

АННОТАЦИЯ

диссертации на соискание степени доктора философии (PhD)
по специальности «6D070100 –Биотехнология»

Надировой Санам Абдуллаевны

на тему «Биотехнологические подходы к созданию кисломолочных
продуктов на основе козьего молока»

Общая характеристика работы. Работа направлена на исследование антагонистической активности и технологических характеристик новой бактериальной композиции, а также физико-химических показателей и биологической ценности полученных кисломолочных продуктов.

Актуальность темы исследования. Одними из широко потребляемых в мире продуктов питания являются кисломолочные продукты, биологические свойства которых направлены на ингибирование патогенных микроорганизмов, стимуляцию роста полезной микрофлоры кишечника и повышение иммуностимулирующих свойств. Следует отметить, что насколько бы ни был разнообразен ассортимент кисломолочных продуктов, в том числе и йогуртов, наполнителями, в основном, выступают ягоды, фрукты, злаки, а в качестве сырья в 95 % случаев используется коровье молоко.

В настоящее время в Европе и во всем мире набирают популярность продукты из козьего молока, потребление которых помогает улучшить процессы пищеварения и усвоения полезных веществ. Потребление козьего молока значительно улучшает массу тела и минерализацию скелета, а также повышает уровень витаминов, минералов и гемоглобина в сыворотке крови.

Для разработки новых кисломолочных продуктов одним из перспективных направлений является поиск уникального заквасочного материала и разработка технологий синбиотических продуктов на молочной основе, включающих оптимальную совместимость пробиотических микроорганизмов.

Модификация молочных продуктов путем введения растительных компонентов позволяет придать традиционным продуктам новые технологические свойства, экономить молочное сырье и регулировать химический состав в соответствии с современными требованиями науки о питании. Перспективным сырьем для создания кисломолочных продуктов являются ягоды. Боярышник, шиповник, рябина относятся к наиболее популярным ягодам, включающим широкий спектр биологически активных ингредиентов, таких как эфирные масла, фенольные соединения, протеолитические ферменты, витамины и микроэлементы. Учитывая эти качества, изучение совместного использования ягодных сиропов, сухого экстракта виноградной кожуры и закваски на пробиотической культуре при производстве новых кисломолочных продуктов представляет практический интерес.

В связи с этим, актуальным является разработка кисломолочной продукции, обогащенной растительными наполнителями, с пробиотическими свойствами, сохраняющей живые бактерии до конца срока годности, что дает большие преимущества для поддержания здоровья, микробиоценоза кишечника и позволит расширить ассортимент кисломолочных продуктов отечественного производства на основе козьего молока.

Цель исследования. Разработка биотехнологических подходов к созданию кисломолочных продуктов с антиоксидантными свойствами на основе козьего молока.

Задачи исследования:

1. исследование физико-химических и микробиологических показателей козьего молока;
2. выделение, генетическая идентификация штаммов молочнокислых бактерий из козьего молока местных производителей с использованием праймеров 8F и 806R;
3. подбор и обоснование композиции молочнокислых бактерий с пробиотическими свойствами;
4. обоснование дозы внесения растительных наполнителей и разработка рецептуры новых кисломолочных продуктов;
5. оценка антиоксидантных свойств кисломолочных продуктов на основе козьего молока.

Объекты исследования. Объектами исследования являлись образцы козьего молока Алматинской области; закваски для йогуртов YOMIX 495 LYO 100 DCU и YOMIX 883 LYO 50 DCU; бактериальная композиция, содержащая *Streptococcus thermophilus* TA 45 (Danisco, Германия), *Lactobacillus bulgaricus* B6 (университет пищевых технологий, г. Пловдив, Болгария); биологически активные добавки к пище: сироп «КМ – Рябина», сироп «КМ – Шиповник» (ПК «Фирма «Кызыл май», Алматы, Казахстан), сироп из плодов боярышника (ОАО «Кемеровская фармацевтическая фабрика», Россия); пищевой обогатитель «Экстракт виноградной кожуры» (Healthlife Biotechnology Co., Ltd, Китай).

Эксперименты проведены на белых крысах самцах линии «Wistar».

Предмет исследования. Оценка антагонистических и технологических характеристик бактериальной композиции для получения кисломолочных продуктов с пробиотическими свойствами на основе козьего молока отечественного производства.

Методы исследования: Методы органолептической оценки сырья и готовой продукции, ареометрический и пикнометрический методы определения плотности, титриметрический и потенциометрический методы определения кислотности, метод измерения массовой доли общего азота и массовой доли общего белка по Кьельдалю, кислотный метод определения жира по Герберу, амперометрический метод определения антиоксидантов, метод капиллярного электрофореза, микробиологические методы анализа, диффузионный метод определения антагонистической активности бактерий, метод секвенирования 16S рРНК гена по Сенгеру, метод высокоэффективной жидкостной хроматографии, атомно-абсорбционный метод определения токсичных

элементов, иммунологические методы анализа, метод Королук для определения каталазной активности в эритроцитах.

Для статистической обработки полученных результатов использовались программы «Statistica», Microsoft Excel.

Научная новизна диссертационной работы. Выделены и идентифицированы новые штаммы молочнокислых бактерий из козьего молока. На основе термофильного стрептококка, болгарской палочки и выделенного из козьего молока штамма с выраженной антагонистической активностью сконструирована бактериальная композиция, подавляющая рост болезнетворных микроорганизмов. Обосновано соотношение *Lactobacillus bulgaricus* B6, *Streptococcus thermophilus* TA 45 и *Lactobacillus fermentum* 14 в соотношении 1:5:1. Установлено положительное влияние внесенной закваски на качественные характеристики и стабильность микрофлоры в процессе хранения кисломолочных продуктов. Разработана технология производства кисломолочных продуктов из козьего молока.

Теоретическая значимость работы. Выделены молочнокислые бактерии с наиболее выраженной антагонистической активностью в отношении бактериальных тестовых культур. Создана композиция бактериальной закваски с наиболее выраженными органолептическими характеристиками и антагонистическими свойствами.

Обосновано применение ПЦР метода (RAPD) для генетической идентификации межвидового и внутривидового полиморфизма и филогенетических отношений у микроорганизмов: удобство в использовании для исследования разных видов при использовании одних и тех же праймеров; отсутствие необходимости в предварительном клонировании и секвенировании фрагментов для подбора праймеров; универсальный набор вводимых образцов и быстрое обнаружение вариативности большого числа локусов по всему геному, а также дешевизна и простота в применении.

Практическая ценность работы. Получен сертификат о депонировании пробиотической культуры *Lactobacillus fermentum* 14, выделенной из козьего молока, в Республиканской коллекции микроорганизмов (г. Астана), коллекционный номер штамма B-RCM 1020.

Проведена промышленная апробация разработанных кисломолочных продуктов на базе ТОО «ОО Казахская академия питания».

Новизна полученных результатов подтверждается тремя патентами на полезную модель РК №5613, №5614 и №8592.

Основные положения (доказанные научные гипотезы и другие выводы, являющиеся новыми знаниями), выносимые на защиту:

1. выделены и генетически идентифицированы штаммы молочнокислых бактерий с наиболее выраженными кислотообразующими свойствами из козьего молока;

2. по физико-химическим показателям и антагонистической активности обосновано использование пробиотического штамма *Lactobacillus fermentum* 14;

3. составлена бактериальная композиция с высокими органолептическими свойствами и антагонистической активностью;

4. исследованы физико-химические, микробиологические показатели и биологическая ценность готовых кисломолочных продуктов;

5. проведена оценка влияния кисломолочных продуктов на снижение токсического отравления организма животных хлоридом кадмия.

Основные результаты исследований и выводы:

1. Сравнительный анализ белкового состава козьего и коровьего молока показал следующее соотношение казеиновых белков и сывороточных белков от общего количества белка после 48 и 72 часов хранения: для козьего молока – 77,9/24,4 и 76,2/25,1, для коровьего молока – 76/25,5 и 75,5/26,2, и для обоих видов молока составляет приблизительно 3:1, что демонстрирует превосходство козьего молока перед коровьим по содержанию белка и белковому составу.

2. В результате молекулярно-генетического анализа видов нуклеотидных последовательностей определены значения для гена 16S рРНК, подтверждены данные идентификации для молочнокислых бактерий, которые проявляли лучшие кислотообразующие свойства при сквашивании молока.

3. Антагонистическую активность проявили бактериальные композиции *Lactobacillus bulgaricus* B6, *Streptococcus thermophilus* TA 45 и *Lactobacillus fermentum* 14 в соотношениях 1:5:1 и 1:10:1 в отношении тест культур *Micobacterium citreum* (32,51-35,0 мм), *Micobacterium rubrum* (31,43-32,3 мм), *Sarcina flava* U (25,71-26,9 мм), *Salmonella* Dublin (23,25-23,6 мм), а также в отношении кишечной палочки.

Однако по результатам технологических и кислотообразующих свойств исследуемых бактериальных заквасок была отобрана комбинация вышеуказанных микроорганизмов в соотношении 1:5:1.

Подобрана доза внесения закваски в количестве 3-5% от массы смеси, способствующая хорошей стабилизации pH в конце процесса созревания и во время хранения полученных продуктов. Сгусток на основе данной закваски имел нежную и однородную консистенцию.

4. Обоснована доза внесения растительных наполнителей на основе органолептических показателей и кислотообразующих свойств кисломолочных продуктов. Выявлено, что доза внесенного растительного наполнителя не оказывает существенного влияния на консистенцию образцов кисломолочных продуктов. Подобрана рецептура, составлена технологическая схема получения кисломолочных продуктов на основе козьего молока.

5. Антиоксидантная активность контрольного и опытных образцов кисломолочных продуктов, полученных на основе бактериальной композиции, была выше антиоксидантной активности опытных образцов кисломолочных продуктов, полученных на основе классической йогуртовой закваски, на 15,32% - 54,3% на начало срока годности и на 26,7% - 55,8% в конце срока годности, что может быть связано с процессами созревания и коагуляции под действием молочнокислых бактерий, накоплением ферментов и витаминов, а также с образованием водорастворимых пептидов.

5.1 На фоне отравления крыс хлоридом кадмия кисломолочные продукты, обогащенные растительными наполнителями, на основе козьего молока, оказывали благотворное влияние на общее состояние животных. Подопытные

крысы, получавшие кисломолочные продукты, были более активны, имели хороший шерстяной покров и нормальное дыхание. Положительный эффект кисломолочных продуктов был связан с нормализацией кишечной микрофлоры и улучшением работы перистальтики кишечника, о чем свидетельствовало восстановление процесса дефекации, отсутствие жидкого стула и повышение аппетита.

5.2 Общая антиоксидантная активность в гепатоцитах животных, потреблявших кисломолочные продукты, по отношению к группе 2, которая после токсического отравления не имела в рационе кисломолочные продукты, увеличилась на 12%–40,2%. Прием на фоне рациона питания крыс кисломолочных продуктов в опытных группах, способствовал повышению общей антиоксидантной активности в сыворотке крови на 17,2% – 53,4%, а также снижению уровня холестерина на 16,3% - 23,7%.

Личный вклад автора. Автор внес вклад в сбор и анализ данных, в определение цели и задач работы, в планирование и проведение экспериментов, в статистическую обработку и анализ полученных данных, в апробацию результатов исследований, подготовку публикаций, написание и оформление рукописи диссертации.

Взаимосвязь работы с программой научных исследований. Диссертационная работа выполнялась в рамках финансируемого проекта №ИРН BR06249327 «Разработка и промышленный выпуск продуктов детского и диетического питания на основе козьего молока», в соответствии с бюджетной программой 267 «Повышение доступности знаний и научных исследований» на 2018-2020 гг. (договор №43/1 от 10.09.2018 года).

Апробация и внедрение результатов исследования. Результаты исследования и основные положения диссертационной работы изложены и обсуждены на следующих международных конференциях: «AGRITECH-2019: Agribusiness, Environmental Engineering and Biotechnologies» (2019, Красноярск, РФ); «Инновационное развитие пищевой, легкой промышленности и индустрии гостеприимства» (2023, Алматы, Республика Казахстан); «Биотехнология: взгляд в будущее» (2023, Ставрополь, РФ).

Публикации результатов исследования. По теме диссертации опубликовано 14 печатных работ: 7 статей, две из которых входят в базу данных Scopus (одна из них с процентилем выше 25), 4 статьи опубликованы в журналах, рекомендованных Комитетом по обеспечению качества в сфере науки и высшего образования Министерства науки и высшего образования РК, получено три патента на полезную модель.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов собственных исследований, заключения, списка использованных источников (215 наименований). Результаты работы отражены в 40 рисунках, 46 таблицах. Общий объем диссертации составляет 157 страниц компьютерного текста, в том числе 29 страниц приложений. Список использованной литературы содержит 215 источников.