



Пробиотические культуры Chr. Hansen - ассортимент и использование

Вебинар

26 мая 2020

Определение пробиотических культур

«Живые микроорганизмы, которые при введении в установленном количестве обеспечивают определенный, подтвержденный клиническими исследованиями, эффект на организм»

Определено и поддерживается ¹



¹ FAO/WHO. Joint FAO/WHO Working Group Report on Drafting Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food 2002
<http://internationalprobiotics.org/>

Пробиотические продукты должны соответствовать определениям пробиотических культур

Пробиотический эффект зависит от специфичности штамма!
Не каждый штамм *L. acidophilus* или *Bifidobacterium* является пробиотиком!



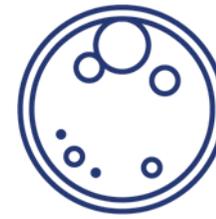
ТРЕБОВАНИЯ

Клеточная концентрация
Суточная доза
Заявленный пробиотический эффект



ЖИВЫЕ

Бактерии должны оставаться жизнеспособными до конца срока годности готового продукта



КОЛИЧЕСТВО

Количество должно соответствовать заявленному в клинических исследованиях. Как правило, не менее 10^9 КОЕ/сутки



ПОЛЬЗА ДЛЯ ЗДОРОВЬЯ

Польза для здоровья должна быть подтверждена клиническими исследованиями в конкретных областях, например гастроэнтерология/иммунология

Микроорганизмы, принадлежащие к родам *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*

Что принять во внимание при разработке нового пробиотического продукта



1. ЗАЯВЛЕНИЯ

Заявления о пользе – главное преимущество для потребителя

Необходимо определиться с основным посылом о пользе для здоровья и целевым потребителем

Выбор пробиотических штаммов с документацией, которая подтверждает заявления о пользе, вынесенные на упаковку продукции



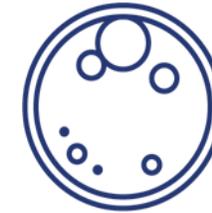
2. ЕЖЕДНЕВНАЯ ДОЗА

Рекомендуемая ежедневная суточная доза потребления связана с клиническими исследованиями и заявлением о пользе – обычно 10^9 КОЕ в день

Требуемая клеточная концентрация для достижения суточной дозы зависит от размера порции*.

100 г x 10^7 КОЕ/г

200 г x 5×10^6 КОЕ/г



3. КОЛИЧЕСТВО КЛЕТОК В ПРОДУКТЕ

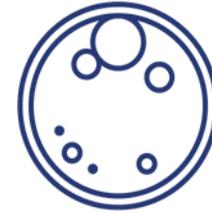
Количество клеток зависит от многих факторов: какой продукт, какие пробиотические штаммы, используемая основная культура, температура ферментации, pH, уровень кислорода, температура хранения и срок годности.

Требуемая доза внесения зависит от возможного роста и стабильности в продукте в течение срока годности.

CHR HANSEN

Improving food & health

Требования в России



1. ЗАЯВЛЕНИЯ

Функциональные заявления на продукт – требуются клинические исследования на продукт

Заявления, основанные на ингредиенте: выбор пробиотических штаммов с документацией, которая подтверждает заявления о пользе данного штамма, вынесенные на упаковку продукции

2. ЕЖЕДНЕВНАЯ ДОЗА

Единые санитарно-эпидемиологические и гигиенические требования к продукции (товарам), подлежащей санитарно-эпидемиологическому надзору (контролю)), приложение 5.

Суточная доза - от $5 \cdot 10^8$ до $5 \cdot 10^{10}$ КОЕ для бифидобактерий, и от $5 \cdot 10^7$ до $5 \cdot 10^9$ КОЕ для лактобактерий.

3. КОЛИЧЕСТВО КЛЕТОК В ПРОДУКТЕ

ТР ТС 033/2013 «О безопасности молока и молочной продукции», приложение 1,2

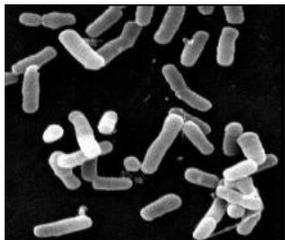
Для кисломолочных продуктов, обогащенных бифидобактериями, и другими пробиотическими микроорганизмами – не менее $1 \cdot 10^6$ КОЕ/г пробиотических микроорганизмов на конец срока годности

Для продукции детского питания на молочной основе, адаптированных кисломолочных смесях – ацидофильных микроорганизмов – не менее $1 \cdot 10^7$, бифидобактерий – не менее $1 \cdot 10^6$ КОЕ/г

CHR HANSEN

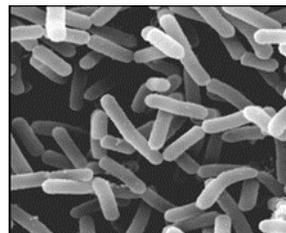
Improving food & health

Пробиотические штаммы nu-trish® Chr. Hansen с доказанной клинической эффективностью для применения в пищевой промышленности



Bifidobacterium, BB-12®

- › используется в мире с 1985 в продуктах питания и пищевых добавках



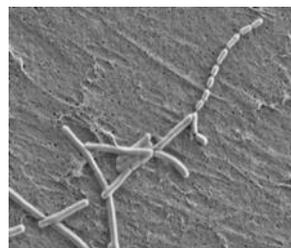
Lactobacillus paracasei ssp. paracasei, Lc-431®

- › используется в мире с 1995 в продуктах питания и пищевых добавках



Lactobacillus acidophilus, La-5®

- › используется в мире с 1979 года в продуктах питания и пищевых добавках



Lactobacillus rhamnosus, LGG®

- › используется в мире с 1990 в продуктах питания и пищевых добавках

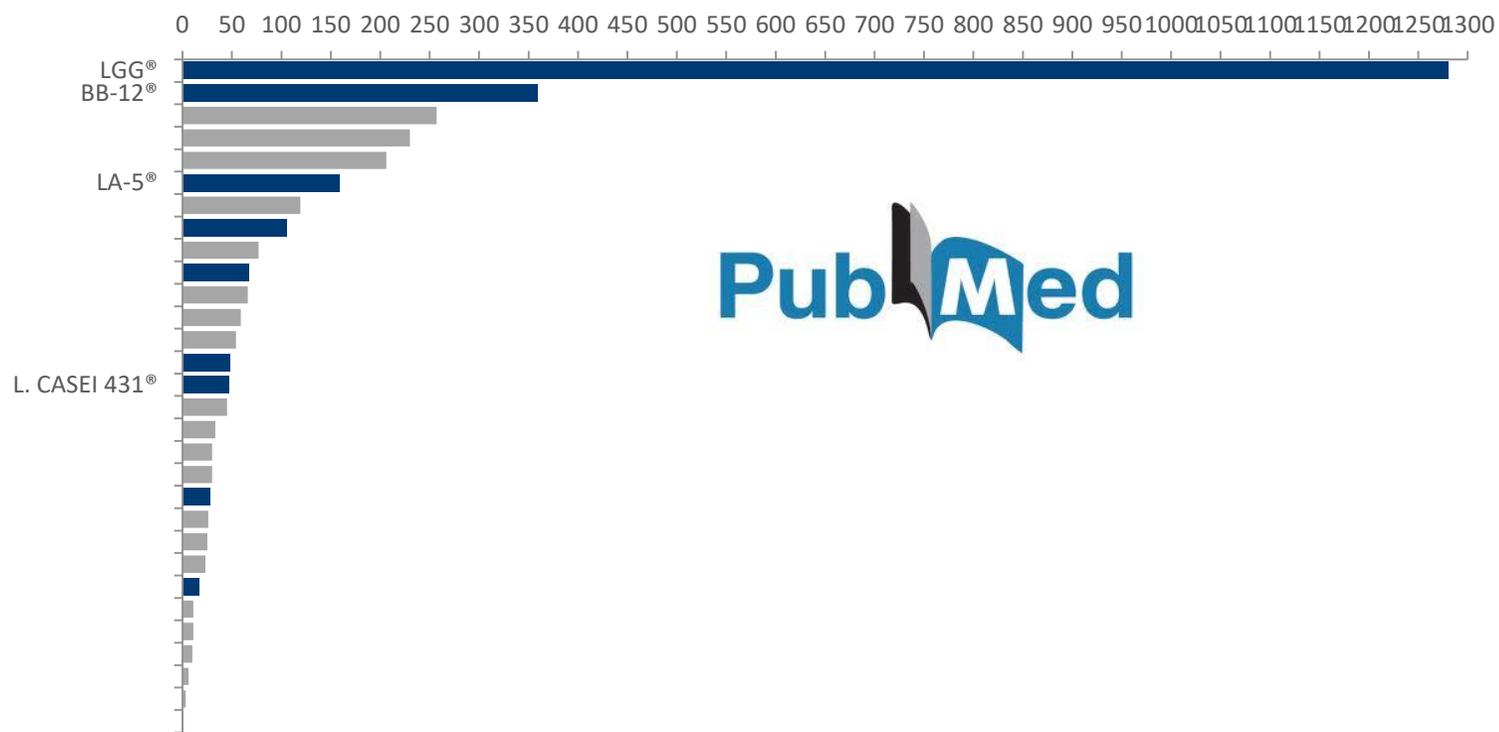
Клинические исследования штаммов nu-trish® компании Chr. Hansen

ПРОБИОТИЧЕСКИЙ ШТАММ nu-trish®	ОСНОВНЫЕ ОБЛАСТИ ЗДОРОВЬЯ	ЦЕЛЕВАЯ ГРУППА	УРОВЕНЬ КЛИНИЧЕСКОЙ ДОКУМЕНТАЦИИ
Bifidobacterium (BB-12®)	Функция кишечника	Общее население	★★★
	Иммунная функция	Общее население	★★
Lactobacillus (LGG®)	Иммунная функция	Дети	★★★
	Иммунная функция	Общее население	★★
Lactobacillus (L. CASEI 431®)	Иммунная функция	Общее население	★★★
Lactobacillus (LGG®) + Bifidobacterium (BB-12®)	Иммунная функция	Поколение миллениум	★★★
Bifidobacterium (BB-12®) + Lactobacillus (LA-5®)	Функция кишечника	Общее население	★★★
	H. Pylori	Определенная группа населения	★★
Lactobacillus (L.CASEI 01®)	Микробиота кишечника	Общее население	★

- ★★★ Многочисленные клинические исследования на людях; высококачественные протоколы
- ★★ > 2 клинических исследований на людях
- ★ Клинические исследования на животных и / или единичные клинические исследования на людях

Пробиотики Chr. Hansen подкреплены доказательствами в ходе клинических исследований и включают два наиболее задокументированных штамма в мире

КОЛИЧЕСТВО ОПУБЛИКОВАННЫХ РЕЦЕНЗИРУЕМЫХ РАБОТ¹

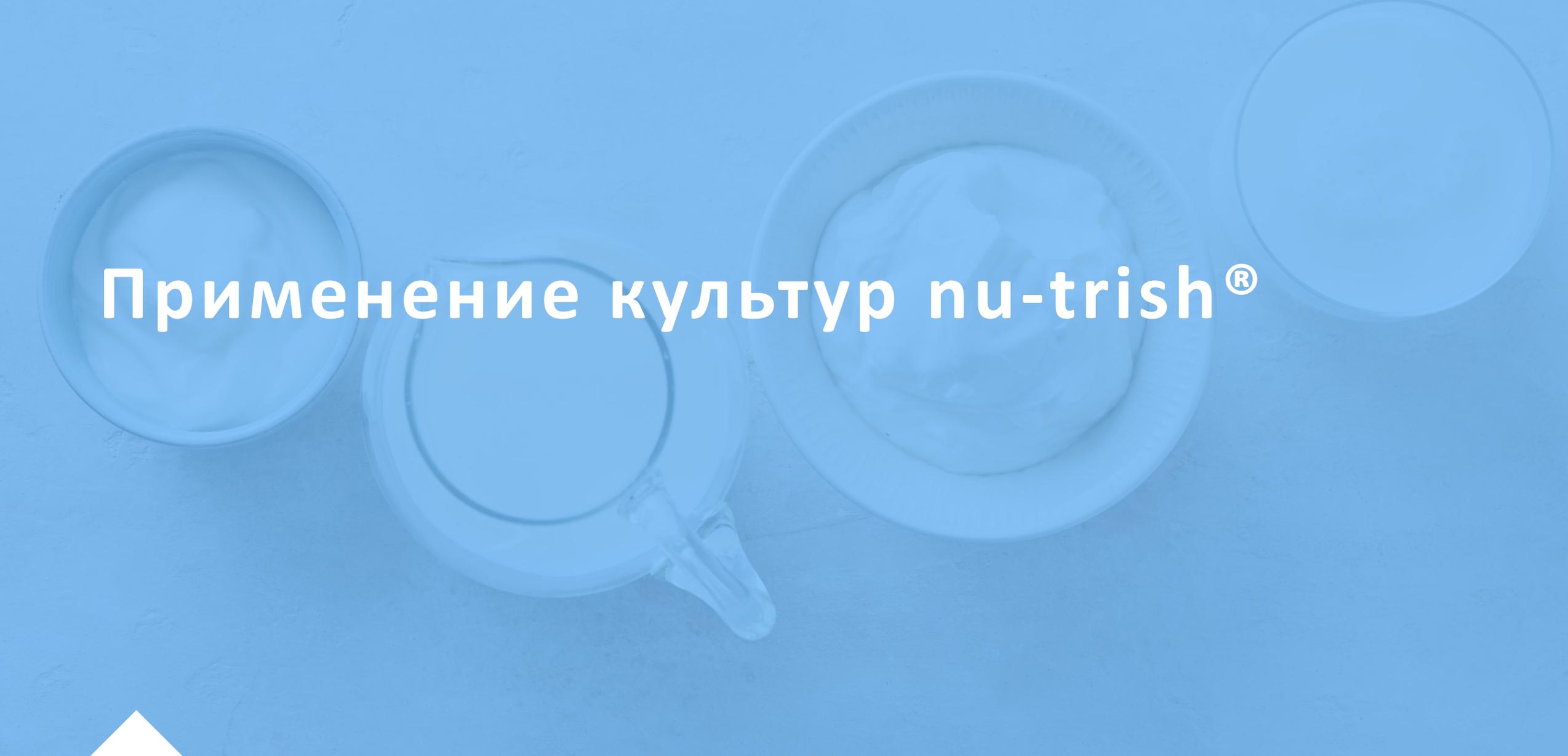


- › **LGG®** - самый задокументированный в мире пробиотический штамм *Lactobacillus*
- › **BB-12®** - самый задокументированный в мире пробиотический штамм *Bifidobacterium*
- › **LGG®** и **BB-12®** - самые изученные пробиотические штаммы

¹ PubMed database

BB-12® and LGG® are trademarks of Chr. Hansen A/S

© 2020 Chr. Hansen. All rights reserved.



Применение культур nu-trish®

Пробиотики, применяемые в продуктах питания, должны быть технологичны

ТЕХНОЛОГИЧНОСТЬ

- › Отсутствие неблагоприятного воздействия на вкус, внешний вид и консистенцию продукта
- › Удобство применения на производстве
- › Стабильность в продукте

Пробиотики nu-trish® с клинически доказанной эффективностью

Одноштаммовые культуры для применения в молочных продуктах, соках и ферментированных продуктах на немолочной основе

ОДНОШТАММОВЫЕ КУЛЬТУРЫ

- › **nu-trish® BB-12®** (*Bifidobacterium animalis* subsp. *lactis*)^{1,2}
- › **nu-trish® LA-5®** (*Lactobacillus acidophilus*)²
- › **nu-trish® L.casei 431®** (*Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*)¹
- › **nu-trish® LGG®** (*Lactobacillus rhamnosus*)¹
- › **nu-trish® L.casei 01** (*Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*)

ФОРМАТ ПРОДУКТА

- › Лиофилизированные DVS
- › Замороженные DVS

Комбинируются с заквасочными культурами

¹ Доступны для продуктов на растительной основе; подходят для веганских продуктов

² Доступны в порошкообразной форме для пищевых продуктов

Пробиотики nu-trish® с клинически доказанной эффективностью

Готовые к использованию комбинации культур для ферментированных молочных продуктов с оптимальным вкусом, текстурой и высокой клеточной концентрацией пробиотических микроорганизмов

КОМБИНАЦИИ КУЛЬТУР

- › **АВТ культуры** (*S. thermophilus*, LA-5® and BB-12®)
- › **АВУ культуры** (*S. thermophilus*, *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, LA-5®, BB-12®)
- › **ВУ культуры** (*S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, BB-12®)
- › **ВМУ культуры** (*S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *L. lactis*, BB-12®)
- › **ВРУ культуры** (*S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, *L. rhamnosus*, BB-12®)
- › **ГУ культуры** (*S. thermophilus*, *L. bulgaricus*, LGG®)

ФОРМАТ ПРОДУКТА

- › Лиофилизированные DVS
- › Замороженные DVS

Целевая клеточная концентрация в продукте 10^7 КОЕ/г, исходя из размера порции 100г

CHR HANSEN

Improving food & health

Ассортимент комбинаций культур nu-trish®

Текстура (напряжение сдвига) и вкус

Высокий
уровень

ТЕКСТУРА
(напряжение сдвига)

5	F-DVS BY-Premium F-DVS BY-Mild	F-DVS BRY-Creamy	F-DVS ABY-Premium		
4		FD-DVS ABT-10	FD-DVS ABY-10 F-DVS BY-700 F-DVS BMY-2		
3		F-DVS ABT-1 FD-DVS ABT-1 F-DVS ABT-10	F-DVS ABY-10	F-DVS ABY-4	
2	FD-DVS ABT-7 F-DVS ABY-3 FD-DVS ABY-3 F-DVS BCT-1	F-DVS ABT-2 FD-DVS ABT-2	F-DVS ABT-6 FD-DVS ABT-5	F-DVS ABT-4 FD-DVS ABT-4 F-DVS ABT-21	
1			FD-DVS ABT-3	FD-DVS ABY-1 FD-DVS ABY-2	F-DVS ABY-2

1

2

3

4

5

ИНТЕНСИВНОСТЬ ВКУСА

Высокий
уровень

Оценка интенсивности вкуса основывается на сочетании йогуртового вкуса и кислотности (сенсорно)

CHR HANSEN

Improving food & health

Основные категории йогурта и культуры nu-trish®





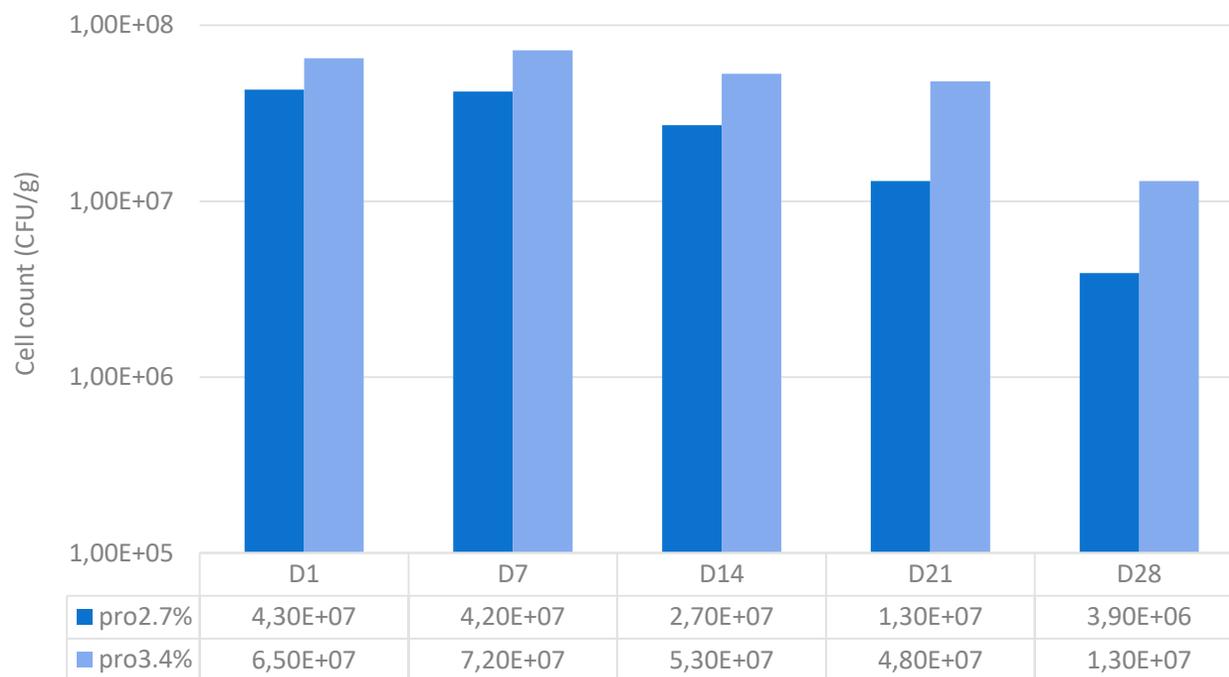
Характеристика ВВ-12®

CHR HANSEN

Improving food & health

Уровень белка в молоке – важный фактор для роста и стабильности ВВ-12

Воздействие уровня белка на рост ВВ-12 и стабильность во время хранения при 4 – 6°C

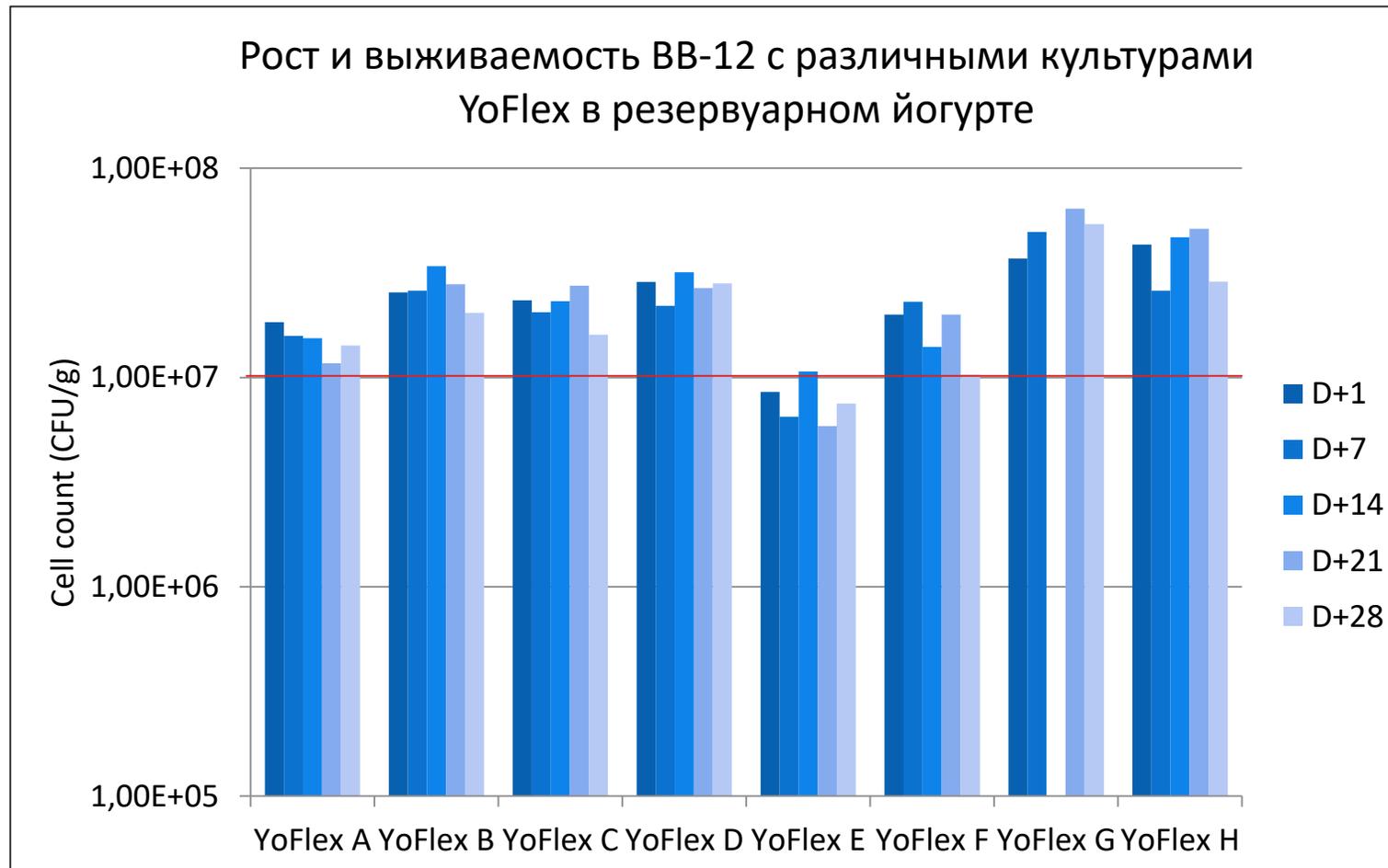


Уровень белка в рецептуре:

Чем выше, тем лучше

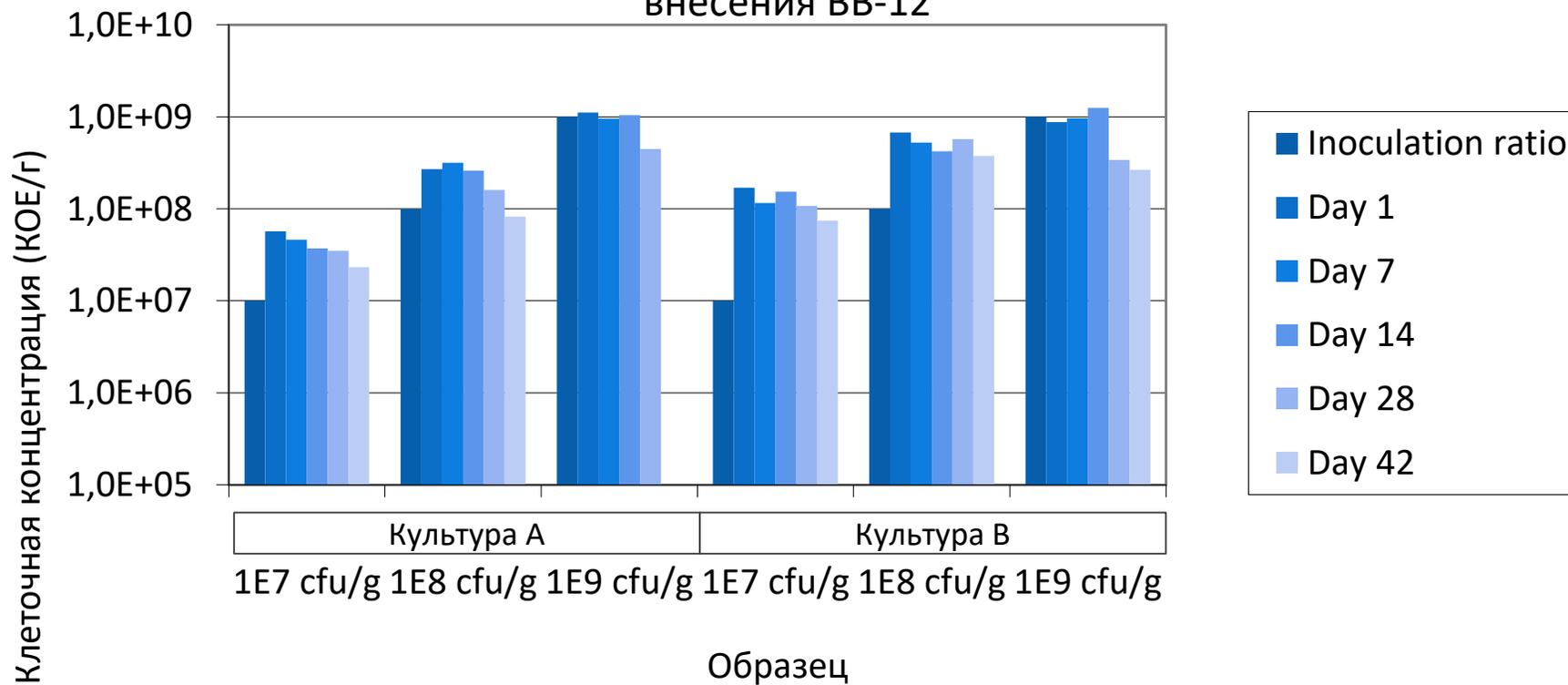
- › Буферный эффект - больше времени для роста
- › Больше питательных веществ

Рост BB-12® зависит от используемой йогуртной культуры



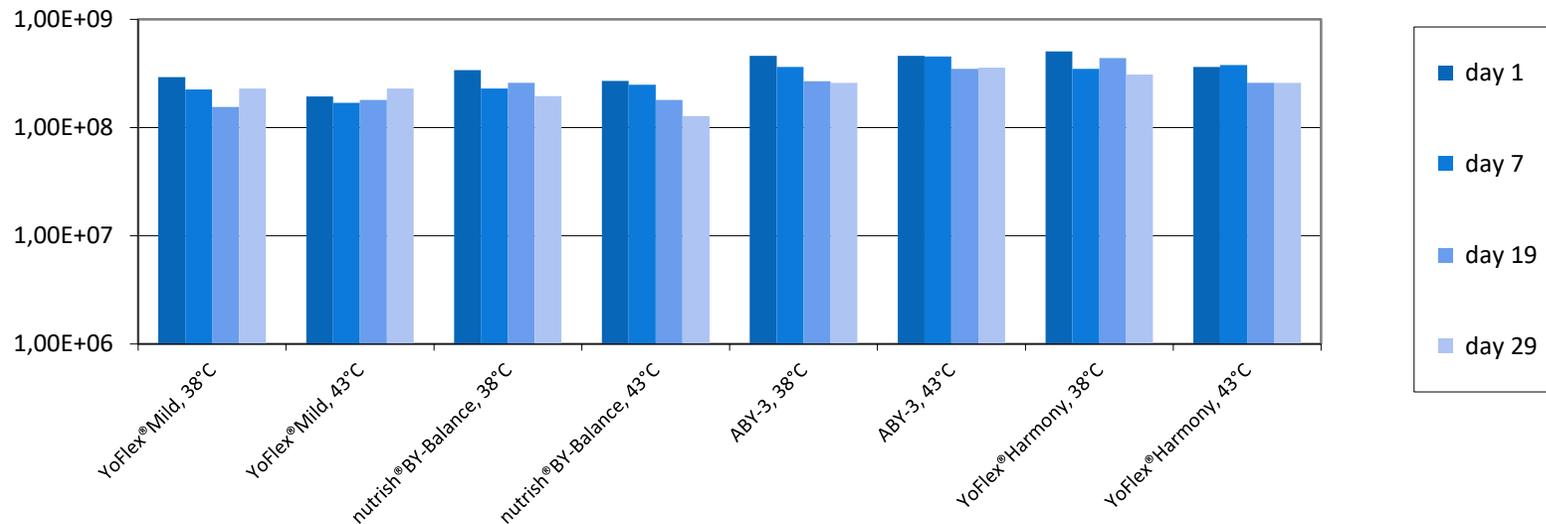
Воздействие дозы внесения ВВ-12® на клеточную концентрацию

Рост и стабильность ВВ-12 во время хранения йогурта, произведенного с двумя культурами pu-trish и с различными дозами внесения ВВ-12



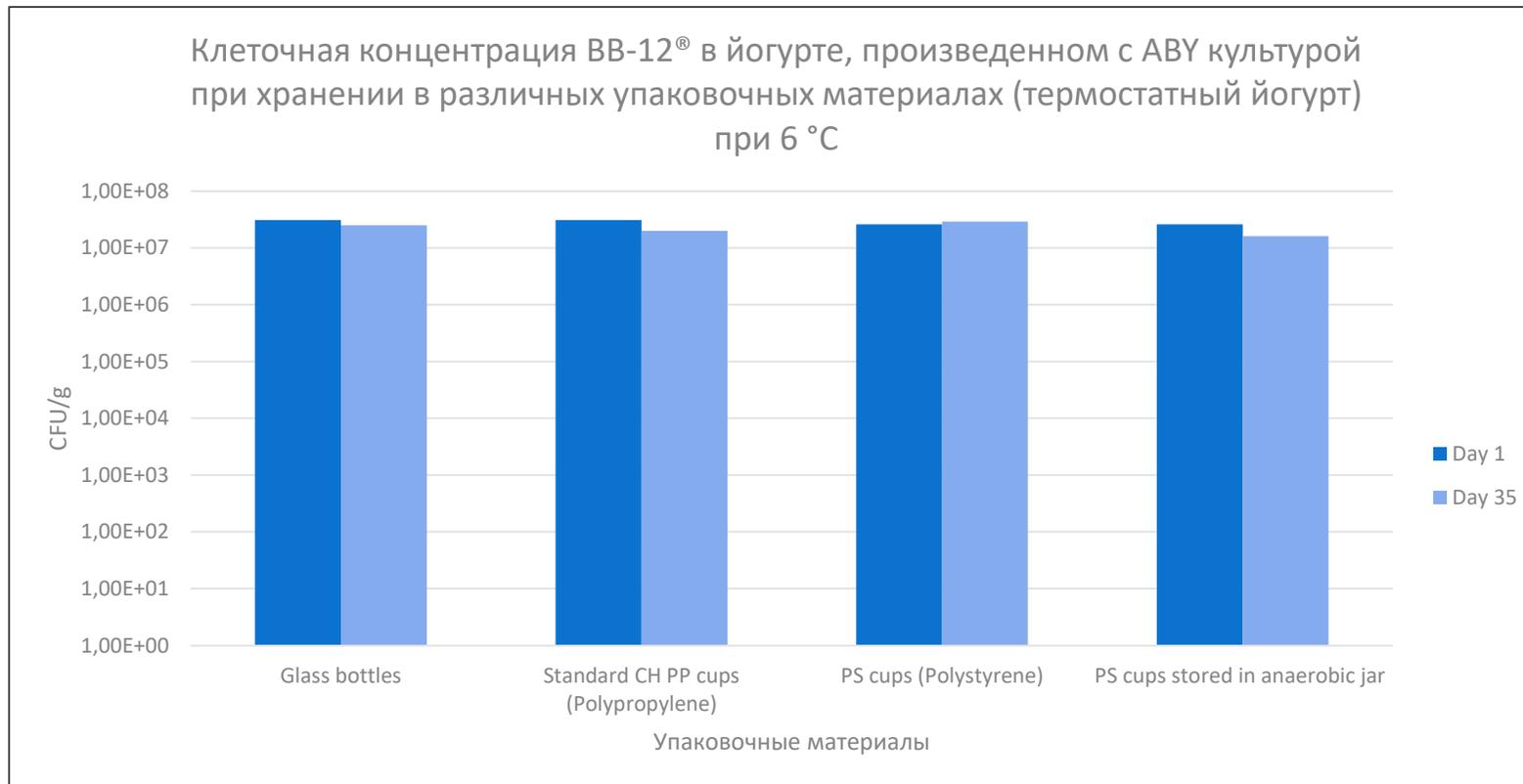
Оптимальная температура ферментации для клеточной концентрации ВВ-12, по-видимому, связана с основной ферментирующей культурой

Клеточная концентрация ВВ-12 в резервуарном йогурте, ферментируемом различными культурами, плюс 0.02 % ВВ-12 при двух температурах ферментации – хранение при 6 °C



Воздействие упаковочных материалов

BB-12[®] относительно устойчив к кислороду при холодном хранении





Характеристика ВВ-12®

- › Может расти во время ферментации йогурта когда комбинируется с подходящими штаммами, но не растет в молоке самостоятельно
- › Не так чувствителен к кислороду как другие штаммы *Bifidobacteria*
- › Клеточная концентрация обычно падает меньше чем на 1 log в течение срока годности 28-42 дня
- › Достаточно стабильна в стандартных кисломолочных продуктах, но возможно падение клеточной концентрации в очень кислой среде (pH 4.1 и ниже)
- › Лучшая стабильность при более высоком уровне белка
- › Оптимальная температура ферментации связана с основной йогуртовой культурой
- › ВВ-12® в рекомендуемой дозировке внесения не сильно изменяет характеристики йогурта, но вносит свой вклад в уникальный вкус

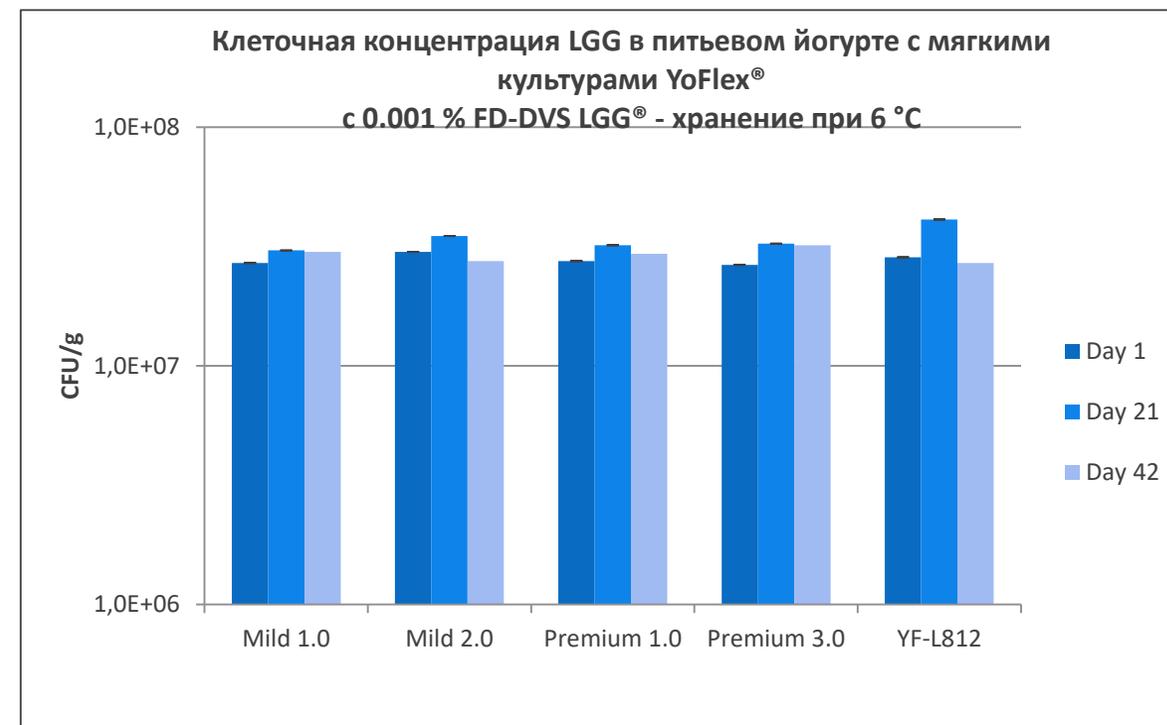
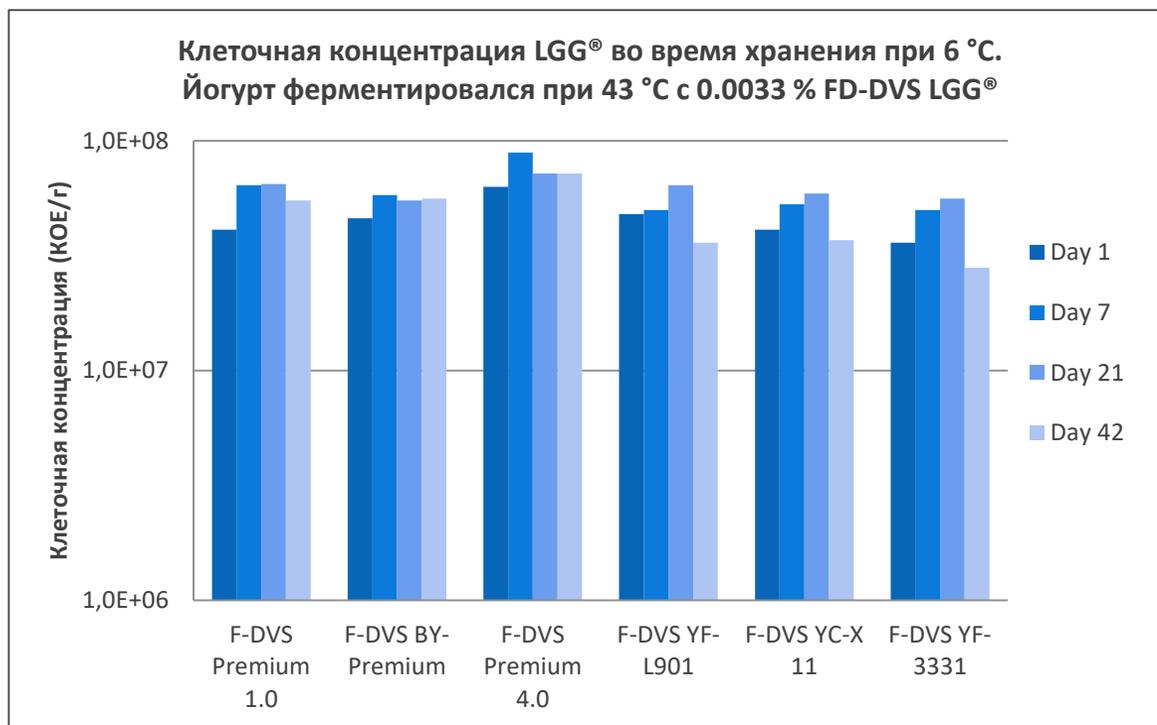


Характеристика LGG®

CHR HANSEN

Improving food & health

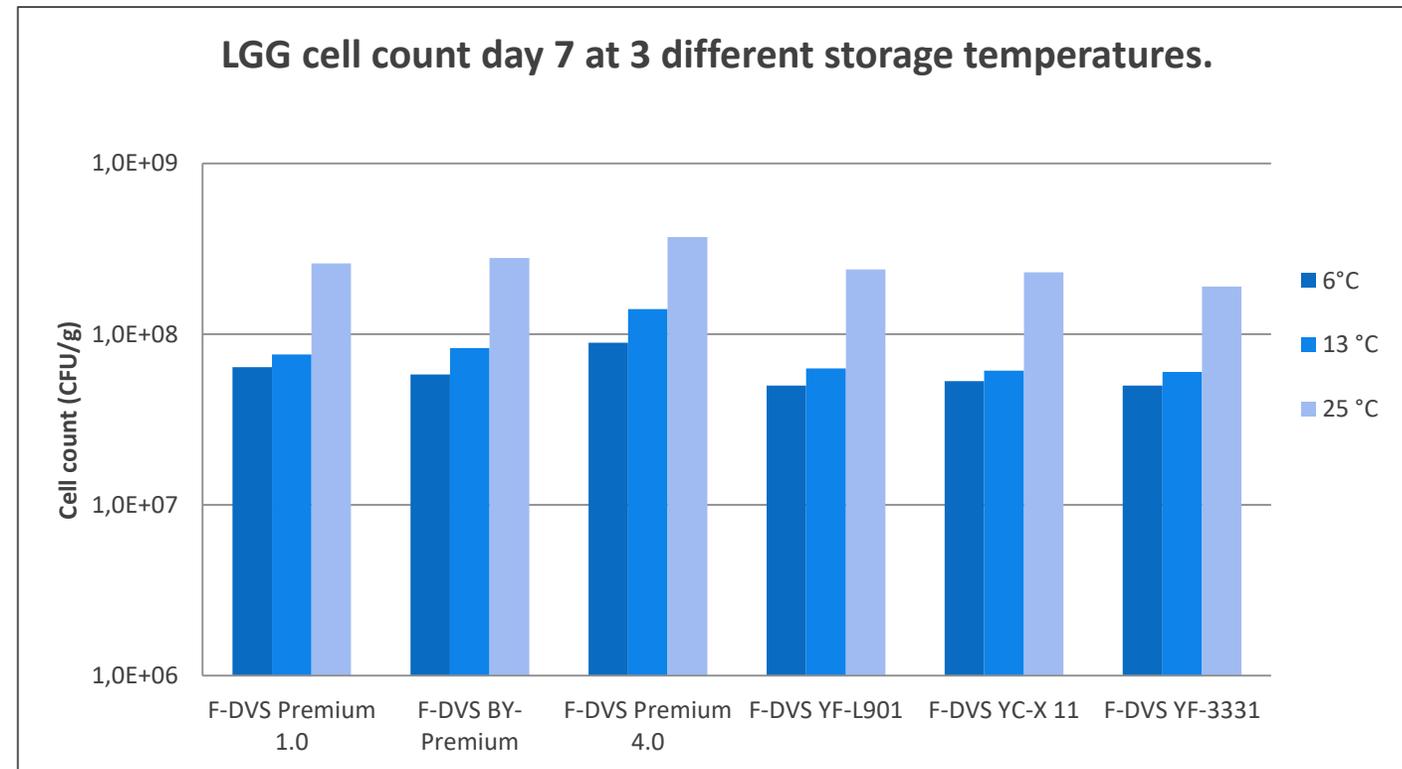
Высокая и стабильная клеточная концентрация LGG® как с мягкими, так и с более кислотообразующими культурами YoFlex® во время хранения



LGG[®] может расти во время хранения когда йогурт хранится при повышенных температурах

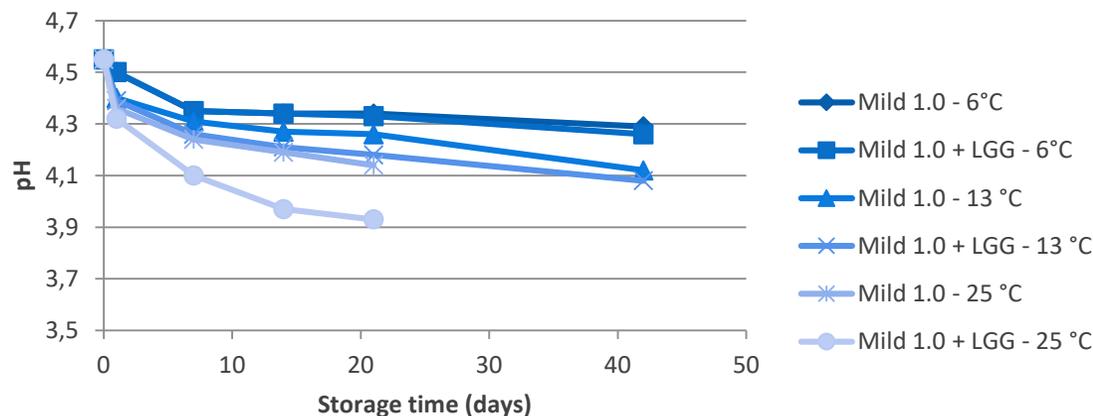
Белый резервуарный йогурт с 4.2 % белка и 1 % жира производился с различными культурами YoFlex[®] (500 ед/2500 л) и FD-DVS LGG[®] (0.0033 %). Культуры были взяты в диапазоне от мягких до выраженно кислых.

Йогурт ферментировался при температуре 43 °C и хранился при 6, 13 и 25 °C

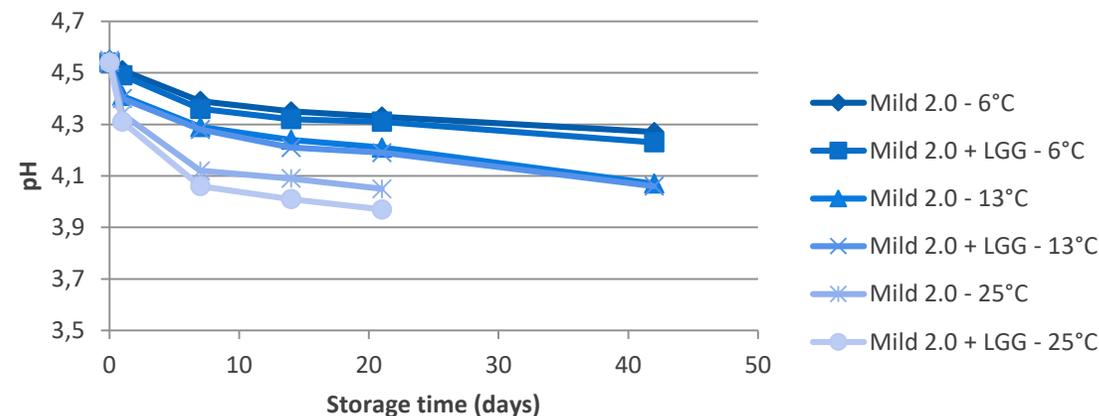


Воздействие LGG® на пост-окисление отличается в зависимости от используемой культуры и температуры хранения

Пост-окисление Mild 1.0 +/- 0.001 % FD-DVS LGG® в питьевом йогурте при хранении при 6, 13 и 25°C



Пост-окисление Mild 2.0 +/- 0.001 % FD-DVS LGG® в питьевом йогурте при хранении при 6, 13 и 25°C



Нет воздействия LGG® на пост-окисление Mild 1.0 и Mild 2.0, когда используется в рекомендуемой дозе и хранится при 6 или 13°C. Воздействие LGG® на пост-окисление при 25°C.

Эффект отличается для различных заквасочных культур и зависит от того, какое пост-окисление дает сама заквасочная культура.



Характеристика LGG®

- › Лактозонегативная
- › Способна расти во время ферментации с другими культурами
- › Хороший рост и стабильность со всеми тестируемыми йогуртными культурами
- › Хороший рост в широком диапазоне температур 22-43 °С
- › Может расти во время хранения при повышенных температурах, но, по-видимому, снова уменьшаются к концу срока годности
- › Не оказывает влияния на пост окисление при холодном хранении, но может давать некоторое пост окисление при более высоких температурах хранения (20-25С)
- › LGG® может продуцировать диацетил, что придает свежую сливочную ноту



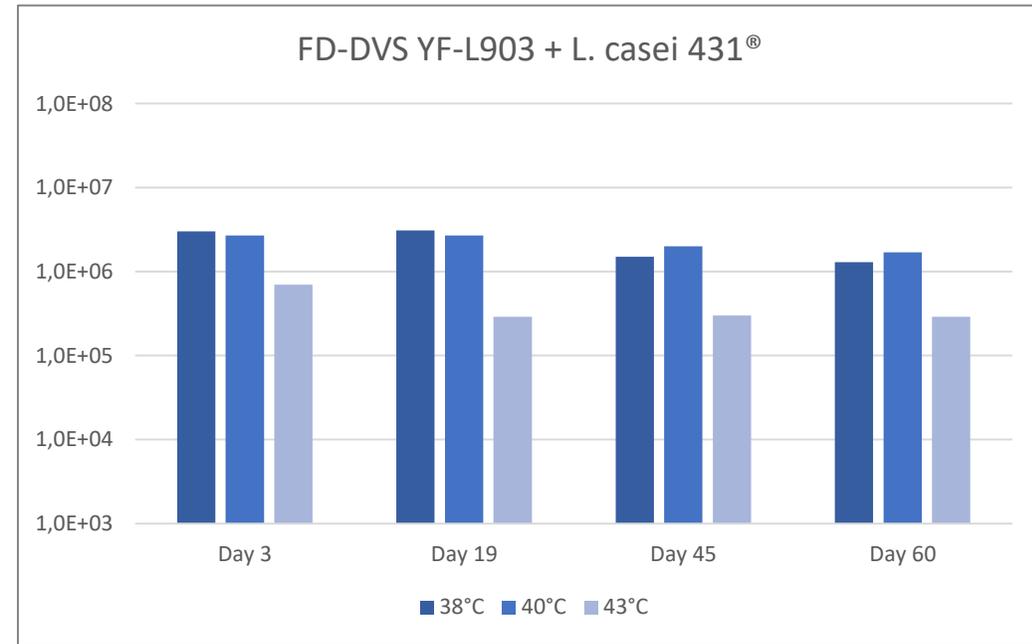
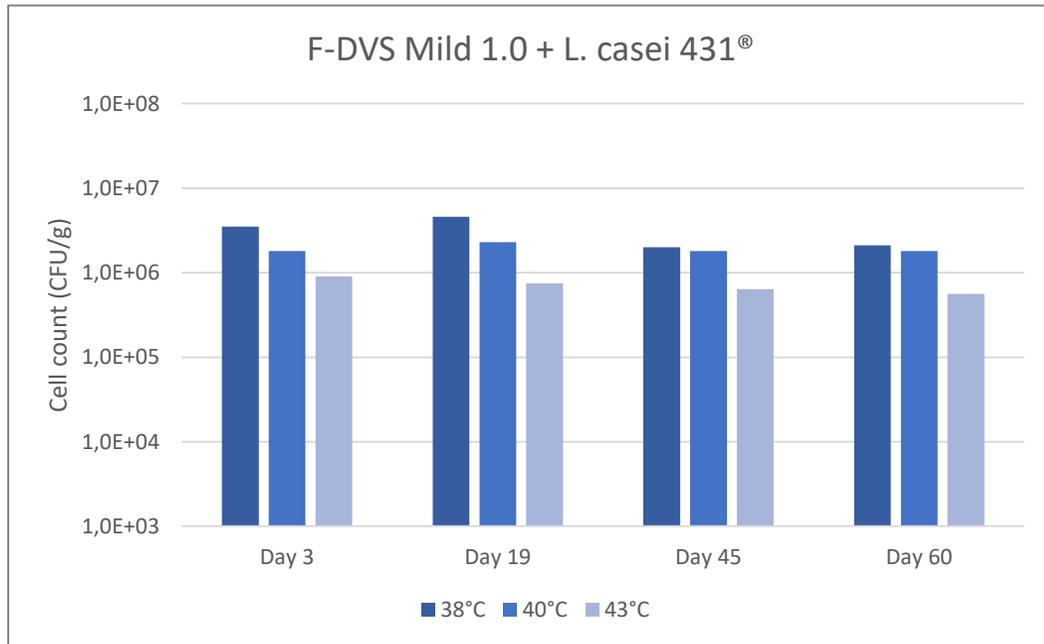
Характеристика L.casei 431®

CHR HANSEN

Improving food & health

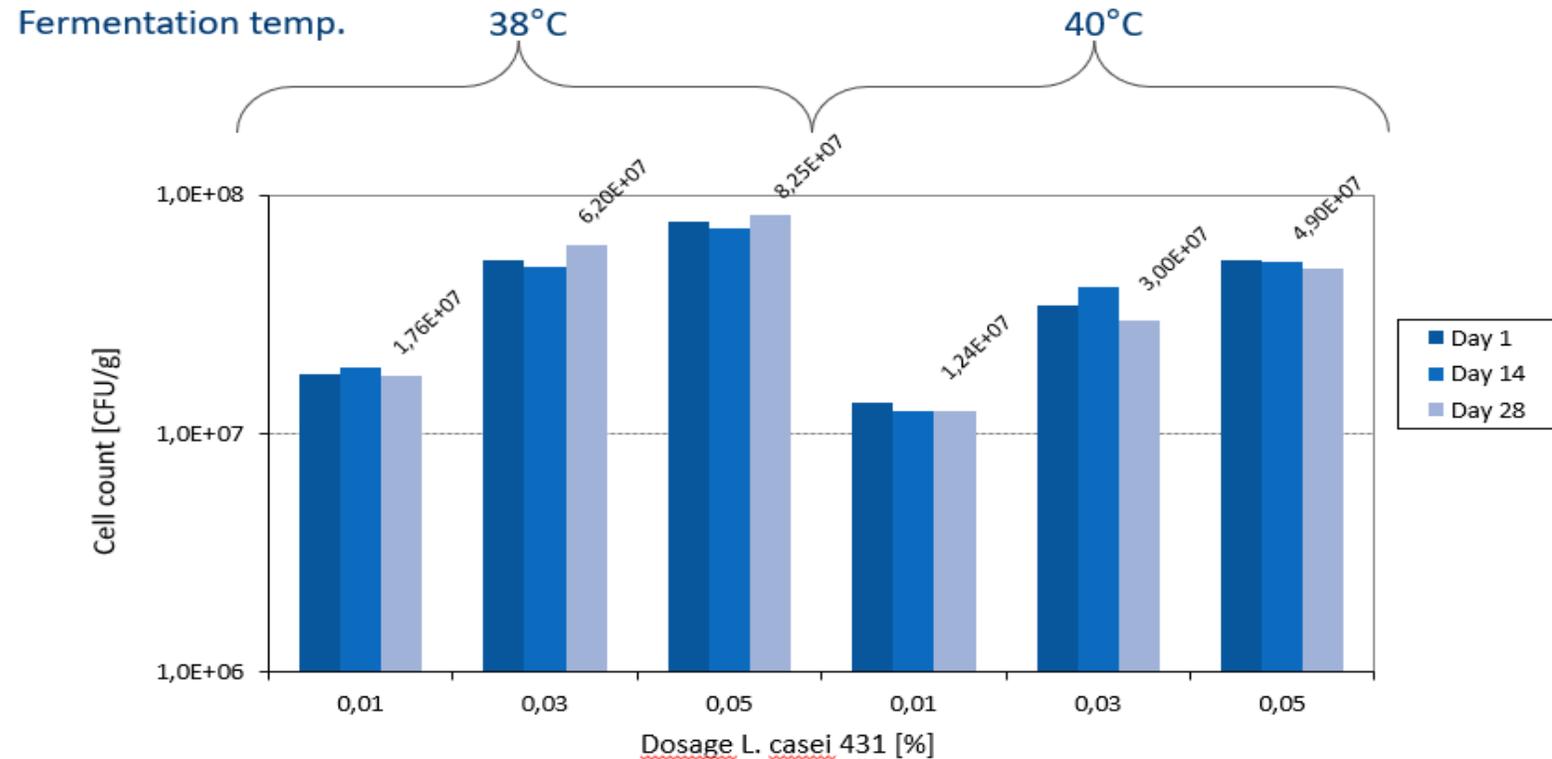
Оптимальная температура ферментации L.casei 431® -

38-39°C



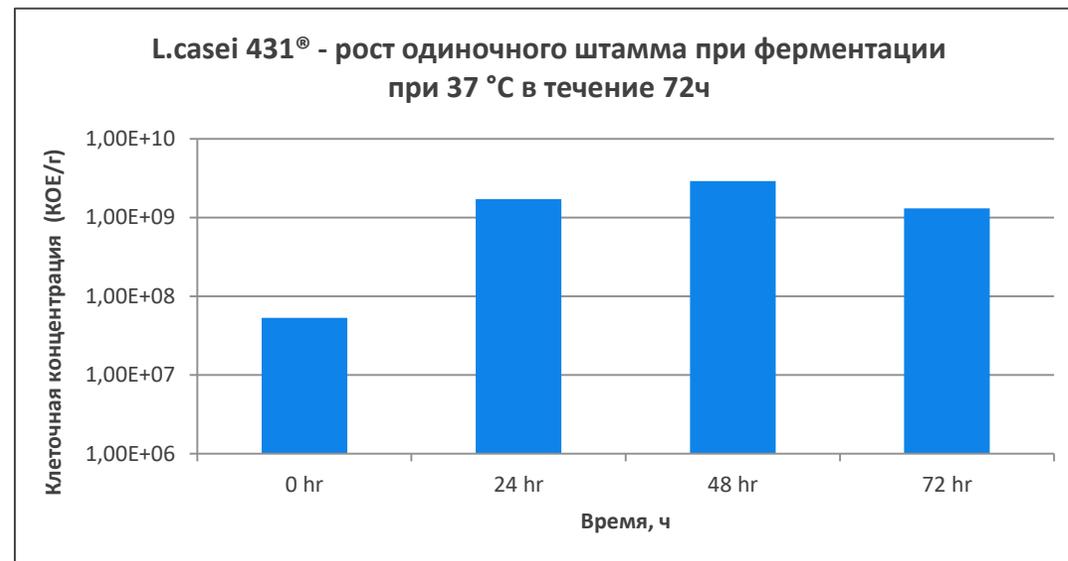
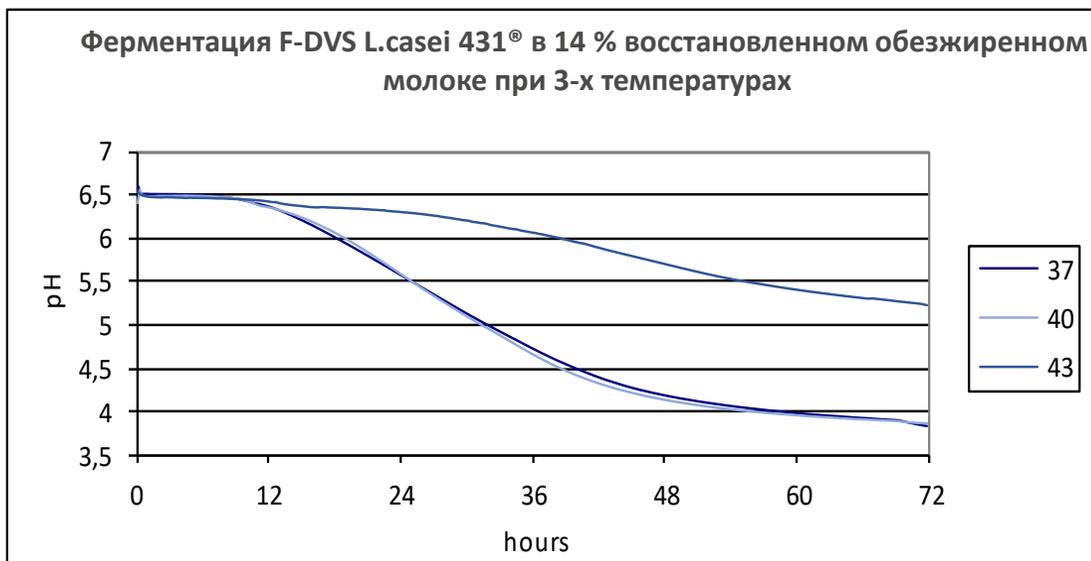
L.CASEI 431[®] обычно не растет сильно во время ферментации в йогурте и в значительной степени зависит от температуры ферментации

Influence of inoculation rate and temperature on cell count of F-DVS L.casei 431[®] in combination with F-DVS YF-L901



L.casei 431® широко используется для продуктов типа Yakult

Длительное время ферментации и высокая клеточная концентрация





Характеристика L.casei 431®

- › Обычно не растет или только немного растет во время ферментации в комбинации с другими йогуртными культурами
- › Оптимальная температура ферментации в йогурте – около 38 °С. Ферментация при 43°С приводит к более низкой клеточной концентрации
- › Достаточно стабильная клеточная концентрация при хранении
- › Когда ферментируется самостоятельно – длительное время ферментации – L.casei 431 может расти до высокой клеточной концентрации
- › L.casei 431 может продуцировать диацетил, придавая легкую сливочную ноту продукту

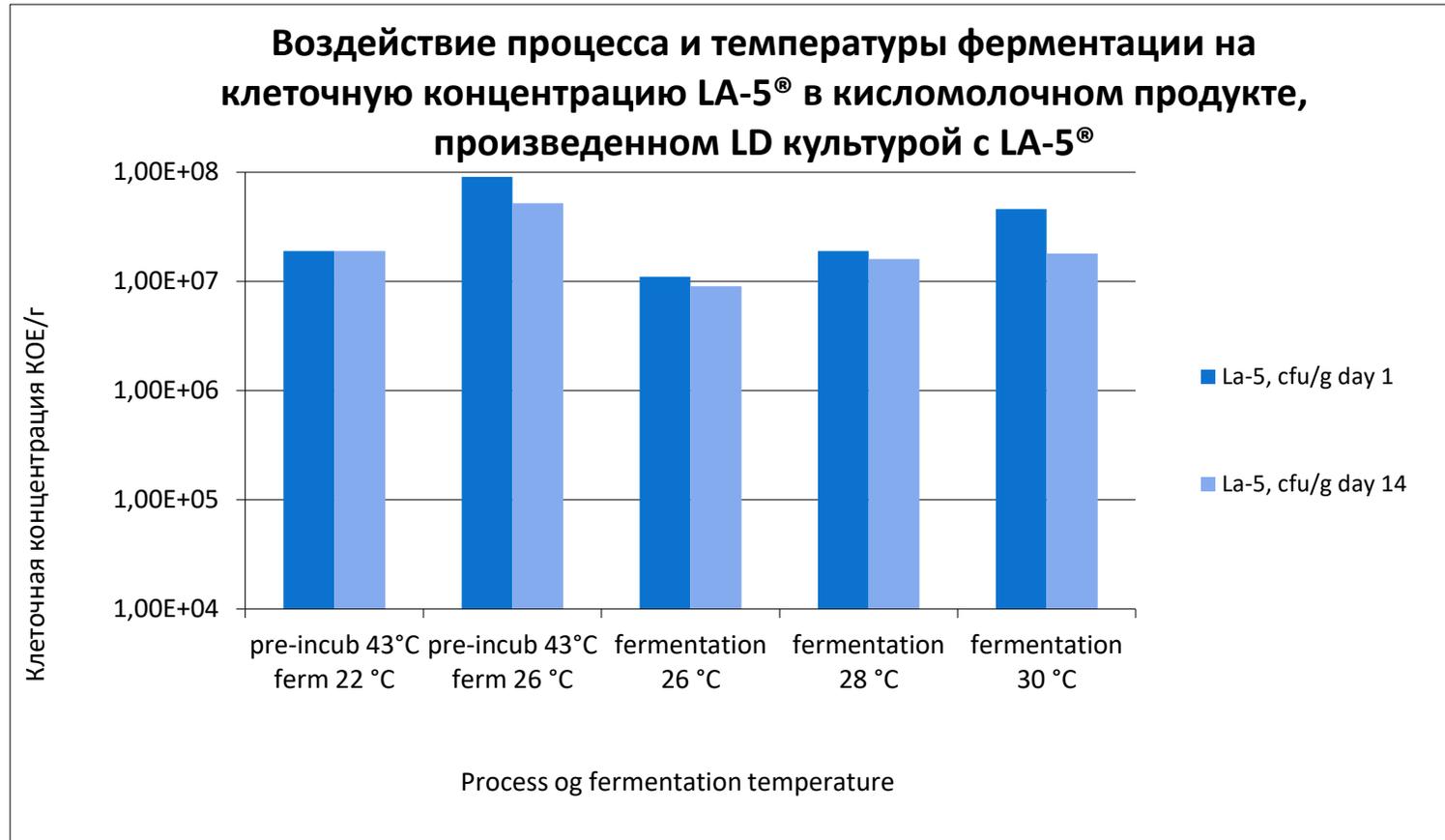


Характеристика LA-5®

CHR HANSEN

Improving food & health

Воздействие температуры ферментации и процесса на клеточную концентрацию LA-5 в ферментированном молочном продукте



В мезофильных продуктах рекомендуется увеличивать температуру ферментации до 30 °C чтобы достигать достаточной клеточной концентрации

- или делать пре-инкубацию LA-5[®] при 43°C

CHR HANSEN

Improving food & health

Характеристика LA-5®

- › Способна расти во время ферментации в йогурте
- › Имеет высокую резистентность к кислотам в кисломолочных продуктах
- › Несколько чувствительна к кислороду
- › В Скандинавии LA5 часто используется в мезофильных ферментированных продуктах (А-38, А-fil).
- › В мезофильных продуктах рекомендуется ферментировать при температуре не ниже 30 °С или производить предварительную ферментацию при более высокой температуре.



Множество факторов воздействуют на рост и стабильность пробиотических бактерий в ферментированных молочных продуктах



Спецификация одноштаммовых пробиотических культур

СПЕЦИФИКАЦИЯ – КЛЕТОЧНАЯ КОНЦЕНТРАЦИЯ

ФОРМА	BB-12®	LGG®	LA-5®	L.casei 431®
F-DVS	$\geq 1 \times 10^{11}$ КОЕ/г	$\geq 5 \times 10^{10}$ КОЕ/ед	$\geq 6 \times 10^{10}$ КОЕ/ед	$\geq 5 \times 10^{10}$ КОЕ/г
FD-DVS	$\geq 1 \times 10^{11}$ КОЕ/г	$\geq 5 \times 10^{11}$ КОЕ/г	$\geq 1 \times 10^{11}$ КОЕ/г	$\geq 2 \times 10^{11}$ КОЕ/г

Расчет дозы для использования в молоке

Пример F-DVS BB-12

Необходимо инокулировать 1×10^7 КОЕ/г в 1000 кг молока

Расчет дозы: 1×10^7 КОЕ/г молока / 1×10^{11} КОЕ/г BB12 x 1000000 г молока = 100 г BB-12

Пример F-DVS LGG

Необходимо инокулировать 1×10^7 КОЕ/г в 2500 кг молока

Расчет дозы: 1×10^7 КОЕ/г молока / 5×10^{10} КОЕ/ед LGG x 2500000 г молока = 500 ед LGG

Так как конечная клеточная концентрация зависит от многих факторов, всегда следует выверять полученную клеточную концентрацию в каждом конкретном продукте/случае и, соответственно, корректировать вносимую дозу.

Инокуляция пробиотических штаммов

Таблица ниже показывает дозировку на 1000 L чтобы получить определенное количество клеток основываясь на клеточной концентрации одноштаммовой культуры

ГРАММ ИЛИ ЕДИНИЦ КУЛЬТУРЫ НА 1000 Л МОЛОКА С ЦЕЛЮ ВНЕСЕНИЯ ОПРЕДЕЛЕННОГО КОЛИЧЕСТВА КЛЕТОК

КОЕ/г или КОЕ/ед DVS- культуры	Вносимое количество клеток в продукт				
	1E6 КОЕ/г	5E6 КОЕ/г	1E7 КОЕ/г	5E7 КОЕ/г	1E8 КОЕ/г
1x10 ¹⁰	100	500	1000	5000	10000
5x10 ¹⁰	20	100	200	1000	2000
6x10 ¹⁰	17	83	170	830	1700
1x10 ¹¹	10	50	100	500	1000
2x10 ¹¹	5	25	50	250	500
5x10 ¹¹	2	10	20	100	200



Культуры Chr. Hansen для немолочных продуктов

Произведены без использования на всех этапах производственного процесса полученных из молока ингредиентов

YoFlex® YF-L01 DA F-DVS (704993)

Смесь штаммов *Streptococcus thermophilus* для обеспечения стабильного быстрого сквашивания и вкуса

YoFlex® YF-L02 DA F-DVS (716628)

Смесь штаммов *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus bulgaricus* с добавлением *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus paracasei* и *Bifidobacterium* для вкуса и текстуры

nu-trish® BY-01 DA F-DVS (716885)

Смесь штаммов *Streptococcus thermophilus* и *Lactobacillus bulgaricus* с *Bifidobacterium*, BB-12® для пробиотического эффекта

nu-trish® BB-12® DA F-DVS (716995)

Bifidobacterium, BB-12® для обогащения пробиотиками

nu-trish® LGG® DA FD-DVS (718209)

LGG® для обогащения пробиотиками

nu-trish® L.casei 431® Juice F-DVS (706144)

L.casei 431® для обогащения пробиотиками

CHR HANSEN

Improving food & health

Подсчет клеток пробиотических штаммов важен для подтверждения присутствия в продукте достаточного количества штамма

Доступны рекомендованные методы селективного* подсчета клеток пробиотических штаммов СН – по запросу

*В зависимости от состава культур



This guideline describes media and method for counting Chr. Hansen's Bifidobacterium BB-12[®] as pure culture and in different culture combinations in fermented milk products. The method is based on international standard ISO 21981/IDF 220: Milk products – Enumeration of presumptive Bifidobacteria – Colony count technique at 37 °C, but is adapted for counting of Chr. Hansen's Bifidobacteria. The Chr. Hansen method use MRS with CyHCL instead of TDS agar and uses a lower dose of mupirocin than described in the standard.

This guideline can be used in combination with Chr. Hansen's Guideline for sample dilution, plating and counting of lactic acid bacteria in fermented milk products.

Media and method:

Bifidobacteria as single culture

Medium MRS agar with 500 ppm CyHCL (addition of 5 ml CyHCL stock solution* per liter medium)

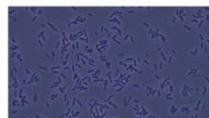
Technique Pour plate
Anaerobic incubation,
37°C (99°F), 3 days

Comment When grown on a solid medium under the conditions specified in this method Bifidobacterium BB-12[®] form lenticular or round, whitish colonies with more or less regular edges. Diameter of colonies will be 1mm to 3mm (depending on the number of colonies).

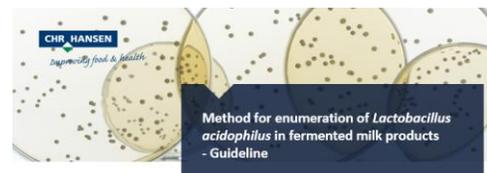
All colonies are counted.



MRS + CyHCL plate with BB-12[®] from yogurt



Microscopy of BB-12[®] from yogurt



This guideline describes media and method for counting Chr. Hansen's L acidophilus, LA-5[®] as pure culture and in different culture combinations in fermented milk products. The method is based on international standard ISO 20218/IDF 192: Milk products – Enumeration of presumptive Lactobacillus acidophilus on a selective medium – Colony count technique at 37 °C, but is adapted according to the culture composition used in the fermented milk products, by using only the antibiotic needed to get a selective count.

This guideline can be used in combination with Chr. Hansen's Guideline for sample dilution, plating and counting of lactic acid bacteria in fermented milk products.

Media and method:

Lactobacillus acidophilus as single culture

Medium MRS agar

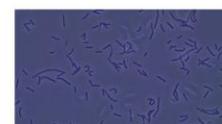
Technique Pour or spread plate
Anaerobic incubation,
37°C (99°F), 3 days

Comment When grown on a solid medium under the conditions specified in this method Lactobacillus acidophilus form flat, matt, rough, grey to whitish colonies with more or less irregular edges. Diameter of colonies will be 1mm to 3mm (depending on the number of colonies).

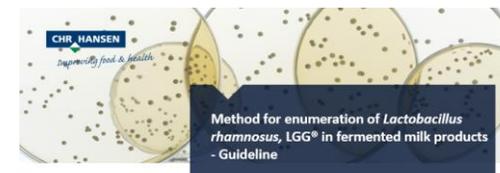
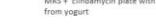
All colonies are counted as Lactobacillus acidophilus.



MRS + clindamycin plate with LA-5[®] from yogurt



Microscopy of LA-5[®] from yogurt



This guideline describes media and method for counting Chr. Hansen's Lactobacillus rhamnosus, LGG[®] as pure culture and in different culture combinations in fermented milk products.

Lactobacillus rhamnosus, LGG[®] is a gram positive, catalase negative rod, generally in chains. The LGG[®] strain does not ferment lactose and it is resistant to vancomycin.

This guideline can be used in combination with Chr. Hansen's Guideline for sample dilution, plating and counting of lactic acid bacteria in fermented milk products.

Media and method:

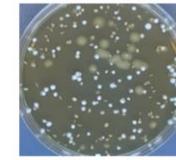
Lactobacillus rhamnosus, LGG[®] as single culture

Medium MRS agar

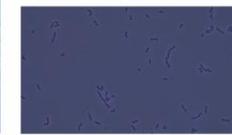
Technique Pour or spread plate
Anaerobic incubation,
37°C (99°F), 3 days

Comment When grown on a solid medium under the conditions specified in this method Lactobacillus rhamnosus, LGG[®] forms smooth, white colonies with sharp edges. Colonies are round or oval with a diameter of 2 mm to 4 mm (depending on the number of colonies).

All colonies are counted as the LGG[®] strain



MRS pour plate of with L. rhamnosus, LGG[®] from yogurt



Microscopy of L. rhamnosus, LGG[®] from yogurt. The rods are generally in chains. This is even more evident when microscopy is made on DVS culture.



CHR HANSEN

Improving food & health

СПАСИБО ЗА ВНИМАНИЕ!

ВОПРОСЫ?



RUTGO@CHR-HANSEN.COM

Tamara Gorina
Tech & Application Expert