

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
БІЛОЦЕРКІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ АГРАРНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**

ВОВКОГОН АЛІНА ГРИГОРІВНА



УДК 606:637.146.33

**ТЕОРЕТИЧНЕ ТА ПРАКТИЧНЕ ОБҐРУНТУВАННЯ
РОЗРОБКИ БІОТЕХНОЛОГІЙ ІММОБІЛІЗАЦІЇ КЛІТИН
ЗАКВАСОК ДЛЯ КИСЛОМОЛОЧНИХ НАПОЇВ**

03.00.20 – біотехнологія

АВТОРЕФЕРАТ

дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора сільськогосподарських наук

Біла Церква
2020

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Білоцерківському національному аграрному університеті Міністерства освіти і науки України.

Науковий консультант – доктор сільськогосподарських наук, професор
Мерзлов Сергій Віталійович,
Білоцерківський національний аграрний
університет, декан біолого-технологічного
факультету.

Офіційні опоненти: доктор сільськогосподарських наук, професор
Постоєнко Володимир Олексійович,
ННЦ «Інститут бджільництва
ім. П.І. Прокоповича», директор;

доктор сільськогосподарських наук, професор
Цісарик Оріся Йосипівна, Львівський національний
університет ветеринарної медицини та біотехнології імені
С.З. Гжицького, завідувач кафедри технології молока і
молочних продуктів;

доктор ветеринарних наук, старший науковий
співробітник **Кушнір Ігор Михайлович**,
Державний науково-дослідний контрольний інститут
ветеринарних препаратів та кормових добавок, завідувач
лабораторії бактеріологічного контролю якості і
безпеки ветеринарних препаратів.

Захист дисертації відбудеться « 21 » липня 2020 р. о 10 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 27.821.01 у Білоцерківському національному аграрному університеті за адресою: 09117, Київська обл., м. Біла Церква, Соборна площа, 8/1, конференц-зал.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці Білоцерківського національного аграрного університету за адресою: 09117, Київська обл., м. Біла Церква, Соборна площа, 8/1.

Автореферат розіслано « 19 » червня 2020 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради

М.М. Сломчинський

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність проблеми. Збалансоване харчування посідає важливе місце у збереженні працездатності і здоров'я людей різного віку. Важливе місце в раціонах населення України займають кисломолочні продукти, які забезпечують організм есенціальними чинниками живлення, а також виконують пробіотичну та профілактичну функції (Цісарик О.Й., 2014; Устименко І.М., Поліщук Г.Є., 2019). Великий попит серед населення мають йогурт та геролакт, виготовлений на основі закваски стрептосану (Бронникова В.В., 2015; Романчук І.О., 2016).

Для виробництва кисломолочних продуктів переважно використовують молоко корів. Середні та дрібні молокопереробні підприємства значну кількість сировини закупають у населення, де якість молока не завжди контролюється. У складі такого молока часто виявляють інгібуючі сполуки, зокрема й залишки антибіотиків. Із такого молока важко, а в окремих випадках неможливо, виготовити якісні кисломолочні продукти, оскільки мікроорганізми, які входять до складу заквасок не стійкі до дії різних доз антибіотиків (Moretain J.P., 1989; Ahmet Erdogan, 2001). Крім того, збереження активності пробіотичних бактеріальних клітин в ферментованих харчових продуктах за дії біогенних і абіогенних фізико-хімічних факторів оточуючого середовища є проблемою для харчової промисловості. Одним із ефективних та можливих способів вирішення проблеми підвищення стійкості молочнокислих бактерій до інгібуючих факторів є їх іммобілізація на біосумісних матрицях (Коркач А.В., 2013; Martins S.C.S. et al., 2013).

Для іммобілізації молочнокислих бактерій необхідно застосовувати носії, які мають бути нетоксичними харчовими добавками. Найбільш часто використовуваними харчовими біополімерами є білки (желатин) та вуглеводи (пектин, крохмаль, альгинат натрію) (Герасименко В.Г., 2006; Коркач А.В., 2013).

З метою підвищення ефективності іммобілізації молочнокислих бактерій на цих харчових добавках слід проводити їх модифікацію. На даний час біотехнологічні аспекти модифікації харчових біополімерів фізико-хімічними методами із застосуванням нетоксичних зшивок висвітлені недостатньо.

Не вивченим залишається питання щодо використання модифікованих харчових добавок (желатин, пектин та крохмаль) як носіїв для іммобілізації клітин мікробіоти заквасок для йогурту та стрептосану.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Виконана робота є фрагментом теми «Розроблення біотехнологій одержання стабілізованих заквасок та ензимних препаратів для виробництва кисломолочних продуктів» (№ держреєстрації 0120U100372), що виконується в НДІ харчових технологій та технологій переробки продукції тваринництва Білоцерківського національного аграрного університету впродовж 2014–2020 років.

Мета і завдання дослідження. Метою наукової роботи є теоретичне та практичне обґрунтування вирішення проблеми підвищення стійкості заквасок для

кисломолочних продуктів до умов зберігання та дії інгібуючих чинників у молоці шляхом біотехнології іммобілізації клітин мікроорганізмів закваски йогурту та стрептосану на модифікованих природних органічних носіях.

Для досягнення мети було поставлено такі завдання:

- дослідити сорбуючі властивості нативного крохмалю, желатину та пектину;
- розробити технології модифікації крохмалю, пектину та желатину;
- вивчити сорбційні властивості модифікованих носіїв;
- дослідити нешкідливість модифікованого пектину, желатину та крохмалю;
- встановити гостру токсичність та подразнюючу дію модифікованих носіїв;
- вивчити стійкість нативних заквасок йогурту та стрептосану до дії антибіотиків у молоці;
- розробити схему іммобілізації закваски йогурту та стрептосану на модифікованих носіях;
- дослідити вплив різних доз іммобілізованих заквасок на сквашування молока;
- встановити час придатності та умови зберігання іммобілізованих заквасок для кисломолочних продуктів;
- вивчити стійкість іммобілізованої закваски йогурту до різних доз антибіотиків у молоці;
- дослідити стійкість іммобілізованої закваски стрептосану до різних доз антибіотиків у молоці;
- встановити реологічні показники кисломолочних напоїв, виготовлених за участі іммобілізованих заквасок;
- вивчити мікробіологічний та амінокислотний склад кисломолочних продуктів, виготовлених із застосуванням іммобілізованих заквасок;
- дослідити економічну ефективність використання іммобілізованих заквасок.

Об'єкт дослідження – біотехнології конструювання іммобілізованих заквасок для йогурту та стрептосану з підвищеною стійкістю до інгібуючих чинників, які потрапляють у молоко та встановлення ефективності використання цих заквасок для виготовлення кисломолочних напоїв.

Предмет дослідження – пектин, желатин, крохмаль, закваска для йогурту, закваска для стрептосану, модифікований желатин, модифікований крохмаль, модифікований пектин, іммобілізована закваска йогурту, іммобілізована закваска стрептосану, білі миші, білі щурі, лабораторні кролі, сироватка крові, печінка, кисломолочний продукт йогурт, кисломолочний продукт стрептосан, сік калини.

Методи дослідження:

- біотехнологічні – дослідження оптимальних технологічних параметрів та носіїв для іммобілізації закваски для йогурту та закваски для стрептосану; встановлення режимів зберігання іммобілізованих заквасок;
- мікробіологічні – підрахунок молочнокислих бактерій у йогуртах та стрептосанах і виявлення патогенної мікрофлори в кисломолочних напоях;

- токсикологічні – дослідження нешкідливості, гострої токсичності та подразнюючої дії модифікованих носіїв на лабораторних та сільськогосподарських тваринах;
- біохімічні – визначення вмісту піровиноградної кислоти, глюкози, молочної кислоти, сечовини, сечової кислоти, загального білка, загальних, білкових сульфогідрильних груп та HS-груп низькомолекулярних сполук, вивчення активності ензимів у організмах мишей, щурів та лабораторних кролів;
- хімічні – встановлення титрованої кислотності молока та кисломолочних продуктів;
- спектрофотометричні – дослідження вмісту замінних і незамінних амінокислот у йогурті та стрептосані;
- математично-статистичні – одержання середніх арифметичних, похибок до середніх арифметичних, надання кількісної оцінки одержаних експериментальних результатів та встановлення економічної ефективності використання іммобілізованих заквасок йогурту та стрептосану для виготовлення кисломолочних продуктів.

Наукова новизна одержаних результатів. Вивчено сорбційні властивості харчових добавок (крохмалю, пектину та желатину) як носіїв для іммобілізації клітин мікроорганізмів. Уперше відпрацьовано технології модифікації пектину, желатину та крохмалю фізико-хімічними методами.

Вивчено нешкідливість, гостру токсичність та подразнюючі дії носіїв модифікованого пектину, желатину та крохмалю.

Уперше розроблено біотехнологію іммобілізації закваски для йогурту на модифікованих органічних носіях. Розроблено біотехнологічну схему іммобілізації закваски для кисломолочного продукту стрептосану на модифікованому пектині та желатині.

Досліджено час зберігання іммобілізованої закваски для йогурту та іммобілізованої закваски стрептосану. Уперше доведено оптимальну дозу внесення іммобілізованих заквасок у молоко корів для одержання якісних кисломолочних напоїв.

Доведено стійкість іммобілізованих заквасок йогурту та стрептосану до вмісту інгібуючих чинників у молоці. Уперше одержано йогурт та стрептосан, сенсорні показники яких відповідали стандартним вимогам за використання іммобілізованих заквасок.

Практичне значення результатів дослідження. За розробленої технології модифікації нативного пектину сорбційні показники останнього були підвищені на 20,8 %. Модифікація желатину дає можливість збільшити його сорбційні властивості на 26,9 %, порівняно з нативною формою.

Унаслідок проведення досліджень гострої токсичності модифікованих носіїв було доведено, що ці харчові добавки відносяться до малотоксичних сполук (4 клас згідно з ГОСТ 12.1.007). DL_{50} на білих мишах та щурах є більшим 5000 мг/кг.

Оптимальним співвідношенням матриця (мг) : розчинник (см³) : закваска (мг) є 1000:0,2:60. За такого співвідношення зберігається найвища активність закваски. Висушування іммобілізованої закваски за такого співвідношення є найшвидшим.

Імобілізація заквасок йогурту та стрептосану дозволяє пролонгувати час їх зберігання на 12–18 місяців. Доведено, що іммобілізовані закваски йогурту та стрептосану здатні згортати молоко із вмістом пеніциліну до 20–25 Од/см³.

На основі отриманих даних розроблено рекомендації щодо біотехнології виробництва іммобілізованих заквасок йогурту та стрептосану і їх використання за виробництва кисломолочних продуктів.

Матеріали наукової роботи можуть бути використані в курсах лекцій з дисциплін «Біотехнологія», «Біотехнологія в харчовій промисловості», «Технологія галузі» у закладах вищої освіти для підготовки фахівців за спеціальностями «Біотехнологія», «Технологія виробництва та переробки продукції тваринництва» та «Харчові технології».

Особистий внесок здобувача. Дисертантка особисто розробила концепцію модифікації органічних носіїв та створення іммобілізованих заквасок для кисломолочних продуктів, обґрунтувала мету та основні завдання робіт, самостійно виконала, проаналізувала та узагальнила експериментальні дослідження. Підготовку та узагальнення висновків і пропозицій виробництву виконували за консультативної допомоги доктора сільськогосподарських наук, професора Мерзлова С.В. Мікробіологічні дослідження виконані на кафедрі мікробіології та вірусології Білоцерківського НАУ. Вміст амінокислот у кисломолочних напоях (йогурт, стрептосан) визначали в ДНДКІ ветеринарних препаратів та кормових добавок м. Львів.

Апробація результатів дисертації. Матеріали дисертаційної роботи доповідалися й отримали позитивне схвалення на ІХ Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні проблеми підвищення якості, безпеки виробництва та переробки продукції» (Вінниця, 2016); Міжнародній науково-практичній інтернет-конференції «Інноваційні технології виробництва та переробки тваринницької продукції» (Вінниця, 2017); Міжнародній науково-практичній конференції «Проблеми та шляхи інтенсифікації виробництва продукції тваринництва» (Дніпро, 2017); Міжнародній науково-практичній конференції «Інноваційні технології виробництва та переробки тваринницької продукції» (Вінниця, 2018); Міжнародній науково-практичній конференції «Перспективи технології виробництва у тваринництві та птахівництві» (Вінниця, 2018); Міжнародній науково-практичній конференції «Інноваційні технології виробництва і переробки продукції тваринництва» (Біла Церква, 2019); Всеукраїнській науково-практичній конференції «Ветеринарно-санітарні аспекти технології виробництва і переробки продукції тваринництва» (Миколаїв, 2019); Державній науково-практичній конференції «Новітні технології виробництва та переробки продукції тваринництва» (Біла Церква, 2016) та на засіданнях вченої ради біолого-технологічного факультету Білоцерківського національного аграрного університету (Біла Церква, 2014–2019).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 29 наукових праць, у тому числі: 25 статей (13 – одноосібних), із них 23 у фахових виданнях; 1 тези доповідей конференцій та 3 методичні рекомендації.

Структура та обсяг роботи. Дисертація складається зі вступу, огляду літератури, загальної методики та основних методів дослідження, результатів дослідження, узагальнення результатів дослідження, висновків та пропозицій виробництву, списку використаних джерел, додатків.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Огляд літератури. У трьох підрозділах викладено й проаналізовано літературні дані щодо іммобілізації клітин та її значення у вирішенні проблеми підвищення ефективності використання мікроорганізмів у народному господарстві, й зокрема у харчовій промисловості. Подано характеристику сировини для виготовлення кисломолочних продуктів та описано негативну дію наявності в молоці бактерицидних сполук на якість сквашування молока. Проаналізовано властивості харчових добавок (пектину, желатину та крохмалю) як носіїв для іммобілізації клітин мікроорганізмів.

Матеріал і методи дослідження. Наукову роботу виконували впродовж 2014–2019 років. Відпрацювання біотехнологій іммобілізованих заквасок для йогурту та стрептосану, проведення модельних досліджень, виробництво йогурту та стрептосану із коров'ячого молока з використанням іммобілізованих заквасок та встановлення їх сенсорних, фізико-хімічних і біохімічних досліджень проводили в Науково-дослідному інституті харчових технологій та технологій переробки продукції тваринництва Білоцерківського національного аграрного університету (БНАУ). Дослідження проводили відповідно до загальної схеми (рис. 1).

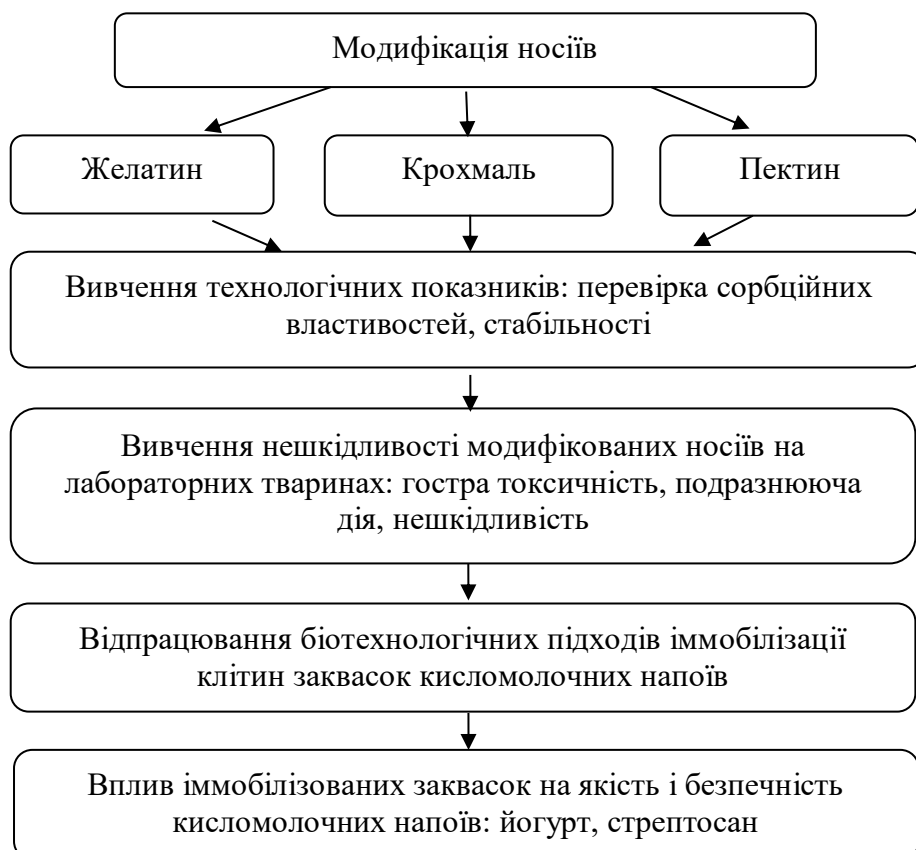


Рис. 1. Загальна схема досліджень

Перевірку нешкідливості та токсичності модифікованих носіїв (пектину, крохмалю, желатину), стабілізованих заквасок для виробництва йогурту та стрептосану здійснювали на білих мишах albino 2–3-місячного віку, масою 19,0–22,0 г, білих щурах масою 150–160 г, кролях масою 2,5–3,0 кг в умовах віварію та лабораторії фармакології і токсикології Державного науково-дослідного контрольного інституту (ДНДКІ) ветеринарних препаратів та кормових добавок м. Львів і в умовах віварію та лабораторії НДІ харчових технологій та технологій переробки продукції тваринництва БНАУ.

Виробничі випробування щодо одержання кисломолочних напоїв із застосуванням іммобілізованих заквасок для йогурту і стрептосану та впровадження у виробництво було проведено в ПП «ОЛВІ БЦ» Білоцерківського району.

У результаті дослідження вирішено проблему підвищення стабільності заквасок для виробництва йогурту та стрептосану. Фізико-хімічними методами модифіковано пектин, желатин та крохмаль як носії для іммобілізації клітин мікроорганізмів. Під час виконання роботи було вивчено сорбційні властивості нативного та іммобілізованого пектину, желатину і крохмалю (I етап роботи).

Другий етап дослідів полягав у вивченні нешкідливості та токсичності модифікованих носіїв (пектин, желатин і крохмаль) на лабораторних та сільськогосподарських тваринах і конструюванні іммобілізованих заквасок для йогурту та стрептосану.

Третій етап дослідів полягав у дослідженні ефективності застосування одержаних стабілізованих заквасок під час виготовлення йогурту та стрептосану із коров'ячого молока.

Як матриці застосовували харчові добавки: желатин натуральний, швидкорозчинний харчовий (П-11), вироблений згідно з ГОСТ 11293-89, крохмаль картопляний розчинний ($C_6H_{10}O_5$)_n, виготовлений згідно з ГОСТ 10163-76, пектин яблучний та одержані їх модифіковані форми.

Вивчаючи сорбційні властивості нативного і модифікованого желатину, крохмалю та пектину різну масу цих носіїв – від 0,5 до 2,5 г – змішували впродовж 30 хвилин на лабораторній гойдалці із 25 см³ 0,005 % розчину вітаміну В₂. Після змішування розчини фільтрували через фільтрувальний папір. Обліковували об'єм фільтрату, після чого в ньому визначали оптичну густину (D). За зниженням оптичної густини розчину вітаміну В₂ встановлювали показники сорбції.

Для біотехнології конструювання іммобілізованих препаратів використовували асоціації культур закваски для йогурту, яка мала такий склад: *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Vulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis* та мікробіоту закваски для стрептосану, яка містила: *Streptococcus salivarius thermophilus* і *Enterococcus faecium*.

Іммобілізацію виконували, застосовуючи явище адсорбції та заключення в тривимірний гідрогель природних полімерів шляхом безперебійного перемішування

модифікованої матриці зі мікробіотою заквасок для виробництва йогурту та стрептосану.

Експериментально в умовах *in vitro* встановлювали оптимальні умови для стабілізації клітин заквасок. Вивчали оптимальне співвідношення «носій: закваска: об'єм розчинника закваски» шляхом експериментального підбору різних концентрацій компонентів, за яких стабілізовані закваски мали найбільшу активність.

Для встановлення оптимального співвідношення «носій : закваска : розчинник» кількість матриці в усіх варіантах не змінювали – маса становила 1000,0 мг. У 0,2; 0,3 та 0,4 см³ дистильованої води розчиняли від 5 до 100 мг закваски для йогурту та стрептосану.

Висушування одержаних іммобілізованих заквасок проводили за активного вентилявання і перемішування.

Дослідження впливу часу та умов зберігання на активність різних форм закваски (нативна та іммобілізована) йогурту та стрептосану проводили впродовж 36–42 місяців. Партію іммобілізованої та нативної закваски було поділено на дві рівні частини. Одну частину зберігали в герметичній тарі за температури 3–4 °С, іншу частину – за 18–22 °С. Через кожні 6 місяців відбирали проби заквасок і виготовляли з їх використанням кисломолочні напої.

Визначали вплив антибіотиків на стабільність нативної та іммобілізованої закваски для йогурту та стрептосану. Використовували молоко із масовою часткою жиру 3,2–3,5 % та титрованою кислотністю 16,5–18,4 °Т. Сировину перед початком досліду пастеризували. Під час встановлення стійкості різних форм закваски йогурту до антибіотиків до проб молока об'ємом 150–200 см³ вносили пеніцилін у кількості від 5,0 до 70,6 ОД/см³ та стрептоміцин у кількості від 4,8 до 65,0 ОД/см³. За встановлення стійкості різних форм закваски стрептосану до антибіотиків до проб молока об'ємом 100–200 см³ вносили пеніцилін у кількості від 2,5 до 65,0 ОД/см³ та стрептоміцин у кількості від 0,5 до 18,0 ОД/см³. Дію пеніциліну і стрептоміцину вивчали окремо, не змішуючи в одній пробі молока. До проб молока вносили нативні та іммобілізовані закваски для йогурту та стрептосану. Сквашування проб молока із вмістом різних доз пеніциліну та стрептоміцину проводили у термостаті. Температуру сквашування підтримували на рівні 36,0±0,5 °С. Сквашування тривало 8–12 годин.

Вивчення нешкідливості модифікованих носіїв іммобілізованих заквасок для йогурту та стрептосану проводили на білих мишах. Гостру токсичність модифікованих носіїв, іммобілізованих заквасок для йогурту та стрептосану вивчали на білих мишах та білих щурах. Подразнюючу дію модифікованих носіїв досліджували на кролях. Експерименти на лабораторних тваринах виконували згідно з методичними рекомендаціями, наведеними в довіднику «Доклінічні дослідження ветеринарних лікарських засобів» (Коцюмбас І.Я. та ін., 2006) та згідно з даними W. Diener (1995), W. Diener (1999). Ступінь токсичності

модифікованих носіїв та іммобілізованих заквасок встановлювали згідно з ГОСТ 12.1.007.

Для визначення нешкідливості модифікованих носіїв формували по три групи лінійних мишей, для кожного носія – по п'ять-шість особин у групі. Тваринам досліджувані суспензії та розчини вводили через стравохід у шлунок за допомогою шприца з металевим зондом, з наплавленою свинцевою голівкою діаметром 1 мм, натщесерце. Для експерименту брали тварин двомісячного віку з масою тіла 19–22 г. Харчові добавки у модифікованій формі лабораторним тваринам вводили одноразово. Мишам із контрольної групи вводили фізіологічний розчин. Спостереження за дослідними тваринами проводили протягом 10 діб.

Наприкінці дослідження нешкідливості модифікованих носіїв мишей забивали за умов легкого ефірного наркозу, проводили розтин для патолого-анатомічних досліджень. Крім того, від забитих мишей відбирали тканини й органи для біохімічних досліджень.

Встановлення оптимальних доз іммобілізованих заквасок для йогурту та стрептосану проводили шляхом сквашування молока. Для кожної дози закваски відмірювали проби молока по 200,0 та 250,0 см³ у чотирьох повторностях.

Іммобілізовані на модифікованому пектині та желатині закваски для йогурту і стрептосану вносили в підготовлене молоко у кількості від 10 до 160 мг. Після додавання у підігріте до 37 °С молоко іммобілізованих заквасок проби ретельно перемішували і поміщали у термостат на 8 годин (І етап). Після перевірки виявлені проби, де не утворився згусток, повторно поміщали ще на 8 годин у термостат (ІІ етап сквашування). Температуру в термостаті витримували на рівні 36,0 °С. Контроль ефективності сквашування молока проводили через кожні 10 хвилин для встановлення часу утворення першого згустку.

Вміст вільних карбоксильних груп визначали титруванням розчину пектиновмісного препарату, а після омилення – естерифікованих карбоксильних груп за методикою, описаною І.М. Бодякіним (2012).

Контроль рівня метаболічних процесів в організмі лабораторних тварин за дії модифікованих носіїв виконували, проводячи аналіз досліджень печінки та крові.

Кров лабораторних тварин стабілізували гепарином. У крові тварин визначали вміст гемоглобіну за використання стандартного набору реактивів «Філіст-Діагностика» за методикою Е.Ж. Van Kampen (1961).

У печінці та сироватці крові тварин визначали такі показники: активність ензиму лужної фосфатази – за методикою S. King (1954), аспартатамінотрансферази (АсАт) і аланінамінотрансферази (АлАт) – за методикою S. Reitman, S. Francel (1957), вміст загального білка – за методикою О.Н. Lowry (1951), загальних, білкових сульфогідрильних груп і HS-груп низькомолекулярних сполук – за методикою G.L. Ellman (1959).

Вміст сечової кислоти визначали в печінці та сироватці крові тварин, застосовуючи стандартний набір реактивів «Філіст-Діагностика» за методикою

О. Folio (1934). У крові визначали вміст глюкози, застосовуючи орто-толуїдиновий реактив відповідно до інструкції № НР009.01. Вміст сечовини досліджували у сироватці крові, керуючись даними, викладеними в інструкції № НР017.01. У печінці мишей вміст глікогену визначали за методикою, описаною О.Ю. Кушніром (2010). Вміст молочної і піровиноградної кислоти у сироватці крові тварин визначали за методиками, викладеними А.В. Четкіним (1980).

Вміст амінокислот у йогурті та стрептосані визначали, використовуючи метод капілярного електрофорезу згідно з методикою, описаною в рекомендаціях за загальною редакцією І.Я. Коцюмба (2013). Реологічні показники кисломолочних продуктів визначали згідно з методиками описаними В.Д. Косим (2010).

Сенсорні показники готових кисломолочних продуктів та сквашеного молока визначали згідно з ДСТУ 4343.

Титровану кислотність визначали згідно з ГОСТ 3624. Масову частку жиру визначали згідно з ГОСТ 5867. Мікробіологічні дослідження кисломолочних напоїв проводили згідно з ДСТУ IDF 117В. У соку калини визначали вміст цукру згідно з ДСТУ 4954, вміст вітаміну С – згідно з ДСТУ 7803, вміст титрованих кислот – згідно з ДСТУ 4957, вміст пектинів – згідно з ДСТУ 8069, вміст каротину – згідно з ДСТУ 4305.

Аналітичний вид та апроксимуючі функції щодо залежності часу утворення згустку молока від маси іммобілізованої закваски встановлювали розрахунковими методами, описаними L. Guorfi (2002) і R. Ramos (2013).

Експерименти на лабораторних і сільськогосподарських тваринах виконували згідно з вимогами Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших цілей.

Одержані цифрові дані статистично обробляли за Монцевічюте-Ерингене. Вірогідність різниці між середньоарифметичними даними оцінювали за критеріями Стьюдента (Плохинский Н.А., 1969).

РЕЗУЛЬТАТИ ВЛАСНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ

Дослідження сорбційних властивостей пектину, желатину і крохмалю та їх модифікація. Перед використанням харчових добавок (крохмалю, пектину, желатину) як носіїв для іммобілізації клітин мікроорганізмів заквасок для кисломолочних напоїв вивчали їх сорбційні властивості у модельних дослідах із застосуванням 0,005 % розчину вітаміну В₂.

Вивчаючи сорбційні властивості нативного желатину в порівнянні з сорбційними властивостями нативного крохмалю було встановлено, що з підвищенням маси желатину в суміші оптична густина фільтрату знижується. За використання 1,0 г порошку желатину на 25 см³ 0,005 % розчину вітаміну В₂ значення D у порівнянні з оптичною густиною 0,005 % розчину вітаміну В₂ було нижчим в 1,96 раза (p < 0,01).

Найменшу оптичну густину фільтрату було виявлено у варіанті, де використовували 2,5 г нативного желатину. Показник був меншим у порівнянні з D 0,005 % розчину вітаміну B₂ у 3,1 раза. Порівнюючи показники оптичної густини фільтрату 0,005 % розчину вітаміну B₂ із вмістом 1,5; 2,0 та 2,5 г желатину та показники оптичної густини фільтрату 0,005 % розчину вітаміну B₂ із вмістом 1,5; 2,0 та 2,5 г крохмалю виявлено, що значення D за використання желатину було, відповідно, меншим у 2,0; 2,04 та 2,44 раза.

Отже, желатин має більші сорбційні властивості у порівнянні з розчинним крохмалем.

Встановлюючи сорбційні властивості нативного пектину доведено, що за використання 0,5 г харчової добавки оптична густина фільтрату у порівнянні зі значенням D 0,005 % розчину вітаміну B₂ була нижчою у 2,0 рази. За збільшення вмісту пектину в розчині до 2,0 г показник оптичної густини фільтрату був нижчий у 3,15 раза відносно показника D 0,005 % розчину вітаміну B₂ ($p < 0,001$).

Порівнюючи дані оптичної густини фільтрату 0,005 % розчину вітаміну B₂ із вмістом 1,0; 1,5 та 2,0 г пектину та показники оптичної густини фільтрату 0,005 % розчину вітаміну B₂ із вмістом 1,0; 1,5 та 2,0 г крохмалю виявлено, що показники D за використання пектину були, відповідно, меншими у 2,09; 2,13 та 2,48 раза.

Оскільки сорбційні показники нативних харчових добавок були не задовільними, а також є питання щодо умов і швидкості розчинення желатину і пектину в молоці, виникла необхідність їх модифікувати.

Модифікацію природних органічних носіїв (пектин, крохмаль, желатин) проводили за розробленими технологіями (рис. 2). Нативні носії за допомогою дозатора точно відважували у реактор для хімічної обробки. У реакторі носії піддавали дії реагентів. Із реактора для хімічної обробки після оптимізування температури суміш перекачували у реактор для регулювання рН суміші носіїв. За рахунок внесення кислот або лугів у реактор проводилося корегування рН. За необхідності до модифікованих носіїв додавали зшивки. Після контролю комплексоутворення носії із зшивками використовують для іммобілізації клітин мікроорганізмів або висушують до вмісту вологи 7-9 %.

За модифікації пектину його 1,5 % водяний розчин перекачували у реактор. рН розчину доводили до 10,0, після чого інкубували впродовж однієї години за температури 50–60 °С. Далі охолоджували до кімнатної температури, рН доводили до 3,0. Після 12 годинної експозиції пектин осаджували 95 % етанолом. Одержаний осад фільтрували і висушували. Таким чином отримували низькоетерифікований пектин.

Елементом модифікації пектину також було приєднання зшивок за участі 0,1 М хлористого кальцію. Двовалентний Кальцій створює зшивки між молекулами підготовленого пектину через карбоксильні групи (утворення ковалентних зв'язків). Під час цього забезпечується тривимірна структура носія.

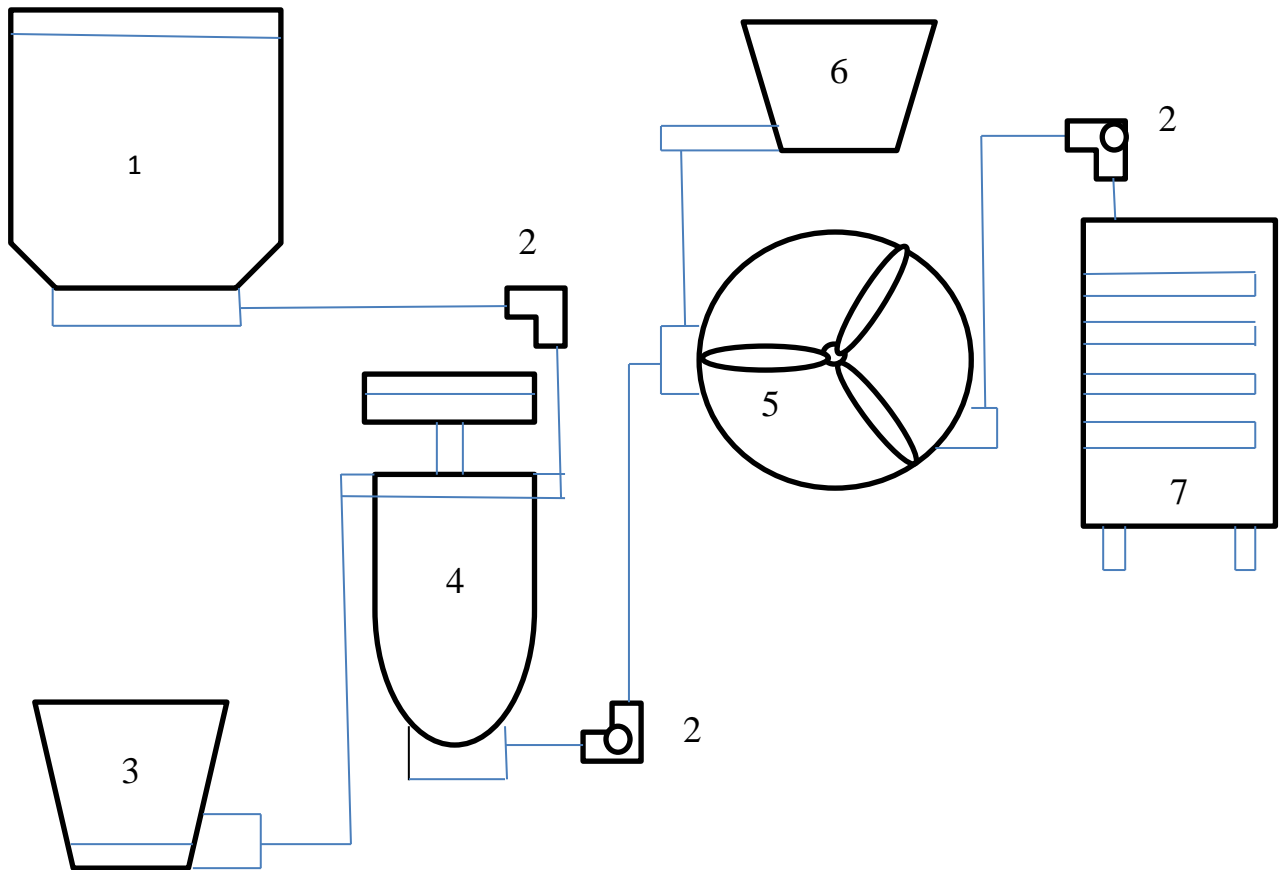


Рис. 2. **Схема технології модифікації носіїв:** 1 – ємність для реактивів; 2 – помпи; 3 – ваговий дозатор для носіїв; 4 – реактор для хімічної обробки носіїв; 5 – реактор для вирівнювання рН розчинів носіїв та нанесення зшивок; 6 – ваговий дозатор зшивок; 7 – система для фільтрування та висушування модифікованих носіїв.

Одержання модифікованого желатину проводили методом зшивки за допомогою реакції Майяра (реакції між карбонільною групою відновлюваних цукрів і вільною аміногрупою білка).

Модифікацію крохмалю проводили методом його окиснення розчином пероксиду гідрогену за присутності каталізатора сірчаноокисного купруму ($\text{CuSO}_4 \times 5\text{H}_2\text{O}$). Наявність карбонільних та карбоксильних груп модифікованого крохмалю надає йому надгідрофільність і кислотність, здатність до комплексоутворення.

Після модифікації носіїв перевіряли їх сорбційні властивості. Експериментально було доведено, що оптична густина розчинів, де застосовували 1,0; 1,5; 2,0 та 2,5 г нативного желатину, була більшою, ніж у розчинах вітаміну B_2 , які змішували із 1,0; 1,5; 2,0 та 2,5 г модифікованого желатину, відповідно на 5,2; 11,5; 22,2 та 26,2 %.

Порівнюючи сорбційні властивості нативного і модифікованого пектину, встановлено, що оптична густина розчинів, де використовували 0,5; 1,0; 1,5 та 2,0 г нативного пектину, була більшою, ніж у розчинах вітаміну B_2 , які змішували із 0,5; 1,0; 1,5 та 2,0 г модифікованого пектину, відповідно, на 8,5; 12,0; 20,7 та 36,9 %.

Вивчення нешкідливості, гострої токсичності та подразнюючої дії модифікованого пектину, желатину та крохмалю. Обов'язковою умовою виготовлення і застосування нових харчових добавок є проведення їх токсикологічних досліджень: нешкідливості, гострої токсичності та подразнюючої (шкідливої) дії.

Під час вивчення нешкідливості модифікованого желатину встановлено, що внаслідок внутрішньошлункового введення мишам підвищених його доз, загибелі або захворювань тварин не було зафіксовано. Миші були рухливими, реагували на зовнішні подразники (шум, світло, дотик), постійно пили воду та споживали корм. Розладів системи травлення у тварин із дослідних груп не відмічали. Вміст загального білка, загальних, білкових та вільних HS- груп, активність аміотрансфераз та лужної фосфатази у печінці тварин, яким вводили модифікований желатин, вірогідно, не відрізнялись від показників контрольної групи.

Внутрішньошлункове введення підвищених доз модифікованого пектину не викликало летальних наслідків у мишей. За патолого-анатомічних досліджень внутрішніх органів виявлено, що язик, стравохід, шлунок та кишківник мишей із дослідних груп не відрізнялись від органів травлення мишей контрольної групи. Аналогічно не було виявлено ніяких морфологічних змін на серці, печінці, нирках, селезінці та легенях у порівнянні з контролем. Не встановлено статистично значущої різниці між дослідними і контрольними тваринами за показниками вмісту загального білка, глікогену в печінці, глюкози, молочної, піровиноградної кислоти у сироватці крові та активності АсАт і АлАт у печінці.

Дослідження впливу модифікованого крохмалю показало, що харчова добавка не спричиняє загибелі мишей. Етологічні показники у дослідних тварин упродовж експерименту були в нормі. Показники білкового (вміст загального білка, активність АсАт і АлАт у печінці, вміст сечовини в крові) та вуглеводного обміну (вміст глюкози, молочної та піровиноградної кислоти в сироватці крові) у мишей дослідних і контрольної груп статистично не відрізнялись.

Доведено, що модифікований желатин, пектин та крохмаль є нешкідливими. За їх внутрішньошлункового введення білим мишам не встановлено негативного впливу на клінічний стан тварин.

Показники гострої токсичності модифікованого желатину, пектину та крохмалю визначали на білих щурах та білих мишах. За введення мишам суспензії модифікованого желатину в дозах від 5,0 до 5000,0 мг/кг маси тіла не відмічали летальних випадків упродовж усього експерименту. За умов введення модифікованого желатину в дозі 5000 мг/кг маси тіла встановлено лише тимчасове пригнічення стану лабораторних тварин, що, ймовірно, пов'язано з потраплянням у шлунково-кишковий канал мишей великої маси харчової добавки. У цих тварин протягом першої доби експерименту було виявлено незначні розлади функцій шлунково-кишкового каналу. Однак в наступну добу система травлення нормалізувалася. Отже, експериментально доведено, що модифікований желатин

належить до малотоксичних речовин – 4 клас згідно з ГОСТ 12.1.007-76. Його DL_{50} за внутрішньошлункового введення лабораторним тваринам (білим мишам) є більшим 5000 мг/кг.

Під час дослідження гострої токсичності модифікованого пектину не було виявлено суттєвих етологічних змін та загибелі мишей. Спостерігали адекватну реакцію тварин на шум, світло та дотик. Встановлено, що модифікований пектин є малотоксичною речовиною (4 клас), його середньолетальна доза для білих мишей становить більше 5000 мг/кг маси тіла.

Встановлюючи гостру токсичність модифікованого крохмалю, доведено, що введення його в дозах від 100 до 6000 мг/кг маси тіла не супроводжувалося загибеллю мишей. За патолого-анатомічного дослідження дослідних тварин було виявлено, що внутрішні органи травлення, легені, серце, нирки, печінка не мали морфологічних відхилень від норми. Експериментально доведено, що модифікований крохмаль за токсичністю можливо віднести до добавок, які є малотоксичними сполуками. DL_{50} модифікованого крохмалю для білих мишей є більше 6000 мг/кг маси тіла.

Під час повторного дослідження гострої токсичності модифікованого крохмалю, пектину та желатину на білих щурах було доведено, що середня смертельна концентрація цих харчових добавок – понад 5000–6000 мг/кг маси тіла. Модифіковані харчові добавки для білих щурів є малотоксичними.

Досліди з визначення подразнюючої дії модифікованого пектину, желатину та крохмалю проводили методом внесення їх суспензії в кількості двох крапель у кон'юнктивальний мішок ока (лівого) кроля.

Доведено, що модифіковані харчові добавки не викликають шкідливої (подразнюючої) дії за умов їх нанесення на слизову оболонку очей кролів. Незначне сльозовиділення протягом перших годин, яке з часом зникає, зумовлене наявністю чужорідної речовини, яка фізіологічно викликає додаткове виділення сліз. Протягом 14 діб спостережень гіперемії чи запалення рогівки та кон'юктиви в дослідних тварин не відмічали. Показники білкового та вуглеводного обміну в сироватці крові кролів відповідали фізіологічним нормам.

Дослідження стійкості нативних клітин заквасок для кисломолочних напоїв до дії вмісту антибіотиків у молоці. За різних доз пеніциліну та стрептоміцину в молоці досліджували збереження активності нативної закваски йогурту та стрептосану і їх здатність сквашувати пастеризоване, нормалізоване молоко.

Доведено, що введення в молоко пеніциліну в дозі 5,9 ОД/см³ суттєво не вплинуло на органолептичні показники йогурту. Кисломолочний напій мав задовільний згусток із кисломолочним смаком. Підвищення вмісту антибіотика в молоці до 11,8 ОД/см³ призводило до того, що утворений молочний згусток був не досить в'язкий. За вмісту пеніциліну в молоці 17,6 ОД/см³ і більше сквашування молока нативною закваскою для йогурту здійснити неможливо. Вивчаючи титровану кислотність молока після сквашування закваскою для йогурту встановлено, що в

контролі та у пробах, де сировина містила по 5,9 ОД/см³ пеніциліну, показник відповідав нормативним вимогам. Із підвищенням вмісту антибіотика в молоці, кислотність кінцевого продукту сквашування знижувалась. За високих доз пеніциліну в молоці титрована кислотність становила 20–22 °Т.

Під час дослідження стійкості нативної закваски йогурту до вмісту стрептоміцину в молоці виявлено, що вміст антибіотика 4,8 ОД/см³ суттєво не вплинув на органолептичні показники кінцевого продукту сквашування. Йогурт мав однорідний правильно сформований згусток. В'язкість продукту була задовільною. За вмісту діючої речовини стрептоміцину в молоці 9,6 ОД/см³ і більше, якісного йогурту отримати не вдалося. За внесення найбільшої дози стрептоміцину (52,8 ОД/см³) в сировину смак кінцевого продукту нагадував свіже молоко.

У варіанті, де в молоці був відсутній антибіотик, кислотність йогурту була на рівні 90,3 °Т. Використання стрептоміцину в кількості 4,8 ОД/см³ молока (I дослідний варіант) зумовило зниження титрованої кислотності готового продукту на 5,5 % у порівнянні з контролем. Із підвищенням вмісту стрептоміцину в молоці титрована кислотність кінцевого продукту після сквашування закваскою для йогурту знижується (табл. 1).

Таблиця 1 – Кислотність сквашеного молока за різних доз антибіотика, M±m, n=5

Варіант	Кислотність молока на початку експерименту, °Т	Кислотність сквашеного молока на кінець експерименту, °Т
Контрольний	17,5	90,3±4,21
I дослідний	17,5	85,3±2,55
II дослідний	17,5	68,5±2,75
III дослідний	17,5	45,4±3,79
IV дослідний	17,5	33,4±4,01
V дослідний	17,5	24,7±1,57
VI дослідний	17,5	21,3±1,32
VII дослідний	17,5	20,2±3,77
VIII дослідний	17,5	20,2±2,67
IX дослідний	17,5	19,9±1,34

Вивчаючи дію різних доз пеніциліну на активність закваски стрептосану, встановили, що за додавання 5,0 ОД/см³ антибіотика до молока кінцевий продукт мав форму рідини білого кольору без утворення згустків. Смак продукту відповідав несвіжому молоку. За збільшення доз (55,0–65,0 ОД/см³) бензилпеніцилінової натрієвої солі у сировині зовнішній вид і консистенція кінцевого продукту відповідали свіжому молоку.

За сквашування молока без вмісту стрептоміцину було одержано продукт, який мав приємний кисломолочний смак. Згусток був щільний, гомогенний. За вмісту 0,5 ОД/см³ стрептоміцину кінцевий продукт був несформованим, нещільним згустком білого кольору. Смак був кисломолочний, менш виражений у порівнянні з

контролем. Внесення до молока антибіотика у кількості 1,5 ОД/см³ і більше унеможливило одержання якісного сквашування.

Встановлено, що навіть за малих доз пеніциліну та стрептоміцину в молоці проходить інактивація молочнокислих бактерій заквасок для йогурту та стрептосану.

Конструювання іммобілізованих клітин заквасок кисломолочних напоїв та їх дослідження. Експериментальним методом було розроблено схему іммобілізації заквасок для йогурту та стрептосану.

Дослідження проводилися в асептичних умовах спеціального боксу в якому змонтована пілотна установка. Операції проводили в такій послідовності:

- активували біомасу клітин мікроорганізмів (*Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*), та (*Streptococcus salivarius thermophilus* і *Enterococcus faecium*);

- розчиняли модифікований носій в стерильному 0,9 % розчині NaCl;

- в реакторі проводили змішування (іммобілізацію) активованих клітин мікроорганізмів (температура 34±1 °С) з модифікованим носієм;

- суспензію модифікованого пектину із клітинами мікроорганізмів за допомогою мікродозаторів вносили в гелеутворюючий розчин 0,1 М CaCl₂. Суспензію залишали на 30 хв. за періодичного змішування.

- проводили висушування сумішей. Після висушування дослідні зразки плівок в умовах боксу піддавалися подрібненню і розфасовували в стерильні флакони, які герметично пакували і зберігали за температури 4±0,5 ° С.

Для відпрацювання оптимального співвідношення маси розчинника до маси закваски для йогурту і до маси носія як матрицю використовували модифікований желатин. Кількість матриці в усіх варіантах не змінювали – маса становила 1000,0 мг. У 0,2, 0,3 та 0,4 см³ дистильованої води розчиняли від 5 до 100 мг висушеної закваски для йогурту.

Доведено, що висушування іммобілізованих заквасок для йогурту до вологості 7–9 % найшвидше можна провести, використовуючи об'єм розчинника 0,2 см³. Збільшення об'єму розчинника до 0,3 та 0,4 см³ спричиняє збільшення часу сушіння, відповідно, до 43,5–54,2 та 69,3–84,1 хв.

Встановлення оптимальних доз іммобілізованих заквасок для сквашування молока. Для встановлення оптимальної дози іммобілізованої на модифікованому пектині закваски для йогурту її вносили у підготовлене молоко в дозах від 10 до 160 мг на 200,0 см³. Закваску, іммобілізовану на модифікованому желатині, використовували в аналогічних дозах. Ефективність утворення згустку молока за дії різних доз іммобілізованих заквасок перевіряли після 8 годин ферментування.

Встановлено, що застосування від 10 до 50 мг іммобілізованої на модифікованому пектині закваски йогурту не дало змогу отримати сформованого згустку протягом 8 годин. Ефективне сквашування впродовж встановленого часу було виявлено у варіантах, де застосовували від 70 до 160 мг іммобілізованої закваски.

Використання низьких доз закваски йогурту, іммобілізованої на модифікованому желатині (10–70 мг на 200,0 см³ молока), не дозволило провести ефективне сквашування молока. Чітко виражений згусток молока було виявлено у пробах, де застосовували від 80 до 160 мг закваски, іммобілізованої на модифікованому желатині.

Встановлено, що із підвищенням дози іммобілізованої закваски час утворення згустку молока зменшується. Використання закваски, іммобілізованої на модифікованому пектині, дозволяє швидше отримати йогурт із бажаними органолептичними характеристиками.

Досліджуючи титровану кислотність продуктів сквашування після 8 годин ферментування, встановлено, що оптимальна кислотність була в йогуртах, для виготовлення яких використано від 60 до 100 мг закваски, іммобілізованої на модифікованому пектині. Розрахунковим методом доведено, що оптимальною дозою іммобілізованої на модифікованому пектині закваски для йогурту є 400 мг/дм³ молока, іммобілізованої на модифікованому желатині закваски є 500 мг/дм³ молока.

Виявлено, що після 8 годин термостатування проб молока об'ємом 250 см³ із вмістом 40–100 мг іммобілізованої на модифікованому желатині закваски стрептосану якісного молочного згустку не було отримано. Підвищення дози іммобілізованої закваски від 110 до 130 мг на 250 см³ молока характеризувалось утворенням достатньо щільного згустку.

Додавання до молока 40–85 мг іммобілізованої на модифікованому пектині закваски не дало змоги протягом 8 годин термостатування отримати молочний згусток. Найменша доза цієї закваски, за якої було одержано молочний згусток, становила 90 мг на 250 см³ молока.

Встановлено, що зі збільшенням вмісту іммобілізованих на різних носіях заквасок стрептосану в молоці час його згортання зменшується. За використання найбільшої дози іммобілізованої на модифікованому пектині закваски час згортання молока становив 5,3 години. Цей показник був меншим на 13,1 % відносно даних, отриманих із закваскою, іммобілізованою на модифікованому желатині.

Доведено, що для виготовлення кисломолочного продукту, який відповідає нормативним вимогам, оптимальною дозою іммобілізованої на модифікованому пектині закваски стрептосану є 360–380 мг/дм³, а іммобілізованої на модифікованому желатині – 420–440 мг/дм³ молока.

Дослідження терміну зберігання іммобілізованих заквасок. Доведено, що за внесення у зразки молока проб нативної та іммобілізованої закваски, які зберігали впродовж 6–24 місяців за температури 3–4 °С, було одержано якісні йогурти. За сенсорними показниками продукти не різнилися і відповідали нормам.

Встановлено, що внесення у молоко нативної закваски, яку зберігали впродовж 30 місяців, спричинило отримання кислої маси, яка за сенсорними показниками не відповідала йогурту. Застосування іммобілізованої на модифікованому пектині

закваски після 30–42 місяців зберігання дало можливість отримати йогурт, який відповідав нормативним вимогам.

Виявлено, що титрована кислотність йогуртів, виготовлених за використання іммобілізованих заквасок, які зберігали 42 місяці за температури 3–4 °С та 36 місяців за температури 18–22 °С, була в межах 85–90 °Т.

Отже, за рахунок іммобілізації закваски для йогурту на модифікованому пектині можливо збільшити час її придатності на 18 місяців у порівнянні з нативною формою.

Внесення у молоко відібраних проб іммобілізованої закваски стрептосану через 6, 12, 18, 24, 30 та 36 місяців зберігання за температури 3–4 °С дало змогу одержати кінцевий продукт сквашування, який мав чітко виражений кисломолочний смак. Сторонніх присмаків ферментації не виявлено, молочний згусток був щільним. Нерегламентованого відділення сироватки не виявлено. Доведено, що нативна закваска стрептосану за таких самих умов зберігання через 36 місяців втрачала свою активність. Це є підтвердженням пролонгування дії клітин мікроорганізмів у складі закваски стрептосану за їх іммобілізації на модифікованому пектині.

Встановлено, що іммобілізована закваска для стрептосану на 12 місяців довше зберігає активність за кімнатної температури (18–22 °С) у порівнянні з її нативною формою.

Титрована кислотність сквашеного молока іммобілізованою закваскою для стрептосану, яку зберігали 36 місяців за температури 3–4 °С, була в межах 75,0 °Т, що відповідало вимогам до цього продукту. Нерегламентовану кислотність було виявлено в кисломолочних продуктах, для виготовлення яких застосовували іммобілізовану закваску стрептосану після трирічного зберігання за кімнатної температури.

Доведено, що іммобілізація молочнокислих бактерій, які входять до складу заквасок для йогурту та стрептосану, пролонгує їх придатність за різних температурних умов зберігання.

Встановлення стійкості іммобілізованих заквасок до антибіотиків. Вивчаючи стійкість іммобілізованої на модифікованому пектині закваски для йогурту до антибіотиків, використовували проби молока з різним вмістом пеніциліну та стрептоміцину – від 5,0 до 65,0 ОД/см³.

Не виявлено впливу пеніциліну в дозі 5,0–20,0 ОД/см³ молока на одержання якісного кисломолочного продукту. Йогурт за смаком, кольором та консистенцією не відрізнявся від продукту, одержаного в контрольному варіанті. Доведено, що підвищення вмісту пеніциліну до 25,0–30,0 ОД/см³ вплинуло на процес сквашування молока. За смаком і консистенцією було виготовлено йогурт нижчої якості. Молочний згусток був рідкий. Доведено, що за вмісту пеніциліну 35–65 ОД/см³ дія іммобілізованої закваски не припиняється, проте суттєво погіршується. Кінцевий продукт мав кислий смак і поодинокі тягучі згустки.

Досліджуючи титровану кислотність продуктів сквашування було встановлено, що у контролі, де використовували іммобілізовану закваску, показник відповідав

вимогам до йогурту і становив 85,4 °Т. За наявності в молоці пеніциліну від 5,0 до 20,0 ОД/см³ титрована кислотність під дією іммобілізованої закваски статистично не відрізнялась від даних контролю (рис. 3).

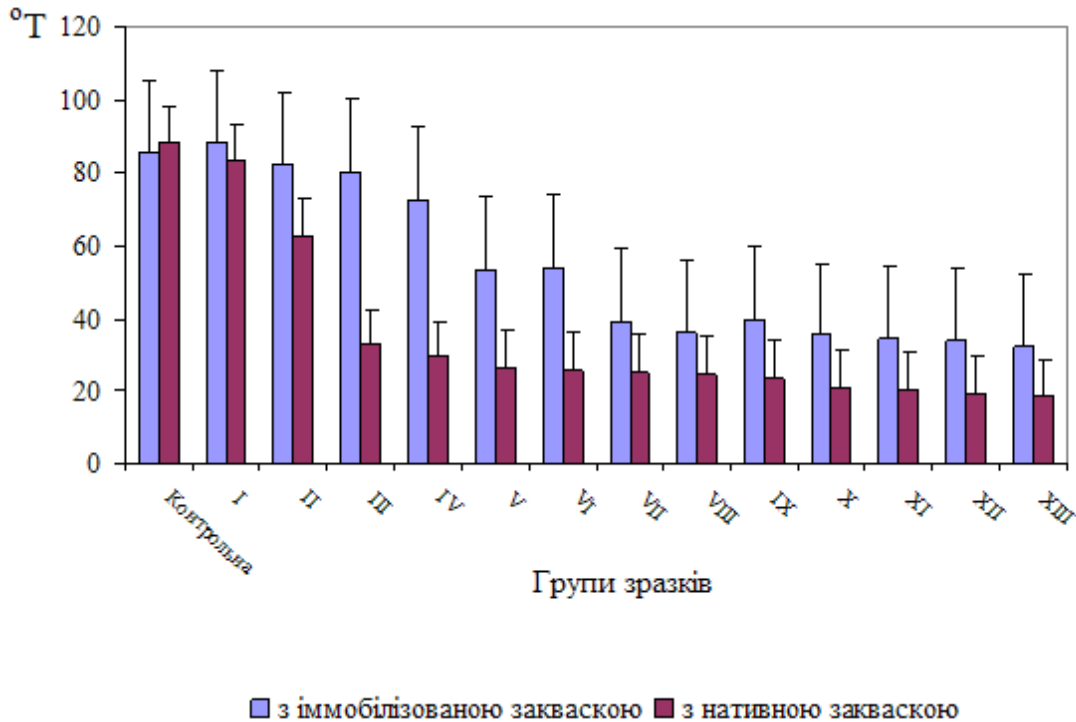


Рис. 3. Титрована кислотність сквашеного молока із вмістом пеніциліну.

Порівнюючи титровану кислотність йогуртів, одержаних за допомогою іммобілізованої закваски, із молока з вмістом пеніциліну 5,0–20,0 ОД/см³ із аналогічними продуктами сквашування нативною закваскою, доведено, що під час використання іммобілізованої закваски кислотність кінцевих продуктів була більшою, відповідно, на 6,0 і 30,5 % та у 2,47 раза. Доведено, що, застосовуючи іммобілізовану на модифікованому пектині закваску, можливо отримати йогурт із молока з низьким вмістом пеніциліну.

Вивчаючи вплив стрептоміцину на активність закваски для йогурту, було встановлено, що іммобілізація молочнокислих бактерій дозволяє проводити сквашування молока із вмістом у ньому антибіотика в дозах від 5 до 25,0 ОД/см³. Одержаний із такого молока йогурт за смаком, консистенцією та кольором відповідав нормативним вимогам. Доведено, що збільшення вмісту антибіотика до 30,0–40,0 ОД/см³ мало негативний вплив на процес згортання молока. Кінцеві продукти сквашування за консистенцією та смаком були гіршими, ніж у контролі. Молочний згусток був незадовільний (рідкий), кисломолочний смак був не виражений. За вмісту стрептоміцину в молоці 45–65 ОД/см³ дія іммобілізованої закваски суттєво погіршується, проте не припиняється.

Виявлено закономірність впливу стрептоміцину в молоці на активність нативної та іммобілізованої закваски для йогурту (рис. 4).

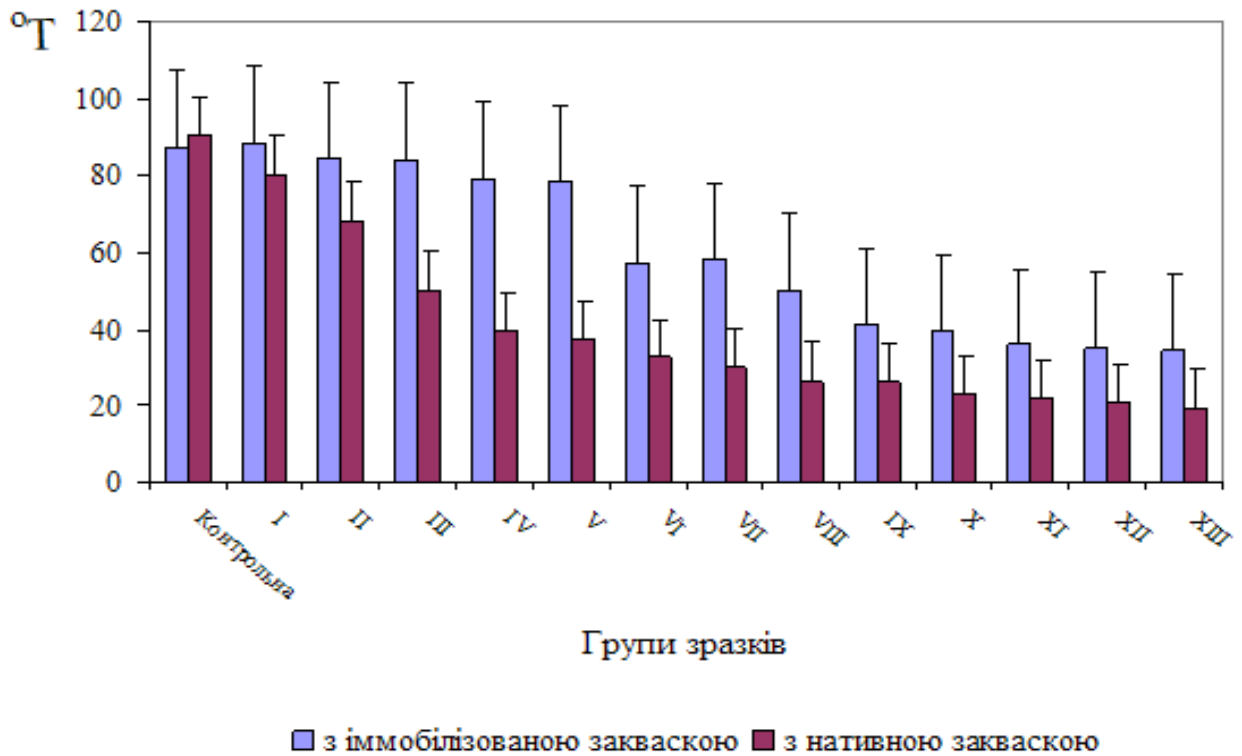


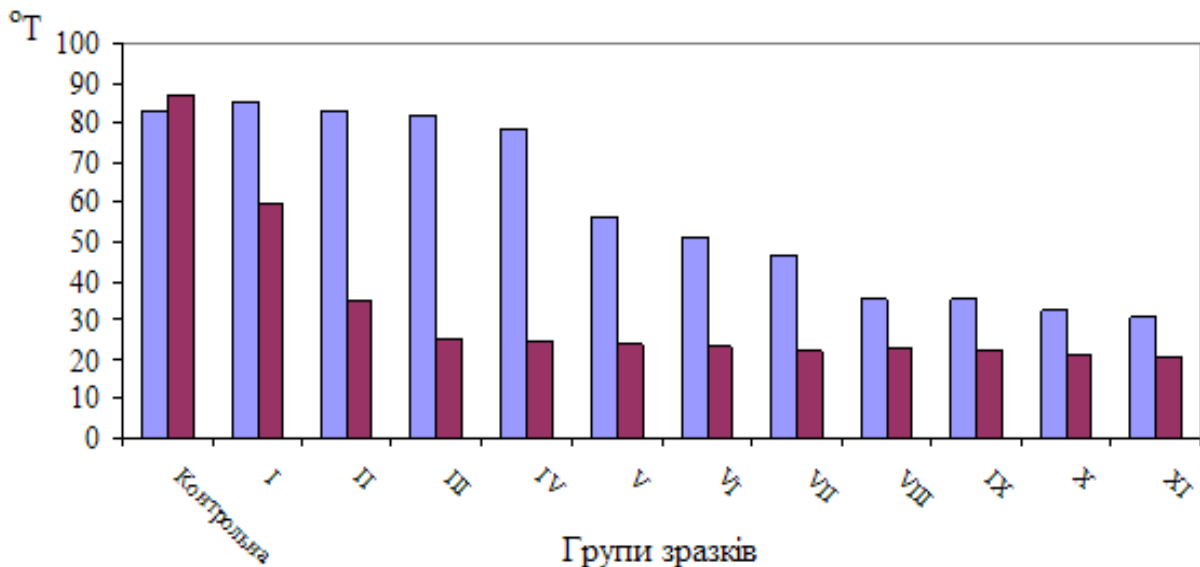
Рис.4. Титрована кислотність сквашеного молока із вмістом стрептоміцину.

У II, III, IV та V дослідних групах, де до молока із вмістом стрептоміцину вносили іммобілізовану закваску для йогурту, титрована кислотність була вищою, відповідно, на 19,0 і 40,1 % ($p < 0,01$) та у 1,98 ($p < 0,001$) і 2,09 ($p < 0,001$) раза порівняно із титрованою кислотністю в аналогічних групах, де використовували нативну закваску. Виявлено, що сквашування молока із вмістом антибіотику від 30 до 65 ОД/см³ іммобілізованою закваскою спричиняє одержання продуктів сквашування із титрованою кислотністю, вищою у 1,6–1,9 раза, ніж у продуктах сквашування нативною закваскою.

Застосовуючи іммобілізовану на модифікованому пектині закваску стрептосану за присутності в молоці бензилпеніциліну натрієвої солі у кількості 2,5 ОД/см³, вдалось одержати кінцевий продукт, який не відрізнявся від контролю. Смак, зовнішній вигляд і консистенція відповідали вимогам. Не виявлено негативного впливу антибіотику у дозах 5,0–10,0 ОД/см³ на активність іммобілізованої закваски. Доведено, що за вмісту пеніциліну у дозі 20,0–27,5 ОД/см³ молока процесу сквашування практично не відбувалось.

Доведено, що під час сквашування молока із вмістом пеніциліну від 2,5 до 10,0 ОД/см³ титрована кислотність одержаних йогуртів відповідала нормативному документу (рис. 5).

Доведено, що навіть за високих доз пеніциліну в молоці титрована кислотність продуктів сквашування молока іммобілізованою закваскою стрептосану була вищою, ніж кислотність проб молока, які сквашували нативною формою.



■ з іммобілізованою закваскою стрептосану ■ з нативною закваскою стрептосану

Рис. 5. Титрована кислотність продуктів сквашування молока із вмістом пеніциліну.

Вивчаючи вплив різних доз стрептоміцину на активність іммобілізованої на модифікованому пектині закваски стрептосану, встановлено, що додавання до зразків молока антибіотика у кількості $0,5 \text{ ОД/см}^3$ не спричинило негативної дії на молочнокислі бактерії. Продукти сквашування мали задовільний молочний згусток та натуральний кисломолочний смак. Не було встановлено різниці з контролем за органолептичними показниками продуктів сквашування, де молоко містило антибіотик у дозі $1,0\text{--}4,0 \text{ ОД/см}^3$.

За вмісту в пробах молока стрептоміцину в дозі $5,0\text{--}9,0 \text{ ОД/см}^3$ зменшується дія іммобілізованої закваски, це підтверджується погіршенням сенсорних показників продуктів сквашування.

Встановлено, що іммобілізована закваска стрептосану за високих доз стрептоміцину сульфату ($11,0\text{--}17,0 \text{ ОД/см}^3$) в молоці повністю не інактивується, зберігаючи певний відсоток живих молочнокислих бактерій.

Досліджуючи титровану кислотність, було встановлено, що кисломолочні напої, виготовлені з молока із вмістом стрептоміцину від $0,5$ до $4,0 \text{ ОД/см}^3$ за участі іммобілізованої закваски для стрептосану, мали показники, які відповідають нормативним вимогам для цього продукту (рис. 6).

За показниками титрованої кислотності продуктів сквашування молока можна стверджувати, що іммобілізація закваски стрептосану на модифікованому пектині захищає молочнокислі бактерії від дії значних концентрацій стрептоміцину в сировині.

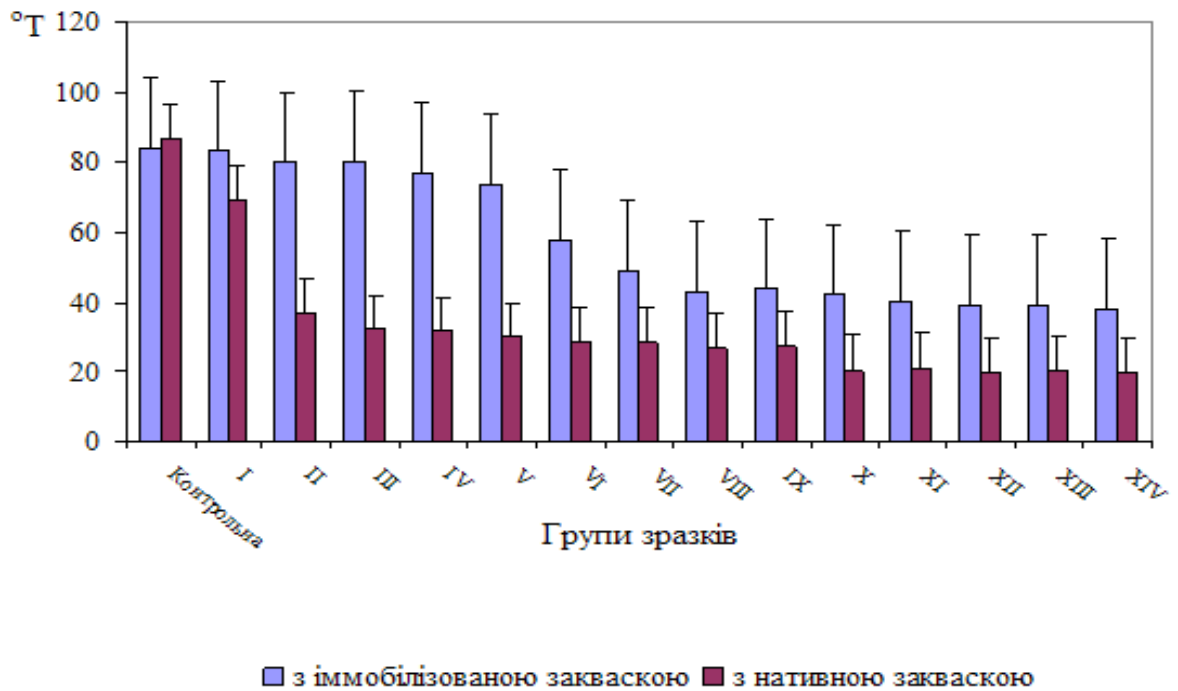


Рис. 6. Титрована кислотність продуктів сквашування молока із вмістом стрептоміцину.

Вивчення реологічних, мікробіологічних показників та вмісту амінокислот у кисломолочних напоях. Встановлено, що показник ефективної в'язкості у йогуртах, виготовлених за участі іммобілізованої на модифікованому пектині закваски, на 2–8 добу зберігання статистично не відрізнявся від контролю. Протягом зберігання проходить незначне зниження ефективної в'язкості йогуртів, виготовлених за участі як іммобілізованої, так і нативної закваски. Ефективна в'язкість кисломолочних напоїв з іммобілізованою закваскою не відрізняється від ефективної в'язкості йогуртів, одержаних з додаванням нативної закваски.

Доведено, що протягом 8-добового зберігання йогуртів за температури 3–4 °С показник відновлення структури має незначне зменшення. За цим показником йогурти, виготовлені за участі іммобілізованої закваски, статистично не відрізняються від контрольних зразків, де використовували нативну закваску.

Досліджуючи зразки кисломолочного продукту, одержані за використання іммобілізованої закваски стрептосану, не встановлено негативного впливу останньої на зниження ефективної в'язкості у дослідних зразках на 2, 4 та 8 добу зберігання відносно контролю. Різниця була в межах похибки.

Експериментально доведено, що використання іммобілізованих заквасок стрептосану за виробництва кисломолочного продукту статистично не зменшує показник відновлення структури продукту.

На 2, 7 та 14 добу зберігання йогурту, виготовленого за використання іммобілізованої на модифікованому пектині закваски, досліджували його мікробіологічний склад (табл. 2).

Таблиця 2 – Показники мікробіологічних досліджень йогуртів.

Зразки	Час зберігання, діб	Молочнокислі бактерії, КУО/см ³	Бактерії групи кишкових паличок, в 0,1 см ³	Патогенні мікроорганізми, зокрема й бактерії роду <i>Salmonella</i> , в 25 см ³
Контрольні	2	1,3 10 ⁸	не виявлено	не виявлено
	7	1,4 10 ⁸	не виявлено	не виявлено
	14	1,2 10 ⁸	не виявлено	не виявлено
Дослідні	2	1,0 10 ⁸	не виявлено	не виявлено
	7	1,3 10 ⁸	не виявлено	не виявлено
	14	1,3 10 ⁸	не виявлено	не виявлено

Встановлено, що вміст молочнокислих бактерій у дослідних зразках йогуртів, виготовлених із використанням іммобілізованої закваски, на 2 добу зберігання був меншим, ніж у контролі, на 23,0 %. Однак цей показник відповідав стандартним вимогам. Доведено, що після завершення експерименту кількість молочнокислих бактерій не змінилась відносно аналогічного показника у дослідних зразках йогурту, встановленого на 7 добу зберігання. Щодо вмісту бактерій у контрольних зразках, то дослідний кисломолочний продукт містив на 8,3 % більше мікроорганізмів, що може бути зумовлено більшою стійкістю іммобілізованих клітин до дії підвищеної кислотності. У йогуртах, виготовлених із використанням іммобілізованої закваски, не було виявлено бактерій групи кишкових паличок та інших патогенних мікроорганізмів, зокрема й бактерій роду *Salmonella*.

Доведено, що протягом перших двох діб зберігання в зразку стрептосану, виготовленого із нативною закваскою, кількість молочнокислих бактерій була вищою, ніж у досліді, на 9,0–22,2 %. Вивчаючи зразки кисломолочного продукту стрептосану, одержаного за використання іммобілізованої закваски, виявлено, що на 8 добу зберігання кількість КУО молочнокислих бактерій була більшою відносно контролю на 8,3 % (табл. 3).

Таблиця 3 – Показники мікробіологічних досліджень кисломолочного продукту стрептосану.

Зразки	Час зберігання, діб	Молочнокислі бактерії, КУО/см ³ продукту	Бактерії групи кишкових паличок, в 0,1 см ³	Патогенні мікроорганізми, зокрема й бактерії роду <i>Salmonella</i> , в 25 см ³
Контрольні	2	1,1 10 ⁸	не виявлено	не виявлено
	4	1,2 10 ⁸	не виявлено	не виявлено
	8	1,2 10 ⁸	не виявлено	не виявлено
Дослідні	2	0,9 10 ⁸	не виявлено	не виявлено
	4	1,1 10 ⁸	не виявлено	не виявлено
	8	1,3 10 ⁸	не виявлено	не виявлено

У дослідних зразках кисломолочних продуктів на 2, 4 та 8 добу зберігання не було ідентифіковано патогенних мікроорганізмів типу бактерії *Salmonella* та кишкових паличок.

Амінокислотний склад йогурту, одержаного за використання іммобілізованої закваски, визначали на 2 добу зберігання. Доведено, що за вмістом аргініну, лізину, фенілаланіну, тирозину, гістидину, ізолейцину, лейцину, метіоніну, цистину, проліну, треоніну, серину, аланіну, гліцину та аспарагіну кисломолочний продукт із дослідної групи статистично не відрізнявся від контролю, де застосовували нативну закваску (табл. 4).

Таблиця 4 – Вміст амінокислот у кисломолочних продуктах на 2 добу зберігання, г/100 г, $M \pm m$, $n=4$

Амінокислота	Йогурт		Стрептосан	
	дослідні зразки	контрольні зразки	дослідні зразки	контрольні зразки
Аргінін (arg)	0,211±0,0091	0,220±0,0085	0,232±0,0076	0,241±0,0102
Лізін (lys)	0,242±0,0124	0,237±0,0104	0,231±0,0107	0,225±0,0076
Фенілаланін + Тирозин (phe + tyr)	0,381±0,0137	0,401±0,0154	0,363±0,0130	0,373±0,0132
Гістидин (his)	0,109±0,0073	0,099±0,0043	0,087±0,0065	0,073±0,0043
Ізолейцин (ile)	0,151±0,0041	0,157±0,0076	0,134±0,0074	0,141±0,0086
Лейцин (leu)	0,347±0,0152	0,351±0,0103	0,327±0,0122	0,331±0,0154
Метіонін + цистин (met + cys)	0,131±0,0086	0,128±0,0078	0,121±0,0072	0,117±0,0065
Валін (val)	0,202±0,0069	0,210±0,0096	0,184±0,0055	0,192±0,0085
Пролін (pro)	0,320±0,0105	0,358±0,0121	0,304±0,0099	0,316±0,0187
Треонін (thr)	0,172±0,0066	0,183±0,0058	0,155±0,0053	0,145±0,0088
Серин (ser)	0,194±0,0078	0,185±0,0087	0,187±0,0072	0,173±0,0067
Аланін (ala)	0,284±0,0145	0,290±0,0104	0,292±0,0121	0,287±0,0105
Гліцин (gly)	0,092±0,0035	0,096±0,0023	0,106±0,0048	0,101±0,0056
Аспарагін (asp)	0,205±0,0054	0,213±0,0078	0,187±0,0073	0,192±0,0089

Експериментально встановлено, що під час виготовлення стрептосану застосування іммобілізованої на модифікованому пектині закваски не спричиняє статистичного зменшення незамінних і замінних амінокислот у кисломолочному продукті.

Економічна ефективність використання іммобілізованих клітин мікроорганізмів заквасок за технології кисломолочних напоїв. Застосування іммобілізованих на модифікованому пектині заквасок за технології йогурту та стрептосану сприяє зниженню витрат енергоносіїв для підігріву сировини та води. Собівартість кисломолочних продуктів знижується на 0,2 % відносно технологій де використовували нативні закваски.

ВИСНОВКИ

У кваліфікаційній науковій праці представлено науково-теоретичне обґрунтування і новий підхід щодо вирішення проблеми підвищення ефективності використання заквасок для виготовлення кисломолочних продуктів шляхом розробки біотехнології іммобілізації молочнокислих бактерій *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*,

Streptococcus salivarius thermophilus та *Enterococcus faecium*, які застосовують у технологіях йогуртів та стрептосану. Встановлено оптимальні дози використання та стійкість іммобілізованих заквасок йогурту та стрептосану до інгібуючих сполук, які потрапляють у молоко.

1. За модельних досліджень сорбційних властивостей харчових добавок – нативного пектину, желатину та крохмалю, із застосуванням 0,005 % розчину вітаміну В₂ встановлено, що нативний желатин та пектин мали вищі сорбційні показники, відповідно, у 2,5 та 2,4 раза порівняно з нативним крохмалем.

2. Розроблено технології модифікації харчових добавок, які передбачають їх фізико-хімічну обробку із наступним нанесенням зшивок. За рахунок модифікації сорбційні властивості пектину, желатину та крохмалю збільшились на 20,8 % – 26,9 % відносно їх нативних форм.

3. Експериментально, на лабораторних білих мишах, доведено нешкідливість застосування модифікованого пектину, крохмалю та желатину як носіїв для іммобілізації заквасок для кисломолочних продуктів.

4. Токсикологічними експериментами на білих мишах, білих щурах та кролях з використанням біохімічних і патолого-анатомічних даних досліджень встановлено, що модифіковані харчові добавки відносяться до малотоксичних сполук, DL₅₀ є більшим 5000 мг/кг маси тіла тварин. Модифікований пектин, желатин та крохмаль не викликають подразнюючої дії на слизову оболонку очей кролів.

5. Встановлено, що за вмісту в молоці пеніциліну в концентрації 11,8 ОД/см³ та стрептоміцину – 9,6 ОД/см³ нативна закваска для йогурту інактивується, і сквашування не відбувається. Нативна закваска стрептосану втрачає свою активність за вмісту в молоці пеніциліну та стрептоміцину, відповідно, в дозах 5,0 та 1,0 ОД/см³.

6. Розроблено біотехнології іммобілізації закваски йогурту та стрептосану на модифікованих носіях. За використання модифікованого пектину оптимальним співвідношенням є: носій : мікроорганізми заквасок: розчинник - 8 г : 10¹⁰ КУО/мл : 100 см³ для закваски йогурту та 6 г : 10¹⁰ КУО/мл : 100 см³ для закваски стрептосану. За використання модифікованого желатину оптимальним співвідношенням є: носій : закваска : розчинник – 1000 мг : 60 мг : 0,2 см³ для закваски йогурту та 1000 мг : 50 мг : 0,2 см³ для закваски стрептосану.

7. За додавання до 1 дм³ молока 300–450 мг іммобілізованої на модифікованому пектині закваски йогурту воно сквашується за 6,1–7,3 години. Упродовж 6,5–7,4 години проходить сквашування 1 дм³ молока за додавання до нього іммобілізованої на модифікованому пектині закваски стрептосану. Титрована кислотність кисломолочних продуктів була в межах 85–92 °Т.

8. Іммобілізація заквасок йогурту та стрептосану на модифікованому пектині сприяє пролонгуванню їх активності щодо сквашування молока за температури зберігання 3–4 °С на 12–18 місяців у порівнянні з нативними формами.

9. За наявності в молоці пеніциліну в дозі 20,0 ОД/см³ внесення іммобілізованої закваски йогурту сприяє утворенню молочного згустку. Не виявлено порушення сквашування молока з вмістом у ньому 20,0 ОД/см³ стрептоміцину іммобілізованою закваскою йогурту.

10. Іммобілізована на модифікованому пектині закваска для стрептосану зберігає властивість сквашувати молоко за вмісту в ньому пеніциліну та стрептоміцину у дозах, відповідно, 10 та 4,0 ОД/см³. Титрована кислотність таких кисломолочних продуктів становить 75–88 °Т.

11. Ефективна в'язкість та відновлення структури йогурту і стрептосану, одержаних за використання іммобілізованих заквасок, не відрізнялись від аналогічних показників кисломолочних продуктів, виготовлених із застосуванням нативних заквасок.

12. На 2 добу зберігання за температури 4,0 °С йогурту та стрептосану, виготовлених за участі іммобілізованих заквасок, вміст у них молочнокислих бактерій становив, відповідно, $1,0 \times 10^8$ та $0,9 \times 10^8$ КУО/см³, що відповідає нормативним документам на ці продукти.

13. Використання іммобілізованих на модифікованому пектині заквасок за технології йогурту та стрептосану сприяє зменшенню собівартості кисломолочних продуктів на 0,2 % відносно технологій де використовували нативні закваски.

ПРОПОЗИЦІЇ ВИРОБНИЦТВУ

1. З метою підвищення сорбційних властивостей харчових добавок пектину та желатину, як носіїв для іммобілізації клітин мікроорганізмів, рекомендуємо проводити їх модифікацію розробленим методом із застосуванням фізико-хімічних реакцій та нанесення зшивок.

2. Для пролонгування збереження активності, збільшення стійкості молочнокислих бактерій заквасок йогурту та стрептосану до інгібуючих речовин, які потрапляють у молоко, пропонуємо проводити їх іммобілізацію на модифікованому пектині.

3. Виробництво та використання іммобілізованих заквасок йогурту та стрептосану слід здійснювати згідно з рекомендаціями, затвердженими радою біолого-технологічного факультету Білоцерківського НАУ.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Публікації в наукових фахових виданнях

1. Вовкогон А.Г., Мерзлов С.В. Порівняння показників сорбції носіїв – желатину та крохмалю. *Збірник наукових праць БНАУ*, **2016**, 2(129), с. 51–55. (Входить до затвердженого МОН Переліку наукових фахових видань України з сільськогосподарських наук; міжнародна індексація: Національна бібліотека України ім. В.І. Вернадського, РІНЦ, Google Scholar, Index Copernicus, Crossref).

Особистий внесок дисертантки: підготування зразків, узагальнення отриманих даних дослідження та підготовка матеріалів до друку.

2. Вовкогон А.Г., Мерзлов С.В. Сорбційні показники модифікованого і нативного желатину як носія для іммобілізації заквасок. *Збірник наукових праць ВНАУ*, **2017**, 3(97), с. 229–234. (Входить до затвердженого МОН Переліку наукових фахових видань України з сільськогосподарських наук).

Особистий внесок дисертантки: підготування зразків, узагальнення отриманих даних дослідження та підготовка матеріалів до друку.

3. Вовкогон А.Г., Мерзлов С.В. Вплив модифікованого желатину як харчової добавки на організм білих мишей. *Збірник наукових праць ВНАУ*, **2017**, 4(98), с. 227–232. (Входить до затвердженого МОН Переліку наукових фахових видань України з сільськогосподарських наук).

Особистий внесок дисертантки: підготування зразків, узагальнення отриманих даних дослідження та підготовка матеріалів до друку.

4. Вовкогон А.Г., Мерзлов С.В. Показники сорбції носіїв – пектину та крохмалю. *Збірник наукових праць ВНАУ*, **2017**, 5(99), 1, с. 109–114. (Входить до затвердженого МОН Переліку наукових фахових видань України з сільсько-господарських наук).

Особистий внесок дисертантки: підготування зразків, узагальнення отриманих даних дослідження та підготовка матеріалів до друку.

5. Вовкогон А.Г., Мерзлов С.В. Визначення гострої токсичності модифікованого желатину на білих мишах. *Збірник наукових праць ВНАУ*, **2017**, 1-2(134), с. 37–41. (Входить до затвердженого МОН Переліку наукових фахових видань України з сільськогосподарських наук; міжнародна індексація: Національна бібліотека України ім. В.І. Вернадського, РІНЦ, Google Scholar, Index Copernicus, Crossref).

Особистий внесок дисертантки: підготування зразків, узагальнення отриманих даних дослідження та підготовка матеріалів до друку.

6. Вовкогон А.Г. Встановлення гострої токсичності модифікованого пектину на лабораторних тваринах. *Збірник наукових праць ВНАУ*, **2018**, 1(141), с. 32–37. (Входить до затвердженого МОН Переліку наукових фахових видань України з сільськогосподарських наук; міжнародна індексація: Національна бібліотека України ім. В.І. Вернадського, РІНЦ, Google Scholar, Index Copernicus, Crossref).

7. Вовкогон А.Г. Встановлення нешкідливості модифікованого пектину. *Збірник наукових праць ВНАУ*, **2018**, 1(100), с. 101–106. (Входить до затвердженого МОН Переліку наукових фахових видань України з сільсько-господарських наук).

8. Вовкогон А.Г. Деякі показники білкового обміну у організмі білих мишей за визначення гострої токсичності модифікованого желатину. *Тваринництво та технології харчових продуктів НУБіП*, **2018**, 289, с. 7–14. (Входить до затвердженого МОН Переліку наукових фахових видань України з сільсько-господарських наук; міжнародна індексація: Elibrary.ru, Ulrichsweb, Google Scholar, EBSCO, MIAR, BASE.).

9. Вовкогон А.Г., Мерзлов С.В. Сорбційні показники нативного і модифікованого пектину як носія для іммобілізації заквасок. *Подільський вісник: сільське господарство, техніка, економіка*, **2018**, 28, с. 34–38. (Входить до затвердженого МОН Переліку наукових фахових видань України з сільськогосподарських, технічних, економічних наук; міжнародна індексація: *Index Copernicus, PИИЦ, Polish Scholarly Bibliography, CiteFactor, ResearchBible, Google Scholar, MIAR, General Impact Factor (GIF), Journal Factor, PBN, USJ*).

Особистий внесок дисертантки: підготування зразків, узагальнення отриманих даних дослідження та підготовка матеріалів до друку.

10. Вовкогон А.Г. Ефективність сквашування йогурту з молока із різним вмістом стрептоміцину. *Науково-технічний бюлетень ДНДКІ вет. препаратів та кормових добавок і інституту біології тварин*, **2018**, 19, 2, с. 98–104. (Входить до затвердженого МОН Переліку наукових фахових видань України з сільськогосподарських, ветеринарних наук; міжнародна індексація: *Google Scholar, Все науки, National Library of Ukraine Vernadsky, WorldCat, Реєстр наукових фахових видань України, BASE, Scilit, Dimensions, Національна наукова сільськогосподарська бібліотека*).

11. Вовкогон А.Г. Вплив різних доз стрептоміцину у молоці на дію закваски стрептосану. *Збірник наукових праць ВНАУ*, **2018**, 3(102), с. 143–151. (Входить до затвердженого МОН Переліку наукових фахових видань України з сільськогосподарських наук).

12. Вовкогон А.Г. Дія різних доз бензилпеніциліну натрієвої солі у молоці на закваску стрептосану. *Наукові доповіді НУБіП України*, **2018**, 6 (76), с. 1–9. DOI: <http://dx.doi.org/10.31548/dopovidi2018.06.021> (Входить до затвердженого ВАК Переліку наукових фахових видань України з сільськогосподарських наук; міжнародна індексація: *Elibrary.ru, Ulrichsweb, Google Scholar, EBSCO, MIAR, BASE*).

13. Вовкогон А.Г., Мерзлов С.В. Показники сквашування молока за використання іммобілізованих заквасок стрептосану. *Науково-технічний бюлетень ДНДКІ вет. препаратів та кормових добавок і інституту біології тварин*, **2019**, 20, 1, с. 43–48. (Входить до затвердженого МОН Переліку наукових фахових видань України з сільськогосподарських, ветеринарних наук; міжнародна індексація: *Google Scholar, Все науки, National Library of Ukraine Vernadsky, WorldCat, Реєстр наукових фахових видань України, BASE, Scilit, Dimensions, Національна наукова сільськогосподарська бібліотека*).

Особистий внесок дисертантки: підготування зразків, узагальнення отриманих даних дослідження та підготовка матеріалів до друку.

14. Вовкогон А.Г. Вуглеводневий обмін у мишей за до клінічних досліджень модифікованого крохмалю. *Науковий вісник Львівського НУВМ та БТ ім. С.З. Гжицького*, **2019**, 21, 91, с. 33–36. (Входить до затвердженого МОН Переліку наукових фахових видань України з ветеринарних, сільськогосподарських, економічних та технічних наук).

15. Вовкогон А.Г., Мерзлов С.В., Мерзлова Г.В., Непочатенко А.В. Термін сквашування молока залежно від дози іммобілізованих заквасок йогурту. *Збірник наукових праць БНАУ*, **2019**, 1(147), с. 126–134. (Входить до затвердженого МОН Переліку наукових фахових видань України з сільськогосподарських наук; міжнародна індексація: Національна бібліотека України ім. В.І. Вернадського, РІНЦ, Google Scholar, Index Copernicus, Crossref).

Особистий внесок дисертантки: підготування зразків, узагальнення отриманих даних дослідження та підготовка матеріалів до друку.

16. Вовкогон А.Г. Оптимальні біотехнологічні параметри іммобілізації клітин закваски йогурту на модифікованому желатині. *Theoretical and Applied Veterinary Medicine Дніпровський ДАЕУ*, **2019**, 7(2), с. 107–110. (Входить до затвердженого МОН Переліку наукових фахових видань України з ветеринарних наук).

17. Вовкогон А.Г. Порівняльна характеристика нативної і іммобілізованої на модифікованому пектині закваски для йогурту за різного часу і умов зберігання. *Вісник Полтавської ДАА*, **2019**, 3(94), с. 117–124. (Входить до затвердженого ВАК Переліку наукових фахових видань України з сільськогосподарських, ветеринарних, технічних наук; міжнародна індексація: Україніка наукова, Index Copernicus, CrossRef, Google Scholar).

18. Вовкогон А.Г. Перевірка гострої токсичності модифікованого крохмалю за використання лінійних мишей. *Науково-практичний журнал Харківської ДЗА*, **2019**, 4, с. 23–27. (Входить до затвердженого МОН Переліку наукових фахових видань України з сільськогосподарських, ветеринарних наук).

19. Вовкогон А.Г. Вивчення показників нешкідливості модифікованого крохмалю на білих мишах. *Науково-технічний бюлетень ДНДКІ вет. препаратів та кормових добавок і інституту біології тварин*, **2019**, 20, 2, с. 303–310. (Входить до затвердженого МОН Переліку наукових фахових видань України з сільськогосподарських, ветеринарних наук; міжнародна індексація: Google Scholar, Все науки, National Library of Ukraine Vernadsky, WorldCat, Реєстр наукових фахових видань України, BASE, Scilit, Dimensions, Національна наукова сільськогосподарська бібліотека).

20. Вовкогон А.Г., Мерзлов С.В. Стійкість нативної та іммобілізованої закваски йогурту до різних доз пеніциліну в молоці. *Таврійський науковий вісник Херсонського ДАУ*, **2019**, 2, 110, с. 16–23. (Входить до затвердженого МОН Переліку наукових фахових видань України з сільськогосподарських наук).

Особистий внесок дисертантки: підготування зразків, узагальнення отриманих даних дослідження та підготовка матеріалів до друку.

21. Вовкогон А.Г. Деякі показники вуглеводного обміну в організмі мишей за дії модифікованого пектину. *Біологія тварин*, **2019**, Т. 21, 4, С. 18-21. (Входить до

затвердженого МОН Переліку наукових фахових видань України з ветеринарних, хімічних, сільськогосподарських наук, біологічних; міжнародна індексація: *The Index Copernicus International, Google Scholar, Cross Ref, WorldCat*)

22. Вовкогон А.Г. Вплив часу і умов зберігання на активність нативної та іммобілізованої на модифікованому пектині закваски стрептосану. *Таврійський науковий вісник Херсонського ДАУ*, **2020**, 2, 111, с. 16–23. (Входить до затвердженого МОН Переліку наукових фахових видань України з сільськогосподарських наук).

**Публікації у наукових фахових виданнях України,
включених до міжнародних наукометричних баз даних**

23. Moskalets, T.Z., Moskalets, V.V., Vovkohon, A.H., Knyazyuk. O.V. Fruits of new selection forms and varieties of snowball tree for manufacture of products of therapeutic and prophylactic purpose. *Regulatory Mechanisms in Biosystems*, **2019**, 10(4), 432–437. DOI:<http://doi:10.15421/021964> (Входить до затвердженого МОН Переліку наукових фахових видань України з біологічних, ветеринарних, сільськогосподарських наук; indexing: *Web of Science*).

Особистий внесок дисертантки: узагальнення отриманих даних дослідження та підготовка матеріалів до друку.

Публікації у міжнародних виданнях

24. Features of the HACCP plan development of the curd production/ Vovkogon A. at all *Eurasian Journal of Analytical Chemistry*, **2018**, 13 (3). 327–335. (*Abstracting and Indexing: Chemical Abstracts, ROAD, Analytical Abstracts, EBSCO, IndexCopernicus, SCImago Journal*).

Особистий внесок дисертантки: підготування зразків, узагальнення отриманих даних дослідження та підготовка матеріалів до друку.

25. Определение раздражающего действия модифицированного пектина/ Вовкогон А.Г. и др. *Ученые записки УО «Витебская Ордена «Знак Почета» ГАВМ»*, **2019**, 55, 4, с. 165–170.

Особистий внесок дисертантки: підготування зразків, узагальнення отриманих даних дослідження та підготовка матеріалів до друку.

Тези конференцій

26. Вовкогон А.Г. Деякі біохімічні показники у печінці мишей за визначення нешкідливості модифікованого пектину: міжнар. наук.-практ. конф. «Аграрна освіта та наука: Досягнення, роль, фактори росту». Сучасний розвиток ветеринарної медицини та технологій тваринництва. Інноваційні технології в харчових технологіях. 27–28 вересня. Біла Церква, 2018. С. 55. [електронний ресурс] http://science.btsau.edu.ua/sites/default/files/tezy/zbirnik_tez_btf_27-28_veresen.pdf

Рекомендації

27. Вовкогон А.Г., Мерзлов С.В. Рекомендації щодо іммобілізації закваски та використання її за технології йогурту. Біла Церква, **2019**, 14 с. (*Дисертантка виконала дослідження, провела аналіз одержаних даних та брала участь у підготовці рекомендацій*).

Особистий внесок дисертантки: підготування зразків, узагальнення отриманих даних дослідження та підготовка матеріалів до друку.

28. Вовкогон А.Г., Мерзлов С.В. Рекомендації щодо іммобілізації закваски та використання її за технології стрептосану. Біла Церква, **2019**, 12 с. (*Дисертантка виконала дослідження, провела аналіз одержаних даних та брала участь у підготовці рекомендацій*).

Особистий внесок дисертантки: підготування зразків, узагальнення отриманих даних дослідження та підготовка матеріалів до друку.

29. Вовкогон А.Г., Мерзлов С.В., Мерзлова Г.В. Рекомендації щодо модифікації нативного пектину як носія для іммобілізації клітин мікроорганізмів. Біла Церква, **2019**, 8 с. (*Дисертантка виконала дослідження, провела аналіз одержаних даних та брала участь у підготовці рекомендацій*).

Особистий внесок дисертантки: підготування зразків, узагальнення отриманих даних дослідження та підготовка матеріалів до друку.

АНОТАЦІЯ

Вовкогон А.Г. Теоретичне та практичне обґрунтування розробки біотехнологій іммобілізації клітин заквасок для кисломолочних напоїв. Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора сільськогосподарських наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія. Білоцерківський національний аграрний університет Міністерства освіти і науки України. Біла Церква, 2020.

Дисертаційну роботу присвячено вирішенню проблеми підвищення ефективності використання заквасок для виготовлення кисломолочних напоїв шляхом розробки біотехнологій іммобілізації молочнокислих бактерій, які застосовують у технологіях йогурту та стрептосану, і встановленню стійкості іммобілізованих заквасок для йогурту та стрептосану до бактерицидних речовин, які потрапляють у молоко.

Розроблено технології модифікації нативних харчових добавок крохмалю, пектину та желатину фізико-хімічними методами. Виявлено, що модифіковані харчові добавки мали вищу сорбційну властивість за вітаміном В₂ на 26,2–36,9 %, порівняно з їх нативними формами.

На лабораторних тваринах з дотриманням усіх правил біоетики досліджено нешкідливість та токсичність модифікованого пектину, желатину і крохмалю. Встановлено, що модифіковані харчові добавки не створюють подразнюючої дії на

слизову оболонку очей тварин, належать до малотоксичних речовин. Їх DL_{50} за внутрішньошлункового введення лабораторним тваринам є більшою, ніж 6000 мг/кг маси тіла.

Розроблено біотехнології іммобілізації клітин мікроорганізмів заквасок для йогурту та стрептосану на модифікованих носіях. Виявлено, що найбільш ефективною була іммобілізація заквасок на модифікованому пектині.

Доведено, що за вмісту низьких доз пеніциліну та стрептоміцину в молоці, нативні закваски інактивуються, і сквашування молока не відбувається. Встановлено, що використання іммобілізованих заквасок йогурту та стрептосану, на відміну від їх нативних форм, дає змогу сквашувати молоко за низьких доз у ньому антибіотиків.

Експериментально обґрунтовано оптимальні дози використання іммобілізованих заквасок для йогурту та стрептосану. Виявлено, що іммобілізовані закваски на 12–18 місяців довше зберігають свою активність, порівняно з їх нативними формами.

Встановлено, що кисломолочні напої, одержані за використання іммобілізованих заквасок, за мікробіологічними та реологічними показниками відповідають нормативним вимогам. Доведено, що використання іммобілізованих заквасок не впливає на зменшення вмісту амінокислот у йогурті та стрептосані.

Застосування іммобілізованих заквасок дає можливість зменшити витрати електроенергії та собівартість кисломолочних напоїв.

Ключові слова: модифікований пектин, модифікований желатин, модифікований крохмаль, молоко, йогурт, стрептосан, білі миші, білі щурі, кролі, печінка тварин, сироватка крові тварин, іммобілізована закваска для йогурту, іммобілізована закваска для стрептосану, молочнокислі бактерії.

АННОТАЦИЯ

Вовкогон А.Г. Теоретическое и практическое обоснование разработки биотехнологий иммобилизации клеток заквасок для кисломолочных напитков. Квалификационный научный труд на правах рукописи.

Диссертация на соискание ученой степени доктора сельскохозяйственных наук по специальности 03.00.20 – биотехнология. Белоцерковский национальный аграрный университет Министерства образования и науки Украины. Белая Церковь, 2020.

Диссертация посвящена решению проблемы повышения эффективности использования заквасок для изготовления кисломолочных напитков путем разработки биотехнологий иммобилизации молочнокислых бактерий, применяемых в технологиях йогурта и стрептосана, и установления устойчивости иммобилизованных заквасок для йогурта и стрептосана к бактерицидным веществам, которые попадают в молоко.

Разработаны технологии модификации нативных пищевых добавок крахмала, пектина и желатина физико-химическими методами. Выведено, что модифициро-

ванные пищевые добавки имели повышенное свойство сорбции по отношению к витамину В₂ на 26,2–36,9 %, по сравнению с их нативными формами.

На лабораторных животных с соблюдением всех правил биоэтики исследовано безвредность и токсичность модифицированного пектина, желатина и крахмала. Установлено, что модифицированные пищевые добавки не создают раздражающего действия на слизистую оболочку глаз животных, относятся к малотоксичным веществам. Их DL₅₀ при внутрижелудочном введении лабораторным животным является больше 6000 мг/кг массы тела.

Разработаны биотехнологии иммобилизации клеток микроорганизмов заквасок для йогурта и стрептосана на модифицированных носителях. Выявлено, что наиболее эффективной была иммобилизация заквасок на модифицированном пектине.

Доказано, что при содержании низких доз пенициллина и стрептомицина в молоке, нативные закваски инактивируются, и сквашивания молока не происходит. Установлено, что использование иммобилизованных заквасок йогурта и стрептосана, в отличие от их нативных форм, позволяет сквашивать молоко при низких дозах в нем антибиотиков.

Экспериментально обоснованы оптимальные дозы использования иммобилизованных заквасок для йогурта и стрептосана. Выявлено, что иммобилизованные закваски на 12–18 месяцев дольше сохраняют свою активность по отношению к их нативным формам.

Установлено, что кисломолочные напитки, полученные при использовании иммобилизованных заквасок, по микробиологическим и реологическими показателями соответствуют нормативным требованиям. Доказано, что использование иммобилизованных заквасок не влияет на уменьшение содержания аминокислот в йогурте и стрептосане.

Применение иммобилизованных заквасок позволяет уменьшить расход электроэнергии и себестоимость кисломолочных напитков.

Ключевые слова: модифицированный пектин, модифицированный желатин, модифицированный крахмал, молоко, йогурт, стрептосан, белые мыши, белые крысы, кролики, печень животных, сыворотка крови животных, иммобилизованная закваска для йогурта, иммобилизованная закваска для стрептосана, молочнокислые бактерии.

ANNOTATION

A.G. Vovkohon. Theoretical and practical substantiation of biotechnologies development of ferment cells immobilization for sour milk drinks. Qualifying scientific work on the right of manuscript.

Thesis for the degree of Doctor of Agricultural Sciences, speciality 03.00.20 – biotechnology. Bila Tserkva National Agrarian University, Ministry of Education and Science of Ukraine. Bila Tserkva, 2020.

The thesis deals with the problem of ferment efficiency improvement for sour milk products manufacture by development of biotechnology for immobilization of the lactic-acid bacteria: *Lactobacillus delbrueckii subsp. Bulgaricus*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium lactis*, *Streptococcus salivarius thermophilus* and *Enterococcus faecium*, that are used in technologies for yoghurt and streptosan production and in technologies for immobilization resistance of yoghurt and streptosan ferments to the inhibiting compounds in milk.

The sorptive properties of native food additives were studied – of gelatin, apple pectin and starch in model experiments with application of vitamin B₂ solution. It was proved that native starch had the lowest sorptive property.

The modification technology of native gelatin, starch and pectin was elaborated by physical-chemical method. It was found out that the modified food additives had higher sorptive property concerning vitamin B₂ by 26,2–36,9% compared to their native forms.

The harmlessness and toxicity of modified pectin, gelatin and starch were investigated on laboratory animals in compliance with all bioethics rules. It was found out, that modified food additives, as carriers for immobilization of microorganism cells in ferments for sour milk drinks, belong to low-toxicity substances – category 4 according to the State Standards 12.1.007. When intragastrically introduced to the laboratory animals (white mice), their DL₅₀ is more than 5000-6000 mg/kg of body mass. The modified gelatin, starch and pectin when introduced as solution on the mucous membrane of animals, do not provoke any irritating (harmful) reaction.

It was proved that with low doses of benzylpenicillin sodium salt and streptomycin in milk, the action of lactic-acid bacteria in ferment for yoghurt and streptosan is going down and the milk souring does not occur. It was found out that application of immobilized yoghurt ferments and streptosan, unlike their native forms, allows souring the milk with low content of antibiotics.

The biotechnologies were elaborated of microorganism cells immobilization in the ferments for yoghurt and streptosan on modified carriers. It was detected that the most efficient immobilization of ferments was the one on modified pectin.

The application of lower doses of ferments immobilized on modified pectin showed a quicker milk souring compared to the ferments immobilized on modified gelatin.

It was proved that the ferment for yoghurt immobilized on modified pectin kept its milk souring activity when stored during 42 months at the temperature 3-4°C. The immobilization of ferment for yoghurt increases its shelf life by 18 months compared to native form. It was found out that the ferment immobilized on modified pectin for streptosan preserves its activity by 12 months longer compared to its native form.

It was proved that application of immobilized ferment for yoghurt and streptosan does not deteriorate the viscosity and restoration of structure of milk souring products during 8 days storage.

As to the microbiological indexes, it was established that the sour milk drinks produced by means of immobilized ferment for yoghurt and streptosan meet the current normative requirements. The amino-acid composition of milk soured by immobilized ferments for yoghurt and streptosan does not differ from the amino- acid composition of sour milk drinks produced by means of native forms of ferments.

Key words: modified pectin, modified gelatin, modified starch, milk, yoghurt, streptosan, white mice, rabbits, liver, blood serum, immobilized ferment for yoghurt, immobilized ferment for streptosan, lactic-acid bacteria.