

УДК 579.674

Кумыс: микробный состав и особенности ферментации© 2021 А.М. ХОЛДИНА^{1,*}, А.А. ЛАЙКОВА¹, И.Н. СЕРЕЖКИН¹¹ Биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Москва, 119234*e-mail: annahold@yandex.ru

Поступила в редакцию 21.07.2021 г.

После доработки 12.10.2021 г.

Принята к публикации 18.10.2021 г.

Кумыс — традиционный ферментированный напиток на основе кобыльего молока. В его создании принимают участие разнообразные молочнокислые и уксуснокислые бактерии, дрожжи. Микробный состав играет ключевую роль в формировании вкуса и аромата продукта. Изучение микробных ассоциаций кумыса, выявление корреляций между составом микробиоты и различными характеристиками является перспективным направлением исследований и способствует созданию более совершенных заквасок для промышленного применения. В данном обзоре приведены основные биохимические параметры различных типов кумыса и рассмотрен состав микробиоты напитка. Особое внимание уделяется симбиотическим отношениям между микроорганизмами, входящими в его состав. Рассмотрены основные этапы традиционного, промышленного и лабораторного способов изготовления кумыса.

Ключевые слова: кумыс, ферментация, молочнокислые бактерии, ассоциации микроорганизмов, закваска

doi: 10.21519/0234-2758-2021-37-6-58-73

Кумыс — традиционный кисломолочный напиток, изготавливаемый из кобыльего молока сбраживанием его молочнокислыми бактериями и дрожжами. Он распространен в Центральной Азии: Монголии, Казахстане, Киргизии и в некоторых регионах России (Бурятия, Калмыкии, Башкирии) [1]. В традиционной монгольской медицине кумыс использовали для лечения гипертонии, диспепсии и при нарушениях в метаболизме жиров [2].

Кобылье молоко очень питательно и обладает лечебными свойствами, может применяться для оздоровления организма. Оно традиционно рекомендуется к употреблению людям, страдающим

сердечно-сосудистыми заболеваниями, диабетом и пациентам, проходящим антибактериальную терапию [3]. Одним из отличий этого молока является богатство полиненасыщенными жирными кислотами (особенно линолевой и линоленовой), которые способны стимулировать рост нервных клеток, а также препятствуют развитию патогенных микроорганизмов [4, 5]. Кобылье молоко значительно отличается по составу от коровьего и несколько ближе по составу к человеческому молоку по содержанию лактозы и соотношению белков, но имеет меньшее количество жиров [6, 7], (табл. 1).

Таблица 1

Средние значения основных компонентов и пищевой ценности кобыльего, человеческого и коровьего молока (данные авторов [6])

Average values of the main components and nutritional value of mare's, human and cow's milk

Компонент	Кобылье молоко	Человеческое молоко	Коровье молоко
Жиры, %	1,21	3,64	3,61
Белки, %	2,14	1,42	3,25
Лактоза, %	6,37	6,70	4,88
Энергетическая ценность, ккал/кг	480	677	674

Высокое содержание лактозы, низкое соотношение казеина и сывороточного белка альбумина определяют свойства готового кумыса. Эти особенности белкового состава обеспечивают отсутствие плотного сгустка во время ферментации [8]. Сывороточные белки кобыльего молока имеют большую пищевую ценность, легко усваиваются организмом, богаты незаменимыми аминокислотами [9, 10]. По сравнению с коровьим молоком, значение рН которого близко к 6,6–6,9 [11–13], кобылье молоко имеет относительно высокий рН (6,9–7,2), что обусловлено низкими концентрациями казеина и фосфата. Кроме того оно отличается большим содержанием витамина С (в 4–8 раз больше, чем в коровьем молоке), при этом количество жирорастворимых витаминов в нем значительно ниже [3].

Стоит отметить, что в различных исследованиях показатели содержания витаминов сильно различаются. Возможно, это связано с тем, что количество витаминов в молоке зависит от месяца лактации, также может иметь значение различный состав исходных кормов [14]. Кобылье молоко содержит биологически значимые элементы: кальций, фосфор, магний, цинк, железо, медь и марганец. Жиры кобыльего молока легче гидролизуются во время приготовления продукта и лучше усваивается благодаря малому размеру жировых глобул (2–3 мкм в кобыльем молоке и 3–5 мкм в коровьем) [6]. Высокое содержание лактозы обеспечивает интенсивные процессы молочнокислого и спиртового брожения, являющихся основой приготовления кумыса.

Традиционный метод приготовления кумыса

Традиционно кобыл начинают доить через 20–30 дней после рождения потомства, в день совершают около шести доек [15]. Кумыс изготавливают непрерывным брожением: ежедневно в уже ферментированное молоко (примерно 10–20% от общего объема) добавляется порция свежего кобыльего молока, и тщательно перемешивается [8, 15]. В течение дня из емкостей изымают кумыс для употребления. Температура строго не поддерживается, брожение происходит примерно при 20–25 °С [15]. Ферментация проводится в прокопченных мешках из лошадиной кожи (сабах) или деревянных емкостях (чиляках), используется микробиота кумыса, изготовленного в прошлый сезон [16]. Раз в 10–15 дней сабу освобождают от кумыса, тщательно промывают и коптят. В Казахстане распространен следующий народный способ изготовления и сохранения закваски. Выдержанный кумыс несколько дней отстаивают в сосуде, при этом продукт разделяется

на две фракции: верхнюю (жидкую и прозрачную) и нижнюю (густую, творожистую). Верхнюю фракцию сливают, а нижнюю процеживают через марлю и высушивают на солнце. Образовавшуюся сухую закваску (кор) хранят в сухом прохладном месте до следующего сезона. Перед использованием кор измельчают в порошок и добавляют в расчете 3–4 столовые ложки на пять литров молока [17]. Таким образом удается поддерживать сложный состав микробиоты продукта, уникальной для каждого региона [18].

В ходе исследования Му и соавт. [19], посвященного идентификации дрожжей в образцах кумыса из разных регионов Китая, было определено, что доминирующие виды могут различаться в разных областях. Так, в двух регионах преобладающим видом являлся *Kluveromyces marxianus*, в образцах из третьего региона доминировали *Saccharomyces cerevisiae* (25,00%) и *Kazachstania unispora* (22,22%). Это повлияло на вкусовые качества и химический состав продукта: образцы с преобладанием *K. marxianus* (дрожжей, способных утилизировать лактозу) содержали большее количество этанола и меньшее количество лактозы, имели более низкую титруемую кислотность [19].

На итоговые характеристики может влиять материал, с которым контактировало молоко во время ферментации. Дрожжи *Dekkera anomala* известны своей способностью принимать участие в порче широкого ряда алкогольных и безалкогольных напитков. Их присутствие часто вызывает неприятный вкус и запах [20]. Древесина является экологической нишей этого вида, образцы кумыса с низким содержанием *D. anomala* были изготовлены в глиняном горшке традиционным способом [21]. Авторы утверждают, что использование посуды, изготовленной не из дерева, может сдерживать чрезмерный рост *D. anomala* [22].

Микробиота кумыса

Недавние исследования показали, что разнообразие микробного состава кумыса очень велико. Основными микроорганизмами, ответственными за процессы ферментации и свойства напитка, являются молочнокислые бактерии, дрожжи, а также бактерии рода *Acetobacter* [23]. В ходе совместного роста они осуществляют комплекс химических реакций, обеспечивающий брожение сырого кобыльего молока и его превращение в готовый кумыс. Существуют данные о том, что в ходе своей жизнедеятельности микроорганизмы не только меняют свою среду обитания, но и влияют на рост и изменение численности друг друга.

Значительную часть дрожжевого разнообразия в кумысе представляют рода, которые используют

лактозу в процессах энергетического обмена, однако дрожжи, не способные утилизировать лактозу, тоже часто встречаются в напитке. Считается, что доминирующими родами дрожжей, находящихся в кисломолочных продуктах, являются *Saccharomyces*, *Kluyveromyces* и *Candida* [15], однако в образцах кумыса было найдены также представители родов *Kazachstania*, *Pichia*, *Torula*, *Dekkera*, *Geotrichum* и некоторых других [19, 25]. Главными продуцентами этанола в кумысе часто являются дрожжи вида *S. cerevisiae* [8].

У лактозосбраживающих дрожжей присутствует фермент β -галактозидаза, гидролизующий лактозу до глюкозы и галактозы. Это позволяет дрожжам более эффективно использовать субстрат, поскольку лактоза — это основной углевод, содержащийся в молоке. β -галактозидаза дрожжей — внутриклеточный фермент субъединичной структуры с молекулярной массой 200–600 кДа, он активен при pH 6,8–7,2 и температуре до 40 °C при оптимуме действия около 30 °C [26]. Фермент незначительно ингибируется при избытке галактозы, однако в большей степени на процесс ингибирования влияет галактоза, добавленная извне, а не образовавшаяся при гидролизе [27]. Работа β -галактозидазы у дрожжей — это один из двух путей ассимиляции лактозы, так называемый «непрямой», при этом фермент расщепляет лактозу на глюкозу и галактозу, и затем сбраживается смесь этих сахаров. Стоит отметить, что дрожжи сбраживают глюкозу эффективнее, чем галактозу. Кроме того, существует второй, «прямой» путь сбраживания лактозы без расщепления ее на мономеры. Дрожжи потребляют из субстрата неорганический фосфор, при реакции с АТФ лактоза фосфорилируется и образуются легкогидролизуемые фосфаты. Таким образом, «прямой» путь сбраживания лактозы идет быстрее, чем ее гидролиз и сбраживание смеси галактозы и глюкозы [28, 29].

Согласно некоторым исследованиям, определенные виды дрожжей рода *Kluyveromyces* являются осмотически чувствительными и их развитие может ингибироваться высокой концентрацией как субстрата (лактозы), так и продукта (этанола), а также повышенным содержанием солей в среде. Ингибирование высокими концентрациями лактозы и этанола наблюдается и у дрожжей рода *Candida*, однако представители *Kluyveromyces* более эффективно относительно других лактозосбраживающих дрожжей перерабатывают лактозу в этанол [30]. На выход этанола во время брожения влияет доступность кислорода. Она должна быть достаточной, чтобы мог происходить синтез мембранных липидов, но при слишком активной

аэрации рост дрожжей резко возрастает, а выделение этанола уменьшается. В анаэробных условиях спиртовое брожение происходит активнее, и, соответственно, увеличивается продукция этанола, высокая концентрация которого ингибирует рост дрожжей. Так, некоторые виды лактозосбраживающих дрожжей требуют тщательного подбора режима аэрации и некоторых других параметров культивирования. Особенностью дрожжей вида *K. marxianus* является их термоустойчивость, некоторые штаммы этого вида способны расти при 52 °C и производить этанол при температуре до 50 °C [31]. Отмечается, что оптимальной температурой для спиртового брожения некоторых штаммов *K. marxianus* является 34 °C [32]. В свою очередь, некоторые виды дрожжей из рода *Candida* демонстрируют активный рост во время инкубации при температуре 5 °C [33].

Штаммы *S. cerevisiae* не имеют механизмов для доставки лактозы в клетку и не способны осуществлять процесс ее брожения [34]. Преимущественно они используют в своем метаболизме глюкозу, однако могут утилизировать и галактозу [35]. Было показано, что оптимальной температурой брожения для некоторых штаммов *S. cerevisiae* является 35 °C [36]. Другим видом, который не сбраживает лактозу и относительно часто встречается в образцах кумыса, является *Kaz. unispora* (табл. 2). Интересно отметить, что тиамин является единственным витамином, который этот вид микроорганизмов должен получать из окружающей среды. Содержание тиамина в молоке может быть одним из ключевых факторов, определяющих представленность *Kaz. unispora* в напитке [40]. Особенностью метаболизма этого вида является возможность ферментировать некоторые моносахариды с образованием янтарной и уксусной кислот [41].

Вышеупомянутое исследование Му и соавт. [19] было посвящено изучению дрожжевой микробиоты кумыса из разных областей Китая. Результаты исследования показали, что во всех пробах в разных соотношениях преобладали виды *S. cerevisiae*, *Kaz. unispora* и *K. marxianus*. Также были выделены и идентифицированы представители рода *Pichia* (*P. deserticola*, *P. manshurica*, *P. fermentans*, *P. membranaefaciens*), *Issatchenkia orientalis* и *D. anomala*. В ходе исследования Guo и соавт. [18] был изучен состав микробного сообщества кумыса, отобранного во Внутренней Монголии. Всего было обнаружено 59 родов дрожжей, наиболее широко представленными родами оказались *Kluyveromyces*, *Saccharomyces*, *Dipodascus*, *Dekkera* и *Kazachstania*. Из перечисленных родов было идентифицировано 57 видов дрожжей, из них

Дрожжевой состав микробиоты кумыса
Yeast composition of the koumiss microbiota

Источник	Идентифицированные дрожжи
[22]	<i>K. marxianus</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>Meyerozyma caribbica</i> , <i>D. anomala</i> , <i>Kaz. unispora</i> , некультивируемые <i>Guehomyces</i> , <i>Pichia spp.</i>
[18]	<i>K. marxianus</i> , <i>Kaz. unispora</i> , <i>D. anomala</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>Trichosporon asahii</i> , <i>P. carneum</i> , <i>P. membranifaciens</i> , <i>C. lusitaniae</i>
[37]	<i>S. cerevisiae</i> , <i>K. marxianus</i>
[38]	<i>Kaz. unispora</i> , <i>K. marxianus</i> , <i>P. membranaefaciens</i> , <i>S. cerevisiae</i>
[19]	<i>S. cerevisiae</i> , <i>Kaz. unispora</i> , <i>K. marxianus</i> , <i>D. anomala</i> , <i>P. deserticola</i> , <i>P. manshurica</i> , <i>P. membranaefaciens</i> , <i>I. orientalis</i> , <i>C. pararugosa</i> , <i>Geotrichum spp.</i>
[39]	<i>K. marxianus</i> , <i>S. cerevisiae</i> , <i>D. anomala</i> , <i>D. bruxellensis</i>

самыми многочисленными оказались *K. marxianus*, *Kaz. unispora*, *D. anomala* и *S. cerevisiae*. Помимо микроорганизмов, необходимых для осуществления ферментации, в пробах были идентифицированы плесневые грибы (рода *Penicillium*, *Aspergillus*, *Cladosporium*) и представители филумов *Basidiomycota* и *Mucoromycota*, что, по мнению авторов, указывает на загрязнение проб и несоблюдение санитарных норм при приготовлении продукта. В табл. 2 перечислены виды дрожжей, обнаруженные в различных образцах кумыса.

Бактериальное сообщество кумыса в основном представлено молочнокислыми бактериями, которые вносят значительный вклад в формировании физико-химических свойств продукта. Они являются факультативными анаэробами, что позволяет этим бактериям выживать в разнообразных условиях обитания. В основном молочнокислые бактерии не обладают каталазной и пероксидазной активностью, однако известно, что некоторые штаммы лактобацилл проявляют каталазную активность и способны к восстановлению нитритов [42]. Главная особенность метаболизма лактобактерий, используемая при изготовлении молочнокислых продуктов, состоит в том, что они способны ферментировать лактозу, являющуюся основным углеводом молока млекопитающих. В ходе жизнедеятельности молочнокислые бактерии выделяют органические кислоты (молочную, уксусную), и устойчивы к нахождению в кислой среде, где не могут выживать менее ацидотолерантные микроорганизмы. Кроме того, для осуществления процессов жизнедеятельности эти бактерии способны использовать не только лактозу и глюкозу, но и многие другие углеводы: арабинозу, трегалозу, маннозу, мальтозу, сахарозу, фруктозу и т.д., причем способность сбраживать то или иное соединение является специфичной для различных штаммов. От вида и штамма микроорганизма

зависит активность закисления среды [43]. Стоит отметить, что бактерии, представляющие микробиоту кумыса, преимущественно являются мезофильными микроорганизмами [23].

Бактериальный состав микробиоты кумыса крайне разнообразен. Он в значительной мере варьирует в зависимости от локализации отбора пробы в силу того, что методы и условия приготовления и хранения могут быть различны [23]. Тем не менее, в большинстве случаев доминирующим и наиболее представленным является род *Lactobacillus* [44]. Эти микроорганизмы играют ключевую роль в процессе ферментации и формировании органолептических свойств продукта, однако довольно часто наряду с ними встречаются представители таких родов как *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* [45]. Главную роль в повышении кислотности среды и ее защите от посторонних микроорганизмов играют представители *Lactobacillus spp.*, поскольку они устойчивы к высокой кислотности среды. Так, для *Lb. acidophilus* оптимальное значение pH равняется 5,5 [46].

Еще одним значительным компонентом микробиоты являются уксуснокислые бактерии (род *Acetobacter*). Особенности их метаболизма при ферментации кобыльего молока мало изучены, но считается, что именно эти бактерии играют роль в формировании типичного кислого привкуса напитка [25]. О роли уксуснокислых бактерий в закваске можно судить, исходя из общей информации об этой группе микроорганизмов. Они являются облигатными аэробами и в процессе метаболизма окисляют этанол до уксусной кислоты. Важно отметить, что уксуснокислые бактерии играют большую роль в созревании кумыса при хранении, поскольку повышают его кислотность, окисляя этанол, который выделяют дрожжи при спиртовом брожении.

В работе Wu и соавт. [47] было исследовано разнообразие лактобацилл в 16 образцах кумыса из Внутренней Монголии. Целью исследования было не только определение видового состава микробного сообщества продукта, но и оценка пробиотических свойств выделенных микроорганизмов, их антибиотической активности, устойчивости к кислой среде и желчи. В результате анализа было выделено 48 штаммов лактобацилл, среди них был всего один штамм (*Lb. fermentum*), для которого характерно гетероферментативное молочнокислое брожение. Некоторые штаммы лактобацилл продемонстрировали рост при pH 3,5, а штаммы *Lb. casei* — при pH 3,0. Более того, представители *Lb. casei* оказались наиболее устойчивыми к желчным кислотам (при их концентрации в среде до 1,5%). Результаты секвенирования 16S рПНК показали, что в исследуемых пробах доминировали штаммы *Lb. casei*, *Lb. helveticus* и *Lb. plantarum*. Важно отметить, что *Lb. helveticus* обладают большей протеолитической активностью по сравнению с другими молочнокислыми бактериями. Это объясняется наличием у них как минимум двух ферментов (PrtH1 и PrtH2), которые обеспечивают гидролиз казеина молока, в то время как большинство лактобактерий обладают только одной протеиназой [48]. Было установлено, что ряд лактобацилл обладает пробиотическими свойствами, наиболее ярко их продемонстрировали штаммы *Lb. casei* Zhang, *Lb. helveticus* ZL12-1 и *Lb. plantarum* BX6-6 [47].

В исследовании Gesudu и соавт. [2] были исследованы пробы кумыса, отобранные в автономной области Внутренняя Монголия на разных стадиях ферментации. В результате удалось идентифицировать 149 видов бактерий из 8 филумов, доминирующим из которых оказался филум *Firmicutes*. Было определено 82 рода, из них большее количество микроорганизмов принадлежало к *Lactobacillus* (53%), *Lactococcus* (21%), *Streptococcus* (11%) и *Acetobacter* (8,3%). Говоря о видовом разнообразии микробного сообщества, стоит отметить, что самыми распространенными видами в данном исследовании были *Lb. helveticus* (56%), *L. lactis* (21%) и *Str. parauberis* (13,1%). Авторы предполагают, что особенности структуры бактериальных сообществ в пробах зависели от условий и географического положения места отбора, так как микроорганизмы в пробах из разных местоположений обнаруживались в разном соотношении. В образцах, отобранных в точке, расположенной далеко от города, была обнаружена наиболее специфичная микробиота. В отличие от остальных образцов в ее составе в большем количестве представлены *A. pasteurianus*,

Lb. hamsteri, *Gluconacetobacter rhaeticus* и *Ent. asini*. Авторы работы объясняют это явление тем, что изготовители данного кумыса придерживаются кочевого образа жизни, вследствие чего процесс приготовления подвергался меньшему контролю и происходил спонтанно. Кроме того, было проведено изучение изменения микробиоты кумыса в ходе ферментации, и обнаружено, что лактобациллы активно размножаются в течение 9 ч после начала ферментации, их количество достигает пика, а затем снижается. Количество представителей *Enterococcus* spp. достигает пика только после 24 ч инкубации. Известно, что энтерококки являются условно-патогенными микроорганизмами, однако по некоторым данным их используют при приготовлении пищи, в том числе сыра. Также энтерококки используются в некоторых пробиотических препаратах, например, заявлено, что пробиотик, состоящий из смеси двух штаммов *Str. thermophilus* и одного штамма *Ent. faecium*, обладает гипохолестеринемическим эффектом [49]. Авторы считают важным при производстве следить за отношением числа молочнокислых бактерий и энтерококков и поддерживать количество последних на низком уровне. В «зрелом» кумысе представители *Enterococcus* представлены не очень обильно, что, вероятно, связано с постепенным снижением pH среды за счет жизнедеятельности лактобацилл [2].

В ходе исследования Нао и соавт. [45] было изучено разнообразие бактерий в составе кумыса (было отобрано 10 образцов из различных мест в китайском автономном регионе Цинхай). Наиболее широко в образцах были представлены лактобациллы (практически во всех пробах были обнаружены *Lb. helveticus*, *Lb. fermentum*, *Lb. kefirifaciens*); было отмечено низкое содержание представителей *Lactococcus* и *Leuconostoc*. В половине проб наблюдалось присутствие *Ent. faecalis*. Кроме того, авторы отметили, что в ходе работы были выделены микроорганизмы, которые ранее не обнаруживались в пробах кумыса из данной местности: *Lb. buchneri*, *Lb. jensenii* и *Lb. kitasatonis*, однако относительно часто встречающийся в кумысе вид лактобацилл *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* обнаружен не был. Более подробно бактериальное разнообразие микробного сообщества напитка представлено в табл. 3.

Химический состав кумыса

Химический состав кумыса сложен и может варьировать в зависимости от состава микробиоты. В среднем в кумысе содержится 90–91% воды и минеральных компонентов, 2–2,5% белков,

Разнообразие микробного состава кумыса

Diversity of microbial composition of koumiss

Источник	Молочнокислые бактерии (рода <i>Lactobacillus</i> , <i>Lactococcus</i> , <i>Streptococcus</i>)	Представители других родов
[24]	<i>Lb. casei</i> , <i>Lb. paracasei</i> , <i>Lb. helveticus</i> , <i>Lb. buchneri</i> , <i>Lb. otakiensis</i> , <i>Lb. kefiranofaciens</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>L. lactis</i> , <i>Str.</i> <i>macedonicus</i> , <i>Str. parauberis</i>	<i>A. pasteurianus</i> , <i>Acetobacter</i> sp., <i>Ruminococcus</i> <i>torques</i> , <i>Escherichia</i> sp., <i>Mycobacterium orygis</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Ent. casseliflavus</i> , <i>Macrocooccus caseolyticus</i> , <i>Ent. faecium</i> , <i>Citrobacter</i> sp.
[50]	<i>Lb. hilgardii</i> , <i>Lb. helveticus</i> , <i>Lb. kefir</i> , <i>Lb. parakefir</i> , <i>Lb. paracasei</i> , <i>Lb. pentosus</i> , <i>Lb. kefiranofaciens</i> subsp. <i>kefirgranum</i> , <i>Lb. acidophilus</i> , <i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Str.</i> <i>thermophilus</i>	<i>A. pasteurianus</i> , <i>Bacillus pumilus</i> , <i>B. safensis</i> , <i>Paenibacillus</i> sp., <i>Exiguobacterium profundum</i> , <i>Kocuria rhizophila</i> , <i>Acinetobacter calcoaceticus</i> <i>Acinetobacter</i> sp., <i>Gluconobacter cerinus</i> , <i>Psychrobacter</i> sp., <i>Ent. hiraе</i> , <i>Clostridium aciduric</i> , <i>Ac. johnsonii</i> , <i>Dickeya</i> sp., <i>Enterobacter</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Raoultella</i> sp., <i>Ruminococcus</i> sp.
[51]	<i>Lb. helveticus</i> , <i>Str. parauberis</i> , <i>Lb. kefir</i> , <i>Lb. acetotolerans</i> , <i>Lb. brevis</i> , <i>Lb. casei</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lc. mesenteroides</i> , <i>L. lactis</i>	<i>A. pasteurianus</i> , <i>Rothia nasimurium</i> , <i>Ac. johnsonii</i>
[2]	<i>Lb. helveticus</i> , <i>L. lactis</i> , <i>Lb. hamsteri</i> , <i>Str.</i> <i>thermophilus</i> , <i>Str. parauberis</i> , <i>L. raffinolactis</i> , <i>L. garvieae</i>	<i>R. nasimurium</i> , <i>A. pasteurianus</i> , <i>Gluconacetobacter</i> <i>rhaeticus</i> , <i>Ent. asini</i> , <i>Ent. camelliae</i> , <i>Kocuria</i> <i>salsicia</i> , <i>Ent. casseliflavus</i> , <i>Ent. durans</i> , <i>Ent.</i> <i>faecalis</i> , <i>Ent. sulfureus</i> , <i>Melissococcus plutonius</i> , <i>Ent. italicus</i> , <i>Kc. rhizophila</i> , <i>A. cibirongensis</i> , <i>Mac.</i> <i>caseolyticus</i> , <i>R. nasimurium</i>
[47] *	<i>Lb. casei</i> , <i>Lb. helveticus</i> , <i>Lb. plantarum</i> , <i>Lb. coryniformis</i> , <i>Lb. paracasei</i> , <i>Lb. kefiranofaciens</i> , <i>L. curvatus</i> , <i>Lb. fermentum</i>	
[22]	<i>L. lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>Lb. helveticus</i> , <i>Lb. kefiranofaciens</i> , <i>Lb. kefir</i> , <i>L. raffinolactis</i> , <i>Lc. mesenteroides</i>	<i>Ct. freundii</i> , <i>A. malorum</i> , <i>A. pasteurianus</i> , <i>A. orientalis</i> .
[18]	<i>L. lactis</i> , <i>Lb. buchneri</i> , <i>Lb. homohiochii</i> , <i>Lb. hilgardii</i> , <i>Lb. helveticus</i> , <i>Lc. mesenteroides</i> , <i>Str. parauberis</i> , <i>Str. thermophilus</i> ,	<i>Ent. italicus</i> , <i>Acetobacter</i> spp., <i>Exiguobacterium</i> sp, <i>Klebsiella</i> sp, <i>Acinetobacter</i> sp., <i>Pseudomonas</i> sp., <i>Enterobacter</i> sp.
[1] *	<i>Lb. salivarius</i> , <i>Lb. buchneri</i> , <i>Lb. plantarum</i>	

Примечание. * Авторы рассматривали только разнообразие лактобацилл в напитке.

Note. The authors considered only the variety of lactobacilli in the beverage.

1–3% жира, 2–4% лактозы, продукты метаболизма бактерий и дрожжей, важнейшими из которых являются молочная кислота (0,7–1,8%), этанол (0,6–2,5%) и углекислый газ (0,5–0,9%) [1]. В другом источнике указано более высокое значение содержания лактозы — 5,5–6,4% [52]. Молочная кислота, этанол и углекислый газ — вещества, в основном ответственные за характерный кисловатый вкус напитка, аромат и вспенивание при встряхивании. Кумыс имеет титруемую кислотность в диапазоне от 0,54% до 1,08% [8]. Содержание лактозы непрерывно снижается во время ферментации и достигает значения $8,20 \pm 1,21$ мг/л [53].

Ферментация молока молочнокислыми бактериями и дрожжами приводит к его обогащению аминокислотами и пептидами. В кумысе было обнаружено 14 аминокислот, шесть из которых

являются незаменимыми (валин, лизин, изолейцин, фенилаланин, триптофан и лейцин) [51]. В работе Liu и соавт. [53] было показано, что в образце содержалось 17 аминокислот, содержание которых варьировалось от $2,40 \pm 0,11$ мкг/100 г (метионин) до $39,64 \pm 0,01$ мкг/100 г (глутаминовая кислота). Аминокислоты не отвечают за выраженный вкус и аромат ферментированного продукта, но могут выступать как предшественники карбонильных соединений [54].

Важным компонентом молочных ферментированных продуктов являются органические кислоты. Концентрации некоторых из них (например, молочной и уксусной) увеличиваются за время ферментации молока, в то время как концентрация лимонной кислоты снижается [22, 55]. В одной из работ было показано, что в исследуемых

Классификация кумыса в зависимости от степени ферментации (По [16])**Classification of koumiss based on extent of fermentation**

Тип кумыса	Содержание молочной кислоты, мл/100 мл	Количество этанола, г/100 мл
Мягкий/кисло-сладкий	0,54–0,72	0,63–1,0
Средний/кислый	0,73–0,90	1,1–1,8
Крепкий/очень кислый	0,91–1,08	1,8–3,0

образцах кумыса встречались молочная, уксусная, винная, яблочная, щавелевая, лимонная и янтарная кислоты с преобладанием первых четырех. Общее содержание органических кислот составило 6,54 г/л [22]. Следует понимать, что содержание кислот и их представленность достаточно сильно варьирует в разных образцах. Это возможно из-за различий в качестве исходного молока, используемых микроорганизмов и условий приготовления кумыса [19]. В упомянутом выше исследовании Tang и соавт. [22] преобладающей кислотой являлась уксусная (27,3% от общего количества кислот), молочная кислота составляла 21,7%. Именно молочная кислота часто имеет самую высокую концентрацию и является определяющим фактором низкого pH продукта [51, 53]. Содержание молочной кислоты в кобыльем молоке невелико — $1,30 \pm 0,01$ мг/л, оно сильно увеличивается в процессе ферментации [53]. В ходе исследования, посвященного изменению концентраций метаболитов во время приготовления кумыса, были получены следующие результаты. Преобладающими кислотами являлись молочная ($1,619 \pm 0,027$ г на 100 г), масляная ($0,947 \pm 0,024$ г на 100 г) и уксусная ($0,369 \pm 0,006$ г на 100 г) [51]. Более низкое значение содержания молочной кислоты в кумысе было указано в другой работе — $52,04 \pm 0,80$ мг/л [53]. Авторы исследования [52] определили следующие значения не преобладающих кислот: 0,068 мг/г пировиноградной кислоты, 0,91 мг/г лимонной кислоты, 0,95 мг/г уксусной кислоты и 0,007 мг/г мочевиной кислоты.

В кумысе обнаружены полиненасыщенные жирные кислоты: линолевая, α -линоленовая, γ -линоленовая, докозагексаеновая и эйкозапентаеновая [51]. Другим важным параметром, который учитывается при оценке питательных свойств кумыса, является количество содержащихся в нем витаминов. В литературе представлены следующие данные о содержании витаминов в выдержанном кумысе: $95,54 \pm 4,30$ мкг/100 г витамина E, $4,14 \pm 0,14$ мкг/100 г витамина B₁, $5,06 \pm 0,05$ мкг/100 г витамина B₂ [53]; 0,009 мг/100 г витамина B₁, 0,100 мг/100 г витамина

B₂, 1,760 мг/100 г витамина C и 0,019 мг/100 г витамина E [56]. Отмечается, что содержание витаминов A, C, E, B₁, B₂, B₁₂, пантотеновой кислоты и бактериоцинов обычно увеличивается в кумысе по сравнению с кобыльим молоком [54].

В зависимости от содержания молочной кислоты выделяют три типа кумыса: «крепкий», «средний» и «мягкий». «Крепкий» кумыс имеет pH 3,3–3,6, за его производство в основном ответственны молочнокислые бактерии *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lb. rhamnosus*. «Средний» кумыс имеет значение pH 3,9–4,5, он богат бактериями *Lb. acidophilus*, *Lb. plantarum*, *Lb. casei*, *Lb. fermentum*. Считается, что такой кумыс имеет оптимальный вкус и аромат. «Мягкий» кумыс имеет самый высокий pH — 4,5–5,0, ферментируется в большей мере *Str. thermophilus* и *L. lactis* subsp. *cremoris* [1]. Другой важной характеристикой является содержание этанола в напитке. Кумыс можно поделить на те же три категории, учитывая большее количество параметров (интенсивность аромата, содержание этанола и уровень кислотности) (табл. 4). Однако зависимость между составом микробиоты кумыса и его pH может не вписываться в рамки этой классификации [50].

Формирование запаха и вкуса кисломолочного продукта

Определение метаболитов, которые обеспечивают запах кумыса, является сложным и перспективным направлением для исследований. На данный момент представлено малое количество работ, которые объясняют ароматику кумыса, но тема образования соединений, определяющих аромат продукта и выделяющихся в результате жизнедеятельности молочнокислых микроорганизмов, достаточно хорошо освещена, некоторые ее аспекты представлены ниже. Формирование запаха — сложный процесс, включающий в себя два подпроцесса: генерацию молекул-предшественников и их превращение в ароматные соединения [57]. С помощью ферментативных комплексов молочнокислые бактерии используют аминокислоты для синтеза белков, в качестве источника энергии, для регуляции внутреннего pH в кислой

окружающей среде, для регенерации косубстратов и синтеза некоторых соединений.

Синтез летучих соединений может происходить в процессе ферментативной деградации разветвленных аминокислот, метионина и ароматических аминокислот [58]. Примерами таких соединений могут служить альдегиды, органические кислоты и сложные эфиры, которые образуются в результате трансaminaзного пути (этот метаболический путь инициируется трансaminaзой, которая катализирует превращение аминокислот в соответствующие им α -кетокислоты). Было показано, что *Lb. delbrueckii* subsp. *lactis*, *Lb. helveticus* и *Str. thermophilus* продуцировали ароматные соединения из лейцина, фенилаланина и метионина [59]. Обобщая, можно сказать, что внутриклеточный катаболизм аминокислот ведет к образованию широкого спектра летучих соединений, их представленность зависит от присутствия и активности ферментов, обеспечивающих метаболические пути (таких как, например, трансaminaзный и лизазный), и неферментативных превращений [60]. Так, например, в ходе ферментативных реакций из валина молочнокислые бактерии, используемые в производстве сыра, могут образовывать вещества, обладающие запахом: α -кетоиоизовалериановую кислоту, из которой с помощью декарбоксилазы образуется 2-метилпропаналь, а под действием дегидрогеназы — 2-метилпропановая кислота; с помощью дегидрогеназы образовавшийся альдегид может превратиться в 2-метилпропанол, который, в свою очередь, под действием эстеразы преобразуется в этиловый эфир изобутановой кислоты. Эта и аналогичные схемы преобразований для некоторых других аминокислот представлены в работе [57].

В процесс образования запаха вносят вклад лизированные клетки, так как лизис приводит к высвобождению ферментов, многие из которых сохраняют активность и продолжают преобразовывать субстраты (белки, олигопептиды, липиды и жирные кислоты) [57]. Одной из причин лизиса молочнокислых бактерий является действие на клетки пептидогликан гидролаз [61]. Пептидазы, высвобождаемые при лизисе бактерий, могут влиять на вкус, уменьшая число горьких пептидов [62]. Гидролиз пептидов косвенно влияет на аромат, так как при этом увеличивается число свободных аминокислот. Также вклад в образование запаха вносит разрушение жиров и липидов. Свободные жирные кислоты могут преобразовываться во вторичные спирты, органические кислоты и лактоны [63]. Авторы одной из работ отмечают, что одним из важнейших источников аромата выступают короткоцепочечные карбоновые кислоты, которые образуются в процессе

углеводного обмена, липолиза и метаболизма аминокислот [64].

Одним из существенных факторов образования запаха является метаболизм цитрата. В ходе этого процесса происходит обогащение продукта диацетилом, ацетоином, бутандиолом и ацетальдегидом [57]. Утилизировать цитрат способны бактерии *L. lactis* и *Lc. mesenteroides*, которые встречаются в кумысе [65]. Важным предшественником летучих соединений (в том числе ацетальдегида) является треонин, который присутствует в кобыльем молоке [11, 57]. В преобразовании этой аминокислоты активное участие могут принимать бактерии *Str. thermophilus* [66].

Работа Tang и соавт. [22] посвящена исследованию микробиоты кумыса и влиянию органических кислот на его вкус. Авторы отметили, что лимонная, яблочная и янтарная кислоты способствуют образованию кислого и горького вкусов. Было показано, что присутствие *Lb. helveticus* и *D. anomala* в напитке ассоциировано с его кислотой, терпкостью, горечью и послевкусием, а присутствие *L. lactis* и *Kaz. unispora* — со вкусом умами («пятый» вкус, который выделяется как самостоятельный, вкус высокобелковых веществ).

Профилактические свойства кумыса

Кумыс может широко применяться в лечебных целях: он традиционно используется при лечении заболеваний желудочно-кишечного тракта, сердечно-сосудистой, дыхательной и мочевыделительной систем. Также его рекомендуют употреблять людям, страдающим от депрессии, бессонницы и некоторых других заболеваний. Кумыс советуют включать в диету людей, восстанавливающихся после лечения, и беременных женщин [3]. С 19 века и до распада СССР на территории России были распространены кумысолечебные санатории [67]. В прошлые столетия кумыс использовали для лечения туберкулезных больных [25]. Благоприятно на здоровье человека способны влиять микроорганизмы, содержащиеся в продукте, метаболиты этих микроорганизмов (в том числе антибиотики и бактериоцины) и продукты разложения сырья, используемого для ферментации, такие как пептиды и органические кислоты [54]. Кумыс богат полиненасыщенными жирными кислотами, которые обладают многими полезными свойствами. Они способствуют улучшению кровообращения, полезны для профилактики сердечно-сосудистых заболеваний, имеют иммуномодулирующий эффект [68].

В одной из работ было показано, что 16 выделенных из кумыса штаммов лактобацилл проявляли ингибирующую активность по отношению

к ангиотензинпревращающему ферменту (АПФ), два штамма продуцировали γ -аминомасляную кислоту (ГАМК). Эти вещества играют важную роль в регуляции кровяного давления: ингибиторы АПФ и ГАМК обладают антигипертензивным действием [69]. В исследовании, посвященном производству ГАМК лактобактериями, участвующими в ферментации традиционного альпийского сыра, было показано, что наибольшее количество ГАМК способны производить штаммы *Str. thermophilus* ($80,0 \pm 2,7$ мг/кг), *Lb. paracasei* ($14,8 \pm 5,3$ мг/кг), *L. lactis* subsp. *cremoris* ($9,0 \pm 0,21$ мг/кг), *Lb. plantarum* ($5,2 \pm 0,56$ мг/кг), *Lb. rhamnosus* ($11,3 \pm 0,72$ мг/кг) и некоторые другие виды [70]. Эти бактерии также часто встречаются в кумысе.

Согласно исследованию авторов [71], бактерии *Lb. casei* штамм *Zhang*, обнаруженные в домашнем кумысе из Внутренней Монголии, обладают значительным пробиотическим потенциалом. В другом исследовании было показано, что четыре исследуемых штамма *Lb. casei* обладали пробиотическими свойствами и оказывали благотворное влияние на организм. Они сохраняли высокую жизнеспособность в растворе, имитирующем желудочный сок, обладали хорошей способностью к адгезии, что является необходимым условием для образования колоний на эпителии кишечника и обеспечивали снижение уровня холестерина в крови. Авторы наблюдали постепенное увеличение α - и β -галактозидазной активности в образцах фекалий крыс после кормления их ферментированным молоком. Вероятно, это связано с увеличением количества лактобацилл в фекалиях, что считается важным качеством пробиотических бактерий, так как таким образом улучшается переваривание лактозы в кишечнике и компенсируется лактазная недостаточность [72, 73].

Присутствующие в кумысе *Lb. plantarum* производили бактериоцин, подавляющий рост *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* и *Staphylococcus aureus* [74]. Три штамма *S. cerevisiae* и два штамма *K. marxianus*, выделенных из кумыса, проявляли антибактериальное действие по отношению к патогенному штамму *E. coli* [37]. Аналогичные данные были получены в ходе другого исследования, в котором выделенные из кумыса *S. cerevisiae*, продуцировали соединения, подавляющие рост патогенного штамма *E. coli* O₈ [75].

Промышленное производство кумыса

В связи с ограниченной доступностью кобыльего молока для производства кумыса может использоваться адаптированное коровье молоко. Ему необходимо обеспечить такие особенности

кобыльего молока как низкое содержание жиров, высокое содержание лактозы и низкое соотношение казеина и сывороточного белка. Преодолеть разницу в составе можно различными методами. Один из них предполагает разбавление обезжиренного коровьего молока водой для уменьшения содержания казеина и добавление сыворотки или концентрата сывороточного белка. Для увеличения уровня углеводов в молоко добавляются глюкоза, сахароза или лактоза (гидролизованная β -D-галактозидазой) до содержания 6,7 г/л [8]. Добавление сахаров стимулирует рост дрожжей *S. cerevisiae*, которые часто являются важной составляющей микробиоты кумыса [16]. Иногда для обеспечения схожего витаминного состава в коровье молоко добавляется аскорбиновая кислота [76]. Некоторые другие способы модификации коровьего молока представлены в работе Tamime и соавт. [77]. Более современный подход заключается в использовании мембранных технологий, подробно этот метод описан в работе [76]. Обезжиренное пастеризованное коровье молоко проходило процессы ультрафильтрации, микрофильтрации и нанофильтрации. Адаптированное таким образом коровье молоко было очень близко по составу к кобыльему и успешно использовалось для изготовления кумыса.

В литературе представлено несколько различных способов промышленного производства кумыса. Для производства напитка может использоваться натуральная закваска или закваска, содержащая отдельные штаммы микроорганизмов [78]. Для создания одного из вариантов закваски дрожжи *Candida* spp. и смесь лактобактерий отдельно помещают в пастеризованное обезжиренное коровье молоко и инкубируют при 30 °С в течение 15 ч и при 37 °С в течение 7 ч соответственно. После этого культуры добавляют в кобылье молоко и инкубируют при температуре 28 °С в течение четырех дней. Возможно использование чистых культур *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lb. acidophilus*, *K. lactis* [8, 52]. Ферментация кобыльего молока может происходить при различных температурных режимах и разной интенсивности перемешивания в зависимости от начальных условий. Например, ферментация может длиться 2–3 ч при температуре 25–26 °С. Иногда процесс ферментации продолжается до достижения напитком определенного pH [8, 16, 52, 78].

Интересная схема изготовления кумыса представлена в работе [17]. В нагретое до 31–35 °С кобылье молоко вносится закваска, имеющая кислотность около 140–150 °Т (градус Тернера — единица измерения титруемой кислотности молока и кисломолочных продуктов, за один

Основные характеристики кумыса в соответствии с ГОСТ Р 52974–2008

The main characteristics of koumiss in accordance with GOST R 52974-2008

Показатель	Характеристика/значение
Внешний вид	Непрозрачная жидкость
Вкус и запах	Чистый кисломолочный, слегка острый вкус, специфический для кумыса, без посторонних привкусов и запахов. Допускается дрожжевой вкус
Консистенция	Жидкая, однородная, газированная слегка пенящаяся, без хлопьев и сбившихся комочков жира
Цвет	Молочно-белый, равномерный по всей массе
Кислотность, °Т, не более	80
Массовая доля жира, %, не менее	1,0
Массовая доля белка, %, не менее	2,0
Температура при выпуске с предприятия, °С	4±2

градус Тернера принимают 1 мл 0,1 н. раствора NaOH, израсходованного на нейтрализацию кислот в 100 мл или 100 г продукта) таким образом, чтобы смесь имела кислотность 45 °Т и температуру 25–26 °С. Во время внесения закваски молоко непрерывно перемешивают. Когда через 2–3 ч кислотность продукта достигает 50–55 °Т и по вкусу он приближается к готовому кумысу, молоко повторно перемешивают в течение 30–60 мин. Кумыс разливают по бутылкам, закупоривают пробкой и оставляют для насыщения его углекислым газом. В этой работе также рассматриваются общие характеристики двух разных методов ферментации кумыса: длительное и кратковременное брожение. Первый предполагает брожение при температуре 26–27 °С в течение 7–12 ч с периодическим добавлением порций кобыльего молока каждые 2–3 ч. Далее молоко ферментируется 8–10 ч при температуре 18–22 °С. Изготовленный таким способом кумыс имеет сильно выраженный вкус и аромат, титруемую кислотность 125–145 °Т и содержание этанола около 2%. Второй способ предполагает кратковременное брожение смеси с высокой начальной кислотностью (65–70 °Т) в течение 1–1,5 ч, 40 мин из которых молоко перемешивают. После розлива и упаковки кумыс ферментируется при температуре 10–12 °С в течение 17–24 ч. Полученный этим методом кумыс является более газированным, величина титруемой кислотности достигает до 110 °Т, содержание этанола — 1,5–1,8%. Метод кратковременного брожения является более подходящим для крупного производства, так как он позволяет получить продукт с оптимальной титруемой кислотностью [15].

На данный момент в России производство кумыса регламентировано ГОСТ Р 52974–2008.

Кумыс определяется как кисломолочной продукт, изготовленный путем смешанного (молочнокислого и спиртового) брожения и сквашивания кобыльего молока болгарской и ацидофильной молочнокислыми палочками и дрожжами. Основные характеристики напитка, изложенные в этом документе, приведены в табл. 5.

В качестве сырья для изготовления кумыса указано сырое кобылье молоко (по ГОСТ 52973–2008) и закваска, приготовленная из чистых культур *Lb. bulgaricus* штамм *Fn* (по современной систематике *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*), *Lb. acidophilus* штамм *In₃* и дрожжей *S. lactis* штамм *Sk* (современное название *K. lactis*). К концу срока годности количество молочнокислых микроорганизмов в кумысе должно быть не менее $1 \cdot 10^7$ КОЕ/см³, дрожжей — не менее $1 \cdot 10^5$ КОЕ/см³. Срок годности продукта составляет не более пяти дней, хранение должно осуществляться при температуре 4±2 °С. Такой короткий срок хранения может являться одним из препятствий для массовой продажи напитка.

Изготовление кумыса в лабораторных условиях, разработка закваски

Вкус промышленно произведенного кумыса существенно уступает вкусу кумыса, изготовленного традиционным способом. Это связано с крайне ограниченным количеством культур, используемых при его производстве [22]. Разработка более совершенной закваски и подходящих условий ферментации является перспективным направлением для исследований. Так, в одной из работ рассматривались два возможных способа производства: классический, с использованием готового продукта и содержащихся в нем микроорганизмов в качестве закваски,

и вариант, предполагающий двухступенчатую ферментацию [79]. Следует отметить, что классический способ имеет существенный недостаток: после ряда последовательных ферментаций уменьшается число ключевых видов микроорганизмов в напитке. Это может привести к изменению вкуса продукта и его физико-химических характеристик. Для двухступенчатой ферментации использовались следующие микроорганизмы: *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Lb. casei*, *Str. thermophilus*, *L. lactis* subsp. *cremoris*, *L. lactis* subsp. *lactis*, *K. lactis* и *A. aceti*. На первом этапе к кобыльему молоку добавляли смесь из пяти лактобактерий и *A. aceti*, во время второй стадии ферментированное молоко инокулировали дрожжами *K. lactis*, готовый продукт имел рН $3,9 \pm 0,1$.

Как было отмечено выше, вкус кумыса во многом определяется содержащимися в нем микроорганизмами и продуктами их метаболизма. Для разработки коммерческой закваски и подбора условий контролируемой ферментации важно выявить корреляции между химическим составом кумыса, его вкусом и составом микробиоты. Было показано, что представленность некоторых видов коррелирует со вкусом продукта. Так, авторы утверждают, что для того, чтобы избежать чрезмерной горечи и кислого вкуса кумыса, следует не допускать большого количества *Lb. helveticus* и *D. anomala* в закваске. *L. lactis* и *Kaz. unispora*, наоборот, способны улучшить вкус напитка [22]. Однако стоит отметить, что в одном исследовании *Lb. helveticus* указан как преобладающий вид, обеспечивающий важные особенности кумыса [24], в другом вообще не был обнаружен в образцах [50], т. е. роль этого вида в ферментации кумыса довольно неоднозначна.

Целью работы Ringø и соавт. [50] было определение новых штаммов микроорганизмов в образцах кумыса из Казахстана и создание закваски. Авторы протестировали 20 комбинаций молочнокислых бактерий и дрожжей. Было отмечено, что *L. lactis* subsp. *lactis* уступает по количеству продуцируемых кислот *Lb. acidophilus* и *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, но при совместном культивировании этих организмов кислотность в значительной степени повышается. Выбор лучшей закваски проводили в соответствии со вкусом получившегося кумыса, самая удачная комбинация включала в себя следующие микроорганизмы: *L. lactis* subsp. *lactis* штамм 31/11 (10%), *Lb. acidophilus* штамм 74/17 (10%), *Torulopsis sphaerica* штамм 117k (5%). Кумыс готовили из стерилизованного кобыльего молока, культуры микроорганизмов выращивали отдельно, затем смешивали для получения закваски. Молоко ферментировали в течение 20 ч, кумыс,

изготовленный с помощью этой закваски, имел титруемую кислотность 110 °Т, рН — 4,0. Содержание углеводов в кумысе составило 3%, этанола — 2,6%. Напиток имел освежающий острый вкус, гомогенную консистенцию.

Взаимодействия микроорганизмов в кумысе, ассоциативный рост бактерий и дрожжей

Изучение темы ассоциативного роста микроорганизмов важно для понимания процесса ферментации кумыса. Создание смешанных заквасок является очень сложным процессом, так как необходимо учесть потребности в питательных веществах всех микроорганизмов, разные темпы их роста, подобрать оптимальные условия. Между некоторыми организмами возможны как кооперативные, так и антагонистические отношения [80]. В ферментации традиционного кумыса принимает участие большое число бактерий и дрожжей, ситуацию осложняет тот факт, что состав микробиоты сильно варьируется в разных образцах.

Рассмотрим некоторые особенности углеводного метаболизма лактобактерий и возможные взаимоотношения между ними. Было показано, что одновременное использование в закваске двух встречающихся в кумысе видов *L. lactis* subsp. *lactis* и *L. raffinolactis* стимулирует активное производство уксусной кислоты. Возможной причиной является то, что взаимоотношение этих бактерий является примером комменсализма, штаммы *L. raffinolactis* способны метаболизировать α -галактозиды, что недоступно штаммам *L. lactis* [81]. Хорошо изученным примером мутуализма является взаимоотношения между *Str. thermophilus* и *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, которые участвуют в ферментации йогурта [82, 83]. Интересной особенностью является то, что при совместном культивировании этих двух видов наблюдается более активный синтез диметилсульфида, вещества с сильным запахом [84]. Между некоторыми видами наблюдаются конкурентные взаимоотношения, например, было показано, что *Lb. helveticus* ферментирует глюкозу и галактозу в составе молекулы лактозы, в то время как *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. lactis*, *Lb. acidophilus* выделяют галактозу в среду. Способность *Lb. helveticus* метаболизировать галактозу является важным отличием этого вида от многих лактобактерий [22, 85]. Также *Str. thermophilus* ферментирует только глюкозную часть лактозы, что приводит к накоплению в продукте галактозы, которую могут использовать другие микроорганизмы [86]. Можно отметить следующую закономерность: часто в образцах кумыса лактобациллы представлены более широко, чем лактококки.

Объяснением этому может служить тот факт, что лактобациллы, как правило, имеют более высокую кислотоустойчивость [39].

Особое внимание следует обращать на возможность взаимоотношений между бактериями и дрожжами, которые опосредованы протеолитической и липолитической активностью и особенностями углеводного обмена микроорганизмов. Образовавшийся в ходе жизнедеятельности лактобактерий избыток галактозы могут использовать лактозонегативные, но способные утилизировать галактозу дрожжи, например, *Kaz. unispora* и *S. cerevisiae* [87]. Кроме того, было показано, что некоторые штаммы *S. cerevisiae*, участвующие в спонтанной ферментации молока, подавляют эффект катаболической репрессии, индуцированной глюкозой. Они предпочитают галактозу глюкозе, но могут использовать оба этих сахара [88]. Еще одной причиной роста *S. cerevisiae* может являться их возможность метаболизировать молочную кислоту [89]. Дрожжи стимулируют рост лактобактерий путем выделения в среду витаминов, аминокислот и небольших пептидов во время роста и автолиза [90, 91, 92]. Например, дрожжи рода *Candida* способны секретировать витамины и аминокислоты, которые стимулируют рост бактерий. Кроме того, эти дрожжи способны метаболизировать молочную кислоту, выделяемую бактериями, в результате чего рН может повыситься от 5,0 до 5,7, что способствует росту вторичной микробиоты, чувствительной к рН [19, 33].

Другим примером позитивных взаимоотношений между лактобактериями и дрожжами может служить более интенсивный рост бактерий при совместном культивировании *Lb. paracasei* subsp. *paracasei* Lb11 и *C. kefir* 23 (анаморфа *K. marxianus*).

В присутствии дрожжей возрос уровень 2-метил-1-пропанола и 3-метил-1-бутанола, вырабатываемых *L. lactis* subsp. *lactis* Lc39, т.е. при совместном культивировании восстановление альдегидов до спиртов происходит быстрее. Также при совместном культивировании лактобактерий и *C. kefir* возросло количество вырабатываемого ацетальдегида. Он образуется в результате спиртового брожения дрожжей и синтезируется лактобактериями из треонина. Возможно, дрожжи секретировали в молоко треонин, что отчасти способствовало производству ацетальдегида [88].

Однако возможны и негативные взаимоотношения между дрожжами и лактобактериями. Например, лактобактерии могут отрицательно влиять на удельную скорость роста дрожжей *S. cerevisiae*, что было показано в работе [93]. Возможной причиной авторы считают резкое снижение рН,

вызванное выделением в среду метаболитов молочнокислых бактерий — молочной и уксусной кислот. Рост дрожжей ингибируется и некоторыми другими соединениями, которые продуцируют молочнокислые бактерии (фениллактат, 4-гидроксифениллактат, циклические пептиды). Развитие молочнокислых бактерий может частично подавляться жирными кислотами — продуктами липолитической активности дрожжей [43].

Численность одних микроорганизмов может быть связана с присутствием других. Были выявлены корреляции между представленностью в кумысе следующих организмов: бактерии *Lb. helveticus* положительно коррелировали с дрожжами *D. anomala*, *L. lactis* положительно коррелировали с *Kaz. unispora*, отрицательно — с *D. anomala* и некультивируемыми *Guehomyces*. Однако объяснить полученные данные представляется очень сложной задачей, не было определено, являются ли эти корреляции прямыми или косвенными [54].

Кумыс отличается от других кисломолочных продуктов большим разнообразием микробиоты и более варибельным химическим составом. Исследование его микробного разнообразия является перспективным с точки зрения поиска новых штаммов микроорганизмов. Текущий регламент производства кумыса не позволяет в значительных объемах получить воспроизводимый продукт со свойствами, близкими к традиционно изготовленному кумысу, поэтому изучение его микробного сообщества является крайне актуальной задачей. Кроме того, для формирования стабильных ассоциаций микроорганизмов при производстве необходимо понимание явления ассоциативного роста микроорганизмов в кумысе. В дальнейшем результаты исследований, посвященных этой тематике, могут быть применены для создания закваски прямого внесения, пригодной для промышленного производства.

ЛИТЕРАТУРА

1. Danova S., Petrov K., Pavlov P., Petrova P. Isolation and characterization of *Lactobacillus* strains involved in koumiss fermentation. *Int. J. Dairy Technol.*, 2005, 58(2), 100–105. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2005.00194.x>
2. Gesudu Q., Zheng Y., Xi X., et al. Investigating bacterial population structure and dynamics in traditional koumiss from Inner Mongolia using single molecule real-time sequencing. *J. Dairy Sci.*, 2016, 99(10), 7852–7863. doi: 10.3168/jds.2016-11167
3. Jastrzębska E., Wadas E., Daszkiewicz T., Pietrzak-Fiećko R. Nutritional value and health-promoting properties of mare's milk — a review. *Czech. J. Anim. Sci.*, 2017, 62(12), 511–518. doi: 10.17221/61/2016-CJAS

4. Csapo J., Stefler, J., Martin T.G., et al. Composition of mares' colostrum and milk. Fat content, fatty acid composition and vitamin content. *Int. Dairy J.*, 1995, 5(4), 393–402. [https://doi.org/10.1016/0958-6946\(94\)00008-D](https://doi.org/10.1016/0958-6946(94)00008-D)
5. O'Shea E.F., Cotter P.D., Stanton C., et al. Production of bioactive substances by intestinal bacteria as a basis for explaining probiotic mechanisms: bacteriocins and conjugated linoleic acid. *Int. J. Food Microbiol.*, 2012, 152(3), 189–205. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.05.025>
6. Malacarne M., Martuzzi F., Summer A., Mariani. Protein and fat composition of mare's milk: some nutritional remarks with reference to human and cow's milk. *Int. Dairy J.*, 2002, 12(11), 869–877. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(02\)00120-6](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(02)00120-6)
7. Marconi E., Panfili G. Chemical composition and nutritional properties of commercial products of mare milk powder. *J. Food Compos. Anal.*, 1998, 11(2), 178–187. <https://doi.org/10.1006/jfca.1998.0573>
8. Singh P.K., Shah N.P. Other fermented dairy products: Kefir and koumiss. *Yogurt in Health and Disease Prevention.: Academic Press*, 2017, 87–106.
9. Luhovyy B.L., Akhavan T., Anderson G.H. Whey proteins in the regulation of food intake and satiety. *J. Am. Coll. Nutr.*, 2007, 26(6), 704S–712S. <https://doi.org/10.1080/07315724.2007.10719651>
10. Hoffman J. R., Falvo M.J. Protein—which is best? *J. Sports Sci. Med.*, 2004, 3(3), 118–130.
11. Di Cagno R., Tamborrino A., Gallo G., et al. Uses of mares' milk in manufacture of fermented milks. *Int. Dairy J.*, 2004, 14(9), 767–775. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.02.005>
12. Mahmood A., Usman S. A comparative study on the physicochemical parameters of milk samples collected from buffalo, cow, goat and sheep of Gujrat, Pakistan. *Pak. J. Nutr.*, 2010, 9(12), 1192–1197. doi: 10.3923/pjn.2010.1192.1197
13. Hajirostamloo B., Mahastie P. Comparison of nutritional and chemical parameters of soymilk and cow milk. *World Acad. Eng. Technol.*, 2009, 57(9), 436–438.
14. Navrátilová P., Borkovcová I., Kaniová L., et al. The content of selected vitamins and iodine in mare's milk. *Acta Vet. Brno.*, 2020, 88(4), 473–480. <https://doi.org/10.2754/avb201988040473>
15. Montanari G., Zambonelli C., Grazia L., et al. *Saccharomyces unisporus* as the principal alcoholic fermentation microorganism of traditional koumiss. *J. Dairy Res.*, 1996, 63(2), 327–331. doi: <https://doi.org/10.1017/S0022029900031836>
16. Wszolek M., Kupiec-Teahan B., Skov Guldager H., Tamime A.Y. Production of kefir, koumiss and other related products. *Fermented milks.: Blackwell Publishing Ltd*, 2006, 174–216.
17. Алексеева Н. В., Минеев Е. В. К вопросу по технологии производства кумыса. Бюллетень науки и практики, 2017, 10, 138–144. doi:10.5281/zenodo.1012273
18. Guo L., Ya M., Guo Y.-S., et al. Study of bacterial and fungal community structures in traditional koumiss from Inner Mongolia. *J. Dairy Sci.*, 2019, 102(3), 1972–1984. <https://doi.org/10.3168/jds.2018-15155>
19. Mu Z., Yang X.J., Yuan H., et al. Detection and identification of wild yeast in Koumiss. *Food Microbiol.*, 2012, 31(2), 301–308. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.04.004>
20. Gray S.R., Rawsthorne H., Dirks B., Phister T.G. Detection and enumeration of *Dekkera anomala* in beer, cola, and cider using real-time PCR. *Lett. Appl. Microbiol.*, 2011, 52(4), 352–359. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2011.03008.x>
21. Fadda M.E., Cosentino, S., Deplano M., Palmas F. Yeast populations in Sardinian feta cheese. *Int. J. Food Microbiol.*, 2001, 69(1-2), 153–156. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(01\)00586-4](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(01)00586-4)
22. Tang H, Ma H., Hou Q., et al. Profiling of koumiss microbiota and organic acids and their effects on koumiss taste. *BMC Microbiol.*, 2020, 20(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/s12866-020-01773-z>
23. Sun Z., Liu W., Gao W., et al. Identification and characterization of the dominant lactobacilli isolated from koumiss in China. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 2010, 56(3), 257–265. <https://doi.org/10.2323/jgam.56.257>
24. Yao G., Yu J., Hou Q., et al. A perspective study of koumiss microbiome by metagenomics analysis based on single-cell amplification technique. *Front. Microbiol.*, 2017, 8, 165–176. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.00165>
25. Hui Y.H., Özgül Evranuz E. Handbook of Animal-Based Fermented Food and Beverage Technology 2nd Edition. CRC Press, 2018, 814 p.
26. Скрипнюк А.А., Рябцева С.А. Современные методы получения β-галактозидаз. *Наука, инновации, технологии*, 2014, 3, 197–204.
27. Itoh T., Suzuki M., Adachi S. Production and characterization of β-galactosidase from lactose-fermenting yeasts. *Agr Biol Chem.*, 1982, 46(4), 899–904. <https://doi.org/10.1080/00021369.1982.10865183>
28. Rogosa M. Mechanism of the fermentation of lactose by yeasts. *J. Biol. Chem.*, 1948, 175(1), 413–425.
29. Скородумова А.М. Дрожжи молока и молочных продуктов и их производственное значение.: М.:Пищевая промышленность, 1969. 63 с.
30. Izaguirre M. E., Castillo F.J. Selection of lactose-fermenting yeast for ethanol production from whey. *Biotechnol. Lett.*, 1982, 4(4), 257–262. <https://doi.org/10.1007/BF00132397>
31. Banat I.M., Nigam P., Marchant R. Isolation of thermotolerant, fermentative yeasts growing at 52 °C and producing ethanol at 45 °C and 50 °C. *World J. Microbiol. Biotechnol.*, 1992, 8(3), 259–263. <https://doi.org/10.1007/BF01201874>
32. Grba S., Stehlik-Tomas V., Stanzer D., et al. Selection of yeast strain *Kluyveromyces marxianus* for alcohol and

- biomass production on whey. *Chem Biochem Eng Q.*, 2002, 16(1), 13–16.
33. Fleet G.H. Yeasts in dairy products. *J. Appl. Bacteriol.*, 1990, 68(3), 199–211. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.1990.tb02566.x>
 34. Walker G.M. Yeast physiology and biotechnology. John Wiley & Sons, 1998, 362 p.
 35. Nehlin J.O., Carlberg M., Ronne H. Yeast galactose permease is related to yeast and mammalian glucose transporters. *Gene.*, 1989, 85(2), 313–319. [https://doi.org/10.1016/0378-1119\(89\)90423-X](https://doi.org/10.1016/0378-1119(89)90423-X)
 36. Slaa J., Gnode M., Else H. Yeast and fermentation: the optimal temperature. *J. Org. Chem.*, 2009, 134(1).
 37. Chen Y., Aorigele C., Wang C., et al. Screening and extracting mycocin secreted by yeast isolated from koumiss and their antibacterial effect. *J. Food Nutr. Res.*, 2015, 3, 52–56. doi: 10.12691/JFNR-3-1-9
 38. Kozhakhmetov S., Tynybayeva I., Baikhanova D., et al. Analysis of Koumiss in Kazakhstan. *Cent. Asian J. Glob. Health.*, 2014, 3, 163. doi: 10.5195/cajgh.2014.163
 39. Miyamoto M., Seto Y., Nakajima H., et al. Denaturing gradient gel electrophoresis analysis of lactic acid bacteria and yeasts in traditional Mongolian fermented milk. *Food Sci. Technol. Res.*, 2010, 16(4), 319–326. <https://doi.org/10.3136/fstr.16.319>
 40. Wightman R., Meacock P.A. The TH15 gene family of *Saccharomyces cerevisiae*: distribution of homologues among the hemiascomycetes and functional redundancy in the aerobic biosynthesis of thiamin from pyridoxine. *Microbiology.*, 2003, 149(6), 1447–1460. <https://doi.org/10.1099/mic.0.26194-0>
 41. Sahasrabudhe N.A., Sankpal N.V. Production of organic acids and metabolites of fungi for food industry. *Applied Mycology and Biotechnology*, 2001, 1, 387–425.
 42. Hammes W. P., Vogel R.F. The genus *Lactobacillus*. The genera of lactic acid bacteria. Springer, Boston, MA, 1995, 2, 19–54.
 43. Arakawa K., Miyamoto M., Miyamoto T. Interaction between lactic acid bacteria and yeasts in airag, an alcoholic fermented milk. *Anim. Sci. J.*, 2013, 84(1), 66–74. <https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2012.01035.x>
 44. An Y., Adachi Y., Ogawa Y. Classification of lactic acid bacteria isolated from chigee and mare milk collected in Inner Mongolia. *Anim. Sci. J.*, 2004, 75(3), 245–252. <https://doi.org/10.1111/j.1740-0929.2004.00183.x>
 45. Hao Y., Zhao L., Zhang H., et al. Identification of the bacterial biodiversity in koumiss by denaturing gradient gel electrophoresis and species-specific polymerase chain reaction. *J. Dairy Sci.*, 2010, 93(5), 1926–1933. <https://doi.org/10.3168/jds.2009-2822>
 46. Gomes A.M.P., Malcata X.F. *Bifidobacterium* ssp. and *Lactobacillus acidophilus*: biological, biochemical, technological and therapeutical properties relevant for use as probiotics. *Trends Food Sci. Technol.*, 1999, 10(4–5), 139–157. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(99\)00033-3](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(99)00033-3)
 47. Wu R., Wang L., Wang J., et al. Isolation and preliminary probiotic selection of lactobacilli from koumiss in Inner Mongolia. *J. Basic Microbiol.*, 2009, 49(3), 318–326. <https://doi.org/10.1002/jobm.200800047>
 48. Sadat-Mekmene L., Jardin J., Corre C., et al. Simultaneous presence of PrtH and PrtH2 proteinases in *Lactobacillus helveticus* strains improves breakdown of the pure α_{s1} -casein. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2011, 77(1), 179–186. <https://doi.org/10.1128/AEM.01466-10>
 49. Agerholm-Larsen L., Bell M.L., Grunwald G.K., Astrup A. The effect of a probiotic milk product on plasma cholesterol: a meta-analysis of short-term intervention studies. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 2000, 54(11), 856–860. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601104>
 50. Ringø E., Andersen R., Sperstad S., et al. Bacterial community of koumiss from Mongolia investigated by culture and culture-independent methods. *Food Biotechnol.*, 2014, 28(4), 333–353. <https://doi.org/10.1080/08905436.2014.964253>
 51. Bao L., Wurihan, Hasigaowa, et al. Bacterial community succession and metabolite changes during the fermentation of koumiss, a traditional Mongolian fermented beverage. *Int. Dairy J.*, 2019, 98, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.idairy.2019.06.013>
 52. Özer B., Kirmaci H.A. Encyclopedia of Food Microbiology. Elsevier, 2014, 1, 900–907.
 53. Liu W., Wang J., Zhang J., et al. Dynamic evaluation of the nutritional composition of homemade koumiss from Inner Mongolia during the fermentation process. *J. Food Process. Preserv.*, 2019, 43(8), 14–22. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14022>
 54. Young W. Park. Bioactive Components in milk and dairy products. John Wiley & Sons, 2009, 251–263.
 55. Urbienė S., Leskauskaitė D. Formation of some organic acids during fermentation of milk. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2006, 15(3), 277–281.
 56. Liu J.J., Liu Y. Determination of nutrients and trace metal elements of koumiss in West Wuzhumuqin in Xilinguole in Inner Mongolia and the analysis of environmental influence factor. *Adv. Mat. Res.*, 2012, 518–523, 957–960. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.518-523.957>
 57. Smid E.J., Kleerebezem M. Production of aroma compounds in lactic fermentations. *Annu. Rev. Food Sci.*, 2014, 5, 313–326. doi: 10.1146/annurev-food-030713-092339
 58. Ardö Y. Flavour formation by amino acid catabolism. *Biotechnol. Adv.*, 2006, 24(2), 238–242. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2005.11.005>
 59. Helinck S., Le Bars D., Moreau D., Yvon M. Ability of thermophilic lactic acid bacteria to produce aroma compounds from amino acids. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2004, 70(7), 3855–3861. <https://doi.org/10.1128/AEM.70.7.3855-3861.2004>

60. Smit G., Smit B.A., Engels W.J.M. Flavour formation by lactic acid bacteria and biochemical flavour profiling of cheese products. *FEMS Microbiol. Rev.*, 2005, 29(3), 591–610. <https://doi.org/10.1016/j.fmrre.2005.04.002>
61. Steen A., Buist G., Horsburgh G.J., et al. Acma of *Lactococcus lactis* is an N-acetylglucosaminidase with an optimal number of LysM domains for proper functioning. *FEBS J.*, 2005, 272(11), 2854–2868. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2005.04706.x>
62. Baankreis R., van Schalkwijk S., Alting A.C., Exterkate F.A. The occurrence of two intracellular oligoendopeptidases in *Lactococcus lactis* and their significance for peptide conversion in cheese. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 1995, 44(3–4), 386–392. <https://doi.org/10.1007/BF00169933>
63. Molimard P., Spinnler H.E. Compounds involved in the flavor of surface mold-ripened cheeses: Origins and properties. *J. Dairy Sci.*, 1996, 79(2), 169–184. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(96\)76348-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76348-8)
64. Kilcawley K.N., Faulkner H., Clarke H.J., et al. Factors influencing the flavour of bovine milk and cheese from grass based versus non-grass based milk production systems. *Foods.*, 2018, 7(3), 37. <https://doi.org/10.3390/foods7030037>
65. Bandell M., Lhotte M.E., Marty-Teyssset C., et al. Mechanism of the citrate transporters in carbohydrate and citrate cometabolism in *Lactococcus* and *Leuconostoc* species. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1998, 64(5), 1594–1600. <https://doi.org/10.1128/AEM.64.5.1594-1600.1998>
66. Chaves A., Fernandez M., Lerayer A.L.S., et al. Metabolic engineering of acetaldehyde production by *Streptococcus thermophilus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2002, 68(11), 5656–5662. <https://doi.org/10.1128/AEM.68.11.5656-5662.2002>
67. Филимонова И.Ю., Чибилёва В.П., Святоха Н.Ю. Кумысолечение как перспективное направление развития рекреационного природопользования в Оренбургской области. *Вестник Оренбургского государственного университета*, 2015, 7(182), 188–192.
68. Ruxton C.H.S., Reed S.C., Simpson M.J.A., Millington K.J. The health benefits of omega-3 polyunsaturated fatty acids: a review of the evidence. *J. Hum. Nutr. Diet.*, 2004, 17(5), 449–459. <https://doi.org/10.1111/j.1365-277X.2004.00552.x>
69. Sun T.S., Zhao S.P., Wang H.K., et al. ACE-inhibitory activity and gamma-aminobutyric acid content of fermented skim milk by *Lactobacillus helveticus* isolated from Xinjiang koumiss in China. *Eur. Food Res. Technol.*, 2009, 228(4), 607–612. <https://doi.org/10.1007/s00217-008-0969-9>
70. Franciosi E., Carafa I., Nardin T., et al. Biodiversity and γ -aminobutyric acid production by lactic acid bacteria isolated from traditional alpine raw cow's milk cheeses. *Biomed Res. Int.*, 2015, 1–11. <https://doi.org/10.1155/2015/625740>
71. Wu R., Wang W., Yu D., et al. Proteomics analysis of *Lactobacillus casei* Zhang, a new probiotic bacterium isolated from traditional home-made koumiss in Inner Mongolia of China. *Mol. Cell. Proteom.*, 2009, 8(10), 2321–2338. <https://doi.org/10.1074/mcp.M800483-MCP200>
72. Minelli E. B., Benini A., Marzotto M., Ruzzenente O. Assessment of novel probiotic *Lactobacillus casei* strains for the production of functional dairy foods. *Int. Dairy J.* 2004, 14(8), 723–736. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.01.007>
73. de Vrese M., Stegelmann A., Richter B., et al. Probiotics—compensation for lactase insufficiency. *Am. J. Clin. Nutr.*, 2001, 73(2), 421s–429s. <https://doi.org/10.1093/ajcn/73.2.421s>
74. Xie Y., An H., Hao Y., et al. Characterization of an anti-Listeria bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* LB-B1 isolated from koumiss, a traditionally fermented dairy product from China. *Food Control.* 2011, 22(7), 1027–1031. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2010.12.007>
75. Chen Y., Wang C., Hou W., et al. Effects of antibacterial compounds produced by *Saccharomyces cerevisiae* in Koumiss on pathogenic *Escherichia coli* O₈ and its cell surface characteristics. *J. Integr. Agric.*, 2017, 16(3), 742–748. [https://doi.org/10.1016/S2095-3119\(16\)61516-2](https://doi.org/10.1016/S2095-3119(16)61516-2)
76. Kükükcetin A., Yaygin H., Hinrichs J., Kulozik U. Adaptation of bovine milk towards mares' milk composition by means of membrane technology for koumiss manufacture. *Int. Dairy J.*, 2003, 13(12), 945–951. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\)00143-2](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00143-2)
77. Tamime A.Y., Marshall V.M.E. Microbiology and biochemistry of cheese and fermented milk. Springer, Boston, MA, 1997, 57–152.
78. Yildiz F. Development and manufacture of yogurt and other functional dairy products. CRC press, 2016, 441 p.
79. Li H., Wang Y., Zhang T., et al. Comparison of backslopping and two-stage fermentation methods for koumiss powder production based on chemical composition and nutritional properties. *J. Sci. Food Agric.*, 2020, 100(4), 1822–1826. <https://doi.org/10.1002/jsfa.10220>
80. Smid E.J., Lacroix C. Microbe–microbe interactions in mixed culture food fermentations. *Curr. Opin. Biotechnol.*, 2013, 24(2), 148–154. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2012.11.007>
81. Kimoto-Nira H., Aoki R., Mizumachi K., et al. Interaction between *Lactococcus lactis* and *Lactococcus raffinolactis* during growth in milk: development of a new starter culture. *J. Dairy Sci.*, 2012, 95(4), 2176–2185. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4824>
82. Sieuwerts S., de Bok F.A.M., Hugenholtz J., van Hylckama Vlieg J. E. T. Unraveling microbial interactions in food fermentations: from classical to genomics approaches. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2008, 74(16), 4997–5007. <https://doi.org/10.1128/AEM.00113-08>

83. Sieuwerts S., Molenaar D., van Hijum S.A.F.T., et al. Mixed-culture transcriptome analysis reveals the molecular basis of mixed-culture growth in *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2010, 76(23), 7775–7784. <https://doi.org/10.1128/AEM.01122-10>
84. de Bok F.A.M., Janssen P.W.M., Bayjanov J.R., et al. Volatile compound fingerprinting of mixed-culture fermentations. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2011, 77(17), 6233–6239. <https://doi.org/10.1128/AEM.00352-11>
85. Hickey M.W., Hillier A.J., Jago G.R. Transport and metabolism of lactose, glucose, and galactose in homofermentative lactobacilli. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1986, 51(4), 825–831. <https://doi.org/10.1128/aem.51.4.825-831.1986>
86. O'Leary V.S., Woychik J.H. Utilization of lactose, glucose, and galactose by a mixed culture of *Streptococcus thermophilus* and *Lactobacillus bulgaricus* in milk treated with lactase enzyme. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1976, 32(1), 89–94. <https://doi.org/10.1128/aem.32.1.89-94.1976>
87. Bhattacharya I., Yan S., Yadav J.S.S., et al. *Saccharomyces unisporus*: biotechnological potential and present status. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 2013, 12(4), 353–363. doi: 10.1111/1541-4337.12016
88. Duan, S.F., Shi, J.Y., Yin, Q., et al. Reverse evolution of a classic gene network in yeast offers a competitive advantage. *Curr. Biol.*, 2019, 29(7), 1126–1136. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2019.02.038>
89. Sarais I., Piussi D., Aquili V., Stecchini M.L. The behavior of yeast populations in Stracchino cheese packaged under various conditions. *J. Food Prot.*, 1996, 59(5), 541–544. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-59.5.541>
90. Gobbetti M., Corsetti A. *Lactobacillus sanfranciscoa* key sourdough lactic acid bacterium: a review. *Food Microbiol.*, 1997, 14(2), 175–187. <https://doi.org/10.1006/fmic.1996.0083>
91. Narvhus J. A., Gadaga T.H. The role of interaction between yeasts and lactic acid bacteria in African fermented milks: a review. *Int. J. Food Microbiol.*, 2003, 86(1–2), 51–60. [https://doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00247-2](https://doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00247-2)
92. Roostita R., Fleet G.H. Growth of yeasts in milk and associated changes to milk composition. *Int. J. Food Microbiol.*, 1996, 31(1–3), 205–219. [https://doi.org/10.1016/0168-1605\(96\)00999-3](https://doi.org/10.1016/0168-1605(96)00999-3)
93. Paramithiotis S., Gioulatos, S., Tsakalidou E., Kalantzopoulos G. Interactions between *Saccharomyces cerevisiae* and lactic acid bacteria in sourdough. *Process Biochem.*, 2006, 41(12), 2429–2433. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2006.07.001>

Koumiss: Microbial Composition and Fermentation Characteristics

A.M. Kholdina^{1*}, A.A. Laikova¹, and I.N. Serzhkin¹

¹ Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, 119234, Russia

*e-mail: annahold@yandex.ru

Received July 21, 2021

Revised October 12, 2021

Accepted October 18, 2021

Abstract—Koumiss is a traditional fermented beverage based on mare's milk. Various lactic acid bacteria, acetic acid bacteria and yeast take part in this fermentation. Microbial composition plays a key role in shaping of smell and taste of the product. The study of the microbial associations of koumiss and establishment of correlations between the microbiota composition and various product characteristics is a promising area of research. It contributes to the creation of more advanced starter cultures for industrial use. In this review, the main biochemical parameters of various types of koumiss are presented and the composition of the beverage microbiota is considered. Special attention is paid to the symbiotic relationships between microorganisms. The main stages of traditional, industrial and laboratory methods for koumiss production are discussed.

Key words: koumiss, fermentation, lactic acid bacteria, microbial associations, starter culture

doi: 10.21519/0234-2758-2021-37-6-58-73