

На правах рукописи



**ГРИГОРЯН Роза Эмировна**

**РАЗРАБОТКА БИОТЕХНОЛОГИИ КИСЛОМОЛОЧНОГО ПРОДУКТА С  
ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРОИНКАПСУЛИРОВАННЫХ КУЛЬТУР  
ПРОБИОТИКОВ**

4.3.3 Пищевые системы

4.3.5 Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата технических наук

Ставрополь – 2026

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Северо-Кавказский федеральный университет»

### Научные

#### руководители:

**Лодыгин Алексей Дмитриевич**

доктор технических наук, доцент, заведующий кафедрой прикладной биотехнологии ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет»

**Алиева Людмила Руслановна**

доктор технических наук, доцент, профессор кафедры прикладной биотехнологии ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет»

### Официальные

#### оппоненты:

**Китаевская Светлана Владимировна**

доктор технических наук, доцент, и.о. заведующего кафедрой пищевой биотехнологии ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет»

**Рожкова Ирина Владимировна**

кандидат технических наук, заместитель заведующего лабораторией прикладной микробиологии и геномики микроорганизмов ФГАНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности»

### Ведущая

#### организация:

ФГБОУ ВО «Российский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева»

Защита состоится «09» июня 2026 г. в 09:00 на заседании диссертационного совета 24.2.398.07 при ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет» по адресу: 355017, г. Ставрополь, ул. Пушкина, д. 1, корп. 20, ауд. 312.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке и на сайте ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет» по адресу: 355017, г. Ставрополь, ул. Пушкина, 1; <https://ncfu.ru/upload/medialibrary/ffd/jc12uwyvb96wj0njm7d6396hsx1wnyx0/Dissertatsiya-Grigoryan-R.E.-.pdf>.

С авторефератом можно ознакомиться на сайте СКФУ по адресу: <https://ncfu.ru/nauka/dissertatsionnye-sovety/obyavleniya-o-zashchite-dissertatsiy/34914/>.

Автореферат разослан «\_\_» \_\_\_\_\_ 2026 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета 24.2.398.07,  
кандидат технических наук, доцент



Д.С. Мамай

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** В последние годы наблюдается устойчивый рост интереса к продуктам, предназначенным для целенаправленного улучшения здоровья человека, которые в научной литературе принято обозначать как функциональные продукты питания. К категории таких продуктов относятся пищевые системы, обогащенные пробиотиками. Согласно современному определению, пробиотики представляют собой «живые микроорганизмы, которые при введении в адекватных количествах оказывают благотворное влияние на здоровье организма-хозяина». Положительные свойства пробиотиков обусловлены их способностью влиять на различные функции макроорганизма. В частности, они участвуют в регуляции кишечного микробиоценоза, угнетая рост патогенов за счет конкурентного вытеснения и синтеза бактерицидных веществ. Кроме того, пробиотики участвуют в поддержании иммунного гомеостаза хозяина, подавляя регуляцию воспалительных цитокинов, вызывая стимуляцию иммунных реакций и регуляцию экспрессии генов, ассоциированных с кишечником. Профилактика ожирения и сопутствующих метаболических состояний также относится к числу важных функций пробиотиков, которая достигается благодаря модуляции процессов липидного, холестерина и углеводного обмена. Наконец, пробиотические микроорганизмы проявляют антиоксидантную активность, связывая активные формы кислорода (АФК), усиливают ферментативную и не ферментативную антиоксидантную активность и, таким образом, снижают перекисное окисление липидов.

В настоящее время одними из наиболее распространенных пробиотических продуктов на рынке являются ферментированные йогурты, сыры, мармелад и пищевые добавки.

Для сохранения функциональности пробиотических продуктов необходимо обеспечить не только достаточное содержание жизнеспособных пробиотических бактерий в продукте на момент употребления, но и их эффективную доставку в толстый кишечник. Исследования показывают, что минимальная концентрация жизнеспособных пробиотических клеток в продукте, необходимая для оказания

положительного физиологического эффекта, должна составлять не менее  $10^6$ – $10^7$  КОЕ/см<sup>3</sup>. Проблема сохранения жизнеспособности пробиотиков обусловлена их чувствительностью к технологическим параметрам производства (температура, кислород, низкая активность воды) и условиям среды желудочно-кишечного тракта (кислая реакция среды, протеолитические ферменты, желчные кислоты). Указанные факторы снижают стабильность пробиотических культур как на этапах обработки и хранения пищевых систем, так и при их доставке в дистальные отделы кишечника.

Использование систем микроинкапсулирования позволяет защитить пробиотики от воздействия неблагоприятных условий окружающей среды, обеспечивая тем самым их высокую выживаемость и способность к колонизации толстого кишечника. Инкапсуляция пробиотиков требует разработки сложной системы в зависимости от вида микроорганизмов и целевого назначения продукта. Системы инкапсуляции пищевых продуктов, обычно используемые для производства пробиотиков, включают в себя: эмульсии, множественные эмульсии, эмульсионные гели, гидрогели, порошкообразные гранулы, нановолокна с электроспрядением, капсулы с электрораспылением и нанопокртия. Важным аспектом при разработке этих систем является обеспечение жизнеспособности инкапсулированных пробиотиков.

Жизнеспособность пробиотиков также можно повысить, сочетая их с другими веществами, такими как пребиотики или нутрицевтики. Например, совместное введение пробиотиков с пребиотиками, такими как фруктоолигосахариды, галактоолигосахариды, инулин может значительно повысить их жизнеспособность в пищевых продуктах и желудочно-кишечном тракте. Эти синбиотики оказывают более мощное воздействие на здоровье, чем пробиотики или пребиотики, используемые отдельно, тем самым проявляя синергетический эффект.

Для повышения эффективности пробиотиков и нутрибиотиков при колонизации толстой кишки применяются различные системы их совместной инкапсуляции. Однако перечень успешных разработок в области

микроинкапсуляции пробиотиков все еще довольно ограничен. Описанные в научной литературе системы не в состоянии полностью сохранить жизнеспособность всех пробиотиков, и непригодны для коммерческого применения в массовом промышленном производстве пищевых продуктов.

**Степень разработанности темы исследования.** Теоретические и практические основы в области технологий функциональных пищевых ингредиентов и продуктов заложены в трудах отечественных и зарубежных ученых: Храмцова А.Г., Евдокимова И.А., Просекова А.Ю., Петрова А.Н., Галстян А.Г., Дунченко Н.И., Лодыгина А.Д., Рябцевой С.А., Хамагаевой И.С., Ганиной В.И., Гаврилова Г.Б., Тихомировой Н.А., Позняковского В.М., Курбановой М.Г., Гавриловой Н.Б. и др.

Значительный вклад в развитие методов микроинкапсулирования пищевых ингредиентов и пробиотиков внесли исследования Agudelo J., Champagne C.P., Desai K.G.H., Doherty S., Fang Z., Frakolaki G., Huq T., Mao L., McClements D.J., Poletto G., Rodrigues F.J., Vivek K., Wandrey C., Zuidam N.J. и др. Работы этих авторов охватывают широкий спектр вопросов, таких как выбор материалов-носителей, оптимизацию методов инкапсуляции, исследование стабильности инкапсулированных форм в различных условиях.

Однако данных о промышленном использовании микроинкапсулированных пробиотических микроорганизмов в процессе производства кисломолочных продуктов функционального назначения недостаточно.

**Цель и задачи исследований.** Целью диссертационной работы является разработка научно обоснованной биотехнологии кисломолочного продукта с использованием микроинкапсулированных пробиотических культур микроорганизмов.

Для достижения поставленной цели исследований были сформулированы следующие основные научные задачи:

- провести анализ современных способов микроинкапсулирования и обосновать выбор культур пробиотических микроорганизмов и материалов-носителей для микроинкапсулирования;

- установить оптимальные технологические параметры получения микрокапсул с *Lactiplantibacillus plantarum* методом экструзии;
- исследовать влияние размера микрокапсул в гидратированной и сублимированной формах на их физико-химические свойства (состав оболочки, внутренний объем, термостабильность);
- изучить влияние процесса микроинкапсулирования на жизнеспособность пробиотической культуры, метаболический профиль и синтез биологически активных веществ;
- исследовать закономерности совместного культивирования *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* и *Lactiplantibacillus plantarum* в свободной и капсулированной формах в молоке, определить оптимальное для продукта соотношение культур;
- провести сравнительную оценку влияния свободной и капсулированной форм *Lpb. plantarum* на качественные характеристики, сроки хранения и выживаемость пробиотика в кисломолочном продукте;
- разработать биотехнологию и рецептуру кисломолочного продукта с микроинкапсулированной культурой пробиотика, провести ее апробацию в промышленных условиях;
- оценить показатели качества и безопасности готового продукта, провести анализ рисков по системе ХАССП и рассчитать экономическую эффективность предложенной технологии.

**Научная новизна.** Экспериментально обоснованы технологические режимы экструзионного получения микрокапсул различного размера с *Lactiplantibacillus plantarum* в оболочке из альгината кальция. Установлено, что уменьшение размера капсул сопровождается увеличением содержания кальция в оболочке, снижением доли альгината и, как следствие, повышением термостабильности, подтвержденным ростом энергии активации термодеструкции. Выявлены закономерности влияния размера микрокапсул на жизнеспособность *Lpb. plantarum*. Доказано, что процесс микроинкапсулирования вызывает адаптивные метаболические реакции у *Lpb. plantarum*, влияющие на

синтез биологически активных веществ. Установлены закономерности совместной ферментации молока заквасочными культурами *Str. thermophilus* и *Lpb. plantarum* в микроинкапсулированной форме. Доказано, что использование капсулированной формы *Lpb. plantarum* позволяет увеличить срок годности кисломолочного продукта за счет замедления процессов постокисления, при сохранении высокой концентрации жизнеспособных клеток пробиотической культуры.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Теоретическую значимость представляют полученные сведения о свойствах и закономерностях развития пробиотика *Lpb. plantarum* в капсулированной форме, в т.ч. при совместной ферментации с заквасочными культурами молочнокислых микроорганизмов.

Разработан способ микроинкапсулирования пробиотических микроорганизмов, поданы 2 заявки на изобретение. Результаты диссертационной работы используются в учебном процессе студентов по направлениям подготовки 19.03.01, 19.03.03, 19.04.01 факультета пищевой инженерии и биотехнологий имени академика А.Г. Храмцова Северо-Кавказского федерального университета.

Практическая значимость работы обусловлена выработкой экспериментальных партий микрокапсул различного размера из альгината натрия с *Lpb. plantarum*. Разработана техническая документация на закваски в микроинкапсулированной форме.

Разработаны рецептура и технология, утверждена техническая документация на производство кисломолочного продукта функционального назначения (ТУ 10.51.56.444-002-21986117-2025). Проведена опытно-промышленная апробация разработанной технологии в производственных условиях АО «Молочный комбинат «Ставропольский».

**Методология и методы исследований.** Диссертационные исследования базируются на основных принципах методологии научно-технической деятельности, в своей основе опираются на результаты известных разработок

зарубежных и отечественных ученых в областях, связанных с тематикой выполненной работы.

При проведении исследований использовали общепринятые, стандартные и оригинальные методы исследований: физико-химические (газовая хроматография с масс-спектрометрией, термогравиметрический анализ, вискозиметрия, определение антиоксидантной активности), микробиологические, органолептические.

Для обработки экспериментальных данных применяли стандартные статистические методы: обработка данных с применением однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA), t-критерия Стьюдента ( $P \leq 0,05$ ), корреляционного анализа Пирсона с использованием пакета Microsoft Office Excel 2016.

#### **Основные положения, выносимые на защиту:**

- научно обоснованные технологические параметры экструзионного микроинкапсулирования *Lactiplantibacillus plantarum*, обеспечивающие формирование защитной матрицы с регулируемым гранулометрическим составом, при котором достигается максимальная жизнеспособность пробиотических клеток в процессе хранения;

- закономерности совместного культивирования заквасочной культуры *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* с микроинкапсулированной формой *Lactiplantibacillus plantarum*, заключающиеся в пролонгированном воздействии мигрирующих через капсульную оболочку метаболитов иммобилизованных клеток пробиотика на кинетику кислотообразования и реологические характеристики формируемого кисломолочного сгустка;

- биотехнология кисломолочного продукта функционального назначения, основанная на внесении микроинкапсулированной формы *Lpb. plantarum* на стадии сквашивания молока, что обеспечивает гарантированную жизнеспособность пробиотической культуры на протяжении всего срока хранения и ее целенаправленную доставку в кишечник человека.

**Степень достоверности результатов** подтверждается трехкратной повторностью экспериментов с применением стандартных и общепринятых методов исследований и статистической обработки полученных данных; использованием современных поверенных приборов и оборудования, имеющих установленный предел отклонений, проведением опытно-промышленных испытаний.

**Апробация результатов.** Основные положения работы обсуждены на научно-практических конференциях российского и международного уровня: Международной научно-практической конференции «Биотехнология: научные исследования и связь с производством» (г. Щелково, 2024 г.), VII Международной научно-технической конференции «Повышение качества жизни и обеспечение конкурентоспособности экономики на основе инновационных и научно-технических разработок» (г. Минск, 2024 г.), IX международной научно-практической конференции «Современные достижения биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты» и конференции «Инновационные биотехнологии природных и синтетических биологически активных веществ. Нарочанские чтения-16» (г. Ставрополь, 2024 г.), III Международной научно-практической конференции «Современные аспекты производства и переработки сельскохозяйственной продукции» (г. Барнаул, 2024 г.), Международной научно-практической конференции «Научно-практическое развитие АПК и производства продуктов здорового питания» (г. Омск, 2025 г.), XIV Международной научной конференции «Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты» (г. Минск, 2025 г.), X Международной научно-практической конференции «Современные достижения биотехнологии: вектор на технологическое лидерство» (г. Ставрополь, 2025 г.). По материалам диссертационной работы опубликовано 14 печатных работ, в том числе 3 в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных ВАК РФ. Работа выполнялась в соответствии с планом работ научного исследования в рамках реализации Мегагранта по Постановлению Правительства Российской Федерации № 220 «Изучение механизмов взаимодействия молочнокислых микроорганизмов,

лактозосбраживающих дрожжей и биологически активных веществ при микроинкапсулировании различных фракций микробиоты», Соглашение № 075-15-2022-1129 от 01.07.2022 г. и стипендии Президента Российской Федерации для обучающихся за рубежом (Белорусский государственный университет, 2024 г.).

**Структура и объем диссертации.** Текст диссертации состоит из введения, 5 глав, заключения, списка литературы из 210 источников и 10 приложений. Работа изложена на 159 страницах основного текста, включает 34 рисунка и 26 таблиц.

### **СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ**

**Во введении** обоснована актуальность темы, сформулированы цель и задачи исследований, показаны научная новизна, теоретическая и практическая значимость работы, представлены методология и основные положения, выносимые на защиту.

**В первой главе** проведен анализ состояния вопроса. Рассмотрены современные представления о функциональных продуктах питания и роли пробиотических микроорганизмов, в частности *Lpb. plantarum*. Проанализированы данные о применении лактобактерий в производстве кисломолочных продуктов. Проведен обзор материалов (альгинат натрия, пребиотики) и методов инкапсуляции (экструзия, распылительная сушка и др.) для защиты пробиотиков. Обобщены сведения о применении инкапсулированных форм в пищевой промышленности. На основе анализа обоснован выбор объектов и методов исследования.

**Во второй главе** представлена схема проведения исследований (рисунок 1), дана характеристика объектов и сырья, подробно описаны стандартные и оригинальные методы анализа. Объектами исследований являлись: штамм *Lactiplantibacillus plantarum* БИМ-В 492 из Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов; микрокапсулы с *Lpb. plantarum*; закваска *Streptococcus salivarius* *subsp. thermophilus* (БК-Углич-ТВ); образцы молока, ферментированные культурами *Str. thermophilus* и *Lpb. plantarum* (в свободной и капсулированной формах).

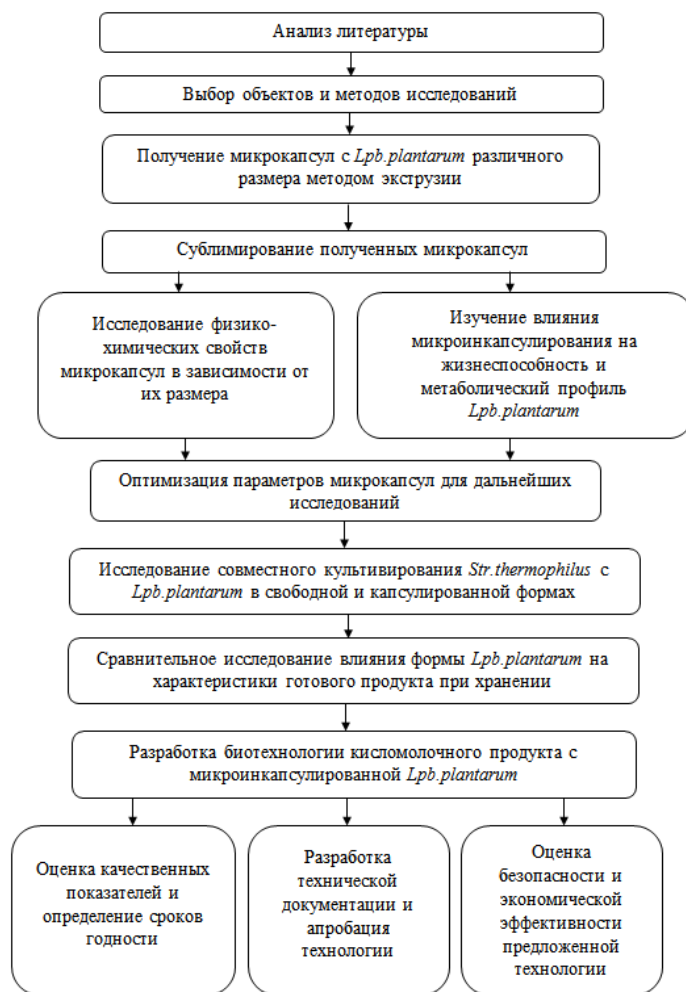


Рисунок 1 – Схема проведения исследований

Исследования проводились в лабораториях Северо-Кавказского федерального университета, Белорусского государственного университета и Института микробиологии НАН Беларуси с использованием современного оборудования, перечень которого приведен в диссертации. Автор выражает благодарность заведующему НИЛ прикладных проблем биологии Белорусского государственного университета Курченко Владимиру Петровичу за помощь в организации и проведении диссертационного исследования.

**В третьей главе** представлены результаты исследования влияния размера микрокапсул на их функциональные характеристики. Микроинапсулирование *Lpb. plantarum* проводили на капсуляторе ИИ 0,35-1.5 (ООО «МЗТА», г. Муром) методом экструзии. Для получения микрокапсул готовили дисперсную систему, состоящую из дисперсной фазы – активированных в пермеате *Lpb. plantarum* БИМ-В 492, и дисперсионной среды – 2 % раствора альгината натрия в соотношении 1:9. Формирование оболочки осуществляли 4 % раствором хлорида кальция.

Изменение скорости вращения диспергатора от 900 до 2000 об/мин при постоянной частоте насоса подачи смеси 24,5 Гц позволило получать капсулы различного размера (таблица 1).

Таблица 1 – Параметры микрокапсул с *Lpb. plantarum*

Параметры капсул	Скорость вращения привода диспергатора, об/мин.			
	900,0	1200,0	1600,0	2000,0
Время получения микрокапсул, мин.	100	125	130	180
Вес полученных гидратированных микрокапсул, г	553,6±28	573,8±29	455,9±23	423,0±21
Потери дисперсной системы, мл	280±14	350±18	475±24	550±28
Производительность капсулирования, г/мин.	5,53	4,59	3,5	2,35
Средний размер гидратированных микрокапсул, мкм	805±41	725±36	547±27	304±15
Вес сублимированных микрокапсул, г	31,0±0,5	33,7±0,7	27,6±0,4	28,0±0,7
Средний размер сублимированных микрокапсул, мкм	400±20	375±18	250±12	200±10
Насыпная плотность сублимированных микрокапсул, кг/м <sup>3</sup>	270,0±15	370,0±18	440,0±22	480,0±24

Установлено, что увеличение скорости вращения диспергатора приводит к увеличению продолжительности процесса в 1,8 раза, снижению производительности в 2,35 раза и уменьшению среднего размера гидратированных капсул на 37,8%. При сублимационной сушке происходит уменьшение размера капсул более чем в два раза. Насыпная плотность сублимированных капсул возрастает с 270 до 480 кг/м<sup>3</sup> при уменьшении их размера.

Микроскопические исследования показали, что гидратированные микрокапсулы имеют преимущественно округлую или овальную форму с неровностями на поверхности (рисунок 2).



Рисунок 2 – Фотографии гидратированных микрокапсул средних размеров (x50): 805±41 мкм (1), 725±36 мкм (2), 547±27 мкм (3), 304±15 мкм (4)

Сублимированные капсулы характеризуются наличием ребристо-сетчатой структуры, степень выраженности которой возрастает с уменьшением размера (рисунок 3).

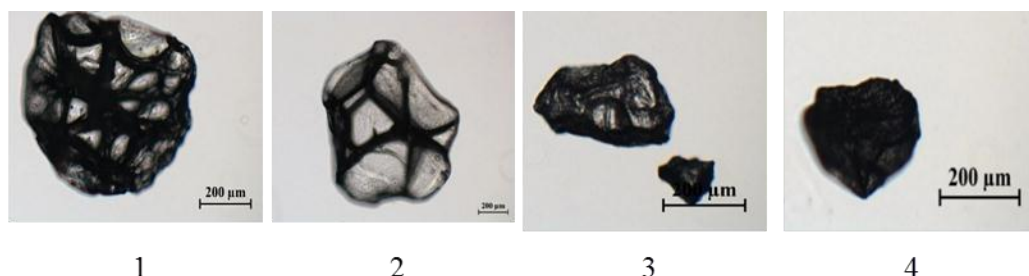


Рисунок 3 – Фотографии сублимированных микрокапсул средних размеров (x50): 400±20 мкм (1), 375±18 мкм (2), 250±12 мкм (3), 200±10 мкм (4)

Исследование жизнеспособности инкапсулированной культуры показало прямую корреляцию между размером капсул и содержанием жизнеспособных клеток (таблица 2). Снижение жизнеспособности в 30 раз при уменьшении размера микрокапсул обусловлено уменьшением объема внутренней фазы в 21 раз и воздействием стрессовых факторов технологического процесса.

Таблица 2 – Влияние размера микрокапсул с *Lpb. plantarum* на жизнеспособность лактобактерий ( $p \leq 0,05$ )

Параметры капсул	Средний размер сублимированных микрокапсул с <i>Lpb. plantarum</i> , мкм (световая микроскопия)			
	400±20	375±18	250±12	200±10
Количество сублимированных микрокапсул, шт/г	18 000	488 000	922 000	1 356 000
Количество жизнеспособных клеток, КОЕ/г	$2,4 \times 10^8$	$4,0 \times 10^7$	$2,0 \times 10^7$	$0,8 \times 10^7$
Количество жизнеспособных клеток, КОЕ/1 капсула	$1,3 \times 10^4$	$8,2 \times 10^2$	$2,2 \times 10^2$	5,9
Жизнеспособность капсулированных лактобактерий после 300 суток хранения при 5 °С				
Количество жизнеспособных клеток, КОЕ/г	$1,95 \times 10^8$	$2,35 \times 10^7$	$1,85 \times 10^7$	$0,65 \times 10^7$
Количество жизнеспособных клеток, КОЕ/1 капсула	$1,08 \times 10^4$	$0,48 \times 10^2$	$0,2 \times 10^2$	4,79

Исследование состава оболочек микрокапсул с использованием ЭДТА-метода и рентгенофлуоресцентного анализа выявило существенные различия в зависимости от размера капсул (таблица 3). С уменьшением размера капсул содержание кальция возрастает с 0,39 до 0,58 г/г, а содержание альгината снижается с 0,57 до 0,38 г/г. Это обусловлено более длительным контактом капель

геля с раствором  $\text{CaCl}_2$  при производстве мелких капсул и приводит к формированию более жесткой сшитой структуры.

Таблица 3 – Состав оболочек микрокапсул в зависимости от их размера

Показатель	Средний размер сублимированных микрокапсул с <i>Lpb. plantarum</i> , мкм			
	400±140	375±131	250±88	200±70
Количество кальция, необходимое для сохранения капсулированной формы (моль/г капсул)	$1,09 \times 10^{-2}$	$1,28 \times 10^{-2}$	$1,36 \times 10^{-2}$	$1,55 \times 10^{-2}$
Количество карбоксильных групп альгината кальция, необходимые для сохранения капсулированной формы (моль/г капсул)	0,043	0,051	0,055	0,062
Количество кальция, г/г капсул	0,39±0,02	0,49±0,03	0,52±0,01	0,58±0,02
Количество альгината, г/г капсул	0,57±0,02	0,49±0,01	0,46±0,02	0,38±0,02

Термогравиметрический анализ показал, что с уменьшением размера капсул энергия активации термоокислительной деструкции ( $E_a$ ) возрастает с 48 до 113 кДж/моль, что свидетельствует о повышении их термостабильности (рисунок 4).

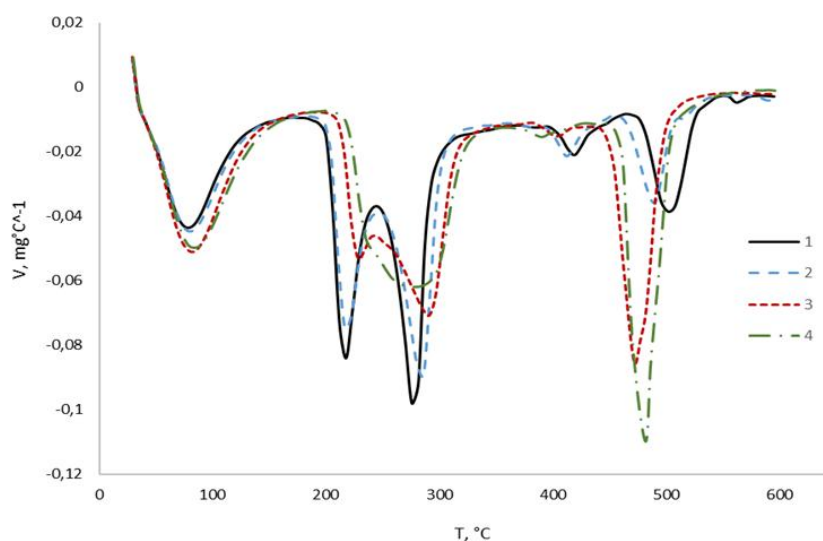


Рисунок 4 – Кривые дифференциальной термогравиметрии (ДТГ) сублимированных микрокапсул размером 400±20 мкм (1), 375±18 мкм (2), 250±12 мкм (3), 200±10 мкм (4)

Анализ биологически активных веществ методом ГХ-МС (рисунок 5) выявил существенные различия в метаболическом профиле свободной и инкапсулированной культуры. В микрокапсулах синтезируются ненасыщенные жирные кислоты (октадекановая, гексадекановая), отсутствующие в свободной культуре, что является адаптивной реакцией на стресс.

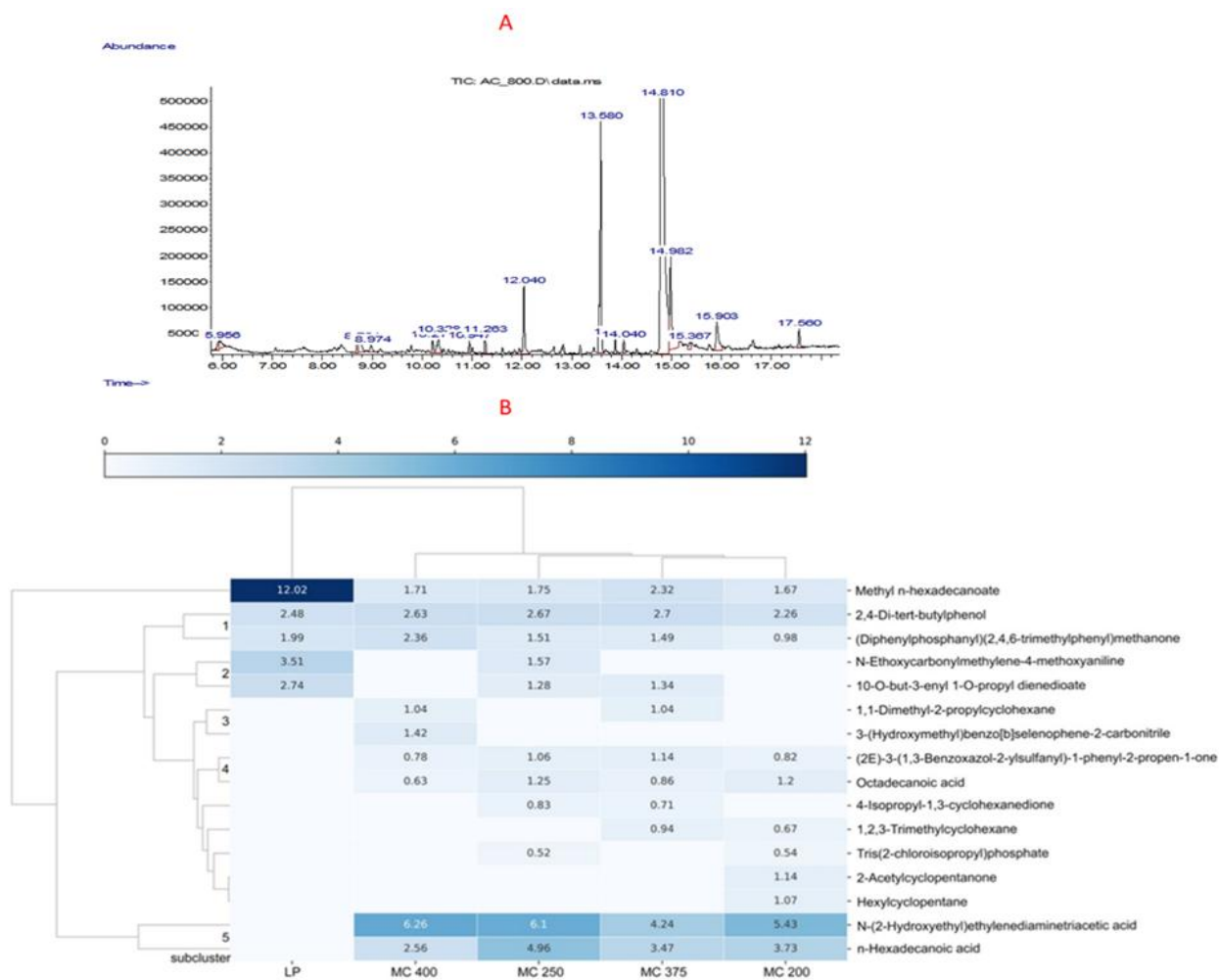


Рисунок 5 – Анализ содержания биологически активных веществ в сублимированных микрокапсулах: А – хроматографический профиль экстракта микрокапсул со средним размером  $400 \pm 20$  мкм, В – тепловая карта состава и содержания вторичных метаболитов (мкг/мл) в экстрактах из микрокапсул со средним размером  $400 \pm 20$  мкм,  $375 \pm 18$  мкм,  $250 \pm 12$  мкм и  $200 \pm 10$  мкм.

Исследования устойчивости в условиях *in vitro*, имитирующих ЖКТ, показали высокую эффективность микроинкапсулирования: гибель клеток в микрокапсулах среднего размера  $250 \pm 12$  мкм составила 10 % в отличие от 54 % у свободной культуры (рисунок б).

**В четвертой главе** представлены результаты исследования закономерностей совместного культивирования заквасочной культуры *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus* и пробиотической культуры *Lactiplantibacillus plantarum* БИМ-В 492 в свободной и микроинкапсулированной формах (размер микрокапсул  $250 \pm 12$  мкм).

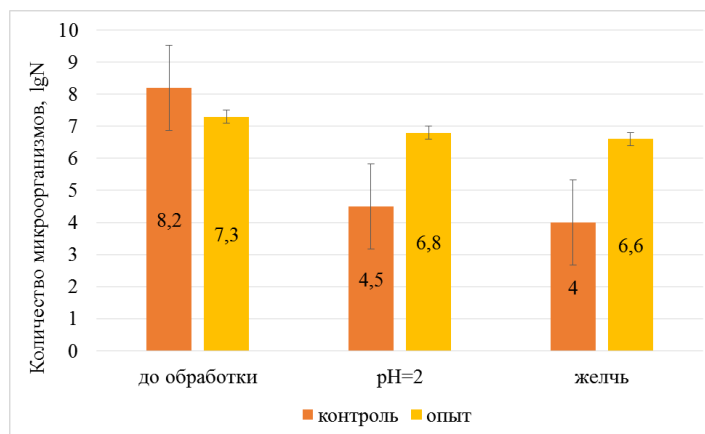


Рисунок 6 – Устойчивость лактобактерий к среде ЖКТ: контроль – *Lpb. plantarum* в свободной форме, опыт – сублимированные микрокапсулы *Lpb. plantarum* среднего размера  $250 \pm 12$  мкм

На первом этапе были установлены оптимальные условия активации и роста *Str. thermophilus* для дальнейшего совместного культивирования с *Lpb. plantarum*. Показано, что использование  $5,0 \pm 0,25$  % материнской закваски и температуры ферментации  $38 \pm 2$  °C обеспечивает формирование плотного, стабильного сгустка с титруемой кислотностью 90 °T за 3,2 часа.

Исследование проводили при трёх различных соотношениях культур *Lpb. plantarum/Str. thermophilus*: 3,5%/1,5%; 2,5%/2,5%; 1,5%/3,5% от общего объема закваски (5%). В образцах со свободной формой *Lpb. plantarum* наблюдалась прямая зависимость скорости нарастания титруемой кислотности от дозы внесения пробиотика (рисунок 7 А). Максимальная кислотность (100 °T) к 4-му часу ферментации зафиксирована при соотношении 3,5%/1,5%, что свидетельствует о высокой метаболической активности свободных клеток пробиотика. В образцах с микроинкапсулированной формой *Lpb. plantarum/A2* кинетика кислотообразования выглядела иначе: значения титруемой кислотности были на 12–19 °T ниже по сравнению со свободной формой, а темпы нарастания – существенно снижены, особенно в первые часы ферментации (рисунок 7 Б). Это подтверждает барьерную функцию альгинатной оболочки, обеспечивающую пролонгированное высвобождение клеток пробиотика в молочную среду. Выявлена зависимость между количественным содержанием пробиотической культуры и реологическими характеристиками ферментированных систем.

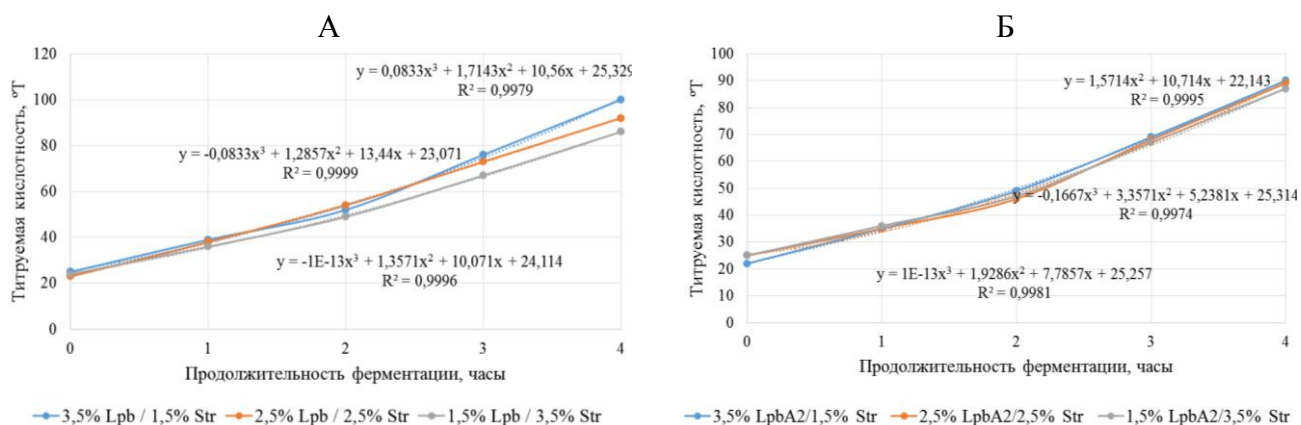


Рисунок 7 – Зависимость титруемой кислотности от времени культивирования в образцах с *Lpb. plantarum* (А, Б – свободная и капсулированная формы, соответственно) и *Str. thermophilus* при различных соотношениях культур

Использование микрокапсулированной формы *Lpb. plantarum* во всех исследуемых соотношениях обеспечило формирование более высоких значений вязкости по сравнению с образцами, содержащими свободные клетки пробиотика. Максимальные показатели зафиксированы при доминировании иммобилизованной культуры. Полученные результаты свидетельствуют о том, что пролонгированное высвобождение метаболитов из альгинатной матрицы интенсифицирует процессы структурообразования, способствуя формированию более плотной и устойчивой белковой сетки кисломолочного сгустка.

Количественный учет микроорганизмов после 4 часов ферментации показал, что максимальная выживаемость *Lpb. plantarum* достигается при соотношении 3,5%/1,5% для свободной и капсулированной формами *Lpb. plantarum/A2* (рисунок 8 А, Б). При этом в капсулированных образцах отмечена более высокая и равномерная плотность колоний, что указывает на защиту клеток от стрессового воздействия кислой среды на начальных этапах ферментации.

Ключевое преимущество микроинкапсулирования выявлено при исследовании процесса постокисления в течение 18 суток хранения при 4 °С (таблица 4). Продукты, ферментированные с использованием свободной культуры *Lpb. plantarum*, достигали предельной титруемой кислотности (120 °Т), установленной ГОСТ 32923-2014, уже на 3–6 сутки хранения.

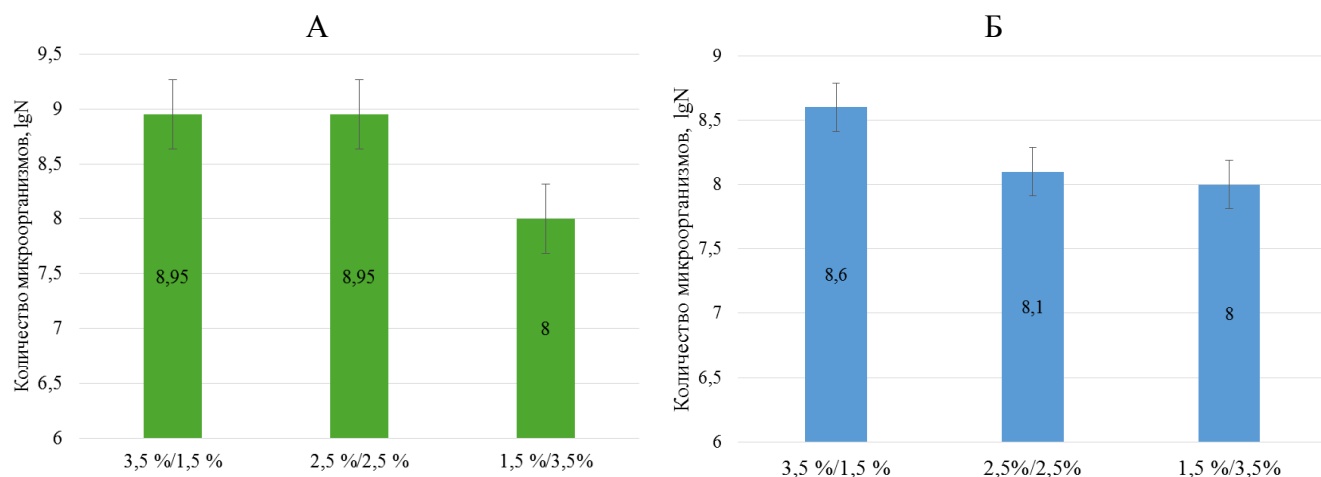


Рисунок 8 – Количественный учет микроорганизмов в образцах с *Lpb. plantarum* (А, Б – свободная и капсулированная формы, соответственно) и *Str. thermophilus* при различных соотношениях культур

Таблица 4 – Зависимость титруемой кислотности от длительности хранения ( $p \leq 0,05$ )

Продолжительность хранения продукта, сутки	Титруемая кислотность, °Т					
	Соотношение культур ( <i>Lpb. plantarum</i> / <i>Str. thermophilus</i> )			Соотношение культур ( <i>Lpb. plantarum</i> /A2/ <i>Str. thermophilus</i> )		
	3,5%/1,5 %	2,5%/2,5 %	1,5%/3,5%	3,5%/1,5%	2,5%/2,5%	1,5%/3,5%
1	109	100	94	94	92	90
3	<b>117</b>	110	106	108	106	104
6	140	132	<b>118</b>	130	118	110
9	157	145	132	145	132	116
12	180	164	148	164	148	<b>122</b>
15	185	170	155	170	155	138
18	192	179	161	179	161	142

В продуктах с микрокапсулированным пробиотиком кислотность нарастала значительно медленнее: при оптимальном с технологической точки зрения соотношении 1,5%/3,5% нормативная кислотность не была превышена в течение 12 суток. Корреляция с активной кислотностью подтвердила замедление процессов постокисления: скорость снижения pH в капсулированных образцах была в 1,5–2 раза ниже, чем в контроле (таблица 5).

Количество жизнеспособных клеток *Lpb. plantarum* на 18-е сутки хранения во всех капсулированных образцах составляло не менее  $1 \times 10^7$  КОЕ/г (рисунок 9), что гарантированно превышает минимально рекомендуемый уровень для пробиотических продуктов ( $10^6$  КОЕ/г).

Таблица 5 – Зависимость активной кислотности от длительности хранения ( $p \leq 0,05$ )

Продолжительность хранения продукта, сутки	рН, ед.					
	Соотношение культур ( <i>Lpb. plantarum</i> / <i>Str. thermophilus</i> )			Соотношение культур ( <i>Lpb. plantarum</i> /A2/ <i>Str. thermophilus</i> )		
	3,5 %/ 1,5 %	2,5 %/ 2,5 %	1,5 %/ 3,5 %	3,5 %/ 1,5 %	2,5 %/ 2,5 %	1,5 %/ 3,5 %
1	4,92	4,98	4,99	5,26	5,51	5,65
3	4,85	4,90	4,91	5,19	5,39	5,56
6	4,78	4,83	4,84	5,11	5,31	5,46
9	4,70	4,75	4,77	5,03	5,22	5,39
12	4,63	4,69	4,72	4,95	5,16	5,33
15	4,57	4,62	4,65	4,98	5,09	5,25
18	4,50	4,56	4,59	4,91	5,01	5,18

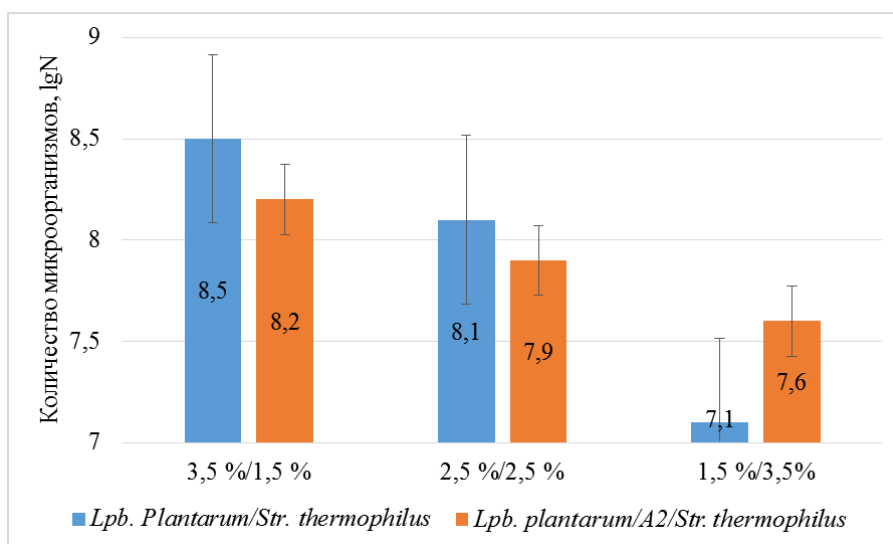


Рисунок 9 – Количественный учет микроорганизмов в образцах со свободной и капсулированной формами *Lpb. plantarum* на 18-е сутки хранения

**В пятой главе** представлена разработанная биотехнология кисломолочного продукта. Обоснованы параметры технологического процесса (рисунок 10), разработана рецептура (молоко нормализованное – 950 кг, закваска *Str. thermophilus* – 35 кг, закваска *Lpb. plantarum* капсулированная – 15 кг на 1 т продукта).

На основе анализа рисков по системе ХАССП идентифицированы 4 критические контрольные точки (ККТ): пастеризация, внесение культур, ферментация, фасовка. Для каждой ККТ установлены критические пределы и корректирующие действия. Проведена оценка экономической эффективности. Использование капсулированной формы позволяет сократить потери от

постоисления и, несмотря на более высокую стоимость ингредиента, обеспечить конкурентоспособную себестоимость и рентабельность производства 33,2%.



Рисунок 10 – Принципиальная схема производства кисломолочного продукта с использованием микроинкапсулированной культуры *Lpb. plantarum*

### Выводы

1. На основании анализа научно-технической литературы обоснован выбор объектов исследования: пробиотической культуры *Lactiplantibacillus plantarum* БИМ-В 492, обладающей высокой кислотоустойчивостью; альгината натрия, обеспечивающего формирование стабильных и биосовместимых оболочек; заквасочной культуры *Streptococcus salivarius subsp. thermophilus*, широко применяемой в молочной промышленности.

2. Экспериментально обоснованы технологические параметры получения микрокапсул с *Lpb. plantarum* методом экструзии на капсуляторе ИИ 0,35-1,5. Установлено, что изменение скорости вращения диспергатора от 900 до 2000 об/мин. при постоянной частоте подачи дисперсной системы (24,5 Гц) позволяет получать сублимированные микрокапсулы среднего размера от  $400 \pm 20$  до  $200 \pm 10$  мкм. Подтверждено, что уменьшение размера капсул сопровождается снижением производительности процесса (с 5,53 до 2,35 г/мин.) и увеличением потерь дисперсной системы (с 280 до 550 мл).

3. Выявлена корреляция между размером микрокапсул, их физико-химическими свойствами и жизнеспособностью инкапсулированной культуры. Доказано, что с уменьшением размера микрокапсул с 400 мкм до 200 мкм происходит снижение содержания жизнеспособных клеток *Lpb. plantarum* с  $2,4 \times 10^8$  до  $0,8 \times 10^7$  КОЕ/см<sup>3</sup>; увеличение содержания кальция в оболочке с 0,39 до 0,58 г/г капсул и снижение содержания альгината с 0,57 до 0,38 г/г, что приводит к формированию более жесткой сшитой структуры; повышение термостабильности, подтвержденное ростом энергии активации термодеструкции ( $E_a$ ) с 48 до 113 кДж/моль; увеличение насыпной плотности с 270 до 480 кг/м<sup>3</sup>, что улучшает технологические свойства порошкообразного продукта.

4. Экспериментально подтверждено, что процесс микрокапсулирования вызывает у *Lpb. plantarum* адаптивные метаболические реакции. В микрокапсулах, в отличие от свободной культуры, синтезируются ненасыщенные жирные кислоты (октадекановая, гексадекановая), концентрация которых возрастает с уменьшением размера капсул (до 4,93 мкг/мл в капсулах 200 мкм). Установлено, что состав вторичных метаболитов в капсулах формирует отдельный кластер, отличающийся от метаболического профиля свободной культуры.

5. Исследованы закономерности совместного культивирования *Str. thermophilus* и *Lpb. plantarum*. Определены оптимальные параметры ферментации для получения кисломолочного продукта: температура ( $39 \pm 1$ ) °С, суммарная доза внесения заквасок –  $5 \pm 0,25$  % от общего объема смеси в

соотношении 1,5 % *Lpb.plantarum/A2* и 3,5 % *Str.thermophilus*; продолжительность сквашивания 4 часа.

6. Проведено сравнительное исследование влияния формы пробиотика (свободная и капсулированная) на процесс ферментации и свойства готового продукта. Установлено, что использование капсулированной формы *Lpb.plantarum/A2* позволяет контролировать процесс кислотообразования; способствует формированию более плотного и стабильного сгустка; обеспечивает высокую выживаемость на протяжении всего срока хранения.

7. Установлено преимущество использования капсулированной формы *Lpb.plantarum/A2* для увеличения срока годности кисломолочного продукта. Показано, что продукты, ферментированные культурой в свободной форме, достигают предельной титруемой кислотности 120 °Т, установленной ГОСТ 32923-2014 на 3-6 сутки хранения, в то время как при использовании капсулированной формы кислотность нарастает в указанных в пределах до 12 суток, при содержании молочнокислых микроорганизмов  $1 \times 10^8$  КОЕ/г.

8. Разработана научно обоснованная технология производства кисломолочного продукта функционального назначения с использованием микроинкапсулированных пробиотических культур.

9. На основе анализа рисков по системе ХАССП идентифицированы 4 критические контрольные точки (ККТ) и установлены критические пределы контролируемых параметров, гарантирующие безопасность готовой продукции.

10. Анализ экономической эффективности разработанной биотехнологии позволил установить, что применение микроинкапсулированной формы *Lpb.plantarum/A2* увеличивает полную себестоимость продукта на 6,3%, что обусловлено стоимостью инновационного ингредиента. Вместе с тем, доказанные уникальные преимущества продукта и реализация стратегии премиального ценообразования позволяет нивелировать рост себестоимости и обеспечить прирост прибыли на 55 % относительно контроля.

## Список основных трудов, опубликованных по материалам диссертации

### Статьи в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией Министерства науки и высшего образования РФ:

1. Суюнчева, Б.О. Концентрат молочной сыворотки, обогащенный незаменимыми нутриентами / Б.О. Суюнчева, Е.С. Мизирева, **Р.Э. Григорян**, С.В. Лодыгина, А.Г. Храмцов // Молочная промышленность. – 2015. – № 2. – С. 46.
2. Евдокимов, И.А. Кисломолочный продукт, обогащенный хитозаном, с продленным сроком хранения / И.А. Евдокимов, В.П. Курченко, Л.Р. Алиева, А.Д. Лодыгин, **Р.Э. Григорян**, В.И. Шипулин // Молочная промышленность. - 2024. - № 4. – С. 22-25.
3. Григорян, Р.Э. Технология инкапсулирования *Lactiplantibacillus plantarum* в оболочку альгината кальция для получения микрокапсул различных размеров/ **Р.Э. Григорян**, В.П. Курченко, Н.А. Головнева, В.В. Денисенко и др. // Современная наука и инновации. – 2025. - № 1. – С.135-149.

### Статьи в журналах и сборниках материалов конференций:

4. **Григорян, Р.Э.** Инкапсуляция пробиотиков с целью улучшения их воздействия на здоровье человека (научная статья) // Биоразнообразие, биоресурсы, вопросы биотехнологии и здоровье населения Северо-Кавказского региона: сборник материалов X (67) ежегодной научно-практической конференции Северо-Кавказского федерального университета «Университетская наука – региону» (17-29 апреля 2023 года). – Ставрополь: Изд-во СКФУ, 2023. – С. 107-110.
5. Григорян, Р.Э. Сравнительное исследование физико-химических свойств микрокапсул с *Lactiplantibacillus plantarum* в зависимости от их размеров (научная статья) / **Р.Э. Григорян**, В.П. Курченко, Н.А. Головнева, Л.Р. Алиева, А.Д. Лодыгин // Биотехнология: научные исследования и связь с производством. Материалы Международной научно-практической конференции. – Лосино-Петровский: Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности, 2024. – С. 212-216.
6. Григорян, Р.Э. Получение микрокапсул различных размеров с *Lactobacillus acidophilus* в оболочку альгината кальция (научная статья) / **Р.Э. Григорян**, В.П. Курченко, Е.В. Чудновская, Н.А. Головнева и др. // Повышение качества жизни и обеспечение конкурентоспособности экономики на основе инновационных и научно-технических разработок: сборник статей VII Международной научно-технической конференции. – Минск: Белорусский государственный технологический университет, 2024. – С. 71-75.
7. Григорян, Р.Э. Влияние размеров микрокапсул с *Lactiplantibacillus plantarum* на их жизнеспособность (научная статья) / **Р.Э. Григорян**, В.П. Курченко, Н.А. Головнева, А.Д. Лодыгин и др. // Современные достижения биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты. Инновационные биотехнологии природных и синтетических биологически активных веществ. Нарочанские чтения-16. Материалы IX Международной научно-практической конференции. – Ставрополь: Северо-Кавказский федеральный университет, 2024. – С. 105-109.

8. Григорян, Р.Э. Полисахариды в качестве микроинкапсулированных носителей для доставки пробиотиков // Современные аспекты производства и переработки сельскохозяйственной продукции: материалы III Международной научно-практической конференции, Барнаул, 18 апреля 2024 г. – Барнаул: РИО Алтайского ГАУ, 2024. – 236 с.

9. Григорян, Р.Э. Физико-химические свойства микрокапсул с *Lactiplantibacillus plantarum* различных размеров / Р.Э. Григорян, В.П. Курченко, И.В. Ржепаковский, А.Д. Лодыгин, Л.Р. Алиева // Научно-практическое развитие АПК и производства продуктов здорового питания: Материалы Международной научно-практической конференции. – Омск: ФГБОУ ВО Омский ГАУ, 2025. – С. 218-222.

10. Григорян, Р.Э. Влияние размера микрокапсул с *Lactiplantibacillus plantarum* на их структурно-функциональные свойства / Р.Э. Григорян, В.П. Курченко, Е.В. Чудновская, Н.А. Головнева, А.Д. Лодыгин // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты: Материалы XIV Международной научной конференции. – Минск: Беларуская навука, 2025. – С. 225-226.

11. Сатторов, Б.А. Особенности состава биологически-активных веществ в айранах из различных регионов Северного Кавказа / Л.Р. Алиева, Р.Э. Григорян, Б.А. Сатторов, А.Д. Лодыгин, Е.В. Чудновская, Т.Н. Головач, В.П. Курченко, С.В. Ризевский // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты: материалы XIV Международной научной конференции. – Минск: Беларуская навука, 2025. – С. 230–231.

12. Алиева, Л.Р. Векторы развития биотехнологий функциональных кисломолочных продуктов с регулируемым составом / Л.Р. Алиева, И.К. Куликова, Б.А. Сатторов, А.В. Серкин, Р.Э. Григорян // Социально-культурные и исторические аспекты развития региона: история и современность: сборник материалов. – Ставрополь: Северо-Кавказский федеральный университет, 2025. – С. 3-8.

13. Головач, Т.Н. Оценка эффективности экстракции биоактивных соединений из травы эхинацеи пурпурной (*Echinacea purpurea* (L.) Moench) с применением циклодекстрина и белков молочной сыворотки / Т.Н. Головач, В.П. Курченко, А.Д. Казимиров, Р.Э. Григорян, Л.В. Гарибян, А.Д. Лодыгин // Новости медико-биологических наук. – 2025. – Т. 25, № 3. – С. 240-247.

14. Головач, Т.Н. Инкапсулирование биоактивных гидролизатов лактопротеинов в матрицу альгината натрия для создания функциональных ингредиентов / Т.Н. Головач, В.П. Курченко, Р.Э. Григорян, Л.В. Гарибян, А.Д. Лодыгин // Материалы X Международной научно-практической конференции «Современные достижения биотехнологии: вектор на технологическое лидерство» (21–25 октября 2025 г.). – Ставрополь: Издательство «Бюро новостей», 2025. – С. 79-83.