

АННОТАЦИЯ

диссертационной работы на соискание степени доктора философии (Ph.D) по специальности 6D010700 – «Биотехнология»

Абдулжанова Малика Анварбеговна

«Микрокапсулирование пробиотиков в полисахаридные матрицы для разработки функциональных продуктов питания из кобыльего молока»

Общая характеристика диссертационной работы.

Работа посвящена разработке функциональных продуктов питания из сухого кобыльего молока, обогащенных симбиотическими микрокапсулами с *Lactobacillus rhamnosus* GG ATCC 53103.

Актуальность темы исследования.

Функциональные продукты питания — это тренд будущего, поскольку современная биотехнология позволяет перерабатывать источники пищевого сырья в полезные для здоровья продукты, что отвечает требованиям потребителей. К функциональным относят продукты, обладающие помимо основной функции снабжения организма человека нутриентами, еще и дополнительными физиологически значимыми для человека биологически активными соединениями. Заметное место среди пищевых ингредиентов функционального питания занимают пробиотики. Это функциональный компонент в виде полезных для человека живых микроорганизмов, обеспечивающих при систематическом употреблении в пищу, благоприятное воздействие на организм человека в результате нормализации состава и повышения биологической активности нормальной микрофлоры кишечника.

Жизнеспособность пробиотиков, т.е. количество живых и активных клеток в определенном объеме в момент потребления является ключевой характеристикой качества этих продуктов, поскольку определяет их эффективность. Поэтому важно обеспечить высокую выживаемость бактерий-пробиотиков как во время производства и хранения продукта, так и в процессе его потребления. Одним из способов решения проблемы повышения жизнеспособности пробиотиков является их микрокапсулирование. Это процесс заключения биологически активных веществ в тонкую оболочку пленкообразующего материала. Такая технология позволяет избежать стрессовых воздействий и обеспечивает высокий уровень выживаемости микроорганизмов в таком «контейнере».

В качестве стеновой матрицы представляется перспективным применение бактериальной целлюлозы (БЦ). Наряду с высокой адсорбционной способностью, она обладает полной безопасностью и биосовместимостью, что допускает ее использование в пищевой промышленности. Для того, чтобы повысить устойчивость иммобилизованного в матрице БЦ пробиотика в нее может быть включен дополнительный полимер – пуллулан (ПУЛ), который будет являться пребиотиком. Пребиотик – неперевариваемый в желудке и тонком кишечнике полисахарид, являющийся селективным питанием для сахаролитических микроорганизмов-пробиотиков. Ожидается, что присутствие пребиотика в матрице будет стимулировать пролиферацию клеток пробиотика, тем самым оказывать защитное действие на пробиотический штамм *Lactobacillus rhamnosus* GG в технологическом процессе и в условиях ЖКТ. Инкапсулированные пробиотики уже используются в различных ферментированных молочных продуктах, таких как йогурт, сыр, сметана, замороженные молочные десерты, для получения биомассы, а также в сухих препаратах.

Производство и потребление кисломолочных продуктов неуклонно расширяется. Однако, их ассортимент представлен в основном ферментированными продуктами, произведенными из коровьего молока. Практически не используется такая пищевая матрица, как кобылье молоко, которое имеет массу полезных свойств. Оно обладает высокой пищевой и биологической ценностью, а также максимальной усвояемостью.

Следует особо отметить, что по составу белка оно сходно с женским молоком, обладает гипоаллергенными свойствами, имеет богатый аминокислотный и витаминно-минеральный состав. Представляется, что, кобылье молоко, вследствие уникальности химического состава и свойств обладает лечебно-профилактическими свойствами и является привлекательным сырьем для производства продуктов массового потребления. Традиционный и пока единственный продукт, выпускаемый промышленностью из кобыльего молока в Казахстане — это кумыс. Однако он содержит спирт, что ограничивает круг его потребителей. Несмотря на то, что кобылье молоко по сути является казахским национальным «брендом», производству других видов кисломолочных продуктов из него уделяется мало внимания.

Использование кобыльего молока для производства функциональных продуктов питания на его основе ограничивается слабой изученностью вопросов технологии переработки молочного сырья, стабилизации химического состава и технологических свойств молока. Кроме того, это связано с сезонностью удоя и трудной доступностью. В связи с этим актуальным вопросом является использование сухого кобыльего молока в производстве кисломолочных функциональных продуктов питания.

На молочном рынке самым динамичным по росту потребления является йогурт - ферментированный продукт с высокой массовой долей сухого вещества. Существующие технологии получения йогуртов из кобыльего молока предусматривают использование только заквасочных культур, осуществляющих ферментацию. Введение в рецептуру такого йогурта специально подобранных штаммов бактерий-пробиотиков позволит отнести его к функциональным продуктам, поскольку он будет обладать не только высокими питательными, но и лечебными свойствами.

Творожная паста является хорошо сбалансированным и легкоусвояемым молочным продуктом, содержащим белок высокой степени усвояемости, что позволяет считать его универсальным продуктом, поэтому он больше всего ценен для детей, пожилых людей и спортсменов. Это незаменимый продукт полноценного и здорового рациона современного человека.

В этой связи, усовершенствование технологии и состава функциональных продуктов, на основе кобыльего молока, должно быть направлено на обеспечение благоприятных условий для бактерий при их производстве и хранении, а также при прохождении желудочного барьера, представляется достаточно актуальным.

Цель работы: Создание технологии получения продуктов из кобыльего молока, обогащенных микрокапсулированными пробиотическими бактериями.

Задачи исследования:

- Модификация питательной среды для продуцента ПУЛ *A. pullulans* C8. Получение и предварительная подготовка биополимеров для микрокапсулирования пробиотиков;
- Подбор оптимального состава пробиотических микрокапсул;
- Определение жизнеспособности микрокапсулированных пробиотиков в условиях модельного ЖКТ и температурного стресса;
- Разработка технологии получения йогурта и творожной пасты на основе сухого кобыльего молока, обогащенного пробиотическими микроорганизмами в микрокапсулированном виде;
- Определение питательной ценности, органолептических показателей и биологической безопасности кисломолочных продуктов, обогащенных микрокапсулами;
- Производственная апробация, разработка пакета документов и получение государственной регистрации для функциональных кисломолочных продуктов.

Объекты исследования: бактериальная целлюлоза, пуллулан, микрокапсулы с пробиотиком *Lactobacillus rhamnosus* GG, йогурт и творожная паста «Арғымақ» на основе сухого кобыльего молока с микрокапсулированным пробиотиком.

Предмет исследования: Определение морфологических и структурных особенностей микрокапсул; определение питательной ценности, органолептических показателей и

биологической безопасности йогурта и творожной пасты, обогащенных микрокапсулами.

Методы исследования: Получение экзополисахаридов – поверхностное и глубинное культивирование продуцентов. Микрокапсулирование – экструзия. Исследование структуры микрокапсул – растровая и сканирующая электронная микроскопия. Прочность микрокапсул – разрывная машина «Instron». Устойчивость микрокапсул к стрессовым факторам – модельный ЖКТ и повышенная температура. Физико-химические и органолептические методы оценки продукции; определение пищевой и биологической ценности проводили согласно стандартам ГОСТ.

Научная новизна результатов исследования.

- Оптимизирована новая экономически выгодная питательная среда на основе мелассы для продуцента пуллулана.
- Впервые получены симбиотические микрокапсулы, на основе альгината, БЦ и пуллулана, содержащие *Lactobacillus rhamnosus* GG.
- Установлено, что в таком составе микрокапсулы обеспечивают защиту клеток LGG от стрессовых воздействий (желчи, желудочного сока и высокой температуры).
- Подобран оптимальный режим ферментации молочной основы и способ стабилизации йогурта.

Теоретическая значимость исследований. Обозначены варианты экономически эффективного способа получения ПУЛ. Теоретически и экспериментально обоснован выбор состава микрокапсул. Представлены возможные пути использования сухого кобыльего молока. Разработаны технологические основы повышения ассортимента продуктов на основе уникального по биологической ценности молочного сырья - кобыльего молока.

Практическая ценность исследования.

Оптимизированная питательная среда на основе отходов сахарного производства – мелассы, штамм *Aureobasidium pullulans* C8 и технологические условия его культивирования могут быть использованы при масштабировании получения ПУЛ

Разработаны технологии для получения нового йогурта и творожной пасты серии «Арғымақ» на основе кобыльего молока с микрокапсулированным пробиотиком. Опытные партии йогурта и творожной пасты апробированы и выпущены на промышленном предприятии ТОО «Меридиан Групп».

Основные положения, выносимые на защиту:

- модифицированная питательная среда с мелассой для культивирования продуцента обеспечивает высокий уровень биосинтеза ПУЛ и является экономически эффективной;
- включение клеток бактерий LGG в микрокапсулы, с оболочкой из БЦ и ПУЛ повышает их жизнеспособность в модельных условиях ЖКТ;
- технологические приемы оптимизации физико-химических свойств кобыльего молока позволяют получить кисломолочные продукты (йогурт и творожная паста) с высокой массовой долей сухого вещества;
- разработанные параметры технологии и рецептуры на новые продукты из кобыльего молока с микрокапсулированными пробиотиками позволяют расширить ассортимент молочной продукции.

Основные результаты исследований и выводы:

1. Модифицирована среда Чапека-Докса для дрожжеподобного гриба *A. pullulans* C8-продуцента пуллулана. Питательная среда содержит 10% мелассы в качестве источника углерода и азота. Максимальные значения экономического коэффициента – 37,83% при уровне накопления пуллулана – 37,42 г/л.

2. Методом экструзии получены пробиотические микрокапсулы: Альгинат - 2%, альгинат 2% - БЦ 0,5%, альгинат 2% - пуллулан 2%/БЦ 0,5%. Эффективность иммобилизации клеток *L. rhamnosus* GG в Алг-ПУЛ/БЦ микрокапсулах составила 81,2-89,1%, титр жизнеспособных клеток - 10^{10} КОЕ/г. Микрокапсулы представляют собой сферы размером 2500–3400 мкм, белого цвета, с гладкой поверхностью.

3. Выживаемость инкапсулированного штамма LGG в модельных условиях ЖКТ увеличилась на 40-50% по сравнению со свободными клетками. Микрокапсулирование обеспечивало устойчивость штамма к термоинаktivации. Жизнеспособность свободных клеток составила 37,5%, тогда как выживаемость клеток LGG в микрокапсулах – 83,4%.

4. Для получения молочнокислых продуктов СКМ было восстановлено и обогащено 7,5% СМ. Для ферментации йогурта использована 1% закваска YO-MIX 601 200 DCU. В ходе исследования был выбран оптимальный режим ферментации – 5 часов при температуре 38-39°C. В качестве стабилизатора добавлен ПУЛ в количестве 1%. Для получения творожной массы была выбрана закваска «Творог» («Полезная партия»). Микрокапсулы добавляли в кисломолочные продукты в количестве 3%. Оптимальные сроки хранения продуктов с пробиотическими микрокапсулами – 28 дней.

5. Энергетическая ценность йогурта и творожной пасты – 58,8 и 125,3 ккал, соответственно. Общее количество жирных кислот в йогурте – 61,356%, а в творожной пасте – 61,649%; МНЖК – 24,799% и 24,492%; ПНЖК – 3,448% и 5,028%. Количество заменимых аминокислот в новых продуктах составило 32,31% в йогурте, и 34,06% в творожной пасте. Пул незаменимых аминокислот – 69,64% и 67,57%. В образцах йогурта и творожной пасты с микрокапсулированными пробиотиками не обнаружены: антибиотики, патогенные микроорганизмы, токсичные элементы, пестициды и радионуклиды.

6. Подготовлены пакеты нормативно-технической документации на производство йогурта и творожной пасты «Арғымак» из кобыльего молока с микрокапсулированными пробиотиками. Технология апробирована на производственном предприятии ТОО «Меридиан Групп». Продукты прошли государственную регистрацию в Евразийском Экономическом союзе, Комитета санитарно-эпидемиологического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан.

Связь с планом основных научных работ. Диссертационная работа была выполнена в рамках проекта: АР05134040 «Микрокапсулирование пробиотиков в полисахаридные матрицы для разработки функциональных продуктов питания на основе кобыльего молока».

Апробация работы.

Материалы диссертационной работы доложены и обсуждены на следующих конференциях:

- IV Международные фарабиевские чтения. Междунар. науч. конференции студентов и молодых ученых «Фараби әлемі» (10-11 апреля 2017, Алматы);
- V Международные фарабиевские чтения. Междунар. науч. конференции студентов и молодых ученых «Фараби әлемі» (10-11 апреля 2018, Алматы);
- XV Международная научно-практическая экологическая конференция «Биологический вид в структурно-функциональной иерархии биосферы» (8–12 октября 2018, Белгород, Россия);
- IEEE 9th International Conference on Nanomaterials: Applications and Properties, NAP 2019, Одесса, Украина;
- Международная научная конференция студентов и молодых ученых «Фараби Әлемі». (6-8 апреля 2023, Алматы);
- Форум “Women in Tech” (15-16 марта 2023г, Алматы);

Публикации.

По материалам диссертации опубликовано 15 работ, в том числе 3 статьи в рецензируемых зарубежных научных изданиях, индексируемых в базах данных Web of Science/Scopus с ненулевым импакт-фактором; 1 статья в международном рецензируемом научном журнале, входящем в 1 квартиль по данным JCR в Web of Science Core Collection и, имеющая в базе данных Scopus показатель процентиля по CiteScore не менее 76; 1 статья в международных рецензируемых научных журналах, входящих во 2 квартиль по данным JCR в Web of Science Core Collection; 3 статьи в республиканских журналах из перечня

Комитета по контролю в сфере образования и науки РК; 3 тезиса в материалах международных конференций; 2 патента на полезную модель и 2 Свидетельства о регистрации продуктов, выданные Евразийским Экономическим союзом, Комитета санитарно-эпидемиологического контроля Министерства здравоохранения Республики Казахстан.

Объем и структура диссертации.

Диссертационная работа изложена на 135 страницах компьютерного текста и состоит из следующих разделов: обозначения и сокращения, введение, обзор литературы, материалы и методы исследования, результаты и их обсуждение, заключение, список использованных источников из 255 наименований. Работа включает 32 таблицы, 27 рисунков и 2 приложения.