

Оценка бактериального состава сметаны с помощью высокопроизводительного секвенирования

Екатерина Ю. Нестерова^{1, 2}

katya.nesterova.1997@mail.ru

 0000-0003-0918-3547Михаил Ю. Сыромятников^{1, 2}

mihan.vrn@mail.ru

 0000-0001-9028-0613Василий Н. Попов^{1, 2}

pvn@vsuet.ru

 0000-0003-1294-8686¹ Воронежский государственный университет инженерных технологий, пр-т Революции, 19, г. Воронеж, 394036, Россия² Воронежский государственный университет, Университетская пл., 1, г. Воронеж, 394018, Россия

Аннотация. Молочнокислые бактерии активно применяются в качестве заквасок для различных продуктов питания, и, в том числе, при производстве молочной продукции. От качества закваски зачастую зависит качество конечного продукта. Сметана является традиционным продуктом для многих стран. Её изготовление основывается на ферментации сливок при добавлении определенных видов заквасочных культур, относящихся к таким родам, как *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* и *Enterococcus*. С помощью метода высокопроизводительного секвенирования были исследованы бактериальные составы образцов сметаны различных производителей доступные на российском рынке. Секвенирование проводилось на секвенаторе Illumina MiSeq. Учитывались бактериальные таксоны, чьё процентное соотношение превышало 1% относительно всех идентифицированных микроорганизмов в образце. В результате анализа полученных данных было установлено, что доминирующими бактериями во всех образцах 20%-ой сметаны оказались представители родов *Streptococcus* и *Lactococcus*. Образцы №3 и №10 содержали *Lactocaseibacillus*. Их процентное содержание в данных образцах не превышало 2%. В образце сметаны №1 были выявлены представители рода *Enterococcus* (3% от общего числа бактерий, обнаруженных в образце). Видовой анализ микробного сообщества исследованных образцов с помощью системы Nucleotide BLAST позволил определить, что в качестве заквасочных культур производителями использовались *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactocaseibacillus rhamnosus* (сметана под номерами 3 и 10) и *Enterococcus faecium* (сметана №1). Данные бактерии традиционно используются при производстве кисломолочной продукции за счёт способности формировать специфические вкусы, ароматы и текстуры в процессе ферментации.

Ключевые слова: молочнокислые бактерии, ферментирование, микробное сообщество, высокопроизводительное секвенирование, сметана

Evaluation of the bacterial composition of sour cream using high-throughput sequencing

Ekaterina Yu. Nesterova^{1, 2}

katya.nesterova.1997@mail.ru

 0000-0003-0918-3547Mikhail Yu. Syromyatnikov^{1, 2}

mihan.vrn@mail.ru

 0000-0001-9028-0613Vasily N. Popov^{1, 2}

pvn@vsuet.ru

 0000-0003-1294-8686¹ Voronezh State University of Engineering Technologies, Revolution Av., 19 Voronezh, 394036, Russia² Voronezh State University, Universitetskaya sq., 1, Voronezh, 394018, Russia

Abstract. Lactic acid bacteria are actively used as starter cultures for various food products, including dairy products. The quality of the final product often depends on the quality of the starter culture. Sour cream is a traditional product in many countries. Its production is based on the fermentation of cream with the addition of certain types of starter cultures belonging to the genera *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* and *Enterococcus*. Using the method of high-throughput sequencing, the bacterial compositions of sour cream samples from various manufacturers available on the Russian market were investigated. Sequencing was performed on an Illumina MiSeq platform. Bacterial taxa were taken into account, whose percentage exceeded 1% relative to all identified microorganisms in the sample. As a result of the analysis, it was found that the dominant bacteria in all samples of 20% sour cream were representatives of the genera *Streptococcus* and *Lactococcus*. Samples No. 3 and No. 10 contained *Lactocaseibacillus*. Their percentage in these samples did not exceed 2%. In sour cream sample No. 1, representatives of the genus *Enterococcus* were identified (3% of the total number of bacteria found in the sample). Species analysis of the microbial community of the studied samples using the Nucleotide BLAST system made it possible to determine that *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactocaseibacillus rhamnosus* (sour cream numbers 3 and 10) and *Enterococcus faecium* are probably used as starter cultures. These bacteria are traditionally used in the production of fermented dairy products due to the ability to form specific tastes, aromas and textures during fermentation.

Keywords: lactic acid bacteria, fermentation, microbial community, high-throughput sequencing, sour cream

Введение

Сметана – кисломолочный продукт, изготавливаемый на основе сливок и стартовых культур молочнокислых бактерий [1]. Это традиционный продукт во многих странах, который ценится за свои вкусовые характеристики и состав, насыщенный питательными веществами [2]. Многочисленные исследования показали положительное влияние молочнокислых продуктов на здоровье человека, как за счёт самих бактерий, входящих в состав,

так и за счёт биоактивных элементов, выделяемых в процессе ферментации [3–5]. Было доказано положительное влияние молочнокислых бактерий на состояние желудочно-кишечного тракта человека [6].

В качестве основных микроорганизмов, применяемых при производстве ферментированных молочных продуктов, в том числе и сметаны, используются бактерии родов *Streptococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus* и *Enterococcus* [7]. Для того чтобы

Для цитирования

Нестерова Е.Ю., Сыромятников М.Ю., Попов В.Н. Оценка бактериального состава сметаны с помощью высокопроизводительного секвенирования // Вестник ВГУИТ. 2021. Т. 83. № 3. С. 129–134. doi:10.20914/2310-1202-2021-3-129-134

For citation

Nesterova E.Yu., Syromyatnikov M.Yu., Popov V.N. Evaluation of the bacterial composition of sour cream using high-throughput sequencing. Vestnik VGUET [Proceedings of VSUET]. 2021. vol. 83. no. 3. pp. 129–134. (in Russian). doi:10.20914/2310-1202-2021-3-129-134

This is an open access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License

определить бактериальный состав молочнокислой продукции, сегодня используются не только классические методы, основанные на культивировании на питательных средах [8, 9], но и современные быстрые и точные методики, к которым относится высокопроизводительное секвенирование. Эта методика значительно облегчила изучение сложной микробиоты продуктов питания [10].

Работы, посвященные изучению микробиологического состава сметаны, не многочисленны. Как правило, это комплексные исследования микробных сообществ в различных кисломолочных продуктах, динамики их состава в процессе ферментации [11–13]. Так, например, в 2018 китайские исследователи анализировали традиционные сметану и масло, изготавливаемые коренными жителями Бурятии, на основе комбинации методик секвенирования SMRT и масс-спектрометрии [14].

В связи с этим, цель нашей работы заключалась в проведении анализа бактериального состава коммерчески доступной сметаны на основе высокопроизводительного секвенирования.

Материалы и методы

В качестве объектов исследования было использовано 12 образцов 20%-ой сметаны различных производителей, доступных на территории Российской Федерации. Для выделения ДНК был использован коммерческий набор FastDNA™ Spin Kit (MP Biomedicals, США).

Изготовление библиотек осуществлялось на основе ПЦР с использованием универсальных праймеров [15, 16] к области V4 гена 16S рНК на основе методики, описанной ранее [17]. Нуклеотидные последовательности праймеров указаны в таблице 1.

Таблица 1.
Универсальные бактериальные праймеры для проведения секвенирования

Table 1.
Universal bacterial sequencing primers

Праймер Primer	Нуклеотидная последовательность Nucleotide sequence
515F	5'-GTGBCAGCMGCCGCGGTAA-3'
Pro-mod-805R	5'-GACTACNVGGGTMTCTAATCC-3'

На каждый из 12 образцов приходилось по две библиотеки, секвенирование которых осуществлялось параллельно, с использованием набора реагентов MiSeq Reagent Micro Kit v2 (300 циклов) MS-103–1002 (Illumina, США)

на секвенаторе MiSeq (Illumina, США), считывающим 150 п.н. с каждого конца.

Биоинформатический анализ данных, полученных в результате секвенирования, позволил выявить распределение последовательностей по рабочим таксономическим единицам (OTU) на основе их сходства, которое составляло более 97%. Идентификация OTU осуществлялась на основе программы SILVAngs 1.3 [18].

Результаты и обсуждение

Высокопроизводительное секвенирование позволило выявить данные о фактическом бактериальном составе всех анализируемых образцов. В работе были учтены только те таксоны бактерий, чье процентное соотношение превышало 1% от общего числа идентифицированных бактерий. Результаты анализа представлены в таблице 2.

Таблица 2.
Идентифицированные роды бактерий
в образцах сметаны

Table 2.
Identified genera of bacteria
in sour cream samples

Образец сметаны Sour cream sample	Выявленный состав Revealed composition	Процентное содержание в образце Percentage in the sample
1	<i>Streptococcus</i>	97%
	<i>Enterococcus</i>	3%
2	<i>Streptococcus</i>	80%
	<i>Lactococcus</i>	19%
3	<i>Streptococcus</i>	95%
	<i>Lactococcus</i>	3%
	<i>Lactocaseibacillus</i>	2%
4	<i>Streptococcus</i>	83%
	<i>Lactococcus</i>	17%
5	<i>Streptococcus</i>	38%
	<i>Lactococcus</i>	61%
6	<i>Streptococcus</i>	56%
	<i>Lactococcus</i>	44%
7	<i>Streptococcus</i>	85%
	<i>Lactococcus</i>	14%
8	<i>Streptococcus</i>	100%
9	<i>Streptococcus</i>	53%
	<i>Lactococcus</i>	46%
10	<i>Streptococcus</i>	70%
	<i>Lactococcus</i>	28%
	<i>Lactocaseibacillus</i>	2%
11	<i>Streptococcus</i>	85%
	<i>Lactococcus</i>	15%
12	<i>Streptococcus</i>	78%
	<i>Lactococcus</i>	22%

По результатам анализа было установлено, что все 12 образцов сметаны содержали в своём составе бактерии рода *Streptococcus*. Их процентное соотношение варьировало от 38% (образец № 5) до 100% (образец № 8). В 9 из 12 образцов доминировали бактерии *Streptococcus*. Их содержание превышало 70%. Это образцы под номерами 1–4, 7, 8, 10–12. Необходимо отметить, что образец сметаны № 8 определился как однокомпонентный продукт, т. е. в его составе были обнаружены только представители рода *Streptococcus* (рисунок 1).

На втором месте по встречаемости в исследованной продукции располагались представители рода *Lactococcus*. 83% исследованных образцов включали в состав представителей данного рода. Так, например, в сметане под номерами 5, 6 и 9 содержание *Lactococcus* составляло 61%, 44% и 46% соответственно. Процентное соотношение бактерий *Lactococcus* в остальных образцах не превышало 28%.

Образцы № 3 и № 10 характеризовались трехкомпонентным составом. В данной сметане помимо *Streptococcus* и *Lactococcus*, было выявлено наличие представителей рода *Lactocaseibacillus*, чьё содержание в обоих образцах составило 2%. На рисунке 2 изображено процентное соотношение бактерий в составе сметаны № 3.

Образец сметаны под номером 1 отличался от остальных образцов наличием в составе помимо *Streptococcus* бактерий рода *Enterococcus* (3%) (рисунок 3).

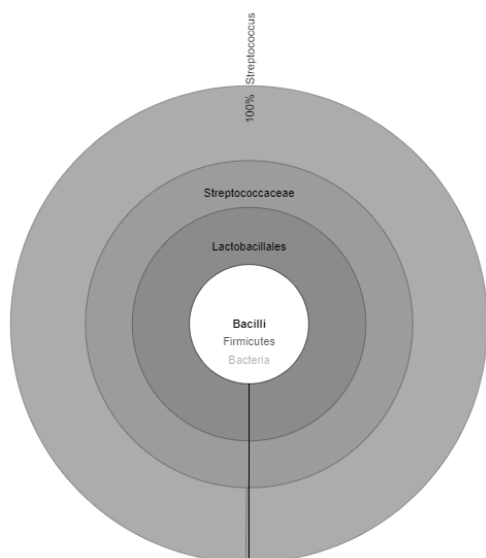


Рисунок 1. Процентное содержание бактерий в образце сметаны № 8

Figure 1. The percentage of bacteria in sour cream sample No. 8

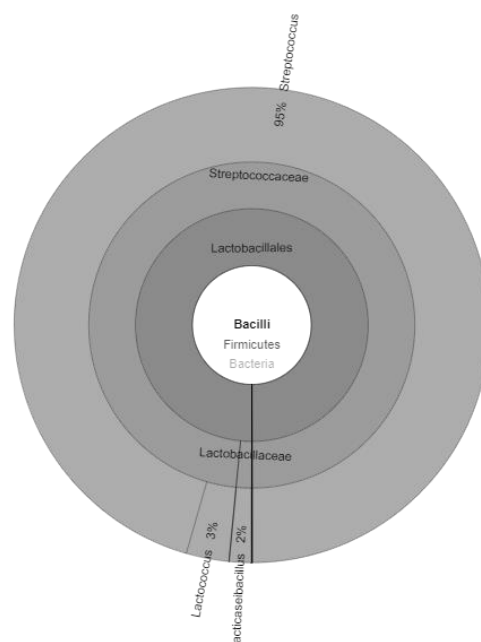


Рисунок 2. Процентное содержание бактерий в образце сметаны № 3

Figure 2. The percentage of bacteria in sour cream sample No. 3

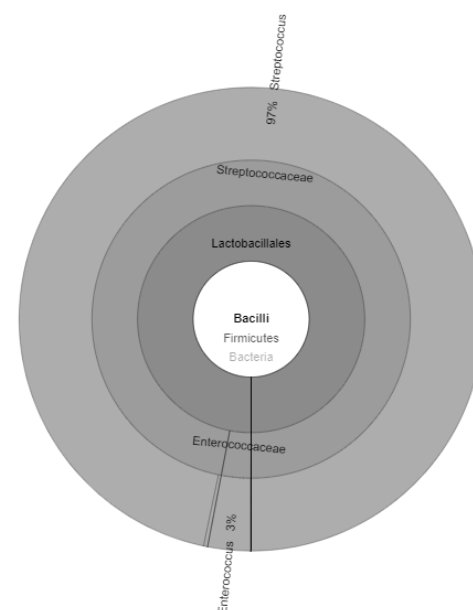


Рисунок 3. Процентное содержание бактерий в образце сметаны № 1

Figure 3. The percentage of bacteria in sour cream sample No. 1

Следующий этап исследования заключался в определении видовой принадлежности обнаруженных микроорганизмов. Нуклеотидные последовательности, полученные в результате секвенирования, были проанализированы с помощью системы Nucleotide BLAST. Такой анализ строится на сопоставлении нуклеотидных последовательностей с последовательностями, ранее занесенными в международную базу данных (таблица 3).

Таблица 3.
Видовая принадлежность обнаруженных
бактерий в образцах сметаны

Table 3.
Species of bacteria detected in sour cream
samples

Образец сметаны Sour cream sample	Вид Species	Совпадение в GenBank, % Compliance with GenBank, %
1	<i>Enterococcus faecium</i>	100,00
	<i>Streptococcus thermophilus</i>	99,26
2	<i>Lactococcus lactis</i>	100,00
	<i>Streptococcus thermophilus</i>	99,58
3	<i>Streptococcus thermophilus</i>	99,25
	<i>Lactococcus lactis</i>	98,80
	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	98,41
4	<i>Streptococcus thermophilus</i>	98,40
	<i>Lactococcus lactis</i>	100,00
5	<i>Streptococcus thermophilus</i>	98,74
	<i>Lactococcus lactis</i>	100,00
6	<i>Streptococcus thermophilus</i>	98,80
	<i>Lactococcus lactis</i>	99,60
7	<i>Streptococcus thermophilus</i>	98,80
	<i>Lactococcus lactis</i>	99,60
8	<i>Streptococcus thermophilus</i>	98,40
9	<i>Streptococcus thermophilus</i>	98,80
	<i>Lactococcus lactis</i>	100,00
10	<i>Lactococcus lactis</i>	98,80
	<i>Streptococcus thermophilus</i>	98,00
	<i>Lacticaseibacillus rhamnosus</i>	98,01
11	<i>Lactococcus lactis</i>	99,20
	<i>Streptococcus thermophilus</i>	97,80
12	<i>Lactococcus lactis</i>	100,00
	<i>Streptococcus thermophilus</i>	98,80

Было установлено, что в состав заквасочных культур входили *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lacticaseibacillus rhamnosus* (для образцов № 3 и № 10) и

Enterococcus faecium (для образца № 1). Все бактерии, идентифицированные в образцах сметаны, входили в состав культур молочнокислых бактерий, используемых при производстве кисломолочной продукции. Так, *Lactococcus lactis* активно применяется в ферментации за счёт высокой метаболической стабильности и способности образовывать кислоты в молоке, тем самым влияя на вкусовые характеристики конечного продукта [19]. Одной из коммерчески важнейших заквасочных культур является *Streptococcus thermophilus*. Эти бактерии участвуют в метаболизме белков и сахаров, а также формировании ароматов [20]. Использование в производстве *Lacticaseibacillus rhamnosus* связано с его пробиотическими свойствами и со способностью подавлять рост и развитие плесени в готовой молочной продукции [21]. Бактерии *Enterococcus faecium* обладают протео-, эстери- и липолитической активностью, что обеспечивает формирование специфических текстурных, ароматических и вкусовых характеристик [22].

Заключение

В ходе проведения высокопроизводительного секвенирования 12 образцов сметаны было выяснено, что доминирующим компонентами микробных сообществ каждого из них являлись бактерии двух родов – *Streptococcus* и *Lactococcus*. Бактерии рода *Streptococcus* встречались во всех образцах сметаны. Что касается рода *Lactococcus*, 11 из 12 образцов сметаны содержали в своём составе представителей данного таксона. Процентное соотношение *Lactococcus* относительно других компонентов в образцах не превышало 28%. Сметана под номерами 3 и 10 помимо представителей вышеуказанных родов содержала *Lacticaseibacillus* (по 2% для каждого из образцов). В сметане № 1 по результатам анализа 3% приходилось на представителей рода *Enterococcus*.

Полученные результаты свидетельствуют о наличии в бактериальном составе исследованных образцов сметаны представителей культур молочнокислых бактерий, традиционно используемых в качестве заквасок при производстве кисломолочной продукции. Составы были представлены *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lacticaseibacillus rhamnosus* и *Enterococcus faecium*.

Литература

- 1 Danylenko S.G., Bodnarchuk O.V., Ryzhkova T.M. et al. The effects of thickeners upon the viscous properties of sour cream with a low fat content // Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria. 2020. V. 19. P. 359–368. doi: 10.17306/J.AFS.0836
- 2 Yu J., Wang H.M., Zha M.S. et al. Molecular identification and quantification of lactic acid bacteria in traditional fermented dairy foods of Russia // Journal of Dairy Science. 2015. V. 98. P. 5143–5154. doi: 10.3168/jds.2015–9460

- 3 Mathur H., Beresford T.P., Cotter P.D. Health Benefits of Lactic Acid Bacteria (LAB) Fermentates // *Nutrients*. 2020. V. 12. P. 1679. doi: 10.3390/nu12061679
- 4 Linares D.M., Gómez C., Renes E. et al. Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria with Potential to Design Natural Biofunctional Health-Promoting Dairy Foods // *Frontiers in Microbiology*. 2017. V. 8. P. 846. doi: 10.3389/fmicb.2017.00846
- 5 Arqués J.L., Rodríguez E., Langa S. et al. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria in dairy products and gut: effect on pathogens // *BioMed Research International*. 2015. V. 2015. P. 584183. doi: 10.1155/2015/584183
- 6 Marco M.L., Heeney D., Binda S. et al. Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond // *Current Opinion in Biotechnology*. 2017. V. 44. P. 94–102. doi: 10.1016/j.copbio.2016.11.010
- 7 Hayek S., Gyawali R., Aljaloud S. et al. Cultivation media for lactic acid bacteria used in dairy products // *Journal of Dairy Research*. 2019. V. 86. P. 490–502. doi: 10.1017/S002202991900075X
- 8 Elionora Hantsis-Zacharov M.H. Culturable psychrotrophic bacterial communities in raw milk and their proteolytic and lipolytic traits. *Applied and Environmental Microbiology*. 2007. V. 73. P. 7162–7168. doi: 10.1128/AEM.00866–07
- 9 Duniere L., Xu S., Long J. et al. Bacterial and fungal core microbiomes associated with small grain silages during ensiling and aerobic spoilage // *BMC Microbiology*. 2017. V. 17. P. 50. doi: 10.1186/s12866-017-0947-0
- 10 Luzzi G., Brinks E., Fritsche J. et al. Microbial composition of sweetness-enhanced yoghurt during fermentation and storage // *AMB Express*. 2020. V. 10. P. 131. doi: 10.1186/s13568-020-01069-5
- 11 Zamfir M., Vancanneyt M., Makras L. et al. Biodiversity of lactic acid bacteria in Romanian dairy products // *Systematic and Applied Microbiology*. 2006. V. 29. P. 487–95. doi: 10.1016/j.syapm.2005.10.002
- 12 Terzić-Vidojević A., Veljović K., Tolinački M. et al. Diversity of non-starter lactic acid bacteria in autochthonous dairy products from Western Balkan Countries – Technological and probiotic properties // *Food Research International*. 2020. V. 136. P. 109494. doi: 10.1016/j.foodres.2020.109494
- 13 Xu W.L., Li C.D., Guo Y.S. et al. A snapshot study of the microbial community dynamics in naturally fermented cow's milk // *Food Science & Nutrition*. 2021. V. 9. P. 2053–2065. doi: 10.1002/fsn3.2174
- 14 Yu J., Mo L., Pan L. et al. Bacterial Microbiota and Metabolic Character of Traditional Sour Cream and Butter in Buryatia, Russia // *Frontiers in Microbiology*. 2018. V. 9. P. 2496. doi: 10.3389/fmicb.2018.02496
- 15 Fadrosch D.W., Gajer B.M.P., Sengamalay N. et al. An improved dual-indexing approach for multiplexed 16S rRNA gene sequencing on the Illumine MiSeq platform // *Microbiome*. 2014. V. 2. P. 6. doi: 10.1186/2049–2618–2–6
- 16 Hugerth L.W., Wefer H.A., Lundin S. et al. Dege Prime, a program for degenerate primer design for broad-taxonomic-range PCR in microbial ecology studies // *Applied and Environmental Microbiology*. 2014. V. 80. P. 5116–5123. doi: 10.1128/AEM.01403–14
- 17 Merkel A.Y., Tarnovetskii I.Y., Podosokorskaya O.A. et al. Analysis of 16S rRNA primer systems for profiling of thermophilic microbial communities // *Microbiology*. 2019. V. 88. P. 671–680. doi: 10.1134/S0026261719060110
- 18 Quast C., Pruesse E., Yilmaz P. et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools // *Nucleic Acids Research*. 2013. V. 41. P. D590–D596. doi: 10.1093/nar/gks1219
- 19 Bintsis T. Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics // *AIMS Microbiology*. 2018. V. 4. P. 665–684. doi: 10.3934/microbiol.2018.4.665
- 20 Tidona F., Francolino S., Ghiglietti R. et al. Characterization and pre-industrial validation of *Streptococcus thermophilus* strains to be used as starter cultures for Crescenza, an Italian soft cheese // *Food Microbiology*. 2020. V. 92. P. 103599. doi: 10.1016/j.fm.2020.103599
- 21 Siedler S., Rau M.H., Bidstrup S. et al. Competitive exclusion is a major bioprotective mechanism of *Lactobacilli* against fungal spoilage in fermented milk products // *Applied and Environmental Microbiology*. 2020. V. 86. P. e02312–19. doi: 10.1128/AEM.02312–19
- 22 Ben Braïek O., Smaoui S. Enterococci: Between Emerging Pathogens and Potential Probiotics // *BioMed Research International*. 2019. V. 2019. P. 5938210. doi: 10.1155/2019/5938210

References

- 1 Danylenko S.G., Bodnarchuk O.V., Ryzhkova T.M. et al. The effects of thickeners upon the viscous properties of sour cream with a low fat content. *Acta Scientiarum Polonorum, Technologia Alimentaria*. 2020. vol. 19. pp. 359–368. doi: 10.17306/J.AFS.0836
- 2 Yu J., Wang H.M., Zha M.S. et al. Molecular identification and quantification of lactic acid bacteria in traditional fermented dairy foods of Russia. *Journal of Dairy Science*. 2015. vol. 98. pp. 5143–5154. doi: 10.3168/jds.2015–9460
- 3 Mathur H., Beresford T.P., Cotter P.D. Health Benefits of Lactic Acid Bacteria (LAB) Fermentates. *Nutrients*. 2020. vol. 12. pp. 1679. doi: 10.3390/nu12061679
- 4 Linares D.M., Gómez C., Renes E. et al. Lactic Acid Bacteria and Bifidobacteria with Potential to Design Natural Biofunctional Health-Promoting Dairy Foods. *Frontiers in Microbiology*. 2017. vol. 8. pp. 846. doi: 10.3389/fmicb.2017.00846
- 5 Arqués J.L., Rodríguez E., Langa S. et al. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria in dairy products and gut: effect on pathogens. *BioMed Research International*. 2015. vol. 2015. pp. 584183. doi: 10.1155/2015/584183
- 6 Marco M.L., Heeney D., Binda S. et al. Health benefits of fermented foods: microbiota and beyond. *Current Opinion in Biotechnology*. 2017. vol. 44. pp. 94–102. doi: 10.1016/j.copbio.2016.11.010
- 7 Hayek S., Gyawali R., Aljaloud S. et al. Cultivation media for lactic acid bacteria used in dairy products. *Journal of Dairy Research*. 2019. vol. 86. pp. 490–502. doi: 10.1017/S002202991900075X
- 8 Elionora Hantsis-Zacharov M.H. Culturable psychrotrophic bacterial communities in raw milk and their proteolytic and lipolytic traits. *Applied and Environmental Microbiology*. 2007. vol. 73. pp. 7162–7168. doi: 10.1128/AEM.00866–07
- 9 Duniere L., Xu S., Long J. et al. Bacterial and fungal core microbiomes associated with small grain silages during ensiling and aerobic spoilage. *BMC Microbiology*. 2017. vol. 17. pp. 50. doi: 10.1186/s12866-017-0947-0
- 10 Luzzi G., Brinks E., Fritsche J. et al. Microbial composition of sweetness-enhanced yoghurt during fermentation and storage. *AMB Express*. 2020. vol. 10. pp. 131. doi: 10.1186/s13568-020-01069-5

- 11 Zamfir M., Vancanneyt M., Makras L. et al. Biodiversity of lactic acid bacteria in Romanian dairy products. *Systematic and Applied Microbiology*. 2006. vol. 29. pp. 487–95. doi: 10.1016/j.syapm.2005.10.002
- 12 Terzić-Vidojević A., Veljović K., Tolinački M. et al. Diversity of non-starter lactic acid bacteria in autochthonous dairy products from Western Balkan Countries – Technological and probiotic properties. *Food Research International*. 2020. vol. 136. pp. 109494. doi: 10.1016/j.foodres.2020.109494
- 13 Xu W.L., Li C.D., Guo Y.S. et al. A snapshot study of the microbial community dynamics in naturally fermented cow's milk. *Food Science & Nutrition*. 2021. vol. 9. pp. 2053–2065. doi: 10.1002/fsn3.2174
- 14 Yu J., Mo L., Pan L. et al. Bacterial Microbiota and Metabolic Character of Traditional Sour Cream and Butter in Buryatia, Russia. *Frontiers in Microbiology*. 2018. vol. 9. pp. 2496. doi: 10.3389/fmicb.2018.02496
- 15 Fadrosch D.W., Gajer B.M.P., Sengamalay N. et al. An improved dual-indexing approach for multiplexed 16S rRNA gene sequencing on the Illumine MiSeq platform. *Microbiome*. 2014. vol. 2. pp. 6. doi: 10.1186/2049–2618–2–6
- 16 Hugerth L.W., Wefer H.A., Lundin S. et al. Dege Prime, a program for degenerate primer design for broad-taxonomic-range PCR in microbial ecology studies. *Applied and Environmental Microbiology*. 2014. vol. 80. pp. 5116–5123. doi: 10.1128/AEM.01403–14
- 17 Merkel A.Y., Tarnovetskii I.Y., Podosokorskaya O.A. et al. Analysis of 16S rRNA primer systems for profiling of thermophilic microbial communities. *Microbiology*. 2019. vol. 88. pp. 671–680. doi: 10.1134/S0026261719060110
- 18 Quast C., Pruesse E., Yilmaz P. et al. The SILVA ribosomal RNA gene database project: improved data processing and web-based tools. *Nucleic Acids Research*. 2013. vol. 41. pp. D590–D596. doi: 10.1093/nar/gks1219
- 19 Bintsis T. Lactic acid bacteria as starter cultures: An update in their metabolism and genetics. *AIMS Microbiology*. 2018. vol. 4. pp. 665–684. doi: 10.3934/microbiol.2018.4.665
- 20 Tidona F., Francolino S., Ghiglietti R. et al. Characterization and pre-industrial validation of *Streptococcus thermophilus* strains to be used as starter cultures for Crescenza, an Italian soft cheese. *Food Microbiology*. 2020. vol. 92. pp. 103599. doi: 10.1016/j.fm.2020.103599
- 21 Siedler S., Rau M.H., Bidstrup S. et al. Competitive exclusion is a major bioprotective mechanism of *Lactobacilli* against fungal spoilage in fermented milk products. *Applied and Environmental Microbiology*. 2020. vol. 86. pp. e02312–19. doi: 10.1128/AEM.02312–19
- 22 Ben Braïek O., Smaoui S. Enterococci: Between Emerging Pathogens and Potential Probiotics. *BioMed Research International*. 2019. vol. 2019. pp. 5938210. doi: 10.1155/2019/5938210

Сведения об авторах

Екатерина Ю. Нестерова м.н.с., лаборатория метагеномики и пищевых биотехнологий, Воронежский государственный университет инженерных технологий, пр-т Революции, 19, г. Воронеж, 394036, Россия, katty.nesterova.1997@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-0918-3547>

Михаил Ю. Сыромятников к.б.н., в.н.с., доцент, лаборатория метагеномики и пищевых биотехнологий, Воронежский государственный университет инженерных технологий, пр-т Революции, 19, г. Воронеж, 394036, Россия, mihan.vrn@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9028-0613>

Василий Н. Попов д.б.н., профессор, лаборатория метагеномики и пищевых биотехнологий, Воронежский государственный университет инженерных технологий, пр-т Революции, 19, г. Воронеж, 394036, Россия, pvn@vsuet.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1294-8686>

Вклад авторов

Екатерина Ю. Нестерова написала рукопись, корректировала её до подачи в редакцию и несет ответственность за плагиат
Михаил Ю. Сыромятников консультация в ходе исследования

Василий Н. Попов предложил методику проведения эксперимента и организовал производственные испытания

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Information about authors

Ekaterina Yu. Nesterova junior researcher, laboratory of metagenomics and food biotechnology, Voronezh State University of Engineering Technologies, Revolution Av., 19 Voronezh, 394036, Russia, katty.nesterova.1997@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0003-0918-3547>

Mikhail Yu. Syromyatnikov Cand. Sci. (Biol.), senior researcher, professor, laboratory of metagenomics and food biotechnology, Voronezh State University of Engineering Technologies, Revolution Av., 19 Voronezh, 394036, Russia, mihan.vrn@mail.ru
<https://orcid.org/0000-0001-9028-0613>

Vasily N. Popov Dr. Sci. (Biol.), professor, laboratory of metagenomics and food biotechnology, Voronezh State University of Engineering Technologies, Revolution Av., 19 Voronezh, 394036, Russia, pvn@vsuet.ru
<https://orcid.org/0000-0003-1294-8686>

Contribution

Ekaterina Yu. Nesterova wrote the manuscript, correct it before filing in editing and is responsible for plagiarism
Mikhail Yu. Syromyatnikov consultation during the study

Vasily N. Popov proposed a scheme of the experiment and organized production trials

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest.

Поступила 02/07/2021	После редакции 22/07/2021	Принята в печать 26/08/2021
Received 02/07/2021	Accepted in revised 22/07/2021	Accepted 26/08/2021