

ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

**ГОЦУЛЕНКО МАРІЯ ІГОРІВНА**

УДК 579.67: 613.29

**РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЙ ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ІНГРЕДІЄНТІВ З ПРО- І  
ПРЕБІОТИЧНИМИ ВЛАСТИВОСТЯМИ**

Спеціальність 03.00.20 – біотехнологія

**АВТОРЕФЕРАТ**  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата технічних наук

Одеса– 2008

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Одеській національній академії харчових технологій,  
Міністерство освіти і науки України.

**Науковий керівник:** доктор технічних наук, професор,  
лауреат Державної премії України,  
заслужений діяч науки і техніки України  
**Капрельянц Леонід Вікторович**,  
Одеська національна академія харчових технологій,  
кафедра біохімії, мікробіології  
та фізіології харчування,  
завідувач кафедри, проректор з наукової роботи та міжнародних  
зв'язків.

**Офіційні опоненти:** доктор технічних наук, професор  
лауреат Державної премії України,  
заслужений діяч науки і техніки України  
**Черно Наталія Кирилівна**,  
Одеська національна академія харчових технологій,  
кафедра харчової хімії, завідувач кафедри;  
  
кандидат технічних наук, доцент  
**Ямборко Ганна Валентинівна**,  
Одеський національний університет ім. І.І. Мечникова,  
кафедра мікробіології і вірусології, доцент кафедри.

Захист відбудеться 27 листопада 2008 року о 13<sup>30</sup> годині на засіданні спеціалізованої  
вченої ради Д 41.088.02 Одеської національної академії харчових технологій (65039, м. Одеса,  
вул. Канатна, 112, ауд А – 234).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Одеської національної академії  
харчових технологій за адресою: 65039, м. Одеса, вул. Канатна, 112.

Автореферат розісланий 27 жовтня 2008 року.

Вчений секретар спеціалізованої  
вченої ради, д.т.н., професор

Г. М. Станкевич

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** На сучасному етапі розвитку науки про харчування актуальними є дослідження, що орієнтовані на запобігання мікроекологічних порушень шлунково-кишкового тракту шляхом використання функціональних харчових інгредієнтів.

Корисні бактерії біоценозу шлунку людини здатні позитивно впливати на метаболізм організму та функцію імунної системи шляхом утворення неспецифічних імунномодуляторів. Тому до складу функціональних харчових продуктів включають пробіотичні мікроорганізми здебільшого лакто- та біфідобактерії, та стимулятори їх життєдіяльності – пребіотики.

Пребіотики вуглеводної природи окрім стимулюючої функції спроможні проявляти також здатність до захисту мікроорганізмів, виконуючи роль носія і допомагаючи здолати фізіологічні бар'єри організму та доставити їх в необхідні ділянки травної системи. Тому включення до складу біологічно активної добавки пробіотичних культур та пребіотичних речовин високомолекулярної вуглеводної природи може забезпечити пролонгованість дії пробіотиків та стимулювати розвиток корисної мікрофлори шлунково-кишкового тракту.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Робота виконана за тематикою міжвузівської програми науково-дослідної роботи № 1/06-П «Розробка біотехнологічних процесів цільового направлено регулювання функціональних, фізіологічних і технологічних властивостей харчових продуктів і БАД» Одеської національної академії харчових технологій (наказ Міністерства освіти і науки України № 654 от 16.11.2005 р.).

**Мета і завдання досліджень.** Метою дисертаційної роботи є розробка технологій отримання функціональних харчових інгредієнтів на основі рослинної сировини та пробіотичних мікроорганізмів.

Для досягнення вказаної мети були поставлені такі завдання:

- дослідити хімічний склад та властивості жому цукрового буряку з метою обґрунтування можливості його використання для виробництва носія;
- розробити засіб іммобілізації лактобацил та біфідобактерій на біополімерному комплексі цукрового буряку;
- дослідити вплив іммобілізації на біологічну активність лактобацил та біфідобактерій;
- дослідити захисну функцію біополімерного комплексу цукрового буряку по відношенню до лактобацил та біфідобактерій під впливом метаболітів шлунково - кишкового тракту;
- розробити умови формування функціональних харчових інгредієнтів та вивчити вплив цього процесу на пробіотичну активність лактобацил та біфідобактерій;
- вивчити функціонально-фізіологічні властивості та показники якості функціональних харчових інгредієнтів;

- розробити технологічні схеми отримання функціональних харчових інгредієнтів;
- дослідити показники якості функціональних харчових інгредієнтів в процесі зберігання;
- провести промислову апробацію розроблених технологій;
- розробити нормативну документацію на виробництво функціональних харчових інгредієнтів.

*Об'єкт дослідження* – технології отримання нових біологічно активних інгредієнтів та функціональних продуктів.

*Предмет дослідження* – біополімерний комплекс цукрового буряку, іммобілізація пробіотичних мікроорганізмів на рослинному носії; органолептичні, фізико-хімічні і мікробіологічні показники функціональних харчових інгредієнтів.

*Методи дослідження* – комплекс традиційних і сучасних біохімічних, фізико-хімічних, мікробіологічних і технологічних методів дослідження.

**Наукова новизна отриманих результатів.** Вперше надано характеристику біополімерному комплексу цукрового буряку, як носія для іммобілізації, досліджено склад формуючих його компонентів, здійснена оцінка сорбційних властивостей, обумовлюючих його фізіологічні ефекти. Обґрунтовано доцільність використання жому цукрового буряку для отримання носія на його основі. Вперше проведено іммобілізацію клітин пробіотичних мікроорганізмів на біополімерному комплексі цукрового буряку. Розроблено технології отримання функціональних харчових інгредієнтів.

Експериментально доказано можливість промислового виробництва функціональних харчових інгредієнтів. Наукову новизну роботи підтверджено двома патентами України на корисну модель № 26442 і № 31932.

**Практичне значення отриманих результатів.** Розроблено технології отримання біополімерного комплексу цукрового буряку та функціональних харчових інгредієнтів на його основі. На підставі отриманих даних розроблено нормативну документацію на виробництво біополімерного комплексу цукрового буряку (ТУ У 15.89-02071062-001:2008 і ТП) і функціонального харчового інгредієнта „Синбілан” (ТУ У 24.14-02071062-002:2008 і ТП). Апробацію отримання біополімерного комплексу цукрового буряку проведено на обладнанні науково-дослідницької лабораторії ОНАХТ, технологію отримання функціонального харчового інгредієнта „Синбілан” апробовано на науково-виробничому підприємстві «Аріадна», м. Одеса.

**Особистий внесок здобувача.** Особистий внесок полягає у виконанні аналітичної та експериментальної роботи, проведенні аналізу й узагальненні отриманих даних у вигляді висновків і рекомендацій, підготовці матеріалів досліджень до публікації, розробці нормативної

документації, організації промислової апробації розроблених технологій. Особистий внесок здобувача підтверджується представленими документами і науковими публікаціями.

**Апробація результатів дисертації.** Результати досліджень доповідались та обговорювались на наступних наукових конференціях: II-а Міжнародна науково-практична конференція «Розвиток наукових досліджень -2006» (Полтава, 2006 р.); ЙЙ-а Міжнародна науково-практична конференція «Харчові технології – 2006» ОНАХТ (Одеса, 2006 р.); IV-а Міжнародна науково-практична конференція «Наука і соціальні проблеми суспільства: харчування, екологія, демографія» (Харьків, 2006 р.); 67-а Наукова конференція ОНАХТ (Одеса 2007 р.); Конференція молодих вчених та аспірантів « Modern problems of microbiology and biotechnology» ОНУ (Одеса, 2007 р.); III-я Міжнародна конференція молодих вчених «Розмаїття живого. Екологія. Адаптація. Еволюція» (Одеса, 2007 р.); 73-я Наукова конференція молодих вчених, аспірантів та студентів «Наукові здобутки молоді – вирішенню проблем харчування людства у ЧЧІ столітті» (Київ, НУХТ, 2007 р.); 8-а Всеукраїнська конференція студентів та аспірантів «Сучасні проблеми хімії» КНУ ім. Т.Г. Шевченко (Київ, 2007 р.); Міжнародна науково-технічна конференція «Актуальні проблеми харчування: технологія та обладнання, організація і економіка» (Донецьк, 2007 р.); ЙЙЙ-я Міжнародна науково-практична конференція «Наукові дослідження – теорія та експеримент 2007» (Полтава, 2007 р.); Міжнародна науково-практична конференція «Биотехнология. Вода и пищевые продукты» (Москва, 2008 р.).

**Публікації.** Результати дисертаційної роботи опубліковано у 18-ти друкованих працях, з них 3 статті у фахових наукових виданнях, 1 стаття у науковому виданні, 12 тез доповідей в матеріалах наукових і науково-практичних конференцій, 2 патенти України на корисну модель № 26442 і № 31932.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота складається зі вступу, чотирьох розділів, висновків, списку літературних джерел та додатків. Зміст роботи викладено на 111 сторінках, включаючи 32 рисунки (18 сторінок), 16 таблиць (8 сторінок). Робота містить 247 найменувань використаних літературних джерел (26 сторінок) та 12 додатків (61 сторінка).

## ***ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ***

*У вступі обґрунтовано актуальність теми, визначено мету роботи та її завдання, показано наукову новизну і практичну цінність отриманих результатів, наведено відомості стосовно особистого внеску автора, апробації результатів дисертації.*

У першому розділі узагальнено дані сучасної наукової та патентної літератури. Розглянуто інформацію про сучасні потреби ринку України в функціональних продуктах харчування профілактичного та лікувального напрямку. Підтверджено доцільність збільшення об'єму виробництва функціональних продуктів. Встановлено шляхи з застосування не тільки традиційної сировини для виробництва пребіотиків та носія для клітин мікроорганізмів, але і нових джерел для них – продуктів вторинної переробки рослинної сировини.

Виявлено основні тенденції в формуванні технологій отримання функціональних харчових інгредієнтів. Розглянуто сучасні технологічні аспекти виробництва пребіотичних компонентів та функціональних продуктів з пробіотичною складовою. Підтверджено необхідність введення в раціон харчування поліфункціональних інгредієнтів володіючих загальним спектром дії на весь організм людини, а також доцільних у використанні під час лікування розладів шлунково-кишкового тракту,

У другому розділі надано відомості про об'єкти та методи досліджень. Наведено структурну схему, яка відображає основні напрямки та взаємозв'язок головних етапів роботи (рис.1).

Об'єктом досліджень стали технології отримання нових біологічно активних інгредієнтів з про- і пребіотичними властивостями. В якості сировини та складових для отримання функціональних інгредієнтів було обрано жом цукрового буряку, біополімерний комплекс цукрового буряку – носій, молочна суміш з біополімерним комплексом цукрового буряку, чисті культури біфідобактерій та лактобацил, що наявні в колекції музею кафедри біохімії, мікробіології та фізіології харчування ОНАХТ: *Lactobacillus acidophilus* – Ер- 317/402, *Bifidobacterium adolescentis* – С-52, *Bifidobacterium bifidum* – 1.

Основні дослідження були проведені в лабораторіях кафедри біохімії, мікробіології та фізіології харчування, окремі дослідження проводились у лабораторіях кафедри фізичної та колоїдної хімії, технології комбікормів ОНАХТ; у лабораторіях кафедри мікробіології та вірусології Одеського національного університету ім. І.І. Мечникова, в лабораторії біохімії Одеського селекційно-генетичного інституту Національного центру насіннєзнавства та сортовивчення УААН, і в Інституті теплофізики НАН України (м. Київ).

У дослідженнях використовували як стандартні, так і оригінальні методи з застосуванням сучасних біохімічних, фізико-хімічних, мікробіологічних та технологічних методів досліджень. Промислову апробацію і випуск дослідної партії розроблених продуктів проводили на науково-виробничому підприємстві «Аріадна», м. Одеса.

У третьому розділі наведено результати власних експериментальних досліджень. На

першому етапі розроблено метод отримання носія для іммобілізації. Обрана сировина для носія, жом цукрового буряку, є джерелом функціональних компонентів (пектинові речовини, целюлоза, геміцелюлози), але не відповідає за показниками якостям властивим носіям рослинного походження. Жому властиві низька здатність до сорбції водних розчинів – водоутримуюча здатність становить 5,23 г води/г зразка, адсорбція водних розчинів –  $0,18 \cdot 10^{-3}$  кмоль/кг та низькі органолептичні властивості – сірий колір, неприємний смак та запах.

Аналіз хімічного складу та властивостей нативної сировини – жому цукрового буряку дозволив спрямувати дослідження на створення носія.

Модифікація жому складається з таких етапів: лужна обробка; декантування; обробка перексидом водню; декантування; промивання; фільтрування та сушіння. Масова доля лугу не перевищує 0,1 %, а перексиду водню – 0,73 %, температура обробки 60...65°C, тривалість обробки лугом 20...30 хв, перекисом водню – 1,5...2 години.

Доцільність та ефективність проведеної модифікації встановлено шляхом оцінки змін біополімерного складу, сорбційних, органолептичних та структурних характеристик бурякового жому.

В табл. 1 наведено біополімерний склад бурякового жому до та після його модифікації. Властивості рослинних комплексів як носіїв для іммобілізації біологічних активних речовин та мікроорганізмів залежать, зокрема, від кількісного та якісного складу біополімерів, які формують їх структуру.

Умови обробки жому цілеспрямовані на перетворення кількісного складу компонентів, відповідальних за гідрофільні властивості жому: лігнін, целюлоза, пектинові речовини. Встановлено зменшення на 4,8 % вмісту лігніну, найменш гідрофільної речовини, присутність якої забезпечує жорсткість структури рослинної клітини.

**Таблиця 1**

**Біополімерний склад рослинної сировини (в % від абс. сухої сировини)  
(n = 3, P ≥ 0,95)**

| Компонент          | Жом<br>цукрового буряку | Біополімерний комплекс<br>цукрового буряку |
|--------------------|-------------------------|--------------------------------------------|
| Геміцелюлози       | 36,5                    | 45,9                                       |
| Целюлоза           | 21,7                    | 21,3                                       |
| Пектинові речовини | 26                      | 20,5                                       |
| Лігнін             | 5,1                     | 0,3                                        |
| Білок              | 8,9                     | 8,3                                        |

Параметри проведення модифікації дозволяють зберегти значну кількість пектинових речовин, вміст яких становить 20,5 % (рис. 2а).

Отримані дані також свідчать про доцільність використання м'яких умов модифікації жому, при яких втрати продукту становлять не більше 14,8 % (рис. 2б).

На підставі перерозподілу складових біополімерного комплексу та враховуючи присутність великої кількості полісахаридів – 87,7 % (пектинові речовини, целюлоза, геміцелюлози) визначено можливість використання жому в якості складової чи окремого функціонального інгредієнту, здатного до прояву функціонально-фізіологічних та пребіотичних властивостей по відношенню до біоценозу людини. Окрім змін біополімерного складу, встановлено покращення органолептичних показників якості жому. Після термохімічної модифікації він отримав приємний солодкий присмак та світло-кремовий колір.

Метою модифікації є отримання носія для лакто- та біфідобактерій, головною характеристикою якого обрано здатність до сорбції клітин мікроорганізмів. Для оцінки цього показника встановлено гідрофільність біополімерного комплексу, визначено спроможність до адсорбції водних розчинів, яка дорівнює  $0,72 \cdot 10^{-3}$  кмоль/кг, водоутримуюча здатність – 7,87 г води / г та кількістю «зв'язаної» вологи (рис. 3, 4).

Встановлення співвідношення різновидів вологи у сировині здійснювалося шляхом диференціальної скануючої калориметрії (рис. 3). Результати досліджень свідчать про збільшення кількості «зв'язаної» вологи в складових жому після модифікації на 0,08 г / г води. Підвищення гідрофільності біополімерного комплексу залежить від поверхневої характеристики волокна, а присутність даного виду вологи є результатом наявності пор у структурі матеріалу.

Для виявлення структурних відмінностей рослинного біополімерного комплексу проведено електронну мікроскопію сировини різного дисперсійного складу, яка надає найбільш наглядну інформацію про структуру гетерогенного капілярного носія, який прийнято ідентифікувати з масштабом розрядження, тобто пор.

Аналіз часток модифікованого продукту виявив присутність каркасної структури сировини та більш розгалуженої системи пор, у порівнянні з жомом (рис. 5 а, б).

На подальше використання біополімерного комплексу як носія клітин мікроорганізмів суттєво впливає його дисперсійний склад. Встановлено, що зменшення розміру часток носія до 0,25...0,5 мм забезпечує наявність більшої кількості пор завдяки збільшенню площі поверхні носія.

Наступним етапом роботи є дослідження одержання функціонального інгредієнту шляхом здійснення послідовної іммобілізації при сумісному культивуванні бактерій на носії – біополімерному комплексі цукрового буряку (рис. 6 а, б). З метою вироблення нових синбіотичних біологічно активних добавок проведено підбір пробіотичної складової, в якості

якої обрані *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium bifidum* та *Lactobacillus acidophilus*.

На першій стадії іммобілізації до живильного середовища для культивування молочнокислих та біфідобактерій додається носій. В отриману суміш вносили закваски культур *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium bifidum*, і культивували при температурі  $37 \pm 1$  °C. Після 18...24 годин культивування біфідобактерій до суміші вносили закваску *Lactobacillus acidophilus* та продовжували процес ферментації 18...24 години сумісно (рис. 5).

Сумісне культивування лакто- та біфідобактерій і рослинного біополімерного комплексу проводили послідовно, коригуючи таким чином низьке значення рН середовища створеного молочною кислотою – метаболітом життєдіяльності лактобацил.

У результаті досліджень встановлено, що співвідношення 1:10 носія до поживного середовища має стимулюючу дію на репродуктивні властивості мікроорганізмів. Життєздатність лактобацил склала  $(3...5) \cdot 10^9$  КУО/см<sup>3</sup>, біфідобактерій  $(2...5) \cdot 10^9$  КУО/см<sup>3</sup>, в порівнянні з контролем –  $(5...7) \cdot 10^7$  КУО/см<sup>3</sup> для лактобацил та  $(2...5) \cdot 10^8$  КУО/см<sup>3</sup> для біфідобактерій. Отримані дані свідчать також, що носій впливає на процес культивування пробіотичних мікроорганізмів, виявляє пребіотичні властивості, селективно стимулюючи ріст та активність мікроорганізмів.

Згідно з розробленою методикою досліджено динаміку накопичення та іммобілізації лакто- і біфідобактерій на біополімерному комплексі цукрового буряку з різним дисперсійним складом носія (рис. 7 а, б).

На підставі експериментальних даних встановлено залежності накопичення клітин мікроорганізмів від структурних характеристик біополімерного комплексу. Виявлено, що більш ефективно іммобілізація пробіотичних мікроорганізмів здійснюється на носії з розміром часток 0,25...0,5 мм, кількість адсорбованих клітин при цьому становить  $(3...5) \cdot 10^9$  КУО/см<sup>3</sup> лактобацил та  $(2...5) \cdot 10^9$  КУО/см<sup>3</sup> біфідобактерій.

Проведено електронне мікроскопіювання часток носія з клітинами (рис. 8).

На основі електронного мікроскопіювання та мікробіологічних методів доведено присутність у порах природного носія великої кількості клітин, що становить  $(3...5) \cdot 10^9$  КУО/см<sup>3</sup> для лактобацил та  $(2...5) \cdot 10^9$  КУО/см<sup>3</sup> біфідобактерій.

Дослідження резистентності іммобілізованих клітин мікроорганізмів після іммобілізації до агресивних середовищ шлунку визначалась шляхом експозиції отриманого продукту в умовах *in vitro*, що відтворюють рН середовища шлунково-кишкового тракту. Життєздатність клітин для лакто- та біфідобактерій після впливу хлорводневої кислоти становить для лактобацил  $(1...3) \cdot 10^8$  КУО/см<sup>3</sup>, для біфідобактерій  $(2...5) \cdot 10^8$  КУО/см<sup>3</sup> (рис. 9).

Таким чином, розроблено наукові основи модифікації бурякового жому та процесу іммобілізації лакто- та біфідобактерій на ньому, що дозволило обґрунтувати технологічні

підходи створення функціональних інгредієнтів з про- і пребіотичними властивостями.

У **четвертому розділі** з огляду на отримані результати досліджень оптимізовано умови проведення модифікації бурякового жому та іммобілізації на отриманому носії пробіотичних мікроорганізмів при сумісному культивуванні. Технологічна схема виробництва функціональних харчових інгредієнтів наведена на рис. 10.

Технологічні параметри для модифікації жому цукрового буряку становлять: масова доля лугу 0,1 % (співвідношення жом : розчин лугу 1:9) та масова доля пероксиду водню – 0,73 % (співвідношення жом : розчин пероксиду водню 1:1), температурний режим модифікації – 60...65°C, термін обробки розчином лугу 20...30 хв, а перексидом водню – 1,5...2 години.

Біополімерний комплекс цукрового буряку вироблено у вигляді порошку, який має світло-кремовий колір, з солодкуватим присмаком, термін придатності продукту не менш 12 місяців, при температурі зберігання  $18 \pm 1$  °C. Дисперсійний склад порошку – 0,25...0,5 мм.

З урахуванням експериментальних даних розроблено технологічну схему отримання функціональних харчових інгредієнтів. Носій вносили в поживне середовище (стерильне молоко) у співвідношенні 1:10 та заквашувальний матеріал у кількості 1:20 посівної дози інокуляту від об'єму субстрату для розвитку клітин. Отриману суміш після культивування ліофілізували.

Сухий препарат таблетували при температурі  $45 \pm 1$  °C, тиск становить 30 МПа протягом 10 хвилин. Таблетована форма продукту містить  $7 \cdot 10^8$  КУО/г лактобацил та  $5 \cdot 10^8$  КУО/г біфідобактерій, що відповідає пробіотичній дозі для даного виду препаратів. Термін зберігання не менше 9 місяців при температурі  $4 \pm 2$  °C.

Проведено промислову апробацію функціональних інгредієнтів з про- і пребіотичними властивостями на науково-виробничому підприємстві «Аріадна», м. Одеса, апробацію отримання біополімерного комплексу цукрового буряку проведено на обладнанні науково-дослідницької лабораторії ОНАХТ.

На отримані функціональні продукти розроблено нормативну документацію, вироби отримали назву – біополімерний комплекс цукрового буряку (ТУ У 15.89-02071062-001:2008 і ТІ) і функціональний харчовий інгредієнт „Синбілан” (ТУ У 24.14-02071062-002:2008 і ТІ).

Здійснено медико-біологічні дослідження функціональних інгредієнтів *in vivo*. Встановлено здатність запропонованих продуктів нормалізувати кишкову мікрофлору при постійному вживанні та включенні до раціону харчування.

## ВИСНОВКИ

На підставі теоретичних та експериментальних досліджень розроблено технологічні основи виробництва функціональних харчових інгредієнтів. Визначено шляхи модифікації

жому цукрового буряку та іммобілізації пробіотичних мікроорганізмів на отриманому носії, здатного забезпечити транспортно-захисні функції по відношенню до бактерій.

1. Встановлено, що модифікація бурякового жому розчином лугу масової долі 0,1 % в співвідношенні жом : розчин лугу 1:9 протягом 20...30 хвилин та перекисом водню – 0,73 % в співвідношенні жом : розчин пероксиду водню 1:1 впродовж 1,5...2 годин при температурі 60...65 °C, забезпечує збереження 87,7 % полісахаридів та покращення органолептичних властивостей рослинного біополімерного комплексу.
2. Здійснено оцінку здатності біополімерного комплексу цукрового буряку до сорбції водних розчинів. Визначено показник адсорбції водних розчинів, який становить  $0,72 \cdot 10^{-3}$  кмоль/кг, водоутримуюча здатність – 7,87 г води/ г та кількість «зв'язаної» вологи, яка дорівнює 0,82 г /г води.
3. Створено та обгрунтовано умови іммобілізації при сумісному культивуванні *Lactobacillus acidophilus* та *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium bifidum* на носії. Культивування проводилось при температурі  $37 \pm 1$  °C, співвідношення субстрату та носія – 1:10, об'єм заквашувального матеріалу становить у кількості 1:20 посівної дози інокуляту до об'єму субстрату. Оптимальний термін іммобілізації для лактобацил – 24 години, для біфідобактерій – 45 годин.
4. Досліджено вплив носія при сумісному культивуванні з пробіотиками на репродуктивність мікроорганізмів, яка дорівнює для лактобацил –  $(3...5) \cdot 10^9$  КУО/см<sup>3</sup> та  $(2...5) \cdot 10^9$  КУО/см<sup>3</sup> для біфідобактерій. Вивчено динаміку накопичення клітин на біополімерному комплексі цукрового буряку. Визначено оптимальний дисперсійний склад носія для іммобілізації – 0,25 мм при співвідношенні до поживного середовища 1:10.
5. В експериментах *in vitro* встановлено захисну функцію біополімерного комплексу цукрового буряку по відношенню до життєздатності пробіотичних мікроорганізмів, репродуктивність яких після іммобілізації в присутності метаболітів шлунково-кишкового тракту (шлунковий сік, жовч) становить для лактобацил  $(1...3) \cdot 10^8$  КУО/ см<sup>3</sup>, та  $(2...5) \cdot 10^8$  КУО/ см<sup>3</sup> для біфідобактерій .
6. Розроблено технологічний регламент виготовлення функціональних харчових інгредієнтів та визначено терміни придатності отриманих продуктів. Термін зберігання біополімерного комплексу цукрового буряку складає 12 місяців при температурі  $18 \pm 1$  °C. Для функціонального

харчового інгредієнту «Синбілан» – не більш 9 місяців при температурі  $4 \pm 2$  °C, продукт містить  $7 \cdot 10^8$  КУО/г лактобацил та  $5 \cdot 10^8$  КУО/г біфідобактерій, що відповідає пробіотичній дозі для даного виду препаратів.

7. Розроблена нормативна документація на виробництво функціональних харчових інгредієнтів: біополімерний комплекс цукрового буряку ТУ У 15.89-02071062-001:2008 та функціонального харчового інгредієнту «Синбілан» ТУ У 24.14-02071062-002:2008. Промислова апробація функціонального харчового інгредієнту «Синбілан» проведена на науково-виробничому підприємстві «Аріадна», м. Одеса. Апробацію отримання біополімерного комплексу проведено на обладнанні науково-дослідницької лабораторії ОНАХТ.
8. Проведено медико-біологічні дослідження функціональних інгредієнтів *in vivo*. Встановлено здатність запропонованих продуктів нормалізувати кишкову мікрофлору при постійному вживанні та включенні до раціону харчування. Наукова новизна досліджень захищена двома патентами України на корисну модель.

## ПЕРЕЛІК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Гоцуленко М.І. Исследование биологической активности синбиотической БАД / М.І. Гоцуленко, Л.В. Капрельянц // Наук. пр. ОНАХТ. – Одеса, 2007. – Вип. 31. – Т. 2. – С. 163 – 166.

*Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку.*

2. Гоцуленко М.І. Рослинний синбіотичний комплекс / М.І. Гоцуленко, Л.В. Капрельянц // Обладнання та технології харчових виробництв: Темат. зб. наук. пр. – Донецьк: ДонНУЕТ, 2007. – Вип. 17, Т. 1. – С. 70 – 74.

*Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку.*

3. Капрельянц Л.В. Дослідження властивостей біополімерів жому цукрового буряку / Л.В. Капрельянц, В.М. Тіщенко, М.І. Гоцуленко // Прогресивні техніка та технології харчових виробництв ресторанного господарства і торгівлі: Зб. наук. пр. Харк. держ. ун-т харчування та торгівлі. – Харків, 2007. – Вип. 1 (5). – С. 59 – 63.

*Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення*

*отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку.*

4. Пат. 26442. Україна, МПК A23L 1/0524. Спосіб одержання харчової добавки з адсорбивною здатністю / Л.В. Капрельянц, М.І. Гоцуленко – № у 2007 03843; заявл. 06.04.2007; опубл. 25.09.2007, Бюл. № 15.

5. Пат. 31932. Україна, МПК C12N 11/00. Спосіб одержання синбіотичної біологічно активної добавки/ Л.В. Капрельянц, М.І. Гоцуленко – № у 2007 14539; заявл. 24.12.2007; опубл. 25.04.2008, Бюл. № 8.

6. Капрельянц Л.В. Влияние растительного субстрата на культивирование пробиотических микроорганизмов / Л.В. Капрельянц, М.И. Гоцуленко // Развитие научных исследований – 2006: Мат. ЙЙ міжн. наук–практ. конф.– Полтава, 2006. – Т. 5. – С. 23 – 25.

*Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку.*

7. Гоцуленко М.И. Биологически активные пробиотические добавки на растительном носителе / М.И. Гоцуленко, Л.В. Капрельянц // Мікробні біотехнології: Тез. Доп. міжн. наук. конф. – Одеса, 2006. – С. 118.

*Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку.*

8. Гоцуленко М.И. Комплексная пробиотическая биологически активная добавка / М.И. Гоцуленко, Л.В. Капрельянц // Наука і соціальні проблеми суспільства: харчування, екологія, демографія: Тез. доп. IV міжн. наук-практ. конф. – Харків: ХДУХТ, 2006. – Ч. 1. – С. 78 – 80.

*Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку.*

9. Гоцуленко М.И. Пищевая добавка с пробиотической активностью / М.И. Гоцуленко, Л.В. Капрельянц // Харчові технології -2006: Тез. доп. II міжн. наук.-практ. конф. – Одеса, 2006. – С. 55.

*Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку.*

10. Капрельянц Л.В. Исследование влияния иммобилизации на биологическую активность пробиотика / Л.В. Капрельянц, М.И. Гоцуленко // Продукты и ингредиенты. – Київ, 2007. – № 11 (42). – С. 12 – 13.

*Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку.*

11. Гоцуленко М.И. Комплексна переробка жому цукрового буряку / М.И. Гоцуленко, Л.В. Капрельянц // Наукові дослідження – теорія та експеримент 2007: Мат. третій міжн. наук-

практ. конф. – Полтава, 2007. – Т.6. – С.86 – 87.

*Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку.*

12. Гоцуленко М.И. Получение модифицированного биополимерного комплекса растительного сырья // Студентська наук.-практ. конф.: Зб. наук. пр. молодих вчених, аспірантів та студентів. – Одеса, 2007. – С. 140 – 142.

*Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку.*

13. Гоцуленко М.И. Дослідження умов іммобілізації *Lactobacillus acidophilus* на рослинному носії / М.И. Гоцуленко, Л.В. Капрельянц // Наукові здобутки молоді – вирішенню проблеми харчування людства у ЧЧІ столітті: Мат. 73-ій наук. конф. молодих вчених, аспірантів та студентів. – К.: НУХТ, 2007. – Ч. ІІІ. – С. 82.

*Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку.*

14. Gotsulenko M. The cultivation of probiotic cell with carbohydrate prebiotic / M. Gotsulenko, L. Kaprelyants // Modern problems of microbiology and biotechnology: Book of abstracts of The young scientists and students international scientific conference. – Odesa, 2007. – P. 146

*Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку.*

15. Gotsulenko M. Protection of probiotic cells by immobilization / M. Gotsulenko, L. Kaprelyants // Biodiversity. Ecology. Adaptation. Evolution: Book of abstracts of Proceedings of the III International Young scientists conference. – Odesa, 2007. – P. 151.

*Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку.*

16. Гоцуленко М.И. Сорбційні властивості БАД на основі жому цукрового буряку / М.И. Гоцуленко, Л.В. Капрельянц // Сучасні проблеми хімії: Зб. тез доп. восьмої всеукр. конф. студентів та аспірантів. – Київ, 2007. – С. 188.

*Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку.*

17. Гоцуленко М.И. Перспективи використання рослинної сировини як компонента БАД / М.И. Гоцуленко, Л.В. Капрельянц // Актуальні проблеми харчування: технологія та обладнання, організація і економіка: Тез. доп. міжн. наук.-техн. конф. – Донецьк : ДонНУЕТ, 2007. – С. 8.

*Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку.*

18. Гоцуленко М.И. Получение БАД синбиотика / М.И. Гоцуленко, Л.В. Капрельянц // Биотехнология. Вода и пищевые продукты: Мат. міжнар. наук.-практ. конф. – М. : РХТУ им. Д.И. Менделеева, 2008. – С. 222.

*Особистий внесок: проведення досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку.*

## АНОТАЦІЯ

**Гоцуленко М.І. Розробка технологій функціональних інгредієнтів з про- і пребіотичними властивостями. – Рукопис.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія. – Одеська національна академія харчових технологій Міністерства освіти і науки України, Одеса, 2008.

Дисертація присвячена науковому обґрунтуванню та розробці технологій функціональних інгредієнтів з про- і пребіотичними властивостями.

На першому етапі роботи досліджено можливість використання жому цукрового буряку в якості сировини для отримання окремого функціонального інгредієнту та носія для бактерій. З огляду на проаналізований біополімерний склад, органолептичні властивості та здатності до сорбції водних розчинів сировини розроблено технологію модифікації бурякового жому з подальшим отриманням біополімерного комплексу цукрового буряку.

Розроблено технологію отримання функціональних інгредієнтів з про- і пребіотичними властивостями, де в якості пробіотичної складової обрано *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium bifidum*, а в якості носія та пребіотика біополімерний комплекс цукрового буряку.

Експериментально оптимізовано склад поживного середовища для культивування при сумісній іммобілізації лактобацил як окремо, так і з біфідобактеріями в присутності носія. Доведена доцільність використання біополімерного комплексу рослинної природи в якості пребіотика та відсутність його негативного впливу на біологічну активність та репродуктивність клітин лактобацил  $(3...5) \cdot 10^9$  КУО/см<sup>3</sup> і  $(2...5) \cdot 10^9$  КОЕ/см<sup>3</sup> для біфідобактерій.

У лабораторіях та промислових приміщеннях доведено функціональну активність створених продуктів. Отримані продукти володіють функціонально-фізіологічними властивостями та пробіотичною активністю. Визначено гарантійний термін придатності споживання функціональних інгредієнтів. Термін придатності біополімерного комплексу цукрового буряку – 12 місяців при  $18 \pm 1$  °С, для препарату «Синбілан» не менш 9 при  $4 \pm 2$  °С.

Кількість життєздатних клітин лактобацилл становить  $7 \cdot 10^8$  КУО/ г, для біфідобактерій  $5 \cdot 10^8$  КУО/ г.

**Ключові слова:** лактобацили, біфідобактерій, пробіотики, пребіотики, біополімерний комплекс, жом цукрового буряку, носій, функціональні інгредієнти.

## АННОТАЦИЯ

**Гоцуленко М.И. Разработка технологий функциональных ингредиентов с про- и пребиотическими свойствами.** – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 03.00.20 – биотехнология. – Одесская национальная академия пищевых технологий Министерства образования и науки Украины, Одесса, 2008.

Диссертация посвящена научному обоснованию и разработке технологий функциональных ингредиентов с про- и пребиотическими свойствами.

На первом этапе работы исследована возможность использования вторичного продукта переработки свеклосахарного производства – жома сахарной свеклы в качестве носителя для пробиотических микроорганизмов и ценного источника функциональных пищевых компонентов – полисахаридов, способных влиять на ферментативный гидролиз метаболитов желудочно-кишечного тракта.

Учитывая анализ биополимерного состава, органолептических показателей и структурных характеристик свекловичного жома, разработана технология его термохимической модификации с дальнейшим получением биополимерного комплекса сахарной свеклы с улучшенными сорбционными и органолептическими свойствами.

Применяемая обработка обеспечивает сохранение 87,7 % полисахаридов, включая важный функциональный компонент, для создания носителя с хорошо развитой связующей способностью – пектиновые вещества 20,5 % , а также целлюлозу, гемицеллюлозы.

Впервые разработана технология получения функциональных ингредиентов с про- и пребиотическими свойствами, где в качестве пробиотической составляющей выбраны классические представители желудочно-кишечного тракта человека – *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium bifidum*, а носитель – биополимерный комплекс сахарной свеклы, соответствующий по своему биополимерному составу пребиотику.

Определены оптимальные условия культивирования, при совместной иммобилизации, лакто- и бифидобактерий на носителе, исследована динамика накопления пробиотических микроорганизмов. Выявлен оптимальный дисперсионный состав – 0,25 мм и массовое

соотношение биополимерного комплекса к питательной среде – 1:10 для реализации культивирования. Для устранения воздействия со стороны метаболитов лактобацилл выбран последовательный способ их культивирования при совместной иммобилизации с бифидобактериями.

Путем электронной микроскопии биополимерного комплекса сахарной свеклы с иммобилизованными в его структуре пробиотическими микроорганизмами, подтверждена эффективность процесса иммобилизации.

Подтверждена целесообразность использования биополимерного комплекса сахарной свеклы в качестве пребиотика, оказывающего стимулирующее воздействие на репродуктивность клеток лактобацилл –  $(3...5) \cdot 10^9$  КОЕ/см<sup>3</sup> и  $(2...5) \cdot 10^9$  КОЕ/см<sup>3</sup> для бифидобактерий.

Установлено присутствие протекторной функции носителя в отношении иммобилизованных на носителе пробиотиков, способного к снижению воздействия метаболитов желудочно-кишечного тракта (соляной кислоты, желчи) на их активность. Репродуктивность лактобацилл после экспозиции в условиях имитирующих желудочно-кишечный тракт составила  $(1...3) \cdot 10^8$  КОЕ/ см<sup>3</sup>, и  $(2...5) \cdot 10^8$  КОЕ/ см<sup>3</sup> для бифидобактерий.

Из анализа полученных результатов можно сделать вывод о сохранение репродуктивности пробиотических микроорганизмов после воздействия на них агрессивных сред кишечника, что обеспечивает в дальнейшем успешную трансплантацию клеток к стенкам слизистой.

Возможность производства функциональных ингредиентов подтверждена в ходе промышленной апробации. Полученные продукты отвечают необходимым санитарно-гигиеническим нормам, проведены медико-биологические исследования.

Разработанные технологии позволяют производить продукты, обладающие рядом функционально-физиологических свойств и пробиотической активностью в отношении биоценоза пищеварительной системы и способные к устранению нарушений и коррекции микрофлоры кишечника.

Срок хранения для биополимерного комплекса сахарной свеклы – 12 месяцев при  $18 \pm 1$  °С, для функционального пищевого ингредиента «Синбилан» не менее 9 при  $4 \pm 2$  °С со дня выработки. Количество жизнеспособных клеток в функциональном продукте составила: лактобацилл  $7 \cdot 10^8$  КОЕ/ г, бифидобактерий –  $5 \cdot 10^8$  КОЕ/ г

**Ключевые слова:** лактобациллы, бифидобактерии, пробиотики, пребиотики, жом сахарной свеклы, биополимерный комплекс сахарной свеклы, носитель, функциональные ингредиенты.

## SUMMARY

**Gotsulenko M.I. Development of technologies of functional ingredients with pro- and prebiotic properties.** – The manuscript.

Dissertation for obtaining the scientific degree of the Candidate of Technical Science on the specialty 03.00.20 – Biotechnology. – Odessa National Academy of Food Technologies, the Ministry of Education and Science of the Ukraine, Odessa, 2008.

The dissertation is devoted to the scientific ground and development of technologies of functional ingredients with pro- and prebiotic properties.

At the first stage of work possibility of use of the by-product processing of sugar beet production is explored – bagasse of sugar beet as a transmitter for probiotic microorganisms. According the analysis of biopolymer structure of bagasse, his organoleptick indexes and structural descriptions, technology of modification with the further receipt of biopolymer complex of sugar beet with the improved sorbet and organoleptick properties is developed.

Firstly the technology of reception of functional ingredients with pro- and prebiotic properties was developed. In this *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium adolescentis*, *Bifidobacterium bifidum* was chosen as a probiotic and as a carrier – biopolymer complex of sugar beet.

The optimum terms of cultivation at joint immobilization lacto- and bifidobacterium on a carrier are defined. The successive method of cultivation of lactobacillus and bifidobacterium at joint immobilization was chosen. The expedience of the use of the biopolymer complex of sugar beet as prebiotic, rendering stimulant influence on reproductive of cages –  $(1...3) \cdot 10^8$  CFU/sm<sup>3</sup> for lactobacillus and  $(2...5) \cdot 10^8$  CFU/sm<sup>3</sup> for bifidobacterium was confirmed.

The possibility of production of functional ingredients is confirmed during industrial approbation. The received products possess functional-physiological properties and probiotic activity. Term of storage for the biopolymer complex of sugar beet – 12 months at  $18 \pm 1$  °C, for the functional food ingredient «Sinbilan» is no less than 9 months at  $4 \pm 2$  °C. The quantity of viable cages in a product: lactobacillus  $7 \cdot 10^8$  CFU/g, bifidobacterium –  $5 \cdot 10^8$  CFU/g.

**Key words:** lactobacillus, bifidobacterium, probiotic, prebiotic, biopolymer complex, bagasse of sugar beet, carrier, functional ingredients.



---

Підписано до друку 24.10.2008 р. Формат 60Ч90/16

Ум-друк. арк 0,9. Замовлення № 1024.

Тираж 100 прим.

Віддруковано з готового оригінал-макету у ТОВ Копіцентр «Персей».

65026, м. Одеса, пр. Шевченка, 6/3

Свідоцтво № 25417273.