

На правах рукописи

**Хромова Наталья Юрьевна**

**БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ КОНВЕРСИЯ  
ЗЕРНОВОГО СЫРЬЯ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ  
ПРОБИОТИЧЕСКИХ ПРОДУКТОВ И КОРМОВЫХ  
БЕЛКОВЫХ ДОБАВОК**

03.01.06 – Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата технических наук

**Москва – 2019**

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Российский химико-технологический университет имени Д. И. Менделеева».

**Научный руководитель**

**Панфилов Виктор Иванович**

доктор технических наук, профессор, заведующий кафедрой биотехнологии РХТУ имени Д. И. Менделеева

**Официальные оппоненты:**

**Колпакова Валентина Васильевна**

доктор технических наук, профессор, заведующая отделом биотехнологии крахмалопродуктов ВНИИ крахмалопродуктов - Филиал ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова»

**Зуева Наталья Владимировна**

кандидат технических наук, доцент кафедры технологии бродильных и сахаристых производств ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет инженерных технологий»

**Ведущая организация**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет» (ФГБОУ ВО «КНИТУ»)

Защита состоится «13» июня 2019 года в \_\_ часов \_\_ минут на заседании диссертационного совета Д 999.095.03 при РХТУ имени Д. И. Менделеева (125047, г. Москва, Миусская пл., 9) в конференц-зале (ауд. 443).

С диссертацией можно ознакомиться в Информационно-библиотечном центре РХТУ имени Д. И. Менделеева, а также на официальном сайте <http://diss.muctr.ru/>

Автореферат диссертации разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2019 г.

Ученый секретарь

диссертационного совета

Д 999.095.03, к.т.н.

И. В. Шакир

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы.** Согласно данным Федеральной государственной службы статистики России, а также Продовольственной и сельскохозяйственной организации ООН (ФАО ООН), ежегодно в зерновом хозяйстве, как в Российской Федерации, так и в мире, наблюдается рост производства зерновых культур с увеличением объема с 1050 млн. т. в 1966–1970 гг. до 2400-2600 млн. т. в 2014–2018 гг. Основная доля в структуре мирового производства зерна, а именно 93%, отводится таким культурам, как кукуруза, рис, ячмень и пшеница, из которых 27% составляет последняя [Водяников В. Т., 2013; Гусманов Р. У., 2013].

Традиционно значительная часть зерна используется в продовольственных целях, либо идет на экспорт. В силу современного развития мирового промышленного биотехнологического и химического производства, направленного на создание инновационных продуктов, особо значимы малоотходные или безотходные технологии, в которых в качестве сырьевой базы используются возобновляемые растительные ресурсы.

В последние годы наблюдается повышение спроса на пробиотические продукты для производства которых используется не молоко, а растительное сырье, что особенно важно для потребителей, страдающих непереносимостью лактозы или аллергией на молочный белок. В качестве потенциального сырья для роста лакто- и бифидобактерий могут быть использованы зерновые культуры, характеризующиеся богатым химическим составом, способным удовлетворить их питательные потребности. Кроме того, в состав зерновых входят неперевариваемые углеводы, оказывающие положительные эффекты как на организм человека, так и на рост микроорганизмов. Продуктивность ферментации при этом зависит от обработки сырья, а качество получаемых на его основе продуктов от органолептических показателей, стабильности культуры при хранении и пищевой ценности.

В число приоритетных проектов текущего развития биотехнологического кластера России, согласно Программе БИО – 2020, входит не только создание качественных и безопасных продуктов питания, но и технология глубокой переработки зерна с получением различных продуктов с высокой добавочной стоимостью, в том числе крахмала и глютена, при реализации технологии которых образуется ряд побочных продуктов, в частности, на стадии сепарации и отмывки – жидкая фракция, т. н. пентозаны. После концентрирования и упаривания их применяют для получения этанола или малоценных кормов, содержащих около 60 % углеводов и не более 10 % протеина. В условиях дефицита пищевого и кормового белка интерес представляет поиск альтернативных решений для биотехнологической конверсии углеводной фракции побочного продукта пшеницы в микробный протеин.

**Целью работы** является разработка основ гибкой технологии получения функциональных продуктов питания и ингредиентов, содержащих бифидо- и лактобактерии, а также белковых кормовых добавок путем биоконверсии зернового возобновляемого крахмалосодержащего растительного сырья.

Для достижения цели были сформулированы следующие **задачи**:

- обосновать выбор типа зернового сырья, ферментных препаратов для гидролиза крахмалистых и белковых веществ, а также исследовать рост бифидо- и лактобактерий в питательных средах на основе получаемых гидролизатов;
- с применением методологии активного эксперимента определить оптимальные условия гидролиза для достижения максимальной продуктивности ферментации по содержанию бифидо- и лактобактерий, а также исследовать особенности их роста при различных условиях культивирования;
- разработать технологические основы получения функциональных продуктов из гидролизатов зернового сырья, ферментированных бифидо- или лактобактериями, и проанализировать их основные характеристики;
- изучить химический состав побочного продукта глубокой переработки пшеницы – пентозановой фракции, оценить ее биологический потенциал для культивирования дрожжей и обосновать способы предварительной обработки для последующей биоконверсии;
- подобрать минеральный состав питательной среды и обосновать режим культивирования с учетом максимальной продуктивности и качества микробной биомассы;
- разработать практические рекомендации и провести технико-экономическую оценку предлагаемых технологий.

**Научная новизна.** Показана значимость предварительной обработки зернового сырья для получения на его основе функциональных продуктов и ингредиентов, содержащих бифидо- или лактобактерии, не только амилолитическими, но и протеолитическими ферментными препаратами. Условия гидролиза суспензий пшеничной муки оптимизированы таким образом, что дополнительное внесение в среды компонентов животного происхождения для ферментации лактобацилл не требуется, а в случае бифидобактерий гидролизат может выступать в качестве основного источника азота. Ростовые свойства полученных питательных сред на основе гидролизатов по конечному содержанию бифидо- или лактобактерий (до  $10^8$ - $10^9$  КОЕ/мл), соответствуют ростовым свойствам стандартной среды MRS. Исследованы закономерности роста *L. rhamnosus* и *B. adolescentis*.

Впервые изучена лиофильная сушка бифидобактерий с гидролизатом пшеничной муки в качестве единственного протектора и определены показатели выживаемости бифидобактерий в полученном продукте после сушки и при длительном хранении.

Исследован потенциал пентозанового побочного продукта переработки зерна пшеницы для биоконверсии и показано, что наилучшие показатели ферментации достигаются при использовании смешанной культуры дрожжей *C.utilis* и *L. scotti*.

**Практическая значимость.** Разработаны основы гибкой технологии переработки зерна пшеницы в пробиотические функциональные напитки и ингредиенты, а также белковые кормовые добавки.

Установлено, что обработка суспензий пшеничной муки амилолитическими и протеолитическими ферментными препаратами позволяет получить питательную среду для культивирования лактобактерий без внесения дополнительных компонентов с ростовыми свойствами, идентичными стандартной среде MRS.

Определены оптимальные условия предварительной обработки пшеничной муки для получения биосуспензий лактобацилл и бифидобактерий с максимальным содержанием живых пробиотических микроорганизмов не менее  $10^8$  КОЕ/мл.

Установлено, что использование гидролизата пшеничной муки в качестве защитной среды при лиофильном высушивании *B. adolescentis* позволяет получить продукт с содержанием бифидобактерий не менее  $10^{10}$  КОЕ/г при показателе выживаемости 90%.

Разработана технология биоконверсии побочного продукта глубокой переработки зерна пшеницы – пентозан-содержащей фракции, смешанной культурой дрожжей *C. utilis* и *L. scottii* в белковую кормовую добавку (БКД), содержащую не менее 54 % сырого протеина.

Проведена технико-экономическая оценка предлагаемых технологий исходя из расчетной мощности производства пробиотического напитка 600 тонн/год, ингредиента 8,5 тонн/год, а также 20 000 тонн/год по перерабатываемому сырью для производства БКД.

**Методология и методы исследования.** Культивирование микроорганизмов проводили с применением стандартных методов биотехнологии и микробиологии. Для биохимического и физико-химического анализа были использованы классические и современные методы. Оптимизация осуществлялась с применением математических методов планирования.

**Внедрение в практику.** Апробация получения белковой кормовой добавки проведена на предприятии ЗАО «Завод Премиксов №1».

**На защиту выносятся:**

- результаты исследования влияния ферментативной обработки суспензий зернового сырья протеазами на рост бифидо- и лактобактерий;
- результаты оптимизации ферментативного гидролиза протеазами суспензий пшеничной муки для получения максимального количества КОЕ бифидо- и лактобактерий;
- результаты лиофильного высушивания бифидобактерий с гидролизатом пшеничной муки в качестве протектора и основные характеристики получаемых продуктов;

– технология получения БКД путем биоконверсии побочного продукта переработки пшеницы – пентозановой фракции, дрожжами.

**Достоверность результатов** обеспечивается большим объемом экспериментальных данных, для получения которых были использованы современные аналитические методы исследований и их статистической оценкой. Результаты согласуются и не противоречат литературным данным.

**Апробация работы.** Основные результаты работы представлены на международных и всероссийских конференциях: на XI и XIV Международном конгрессе молодых ученых по химии и химической технологии (Москва, «МКХТ – 2015, 2018»); на VIII Московском международном конгрессе «Биотехнология: состояние и перспективы развития» (Москва, 2015), на XI Конкурсе проектов молодых ученых в рамках выставки Химия-2017 (Москва, 2017), на Конкурсе молодых ученых в рамках международного форума «Биотехнология: состояние и перспективы развития. Науки о жизни» (Москва, 2018), на V и VI международной научно-практической конференции «Биотехнология: наука и практика» (Ялта, 2017, 2018).

**Личный вклад автора.** Автор принимал непосредственное участие в планировании и проведении экспериментов, обработке, систематизации и интерпретации результатов, формулировке выводов, подготовке и оформлении материалов исследований для публикаций, а также их представлении на международных и российских конференциях и выставках.

**Соответствие паспорту научной специальности.** Диссертация соответствует паспорту специальности 03.01.06 «Биотехнология (в том числе бионанотехнологии)» по пунктам 2-3.

**Публикации.** По материалам диссертации опубликовано 16 работ, в том числе 5 публикаций в журналах, рекомендованных к изданию ВАК, в том числе 4 публикации в журнале, индексируемом международной системой SCOPUS и Web of Science, и подана 1 заявка на патент.

**Структура и объем диссертации.** Диссертационная работа состоит из введения, 3 глав и выводов, списка цитируемой литературы, включающего 163 наименования, 5 приложений. Текст работы изложен на 167 страницах печатного текста, включает 38 таблиц и 32 рисунка.

## СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

**Во введении** обоснована актуальность исследования, цель и задачи работы, ее научная новизна и практическая значимость.

**В первой главе** приведен обзор научно - технической литературы, в котором проанализированы состояние и перспективы развития зернового производства России, а также характеристика химического состава наиболее распространенных зерновых культур, рассмотрены основные положения концепций функционального питания и пробиотиков и

разобраны требования предъявляемые к ним, рассмотрены и описаны примеры технологий создания пробиотических продуктов и кормовых белковых добавок на основе зернового сырья.

**Во второй главе** изложена экспериментальная часть, основные объекты и методы исследования, а также их характеристика.

**В третьей главе** приведены результаты исследований и их обсуждение. При выборе типа зернового сырья и способа ферментативной обработки для культивирования лактобактерий было показано, что ростовые свойства суспензий муки, необработанных ферментами, не полностью удовлетворяли потребностям *L. paracasei*, а конечная концентрация бактерий после 24 ч роста не превышала  $10^7$  КОЕ/мл.

В большинстве проведенных ранее исследований зерновые гидролизаты рассматриваются только в качестве источника глюкозы. Чтобы оценить возможность повышения доступности белковых веществ проводили культивирование лактобацилл в среде, предварительно обработанной ферментным препаратом Protex 40E как с ферментным препаратом Duozyme, так и без амилаз (табл.1).

Таблица 1.

Рост *L. paracasei* на гидролизатах муки различных сельскохозяйственных культур

| Ферментные препараты | log (КОЕ/мл) лактобацилл/ конечный pH |             |                |                |                             |
|----------------------|---------------------------------------|-------------|----------------|----------------|-----------------------------|
|                      | Гороховая мука                        | Ржаная мука | Гречневая мука | Пшеничная мука | Пшеничная мука в ферментере |
| Protex 40E           | 8,39 / 4,85                           | 9,48 / 3,73 | 8,38 / 4,40    | 9,39 / 4,07    | 9,15 / 7,0                  |
| Duozyme + Protex 40E | 9,00 / 4,21                           | 9,20 / 3,36 | 8,88 / 3,36    | 8,88 / 3,40    | 9,54 / 7,0                  |

Исходя из полученных результатов, а также с учетом более высокого выхода редуцирующих веществ (РВ) при обработке амилазами, в дальнейших исследованиях была использована пшеничная мука. Предварительные исследования по подбору протеолитических ферментных препаратов (Protex 40 E, Olexa, протосубтилин Г<sub>3х</sub>) и их дозировок позволили установить, что наибольшее содержание жизнеспособных лактобацилл достигалось при использовании ферментного препарата Olexa и Protex 40E (дозировка от 0,5 % от протеина и выше).

Была показана высокая питательная ценность гидролизатов при ферментации различных видов лактобацилл (табл.2). Причем культура *L. rhamnosus* образовывала помимо молочной уксусную кислоту, являющуюся дополнительным фактором антагонизма пробиотиков. В тоже время обработка зернового сырья ферментным препаратом Protex 40E позволяла получить питательную среду, ростовые свойства которой были оптимальными для большинства рассмотренных штаммов.

Таблица 2.

Рост лактобацилл в суспензиях пшеничной муки, предварительно обработанных амилазами и протеазами

| Параметры                          | <i>L. rhamnosus</i> |            | <i>L. salivarius</i> |            | <i>L. helveticus</i> |            | <i>L. paracasei</i> |            |
|------------------------------------|---------------------|------------|----------------------|------------|----------------------|------------|---------------------|------------|
|                                    | Olexa               | Protex 40E | Olexa                | Protex 40E | Olexa                | Protex 40E | Olexa               | Protex 40E |
| Конечный pH                        | 3.55                | 3.54       | 3.38                 | 3.54       | 3.66                 | 3.67       | 3.45                | 3.16       |
| log (КОЕ/мл)                       | 8.5                 | 8.3        | 7.6                  | 7.1        | 7.7                  | 8.3        | 8.7                 | 9.0        |
| Концентрация молочной кислоты, г/  | 19.0                | 17.5       | 16.9                 | 18.5       | 13.6                 | 15.1       | 12.1                | 17.2       |
| Концентрация уксусной кислоты, г/л | 1.8                 | 1.9        | 2.1                  | 0.0        | 2.4                  | 1.5        | 0.0                 | 0.0        |

Для определения оптимальной дозировки ферментного препарата Protex 40E и гидромодуля, соответствующих максимальному содержанию жизнеспособных клеток *L. rhamnosus*, был применен ротатабельный центральный композиционный план (РЦКП). В результате были определены оптимальные значения выбранных параметров процесса: гидромодуль – 5, концентрация ФП – 2% от содержания белка в муке (рис. 1).

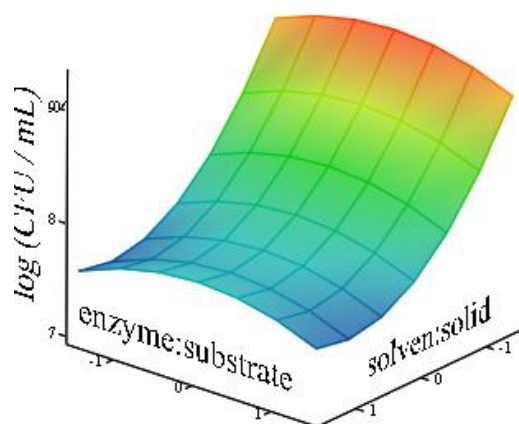


Рис. 1. Поверхность функции отклика log (КОЕ/мл) от гидромодуля и дозировки ФП

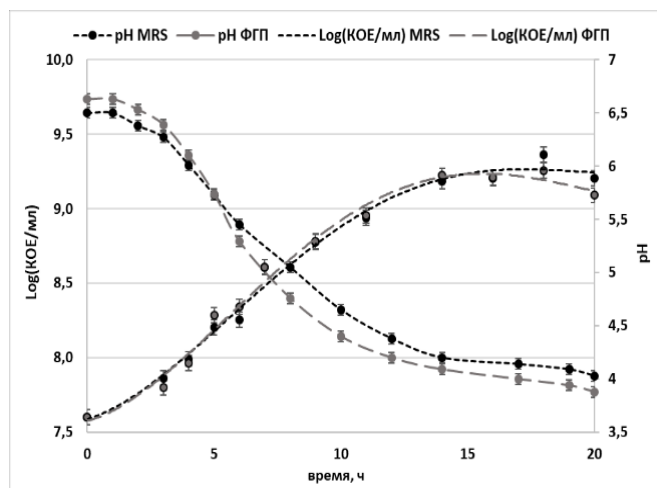


Рис. 2. Кривые роста и изменение pH *L. rhamnosus* при культивировании на гидролизате пшеничной муки и MRS

Сравнительная оценка роста лактобактерий после 20 ч на гидролизате пшеничной муки, полученном в оптимальных условиях, и среде MRS показала, что их ростовые свойства идентичны (рис. 2). Кривые роста *L. rhamnosus* не имели значительных различий, снижение pH в обоих случаях по мере роста культуры было практически одинаковым, а лаг-фаза отсутствовала.

Экспериментальные пробиотические зерновые напитки на основе гидролизатов



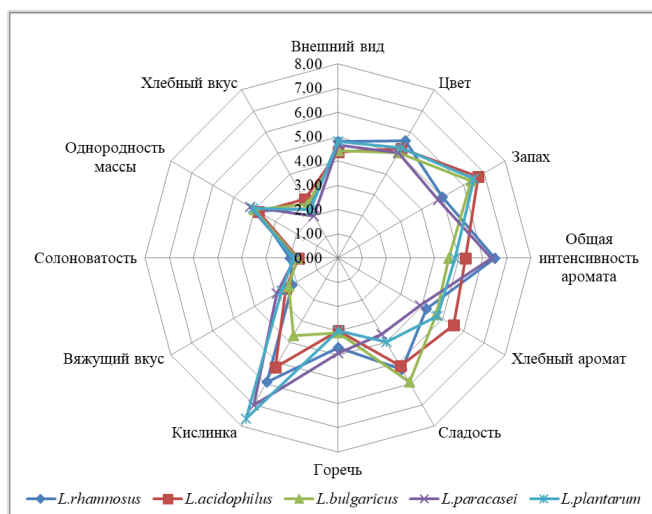


Рис. 3. Сенсорный профиль функциональных пробиотических зерновых напитков

таких как пептоны, гидролизаты казеина, мясные экстракты, с добавлением дрожжевого экстракта, аскорбиновой кислоты, L-цистеина, минеральных солей и глюкозы. В качестве тестового штамма был выбран *B. adolescentis* ATCC15703. Предварительные эксперименты показали, что наибольшей способностью стимулировать рост бифидобактерий обладал гидролизат пшеничной муки, полученный обработкой панкреатином (до  $10^8$  КОЕ/мл).

Методами математического планирования эксперимента (ПФЭ  $2^4$  и РЦКП) установлены оптимальные показатели условий предварительной обработки суспензий пшеничной муки панкреатином для получения максимальной концентрации жизнеспособных клеток *B. adolescentis*: гидромодуль (5,43), дозировка панкреатина (2% от содержания белка в муке), температура (40°C), pH гидролиза (8,0) (рис. 4).

Кривые роста и потребления РВ *B. adolescentis* на экспериментальных средах на основе гидролизата пшеничной муки без поддержания pH и в биореакторе (pH 6,5) представлены на рис. 5-6. При этом конечная концентрация бифидобактерий после ферментации в биореакторе составляла  $9,5 \log$  (КОЕ/мл), что было идентично содержанию бифидобактерий при культивировании в аналогичных условиях на стандартной среде MRS с добавлением L-цистеина и аскорбиновой кислоты. Также было проведено два цикла отъемно-доливного

пшеничной муки, полученных в оптимальных условиях и ферментированных различными видами лактобактерий, характеризовались высоким содержанием жизнеспособных клеток ( $10^8 - 10^9$  КОЕ/мл) и обладали хорошими сенсорными показателями (рис. 3).

В исследованиях с бифидобактериями, которые, как известно, более требовательны к составу питательных сред, гидролизаты зернового сырья использовали в качестве основного источника азота вместо компонентов животного происхождения,

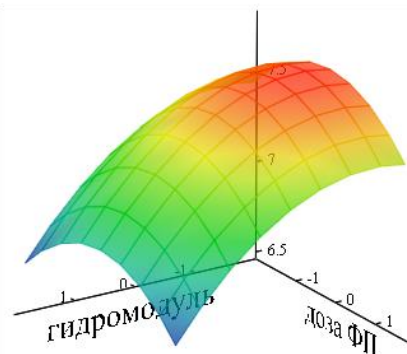


Рис.4. Поверхность функции отклика  $\log$  (КОЕ/мл) от гидромодуля и дозы ФП

культивирования и установлено, что данный режим не является стабильным, поэтому его применение ограничено.

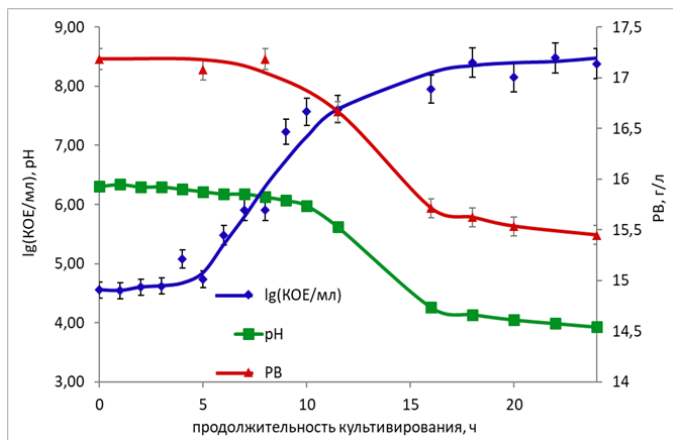


Рис.5. Кривая роста, потребления РВ и динамика рН *B. adolescentis* на экспериментальной среде

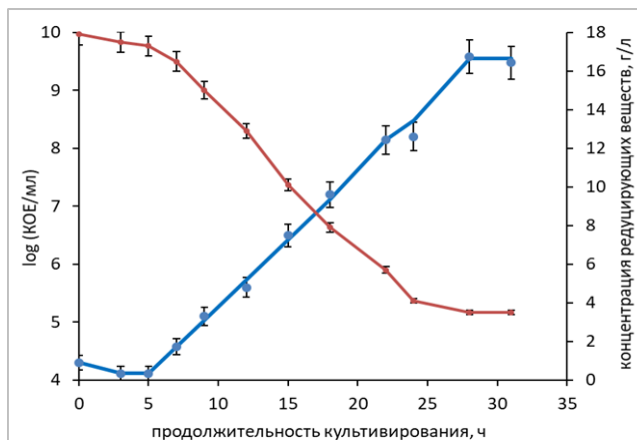


Рис.6. Кривая роста и потребления РВ *B. adolescentis* на экспериментальной среде с рН-стабилизацией (рН 6,5)

Было подтверждено, что питательная среда на основе ферментолита, полученного в оптимальных условиях, способна поддерживать рост типовых штаммов основных видов бифидобактерий, относимых к пробиотикам (табл. 4).

Таблица 4.

Рост бифидобактерий в экспериментальных средах на основе гидролизата

| Параметр    | <i>B. adolescentis</i> | <i>B. breve</i> | <i>B. bifidum</i> | <i>B. longum infantis</i> | <i>B. pseudolongum</i> | <i>B. longum</i> |
|-------------|------------------------|-----------------|-------------------|---------------------------|------------------------|------------------|
| рН          | 3.55                   | 3.61            | 4.34              | 3.69                      | 3.77                   | 3.67             |
| log(CFU/мл) | 8.1                    | 8.3             | 7.1               | 8.1                       | 7.7                    | 7.7              |

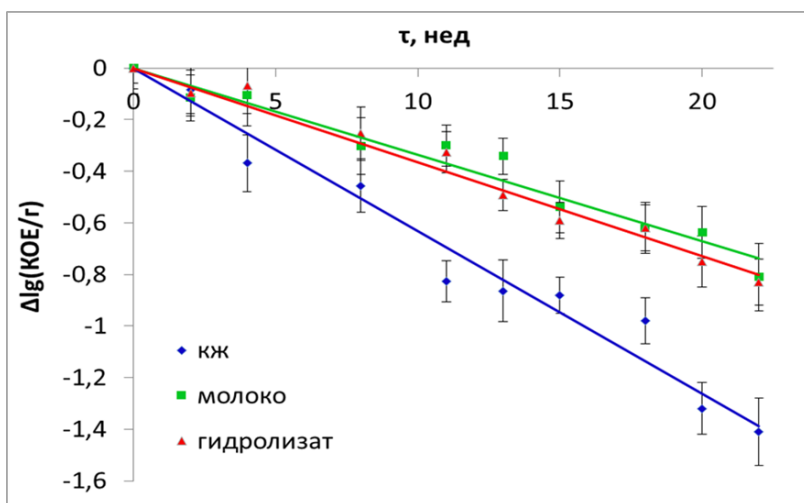


Рис.7. Влияние криопротектора на выживаемость бифидобактерий в лиофилизированном продукте при хранении при температуре 4±2 °С

#### Использование

гидролизата пшеничной муки в качестве защитной среды при лиофильном высушивании *B. adolescentis* позволяет получить продукт, содержащий не менее  $10^{10}$  КОЕ/г при 90% выживаемости после сушки, что практически идентично выживаемости при использовании в качестве протектора обезжиренного

молока – 93%. В ходе длительного хранения лиофилизированного продукта при температуре 4±2 °С потеря жизнеспособности также была сопоставима с используемым стандартом – обезжиренным молоком, а скорость гибели составляла 0,13 log (КОЕ/г) в месяц (рис.7).

Исследования химического состава образцов побочного продукта глубокой переработки пшеницы – пентозановой фракции, трех различных партий, полученных от ЗАО «Завод премиксов №1», показали, что при отсутствии в образце нативного крахмала основная доля углеводов была представлена олиго- и полисахаридами (58,8% от общего количества), а также моносахаридами, азотный компонент – в виде органического белкового азота (таблица 5). Пентозаны составляли 16,9% углеводной фракции, 36,6% из которых находились в растворе.

Таблица 5.

Химический состав пентозановой фракции

| Показатель   | Значение        |
|--|-----------------|
| Содержание СВ, %   | 14,04           |
| в т.ч. в жидкой фазе, %  | 12,63           |
| Содержание протеина (N×5,7), %                                   | 1,82            |
| Содержание олиго- и полисахаридов (по мальтодекстрину DE18), %   | 12,42           |
| в т.ч. содержание РВ (по глюкозе), %                             | 5,14            |
| Общее содержание пентозанов (в т.ч. свободные пентозы), %        | 2,07            |
| Содержание растворенных пентозанов (в т.ч. свободные пентозы), % | 0,75            |
| Крахмал  | Не определяется |

Определение углеводного состава гидролизованного образца пентозановой фракции методом ТСХ и ВЭЖХ показало наличие в пробе помимо глюкозы и мальтозы, также ксилозы и арабинозы. Поэтому подбор микроорганизмов-продуцентов для биоконверсии сырья осуществляли по способности дрожжей метаболизировать не только гексозы, но и пентозы. Подбор штаммов микроорганизмов проводили в два этапа. После первоначальной оценки роста культур на модельных плотных питательных средах, содержащих в качестве единственного источника углерода ксилозу или арабинозу, были отобраны 5 штаммов: *C. tropicalis* (РХТУ), *P. guilliermondii* (ВКПМ), *L. scottii* ОН-1 (ВКПМ), *C. maltosa* (РХТУ), *C. utilis* Y-3348 (ВКПМ), которые далее культивировали в глубинной культуре на питательных средах на основе пентозановой фракции.

В результате глубинного гетерофазного культивирования отобранных штаммов в питательной среде с пентозановым сырьем было установлено, что рост штаммов дрожжей *L. scottii* ОН-1 и *C. utilis* Y-3348 характеризовался наиболее высокой продуктивностью по биомассе (рисунок 8). Дальнейшие исследования проводили со смешанной культурой выбранных штаммов.

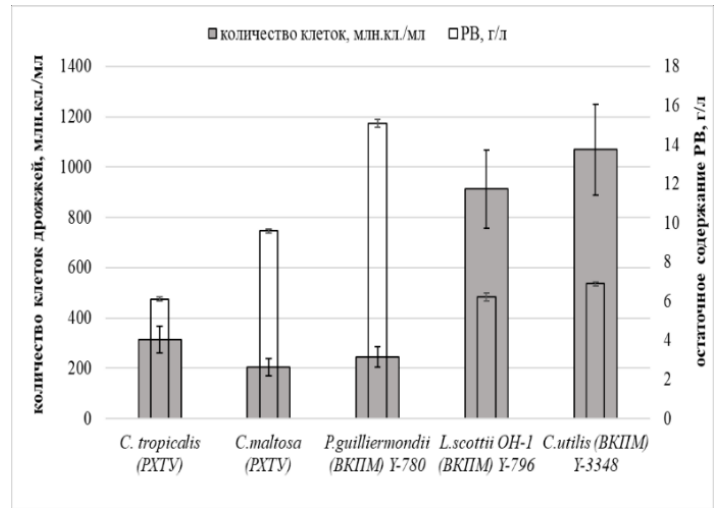


Рис.8. Аэробное гетерофазное культивирование дрожжей на среде с пентозановой фракцией

Исследование влияния кислотного гидролиза питательной среды на основе пентозановой фракции пшеницы серной кислотой на рост и продуктивность штаммов дрожжей *L. scottii* ОН-1 и *C. utilis* Y-3348 в смешанной культуре показало, что с увеличением рН гидролиза концентрация РВ возрастала (при рН 1,3 в 1,7 раз по сравнению с контролем), однако содержание дрожжей после 168 ч роста было выше на непредобработанном сырье, что, вероятно, связано с образованием ингибиторов роста.

Обработка ферментами с гемицеллюлазной и ксиланазной активностями в более мягких условиях также не оказала существенного влияния на рост дрожжей. Таким образом в дальнейших исследованиях использовали сырье, обработанное только амилазами.

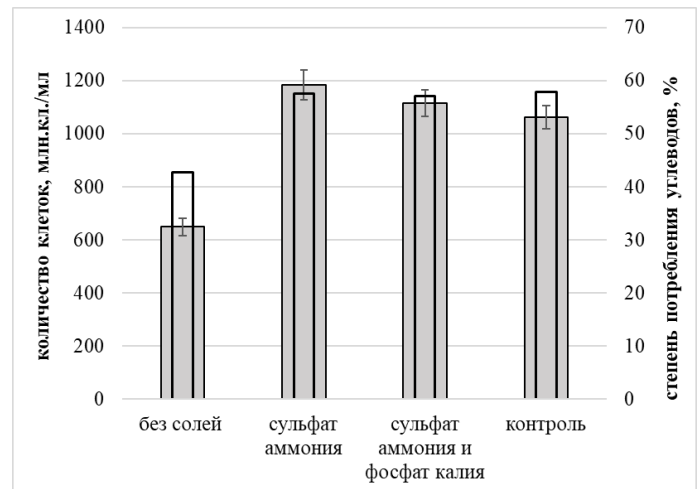


Рис.9. Рост дрожжей в ПС на основе пентозановой фракции с добавлением различных минеральных солей

При сравнении роста смешанной культуры дрожжей в питательных средах на основе пентозановой фракции с различным минеральным составом установлено, что для культивирования целесообразно использовать питательную среду, содержащую 2 г/л сульфата аммония (рисунок 9).

Для обоснования наиболее эффективного способа получения БКД сравнили показатели различных режимов культивирования смешанной культуры дрожжей *L. scottii* ОН-1 и *S. utilis* Y-3348 в питательных средах с пентозановой фракцией по продуктивности и составу конечного продукта (таблица 6).

Таблица 6.

Сравнение показателей различных режимов культивирования смешанной культуры дрожжей для получения БКД

| Показатель                   | Периодическое культивирование | Отъемно-доливной режим со скоростью протока |                      |                      | Непрерывный режим |
|------------------------------|-------------------------------|---|----------------------|----------------------|-------------------|
|                              |                               | 0,22 ч <sup>-1</sup>                        | 0,27 ч <sup>-1</sup> | 0,32 ч <sup>-1</sup> | Хемостат          |
| Биомасса дрожжей, г/л КЖ     | 8,6                           | 9,5   | 7,9                  | 7,8                  | 10,84             |
| Продуктивность г АСБ/(л·час) | 0,39                          | 2,8   | 2,1                  | 2,5                  | 1,94              |
| Пентозаны по Дугласу, г/л    | 3,2                           | 2,6   | -                    | -                    | 2,5               |
| Состав БКД                   |                               |   |                      |                      |                   |
| Сырой протеин, %             | 51,9                          | 53,4  | 53,9                 | 52,4                 | 53,8              |
| Сырой жир, %                 | 4,3                           | 9,8   | 8,8                  | 9,2                  | 8,2               |

В результате установлено, что режим глубинного культивирования не оказывал существенного влияния на состав белковой кормовой добавки. Содержание сырого протеина варьировало в интервале от 51,9 до 53,9 %. Наибольшей продуктивностью по биомассе характеризовался отъемно-доливной режим при скорости протока 0,22 ч<sup>-1</sup>.

На основании полученных данных были разработаны принципиальные технологические схемы переработки зерна пшеницы с использованием протеолитических ферментных препаратов в функциональные пробиотические продукты или ингредиенты, содержащие бифидо- или лактобактерии, и в БКД путем биоконверсии побочного продукта переработки зерна пшеницы – пентозановой фракции, дрожжами (рис. 10 – 11).

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 16-19-10469) в части исследований с бифидо- и лактобактериями и финансовой поддержке Министерства образования и науки РФ (уникальный идентификатор проекта RFMEFI62614X0003; соглашение о предоставлении субсидии № 14.626.21.0003 от 17.11.2014) в части исследований с БКД.

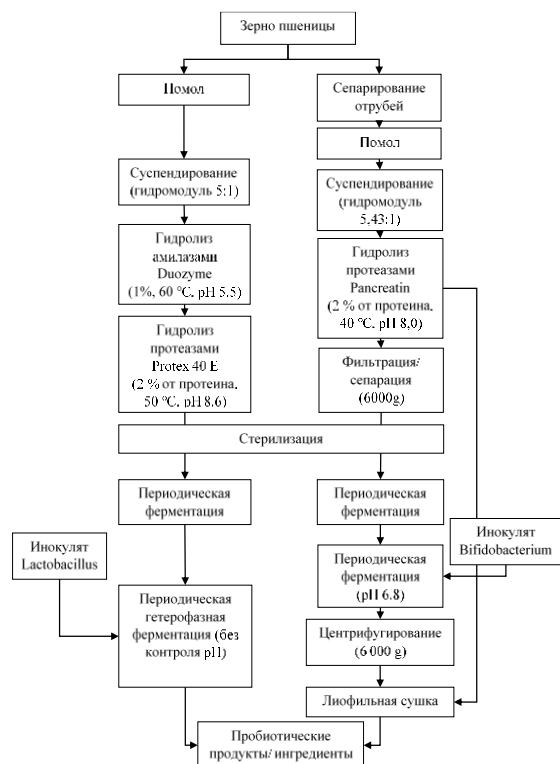


Рис. 10. Технологическая схема переработки зерна пшеницы в пробиотические продукты/ингредиенты

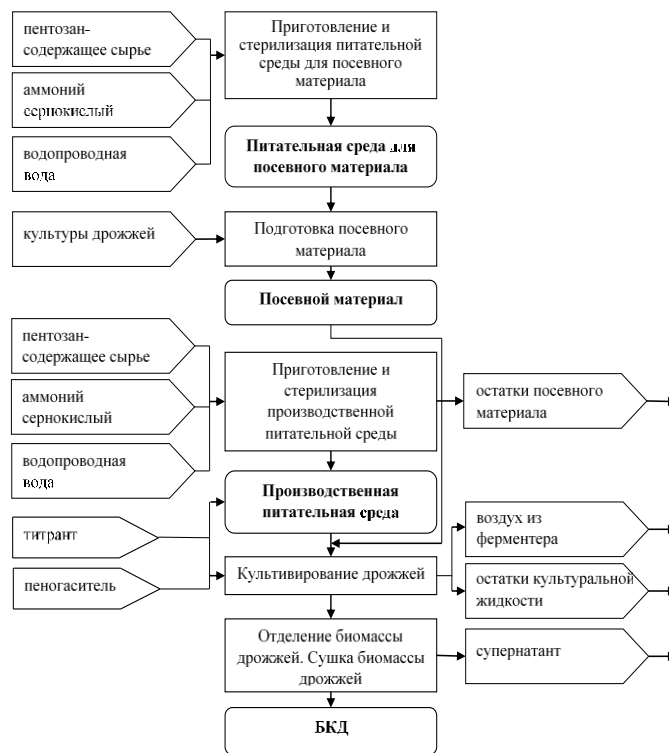


Рис. 11. Технологическая схема получения белковой кормовой добавки путем биоконверсии пентозановой фракции дрожжами

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

1. Показано, что при обработке протеолитическими ферментными препаратами зерновое сырье может быть использовано в качестве единственного источника питательных веществ для глубинного культивирования лактобактерий, а также в качестве основного источника азота для бифидобактерий.

2. Определены оптимальные условия обработки муки пшеницы по гидромодулю и дозировке протеаз для достижения максимальной численности лактобактерий (гидромодуль 5; концентрация ФП Protex 40E 2% от белка в сырье). Ферментация полученных в оптимальных условиях гидролизатов типовыми штаммами основных видов лактобактерий, относимых к пробиотикам, позволяет получить биосуспензию с не менее 8,0 log (КОЕ/мл).

3. Определены оптимальные условия обработки муки пшеницы для достижения максимальной численности бифидобактерий (гидромодуль 5,43; концентрация панкреатина 2 % от протеина в сырье; pH 8,0; температура 40°C). Ферментация полученных в оптимальных условиях гидролизатов типовыми штаммами основных видов бифидобактерий, относимых к пробиотическим, позволяет получить биосуспензию с не менее 7,1 log (КОЕ/мл).

4. С применением в качестве тестового штамма *B. adolescentis* ATCC 15703 установлено, что при использовании гидролизата пшеничной муки в качестве криопротектора выживаемость бифидобактерий после лиофильного высушивания составила 90 %, а скорость гибели в ходе длительного хранения 0,13 log КОЕ/мес., что сопоставимо с результатами, полученными при применении в качестве криопротектора обезжиренного молока.

5. Получены лабораторные образцы пробиотического зернового напитка, содержащего не менее  $10^8$  КОЕ/мл лактобактерий, и пробиотического ингредиента – лиофильно высушенной биомассы бифидобактерий, содержащей не менее  $10^{10}$  КОЕ/г.

6. Разработана технология получения БКД с содержанием не менее 54 % сырого протеина путем биоконверсии питательной среды на основе пентозановой фракции, обработанной амилазами, с добавлением 2 г/л сернокислого аммония смешанной культурой дрожжей *S. utilis* и *L. scottii* при периодическом или отъемно-доливном режиме культивирования.

7. Оценка технико-экономических показателей предлагаемых технологий при мощностях производства:

– по пробиотическому напитку 600 тонн/год показала, что себестоимость продукта составляет 127,3 тыс. руб./т.

– по пробиотическому ингредиенту 8,5 тонн/год показала, что себестоимость продукта составляет 9 262 тыс. руб./т.

– по перерабатываемому сырью – пентозановой фракции 20 000 тонн/год показала, что себестоимость БКД составляет 12,5 тыс.руб./т.

## СПСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

*Публикации в изданиях, рецензируемых ВАК РФ:*

1. **Хромова Н.Ю.**, Кареткин Б. А., Шакир И. В., Панфилов В. И. Предварительная ферментативная обработка протеина зерна для культивирования лакто- и бифидобактерий // Булгеровские сообщения. 2016. Т.48. №10. С. 71 – 76.

2. **Khromova N. Yu.**, Panfilov V.I., Baurin D.V., Gordienko M.G., Guseva T.V. Enzymatic pretreatment of cereal raw materials for lactobacillus fermentation and lactic acid production // 16th International Multidisciplinary Scientific GeoConference SGEM 2016, June 28 - July 6. 2016. Book 6. Vol. 1. P. 539-546.

3. Karetkin B.A., Panfilov V.I., **Khromova N. Yu.**, Shakir I. V., Yanenko A.S. Characterization and bioconversion of pentosan containing by-products of wheat processing // 16th International Multidisciplinary Scientific GeoConference SGEM 2016, June 28 - July 6. 2016. Book 6. Vol. 1. P. 463-470.

4. Karetkin B. A., Panfilov V. I., Panfilova E. V., **Khromova N. Yu.**, Shakir I. V. Heterogeneous submerged fermentation of probiotic in media based on wheat meal and by-products of wheat starch production // 17th International Multidisciplinary Scientific GeoConference SGEM 2017, 29 June - 5 July. 2017. Vol. 17. Issue 61. P. 711-718.

5. Karetkin B. A., Panfilov V. I., **Khromova N. Yu.**, Baurin D. V., Shakir I. V. New integrated technology of probiotics production using cereal hydrolysates // 18th International Multidisciplinary Scientific GeoConference SGEM 2018, Albena, Bulgaria. 2018. Vol. 18. P. 393-400.

*Публикации в других изданиях:*

6. **Хромова Н. Ю.**, Кареткин Б. А., Шакир И. В., Панфилов В. И. Изучение кинетики ферментативной обработки крахмалосодержащего зернового сырья для ферментации пробиотических микроорганизмов // Химическая промышленность сегодня. 2017. №7. С. 47 – 51.

7. Karetkin B. A., Panfilov V. I., **Khromova N. Yu.**, Baurin D. V., Shakir I. V. Optimization of wheat flour enzymatic hydrolysis for *Lactobacillus rhamnosus* submerged fermentation // 17th International Multidisciplinary Scientific GeoConference SGEM 2017, Vienna GREEN Conference Proceedings, 27 - 29 November. 2017. Vol. 17. Issue 63. P. 303-308.

8. **Хромова Н. Ю.**, Кареткин Б. А., Грошева В. Д., Шакир И. В., Панфилов В. И. Использование гидролизатов муки зерновых и зернобобовых культур для культивирования лактобактерий // Материалы VIII Московского Международного Конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития» 17-20 марта 2015 г. ЗАО «Экспо-биохим-технологии», РХТУ им. Д.И. Менделеева. Москва. 2015. С. 302 – 303.
9. **Хромова Н. Ю.**, Кареткин Б. А., Грошева В. Д., Шакир И. В., Панфилов В. И. Исследование влияния степени полимеризации С – субстрата на активность роста и метаболизм молочнокислых бактерий // Успехи в химии и химической технологии. 2015. Т.29. №8. С. 111 – 113.
10. Панфилова Е. В., **Хромова Н. Ю.**, Кареткин Б. А., Шакир И. В., Яненко А. С., Панфилов В. И. Исследование состава побочного продукта переработки зерна пшеницы и его предварительной обработки для последующей биоконверсии // Материалы XV международной конференции молодых ученых «Пищевые технологии и биотехнологии» г. Казань, 13-14 апреля 2016 г. Казань. 2016. С. 214 – 216.
11. **Хромова Н. Ю.**, Кузьмин И. М., Кареткин Б. А., Шакир И. В., Панфилов В. И. Предварительная ферментативная обработка протеина зернового сырья для культивирования лактобактерий // Материалы VI международной научно-практической конференции «Современные достижения биотехнологии. Новаии пищевой и перерабатывающей промышленности» г. Ставрополь, 23-25 июня 2016 г. Ставрополь. 2016. С. 292 – 294.
12. **Хромова Н. Ю.**, Кузьмин И. М., Кареткин Б. А., Шакир И. В., Панфилов В. И. Предварительная ферментативная обработка протеина различных типов пшеничной муки для культивирования лактобактерий // «Актуальные проблемы естественных и математических наук в России и за рубежом». Сборник научных трудов по итогам международной научно-практической конференции г. Новосибирск, 11 февраля 2017 г. 2017. №4. С. 26 – 30.
13. Панфилов В. И., Шакир И. В., Кареткин Б. А., **Хромова Н. Ю.**, Панфилова Е. В. Новаионные технологии пробиотических пищевых ингредиентов и кормовых продуктов на основе возобновляемого растительного сырья // Актуальная биотехнология. 2017. Т. 21. № 2. С. 200 – 200.
14. **Хромова Н. Ю.**, Кареткин Б. А., Шакир И. В., Панфилов В. И. Разработка основ технологии получения пробиотических функциональных продуктов и ингредиентов на основе зерновых гидролизатов // Тезисы докладов XI Конкурса проектов молодых ученых в рамках выставки «Химия-2017». 2017. С. 70 – 71.
15. **Хромова Н. Ю.**, Сальникова А. Г., Кареткин Б. А., Гордиенко М. Г., Шакир И. В., Панфилов В. И. Разработка технологии получения пробиотических функциональных продуктов и ингредиентов на основе зерновых гидролизатов // Материалы международного форума "Биотехнология: состояние и перспективы развития» 23-25 мая 2018 г. ООО «РЭД ГРУПП». Москва, 2018. С. 666–667.
16. Сальникова А. Г., **Хромова Н. Ю.**, Кареткин Б. А., Гордиенко М. Г., Шакир И. В., Панфилов В. И. Исследование ростовых и криопротекторных свойств гидролизата пшеничной муки при ферментации и лиофильном высушивании бифидобактерий // Успехи в химии и химической технологии. 2018. Т. 32. № 12 (208). С. 30-32.

*Авторские свидетельства или патенты:*

17. Способ получения питательных сред для культивирования бифидо- и лактобактерий // Заявка на патент России № 2018143793. 2018. / **Хромова Н.Ю.**, Кареткин Б.А., Грошева В. Д., Хабибулина Н.В., Шакир И.В., Панфилов В. И.