что неудивительно с учетом состава исходного сырья), наличие пищевых волокон (рис. 3, табл. 1) и хорошие вкусовые качества. Результаты проведенных анализов общего состава шрота тыквенных семян и суммарного содержания полиненасыщенных жирных кислот (рис. 3, табл. 1) соответствуют литературным данным [29]. По вышеперечисленным свойствам полученный лактоферментированный напиток может быть привлекателен для определенных групп населения. Таким образом, на примере шрота тыквенных семян разработан оригинальный подход к валоризации массового пищевого отхода маслоэкстракционной промышленности и разработана простая и эффективная схема получения экстракта, пригодного для сквашивания, и получения аналогов кисломолочных продуктов с полезными свойствами. Полученные результаты свидетельствуют о высоком адаптационном потенциале новых штаммов лактобацилл к новым ростовым условиям и флуктуациям pH и способности сохранять выживаемость при хранении.

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ. Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации в рамках Госзадания 122040800164-6 ФИЦ Биотехнологии РАН и Соглашения № 075-15-2021-1051.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ.

В данной работе отсутствуют исследования человека или животных.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Silva A.R., Silva M.M., Ribeiro B.D. // Food Res. Intern. 2020. V. 131. № 1. P. 108972. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108972>
2. Vanga S.K., Raghavan V. // J. Food Sci. Technol. 2018. V. 55. № 1. P. 10–20.
3. Kundu P., Dhankhar J., Sharma A. // Curr. Res. Nutr. Food Sci. J. 2018. V. 6. № 1. P. 203–210.
4. Mortas M., Besir A., Tok Z., Keles M., Yazici F. // Plant Foods for Human Nutr. 2023. V. 78. P. 358–365.
5. Bastoğlu A.Z., Tomruk D., Koç M., Ertekin F.K. // J. Food Sci. Technol. 2016. V. 53. № 5. P. 2396–2404.
6. Mäkinen O.E., Wanhalinna V., Zannini E., Arendt E.K. // Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 2016. V. 56. № 3. P. 339–349.
7. Ma W., Zhang C., Kong X., Li X., Chen Y., Hua Y. // Food Biosci. 2021. V. 44. Part A. P. 101416. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101416>
8. Ahmadian-Kouchaksaraei Z., Mohammad M.V., Varidi J., Pourazarang H. // LWT – Food Sci. Technol. 2014. V. 57. № 1. P. 299–305.
9. Hickisch A., Beer R., Vogel R.F., Toelstede S. // Food Res. Internat.. 2016. V. 84. P. 180–188.
10. Garro M.S., de Valdez G.F., de Giori G.S. // Food Microbiol.. 2004. V. 21. № 5. P. 511–518.

11. *Vlaicu P.A., Panaite T.D.* // *Anim. Biosci.* 2022. V. 35. № 2. P. 236–246.
12. *Valdez-Arjona L.P., Ramírez-Mella M.* // *Animals* (Basel). 2019. V. 9. № 10. P. 769.
<https://doi.org/10.3390/ani9100769>
13. *Ulanova R., Kravchenko I.* // *Internat. J. Engin. Sci. Innov. Technol.* 2013. V. 2. № 6. P. 618–624.
14. *Уланова Р.В., Кравченко И.К., Горелова О.П., Николаева О.С.* Патент на изобретение 2015. RU2557404.
15. *Afzaal M., Saeed F., Anjum F., Waris N., Husaain M., Ikram A. et al.* // *Food Sci. Nutr.* 2021. V. 9. № 11. P. 6421–6428.
16. *Tang H., Ma H., Hou Q., Li W., Xu H., Liu W., Menghe B.* // *BMC Microbiol.* 2020. V. 20. № 1. P. 1–11.
17. *Meng Y., Chen X., Sun Z., Li Y., Chen D., Fang S., Chen J.* // *LWT.* 2021. V. 135. P. 110049.
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110049>
18. *Филиппова С.Н., Сургучева Н.А., Колганова Т.В., Чербунина М.Ю., Брушков А.В., Мулюкин А.Л., Гальченко В.Ф.* // *Известия РАН. Сер. биол.* 2019. № 3. С. 246–254.
19. *Остроумов Л.А., Гаврилов В.Г.* Биотрансформация лактозы ферментными препаратами β-галактозидазы // *Техника и технология пищевых производств.* 2013. № 1. С. 26–30.
20. *McCleary B.V.* // *Journal of AOAC International.* 2019. V. 102. № 1. С. 196–207.
21. *Zheng J., Wittouck S., Salvetti E., Franz C.M., Harris H.M., Mattarelli P. et al.* // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* V. 70. № 4. P. 2782–2858.
22. *Ślizewska K., Chlebicz-Wójcik A.* // *Biology* (Basel). 2020. V. 9. № 12. P. 423.
<https://doi.org/10.3390/biology9120423>.
23. *Sawatari Y., Yokota A.* // *Appl. Environ. Microbiol.* 2007. V. 73. № 12. P. 3909–3915.
24. *Kluczkowski A., Lima N., Oliveira, M.K.* // *J. Food Proc. Preserv.* 2017. V. 41. № 5. P. 13147.
<https://doi.org/10.1111/jfpp.13147>.
25. *Jiménez-Martínez C., Hernández-Sánchez H., Dávila-Ortiz G.* // *J. Sci. Food and Agricult.* 2003. V. 83. № 6. P. 515–522.
26. *Уланова Р.В., Николаев Ю.А., Колпакова В.В., Галуза О.А., Синельников А.В.* Патент РФ 2022. № RU2784723.25.
27. *Silva D., Nunes P., Melo J., Quintas C.* // *AIMS Microbiol.* 2022. V. 8. № 1. P. 42–52.
28. *Shahein M.R., Atwaa E.S.H., Alrashdi B.M., Ramadan M.F., Abd El-Sattar E.S., Siam A.A.H. et al.* // *Fermentation.* 2022. V. 8. № 5. P. 223.
<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101416>
29. *Vlaicu P.A., Panaite T.D.* // *Animal Biosci.* 2022. V. 35. № 2. P. 236–246.

Obtaining Analogues of Fermented Milk Products from Seed Meal Using New Strains of Lactic Acid Bacteria

A. V. Sinelnikov^{a, c, *}, T. V. Kolganova^b, R. V. Ulanova^{c, *}

^a*Peoples' Friendship University of Russia (RUDN University), Moscow, 117198 Russia*

^b*Scriabin Institute of Bioengineering, Federal Research Center of Biotechnology of Russian Academy of Sciences, Moscow, 117312 Russia*

^c*Vinogradsky Institute of Microbiology, Federal Research Center of Biotechnology of Russian Academy of Sciences, Moscow, 117312 Russia*

*e-mail: sinelnikov11@ya.ru

A method has been developed for producing analogues of fermented milk drinks from pumpkin seed meal – a massive waste of oilseed production – using new strains of lactic acid bacteria (LAB) isolated from different samples of kumiss. Based on the results of screening 50 LAB isolates capable of fermenting milk and aqueous meal extracts in a wide pH range, 3 strains with the best growth characteristics were selected. These strains were identified as representatives of the genus *Lacticaseibacillus*, most closely related to *L. rhamnosus* and *L. casei* (with 99.93 and 99.65% similarity in 16S rRNA gene sequences). An optimal scheme for producing drinks has been selected, including: grinding meal, optimized extraction with alkaline solutions, heat treatment of the extract to remove foreign microflora, introduction of inoculum (3–5% v/v) of new LAB strains, ripening at 37°C for 10 hours. Compared with the fermented milk product obtained by fermenting milk with the same microorganisms, the drink made from meal extracts was distinguished by the absence of lactose and cholesterol, an increased content of unsaturated fatty acids (2.3 times), protein (1.7 times) and the presence of essential amino acids in proteins. Thus, pumpkin seed meal, which is still ineffectively used, is a good basis for obtaining analogues of fermented milk products with beneficial properties. The developed method for producing lacto-fermented drinks can be adapted for processing other types of meal and cake.

Keywords: meal, lactic acid bacteria, amino acids, fatty acids