

Автореферат
Ш 96

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ, МОЛОДІ ТА СПОРТУ УКРАЇНИ
ОДЕСЬКА НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

ШУНЬКО ГАННА СЕРГІЇВНА



УДК 602.4:[577.144.4:57.016]:633.16

**РОЗРОБКА БІОТЕХНОЛОГІЇ β -ГЛЮКАНВМІСНИХ
ФУНКЦІОНАЛЬНИХ ІНГРЕДІЄНТІВ
ІЗ ЗЕРНОВОЇ СИРОВИНИ**

Спеціальність 03.00.20 – біотехнологія (технічні науки)

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата технічних наук

Одеса – 2012

62

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Одеській національній академії харчових технологій
Міністерства освіти і науки, молоді та спорту 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 біологічних наук, професор,
Юкало Володимир Глібович,
Тернопільський національний технічний університет
ім. І. Пулюя, кафедра харчової біотехнології і хімії
професор кафедри.

10³⁰ годині на засіданні спеціалізованої
Одеської національної академії харчових технологій за
протоколом (№ А-234).

Одеської національної академії хар-
чових технологій, 112.

ОНАХТ 29.01.13
Розробка біотехнолог



v018150

V018150
ОНАХТ
БІБЛІОТЕКА

Г.М. Станкевич

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Пошук нових високоефективних способів отримання β -глюкану з використанням біотехнологічних підходів, створення і включення в раціон населення харчових добавок, що містять цей полісахарид, є актуальним завданням. Оскільки це дозволяє посилити захисні системи організму до дії зовнішніх несприятливих чинників, створюючи потужний бар'єр проти вірусів, бактерій, грибків, паразитів і канцерогенів, зменшити рівень холестерину і глюкози в крові, а також запобігти різним мікроекологічним порушенням шлунково-кишкового тракту. Мікрофлора шлунку людини є вирішальним чинником метаболізму організму і функцій імунної системи. Цим визначається необхідність включення пробіотичних мікроорганізмів до складу харчових продуктів – лакто-, біфідобактерій, спороутворюючих бактерій, стимуляторів їх життєдіяльності – пребіотиків.

Пребіотики вуглеводної природи, окрім стимулюючої функції, проявляють захисну здатність по відношенню до мікроорганізмів, сприяючи подоланню фізіологічних бар'єрів організму і доставляючи їх в необхідні ділянки травної системи. У зв'язку з вищевикладеним використання синбіотику на основі β -глюкану і пробіотичних мікроорганізмів в якості біологічно активної добавки дозволить стимулювати розвиток корисної мікрофлори шлунково-кишкового тракту, а використання пребіотиків вуглеводної природи забезпечить пролонгованість дії пробіотику.

Зв'язок з науковими програмами, планами, темами. Робота відповідає тематиці міжвузівської програми науково-дослідної роботи 1/09-П «Біополімери рослин, як об'єкти хімічної і біотехнологічної модифікації» Одеської національної академії харчових технологій (ОНАХТ) (наказ Міністерства освіти і науки України № 1043 від 17.11.2008 р.).

Мета і завдання дослідження. Метою дисертаційної роботи є розробка біотехнології отримання β -глюканвмісних функціональних інгредієнтів із ячменю.

Для досягнення вказаної мети були поставлені наступні завдання:

- охарактеризувати хімічний склад ячменю різних сортів, районованих на півдні України, як джерела β -глюкану;
- вивчити активність гідролітичних ферментних препаратів та їх дію на крохмаль і білкові речовини зернової сировини;
- обґрунтувати і оптимізувати технологічні параметри отримання β -глюканвмісних концентратів з використанням ферментних препаратів;
- розробити і обґрунтувати спосіб вилучення і концентрування препарату β -глюкану із зернової сировини;
- вивчити фізико-хімічні показники якості β -глюканових концентратів;
- дослідити вплив гідролізату ячмінної муки на накопичення біомаси лактобацил, біфідобактерій, спороутворюючих бактерій;
- дослідити захисну функцію β -глюкану відносно лактобацил, біфідобактерій, спороутворюючих бактерій під впливом метаболітів шлунково-кишкового тракту;
- вивчити функціонально-фізіологічні властивості і показники якості функціональних інгредієнтів на основі концентратів β -глюкану і синбіотичного препарату на основі β -глюкану з включенням лактобацил, біфідобактерій і спороутворюючих бактерій;

– дослідити показники якості β -глюканвмісних харчових інгредієнтів в процесі зберігання;

– розробити технологічні схеми отримання β -глюканвмісних функціональних інгредієнтів, провести їх промислову апробацію, розробити нормативну документацію, розрахувати собівартість отриманих продуктів.

Об'єкт дослідження: біотехнологія отримання функціональних інгредієнтів із ячменю.

Предмет дослідження: ячмінь, ферментні препарати, біохімічні процеси ферментолізу біополімерів ячменю, ячмінні екстракти, лактобацили, біфідобактерії, спороутворюючі бактерії, фізико-хімічні, мікробіологічні, органолептичні показники функціональних інгредієнтів.

Методи дослідження: комплекс традиційних і сучасних біохімічних, фізико-хімічних, мікробіологічних і технологічних методів дослідження з використанням сучасних приладів і комп'ютерних технологій.

Наукова новизна отриманих результатів. Досліджено вплив ферментних препаратів на модифікацію біополімерів ячменю. Обґрунтовано оптимальне співвідношення ферментних препаратів при виробництві екстракту β -глюкану. Визначено хімічний склад екстракту β -глюкану після ферментативного гідролізу. Вивчено вплив β -глюкану на накопичення біомаси пробіотичних мікроорганізмів. Розроблена технологія отримання β -глюканвмісного функціонального інгредієнту ячменю. Теоретично обґрунтована і експериментально доведена можливість виробництва β -глюканвмісних функціональних інгредієнтів із зернових з використанням ферментних препаратів, а також виробництво синбіотичного препарату культивуванням мультиштаму пробіотичних мікроорганізмів на ферментолізатах ячменю. Наукова новизна роботи підтверджена деклараційним патентом України на корисну модель № 55700 «Спосіб одержання β -глюканвмісного концентрату».

Практичне значення отриманих результатів. На підставі експериментальних і теоретичних досліджень розроблена технологія комплексної переробки ячменю, що дозволила отримувати функціональні інгредієнти, які сприяють підтримці нормальної мікрофлори шлунково-кишкового тракту, знижують вміст глюкози, холестерину в крові і проявляють низку інших позитивних фізіологічних ефектів на організм людини. Розширено спектр функціональних інгредієнтів, що можуть знайти використання і в медичній практиці, і в харчовій промисловості. Розроблена нормативна документація на виробництво функціонального харчового інгредієнту «Премікспро™» (ТУ У 24.14 – 02071062 – 008:2011 і ТІ) і концентрату β -глюкану (ТУ У 15.8 – 02071062 – 008:2011 і ТІ). Розроблені технології апробовані на підприємстві ТОВ НВО «Аріадна» і в лабораторії технології фітопрепаратів Науково-дослідного інституту зерна та харчових продуктів ОНАХТ.

Особистий внесок здобувача. Особистий внесок полягає у виконанні аналітичної та експериментальної роботи, проведенні аналізу й узагальненні отриманих результатів у вигляді висновків і рекомендацій, підготовці матеріалів досліджень до публікації у вигляді статей, патентів і тез, розробці нормативної документації, організації промислової апробації розроблених технологій. Особистий внесок здобувача підтверджується наданими документами і науковими публікаціями.

Апробація результатів дисертації. Результати досліджень доповідалися і обговорювалися на наступних наукових конференціях: 69-ій, 70-ій і 71-ій наукових конференціях ОНАХТ (Одеса, 2009, 2010 і 2011 рр.); VII-ій Міжнародній науково-технічній конференції «Техніка і технологія харчових виробництв» (Могильов, 2010 р.); I-ій Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених, аспірантів і студентів «Питання технології і гігієни харчування» (Донецьк, 2010 р.); V-ій Міжнародній конференції молодих вчених «Біологія: від молекули до біосфери» (Харків, 2010 р.), III-ій Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених і студентів «Проблеми формування здорового способу життя у молоді» ОНАХТ (Одеса, 2010 р.).

Публікації. Результати дисертаційної роботи опубліковано в 9-ти друкованих працях, з них 3 статті у фахових виданнях, 1 деклараційний патент України на корисну модель № 55700, тези 5 доповідей в матеріалах наукових і науково-практичних конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, 5 розділів, загальних висновків, списку використаних літературних джерел та додатків.

Робота викладена на 135 сторінках основного тексту, містить 46 рисунків (24 сторінки), 34 таблиці (10 сторінок), 13 додатків (81 сторінка), список літературних джерел з 265 найменувань (23 сторінки).

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

У вступі обґрунтовано актуальність роботи, сформульовано мету і завдання дослідження, показано наукову новизну і практичне значення отриманих результатів, відображено результати апробації, визначено особистий внесок здобувача в проведених дослідженнях та публікаціях за темою дисертаційної роботи.

У першому розділі « β -Глюкани-функціональні інгредієнти харчових продуктів» узагальнено дані сучасної наукової та патентної літератури стосовно теоретичних аспектів отримання β -глюканів із зернової сировини. Розглянуто сучасні потреби ринку у функціональних продуктах харчування профілактичного та лікувального напрямку в Україні та світі.

Представлено біохімічний склад ячменю, як джерела функціональних інгредієнтів.

Розглянуто хімічні та біотехнологічні методи вилучення β -глюканів із рослинної сировини, а також досвід застосування ферментних препаратів при переробці ячменю в β -глюканвмісні функціональні продукти.

Розглянуто сучасні технологічні аспекти виробництва пребіотичних компонентів та функціональних продуктів з пребіотичною складовою.

У висновку підкреслена актуальність обраного напрямку для виконання дисертаційної роботи та доцільність отримання β -глюканвмісних концентратів.

У другому розділі «Об'єкти та методи досліджень» наведено характеристику об'єкта досліджень, методів досліджень як загальнонаукових, так і спеціальних хімічних, фізико-хімічних та мікробіологічних, викладено методологічні основи про-

ведених досліджень, показано послідовність їх вирішення і взаємодію етапів дослідження (рис. 1).

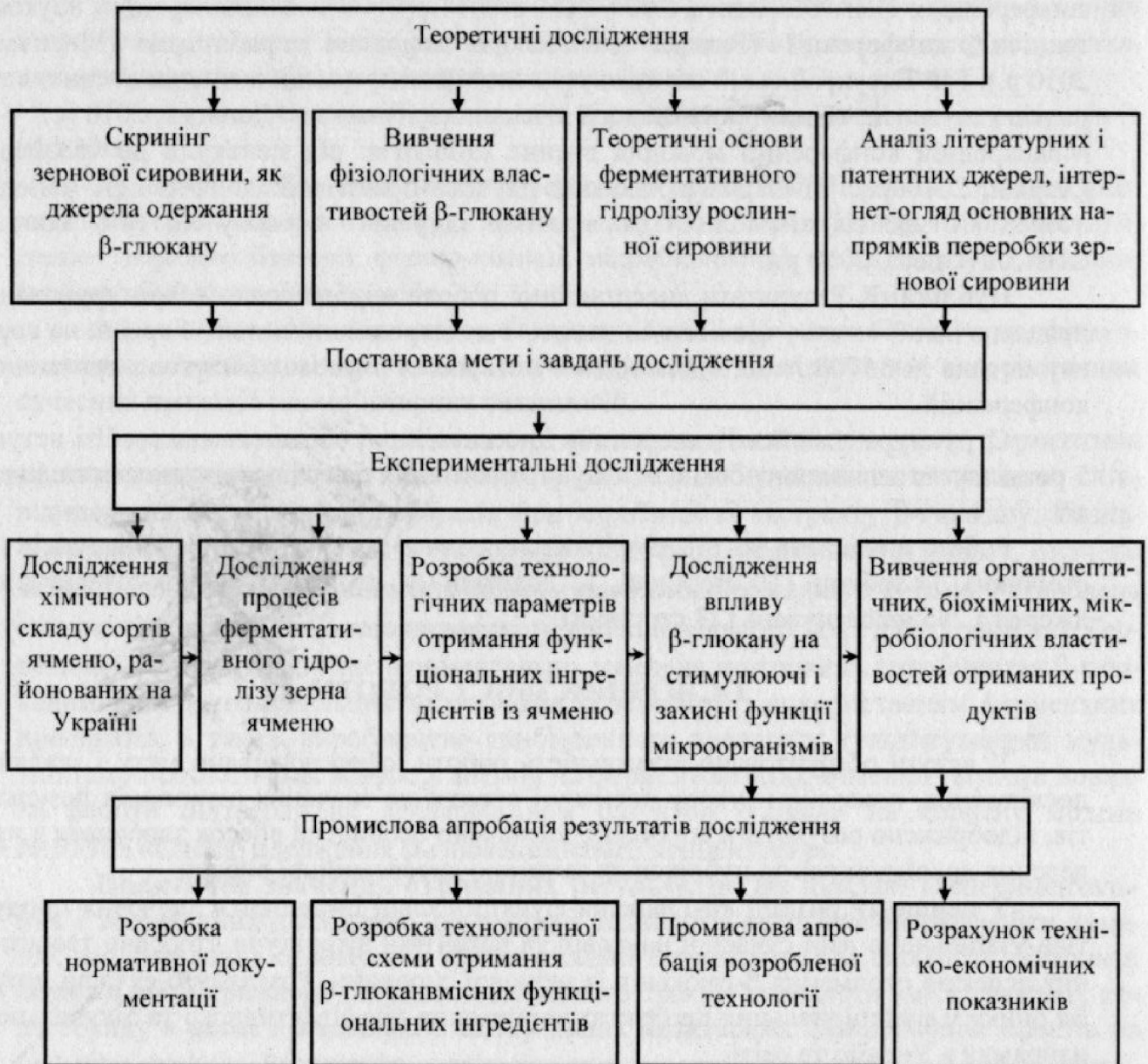


Рис. 1. Основні напрямки проведення досліджень

Об'єктом досліджень стала біотехнологія отримання функціональних інгредієнтів із зернової сировини. За сировину та складові для отримання функціональних продуктів та інгредієнтів було обрано: сорти ячменю врожаю 2008-2010 р. («Вакула», «Водограй»), які отримано з відділу селекції та насінництва ячменю Селекційно-генетичного інституту національного центру насінництва та сортовивчення НААН, промислові ферментні препарати, які виробляє Ладижинський завод біо- та ферментних препаратів «Ензім»: α -амілаза (*Bacillus subtilis*), глюкоамілаза (*Aspergillus awamori*), протеаза (*Bacillus subtilis*), чисті культури біфідобактерій *Bifidobacterium bifidum*-1, лактобактерій *Lactobacillus acidophilus*-Ep-317/402, а та-

кож *Bacillus coagulans*-БМ-80 з музею кафедри біохімії, мікробіології та фізіології харчування ОНАХТ.

Основна частина досліджень проведена в лабораторіях кафедри біохімії, мікробіології та фізіології харчування ОНАХТ, окремі дослідження виконувалися в лабораторіях кафедри технології хліба, кондитерських, макаронних виробів і харчоконцентратів ОНАХТ, кафедри екології харчових продуктів та виробництв ОНАХТ, в лабораторії біохімії Одеського селекційно-генетичного інституту Національного центру насіннєзнавства та сортовивчення НААН, в лабораторії Харківського державного університету харчування та торгівлі на кафедрі технології харчування.

Промислово апробацію та випуск дослідної партії розроблених продуктів проводили на підприємстві ТОВ НВО «Аріяда» та в лабораторії технології фітопрепаратів Науково-дослідного інституту зерна та харчових продуктів (НДЗіХП) ОНАХТ. Всі дослідження проводили не менше, ніж у трьох повтореннях, математичну обробку результатів здійснювали загальноприйнятими статистичними методами.

У третьому розділі «Дослідження біотехнологічних процесів отримання концентратів β -глюканів із зерна ячменю» наведено біохімічний склад сортів ячменю врожаю 2008-2010 р. («Вакула», «Водограй»). Отримані результати показали, що в дослідних партіях міститься до 11 % β -глюкану, 12,0 % білка, 3,7 % жиру, 2,8 % мінеральних речовин, 71,7 % вуглеводів. Біохімічний склад залежить від сорту, місця і кліматичних умов вирощування.

Встановлено, що метод кількісного визначення водорозчинного β -глюкану базується на гідролітичній деструкції цього полісахариду сірчаною кислотою до глюкози з подальшим її визначенням за допомогою кольорової L-цистеїнової реакції.

Модифікація L-цистеїн сірчаної кислотної методу дозволяє кількісно визначати глюкозу у присутності пентоз. Розрахунок вмісту β -глюкану проводили за формулою

$$PP(\beta\text{-глюкану})_{\text{глюкоза}} = PP(\text{загальні})_{\text{глюкоза}} - PP(\text{крохмалю})_{\text{глюкоза}},$$

де $PP(\text{загальні})_{\text{глюкоза}}$ – редукуючі речовини після гідролізу сірчаною кислотою з L-цистеїном; $PP(\text{крохмалю})_{\text{глюкоза}}$ – редукуючі речовини після ферментативного гідролізу амілолітичними ферментами.

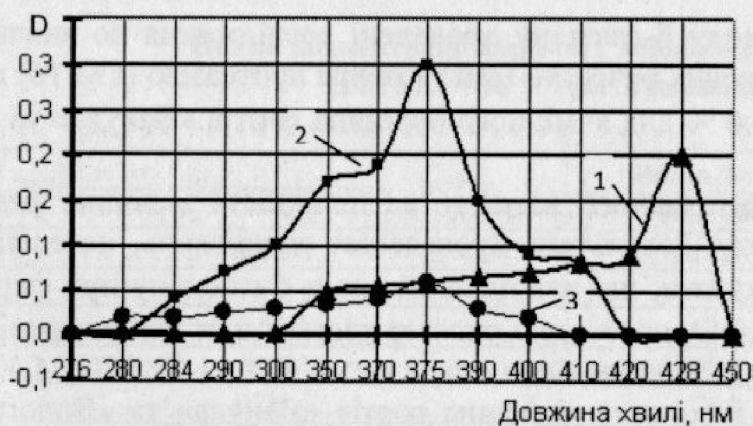


Рис. 2. УФ спектри розчину: 1 – глюкози; 2 – арабінози; 3 – ксилози, $C = 0,006\%$

Результати аналізу кривих поглинання глюкози, ксилози і арабінози (рис. 2) показали, що навіть при однакових концентраціях в розчині цих моносахаридів, ксилоза і арабіноза не впливають на кількісне визначення глюкози, оскільки максимум поглинання пентоз спостерігається при $\lambda = 370\text{...}375$ нм, а глюкози при $\lambda = 428$ нм.

Наведено результати досліджень обробки ячмінного бо-

рошна діетиловим ефіром та етиловим спиртом. Встановлено, що використання 50 %-відсоткового водного розчину етилового спирту для знежирення ячмінного борошна є найбільш ефективним і дозволяє отримати максимальний вихід β -глюкану, який складає 78,3 % для ячмінного борошна сорта «Вакула».

На наступному етапі досліджень проводили вивчення закономірностей ферментативної деградації водорозчинних біополімерів ячмінного борошна сортів «Вакула» та «Водограй» під впливом амілолітичних та протеолітичних ферментних препаратів: α -амілази, протеази, глюкоамілази ($t = 55\text{ }^\circ\text{C}$, $\text{pH} = 5$). Характеристика активностей ферментних препаратів наведена в (табл. 1).

Таблиця 1

Характеристика активностей ферментних препаратів

Препарати	Активність	
	Амілолітична, од. АА/г препарату	Протеолітична, од. ПА/г препарату
α -Амілаза (<i>Bacillus subtilis</i>)	2000	–
Глюкоамілаза (<i>Aspergillus awamori</i>)	6000	–
Протеаза (<i>Bacillus subtilis</i>)	–	70

У технологічних процесах біотрансформації крохмалевмісної сировини інтенсифікація ферментативного гідролізу полісахаридів крохмалю може бути досягнута за рахунок механічного і теплового руйнування його зерен. Прискорення ферментативного гідролізу здійснюється шляхом попереднього процесу клейстеризації, який призводить до деструкції крохмальних зерен. Встановлено, що тривалість процесу клейстеризації крохмалю борошна складає 15 хв при температурі $80\text{ }^\circ\text{C}$.

Максимальна швидкість ферментативних перетворень субстрату визначається співвідношенням фермент:субстрат при певному гідромодулі. Результати вивчення впливу гідромодуля (ГМ) при ферментативному гідролізі клейстеризованого крохмалю ячмінного борошна α -амілазою та глюкоамілазою на вихід β -глюкану представлені на рис. 3. Найбільший вихід β -глюкану при гідролізі амілолітичними ферментами спостерігається при ГМ 14 і складає 75,3 % та 72,8 % для ячмінного борошна сортів «Вакула» та «Водограй» відповідно. При менших концентраціях ферментів вихід β -глюкану суттєво знижувався, збільшення вмісту істотного впливу на процес не мало.

З метою збільшення виходу β -глюкану проведені дослідження по вивченню ферментативної деструкції білкових речовин. При гідролізі протеазою (ГМ 16) вихід β -глюкану складає 78,3 % і 76,6 % для ячмінного борошна сортів «Вакула» та «Водограй» (рис. 4) відповідно.

Згідно з теорією ферментативного каталізу на швидкість хімічних реакцій впливає концентрація ферменту. Результати проведених досліджень, наведених в табл. 2–4, дозволяють стверджувати, що найбільший вихід β -глюкану при ферментолізі α -амілазою, глюкоамілазою, протеазою спостерігається при концентрації ферментів 0,005 %, 0,0005 %, 0,025 % відповідно і складає 48,6 % та 45,5 %; 75,3 % та 72,8 %; 78,3 % та 76,6 % для ячмінного борошна сортів «Вакула» та «Водограй». При збільшенні концентрації ферментів істотного підвищення виходу β -глюкану не

спостерігається, а зменшення концентрації призводить до зниження виходу β -глюкану.

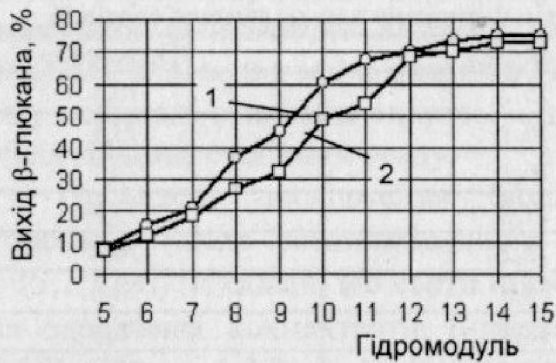


Рис. 3. Вплив гідромодулю на вихід β -глюкану ячмінного борошна при гідролізі α -амілазою та глюкоамілазою: 1 – «Вакула» рН 5, $t = 55^\circ\text{C}$, $[\text{E}]_{\alpha\text{-амілаза}} = 0,005\%$, $[\text{E}]_{\text{глюкоамілаза}} = 0,0005\%$, 2 – «Водограй», рН 5, $t = 55^\circ\text{C}$, $[\text{E}]_{\alpha\text{-амілаза}} = 0,005\%$, $[\text{E}]_{\text{глюкоамілаза}} = 0,0005\%$

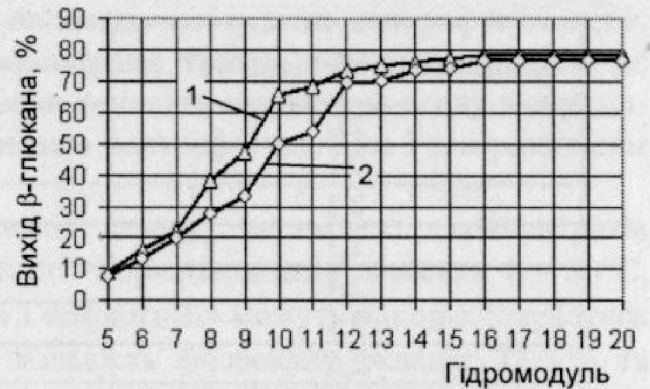


Рис. 4. Вплив гідромодулю на вихід β -глюкану ячмінного борошна при гідролізі протеазою: 1 – «Вакула» рН 5, $t = 55^\circ\text{C}$, $[\text{E}]_{\alpha\text{-амілаза}} = 0,005\%$, $[\text{E}]_{\text{глюкоамілаза}} = 0,0005\%$, $[\text{E}]_{\text{протеаза}} = 0,025\%$; 2 – «Водограй», рН 5, $t = 55^\circ\text{C}$, $[\text{E}]_{\alpha\text{-амілаза}} = 0,005\%$, $[\text{E}]_{\text{глюкоамілаза}} = 0,0005\%$, $[\text{E}]_{\text{протеаза}} = 0,025\%$

Таблиця 2

Вплив концентрації ферменту α -амілази на вихід β -глюкану
(ГМ 12, $t = 55^\circ\text{C}$, рН 5)

($n = 3$, $P \leq 0,95$)

Концентрація α -амілази, $\cdot 10^{-3}$, %	Вихід β -глюкану з муки ячменю сортів, %	
	«Вакула»	«Водограй»
0,2	6,0	4,2
0,3	15,1	10,3
0,4	30,0	28,0
0,5	48,6	45,5
0,6	48,6	45,5

Таблиця 3

Вплив концентрації ферменту глюкоамілази на вихід β -глюкану
(ГМ 14, $t = 55^\circ\text{C}$, рН 5, $[\alpha\text{-амілаза}] = 0,005\%$)

($n = 3$, $P \leq 0,95$)

Концентрація глюкоамілази, $\cdot 10^{-3}$, %	Вихід β -глюкану з муки ячменю сортів, %	
	«Вакула»	«Водограй»
0,02	15,1	12,3
0,03	45,2	32,1
0,04	67,5	53,8
0,05	75,3	72,8
0,06	75,3	72,8

Вплив концентрації ферменту протеази на вихід β -глюкану
(ГМ 16, $t = 55^\circ\text{C}$, pH 5, $[\alpha\text{-амілаза}] = 0,005\%$, $[\text{глюкоамілаза}] = 0,0005\%$)

($n = 3$, $P \leq 0,95$)

Концентрація протеази, $\cdot 10^{-3}$, %	Вихід β -глюкану з муки ячменю сортів, %	
	«Вакула»	«Водограй»
2,0	75,2	70,1
2,1	76,1	73,1
2,2	76,1	73,1
2,3	77,0	73,8
2,4	78,2	76,4
2,5	78,3	76,6
2,6	78,3	76,6
2,7	78,4	78,4

Вплив тривалості ферментативного гідролізу амілолітичними та протеолітичними ферментами на вихід β -глюкану наведено на рис. 5, 6.

Експериментальні дані дослідження впливу тривалості процесів амілолізу та протеолізу ячмінного борошна на вихід β -глюкану свідчать про те, що найбільший вихід β -глюкану спостерігається через 30 хв ферментолізу α -амілазою та глюкоамілазою і 30 хв протеазою в присутності амілолітичних ферментів та складає 76,3 % та 56,2 %; 78,3 % та 76,6 % для ячмінного борошна сортів «Вакула» і «Водограй» відповідно.



Рис. 5. Вплив тривалості ферментативного гідролізу на вихід β -глюкану ячмінного борошна при гідролізі α -амілазою і глюкоамілазою: 1 – «Вакула» pH 5, $t = 55^\circ\text{C}$, $[\text{E}]_{\alpha\text{-амілаза}} = 0,005\%$, $[\text{E}]_{\text{глюкоамілаза}} = 0,0005\%$, ГМ 14; 2 – «Водограй», pH 5, $t = 55^\circ\text{C}$, $[\text{E}]_{\alpha\text{-амілаза}} = 0,005\%$, $[\text{E}]_{\text{глюкоамілаза}} = 0,0005\%$, ГМ 14.



Рис. 6. Вплив тривалості ферментативного гідролізу на вихід β -глюкану ячмінного борошна при гідролізі протеазою в присутності α -амілази та глюкоамілази: 1 – «Вакула» pH 5, $t = 55^\circ\text{C}$, $[\text{E}]_{\alpha\text{-амілаза}} = 0,005\%$, $[\text{E}]_{\text{глюкоамілаза}} = 0,0005\%$, $[\text{E}]_{\text{протеаза}} = 0,025\%$; ГМ 16; 2 – «Водограй», pH 5, $t = 55^\circ\text{C}$, $[\text{E}]_{\alpha\text{-амілаза}} = 0,005\%$, $[\text{E}]_{\text{глюкоамілаза}} = 0,0005\%$, $[\text{E}]_{\text{протеаза}} = 0,025\%$, ГМ 16.

Концентрати β -глюкану борошна ячменю сортів «Вакула» і «Водограй» отримали шляхом клейстеризації водної суспензії сировини з подальшим ферментативним гідролізом амілолітичними ферментами — α -амілазою (*Bacillus subtilis*)

($C = 0,005\%$, $GM = 12$), глюкоамілазою (*Aspergillus awamori*) ($C = 0,0005\%$, $GM = 14$) при $pH = 5$, $t = 55\text{ }^\circ\text{C}$, $\tau = 30$ хв, а також протеазою (*Bacillus subtilis*) ($C = 0,025\%$, $GM = 16$, $pH = 5$, $t = 55\text{ }^\circ\text{C}$, $\tau = 30$ хв), нагріванням гідролізату для інактивації ферментів, відділенням осаду від надосадочної рідини центрифугуванням. Отриманий супернатант підлягав ультрафільтрації (вихід супернатанту складає 92%) для видалення моносахаридів і білкових речовин, осадженню осаду в отриманому екстракті етиловим спиртом з подальшим центрифугуванням і завершальним сублімаційним сушінням осаду.

Проведені дослідження біохімічного складу отриманих концентратів β -глюканів (після розпилювального сушіння ферментолізатів ячменю ($t = 80\text{ }^\circ\text{C}$, $\tau = 15\text{...}20$ с)) показали, що сорти «Вакула» і «Водограй» можуть використовуватись для одержання концентратів β -глюкану. Кількість β -глюкану складає $78,3\%$ та $76,6\%$, білка – $1,3\%$ та $1,1\%$, зольних речовин – $1,4\%$ та $1,3\%$, моносахаридів – $3,2\%$ та 4% , мальтодекстринів – $12,0\%$ та $13,3\%$, геміцелюлоз – $3,0\%$ та $3,1\%$ для сортів ячменю «Вакула» та «Водограй» відповідно.

Наступний етап роботи – дослідження моносахаридного складу геміцелюлоз (ГМЦ), що містяться в одержаних концентратах β -глюканів, методом високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). Моносахаридний склад ГМЦ концентратів β -глюканів ячмінного борошна сортів «Вакула» і «Водограй» наведено в табл. 5.

В моносахаридному складі ГМЦ концентратів, окрім глюкози, вміст якої складає $90\text{...}91\%$, у гідролізаті виявлені залишки арабінози і ксилоли в кількості $3,3\text{...}4,2\%$ та $5,4\text{...}5,8\%$ відповідно. Останні є структурними компонентами геміцелюлоз ячменю.

Таблиця 5

Моносахаридний склад ГМЦ концентратів β -глюканів ячмінного борошна сортів «Вакула» та «Водограй»

Час утримування, хв	Моносахарид	Концентрат ячмінного борошна сорта «Вакула»		Концентрат ячмінного борошна сорта «Водограй»	
		(г/л)	%	(г/л)	%
6,4	Глюкоза	50,12	91	45,84	90
6,8	Арабіноза	1,82	3,3	2,14	4,2
7,5	Ксилоза	2,89	5,4	2,98	5,8

Про наявність β -глюкану у концентраті судили по характеристичним смугам поглинання отриманих концентратів, наведеним на рис. 7, 8.

Відомо, що максимальне поглинання зв'язків β -(1 \rightarrow 3) β -глюкану пшениці відповідає 894 см^{-1} , вівса — 892 см^{-1} , гречки — 895 см^{-1} , ячменю — 897 см^{-1} . Частоти поглинання β -(1 \rightarrow 3) зв'язків β -глюканів різних видів сировини дещо відрізняються. На наведених ІЧ-спектрах досліджуваних концентратів β -глюканів, ідентифікована характеристична смуга поглинання β -(1 \rightarrow 3) зв'язків при 897 см^{-1} , що свідчить про наявність β -(1 \rightarrow 3) полісахаридів у складі досліджуваного комплексу.

На наступному етапі досліджень вивчали реологічні характеристики β -глюканів у порівнянні з гуміарабіком, оскільки їх характеристики подібні. Аналіз отриманих результатів свідчить про те, що розчини β -глюканів при концентрації $C = 15\%$ проявляють в'язкісні властивості, аналогічні до розчинів гуміарабіку тієї ж концен-

трації ($C = 15\%$). Ці властивості водних розчинів β -глюкану слід враховувати при його використанні в харчових системах, в якості регулятора консистенції і структури, коректору в'язкопластичних характеристик.

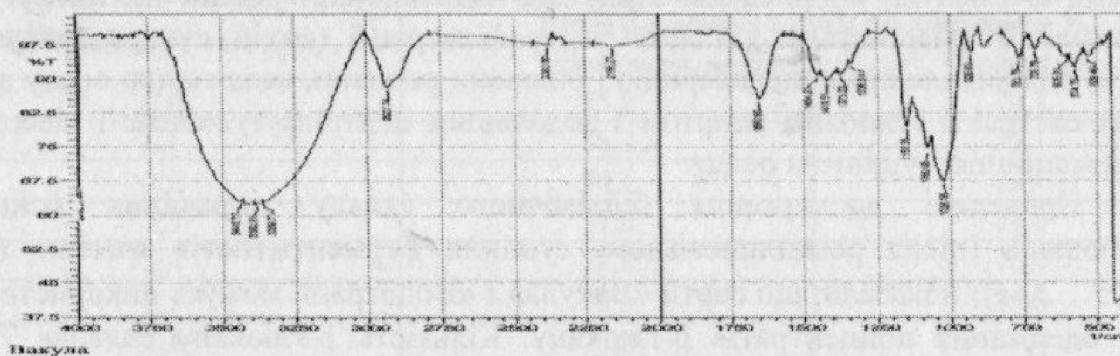


Рис. 7. ІЧ-спектр препарату β -глюкану ячмінного борошна сорта «Вакула»

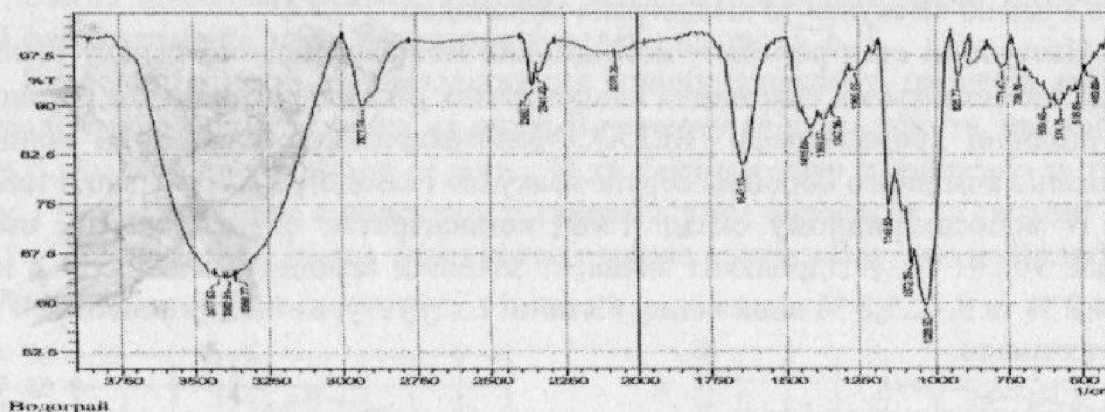


Рис. 8. ІЧ-спектр препарату β -глюкану ячмінного борошна сорта «Водограй»

У четвертому розділі «Дослідження процесу культивування лактобацил, біфідобактерій та спороутворюючих бактерій на гідролізатах ячменю» наведено результати експериментальних досліджень, направлених на одержання синбіотичної БАД «Премікспро™» на основі гідролізату ячменю і пробіотичних мікроорганізмів.

Наведено хімічний склад гідролізатів ячмінного борошна. Отримані результати показали, що в них міститься до 2,63 % та 2,54 % β -глюкану, 0,71 % та 0,60 % білка, 0,9 % та 0,8 % зольних речовин, 2,28 % та 2,32 % моносахаридів, 0,3 % та 0,38 % геміцелюлоз, 1,14 % та 1,25 % мальтодекстринів відповідно для ячменю сортів «Вакула» та «Водограй».

Як базове поживне середовище для культивування пробіотичних мікроорганізмів використовували гідролізат ячменю сорту «Вакула», який характеризується найбільшим вмістом β -глюкану.

β -Глюкан є пребіотиком вуглеводної природи, який, окрім стимулюючої функції, має захисну здатність по відношенню до мікроорганізмів. Він виконує функцію інкапсулюючого агенту, сприяючи подоланню фізіологічних бар'єрів організму. Вивчено закономірності росту і розвитку *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bacillus coagulans* при їх культивуванні на гідролізаті ячмінного борошна

(контроль – стерильне знежирене коров'яче молоко, кукурузно-лактозне середовище (КЛС) і м'ясо-пептонний бульйон (МПБ), що містить 1 %-вий розчин глюкози рис. 9–11.

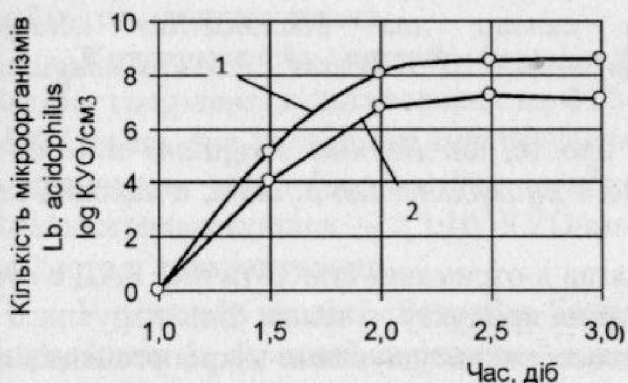


Рис. 9. Динаміка накопичення клітин *Lb. acidophilus* – Ep – 317/402 на різних субстратах: 1 – коров'яче молоко; 2 – гідролізат ячмінного борошна.

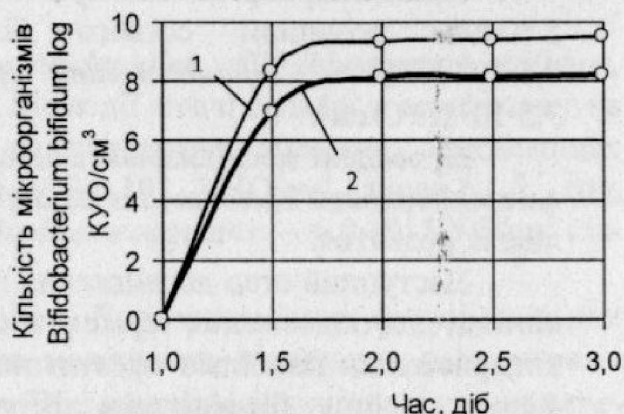


Рис. 10. Динаміка накопичення клітин *Bifidobacterium bifidum-1* на різних субстратах: 1 – КЛС; 2 – гідролізат ячмінного борошна

З наведених результатів по динаміці накопичення біомаси клітин *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bacillus coagulans* можна зробити висновок, що культури мікроорганізмів розвиваються досить інтенсивно на гідролізаті ячмінного борошна, але дещо гірше порівняно з контрольними зразками, що культивуються на стандартних поживних середовищах і на 3 добу культивування складають $0,5 \cdot 10^7$ КУО/см³, $1,7 \cdot 10^8$ КУО/см³, $3 \cdot 10^9$ КУО/см³ відповідно.

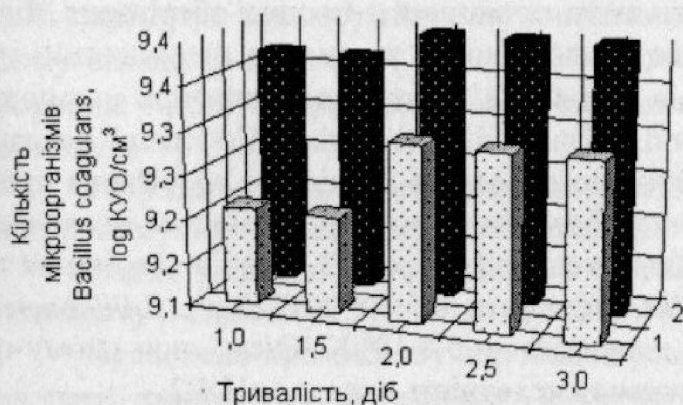


Рис. 11. Динаміка культивування *Bacillus coagulans*- БМ-80 на різних субстратах: 1 – МПБ з 1 %-відсотковим розчином глюкози; 2 – гідролізат ячмінного борошна.

КУО/см³ відповідно.

Проведено дослідження по отриманню синбіотичної БАД, що включає 3 штами полівидових мікроорганізмів: *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bacillus coagulans*. В якості поживного середовища для спільного культивування *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bacillus coagulans* використовували

Для збільшення кількості клітин *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bacillus coagulans* при їх культивуванні на гідролізаті ячмінного борошна в поживне середовище додатково вводяться соєвий білок і молочна сироватка різної концентрації. Встановлено, що максимальна кількість клітин *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bacillus coagulans* накопичується в культуральному середовищі при концентрації соєвого білка 5 % і складає $6,0 \cdot 10^7$ КУО/см³, $2,0 \cdot 10^9$ КУО/см³, $7,0 \cdot 10^9$

ферментативний гідролізат ячмінного борошна (ФГЯБ) з внесенням 5 %-вого розчину соєвого білка.

Число мікроорганізмів при спільному культивуванні мультиштаму на ФГЯБ з 5 %-ним розчином соєвого білка склало для *Lactobacillus acidophilus* $0,5 \cdot 10^8$ КУО/см³, *Bifidobacterium bifidum* — $4,0 \cdot 10^9$ КУО/см³, *Bacillus coagulans* — $7,5 \cdot 10^9$ КУО/см³.

Проведені дослідження свідчать про те, що *Bacillus coagulans* не пригнічує життєдіяльність *Lactobacillus acidophilus* і *Bifidobacterium bifidum*, а навпаки стимулює їх розвиток.

Наступний етап дослідження полягав в отриманні синбіотичної БАД в сухому вигляді для подовження терміну зберігання продукту, а також більш зручного його використання. Найбільш ефективним способом висушування мікроорганізмів є ліофільне сушіння. Ліофілізацію препарату проводили на ліофілній установці марки ОЕ – 950 ($t = 0,01$ °С, $P = 0,610$ кПа, $\tau = 15$ годин). Кількість клітин у досліджуваних продуктах після висушування становила для *Lactobacillus acidophilus* $6,0 \cdot 10^9$ КУО/см³, *Bifidobacterium bifidum* — $8,0 \cdot 10^{10}$ КУО/см³, *Bacillus coagulans* — $9,0 \cdot 10^{11}$ КУО/см³.

Отримані результати дозволили встановити, що при сушінні мікроорганізмів у ФГЯБ, з вмістом β -глюкану, відбувається процес інкапсулювання мікроорганізмів в β -глюкановий матрикс. Отже, β -глюкан виконує роль інкапсулюючого агента і здійснює захисну функцію по відношенню до живих мікроорганізмів, запобігає інгібувальній дії температури, несприятливих умов його зберігання.

При виробництві БАД «Премікспро™» особливу увагу необхідно приділити здатності мікроорганізмів утримувати свою активність в процесі зберігання. Флакони з висушеними препаратами в асептичних умовах закривали стерильними гумовими пробками і зберігали 15 місяців при 4 ± 2 °С, контролюючи при цьому зміну активної кислотності, органолептичні, фізико-хімічні і мікробіологічні показники якості. Експериментально встановлено, що впродовж 12 місяців зберігання продукти за своїми органолептичними, фізико-хімічними і мікробіологічними показниками відповідають вимогам нормативної документації. Через 12 місяців зберігання кількість клітин *Lactobacillus acidophilus* становить $0,5 \cdot 10^6$ КУО/см³, *Bifidobacterium bifidum* — $6,2 \cdot 10^7$ КУО/см³, *Bacillus coagulans* — $5,8 \cdot 10^8$ КУО/см³, при цьому патогенні мікроорганізми не виявлені, активна кислотність складає рН 4,2.

Отримані результати дозволяють визначити гарантійний термін придатності до споживання синбіотичних БАД при температурі 4 ± 2 °С у герметичній тарі не більше, ніж 12 місяців.

Синбіотичний препарат «Премікспро™» є порошком кремового кольору з вологістю 6,5 %, добре розчинний у воді.

На наступному етапі дослідження вивчали життєздатність клітин *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bacillus coagulans* у несприятливих умовах *in vitro*, що імітують шлунково-кишковий тракт (ШКТ). В якості модельних фізіологічних середовищ застосовували шлунковий сік і жовч.

Життєздатність клітин *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bacillus coagulans*, культивованих на ФГЯБ, після дії шлункового соку складає в се-

редньому на 16 % більше, ніж клітин, що культивувались на стандартних поживних середовищах і становить для *Lactobacillus acidophilus* $3,0 \cdot 10^7$ КУО/см³, *Bifidobacterium bifidum* — $5,5 \cdot 10^8$ КУО/см³, *Bacillus coagulans* — $6,5 \cdot 10^9$ КУО/см³ після 3-х год. культивування.

Життєздатність клітин *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bacillus coagulans*, культивованих на ФГМЯ, після дії жовчі складає в середньому на 45% більше, ніж клітин, що культивувались на стандартних поживних середовищах і становить для *Lactobacillus acidophilus* $3,0 \cdot 10^6$ КУО/см³ після 1,5 год, *Bifidobacterium bifidum* — $2,3 \cdot 10^6$ КУО/см³, *Bacillus coagulans* — $6,0 \cdot 10^7$ КУО/см³ після 3-х год. культивування.

У п'ятому розділі «Розробка біотехнології β-глюканвмісних функціональних інгредієнтів із зернової сировини» доведена можливість отримання концентратів β-глюканів та синбіотичної БАД «Премікспро™»; наведено принципові схеми переробки ячмінного борошна для отримання концентратів β-глюканів та синбіотичної БАД «Премікспро™»; обґрунтовано раціональні параметри ключових технологічних операцій, технологічні та апаратурні схеми.

При обґрунтуванні умов ферментативної обробки ячмінного борошна в якості фактору оптимізації розглядали: температуру (t), тривалість ферментативного гідролізу ячмінної муки (τ) і гідромодуль (GM) при фіксованих значеннях концентрації ферментів і рН середовища ($C_{[\alpha\text{-амілази}]} = 0,005$ %, $C_{[\text{глюкоамілази}]} = 0,0005$ %, $C_{[\text{протеази}]} = 0,025$ %, рН = 5). Параметром оптимізації обрано вихід β-глюкану (G).

За результатами проведених експериментів отримано математичну модель процесу у вигляді рівняння регресії, використовуючи яку, були встановлені оптимальні параметри процесу гідролізу ячмінного борошна, що відповідають максимальному виходу β-глюкану (76,6...78,3 %): температура процесу гідролізу ячмінного борошна — 55 °С; тривалість обробки суспензії борошна гідролізазами — 60 хв; гідромодуль — 16.

Розроблена технологічна схема комплексної переробки зерна ячменю, яка у векторному виконанні наведена на рис. 12.

Згідно з наведеною схемою з 1 т ячмінного борошна можна отримати 325 кг препарату β-глюкану і 175 кг синбіотичної БАД «Премікспро™».

Проведено промислову апробацію розробленої технології шляхом виробництва партії концентрату β-глюкану з використанням ферментних препаратів в лабораторії технології фітопрепаратів НДІЗіХП ОНАХТ та синбіотичної БАД «Премікспро™» на підприємстві ТОВ НВО «Аріадна». Показники продуктів з дослідних партій відповідали вимогам розробленої нормативної документації.

На наступному етапі дослідження вивчали мікробіологічні показники якості концентрату β-глюкану. На підставі результатів досліджень можна зробити висновок, що термін придатності до споживання становить 12 місяців при температурі 18 ± 1 °С у герметичній тарі, за цей час мікробіологічні показники якості практично не змінювалися.

Органолептична оцінка якості отриманого концентрату β-глюкану показала, що він є порошком кремового кольору з вологістю 7,5 %, добре розчинний у воді з солодким присмаком.

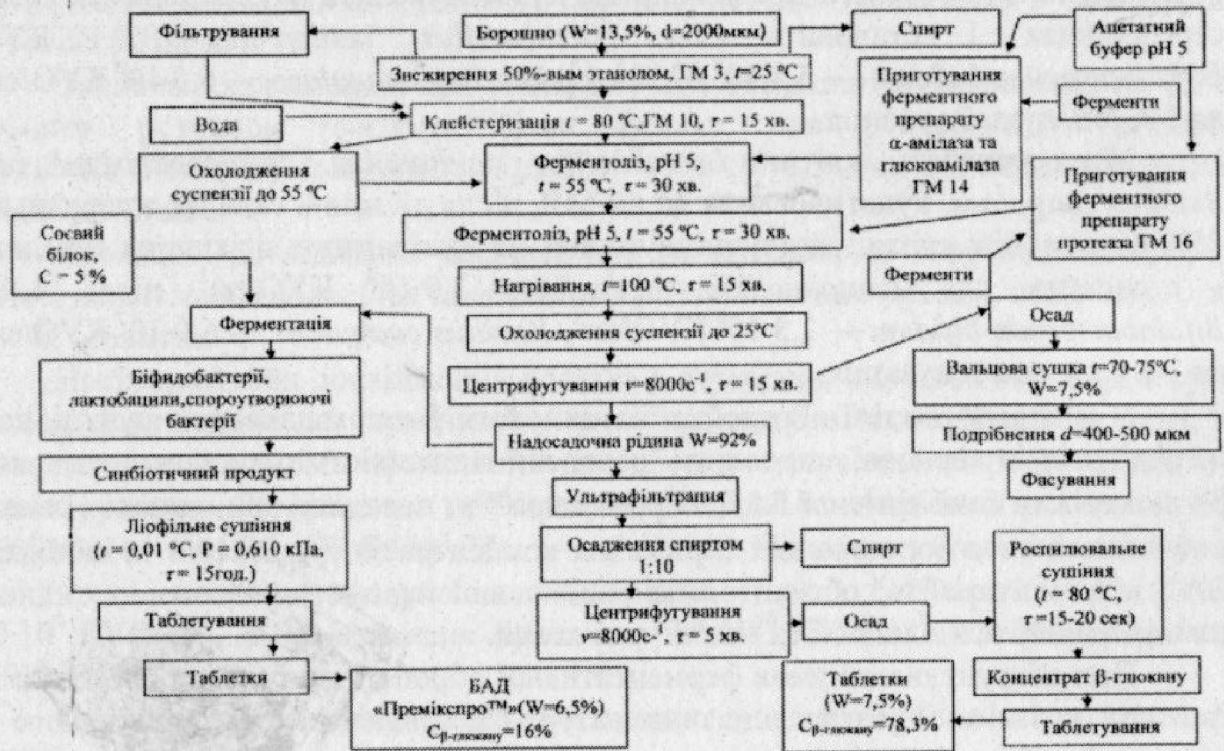


Рис. 12. Схема технологічного процесу комплексної переробки муки зерна ячменю

Показана доцільність використання концентрату β -глюкану при виробництві бісквітних напівфабрикатів.

Розрахована собівартість 100 шт. таблеток концентрату β -глюкану складає 26,48 грн, а собівартість 100 шт. таблеток синбіотичної БАД «Премікспро™» – 30,44 грн.

Медико-біологічні дослідження β -глюкану проводились Науково дослідним інститутом медицини транспорту України, синбіотичної БАД «Премікспро™» на базі виварію біологічного факультету Одеського національного університету ім. І.І. Мечникова спільно з кафедрою біохімії, мікробіології і фізіології харчування Одеської національної академії харчових технологій. Отримані результати свідчать, що препарат β -глюкану знижує рівень глюкози та холестерину в крові, може бути використаний в якості функціонального інгредієнту лікувально-оздоровчого харчування. Симбіотична БАД «Премікспро™» може бути використана в якості лікувально-оздоровчого харчування, яке здатне корегувати склад мікрофлори кишкового тракту, а також знизити рівень глюкози і холестерину в крові.

ВИСНОВКИ

1. Дана характеристика хімічного складу зерна ячменю сортів «Вакула» та «Водограй»: вміст ЛПІ складає 63,2 % та 65,1 % відповідно, вміст ВГП в сорті «Водограй» на 1,5 % перевищує таке сорту «Вакула» і складає 5,8 %.

2. Вивчена активність гідролітичних ферментних препаратів і їх дія на крохмаль та білкові речовини (α -амілаза — 2000 од. АА / г препарату, глюкоамілаза — 6000 од. АА / г препарату, протеаза 70 од. ПА / г препарату).

3. На основі розробленої математичної моделі були встановлені оптимальні параметри процесу гідролізу ячмінного борошна, що відповідають максимальному виходу β -глюкану (76,6...78,3 %): температура процесу гідролізу ячмінного борошна — 55 °С; тривалість обробки суспензії борошна гідролазами — 60 хв; гідромодуль — 16.

4. Концентрати β -глюкану ячмінного борошна сортів «Вакула» та «Водограй» отримані шляхом клейстеризації водної суспензії сировини з подальшим ферментативним гідролізом амілолітичними ферментами — α -амілазою (*Bacillus subtilis*) (С = 0,005 %, ГМ = 12), глюкоамілазою (*Aspergillus awamori*) (С = 0,0005 %, ГМ = 14) при рН = 5, $t = 55$ °С, $\tau = 30$ хв, а також протеазою (*Bacillus subtilis*) (С = 0,025 %, ГМ = 16, рН = 5, $t = 55$ °С, $\tau = 30$ хв), нагріванням гідролізату для інактивації ферментів, відділенням осаду від надосадочної рідини центрифугуванням, ультрафільтрацією отриманого супернатанту (вихід супернатанту складає 92 %) для видалення моносахаридів і білкових речовин, осадженням осаду в отриманому екстракті етиловим спиртом з подальшим центрифугуванням і завершальним сублімаційним сушінням осаду.

5. Вивчені фізико-хімічні показники якості концентратів β -глюканів. Концентрат β -глюкану являє собою порошок кремового кольору, солодкуватого смаку, без запаху, масова частка вологи складає 7,5 %.

6. Показано, що для культивування мікроорганізмів *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bacillus coagulans* на гідролізаті ячмінного борошна недостатньо азотистого живлення, тому в якості додаткового білкового компоненту використовували 5 %-ний розчин соєвого білка.

7. Отримана синбіотична БАД «Премікспро™», що складається з мікроорганізмів — *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bacillus coagulans*. Встановлено, що при спільному культивуванні мікроорганізмів кількість *Lactobacillus acidophilus* склала $6,0 \cdot 10^9$ КУО/см³, *Bifidobacterium bifidum* — $8,0 \cdot 10^{10}$ КУО/см³, *Bacillus coagulans* — $9,0 \cdot 10^{11}$ КУО/см³.

8. Досліджена стійкість мікроорганізмів по відношенню до агресивних середовищ ШКТ (шлунковий сік, жовч). Виживаємість клітин мікроорганізмів *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bacillus coagulans* після дії шлункового вмісту склала в середньому 45 %.

9. Дослідженнями встановлено, що синбіотична БАД, що володіє про- та пребіотичними властивостями, може виступати аналогом функціонального інгредієнта для відновлення кишкової мікрофлори.

10. Промислово апробацію розробленої технології комплексної переробки борошна із зерна ячменю проводили на промисловій базі ТОВ НВО «Аріадна» і в лабораторії фітопрепаратів НДІЗіХП ОНАХТ. Протягом 12 місяців зберігання при температурі 18 ± 1 °С концентрату β -глюкану мікробіологічні показники якості відповідали нормам ТУ У 15.8-02071062-008:2011 і ТП. Огрунтований термін зберігання БАД «Премікспро™», що становить 12 місяців при температурі 4 ± 2 °С, відповідає

нормам ТУ У 24.14-02071062-008:2011 і Ті. Висновок, отриманий від підприємства і лабораторії, підтверджує можливість комплексної переробки ячмінного борошна, а виробництво концентрату β -глюкану і синбіотичної БАД «Премікспро™» за запропонованою технологією можна здійснити на серійному вітчизняному і закордонному устаткуванні.

11. Розрахункова собівартість 100 шт. таблеток концентрату β -глюкану складає 26,48 грн, а собівартість 100 шт. таблеток синбіотичної БАД «Премікспро™» – 30,44 грн.

ПЕРЕЛІК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЙНОЇ РОБОТИ

1. Шунько, А.С. Модифицированный колориметрический метод определения β -глюкана в зерновых [текст] // А.С. Шунько, Л.В. Капрельянц // Пищевая наука и технология. – №4(13), – 2010. – С. 11-14.
2. Шунько, А.С. Зерновые β -глюканы: получение, структура, физико-химические свойства, физиологические эффекты [текст] // А.С. Шунько, Л.В. Капрельянц // Зерновые продукты и комбикорма. – №2(38), – 2010. – С. 21-25.
3. Шунько, А.С. Получение концентрата β -глюкана из ячменя [текст] // А.С. Шунько, Л.В. Капрельянц // Хранение и переработка зерна. – №1(139), – 2011. – С. 40-43.
4. Пат. на корисну модель 55700 Україна, МПК (2010) A21D13/08, (2006.01). Спосіб одержання β -глюканвмісного концентрату [текст] Капрельянц Л.В., Шунько Г.С.; власник Одес. нац. акад. харч. технологій. – № у 2010 06267; Заявл. 25.05.2010; Опубл.27.12.2010, Бюл. № 24.
5. Шунько, А.С. Препарати β -глюканов из ячменя [текст] // А.С. Шунько, Л.В. Капрельянц // Матеріали Всеукраїн. семінару молодих вчених, аспірантів та студентів «Основи раціонального харчування студентів» – Донецьк, 2010. – С. 100.
6. Шунько, А.С. Культивирование пробиотика *Bacillus coagulans* на зерновых средах [текст] // А.С. Шунько, Л.В. Капрельянц // Матеріали V Міжнародної конференції молодих учених «Биология: от молекулы до биосферы» – Харьков, 2010. – С. 207-208.
7. Шунько, А.С. Влияние β -глюкана на накопление биомассы *Bacillus coagulans* [текст] // А.С. Шунько, Л.В. Капрельянц // Матеріали шостої міжнародної науково-практичної конференції «Розвиток наукових досліджень» – Полтава, 2010. – С. 131-132.
8. Шунько, А.С. Биотехнологические подходы в технологии получения концентратов β -глюканов [текст] // А.С. Шунько, Л.В. Капрельянц // Матеріали VII Міжнародної наукової конференції студентів і аспірантів «Техника и технологии пищевых производств» – Могилев, 2010. – С. 76.
9. Шунько, А.С. Використання β -глюкану, як функціонального компонента харчування [текст] // А.С. Шунько, Л.В. Капрельянц // Збірник наукових праць молодих учених, аспірантів та студентів. – Одеса, 2010. – С. 76.

Особистий внесок:

1) проведення літературного пошуку та експериментальних досліджень, обробка обґрунтування та узагальнення отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку [1-3], [5-9];

2) проведення літературного та патентного пошуку, узагальнення та систематизація отриманих експериментальних даних, оформлення заявки на патент, участь у складанні опису винаходів [4].

АНОТАЦІЯ

Шунько Г.С. Розробка біотехнології β -глюканвмісних функціональних інгредієнтів з зернової сировини. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія. – Одеська національна академія харчових технологій Міністерства освіти і науки, молоді та спорту України, 2012.

В дисертаційній роботі надано характеристику хімічного складу ячменю різноманітних сортів, які районовані на півдні України, як джерел β -глюкану, теоретично та експериментально обґрунтовано доцільність використання та умови біотехнологічного концентрування β -глюкану з використанням гідролітичних ферментів.

Значна увага приділяється всебічній характеристиці досліджуваних концентратів β -глюканів: функціонально-фізіологічних властивостей, фізико-хімічних показників якості функціональних інгредієнтів і синбіотичного препарату на основі β -глюкану з включенням лактобацил, біфідобактерій і спороутворюючих бактерій, характеристика захисної функції β -глюкану по відношенню до лактобацил, біфідобактерій, спороутворюючих бактерій під впливом метаболітів шлунково-кишкового тракту.

В роботі розглянуто підходи та запропоновано методика визначення концентрації β -глюкану, яка базується на гідролітичній деструкції цього полісахариду сірчаною кислотою до глюкози з подальшим її визначенням за допомогою кольорової L-цистеїнової реакції.

Проведено промислову апробацію розробленої технології шляхом виробництва партії концентрату β -глюкану з використанням ферментних препаратів та синбіотичної БАД «Премікспро™» з використанням пробіотичних мікроорганізмів.

Ключові слова: ячмінь, ферментні препарати, β -глюкан, лактобактерії, біфідобактерії, спороутворюючі бактерії, L-цистеїнова реакція, функціональні інгредієнти, синбіотичні БАД.

АННОТАЦІЯ

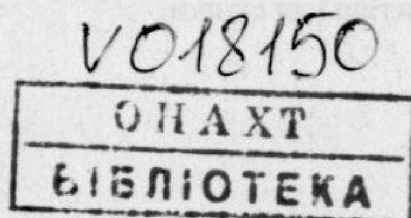
Шунько А.С. Разработка биотехнологии β -глюкансодержащих функциональных ингредиентов из зернового сырья. – Рукопись.

Диссертация на соискание научной степени кандидата технических наук по специальности 03.00.20 – биотехнология. – Одесская национальная академия пищевых технологий Министерства образования и науки молодежи и спорта Украины, Одесса, 2012.

Актуальность темы заключается в поиске новых высокоэффективных способов получения β -глюкана с применением биотехнологических подходов, создание и использование в рационе питания пищевых добавок, содержащих данный полисахарид.

Микрофлора желудка человека является определяющим фактором метаболизма организма и функций иммунной системы. Этим фактом определяется необходимость включения пробиотических микроорганизмов в состав пищевых производств – лакто-, бифидобактерий, спорообразующих бактерий, стимуляторов и жизнедеятельности – пребиотиков.

Использование синбиотика на основе β -глюкана и пробиотических микроорганизмов в качестве биологически активной добавки позволит стимулировать разви-



тие полезной микрофлоры желудочно-кишечного тракта, а использование пребиотиков углеводной природы обеспечивает пролонгированность действия пробиотика.

В работе представлена характеристика химического состава различных сортов ячменя, районированных на юге Украины, как источника β -глюкана, теоретически и экспериментально обоснована целесообразность использования и условия биотехнологического концентрирования β -глюкана с применением гидролитических ферментов.

Оптимальными условиями ферментативной деструкции водорастворимых биополимеров муки ячменя с целью получения максимального выхода β -глюкана является рН = 5, температура $t = 55$ °С, продолжительность амилолиза составляет 30 минут, продолжительность протеолиза составляет 30 минут.

Диссертационная работа направлена на разработку технологии получения функциональных ингредиентов, содержащих β -глюкан, концентрация которого составляет 78,3 %, а также сопутствующие вещества: белок – 1,3 %, зола – 1,4 %, моносахариды – 3,2 %, мальтодекстрины – 13,0 %, гемицеллюлозы – 3,0 %.

В работе рассмотрены подходы и предложена методика количественного определения содержания водорастворимых β -глюканов, которая основана на гидролитическом расщеплении этого полисахарида серной кислотой до глюкозы с последующим её определением с помощью цветной L-цистеиновой реакции.

Модификация L-цистеин-сернокислотного метода позволяет определять количественно глюкозу в присутствии пентоз.

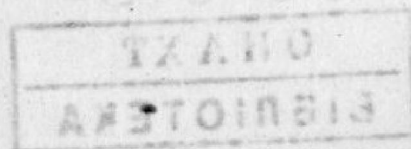
Представлены ИК-спектры исследуемых концентратов β -глюканов, идентифицирована характеристическая полоса поглощения β -(1 \rightarrow 3) связи при 897 см^{-1} , что свидетельствует о присутствии β -(1 \rightarrow 3) полисахаридов в составе исследуемого комплекса.

Изучен химический состав ферментативного гидролизата ячменной муки сорта «Вакула». Доказано, что он характеризуется большим содержанием β -глюкана и составляет 2,63 %.

Получен синбиотический БАД «Премикспро™», состоящий из микроорганизмов – *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bacillus coagulans*. Установлено, что при совместном культивировании микроорганизмов количество *Lactobacillus acidophilus* составило $6,0 \cdot 10^9$ КОЕ/см³, *Bifidobacterium bifidum* – $8,0 \cdot 10^{10}$ КОЕ/см³, *Bacillus coagulans* – $9,0 \cdot 10^{11}$ КОЕ/см³.

Значительное внимание уделяется всесторонней характеристике исследуемых концентратов β -глюканов: функционально-физиологических свойств, физико-химических показателей качества функциональных ингредиентов и синбиотического препарата на основе β -глюкана с включением лактобацилл, бифидобактерий и спорообразующих бактерий, характеристике защитной функции β -глюкана по отношению к пробиотическим микроорганизмам (лактобациллам, бифидобактериям, спорообразующим бактериям) под влиянием метаболитов желудочно-кишечного тракта.

Разработана технологическая схема комплексной переработки зерна ячменя, которая включает следующие основные этапы: обезжиривание, клейстеризацию, ферментализацию амилолитическими и протеолитическими ферментными препаратами, центрифугирование с последующим получением осадка и надосадочной жидкости, лиофильная, вальцовая и распылительная сушки.



Разработана нормативная документация и проведена промышленная апробация разработанной технологии комплексной переработки муки из зерна ячменя путем производства партии концентрата β -глюкана с применением ферментных препаратов и синбиотической БАД «Премикспро™» с применением пробиотических микроорганизмов. Срок годности полученного концентрата β -глюкана составляет 12 месяцев при температуре 18 ± 1 °С в герметической таре, синбиотической БАД «Премикспро™» – 12 месяцев при температуре 4 ± 2 °С.

В работе представлено экономическое обоснование целесообразности производства функциональных ингредиентов из зернового сырья. Рассчитана себестоимость 100 шт. таблеток концентрата β -глюкана, которая составляет 26,48 грн., а себестоимость 100 таблеток синбиотической БАД «Премикспро™» – 30,44 грн

Ключевые слова: ячмень, ферментные препараты, β -глюкан, лактобактерии, бифидобактерии, спорообразующие бактерии, L-цистеиновая реакция, функциональные ингредиенты, синбиотической БАД.

ANNOTATION

Shunko A. S. Development biotechnologu of β -glucan containing functional ingredients from cereal. – 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, Youth and Sports of Ukraine, Odessa, 2012.

Theme validation lies in searching new high-performance methods of β -glucan preparation, by using biotechnological approaches, creation and utilization of food additives in human diet which contain this type of polysaccharide.

The work gives the chemical composition characteristics of barleys' different types as the source of β -glucan, regionalized in the South of Ukraine. The advisability of utilization and terms of β -glucan biotechnological concentration with the help of hydrolytic enzymes was theoretically and experimentally justified.

Protuberant attention was devoted to comprehensive characteristics of β -glucan investigated concentrate: its functional and physiologic properties, physical and chemical evaluation of functional ingredients quality characteristics, symbiotic specimen based on β -glucan with lactobacillus, bifidobacterium, spore-forming bacterium inclusions. The characteristic of protective function in relation with probiotic microorganisms (lactobacillus, bifidobacterium, spore-forming bacterium) under the influence of digestive tract metabolites was given.

The research paper examines the approaches and gives the methodology of water soluble β -glucans mass content measuring, which is based on hydrolytic splitting of this polysaccharose by sulphuric acid up to glucose and its further definition with the help of L-cysteine reaction.

Key words: barley, enzyme preparation, β -glucan, lactobacillus, bifidobacterium, spore-forming bacterium, L-cysteine reaction, functional ingredients, synbiotics BAA.