

ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ



НЕГРУ ІВАН ФЕДОРОВИЧ

УДК [602.42:577.152.3]:66.023.3-035.67

**ТЕХНОЛОГІЯ ОТРИМАННЯ
ЛІКОПІНОВМІСНИХ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ
ДОБАВОК**

Спеціальність 03.00.20 – біотехнологія (технічні науки)

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата технічних наук

Одеса– 2010

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 і фізіології харчування,
завідувач кафедри, проректор з наукової роботи
та міжнародних зв'язків.

Офіційні опоненти: - доктор технічних наук, доцент
Крусір Галина Всеволодівна,
Одеська національна академія харчових технологій,
кафедра екології харчових продуктів та виробництв,
завідувач кафедри;

- доктор технічних наук, професор
Перцевий Федір Всеволодович,
Харківський державний університет харчування та торгівлі,
кафедра технології продуктів харчування,
професор кафедри.

Захист відбудеться *9 грудня 2010 року о 13.30 годині* на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 41.088.02 Одеської національної академії харчових технологій за адресою (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 *8 листопада 2010 року*.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради



Г.М. Станкевич

д.т.н., професор

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Одним з найважливіших завдань кожної країни повинно бути збереження здоров'я та працездатності населення, збільшення тривалості та поліпшення якості життя своїх громадян. Саме тому поширення асортименту корисних для здоров'я продуктів є пріоритетним напрямком у харчовій промисловості України. Актуальність такої стратегії в галузі харчування зумовлена об'єктивними причинами: погіршенням екологічних умов життя, зміною якості їжі, що призводить до сталого дефіциту споживчих нутрієнтів у ній.

Рішення проблеми вимагає створення та активного впровадження у сучасну структуру харчування біологічно активних речовин, які за своїм складом заповнюють дефіцит харчових речовин та здатні ефективно захистити організм від негативного біологічного та техногенного впливу оточуючого середовища.

Успіхи мікробіології і біотехнології мають особливе значення в досягненні цієї мети тому, що дозволяють перевести технологічні процеси на якісно новий рівень, який передбачає використання м'яких режимів обробки рослинної сировини, котрі дозволяють зберігати природні біологічно активні речовини і нутрієнти.

У даний час велика увага приділяється технологіям отримання лікопіну з томатної сировини. Відомо, що лікопін є могутнім антиоксидантом, здатним підсилювати захисні функції організму, він сприяє гальмуванню дегенеративних процесів у тканинах, знижує ризик ініціації і розвитку онкологічних захворювань, серцево-судинних і інших патологій. Тому лікопін розглядається як найважливіший функціональний інгредієнт, що забезпечує профілактику і лікування різних хронічних захворювань.

Таким чином, нові високоефективні способи отримання лікопіну з використанням біотехнологічних підходів, створення і використання в раціоні харчування харчових добавок, що містять даний каротиноїд, є актуальним завданням, оскільки дозволяє підвищити рівень адаптаційного захисту організму до дії несприятливих чинників навколишнього середовища на організм людини і понизити ризик розвитку ряду небезпечних захворювань, у тому числі й онкологічних.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дослідження виконувалися відповідно до тематики міжвузівської програми науково-дослідної роботи № 31 «Будова, склад, властивості і перетворення компонентів рослинної сировини, як основи створення поліфункціональних добавок, збагачувачів і модулів для одержання продуктів з новими властивостями, які забезпечують продовольчу безпеку населення України», затвердженої наказом

Міністерства освіти і науки України № 271 від 15. 08. 96 р., зокрема, за темою досліджень проблемної лабораторії Одеської національної академії харчових технологій 2/97-П «Розробка наукових основ і технологій виробництва харчових речовин та функціональних продуктів харчування на основі біотехнологічних методів переробки рослинної сировини, біомаси мікроорганізмів та екзометаболітів» (№ держреєстрації 0197U016054); «Біополімери рослин як об'єкти хімічної і біотехнологічної модифікації 1/09 П», затвердженої наказом Міністерства освіти і науки України № 1043 від 13. 11. 2008 р.

Мета і завдання досліджень. Метою дисертаційної роботи є розробка технології отримання лікопіновмісних біологічно активних добавок (БАД) з використанням біотехнологічних підходів.

Для досягнення сформульованої мети були поставлені наступні завдання:

- теоретично обґрунтувати вибір сировини для отримання лікопіновмісних БАД;
- вивчити хімічний склад томатних вичавок з метою обґрунтування можливості їх використання при виробництві лікопіновмісних БАД;
- обґрунтувати вибір ферментних препаратів та склад композиції ферментних активностей для біоконверсії біополімерного комплексу клітинних стінок томатних вичавок; розробити, обґрунтувати та оптимізувати ключові технологічні параметри отримання лікопіновмісних БАД із застосуванням ферментних препаратів;
- розробити спосіб вилучення і концентрування лікопіну;
- вивчити фізико-хімічні показники якості лікопіновмісних БАД і вуглеводно-жирового концентрату, а також умови їх зберігання;
- отримати комплекси включення β -циклодекстрину з лікопіном і вивчити їх властивості;
- провести дослідження і розробити рецептуру желе і фруктових напоїв із застосуванням водорозчинної форми лікопіну;
- розробити технологічні схеми отримання лікопіновмісних БАД і водорозчинної форми лікопіну, провести їх промислову апробацію, розробити нормативну документацію, розрахувати собівартість отриманих продуктів.

Об'єкт дослідження – технології отримання біологічно активних добавок.

Предмет дослідження – томатні вичавки, ферментні препарати, ферментативна деградація біополімерів томатних вичавок, олія збагачена лікопіном, комплекс β -циклодекстрина з лікопіном, функціональні продукти.

Методи дослідження – загальноприйняті і спеціальні біотехнологічні, фізико-хімічні, біохімічні, технологічні, органолептичні, аналітичні, математичні з використанням сучасних пристроїв і комп'ютерних технологій.

Наукова новизна отриманих результатів. Досліджено вплив ферментних препаратів на деградацію клітинних структур томатних вичавок, основу яких складають вуглеводно-білкові комплекси. Обґрунтовано оптимальне співвідношення ферментних препаратів при отриманні лікопіну. Визначено оптимальні параметри екстрагування лікопіну рослинною олією. Вивчено хімічний склад олії, яка збагачена лікопіном. Розроблено технологію отримання водорозчинної форми лікопіну у вигляді комплексів з β -циклодекстрином. Теоретично обґрунтовано та експериментально доведено можливість виробництва біологічно активних добавок з томатних вичавок з використанням ферментних препаратів. Наукова новизна рішень, які містяться в роботі, підтверджено одним деклараційним патентом України на корисну модель.

Практичне значення отриманих результатів. Розроблено технології отримання лікопіновмісних БАД з вторинних продуктів переробки томатів і новий метод отримання водорозчинної форми лікопіну. Розроблено нормативну документацію на виробництво лікопіновмісних БАД «Толімас» (ТУ У 15.8-02071062-001:2010 і ТІ) і водорозчинної форми лікопіну «Лікрас» (ТУ У 24.14-02071062-002:2010 і ТІ). Розроблені технології, апробовані на консервному заводі ТОВ «Іллічівський» і на підприємстві ТОВ НВО «Аріадна».

Особистий внесок здобувача. Дисертація є самостійною роботою автора. Автором розроблені наукові основи отримання лікопіновмісних біологічно активних добавок, виконана аналітична і експериментальна робота, проведений аналіз і узагальнення отриманих результатів, сформульовані висновки і рекомендації, підготовлено матеріали досліджень до публікацій у вигляді статей, патентів і тез, розроблена нормативна документація, проведені промислові апробації розроблених технологій. Особистий внесок претендента підтверджується наданими документами і науковими публікаціями.

Апробація результатів дисертації. Результати досліджень докладалися і обговорювалися на наступних наукових конференціях: IV Міжнародна чехско-практична конференція «Введення в технології: крок в майбутнє - 2008» (Прага, 2008 р.); VII Міжнародна науково-технічна конференція «Техніка і технологія харчових виробництв» (Могильов, 2009 р.); I Всеукраїнська науково-практична конференція молодих вчених, аспірантів і студентів «Питання технології і гігієни питания» (Донецьк, 2009 р.); 69 і 70 Наукові конференції ОНАХТ (Одеса, 2008, 2009 і 2010 рр.); V Міжнародна науково-практична конференція «Харчові технології-2009» ОНАХТ (Одеса, 2009 р.); Scientific conference with international participation «Food science, engineering and technologies-2010» (Plovdiv, 2010);

Публікації. Результати дисертаційної роботи опубліковані в 10-ти публікаціях, з них 3 статті в фахових наукових виданнях, один деклараційний патент України на корисну модель, тези 6 доповідей в матеріалах наукових і науково-практичних конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, чотирьох розділів, загальних висновків, списку літературних джерел та додатків. Робота викладена на 144 сторінках, які включають 15 рисунків (6 сторінок), 20 таблиць (7 сторінок). Робота містить 231 найменування використаних літературних джерел (24 сторінки) та 11 додатків (58 сторінок).

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У **вступі** висвітлено стан проблеми та її актуальність, сформульовано мету та завдання досліджень, викладено наукову новизну і практичне значення результатів, відображено результати апробації, окреслено особистий внесок здобувача, структуру та обсяг роботи.

У **першому розділі** “Технологія отримання лікопіновмісних біологічно активних добавок” узагальнено дані сучасної наукової та патентної літератури стосовно теоретичних аспектів отримання лікопіну з рослинної сировини. Розглянуто інформацію про сучасні потреби ринку України у лікопіновмісних біологічно активних добавок. Підтверджено доцільність збільшення об’ємів отримання лікопіновмісних біологічно активних добавок. Наведено хімічний склад томатних вичавок, як джерел лікопіновмісних БАД.

Розглянуто біотехнологічні способи переробки рослинної сировини, а також застосування ферментних препаратів при переробці томатних вичавок в лікопіновмісних БАД.

Розглянуто параметри вилучення жиророзчинного лікопіну та досліджено процес комплексоутворення β -циклодекстрину з лікопіном.

У висновку підкреслена актуальність обраного напрямку для виконання дисертаційної роботи та доцільність отримання лікопіновмісних БАД.

У **другому розділі** “Об’єкти та методи досліджень” наведено структурну схему, яка відображає основні напрямки досліджень та взаємозв’язок головних етапів роботи (рис. 1), викладено відомості про об’єкти та методи досліджень.

Об’єктом досліджень стала біотехнологія отримання лікопіновмісних БАД з томатних вичавок. Як сировину та складові для отримання лікопіновмісних БАД було обрано: томатні вичавки, отримані на консервному заводі ПАТ «Одеський консервний завод»; промислові ферментні препарати, які виробляють підприємства України, Росії та Польщі: Целюлаза-100, Целокандин-Г10х, Мацеробацилін-Г10х і Пектофоєтидин-П10х.

Основна частина досліджень була проведена в лабораторіях кафедри біохімії, мікробіології та фізіології харчування; окремі дослідження виконувалися в лабораторіях кафедри технології молока та сушіння харчових продуктів; в лабораторіях кафедри технології хліба, кондитерських, макаронних виробів та харчоконцентратів; в лабораторії біохімії Одеського селекційно-генетичного інституту Національного центру насіннєзнавства та сортовивчення УААН; в

лабораторії Київського національного університету ім. Т. Шевченка; в лабораторії фізико-хімічного інституту ім. Богатського А.В.

В дослідженнях використовували як стандартні, так і оригінальні біохімічні, фізико-хімічні, мікробіологічні та технологічні методи досліджень.

Промислову апробацію та випуск дослідної партії розроблених продуктів проводили на консервному заводі ТОВ “Іллічівський” та на підприємстві ТОВ НВО «Аріадна». Всі дослідження проводили не менше, ніж у трьох повтореннях, математичну обробку результатів здійснювали загальноприйнятими статистичними методами.

У **третьому розділі** “Технологія отримання лікопіновмісних біологічно активних добавок” наведено результати власних експериментальних досліджень. Наведено хімічний склад томатних вичавок. Отримані результати показали, що в них міститься до 16 мг/100 г лікопіну, 18,20 % білка, 6,7 % жиру, 43,47 % вуглеводів, 4 % мінеральних речовин. Показано, що хімічний склад томатних вичавок залежить від сорту томатів, місця і кліматичних умов вирощування.

Дослідження ферментативного гідролізу томатних біополімерів передбачало вивчення структурних особливостей клітин томатних вичавок.

Методом мікроскопії виявлено, що форма клітин однакова-циліндрова, витягнута, а розміри і об'єм різні: довжина $50-70 \cdot 10^{-5}$ м, ширина $15-25 \cdot 10^{-5}$ м. Значна частина лікопіну міцно утримується структурними утвореннями клітинної стінки, що формують складні вуглеводно – білкові комплекси. Клітинні стінки представлено первинною та вторинною оболонками, які розрізняються за складом, структурою і міцністю. Вони є складними природними субстратами, містять в своєму складі: пектинові речовини, целюлозу, геміцелюлози, білкові речовини. Природні біополімери тісно взаємозв'язані між собою і достатньо диференційовані.

На наступному етапі досліджень проводили вивчення закономірностей ферментативної деградації полісахаридів клітинних томатних стінок під впливом ферментних препаратів : Целюлази-100, Целокандину-Г10х, Мацеробациліну-Г10х та Пектофостидину-П10х, характеристику активностей ферментних препаратів наведено в (табл. 1).

Отримані результати показали, що максимальний вихід лікопіну при обробці томатних вичавок ферментними препаратами Целюлоза-100 і Целокандин-Г10х (масова концентрація – 0,25 %) склав 210 – 230 мг/100 г сухих речовин вичавок. При використанні препаратів Мацеробацилін-Г10х (масова концентрація – 0,25 %) та Пектофостидин-П10х (масова концентрація – 0,5 %) вихід лікопіну склав 140 мг/100 г та 150 мг/100 г сухих речовин відповідно. Подальше збільшення концентрацій ферментів не приводило до значної зміни виходу лікопіну (рис. 2). Характер кінетичних даних свідчить про те, що полісахариди томатних вичавок максимально деградують за 120 хвилин при використанні вище зазначених ферментних препаратів (рис. 3).

За 120 хвилин обробки вихід лікопіну збільшився при використанні Целюлази-100 на 176,9 %, Целокандину-Г10х на 167,3 %, Мацеробациліну-Г10х на 157,6 %, Пектофоеїдину-П10х на 169,2 %. Такий характер процесу ферментативного гідролізу пов'язаний з тим, що до складу ферментних препаратів входять комплекси, які відрізняються різним спектром каталітичних активностей.

Дослідження з вибору ферментних препаратів для обробки клітинних стінок томатних вичавок показали, що серед препаратів, які досліджували целюлолітичної дії – Целюлази-100 (ендоглюконазна активність 83,0 од/г) і Целокандину-Г10х (ендоглюконазна активність 78,0 од/г), як ефективніший був вибраний препарат Целюлаза-100. Найбільший вихід лікопіну був досягнутий при обробці томатних вичавок препаратом Целюлаза-100 в кількості 0,25 одиниць целюлазної активності на 1 г вичавок при тривалості гідролізу 120 хвилин. Збільшення часу та підвищення активності ферменту при ферментативному гідролізі будь-якими з наведених ферментів не давали суттєвого збільшення виходу лікопіну (табл. 2).

З двох досліджених ферментних препаратів пектолітичної дії - препарату Пектофоеїдин-П10х і препарату Мацеробацилін-Г10х був вибраний препарат Пектофоеїдин-П10х як ефективніший. Найбільший вихід лікопіну був досягнутий при обробці томатних вичавок препаратом Пектофоеїдин-П10х з полігалактуриноазною активністю 3,25 од/г, при тривалості гідролізу 60 хвилин (табл. 3).

Для досягнення максимального виходу лікопіну з томатних вичавок створено мультіензимну композицію з двох вибраних ферментних препаратів: Целюлаза-100 – 0,25 од/г та Пектофоеїдин-П10х – 3,25 од/г вичавок. Температура обробки 50 °С, рН=5,0, тривалість гідролізу 90 хвилин при співвідношенні сировини і розчину ферментних препаратів 1:10 в перерахунку на абсолютно суху речовину. Використання цих параметрів дозволило збільшити вихід лікопіну з 230 мг/100 г до 250 мг/100 г сухого продукту, що склало 193,8 % у порівнянні з контрольним зразком.

Виходячи з отриманих даних, для встановлення оптимальних співвідношень вибраних ферментних препаратів і тривалості гідролізу, вивчали вихід лікопіну при мультіензимной обробці томатних вичавок (табл. 4).

Дослідження виходу редукуючих речовин (РР) при різних співвідношеннях ферментів в мультіензимних композиціях препаратів і тривалості обробки томатних вичавок показали, що найбільше гідролізуються полісахариди при співвідношенні Целюлози-100 і Пектофоеїдин-П10х – 0,4 од/г : 3,9 од/г і тривалості 120 хвилин (табл. 5).

Використання такої композиції ферментних препаратів дозволило значно підвищити ефективність гідролізу та виходу лікопіну з 250 мг/100 г до 263 мг/100 г, а вихід редукуючих речовин з 14,36 % до 22,70 %.

Вивчення процесів ферментативного гідролізу біополімерів підтвердило, що ступінь їх конверсії залежить від будови, розгалужень і розмірів макромолекул. Реакційна здатність сировини у цілому залежить від характеру і локалізації біополімерів та присутності в ній лігніну. Швидкість ферментативної деградації підвищується за рахунок одночасної дії ферментів. Оброблені ферментами томатні вичавки служили надалі джерелом для вилучення лікопіну.

Запропоновано і вивчено процес екстрагування лікопіну з ферментованих томатних вичавок (ФТВ) маслами. Подрібнені та висушені ферментовані томатні вичавки диспергували з жирами різної природи.

Максимальне вилучення лікопіну з ФТВ спостерігається при диспергуванні подрібнених ФТВ рослинними оліями, це пов'язано з тим, що рослинні олії володіють нижчою в'язкістю, а отже здатні швидше розчиняти лікопін. Тваринні жири, як відомо, є тугоплавкими і для вилучення лікопіну з ФТВ їх слід розплавити до в'язкості відповідної рослинним оліям. Хоча кращий результат спостерігається при диспергуванні кукурудзяною олією, проте з метою економічності і раціонального використання сировини в подальших дослідженнях використовували рафіновану дезодоровану соняшникову олію.

Отримані дані свідчать, що вихід лікопіну залежить від вмісту сухих речовин в ФТВ. Доведено, що із збільшенням сухих речовин у ФТВ зростає концентрація лікопіну в жировій фазі суспензії. Так при вмісті 92 ± 3 % сухих речовин у ФТВ вихід барвних речовин в олію максимальний і складає 172,8 мг/100 г.

Для зневоднення ферментованих томатних вичавок досліджували різні види сушіння (табл. 6).

З ФТВ, отриманих тепловою сушкою, екстрагується в жирову фазу найбільша кількість лікопіну, що дозволяє рекомендувати застосування даного виду сушіння для подальшого використання як один з варіантів при екстракції лікопіну з ФТВ оліями.

Вивчено вплив ступеня дисперсності ФТВ на кількість лікопіну, що екстрагувався, в олії (табл. 7).

Вивчено вплив на екстракцію лікопіну в олію від тривалості процесу (рис. 4) і температури (рис. 5). Крім того, визначено залежності виходу лікопіну в рослинну олію від співвідношення компонентів і кількості циклів екстракції (табл. 8).

Кількість лікопіну, що міститься в олії, збільшується в процесі екстракції протягом 90 хвилин. Так, після 90 хвилин екстрагування при співвідношенні ФТВ і жирової фази – 1:6 в забарвленій олії містилося 177,5 мг/100 г лікопіну, що на 27 % більше, ніж без ферментативної обробки.

Динаміка накопичення лікопіну в процесі екстракції знижується. Найбільший приріст лікопіну спостерігається в перші 60 хвилин екстракції. Подальше збільшення тривалості

екстракції приводило до незначного накопичення лікопіну в олії, і через 180 хвилин процес практично зупинявся. Характеризуючи залежність ступеня екстрагування лікопіну від температури, можна зробити висновок, що раціональною температурою екстракції є 30 °С. Уповільнення ступеня екстрагування з підвищенням температури вище 30 °С, пов'язано з тим, що лікопін частково окислюється при нагріванні у присутності кисню повітря з утворенням різних окислених форм (фітоксантинів).

Досліджено залежність вмісту лікопіну від кількості циклів екстракцій (рис. 6).

Вміст лікопіну в досліджуваних оліях значно зростає при проведенні 2-3 циклів екстракцій, коли в забарвлену олію переходило близько 95 % всіх каротиноїдів, тоді як на частку 4 і 5 циклів екстракцій доводилося близько 5 % приросту. З економічної і практичної точки зору найбільш раціональним є використання одного циклу екстракції.

Проведені дослідження фізико-хімічного складу отриманої олії збагаченої лікопіном (ОЗЛ) показали, що ОЗЛ може використовуватися для одержання лікопіновмісних БАД (табл. 9).

Фізико-хімічні показники ОЗЛ не відрізняються від показників початкової соняшникової олії, що свідчить про стабільність якісних показників олії; фізико-хімічні, органолептичні і мікробіологічні показники ОЗЛ в процесі зберігання не змінюються і відповідають нормативним показникам; зміна кислотного та оксидного чисел в процесі зберігання свідчить про уповільнення окислювальних процесів в ОЗЛ в порівнянні з початковою рафінованою дезодорованою соняшниковою олією.

Технологічний процес виробництва лікопіновмісних БАД, можна вважати безвідходним. Крім олії збагаченої лікопіном, утворюється вуглеводно-жировий концентрат (ВЖК).

ВЖК містить 20 % ліпідів і 69,12 % твердій частині (ВЖК). Гарантійний термін зберігання ВЖК – 3 місяці при температурі 6 – 8 °С. ВЖК є суспензією томатів в олії. Його харчова цінність визначається харчовою і біологічною цінністю як ФТВ, так і рослинної олії.

На наступному етапі досліджували отримання водорозчинної форми лікопіну шляхом утворення комплексів з β -циклодекстрином (β -ЦД).

Комплекс включення лікопіну з β -ЦД отримували способом співосадження, підбираючи співвідношення β -ЦД:лікопін ґрунтуючись на фізико-хімічних характеристиках β -ЦД та лікопіну. Спосіб отримання комплексу включає: розчинення β -циклодекстину у воді при температурі 25 – 30 °С. До розчинну β -циклодекстину додавали лікопін, отриманий екстракцією гексаном з ФТВ. При перемішуванні комплекс лікопіну з β -циклодекстрином утворювався при температурі 40 °С, і при зниженні температури до кімнатної випадав в осад в продовженні 15 хвилин. Комплекс β -ЦД : лікопін відділяли центрифугуванням та сушили.

Комплексоутворення лікопіну з β -ЦД досліджували при різних молярних співвідношеннях: 1:1, 1:2, 1:3, 1:4. Вміст β -ЦД і лікопіну у водному розчині та комплексі представлено у табл. 10, 11.

В комплексах, які утворюються при співвідношенні компонентів 1:3 і 1:4 лікопін включається у порожнину β -ЦД менш ніж 50 %, тоді як у комплексах, які утворюються при співвідношенні 1:1 і 1:2 близько 80 % лікопіну знаходиться у вигляді стабільного комплексу включення.

Дослідження процесу комплексоутворення β -ЦД : лікопін, визначення присутності угруповань і утворення нових зв'язків при взаємодії макромолекул, проводили методом диференціальною ІЧ - спектроскопії (рис. 7).

.Диференціальний спектр порівняння ВВОГ функціональних груп комплексу і фізичної суміші лікопіну з β -ЦД характеризується значним зменшенням інтенсивності поглинання зразків комплексу у області смуги 3400 см^{-1} , яка відповідає валентним коливанням вільних ОН - груп, а також значенням у області водневих зв'язків (3000 см^{-1}). Отже, можна припустити утворення комплексу β -ЦД : лікопін за рахунок водневих зв'язків.

Смуги в області $1100\ldots700\text{ см}^{-1}$ характеризують мало інтенсивне коливання вуглецевого скелета, що свідчить про незначний вихід комплексу β -ЦД з лікопіном. Смуги в області $700\ldots500\text{ см}^{-1}$ показують деформаційні коливання вуглецевого скелета, що свідчить про процес утворення цільового комплексу.

Отримані комплекси β -ЦД з лікопіном перевіряли на стабільність їх водних розчинів протягом 24 годин зберігання по залишковому вмісту лікопіну в розчині. Комплексоутворення лікопіну з β -ЦД дозволяє перевести вітамін у водорозчинну форму, стабільну протягом 24 годин.

Розчинність комплексів « β -ЦД : лікопін» та β -ЦД вивчалися в діапазоні температур від 20 до 60 °С. Результати дослідження показують, що розчинність β -ЦД більша, ніж розчинність комплексів при співвідношенні 1:1 та 1:3, проте розчинення комплексів у водному розчині з підвищенням температури зростає більш ніж в два рази.

На підставі термічного аналізу комплексу β -ЦД : лікопін, β -ЦД і фізичної суміші підтверджено утворення комплексу між β -ЦД і лікопіном (рис. 8, 9, 10).

При включенні в порожнину ЦД лікопін не втрачає своїх антиокислювальних властивостей, а навпаки набуває стійкості до дії світла і кисню повітря. Методика співосадження ефективна для отримання порошкоподібної форми лікопіну у вигляді комплексу включення з β -ЦД. Дану форму лікопіну можна отримати навіть при молярному співвідношенні β -ЦД : лікопіну – 1:4, що відповідає вмісту лікопіну в комплексі 25 %. Проте оптимальними співвідношеннями β -ЦД з лікопіном в комплексі є 1:1 моль/моль.

У четвертому розділі “Технологія отримання лікопіновмісних біологічно активних добавок” доведено можливість отримання біологічно активних добавок, які містять лікопін томатних вичавок; наведено принципові схеми переробки томатних вичавок для отримання БАД; обґрунтовано раціональні параметри ключових технологічних операцій, технологічні та апаратурні схеми.

Для обґрунтування умов ферментативної обробки томатних вичавок як фактори оптимізації розглядали: концентрація ферментного препарату Целюлоза-100 (C_1), концентрація ферментного препарату Пектофоедин П10х (C_2) та тривалість процесу (τ). Як параметр оптимізації обрано вихід лікопіну y_{IA} .

Отримано рівняння регресії, що описує залежність виходу лікопіну (IA) від досліджуваних факторів:

$$y_{IA} = 788,9 - 145,2 C_1 - 2065 C_2 - 4,405 \tau + 586,4 C_1 C_2 + 0,9711 C_1 \tau + 18,06 C_2 \tau - 4,753 C_1 C_2 \tau \quad (1)$$

Оптимальні значення, що відповідають максимальному виходу лікопіну (289 мг/100 г), становлять: $C_1 = 0,4$ од/г; $C_2 = 3,9$ од/г; $\tau = 120$ хв.

За результатами досліджень розроблено технологічні схеми отримання лікопіновмісних БАД з використанням ферментних препаратів та водорозчинної форми лікопіну. Послідовність технологічних операцій отримання БАД наведено на рис. 11.

Схема отримання лікопіновмісних БАД з використанням ферментних препаратів включає наступні етапи: обробка томатних вичавок ферментними препаратами; екстрагування лікопіну рослиною олією; сушіння готового продукту, які представлені на рис. 11. Технологічний процес, що рекомендується, забезпечується необхідною організацією вимірювально-інформаційної системи. Це дозволяє поетапно виконувати вимоги технології, які визначаються технологічним і мікробіологічним контролем.

Технологія отримання водорозчинної форми лікопіну включає наступні стадії: обробка томатних вичавок ферментними препаратами; екстрагування лікопіну гексаном; відгонка гексану та змішування лікопіну з розчином β -ЦД; сушіння готового продукту.

Показана доцільність використання водорозчинної форми лікопіну при виробництві желе та фруктових напоїв.

Розраховано собівартість препарату «Толімас», яка становить – 843,45 грн/кг.

Проведені промислові апробації розроблених технологій шляхом випуску партії лікопіновмісних БАД з використанням ферментних препаратів на консервному заводі ТОВ «Іллічівський» і водорозчинної форми лікопіну на підприємстві ТОВ НВО «Аріадна». Показники продуктів з дослідних партій відповідали вимогам розробленої нормативної документації.

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

На підставі теоретичних і експериментальних досліджень розроблена технологія отримання лікопіновмісних БАД з вторинних продуктів консервного виробництва.

1. Обґрунтований вибір джерела виділення лікопіну – томатні вичавки. У них міститься до 16 мг/100 г лікопіну, 18,20 % білка, 6,7 % жиру, 43,47 % вуглеводів, 4 % мінеральних речовин.

2. Обґрунтований вибір ферментних препаратів і склад композиції ферментних активностей для біоконверсії біополімерів томатів (Целюлаза-100 – 0,4 од/г сировини, Пектофестидин-П10х – 3,9 од/г сировини). Рациональними параметрами процесу є: температура 50 °C, pH=5,0, тривалість гідролізу 120 хвилин при співвідношенні сировини і розчину ферментних препаратів 1:10 на суху сировину.

3. Встановлені технологічні параметри отримання лікопіновмісного препарату: температура екстракції 30 °C, тривалість екстракції 60 хвилин, гідромодуль 1:6, кратність екстракції 1. Застосування розробленого способу дозволило збільшити вихід лікопіну на 173 % у порівнянні з контролем (без застосування ферментів).

4. Вивчено фізико-хімічні показники олії збагаченої лікопіном. Вміст лікопіну становить 177,5 мг/100 г продукту. Встановлено, що фізико-хімічні показники олії збагаченої лікопіном не відрізняються від показників початкової соняшникової олії, що свідчить про стабільність якісних показників олії; фізико-хімічні, органолептичні і мікробіологічні показники олії збагаченої лікопіном у процесі зберігання практично не змінюються і відповідають нормативним показникам; характер зміни кислотного і оксидного чисел у процесі зберігання свідчить про уповільнення окислювальних процесів в олії збагаченій лікопіном.

5. Вивчено фізико-хімічні показники вуглеводно-жирового концентрату. Він є високо живильною суспензією, що володіє високою біологічною цінністю. Встановлений гарантійний термін зберігання – 3 місяці при температурі 6 – 8 °C. Можливе його використання у виробництві жировмісних продуктів.

6. Розроблений спосіб отримання водорозчинної форми лікопіну, що полягає в утворенні його комплексу з β -циклодекстрином. Утворення комплексу доведене методами ІЧ-спектроскопії та термічним аналізом. Визначені раціональні параметри утворення комплексу: температура процесу 60 °C, молярне співвідношення 1:1.

7. Показана принципова можливість використання водорозчинної форми лікопіну при виробництві желе та у консервній промисловості при виробництві напоїв. Желе та напої отримані з використанням розроблених продуктів володіють хорошими органолептичними і фізико-хімічними показниками.

8. Проведені промислові апробації технологій: отримання лікопіновмісного препарату «Толімас» на консервному заводі ТОВ «Іллічівський» та технології отримання водорозчинної форми лікопіну «Лікрас» на підприємстві ТОВ НВО «Аріадна».

9. Розроблена нормативна документація на отримання лікопіновмісного препарату «Толімас» (ТУ У 15.8-02071062-001:2010 і ТП) і водорозчинної форми лікопіну «Лікрас» (ТУ У 24.14-02071062-002:2010 і ТП). Наукова новизна досліджень захищена одним Деклараційний патентом України на корисну модель. Розрахована собівартість розробленого лікопіновмісного препарату «Толімас», яка складає 843,45 грн/кг продукту.

ПЕРЕЛІК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Негру, І.Ф. Ферментний каталіз як основа для ефективної переробки відходів сокового виробництва [текст] // І.Ф. Негру, Л.В. Капрельянц. Прогресивні техніка та технології харчових виробництв ресторанного господарства і торгівлі: зб. наук. праць / ХДУХТ, 2009. – Вип. № 1 (9). – С. 534 – 540.

2. Негру, І.Ф. Використання гідролаз під час виділенні лікопіну [текст] // І.Ф. Негру, Л.В. Капрельянц. Обладнання та технології харчових виробництв: темат. зб. наук. праць – Донецьк; - 2009. –Вип.22. – С. 173-180.

3. Негру, И.Ф. Исследование процесса комплексообразования β -циклодекстрина с ликопином [текст] // И.Ф. Негру, Л.В. Капрельянц // Пищевая наука и технология. - №1(10), - 2010. – С. 28-31.

4. Пат. на корисну модель 45119 Україна, МПК (2009) A23L1/00, A61K35/00, C12S3/00. Спосіб отримання лікопіну [текст] Капрельянц Л.В., Негру І.Ф.; власник Одес. нац. акад. харч. технологій. - № u 2009 05361; Заявл. 28.05.09; Опубл.26.10.09, Бюл. № 20.

5. Negru, I.F. Research of process of obtaining the complex β -CD with lycopene / I.F. Negru, L.V. Kaprelyants // Scientific conference with international participation «Food science, engineering and technologies-2010».-Plovdiv: - 2010. –№ 1. – С. 471–475.

6. Негру, И.Ф. Ферментная технология получения ликопина [текст] // И.Ф. Негру, Л.В. Капрельянц. Наука и технологи: шаг в будущее // Материалы IV междунар. чешской практ. конф. - Прага, 2008.-С. 60-62.

7. Негру, І.Ф. Використання гідролітичних ферментів при виділенні лікопіну [текст] // І.Ф. Негру, Л.В. Капрельянц // Матеріали Першої Всеукраїн. науково-практ. конф. молодих вчених, аспірантів та студентів «Питання технології та гігієни харчування» - Донецьк, 2009. – С. 101.

8. Негру, И.Ф. Использование мультиэнзимной композиции при получении ликопина из отходов консервного производства [текст] // И.Ф. Негру, Л.В. Капрельянц // VII-я Междунар. научно-техн. конф. «Техника и технология пищевых производств». - Могилев, 2009. – С.35.

9. Негру, И.Ф. Регулирование функциональных свойств ликопина [текст] // И.Ф. Негру, Л.В. Капрельянц // Матеріали Першої Всеукраїн. науково-практ. конф. молодих вчених, аспірантів та студентів «Основи раціонального харчування студентів». - Донецьк, 2010. – С. 99.

10. Негру, И.Ф. Комплекса включения β -циклодекстрина с ликопином [текст] // И.Ф. Негру, Л.В. Капрельянц // VII-я Междунар. научно-техн. конф. «Техника и технология пищевых производств». - Могилев, 2010. – С.60.

Особистий внесок:

- 1) проведення літературного пошуку та експериментальних досліджень, обробка, обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку [1-3, 5-10];
- 2) проведення літературного та патентного пошуку, узагальнення та систематизація отриманих експериментальних даних, оформлення заявки на патент, участь у складанні опису винаходів [4].

АНОТАЦІЯ

Негру, І.Ф. Технологія отримання лікопіновмісних біологічно активних добавок. – 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, 2010.

Дисертаційна робота присвячена науковому обґрунтуванню, розробці технології отримання лікопіновмісних БАД методом ферментативної деградації.

Вивчено хімічний склад томатних вичавок та ферментативного їх гідролізу. Показано, що застосування Целюлази-100 і Пектофестидин-П10х дозволяє збільшити вихід лікопіну до 262 мг/100 г при співвідношенні 0,4 од/г : 3,9 од/г.

Встановлено технологічні параметри екстрагування лікопіну соняшниковою олією: температура 30 °С, тривалість 60 хвилин, гідромодуль 1:6, кратність 1.

Показано, що фізико-хімічні, органолептичні і мікробіологічні показники олії збагаченої лікопіном у процесі зберігання практично не змінюються і відповідають нормативним показникам.

Дослідження харчової і біологічної цінності дозволяє рекомендувати використання вуглеводно-жирового комплексу при виробництві жировмісних продуктів.

Розроблені технологічні параметри отримання водорозчинної форми лікопіну за рахунок утворення комплексу β -циклодекстрин : лікопін: температура 60 °С, молярне співвідношення 1:1. Утворення комплексу доведено методами диференціальною ІЧ-спектроскопії та термічного аналізу.

Оптимізовані технологічні параметри процесу ферментативного гідролізу томатних біополімерів: активність Целюлози-100 – 0,4 од/г, активність Пектофоедину-П10х – 3,9 од/г; тривалість 120 хв.

Розроблена нормативна документація, технологічна схема і економічне обґрунтування отримання лікопіновмісних БАД. Проведена промислова апробація, яка підтвердила можливість випуску даних препаратів на вітчизняному устаткуванні.

Ключові слова: БАД, томатні вичавки, ферменти, ферментовані томатні вичавки, олія збагачена лікопіном, β -циклодекстрин, комплекс включення.

АННОТАЦИЯ

Негру, И.Ф. Технология получения ликопиносодержащих биологически активных добавок. – Рукопись.

Диссертация на соискание научной степени кандидата технических наук по специальности 03.00.20 – биотехнология. – Одесская национальная академия пищевых технологий Министерства образования и науки Украины, Одесса, 2010.

Диссертационная работа посвящена научному обоснованию, разработке технологии получения ликопиносодержащих БАД методом ферментативной деградации.

Рассмотрено, что ликопин является мощным антиоксидантом. Он способствует торможению дегенеративных процессов в тканях, снижает риск инициации и развития онкологических заболеваний, сердечно – сосудистых и других патологий.

Обоснован выбор источника выделения ликопина – томатные выжимки. В них содержится до 16 мг/100 г ликопина, 18...20 % белка, 6...7 % жира, 43...47 % углеводов, 4 % минеральных веществ.

Изучение процесса ферментативного гидролиза томатных биополимеров, показало, что применение ферментных препаратов Целлюлазы-100 и Пектофоедин-П10х позволяет увеличить выход ликопина с 130 мг/100 г до 250 мг/100 г. Использование мультиэнзимного гидролиза позволяет увеличить выход ликопина до 262 мг/100 г. Установлено оптимальное соотношение ферментных препаратов Целлюлаза-100 и Пектофоедин-П10х (0,4 ед/г : 3,9 ед/г сухих веществ томатных выжимок). Использование такой композиции ферментных препаратов позволяет значительно увеличить эффективность гидролиза и степень конверсии томатных биополимеров.

Разработаны технологические параметры получения ликопина подсолнечным маслом. Выбраны рациональные параметры максимального экстрагирования его из ферментированных томатных выжимок: температура 30 °С, продолжительность 60 минут, гидромодуль 1:6, кратность 1.

Изучены физико-химические показатели масла обогащенного ликопином (МОЛ). На основании проведенных исследований можно констатировать, что физико-химические показатели МОЛ после получения практически не отличаются от показателей исходного рафинированного дезодорированного подсолнечного масла, что свидетельствует о стабильности качественных показателей масла; физико-химические, органолептические и микробиологические показатели МОЛ в процессе хранения практически не изменяются и соответствуют нормативным показателям; изменение кислотного и перекисного чисел в процессе хранения свидетельствует о замедлении окислительных процессов в МОЛ.

Изучены физико-химические показатели углеводно-жирового концентрата (УЖК). УЖК представляет собой высоко питательную суспензию, обладающую высокой биологической ценностью. Установлен гарантийный срок хранения УЖК – 3 месяца при температуре 6 – 8 °С. Проведенные исследования позволяют рекомендовать использование УЖК при производстве жиросодержащих продуктов.

Разработаны технологические параметры получения водорастворимой формы ликопина. Выбраны рациональные параметры максимального образования комплекса: температура 60 °С, молярное соотношение 1:1. Исследован процесс комплексообразования β -ЦД : ликопин методом дифференциальной ИК-спектроскопии и термических анализом. На основании этих методов можно сделать вывод об образовании комплекса между ликопином и β -ЦД. При включении в полость ЦД ликопин не теряет своих антиокислительных свойств, приобретая устойчивость к воздействию света и кислорода воздуха. Методика «соосаждения» эффективна для получения порошкообразной формы ликопина в виде комплекса включения с β -ЦД. Данную форму ликопина можно получить даже при молярном соотношении ликопина: β -ЦД 1:4, что соответствует содержанию ликопина в комплексе 25 %. Однако оптимальными соотношениями ликопина с β -ЦД в комплексе являются 1:1 моль/моль.

Оптимизированы основные технологические параметры процесса ферментативного гидролиза томатных биополимеров. Установлено, что оптимальными параметрами процесса являются: активность Целлюлаза-100 – 0,4 ед/г и активность Пектофетицина-П10х – 3,9 ед/г; продолжительность гидролиза 120 мин.

Разработана нормативная документация и технологическая схема получения ликопиносодержащих БАД. Проведена промышленная апробация, которая подтвердила возможность выпуска данных препаратов на отечественном оборудовании.

Показана принципиальная возможность использования водорастворимой формы ликопина в производстве желе и также в консервной промышленности при производстве напитков. Желе и напитки полученные с использованием разработанных продуктов обладают хорошими органолептическими и физико-химическими показателями. Потребление 100 г полученных продуктов покрывает суточную норму по содержанию ликопина на 50 %.

Разработанные технологии позволяет производить продукты обладающие способностью усиливать защитные функции организма, тормозить дегенеративные процессы в тканях, снизить риск инициации и развития онкологических заболеваний, сердечно – сосудистых и других патологий.

В работе представлено экономическое обоснование целесообразности получения ликопино-содержащих БАД.

Ключевые слова: БАД, томатные выжимки, ферменты, ферментированные томатные выжимки, масло обогащенное ликопином, β -циклодекстрин, комплекс включения.

ANNOTATION

Negru I.F. Technology to obtain preparations containing lycopenes – 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, 2010.

The thesis is devoted to the scientific reasoning and development of the technology of obtaining the lycopene containing preparation by the method of enzymatic degradation.

The investigation of the process of enzymatic hydrolysis of tomato biopolymers showed that the application of the preparation Cellulase-100 and Pectophoetidine – P10x makes it possible to increase the output of lycopene to 262 mg per 100g. The optimum correlation of preparations Cellulase-100 and Pectophoetidine – P10x 0.4 units/g : 3.9 units/g.

The technological parameters of obtaining lycopene with the vegetable oil were elaborated. The rational parameters of its maximum extraction from fermented tomato husks were chosen: the temperature of extraction is 30 °C, the number of extractions is 60 minutes, the hydromodule is 1:6, and divisibility of extraction is 1.

The physico-chemical, organoleptic and microbiological indicators of lycopene enriched oil don't change significantly during storage and correspond to the normative indicators.

The physical-chemical indicators of the carbohydrate-fat concentrate were studied. The carbohydrate-fat concentrate represents a high biological value. The carried out research permits recommendat of the carbohydrate-fat concentrate usage in production of fat containing products.

The technological parameters of obtaining water soluble kind of lycopene were elaborated. The rational parameters for production of complex were chosen: the process temperature is 60 °C, the molar

correlation is 1:1. The process of complex formation of β -CD was investigated: lycopene by the method of differential IR spectroscopy and by the thermal analysis.

The basic technological parameters of the process of enzymatic hydrolysis of tomato biopolymers were optimized with the mathematic modeling method. It was found out that the optimum process parameters are: the activeness of Cellulase-100 – 0.4 units/g and the activeness of Pectophoetidine – P10x 3.9 units/g, the duration of the hydrolysis is 120 min.

10 The normative documentation and the technological scheme of obtaining the lycopene containing prepar-
9 on. The industrial approbation was carried out and it confirmed the possibility of production of these
- parations in the equipment produced in our country.

Key words: tomato husks, enzymes, fermented tomato husks, lycopene, β - cyclodextrine, inclusion complex.

Підписано до друку 04.11.2010 р. Формат 60×90/16

Ум-друк. арк 0,9. Замовлення № 33. Тираж 100 прим.

Тривалість, годин

Віддруковано з готового оригінал-макету у ЧП “Ксерокс”,

65039, м. Одеса, вул. Канатна, 112, тел. 729-10-78.