

УТЕГЕНОВА АСИЯ ОРАЗБЕКОВНА

РАЗРАБОТКА БИОМЕТРИЧЕСКИХ МЕТОДОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ КСЕНОБИОТИКОВ В МОЛОКЕ

АННОТАЦИЯ

диссертационной работы PhD – докторанта Утегеновой А. О.
на соискание степени доктора философии (PhD)
по специальности 6D073500 – Пищевая безопасность

Актуальность работы. Одним из главных условий обеспечения национальной безопасности Республики Казахстан и формирования сильного государства, его успешного долгосрочного развития и экономического роста является продовольственная безопасность, которое закреплено на законодательном уровне в законе РК от 6 января 2012 года «О национальной безопасности Республики Казахстан».

В государственной программе развития агропромышленного комплекса РК на 2017-2021 годы, утвержденного Постановлением Правительства Республики Казахстан от 12.07.2018 года № 423 отмечено, что на сегодняшний день действующая система в недостаточной мере позволяет осуществлять контроль достоверности проведения процедур по подтверждению соответствия продукции требованиям технических регламентов, в том числе Единых санитарно-эпидемиологических и гигиенических требований к продукции, подлежащим санитарно-эпидемиологическому надзору (принятому решением Комиссии Таможенного союза от 06.08.2019 № 132).

В программе особо отмечено, что необходимо сырьевые лаборатории оснащать современными экспресс-методами исследований безопасности сырья и пищевой продукции. Данное направление работы также соответствует выполнению одного из основных показателей Национального проекта по развитию агропромышленного комплекса РК на 2021-2025 годы, а именно, увеличения доли охвата пищевой продукции, подлежащей мониторингу по показателям безопасности.

Известно, что в сельском хозяйстве для повышения урожайности используются различные химикаты - инсектициды, которые обладают высокими токсичными свойствами. При нарушении правил применения пестицидов в сельском хозяйстве возникает угроза попадания этих веществ в пищевые продукты в количестве, превышающего предельно-допустимую концентрацию данных веществ.

В большинстве случаев в сельском хозяйстве применяются фосфорорганические пестициды (ФОП) из-за их невысокой стоимости и относительной простоте применения. Необходимо отметить, что фосфорорганические соединения (ФОС) обладают токсическим действием и

способностью угнетать действие ферментов группы холинэстераз. Ингибирование активности ферментов группы холинэстераз приводит к серьезным нарушениям нервной системы организма человека. Среди ФОС наиболее распространенными являются паратион, диазинон, хлорофос, карбофос, дисульфотион, малатион.

На основании вышеизложенного необходимо отметить, что разработка ускоренных методов определения остаточного количества фосфорорганических соединений в продукции животноводства, в том числе и в молоке, является актуальной и перспективной. Вместе с тем, исследования по разработке ускоренных методов определения содержания токсичных веществ позволит решить основные задачи по обеспечению безопасности пищевых продуктов, указанных в Государственной программе развития агропромышленного комплекса РК на 2017-2021 и Национального проекта по развитию агропромышленного комплекса РК на 2021-2025 годы.

Целью диссертационной работы является разработка экспресс-метода определения остаточных количеств фосфорорганических пестицидов – карбофоса в молоке для обеспечения пищевой безопасности молочных продуктов.

Для реализации поставленной цели сформулированы и последовательно решались следующие задачи:

- исследование и выбор фермента для разработки тест-систем по результатам определения их удельной активности в молочной среде;
- проведение исследований по подбору метода и материала для иммобилизации фермента;
- разработка способа получения биосенсорной тест-системы;
- разработка технологических параметров очистки молока от ксенобиотика;
- разработка технологии молочного продукта с использованием способа очистки молока от ксенобиотика на основе определения критических контрольных точек;
- разработка и утверждение нормативно-технической документации (стандарта организации и технологической инструкции) на новый молочный продукт.

Объекты исследования – молоко, молочный продукт, фосфорорганический пестицид (карбофос), гидролитические ферменты (ацетилхолинэстераза, бутирилхолинэстераза), биосенсорная тест-система.

Методы исследования. В данной работе были применены теоретические и экспериментальные исследования. Экспериментальные исследования были проведены на основе общепринятых, модифицированных и стандартных методов исследований физико-химических, органолептических, реологических, гигиенических показателей безопасности объектов исследований, а также удельной активности ферментов.

Математическая обработка результатов экспериментальных исследований проводилась методом математической статистики с расчетом коэффициента детерминации.

Экспериментальные исследования были проведены на базе лабораторий научного центра «Пищевая биотехнология» Государственного университета имени Шакарима г. Семей, испытательной лаборатории филиала АО «НаЦЭкС» города Семей.

Научная новизна работы.

Впервые разработан ускоренный биометрический метод определения остаточных количеств фосфорорганического пестицида – карбофоса в молоке на основе тест-системы с ингибированием ацетилхолинэстеразы:

- исследован и выбран фермент для иммобилизации в тест-системы;
- разработаны биосенсорные тест-системы на стеклянной поверхности и бумажной основе для определения фосфорорганического пестицида (карбофоса) в молоке;
- разработаны технологические параметры очистки молока от карбофоса с применением цеолита в качестве фильтрующего материала;
- разработана технология и схема контроля технологического процесса производства творога, выработанного из молока с повышенным содержанием карбофоса на основе определения критических контрольных точек.

Новизна основных технических решений подтверждена патентом на полезную модель РК №4295 «Биосенсорные тест-системы на основе иммобилизованного фермента для определения карбофоса в молоке», 13.09.2019, бюл. № 37.

Основные положения выносимые на защиту:

- разработка биосенсорной тест-системы на основе иммобилизованного фермента для качественного определения карбофоса в молоке;
- разработка технологических параметров очистки молока от карбофоса;
- разработка технологии творога с использованием очищенного от карбофоса молока и исследование пищевой ценности, показателей безопасности и качества готового продукта;
- управление качеством творога на основе принципов НАССР на основе системы анализа рисков и критических контрольных точек.

Научная и практическая значимость работы. Результаты научных исследований имеют практическое значение, поскольку разработана тест-система для ускоренного метода определения содержания остаточного количества фосфорорганического пестицида (карбофоса) в молоке, доказана возможность применения гидролитического фермента (ацетилхолинэстеразы) для его иммобилизации в тест-систему, разработаны технологические параметры очистки молока от карбофоса с применением цеолита в качестве фильтрующего материала, разработана технология творога с применением процесса фильтрации для очистки молока от карбофоса, разработана схема контроля технологического процесса производства творога, выработанного из молока с повышенным содержанием карбофоса на основе определения критических контрольных точек.

Разработан и утвержден стандарт организации и технологическая инструкция для производства творога с применением процесса фильтрации для очистки молока от фосфорорганического пестицида.

Проведена промышленная апробация технологии творога с применением процесса фильтрации для очистки молока от карбофоса в молочном цехе крестьянского хозяйства «Нұр».

Связь работы с научно-исследовательскими проектами. Работа выполнялась в рамках научного проекта, финансируемого МОН РК по приоритетному направлению «Устойчивое развитие агропромышленного комплекса и безопасность сельскохозяйственной продукции», предприоритету «Техническое обеспечение модернизации агропромышленного комплекса» по теме «Разработка биосенсора для определения высоко кумулятивных ксенобиотиков в молоке и молочных продуктах на основе регионального мониторинга безопасности пищевых продуктов» (2021-2023 гг.).

Личный вклад автора заключается в теоретическом обосновании задач исследований, в выборе методики и проведении экспериментальных исследований по разработке биосенсорных тест-систем для качественного определения фосфорорганического пестицида (карбофоса) в молоке, разработке технологии творога с использованием способа очистки молока от ксенобиотика и разработке нормативно-технической документации.

Апробация результатов диссертации. Основные результаты диссертационной работы доложены на VII международной научно-технической конференции «Казахстан-холод 2018» (Алматы, 2018 г.); Международной научно-практической конференции, посвященной памяти Василия Матвеевича Горбатова, «Инновационно-технологическое развитие пищевой промышленности - тенденции, стратегии, вызовы» (Москва, 2018 г.).

Публикации. По теме диссертационной работы опубликовано 11 работ, в том числе 3 статьи в журналах, входящие в базу Scopus (1 статья с процентилем 9; 1 статья с процентилем 51 и 1 статья с процентилем 56); 4 статьи в журналах, рекомендованных Комитетом по обеспечению качества в сфере науки и высшего образования Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан; 3 статьи в материалах Международной научно-практической конференции, 1 патент № 4295 на полезную модель «Биосенсорные тест-системы на основе иммобилизованного фермента для определения карбофоса в молоке» 13.09.2019, бюл. № 37.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа состоит из введения, четырех глав, заключения, списка литературы и приложений. Работа изложена на 119 страницах, включает 17 таблиц, 37 рисунков и 6 приложений, список использованных источников включает 162 источника.

Оценка полноты решений поставленных задач. Полученные данные позволяют считать, что все поставленные задачи в диссертационной работе выполнены и цель диссертации достигнута:

1. Для разработки биосенсорной тест-системы из двух гидролитических ферментов выбран гидролитический фермент ацетилхолинэстераза при оптимальном количестве данного фермента 0,2 мг, при рН буферного раствора – 8,4; при температуре термостатирования – 37 °С и времени ингибирования 30 минут, так как в молоке удельная активность ацетилхолинэстеразы составила 11 ммоль/мл, а удельная активность бутирилхолинэстеразы составила 7,9 ммоль/мл.

2. Для иммобилизации фермента ацетилхолинэстеразы выбран метод включения в гель с дополнительным применением одного из способа химического метода - кроссшивание. В качестве носителя для иммобилизации фермента ацетилхолинэстеразы выбран 2% альгинат натрия с бифункциональным сшивающим агентом - хлористый кальций. Установлено, что в течение 30 минут при динамической вязкости 620 МПа*с наблюдается конечное состояние реакционной смеси, при котором гель на основе альгината натрия приобретает твердое состояние.

3. Разработаны способы получения биосенсорных тест-систем на стеклянной поверхности и бумажной основе для определения фосфорорганического пестицида (карбофоса) в молоке. Установлен срок хранения биосенсорной тест-системы (30 дней при температуре 5-6°С на основе стеклянной палочки 30 дней, а на бумажной основе – 20 дней). Разработана инструкция по применению биосенсорных тест-систем на стеклянной поверхности и бумажной основе для определения фосфорорганического пестицида (карбофоса) в молоке.

4. Разработаны технологические параметры очистки молока от карбофоса в процессе фильтрации молока с применением цеолита в качестве фильтрующего материала. Содержание карбофоса в исходном сырье понижается до предельно допустимой концентрации при содержании в фильтрах 200 г цеолита (80 % наполняемости), при объемной производительностью насоса до 6 л/мин (200 об/с⁻¹) и температуре 20-25 °С.

5. Разработана технология производства творога с применением процесса фильтрации с использованием фильтрующего материала – цеолита из молока, содержащего содержание карбофоса свыше значения 0,05 мг/кг. В соответствии со стандартом СТ РК 1179-2003 «Система качества. Управление качеством пищевых продуктов на основе принципов НАССР» разработана блок-схема технологического процесса производства творога и определены критические контрольные точки и составлена схема контроля технологического процесса производства творога для определения периодичности контроля.

6. Разработана и утверждена нормативно-техническая документация на производство творога с применением процесса фильтрации с использованием фильтрующего материала – цеолита. Проведена промышленная апробация технологии производства творога с применением процесса фильтрации с использованием фильтрующего материала – цеолита из молока на базе молочного цеха крестьянского хозяйства «Нұр».