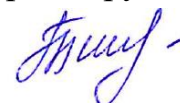


ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный аграрный университет»

На правах рукописи



Третьякова Ирина Николаевна

**ИНТЕНСИФИКАЦИЯ ГИДРОЛИЗА
РАСТИТЕЛЬНЫХ И ЖИВОТНЫХ БЕЛКОВ
ПУТЕМ ПОВЫШЕНИЯ АКТИВНОСТИ И СТАБИЛЬНОСТИ
ПРОТЕОЛИТИЧЕСКИХ ФЕРМЕНТОВ**

Диссертация на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Специальность 05.18.07 –

Биотехнология пищевых продуктов и биологически активных веществ

Научный руководитель:

доктор технических наук, профессор

Тихонов Сергей Леонидович

Троицк – 2021

Содержание

Введение	4
1 Аналитический обзор научно-технической литературы	9
1.1 Характеристика, классификация ферментов, ферментных препаратов микробного, животного и растительного происхождения.....	9
1.2 Ферментативные гидролизаты и их использование в производстве пищевой продукции	17
1.3 Микро- и нанокапсулирование ферментов	27
1.4 Использование ферментных препаратов и белковых гидролизатов в технологии мясопродуктов	33
2 Организация эксперимента, объекты и методы исследования	40
2.1 Организация эксперимента	40
2.2 Объекты и методы исследований	42
3 Результаты исследований и их обсуждение.....	48
3.1 Совершенствование технологии получения растительного белкового препарата с помощью ферментативного гидролиза	48
3.1.1 Оценка качества трипсина путем определения оптимума его биокаталитической активности	48
3.1.2 Исследование влияния света на протеолитическую активность фермента трипсина	50
3.1.3 Научное и экспериментальное обоснование технологических этапов и режимов производства белкового препарата из семян люпина с использованием ферментативного гидролиза.....	58
3.1.4 Оценка качества, функционально-технологических свойств и микробиологической безопасности растительного белкового препарата, полученного ферментативным гидролизом.....	77
3.2 Практическое применение растительного белкового концентрата, полученного ферментативным гидролизом, в технологии мясных систем ...	80

3.2.1 Исследование функционально-технологических характеристик мясного фарша при использовании в рецептуре растительного белкового концентрата, полученного ферментативным гидролизом....	80
3.2.2 Практическое использование растительного белкового концентрата, полученного ферментативным гидролизом, в технологии вареных колбас.....	84
4 Разработка технологии получения микрокапсулированного поликомпонентного ферментного препарата из пепсина и папаина и оценка его активности и стабильности при хранении.....	89
4.1 Разработка технологии получения микрокапсулированного поликомпонентного ферментного препарата из пепсина и папаина путем последовательного нанесения защитного покрытия из мальтодекстрина на ферменты.....	89
4.2 Оценка эффективности применения поликомпонентного ферментного препарата при тендеризации ветчинных изделий.....	96
Заключение.....	110
Список сокращений и условных обозначений	113
Список литературы.....	114
Приложение А Протоколы испытаний	138
Приложение Б Документы на устройство фототерапевтическое Биолампа «АВЕРС-Сан»	145
Приложение В Документ о регистрации заявки на выдачу патента «Способ получения ферментного препарата».....	148
Приложение Г Технические условия ТУ 914616-087-02069214-2021	149
Приложение Д Акты внедрения результатов исследования.....	150

Введение

Актуальность темы исследования. В соответствии с распоряжением Правительства РФ от 31 декабря 2020 г. № 3694-р Программа фундаментальных научных исследований Российской Федерации на 2021–2030 гг. включает направление «Биотехнология», к ожидаемым прорывным достижениям которого относятся результаты исследований, направленных на совершенствование технологий ферментативного гидролиза, позволяющих трансформировать белки и получать пищевые продукты с использованием нетрадиционных источников растительного белка отечественного происхождения, улучшать функционально-технологические, структурно-механические свойства животного сырья, биологическую ценность готовых мясопродуктов.

Важным аспектом в технологии мясопродуктов является частичная замена основного сырья растительными белковыми препаратами, что позволяет снизить себестоимость готового продукта и обеспечить его высокую биологическую ценность. Поэтому актуальными остаются проблемы производства растительных белковых препаратов из отечественного сырья, в частности, из семян люпина.

В связи с этим представляются своевременными исследования по интенсификации технологий ферментативного гидролиза сырья растительного и животного происхождения путем совершенствования способов увеличения активности и повышения стабильности протеолитических ферментов.

Степень разработанности темы исследования. Существенный вклад в развитие теории и практики применения ферментов в пищевой промышленности и при ферментативной обработке мяса внесли академики РАН А. Б. Лисицын, Л. В. Римарева, И. М. Чернуха, члены-корреспонденты РАН А. Ю. Просеков, Е. М. Серба, профессора Л. В. Антипова, О. О. Бабич, Т. М. Гиро, Г. О. Ежкова, Т. К. Каленик, Н. Н. Крылова, Л. С. Кудряшов, О. Я. Мезенова, О. В. Кригер, зарубежные ученые R. Hamm, K. Honikel, S. Ishiura, S. See, R. Slizyte и др.

Цель и задачи работы. *Цель работы* – экспериментально обосновать использование активированного трипсина при гидролизе растительного белка, дать оценку стабильности поликомпонентного микрокапсулированного ферментного препарата при хранении и его эффективности при тендеризации ветчинных изделий.

Задачи:

– определить оптимальные параметры и разработать технологию повышения протеолитической активности трипсина, используемого в производстве растительного белкового препарата;

– научно обосновать и подтвердить в эксперименте технологические этапы и режимы производства белкового препарата из семян люпина, полученного с помощью ферментативного гидролиза;

– провести оценку качества и функционально-технологических свойств растительного белкового препарата, полученного с помощью ферментативного гидролиза;

– определить технологический этап внесения растительного белкового препарата в фарш и экспериментально обосновать его использование в технологии вареных колбас;

– разработать поликомпонентный микрокапсулированный ферментный препарат из пепсина и папаина, определить его стабильность при хранении и эффективность при тендеризации ветчинных изделий.

Научная новизна. Диссертационная работа содержит элементы научной новизны, соответствующие п. 4, 5 и 15 Паспорта специальности ВАК РФ 05.18.07.

Усовершенствована экспресс-методика визуального определения протеолитической активности фермента за счет сокращения времени учета реакции путем модернизации химического состава и технологии тест-пластинки, стабильной к термообратимости при температурном оптимуме активности протеазы (*п. 15 Паспорта специальности ВАК РФ 05.18.07*).

Показана возможность и обоснован механизм повышения протеолитической активности трипсина путем облучения раствора фермента светом синего спектра (*п. 4 Паспорта специальности ВАК РФ 05.18.07*).

Установлены рациональные параметры гидролиза белка из семян люпина трипсином (*п. 4 Паспорта специальности ВАК РФ 05.18.07*).

Научно обоснован технологический этап внесения гидратированного белкового препарата из семян люпина в основное сырье при производстве вареных колбас (*п. 4, 5 Паспорта специальности ВАК РФ 05.18.07*).

Предложена технология поликомпонентного ферментного препарата, состоящего из пепсина и папаина, последовательно микрокапсулированных в псевдокипящем слое из мальтодекстрина. На основании исследований функционально-технологических свойств, микроструктуры, структурно-механических характеристик мясного сырья, обработанного микрокапсулированным поликомпонентным ферментным препаратом, доказана его стабильность при хранении и эффективность в производстве мясопродуктов (*п. 4 Паспорта специальности ВАК РФ 05.18.07*).

Теоретическая и практическая значимость работы. *Теоретическая значимость* работы заключается в расширении научных знаний в области технологий ферментативного гидролиза белка при получении белковых растительных препаратов и микрокапсулировании протеолитических ферментов для повышения качества мясного сырья. Теоретическое обоснование и выводы, полученные на основе экспериментальных исследований, не противоречат знаниям, которые легли в основу технологий производства белковых препаратов и микрокапсулирования ферментов.

Практическая значимость работы заключается в:

- разработке технологии активации протеолитической активности трипсина путем экспозиции раствора фермента светом синего спектра;
- установлении рациональной концентрации трипсина и биотехнологических режимов гидролиза белка из семян люпина;
- разработке устройства для получения поликомпонентного ферментного препарата в псевдокипящем слое, конструкция которого позволяет создавать защитное покрытие на поверхности ферментов, что обеспечивает сохранение их протеолитической активности на протяжении более 6 мес. хранения;

– определении оптимальных режимов иммобилизации ферментов в псевдокипящем слое.

Разработаны технические условия и технологическая инструкция (ТУ и ТИ) 914616-087-02069214-2021 «Белковый препарат». Результаты исследований внедрены на мясоперерабатывающем предприятии ЗАО «Комбинат пищевой «Хороший вкус» (г. Екатеринбург).

Результаты проведенных экспериментальных исследований используются в учебном процессе на кафедре пищевой инженерии ФГБОУ ВО «Уральский государственный экономический университет» и в ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный аграрный университет» при подготовке бакалавров по направлению 19.03.01 «Биотехнология», профиль «Пищевая биотехнология».

Методология и методы исследования. Методология выполнения работы основана на анализе научно-технической литературы по теме диссертационного исследования, комплексном использовании разных методологических подходов для достижения поставленной цели и задач, обосновании выбора объектов исследований и технологий. При выполнении диссертационной работы использовались общепринятые и специальные методы, в том числе электронной микроскопии.

Положения, выносимые на защиту:

- способ активации протеолитических свойств фермента трипсина;
- экспресс-методика определения активности протеолитического фермента;
- обоснование технологии и параметров производства растительного белкового препарата, полученного методом ферментативного гидролиза;
- доказательства эффективности технологии получения поликомпонентного ферментного препарата путем последовательного микрокапсулирования ферментов пепсина и папаина в псевдокипящем слое из мальтодекстрина.

Степень достоверности и апробация работы. Результаты получены с использованием поверенных измерительных приборов в аккредитованной лаборатории промышленного пищевого предприятия. Обработка полученных цифровых данных проведена с использованием программных средств и приложений для инженерных вычислений.

Апробация результатов работы. Основные положения и результаты работы докладывались и обсуждались на международных и всероссийских (национальных) научно-практических мероприятиях: Всероссийская (национальная) научно-практическая конференция «Научно-инновационные технологии как фактор устойчивого развития агропромышленного комплекса» (г. Курган, 2020); Всероссийская (национальная) научно-практическая конференция «Биотехнологические аспекты управления технологиями пищевых продуктов в условиях международной конкуренции» (г. Курган, 2020); X Международная научно-практическая конференция «Потребительский рынок: качество и безопасность товаров и услуг» (г. Орел, 2020); Всероссийская научно-практическая конференция «Научное сопровождение деятельности учреждений Роспотребнадзора» (г. Екатеринбург, 2020); II Всероссийская (национальная) научно-практическая конференция «Достижения и перспективы научно-инновационного развития АПК» (г. Курган, 2021), XVII Всероссийская конференция молодых ученых, аспирантов и студентов с международным участием «Пищевые технологии и биотехнологии» (г. Казань, 2021).

Публикации. По результатам исследований опубликовано 14 научных работ, из них 6 статей в научных изданиях, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук; 2 статьи в журналах, входящих в международную базу данных и систему цитирования Web of Science.

Структура и объем диссертации. Диссертационная работа включает введение, четыре главы (анализ научно-технической литературы, объекты и методы исследований, результаты исследований, разработка технологии получения микрокапсулированного поликомпонентного ферментного препарата из пепсина и папаина и оценка его активности и стабильности при хранении), заключение, список литературы и приложения. Основное содержание работы изложено на 137 страницах машинописного текста, включает 30 рисунков и 29 таблиц, 194 источника литературы, из них 86 на иностранном языке.

1 Аналитический обзор научно-технической литературы

1.1 Характеристика, классификация ферментов, ферментных препаратов микробного, животного и растительного происхождения

Ферменты, они же энзимы (лат. *fermentum* – закваска; греч. *enzyme* – в дрожжах), обычно представляют собой сложные высокоактивные белковые соединения или их комплексы, которые являются специфическими катализаторами реакций в живых системах. Ферменты катализируют множество химических превращений в клетках как растений, так и животных, а также микроорганизмов. Реагенты в такой реакции называются субстратами, а полученные вещества – продуктами. Ряд пищевых продуктов получают с помощью ферментов.

Следует различать такие понятия, как «ферментные препараты» и «ферменты». Ферменты присутствуют почти во всех живых объектах: животных, растениях и микроорганизмах. Ферментные препараты могут быть ферментом одного типа или их смесью, иметь разнообразную степень очистки, могут добавляться в сырье или в продукт, а также связываться с неким носителем (иммобилизованные ферменты) [61; 103].

Объем рынка ферментных препаратов и ферментов в Российской Федерации в 2019 г. составил 16,6 тыс. т, что оценивается в 297 млн долл. США. Мировой рынок ферментов составляет 2,2 млрд долл. США. В настоящее время отечественное промышленное производство ферментов фактически отсутствует, объем производства ферментов в России составил лишь 3 754 т, что вызвано низкой конкурентоспособностью отечественных ферментов по сравнению с импортными аналогами. Большая часть ферментных веществ, производимых в Российской Федерации, реализуется на внутреннем рынке. Импорт ферментов в 2019 г. составил около 13 тыс. т. В основном ферменты пользуются спросом у производителей пище-

вой продукции. Например, в крахмалопаточном производстве используется 12 % от общего объема производимых ферментативных препаратов, в хлебопекарном производстве – 11 %, в производстве кормов для животных – 8 % и т. д. [73].

Протеиновая природа ферментов была подтверждена в 1922 г. В 1990-х годах были открыты такие биохимические катализаторы, как рибозимы, которые катализируют реакции рибонуклеиновых кислот [110; 160; 173]. Ферменты представляют собой в основном глобулярные белки, состоящие из 60–2500 аминокислот, с молекулярной массой от 6 000 до 250 000. Большинство ферментов имеет намного большие размеры, чем субстраты, на которые они действуют, т. е. непосредственно в катализе участвует только малая часть фермента [103; 109]. Этот фрагмент называют активным центром (сайтом), обычно в нем содержится не более 3–4 аминокислот (рисунок 1).

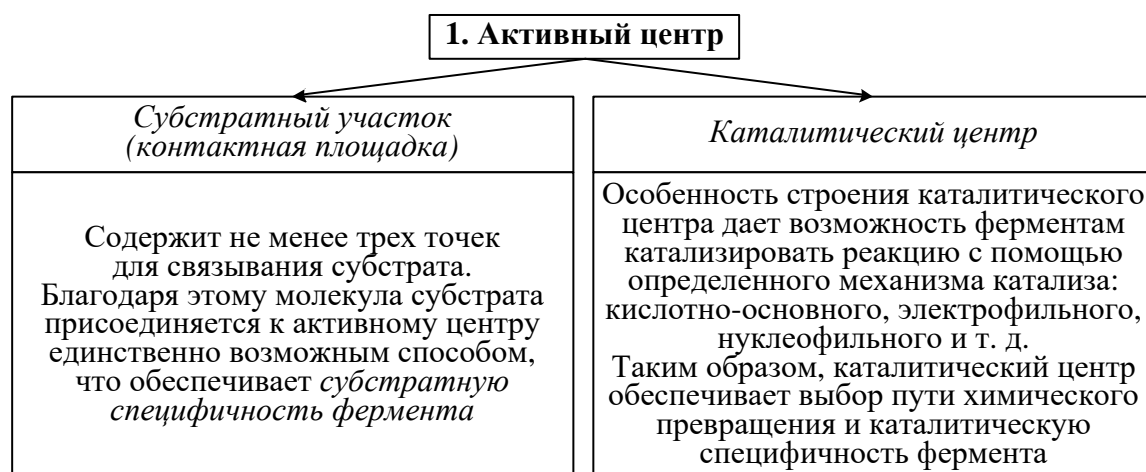


Рисунок 1 – Строение активного центра фермента [103]

Субстрат располагается в непосредственной близости от активного центра или прямо на нем (рисунок 2).

На рисунке 3 представлен состав ферментов.

Ферменты подразделяют на шесть групп в зависимости от типа катализируемых ими реакций (таблица 1).

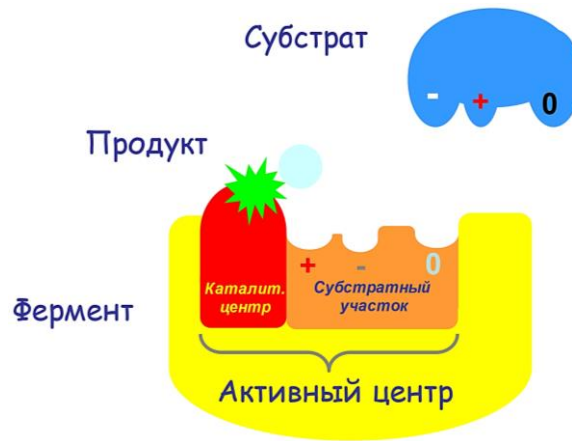


Рисунок 2 – Расположение субстратного участка и каталитического центра в активном центре фермента [103]



Рисунок 3 – Состав ферментов [103]

Выделяют следующие группы ферментов:

– ЕС 1 – оксидоредуктазы, которые катализируют окислительно-восстановительные реакции (ОВР), сопровождающиеся переносом электронов; например, оксидазы или дегидрогеназы;

– ЕС 2 – трансферазы, которые переносят функциональную группу (например, метильную или фосфатную), обычно радикал; примерами могут служить трансгликозидазы (перенос моносахаридов), трансфосфорилазы и фосфомутаза

(перенос фосфата), трансминазы (перенос аминогруппы), трансметилазы (перенос метильной группы) и трансацетилазы (перенос ацетильной группы);

Таблица 1 – Группы ферментов в зависимости от типа катализируемых ими реакций

Тип реакции	Класс	Подкласс	Подкласс
Окислительно-восстановительные реакции	Оксидоредуктазы	23 подкласса Оксидазы Аэробные дегидрогеназы Анаэробные дегидрогеназы Оксигеназы Гидроксипероксидазы	–
Перенос функциональных групп	Трансферазы	10 подклассов Киназы Аминотрансферазы	Протеинкиназы Гексокиназы
Гидролитическое удаление групп от субстрата	Гидролазы	13 подклассов Фосфотазы	ФПФ
Негидролитическое удаление группы от субстрата	Лиазы	7 подклассов	–
Изомеризация	Изомеразы	5 подклассов	–
Синтез за счет энергии макроэргических соединений	Лигазы синтеза	6 подклассов С-О-лигаза, С-S-лигаза, С-N-лигаза, С-С-лигаза	–

– ЕС 3 – гидролазы, катализирующие гидролиз различных связей, сопровождаемый прибавлением или удалением воды; примерами служат гидролазы (в том числе эстеразы, карбогидразы, нуклеазы, деаминазы, амидазы и протеазы) и гидразы (фумараза, енолаза, аконитаза и карбоангидраза);

– ЕС 4 – лиазы, расщепляющие связи иным способом, не гидролизом и не окислением (например, десмолазы);

– ЕС 5 – изомеразы, катализирующие процессы изомеризации молекулы, включая изменения ее геометрии или структуры (например, глюкозоизомераза);

– ЕС 6 – лигазы, соединяющие две молекулы ковалентными связями [103].

Выделяют растворимые ферменты, функциональная часть которых растворяется в жидкой среде, а растворимое вещество остается в реакционной среде и больше не используется. Не считая растворимых, есть группа иммобилизованных ферментов, которые интегрированы в индивидуальную фазу, отделенную от фазы свободного раствора, но способную делиться с ней молекулами [99].

Ферменты имеют такие же свойства, как и неорганические катализаторы:

1) ускоряются лишь возможные реакции. В присутствии катализатора реакция с большой энергией активации заменяется реакцией с низкой энергией активации. При отсутствии ферментов реакции протекают медленно. К примеру, в организме человека 0,5 кг углеводов в день распадаются на CO_2 и H_2O . Без ферментов в тех же условиях это заняло бы 10 тыс. лет;

2) ферменты не меняют направления реакции. Например, глутамин (Gln) гидролизуется до глутамата (Glu) и аммиака – реакция необратима и сопровождается выделением энергии. Для обратной реакции – синтеза Gln – потребуется источник энергии (АТФ) и иной фермент (глутаминсинтетаза);

3) ферменты не меняют положения равновесия в обратимых реакциях. Если фермент ускоряет прямую реакцию в 108 раз, то он также должен ускорять обратную реакцию в 108 раз;

4) ферменты не расходуются в реакциях. Как и неорганические катализаторы, они только понижают энергетический барьер реакции [99].

Известно, что белки при гидролизе распадаются до аминокислот. Будучи веществами белковой природы, ферменты имеют все свойства белков, например: а) обладают большим количеством уровней организации макромолекул, что подтверждается данными рентгеноструктурного анализа; б) подобно растворимым белкам образуют коллоидные растворы; в) дают положительные цветные реакции на белки; г) являются амфотерными соединениями; д) способны к денатурации под воздействием одних и тех же факторов: температуры, изменения рН, влияния солей тяжелых металлов, физических факторов (ультразвук, ионизирующее излучение и др.). Ферменты отличаются от других белков тем, что имеют каталитическую активность [32].

Важным свойством ферментов является их специфичность. В зависимости от этого ферменты могут обладать:

- абсолютной специфичностью, т. е. воздействовать только на одну реакцию;
- групповой специфичностью, т. е. катализировать реакции с молекулами, имеющими определенную функциональную группу, например аминокгруппу;
- стереохимической специфичностью, т. е. действовать на определенные оптические или стерические изомеры;
- специфичностью к связям, т. е. катализировать определенную связь [158].

Среди моделей, описывающих механизм действия ферментов, наиболее известны модель «ключ – замок», предложенная Э. Фишером в 1894 г., и модель индуцированного соответствия, предложенная Д. Кошлендом в 1958 г. [124; 142]. Каждый фермент понижает энергию, необходимую для протекания реакции, однако механизмы их действия различны [145; 160], например:

- понижение энергии активации достигается за счет стабилизации переходного состояния, что является следствием связывания фермента и субстрата и стабилизации конформаций молекул субстрата/продукта в переходном состоянии;
- понижение энергии переходного состояния происходит не за счет изменения структуры субстрата, а вследствие распределения противоположного ему заряда в переходном состоянии;
- в присутствии фермента реакция протекает по альтернативному пути: например, образуется промежуточный фермент-субстратный комплекс (ES), возникновение которого в отсутствие фермента невозможно;
- понижение энергии реакции вследствие более «правильной» ориентации субстратов относительно друг друга [118; 119; 125; 146; 155; 165; 190].

Следует учитывать, что на скорость ферментативных реакций влияют температура, значение рН, концентрации фермента и субстрата, а также присутствие ингибиторов или активаторов [137; 138; 193].

Функции ферментов в живых организмах очень разнообразны. Так, киназы и фосфатазы необходимы для передачи (трансдукции) сигнала и регулирования деятельности клеток [145]. Миозин гидролизует аденозинтрифосфат (АТФ) и спо-

способствует сокращению мышц, а также является мотором цитоскелета [109]. АТФазы в клеточной мембране представляют собой ионные насосы, участвующие в транспорте активных ионов. Можно с уверенностью утверждать, что метаболические пути в клетке определяются типом и количеством присутствующих в ней ферментов.

Источниками ферментов являются: растительное сырье (например, проросшее зерно злаков (солод)); органы и ткани животных (например, поджелудочная железа, слизистые оболочки желудка, сычуг крупного рогатого скота); микроорганизмы (например, бактерии, грибы, дрожжи, актиномицеты). Ферментные препараты животного происхождения более популярны, несмотря на их более высокую цену. Это связано с тем, что они более физиологичны для людей и гарантируют безопасность их употребления [49; 57; 58; 153].

С недавних пор при помощи генной инженерии и индуцированного мутагенеза получают высокоактивные штаммы микробов – продуцентов промышленных ферментов, активность которых существенно повышена. Штамм – продуцент целевых ферментов, необходимых для эффективного преобразования полимеров сельскохозяйственного сырья, является главным фактором в биотехнологии ферментных препаратов [53; 92].

Примерно 25 % ферментов, выпускаемых для пищевой отрасли, составляют амилазы, которые применяются в хлебопекарной, молочной и кондитерской промышленности, при производстве фруктовых соков, сиропов, этилового спирта из крахмалов, спиртных напитков, модифицированных крахмалов и в пивоварении. Липазы, как правило, применяются в производстве фруктовых соков, хлебобулочных изделий, при ферментации овощей, в производстве молокосодержащих и молочных продуктов. Протеазы нашли широкое применение в производстве сыров, рыбных и мясных продуктов, аминокислот. В молочной отрасли применяются сычужные ферменты, протеазы, вырабатываемые микроорганизмами, признанными безвредными для применения, и т. д. [9; 10]. В пищевых целях используют более 50 ферментных препаратов, функции которых разнообразны. Например, пуллозназа повышает эффективность осахаривания крахмала, пентозаназа улучшает

свойства теста для производства хлебобулочных изделий, пектиназа позволяет осветлять фруктовые соки и т. д.

В пищевом производстве используются ферментные препараты с протеолитической, амилолитической, липолитической, оксидазной активностью. Ферментные препараты протеолитического и амилолитического действия используются для интенсификации процессов созревания мяса, увеличения выхода готовой продукции, улучшения ее качества, экономии ценного сельскохозяйственного сырья. Пепсин, получаемый из ферментов, содержащихся в различных органах и тканях животных, широко применяется в пищевой промышленности, особенно при переработке мяса [46]. В молочной отрасли используется обширный диапазон протеолитических ферментных веществ, которые изменяют функциональные свойства молочных товаров и корректируют их структурные характеристики на разных стадиях технологических процессов [1].

Ферменты животного происхождения широко применяются в сыроделии. Кислые протеазы проявляют максимальную активность в кислой среде, а также характеризуются высоким содержанием дикарбоновых аминокислот, низким содержанием основных аминокислот. Иначе их называют аспарагиновыми протеазами, потому что в активном центре они имеют два остатка аспартата [97].

Для повышения эффективности биотехнологических процессов в перерабатывающих отраслях, для создания новых видов пищевой продукции, пищевых ингредиентов, биологически активных добавок разрабатываются научные основы биотехнологии ферментных препаратов. Это связано с выявлением закономерностей процессов биокатализа полимеров растительных, животных и микробных субстратов [12; 96; 178; 179; 180; 183; 184].

В ряде промышленных процессов микробиологические ферментные препараты все чаще замещают обычные химические катализаторы. Эти вещества, кроме экологичности и большой активности, имеют ряд преимуществ перед ферментными препаратами животного и растительного происхождения, а именно: создание микробиологических ферментов в биореакторах, которые просто контролируются; экскретируемые микробиологические ферменты более постоянны в отличие от

внутриклеточных органелл и растительных ферментов; генетическое разнообразие микроорганизмов дает возможность производить ферментные препараты с большим диапазоном специфичности; микробиологические ферменты могут синтезироваться круглый год, в то время как производство растительных ферментов зависит от сезона [103].

1.2 Ферментативные гидролизаты и их использование в производстве пищевой продукции

Перспективным направлением совершенствования технологических процессов в пищевой промышленности считается разработка высокоактивных биологических катализаторов, способствующих значительному увеличению выхода продукции, повышению качества и увеличению сроков хранения готовой продукции [81; 84; 85]. Это создает возможности для создания принципиально новых продуктов, в том числе специализированных пищевых продуктов, так как ферментативный катализ решает задачу активации технологических свойств сырья на разных этапах его переработки. Многие пищевые технологии основаны на биокаталитических способах конверсии сельскохозяйственного сырья [93]. Ферментные препараты микробного происхождения находят широкое применение в алкогольной и пивоваренной (около 60 % от общего объема ферментных препаратов), кондитерской, хлебопекарной, сыродельной, крахмалопаточной (до 20 %) отраслях промышленности, что дает возможность интенсифицировать имеющиеся биотехнологические процессы в пищевой индустрии, разработать новое поколение конкурентоспособных товаров с заданными свойствами [95].

Ткани животных считаются источником значительного числа белков разного строения и функций, вследствие чего при переработке сырья животного происхождения наибольший интерес представляют ферментные препараты протеолитического действия. К настоящему времени определены основные направления

использования протеаз: сокращение сроков созревания и посола мяса, улучшение функционально-технологических свойств (ФТС) мясного сырья и повышение усвояемости готового мясопродукта [6].

Одним из перспективных направлений производства натуральных биологически активных и пищевых добавок является разработка методов биокаталитической конверсии растительного и микробного сырья [2; 79; 80; 188]. Для гидролиза полимеров растительных, животных и микробных субстратов, создания биологически полноценных пищевых продуктов и напитков, пищевых ингредиентов выбирают ферментные препараты с субстратной специфичностью [1; 81; 96].

Интенсивность биокаталитического воздействия на пищевые вещества определяется прежде всего субстратной специфичностью. Например, при гидролизе целлюлозы необходимо учитывать ее свойства и тип, параметры гидролиза и расход фермента. Основное влияние на целлюлозные волокна при их направленной модификации для изготовления бумаги оказывает эндогликоканазная активность препаратов [130; 131; 179].

Научные исследования показывают, что биокаталитическая конверсия – это эффективный способ снизить аллергенность сывороточных белков [104]. Основная задача биоконверсии сывороточного белка сводится к такому изменению формулы белка, при котором организм не может распознать аллерген в измененном молочном белке. Чем ниже будет молекулярная масса белка, тем меньше вероятность того, что организм ответит аллергической реакцией. Следует отметить, что растительный белок может вызывать аллергические реакции у генетически предрасположенных людей, что связано с образованием антител и обеспечивающих пролиферацию Т-хелперов и Т-супрессоров как факторов клеточного иммунитета, появлением иммуноглобулинов как фактора гуморального иммунитета клеток [183; 185; 193].

Пищевая аллергия, связанная с потреблением переработанных зерновых продуктов, в частности хлебобулочных изделий, в большинстве случаев вызвана реакцией на белки, в первую очередь на белки пшеницы и ржи [3]. Для пшеницы это глиадины и глюteniны – главные составляющие клейковины, для ржи – секалины

и глутенины, содержание которых составляет около 30–50 % от общего белка, а молекулярная масса колеблется в диапазоне от 10 до 70 кДа [18]. Имеются сведения, что антигенные детерминанты в белках, распознаваемых иммунокомпетентными клетками и антителами, могут быть трех видов: последовательные короткие фрагменты пептидной цепи, короткие петлевые фрагменты, стабилизированные дисульфидными мостиками, и конформационные эпитопы, образованные пространственно сближенными в молекуле белка аминокислотными остатками [22].

Самый эффективный способ снизить проявление аллергической реакции организма человека на белки злаков – их биокаталитическая трансформация. В процессе гидролиза протеолитические ферменты расщепляют белок на пептидные остатки, которые обладают значительно более низкой сенсibilизирующей активностью [186].

Одним из способов снижения сенсibilизирующей активности продуктов из злаков является разработка методов ферментативной модификации белков, которые приводят к понижению их молекулярной массы. Для снижения сенсibilизирующих свойств белков злаков используют технологии, позволяющие добиться уменьшения или отсутствия антигенных детерминант в их структуре: высокое давление, термическая обработка и, прежде всего, ферментативный гидролиз белков [84].

В алкогольной, крахмальной, пивоваренной, хлебопекарной и иных отраслях промышленности для эффективного биокатализа полимеров зернового сырья необходимы ферментные системы, конвертирующие крахмал (α -амилаза, глюкоамилаза, пуллуланаза), некрахмальные полисахариды (ксиланазная целлюлаза) и белковые препараты (протеазы) [107], что позволяет интенсифицировать биотехнологические процессы, увеличить выход и качество продукции.

Значение амилолитических ферментов в гидролизе крахмала довольно высоко. Они действуют не только на клейстеризованный, но и на нативный крахмал, нарушая его зерна. К этой группе относятся ферменты разжижающего, декстринирующего и осахаривающего действия на крахмал: соответственно α -амилазы, глю-

коамилазы и пуллуланызы. Из них α -амилаза и пуллуланыза выступают ферментами эндодействия, а глюкоамилаза – экзодействия [58].

Гидролиз крахмала происходит с образованием неокрашенных йодом химических веществ, в большинстве своем состоящих из низкомолекулярных декстринов. При этом α -амилазы воздействуют на α -1,4-глюкозидные связи, расщепляя амилозу внутри собственной цепи, т. е. являются эндоамилазами. В результате многоступенчатого гидролиза крахмала образуются α -декстрины, вслед за ними тетра- и тримальтоза, гидролиз которых в последующем дает мальтозу и глюкозу. При этом α -амилаза действует на цельное зерно крахмала, разрыхляя поверхность и образуя каналы и бороздки, т. е. как бы раскалывая зерно на части.

В молочной промышленности применяется широкий спектр протеолитических ферментных препаратов, с помощью которых можно регулировать качество молочных продуктов и корректировать их структурные характеристики на разных этапах технологических процессов [1; 104].

Применение ферментных препаратов на основе амилаз и протеиназ при гидролизе микробной биомассы позволяет контролировать процесс биокатализа полисахаридов клеточной стенки [91].

Для гидролиза белка применяются ферменты протеолитического действия (ЕС 3), которые по способу воздействия, происхождению и эффективности воздействия на белковые полимеры разделяются на две основные группы: пептидазы (ЕС 3.4.11–3.4.15) и протеиназы (ЕС 3.4.21–3.4.24) [85; 86].

Для получения белковых препаратов используют различные ферменты растительного, животного и микробного происхождения: пепсин, трипсин, химотрипсин, ренин, коллагеназу, папаин и др., а также ферментные препараты: «Флавозим», «Новозайс», при этом полученный продукт фильтруют через специальные мембраны с заданным диаметром пор [147; 174].

Схема гидролиза белка протеолитическим ферментом представлена на рисунке 4.



Рисунок 4 – Схема гидролиза белка протеолитическим ферментом [103]

В таблице 2 представлены протеазы, используемые в технологии белковых гидролизатов.

Таблица 2 – Протеазы, используемые при получении пищевых белковых гидролизатов [103]

Источник	Тип протеазы	Название или торговая марка	Диапазон pH	Специфичность
Свиная поджелудочная железа	Сериновая	Трипсин, PTN	7–9	Lys, Arg
	Сериновая	Химотрипсин	7–9	Phe, Tyr, Trp
	Аспарагиновая	Пепсин	1–6	Ароматические вещества, Leu, Asp, Glu
Желудок теленка	Аспарагиновая	Химозин, ренин	3–6	Phe-Met в казеине
Папайя	Цистеиновая	Папаин	5–9	Широкая
Ананас	Цистеиновая	Бромелаин	5–8	Lys, Arg, Phe, Tyr
Инжир	Цистеиновая	Фицин	5–8	Phe, Tyr
<i>B. amyloliquefaciens</i>	Металлопротеаза	Нейтраза (Neutrase®)	6–8	Широкая
<i>B. subtilis</i>	Сериновая	Субтилизин	6–10	Широкая
<i>B. licheniformis</i>	Сериновая	Акалаза (Acalase)	6–10	Широкая
<i>B. stearothermophilus</i>	Сериновая	Протеаза S (Protease S)	7–9	Широкая
<i>B. licheniformis</i>	Сериновая	Glu-специфичная	7–9	Glu
<i>Aspergillus oryzae</i>	Смесь аминоксипептидазы	Флейворзим (Flavourzyme)	5–8	Широкая
<i>Aspergillus niger</i>	Аспарагиновая	Кислая протеаза А	2–3,5	Широкая

Продолжение таблицы 2

Источник	Тип протеазы	Название или торговая марка	Диапазон pH	Специфичность
<i>Mucormiehei</i>	Аспарагиновая	Ренилаза (Rennilase®)	3–6	Несколько шире, чем у ренина
<i>Rhizopus</i>	Аспарагиновая	Сумизим RP (Sumizyme RP)	3–5	Как у пепсина
<i>Fusarium</i>	Сериновая	Разные названия	6–8	Asp, Lys

Комбинированное каталитическое воздействие протеолитических ферментов на белковый субстрат гарантирует наивысший уровень его превращения в свободные аминокислоты и низкомолекулярные пептиды [2; 86; 90]. Многие исследователи отмечают, что в гидролизатах образуются биоактивные пептиды, проявляющие иммуномодулирующие и антиоксидантные свойства [127; 189].

Непротеазы тоже могут применяться в качестве ферментов при модификации белков, но промышленно они не используются.

Примеры использования непротеаз:

– трансглутаминаза, сшивающая белки за счет образования изопептидной связи между глутамином и лизином; ее используют для модификации белков в пищевых продуктах, но в производстве белковых ингредиентов ее еще не применяли;

– тирозиназа, образующая посредством реакций окисления (ковалентные тирозин-тирозиновые, тирозин-цистеиновые или тирозин-лизиновые сшивки);

– лактаза, участвующая в окислительных процессах и образующая тирозин-тирозиновые сшивки и дисульфидные мостики, а также окисляющая тиольные группы;

– пептидоглутаминаза, дезаминирующая глутамин до глутаминовой кислоты (пока только в лабораторных условиях);

– сульфгидрилоксидаза [103].

На сегодняшний день растительные белки обширно применяются в качестве белкового ингредиента некоторых продуктов в пищевой индустрии, изготовлении

кормов для животных, птицы и рыб (замена рыбной муки в связи с возрастающим распространением аквакультуры по всему миру в результате продолжительного истощения морских биологических ресурсов). Создание белковых гидролизатов имеет большое значение, когда белковые добавки растительного происхождения применяют в стартовых кормах для молодых рыб. Получение протеиновых гидролизатов расширяет возможности применения белков сои и рапса в кормопроизводстве, тем самым повышая общедоступность белкового материала растительного происхождения для пищеварительной системы животных [39].

Биотехнологические методы воздействия на растительный белок позволяют получать продукты различного состава, обладающие определенными технологическими и функциональными свойствами. Их можно использовать при производстве широкого ассортимента пищевых продуктов общего, функционального и лечебно-профилактического назначения [68].

Природными источниками полноценного белка животного происхождения являются в первую очередь молоко, мясо, яйца, рыба. Среди растительных белков лидирующие позиции занимает соевый белок. Недостаточное потребление белков животного происхождения актуализирует вопрос восполнения дефицита белка в рационе населения. При этом особую актуальность имеет научная разработка технологий продуктов питания функционального назначения, которые быстро усваиваются организмом. Переработка малоценного и вторичного рыбного сырья с использованием протеолитических ферментов позволит сократить объем не утилизируемых рыбных отходов, расширить ассортимент рыбной продукции [34; 100].

Среди различных пищевых белков соевые белки наиболее часто применяются для коррекции питания и профилактики нарушений липидного обмена и связанного с ним ожирения, сердечно-сосудистых заболеваний, артериальной гипертензии, сахарного диабета 2-го типа и метаболического синдрома. В связи с гиполипидемическими свойствами растительных белков можно отметить перспективность использования их ферментативных гидролизатов для профилактики метаболических нарушений [94].

В качестве субстратов для получения ферментативных гидролизатов, содержащихся в специализированных пищевых продуктах лечебно-профилактического назначения, в большинстве работ и патентов используются белки коровьего молока (цельный белок, казеин и белки сыворотки). Это связано с тем, что они хорошо растворимы в воде, отличаются высокими органолептическими показателями и аминокислотным составом.

Частичные гидролизаты также преимущественно выпускаются на основе белков коровьего молока [164; 193].

В молочной промышленности используют молочные белки, содержание которых в сыворотке варьирует от 0,4 % до 1,0 % в зависимости от ее вида и метода производства [40]. Для повышения функциональности сывороточных белков можно использовать процесс ферментативного гидролиза. Ферментативный гидролиз имеет ряд преимуществ перед другими видами протеолиза, так как протекает в более мягких условиях и почти не сопровождается повреждением аминокислот и снижением биологической ценности [138]. Белковые гидролизаты, полученные путем ферментативного превращения белков молока, помимо антиоксидантных, иммуномодулирующих, гипотензивных и других свойств, также обладают многими важными функциональными и технологическими свойствами, которые образуются в большей мере при степени гидролиза от 10 % до 20 % [29; 180]. При разработке технологии изготовления новых кисломолочных продуктов в качестве активного пищевого ингредиента ряд авторов [11; 13; 14; 48] рекомендует использовать гидролизаты белков молочной сыворотки.

В связи с этим особенно актуальны исследования в области направленного протеолиза сывороточных белков, которые позволяют получать гидролизаты с приемлемыми органолептическими характеристиками, гарантированно обладающие функциональными свойствами [117].

Важное направление современной науки – биотехнологические способы переработки коллагенсодержащих рыбных отходов для получения функциональных пептидов в специализированных пищевых и медицинских продуктах. Объем рыбных отходов (голова, кости, чешуя и др.) только в Калининградской области оце-

нивается более чем в 10–15 тыс. т в год. Белки коллагена в отходах чаще находятся в малорастворимой форме, связаны с гидроксипатитом кальция и не выделяются обычными методами. В то же время белки этого сырья содержат ценные аминокислоты [62].

Из природных биокаркасов рыбных отходов рационально извлекать белки с использованием высокотемпературного, ферментативного или комбинированного воздействия [105].

С точки зрения физиологии пищеварения и всасывания ферментные гидролизаты имеют ряд преимуществ перед растворами кристаллических аминокислот. Согласно теории правильного питания, изложенной академиком А. М. Уголевым, потребность организма в питании лучше всего удовлетворяется теми формами питательных веществ, к которым человек как вид адаптировался в ходе эволюции. Исходя из этого можно предположить, что использование полуэлементной диеты, в которой белковый компонент в составе продукта представлен пептидами, является более физиологичным и способно лучше удовлетворить потребность организма в белке по сравнению с потреблением продуктов на основе смесей аминокислот [41].

Также бесспорный интерес представляют белки куриных яиц и люпина. Белки куриных яиц имеют сбалансированный аминокислотный состав [172; 176; 181; 184], а белки сои обладают гипоаллергенными и гипохолестеринемическими свойствами [148] и коммерчески доступны. Что касается гидролизатов из белков куриного яйца, то в большинстве работ приводятся данные, свидетельствующие о наличии у них антиоксидантной, антимикробной, антигипертензивной и иммуномодулирующей активности [113; 115; 148; 151; 171; 173; 183].

Одно из общеизвестных различий между метаболизмом белков и метаболизмом углеводов и липидов – недоступность протеинового депо при недостаточном употреблении незаменимых аминокислот, источниками которых считаются продукты распада белковых соединений различных тканей человеческого организма. При этом если поступление белка выше, чем потребность в нем, то это лишь увеличивает окисление аминокислот, потому что кинетические свойства

ферментов, участвующих в данных процессах, выше, чем у ферментов, активирующих анаболизм белков. Поэтому рацион, в котором 12 % пищевой ценности приходится на белок, насыщает организм взрослого человека необходимыми аминокислотами [71]. Основными отличительными чертами гидролизатов считаются сырье, технология производства и состав конечного продукта [88; 89].

Так как нами в работе представлена технология получения белкового препарата ферментативного гидролиза из семян люпина, целесообразно дать характеристику семейства бобовых как перспективного источника получения белка.

Продукты на основе переработки семян семейства бобовых – важный компонент в рационе населения, составляющий примерно 20 % мирового потребления белка, при этом бóльшая часть приходится на соевые бобы [128; 154].

Давно ведутся исследования по поиску приемлемой альтернативы сое. В качестве таковой предлагается люпин, который по содержанию белка несколько уступает соевым бобам, однако он может выращиваться в северных регионах, при этом его урожайность с гектара в 1,5 раза выше [37].

Белый люпин привлекает внимание высоким содержанием белка и аминокислотным составом с низким содержанием алкалоидов [106]. Кроме того, многочисленные исследования показали, что белый люпин может быть использован как источник пищевых и биоактивных компонентов. В ядрах люпина содержится порядка 40 % пищевых волокон, это превышает показатели большинства других бобовых [112; 121; 123].

Показано положительное действие полисахаридов люпина белого. В частности, выявлено, что α -галактозиды люпина препятствуют росту и развитию условно-патогенных бактерий [5; 108; 166]. Получены данные о значительном содержании в белом люпине высокоактивных ингибиторов протеаз, подавляющих канцерогенные и воспалительные процессы в желудочно-кишечном тракте [126; 129]. Продемонстрирован *in vivo* гипополипидемическое действие изолятов белка люпина белого, обеспечивающее снижение концентрации холестерина и нормализацию липопротеинового профиля крови, а также гипогликемическое действие за счет положительного влияния на углеводный обмен [4; 156; 162].

Следует отметить, что главной причиной ограниченного применения люпина в России является содержание в нем токсичных веществ, таких как люпанин, люпинин, гидроксилупанин и др. [76].

Для применения в производстве мясных продуктов, хлебобулочных и макаронных изделий, а также для повышения пищевой ценности и увеличения объема производства аглутеновых диетических продуктов была разработана технология первичной переработки безалкалоидного люпина сорта «Дега» в виде муки, крупы, хлопьев [36].

1.3 Микро- и нанокапсулирование ферментов

Технология иммобилизации – это традиционный способ фиксации биомолекул, эффективно использующийся в химии белков и биотехнологии. Исследование процессов иммобилизации ферментов ведется более 40 лет и считается одним из перспективных направлений современной прикладной биотехнологии [74;75; 139]. Традиционные методы микрокапсулирования позволяют получать полидисперсные частицы размером более 2 мкм. Ферменты, которые искусственно связаны с нерастворимым носителем, но сохраняют свои каталитические свойства, называются иммобилизованными ферментами. Иммобилизация (*immobilisatio*; лат. *immobilis* – неподвижный) – ограничение подвижности молекул ферментов, позволяющее зафиксировать их активный центр, надолго сохранив их функциональность, не подвергая структурным изменениям [27].

Различают капсулирование, микро-, нанокапсулирование и биоинкапсулирование. Наиболее распространенное название для всех четырех областей – микрокапсуляция, поэтому материалы, полученные таким образом, называются микрокапсулами. У них много интересных особенностей. Метод инкапсулирования применяется для производства самых разных химических веществ, лекарств различных фармакологических групп, косметики [16].

Микрокапсулирование – это технология заключения в защитную оболочку жидких, твердых или газообразных веществ, которая широко используется в косметической, медицинской, пищевой, текстильной промышленности и производстве современных материалов. Преимущество микрокапсулирования заключается в том, что действующее вещество полностью покрыто защитной оболочкой и изолировано от внешней среды. Размер частиц действующего вещества, заключенных в микрокапсулы, может составлять от 1 до 6 500 мкм [72]. Важно, что микрокапсулирование не влияет на свойства действующего вещества при условии выбора правильного материала оболочки и метода подготовки. Поэтому микрокапсулирование хорошо подходит для повышения стабильности термохромных смесей. После инкапсуляции термическая стабильность термохромных материалов и стойкость к выщелачиванию, окислению и растворению значительно увеличиваются, что расширяет область их применения [66; 67; 74].

Отдельным видом микрокапсул являются нанокапсулы, в состав которых входят частицы лекарственных веществ размером от 80 до 200 нм (размер коллоидных частиц, мицелл), полученные в ходе полимеризации и способные выделять лекарственное вещество при парентеральном введении.

Продукты и препараты, содержащие в своем составе микрокапсулированные вещества, выпускаются в виде таблеток, порошков, брикетов, эмульсий, мазей, карандашей и т. д. Оболочки (мембраны) микрокапсул могут быть одно-, двух- или многослойными, толщиной от долей до десятков микрон; жесткими или эластичными в зависимости от свойств образующих их полимеров; твердыми или пористыми; различаться по прочности; растворяться в различных средах; быть устойчивыми к воздействию влаги, микроорганизмов или обладать другими заданными свойствами [66].

При помощи микрокапсулирования возможно снизить реактивность веществ, продлить срок хранения лабильных и скоропортящихся продуктов, снизить токсичность препарата, придать веществу новые физические свойства (понижить летучесть, поменять плотность, вкус, цвет, аромат). Микрокапсулы позволяют обеспечить пролонгированное действие веществ [65].

Следует отметить, что в современных исследованиях пока не представлены эффективные технологии микрокапсулирования и универсальные материалы для оболочек микрокапсул. В работе М. Mehran, S. Masoum, М. Memarzadeh [159] предлагаются варианты, отвечающие задачам увеличения свойства пищевых продуктов.

Авторы [116; 168; 170] утверждают, что в процессе инкапсуляции невозможно полностью обеспечить иммобилизацию всех ферментов. Выбор подходящего материала для защитной мембраны чрезвычайно важен при инкапсуляции биологически активных соединений. Данный материал защищает действующее вещество от разрушения, поэтому должен иметь требуемую механическую прочность, быть совместимым с пищевым продуктом, гарантировать контролируемое высвобождение и иметь термические качества, совместимые с качествами продукта [117; 168; 170]. Многослойная мембрана защищает вещества, находящиеся внутри капсулы, что дает возможность использовать их в качестве микроконтейнеров в косметической, фармацевтической, текстильной, пищевой и сельскохозяйственной промышленности [78].

Известны различные технологии микрокапсулирования ферментов: с помощью газофазной полимеризации, распылительной сушки, путем замораживания, струйного охлаждения, нанесения псевдооживленного слоя, экструзии, коасервации, кокристаллизации [132; 133; 167; 168; 169].

Исследователи Ballesteros, Jeyakumar, Santana и др. предлагают использовать разные материалы для защитных мембран при капсулировании пищевых ингредиентов, такие как хитозан, желатин, мальтодекстрин, сывороточный белок, казеинат натрия, модифицированные крахмалы, гуммиарабик [69; 113 136; 148; 153; 177].

Как правило, для образования защитного слоя применяется мальтодекстрин [157]. При этом получают микрокапсулы, обладающие большой растворимостью в воде, малой вязкостью, что делает мальтодекстрин весьма востребованным материалом для оболочек микрокапсул. Из-за высоких эмульгирующих, пленкообразующих свойств, хорошей растворимости в воде, высокой стабилизирующей активности и способности к образованию тонкой плотной сетки для защитного по-

крытия часто используют желатин. Гуммиарабик, природный бесцветный полисахарид, получаемый из акации, позволяет получить стабильное защитное покрытие на поверхности действующего вещества [150; 159].

Есть три традиционных механизма высвобождения действующего вещества из микрокапсул: механическое разрушение оболочки, ее растворение и диффузия сквозь нее. Разрушение оболочки включает удаление (медленную эрозию) мембраны и биоразложение [16].

Более применимыми с практической точки зрения считаются два способа капсулирования биологически активных веществ: наноэмульгирование и нанокапсулирование с внедрением темплатов, при этом для образования полиэлектролитных микрокапсул используются микрочастицы карбоната кальция [149; 191].

Микрокапсулирование дает возможность получать частицы разного размера – от долей до сотен микрон. Среди них необходимо прежде всего отметить полиэлектролитные микрокапсулы (ПЭМ), главным свойством которых является полупроницаемость оболочки, которая может пропускать маленькие молекулы, но задерживает высокомолекулярные соединения. Это позволяет считать ПЭМ ведущим способом иммобилизации высокомолекулярных биологически активных веществ, при этом полупроницаемая оболочка микрокапсулы отделяет водный раствор субстрата от раствора биологически активных веществ и тем самым защищает его от неблагоприятных внешних воздействий [7; 55; 65; 75; 83].

Для выбора способа капсулирования необходимо знание свойств и способов получения эмульсий, так как это позволит определить свойства, которыми должен обладать продукт. Для выбора способа инкапсуляции необходимо изучить коллоидно-химические качества эмульгирующих компонентов и выделить оптимальные условия для стабилизации эмульсий [52].

Иммобилизация ферментов достигается путем их связывания с нерастворимой матрицей (носителем) или путем добавления его в структуру носителя, что позволяет ограничить подвижность белковой молекулы фермента [80].

Физические методы иммобилизации ферментов реализуются посредством [17]:

- 1) адсорбции ферментов на нерастворимых носителях;
- 2) включения энзимов в поры поперечно сшитого геля;
- 3) включения ферментов в полупроницаемые структуры (инкапсулирование или заключение в липосомы).

При адсорбционной иммобилизации белковая молекула удерживается на поверхности носителя за счет электростатических, гидрофобных, дисперсионных взаимодействий и водородных связей. Метод применим для иммобилизации не только отдельных ферментов, но и отдельных клеток.

В настоящее время описано более 70 иммобилизованных методом адсорбции ферментов на кремнеземе, активированном угле, графитовой саже, различных глинах, пористом стекле, полисахаридах, синтетических полимерах, оксидах алюминия, титана и других металлах [27].

Активность фермента при иммобилизации сохраняется практически на 100 %, а удельная концентрация белка достигает 64 мг на 1 г носителя. К недостаткам адсорбционного метода следует отнести невысокую прочность связывания фермента с носителем, что может привести к десорбции фермента, его потере и загрязнению продуктами ферментативной реакции. Повысить устойчивость системы может предварительная модификация путем обработки ионами металлов, полимерами, белками, гидрофобными соединениями, монослоем липида [141]. Метод широко распространен благодаря простоте и уникальности, он обеспечивает равномерное распределение энзима в объеме носителя, дает стабильные результаты за счет высокой механической, химической, тепловой и биологической стойкости и обеспечивает многократное использование включенного в его структуру фермента.

Также используется иммобилизация ферментов в полупроницаемые структуры (полупроницаемые мембраны) путем микрокапсулирования или липосомирования. К недостаткам этого метода следует отнести невозможность инкапсулированных ферментов осуществлять превращения высокомолекулярных субстратов [103].

Иммобилизация ферментов с образованием новых ковалентных связей между ферментом и носителем – наиболее распространенный способ получения промышленных биокатализаторов, позволяющий создать прочную и необратимую связь фермента с носителем, что обеспечивает высокую стабильность структуры молекулы энзима [17], однако требует применения «вставок» между ферментом и носителем в виде полифункциональных агентов (бромциан, гидразин, глутаровый диальдегид). С учетом этих обстоятельств ведется дальнейший научный поиск эффективных методов капсулирования ферментов [17; 116; 134; 135; 168].

Часто для производства микрокапсул используют метод экструзии, предполагающий внешнее гелирование гидроколлоидов с использованием различных гелеобразующих агентов (раствор хлорида кальция для альгината, хлорид калия для каррагинана, триполифосфат для хитозана, трансглутаминаза для казеината). Суспензия биологически активного вещества и гидроколлоидного раствора экструдируется отдельными каплями, которые собираются в емкости для термического гелеобразования. Затем прессованием можно производить капсулы различного диаметра [122]. Экструзионные технологии также рекомендуется использовать для капсулирования живых клеток – пробиотиков [122; 143; 177].

В работе [114] предлагается капсулировать ферменты с использованием гидролизированных и модифицированных крахмалов. Вместе с тем отмечается, что гидролизированный крахмал не всегда обеспечивает стабильность вкуса. Использование крахмала, модифицированного октенилсукцинатом, повышает стабильность эмульсии.

Исследования часто сводятся к поиску защитного вещества для капсулирования, которое имело бы высокие реологические свойства и легко наносилось, а также обладало свойствами эмульсии и дисперсии с высокой стабильностью, было инертным по отношению к капсулируемому веществу в процессе нанесения и при хранении капсул; имело хорошую растворимость; было доступным и недорогим. Также следует принять во внимание, что применение веществ, используемых при капсулировании пищевых ингредиентов, должно быть одобрено государственными органами.

Защитные вещества, используемые для капсулирования, не всегда могут сочетать все указанные характеристики. В некоторых случаях для этого используют несколько веществ, например, модифицированную целлюлозу, обладающую высокими эмульгирующими и механическими свойствами [126; 191].

Исследователи [54] предлагают ряд конструкций технологических аппаратов фонтанирующего действия, позволяющих обеспечить равномерную скорость несущего газа для устойчивого фонтанирования. Полученные данные могут быть использованы при разработке промышленных установок.

Современные исследования часто сводятся к использованию микрокапсул для повышения ценности пищевых продуктов, в первую очередь путем внесения биологически активных добавок. Применительно к молочным и мясным продуктам исследования направлены на увеличение их сроков хранения [120; 125; 135; 162; 175; 177; 182], в то время как использование микрокапсул для тендеризации мясных продуктов недостаточно изучено. Это актуализирует задачу возможности использования микрокапсул для тендеризации ветчинных продуктов.

1.4 Использование ферментных препаратов и белковых гидролизатов в технологии мясопродуктов

Совершенствование вкуса, аромата и консистенции мяса, стабилизация его окраски, приобретение специфических свойств в процессе технологической обработки во многом зависят от ферментов, содержащихся в мясе. При этом мышцы сельскохозяйственных животных обладают низкой концентрацией внутриклеточных ферментов. Не все анатомические части туши отличаются повышенным содержанием соединительной ткани. Это связано с жесткостью мяса и его медленным созреванием [38].

В области применения ферментов для ускорения созревания мяса инъекционным методом в отечественной практике накоплен определенный практический

опыт. При оценке ряда ферментных препаратов более перспективными для совершенствования текстуры мяса оказались кавказский папаин, фицин, трипсин, субтилопептидаза. Известно, что обработка мяса протеолитическими ферментами повышает его усвояемость более чем на 16 %. В технологии мясной промышленности используются различные ферментные препараты. Они дают возможность значительно ускорить технологические процессы, повысить выход готовой продукции, улучшить ее качество, сэкономить сырье и расширить возможности получения продуктов питания, обеспечить меры по охране окружающей среды и биологической безопасности производства [58; 100].

Использование ферментативных препаратов улучшает качество мяса, удовлетворяет возросшие требования покупателей и повышают усвояемость готового мясопродукта. Существует два основных направления применения ферментов в мясной индустрии: размягчение жесткого мяса и реструктуризация свежего мясного сырья низкого качества и обрезков для получения продукта высочайшего качества [46].

Ферментные препараты отличаются специфичностью воздействия на главные белки мяса – миозин, коллаген и эластин. Интенсивность и глубина превращений белковых структур мяса зависят от вида, дозировки веществ, длительности обработки, физико-химических показателей, предопределяющих уровень выраженности ферментативной активности. Добавленные в сырье ферментные препараты обеспечивают автолиз белковых молекул, и процессы созревания мяса под их влиянием проходят в 3–5 раз быстрее. Под воздействием ферментов происходят важные изменения в белках мяса, что в конечном счете обеспечивает формирование необходимой консистенции (мягкости), уровня водосвязывающей и адгезионной способности, вкуса и запаха [20]. Обработка сырого мяса протеолитическими ферментами растительного, животного и микробного происхождения по-прежнему остается важной областью мясной промышленности [2; 194]. Критериями выбора протеаз в этих случаях нередко считаются оптимумы воздействия применяемых ферментов, которые коррелируют с основными технологическими параметрами производства мяса (рН, температура).

По литературным данным, предварительная обработка сырья ультразвуком позволяет усилить ферментативный гидролиз белка в гидромодуле за счет появления процесса кавитации при ультразвуковом воздействии. Кавитация приводит к образованию пульсирующих пузырьков с паром и газом в измельченных семенах люпина. При обработке ультразвуком в семенах люпина создаются также ударные волны и высокое давление, что приводит к диспергированию частиц, усилению массообменных процессов и деполимеризации белковых структур, так как под воздействием ультразвука разрушается вторичная, третичная и четвертичная структура белков до первичного полипептида. Следует отметить, что эффект деструкции под воздействием ультразвука возрастает с уменьшением молекулярной массы полипептида. Указанные эффекты действия ультразвука на растительное сырье позволяют усилить дальнейший ферментативный гидролиз белка. Кроме того, воздействие ультразвуковыми волнами на растительное сырье позволит улучшить процесс диффузии дисперсной фазы (муки из семян люпина) в дисперсную среду (дистиллированная вода) за счет лучшего распределения жирового компонента [26; 45; 96; 140; 156].

Эффективно используются ферментные вещества щелочных протеаз *Bacillus licheniformis* и *Acetomonium chrysogenum* для получения гидролизованых форм мясного сырья с большим содержанием коллагена [101].

В литературе имеется информация об использовании ферментов, таких как панкреатин и пепсин, для обработки мяса. Однако данных об использовании растворов ферментов, приготовленных в биологически активных жидкостях, недостаточно [38].

Протеолитические ферменты животного и растительного происхождения чаще всего отличаются активным смягчающим действием. В результате такой обработки изменяется первоначальная клеточная структура мяса, внешний вид и физические свойства, поверхность мясного продукта становится более мягкой, изменяется пережевываемость приготовленного отварного мяса. Степень размягчения мяса сложно контролировать, изменяя концентрацию фермента или сокращая время контакта [6].

Европейское управление по безопасности пищевых продуктов (EFSA) ежедневно обновляет свой перечень микроорганизмов – продуцентов ферментов со статусом «Квалифицирован предположительно как безопасный – Qualified Presumption of Safety (QPS)». В данном случае статус QPS означает, что этот штамм прошел нужную оценку безопасности. К условно безопасным микроорганизмам относятся почти все молочнокислые бактерии (*Lactococcus* и *Lactobacillus*), бифидобактерии, дрожжи. Важным условием применения ферментов микробного происхождения в пищевой индустрии считается соблюдение требований безопасности с точки зрения прогнозирования развития различных рисков [10].

Как известно, мясо является источником полноценного белка. Главные белки мышечной ткани – миозин, составляющий около 50 %, и актин, составляющий 12–15 % всех белков мышечной ткани, вместе они содержат все незаменимые аминокислоты [25; 28; 29]. Важно подчеркнуть наличие в мясе таких незаменимых аминокислот, как аргинин и глутамин [56], которые необходимы при гиперметаболических состояниях; устраняя их нехватку, можно регулировать поступление азота и снижать его расходование. Кроме того, в мясе содержатся витамины группы В, минералы, в том числе железо в гемовой форме [50].

Протеолитические ферменты класса гидролаз широко используются в мясной отрасли. В основном используются энзимы, катализирующие гидролиз пептидной связи в молекулах белков и пептидов. Существуют экзопептидазы, которые расщепляют связи в пределах С- или N-конца цепи (карбоксипептидаза и аминопептидаза соответственно), и эндопептидазы (протеиназы), гидролизующие связи, удаленные от концевых остатков (трипсин). Следует отметить, что большинство протеолитических ферментов не обладает жесткой субстратной специфичностью [153; 161].

В настоящее время установлена целесообразность использования протеолитических ферментов животного (коллагеназа камчатского краба) и микробного (мегатерин G10x и протосубтилин G10x) происхождения для переработки мясного сырья низкого качества, в котором содержится большое количество соединительнотканых белков. Было показано, что при воздействии протеолитических

ферментов, таких как нейтральные протеазы, коллагеназы, папаин, протеазы из *B. subtilis* и *A. oryzae*, в низкокачественной говядине значительно снижается содержание рыхлой соединительной ткани, что приводит к повышению качества мясных продуктов [23].

Вторичные продукты убоя сельскохозяйственных животных являются источником белков, в частности коллагена, а также пептидов и аминокислот. Ферментативная обработка коллагенсодержащего и морских гидробионтов дает возможность получать пептиды и свободные аминокислоты, а также обеспечивает гидролиз белка. Использование ферментов повышает скорость технологических процессов, значительно увеличивает выход готовой продукции, улучшает ее качество, экономит важное сырье и сокращает количество отходов [30; 31; 82; 144]. В целях стандартизации мясных продуктов на сегодняшний день наиболее рационально объединение двух методов: иммуноферментного анализа (определение целевого белка) и идентификации ДНК с помощью полимеразной цепной реакции (ПЦР) [170].

Одной из основных проблем в сфере питания населения России является нехватка белка, что, в свою очередь, связано с недостаточным потреблением жителями нашей страны необходимых белковосодержащих продуктов: мяса, молока, рыбы. Частично решить эту проблему может использование белковых препаратов при производстве мясных продуктов.

Среди белковых компонентов растительного происхождения, используемых при производстве комбинированных пищевых продуктов, наиболее распространены соевые белки. Препараты из молочного белка могут стать альтернативной соевым белкам при производстве мясных продуктов [77]. Особенностью белков молока является их способность быстро расщепляться под воздействием пищеварительных ферментов желудочно-кишечного тракта с образованием пептидов и свободных аминокислот, которые легко всасываются в кровь. Белки молока не содержат пуриновых оснований, избышек которых нарушает обмен веществ в организме. Комбинация сырого мяса и молочных белков может снизить калорийность, повысить пищевую и биологическую ценность готовой продукции [15; 59].

Для совершенствования технологических качеств мясного сырья и балансирования химического и аминокислотного состава пищевых продуктов широко используются белковые вещества растительного и животного происхождения [68].

Ключевым компонентом пищевой биотехнологии для изготовления рекомбинантных ферментов остаются клетки дрожжей [8]. Дрожжи, будучи простыми эукариотами, имеют преимущества в плане фолдинга и посттрансляционных модификаций белка [148]. Вместе с тем дрожжи тщательно изучены биохимическими методами и методами молекулярной биологии, для них подобраны методы генетической инженерии [60].

Белковые вещества, которые используются в мясной промышленности, должны обладать гелеобразующими и эмульгирующими свойствами, а также высокой растворимостью в воде. В технологии изготовления мясных продуктов для замены дорогого миофибриллярного белка при изготовлении колбасных изделий из мяса низкого сорта применяются текстурированные соевые белки. Это особенно актуально при использовании мясного сырья невысокого качества (замороженного, после долговременного хранения, с высоким содержанием соединительной ткани и жира) [63; 64].

Творожная сыворотка также используется в мясной промышленности. Она улучшает вкусовые качества готовой продукции, придает дополнительный аромат. Технология использования сыворотки постоянно совершенствуется. Продукты, содержащие сыворотку, функциональны. Сыворотку можно использовать в качестве эмульгатора, при производстве паштетов и колбас. Молочный жир, содержащийся в сыворотке, способен усиливать активность ферментов. Добавление сыворотки в мясные продукты не только улучшает органолептические характеристики, но и позволяет разработать продукт с более низкой калорийностью, который наиболее полно усваивается человеческим организмом [42; 70].

Раствор белков может стать базой ряда фармацевтических легкоусвояемых препаратов, предназначенных для людей с заболеваниями желудочно-кишечного тракта. Ферментированные гидролизаты подходят людям с диабетом, беременным женщинам, кормящим матерям и спортсменам. Мясопродукты с использованием

ферментированных гидролизатов белка можно считать примером высокотехнологичных продуктов нового поколения. Они состоят на 85 % из белка и содержат весь комплекс аминокислот, включая восемь незаменимых: 1) валин; 2) изолейцин; 3) лейцин; 4) лизин; 5) метионин; 6) треонин; 7) триптофан и 8) фенилаланин. Сбалансированный комплекс важных минералов и микроэлементов, предназначенных для защиты печени, улучшения работы мозга и центральной нервной системы человека, регулирования уровня инсулина в организме и т. д., включает мясной белок и пептиды [19; 28; 63].

Особое место в производстве мясных продуктов занимают белки животного происхождения, одним из источников которых является коллагенсодержащее сырье – свиная шкура и кожа птицы, соединительная ткань, полученная при обрезке мяса, коллагенсодержащие субпродукты, которые могут использоваться в составе белково-жировых эмульсий. Использование субпродуктов, содержащих коллаген, в составе мясных продуктов позволяет не только снизить имеющийся дефицит пищевого белка, но и способствует расширению ассортимента и увеличению объемов производства продукции с невысокой стоимостью, а также улучшению экологического состояния прилегающих территорий мясоперерабатывающих предприятий [43].

2 Организация эксперимента, объекты и методы исследования

2.1 Организация эксперимента

Исследования проведены в лаборатории кафедры инфекционных болезней и ветеринарно-санитарной экспертизы ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный аграрный университет», кафедры пищевой инженерии и Едином лабораторном комплексе ФГБОУ ВО «Уральский государственный экономический университет» и аккредитованной лаборатории ЗАО «Комбинат пищевой «Хороший вкус» (г. Екатеринбург). Общая схема исследований представлена на рисунке 5.

На **первом этапе** проанализирована отечественная и зарубежная научно-техническая литература, посвященная характеристике, классификации ферментов, ферментных препаратов микробного, животного и растительного происхождения; исследованию биокаталитических технологий пищевых продуктов с использованием ферментов, способам микро- и нанокапсулирования ферментов; технологиям белковых препаратов ферментативного гидролиза и применению ферментов в производстве мясопродуктов.

На **втором этапе** усовершенствована технология растительного белкового препарата, полученного с использованием активированного протеолитического фермента трипсина. На данном этапе исследований определен оптимум активности фермента в зависимости от pH и температуры среды, изучено влияние видимого света на активность фермента, представлена экспресс-методика определения биокаталитической активности фермента с помощью тест-пластинки, предложены технологические этапы производства белкового препарата из семян люпина. Определены органолептические показатели, химический состав, функционально-технологические свойства, микробиологические показатели, микроструктура полученного белкового препарата.

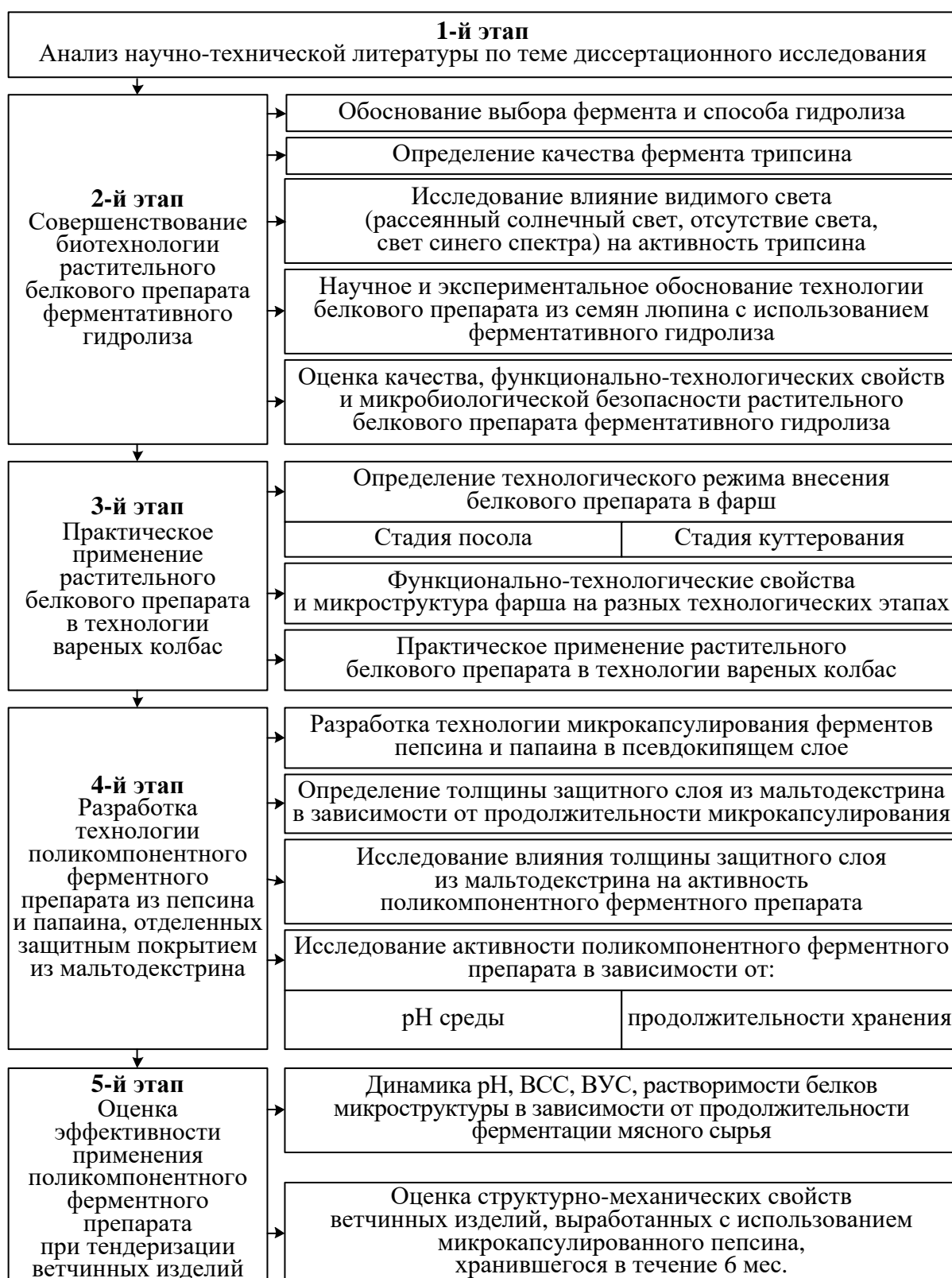


Рисунок 5 – Схема исследований

Третий этап посвящен практическому применению белкового препарата ферментативного гидролиза в технологии вареных колбас. На основании функци-

онально-технологических свойств и микроструктуры фарша определен технологический этап внесения белкового препарата. Исследованы показатели качества вареной колбасы с использованием белкового препарата.

На четвертом этапе разработана технология получения поликомпонентного ферментного препарата из пепсина и папаина, отделенных защитным покрытием из мальтодекстрина. На пепсин в псевдокипящем слое было нанесено защитное покрытие из мальтодекстрина, затем на мальтодекстрин нанесли папаин с последующим его микрокапсулированием в мальтодекстрин. С помощью электронной микроскопии определена зависимость толщины защитного покрытия из мальтодекстрина на ферменте от продолжительности микрокапсулирования. Изучено влияние толщины защитных покрытий, рН среды, продолжительности хранения на протеолитическую активность полученного поликомпонентного ферментного препарата, состоящего из микрокапсулированных пепсина и папаина.

На пятом этапе проведена оценка эффективности технологии получения поликомпонентного ферментного препарата из пепсина и папаина на основании изменения влагосвязывающей способности (ВСС), влагоудерживающей способности (ВУС), рН, микроструктуры и растворимости белков мясного сырья в зависимости от продолжительности ферментирования микрокапсулированным поликомпонентным ферментным препаратом. На основании исследований структурно-механических свойств ветчинных изделий доказана эффективность применения микрокапсулированного поликомпонентного ферментного препарата, состоящего из пепсина и папаина, хранившегося более 6 мес.

2.2 Объекты и методы исследований

Объектами исследований являются:

– семена люпина узколистного (*Lupinus angustifolius*) (сорт «Смена», репродукция – питомник размножения, всхожесть – 96 %, масса 1 000 семян – 125,3 г,

ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт люпина» (рисунок 6));

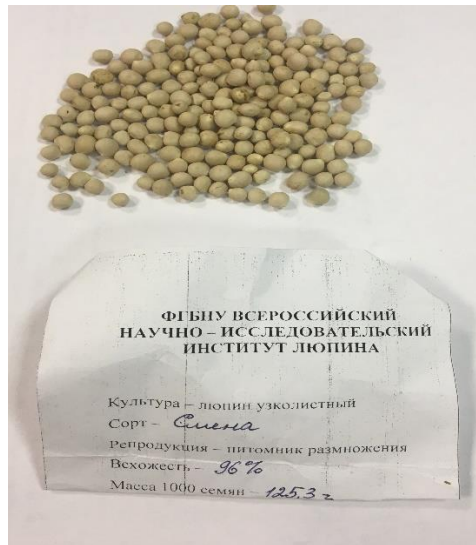


Рисунок 6 – Семена люпина узколистного (*Lupinus angustifolius*) (сорт «Смена»)

– семена люпина узколистного (*Lupinus angustifolius*) (сорт «Радужный», репродукция – питомник размножения, всхожесть – 88 %, масса 1 000 семян – 121,5 г, ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт люпина» (рисунок 7));



Рисунок 7 – Семена люпина узколистного (*Lupinus angustifolius*) (сорт «Радужный»)

– белковый препарат из семян люпина, полученный методом ферментативного гидролиза;

– фермент глюкоамилаза (*Glucoamylase*) жидкий, КФ 3.2.1.1, активность – 6 000 ед/мл, производитель – концерн «Микробиопром» (г. Москва);

– фермент трипсин (стандартный), КФ 3.4.21.4, молекулярная масса – 26 кДа, чистота – более 90 %, полученный из поджелудочной железы свиньи, активность 250 000 ЕД, производитель – ООО «Самсон-Мед» (г. Санкт-Петербург);

– контрольные образцы колбасы вареной «Докторская» (ГОСТ Р 23670-2019, производитель – ЗАО «Комбинат пищевой «Хороший вкус»);

– опытные образцы колбасы вареной с использованием растительного белкового препарата, полученного ферментативным гидролизом (производитель – ЗАО «Комбинат пищевой «Хороший вкус»);

– микрокапсулированный в защитное покрытие из мальтодекстрина поликомпонентный ферментный препарат, состоящий из пепсина (*Pepsinum*), КФ 3.4.23.1, активность – 300 000 ЕД, производитель Meito Sangyo Co., Ltd (Япония), и папаина (*Papain*), КФ 3.4.22.2, активность 10 000 unit/g = 5 tu/mg, производитель – Zhejiang Cathaya International Co., Ltd (Китай);

– задний окорок нежирной свинины без кости от охлажденных полутуш (ветчинные изделия) (1-я группа – контрольные образцы окорока, который шприцевали рассолом в количестве 15 % к массе сырья плотностью 1077,7 кг/м³, содержащим соль поваренную, нитрит натрия, чистый фермент пепсин, хранившийся более 6 мес., в количестве 0,15 % и сахарный песок; 2-я группа – опытные образцы окорока, который шприцевали рассолом, содержащим чистый фермент папаин, хранившийся более 6 мес.; 3-я группа – опытные образцы окорока, которые шприцевали рассолом, содержащим микрокапсулированный поликомпонентный ферментный препарат, состоящий из пепсина и папаина, хранившийся более 6 мес.

Нашприцованное рассолом мясное сырье выдерживали в посоле с микрокапсулированным ферментным препаратом (папаин + пепсин) в течение 5 ч. Затем соленые образцы формовали, подпетливали и подвергали термической обра-

ботке в соответствии с действующей технологической инструкцией на производство ветчинных продуктов из свинины.

Методы исследования. С целью активации фермента трипсина использовали биолампу «Аверс-Сан», излучающую встроенными светодиодами синий свет длиной волны 435–470 нм с мощностью потока излучения 35 мкВт/см². Для опыта приготовили 0,3 %-й раствор трипсина на фосфатном буферном растворе с рН 7,5 (оптимум активности фермента) и сделали разведение полученного раствора 1:2, 1:4 и т. д. до 1:256. Затем исследовали активность фермента путем нанесения 2–3 капель раствора на желатиновую пластинку, учет реакции проводили после 15–20 мин. Контрольные образцы раствора фермента трипсина светом синего спектра не обрабатывали (1-я группа), опытные образцы раствора трипсина облучали синим светом по указанной ранее схеме активации фермента (2-я группа). Активность трипсина определяли по экспресс-методике Л. Я. Телишевой [100] и выражали в единицах разведения: например, если фермент расщепляет желатин в разведении 1:16, то его активность составляет 16 ед.

Толщину защитного слоя из мальтодекстрина на ферменте определяли электронной микроскопией. Для определения микроструктуры при больших увеличениях и для микрорентгеноспектрального анализа отшлифованные образцы были исследованы с помощью растрового электронного микроскопа JeolJSM 6490LV. Характеристики микроскопа: ускоряющее напряжение: 0,2–30 кВ (20 кВ). Источник электронов: катод из гексаборида лантана (LaB₆); детекторы: детектор вторичных электронов (топографический контраст), твердотельный полупроводниковый детектор обратнорассеянных электронов (композиционный (химический) контраст, ориентационный контраст), детектор построения карт разориентации кристаллической решетки HKL Nordlys II; приставки: приставка для микрорентгеноспектрального, энергодисперсионного анализа Inca Dry Cool, приставка для микрорентгеноспектрального, волнового анализа Inca Wave; программное обеспечение Inca Feature.

Протеолитическую активность ферментов определяли по ГОСТ 34430-2108 «Ферментные препараты для пищевой промышленности. Метод определения про-

теолитической активности» по количеству тирозина, образующегося в результате гидролиза казеина. В качестве субстрата использовали казеин по Гамерстену по методике M. L. Anson [110]. Количество тирозина определяли спектрофотометрическим методом при длине волны 280 нм на спектрофотометре СФ-46.

Степень гидролиза белка изучали путем определения аминного и общего азота. Аминный азот определяли по ГОСТ Р 55479-2013 «Мясо и мясные продукты. Методы определения аминамиачного азота». Общий азот – методом Кьельдаля. Растворимость белков мышечной ткани – путем последовательного экстрагирования саркоплазматических и миофибриллярных белков по методике, описанной Н. К. Журавской [35].

Количество белковых соединений определяли по содержанию белкового азота, который рассчитывается как разница между общим и небелковым азотом при коэффициенте пересчета на азот, равном 6,25.

Небелковый азот (сумма азота, полипептидов и других азотистых соединений) определяли в минерализованном фильтрате в результате осаждения белков трихлоруксусной кислотой.

Для обоснования использования белкового препарата в производстве мясопродуктов проведены исследования его функционально-технологических свойств путем замены фарша из нежирной свинины на гидратированный белковый концентрат в соотношении 1:2 (концентрат – питьевая вода). Мясное сырье и гидратированный белковый препарат смешивали с помощью гомогенизатора. Полученные мясные системы помещали в стеклянные банки, герметично укупоривали металлическими крышками и нагревали до температуры 80–85 °С в течение 90–100 мин. В первой группе (контроль) замену мясного фарша на белковый препарат не проводили. Во второй группе мясных систем 10 % фарша заменили на гидратированный белковый препарат, в третьей группе – 20 %; в четвертой группе 30 %.

Выход мясного продукта путем определения массы до и после тепловой обработки выражали в процентах.

Срезы для микроструктурных исследований мышечной ткани готовили с помощью микротом МЗ-2 и подключенного к нему охладителя ОМТ 0228, затем

окрашивали гематоксилинэозином и исследовали под световым микроскопом при различных увеличениях.

Структурно-механические свойства ветчинных изделий определяли по величине напряжения среза и работы резания с помощью универсального устройства «Инстрон 1122».

Влагоудерживающую и жирудерживающую способность белкового препарата и мяса определяли по методике Н. К. Журавской [35], эмульгирующую способность – с помощью центрифугирования. Белковый препарат гомогенизировали в гомогенизаторе при добавлении воды и последующем внесении подсолнечного масла и дальнейшей эмульгацией, центрифугированием.

Содержание белка в белковом препарате определяли методом Кьельдаля, массовую долю жира – экстракцией в аппарате Сокслета, массовую долю золы – сжиганием навески в муфельной печи, массовую долю влаги – методом высушивания навески.

Дегустационную оценку вареных колбас проводили согласно ГОСТ 9959-2015 «Мясо и мясные продукты. Общие условия проведения органолептической оценки»; оценку микробиологических показателей – по ГОСТ 53354-2014, ГОСТ 31746-2012, ГОСТ 29185-91 и ГОСТ 10444.12-2013.

Полученные результаты обрабатывали с помощью компьютерной программы Statistica 9, достоверность полученных результатов составила 0,95; 0,99 ($P \leq 0,05$; $P \leq 0,01$).

3 Результаты исследований и их обсуждение

3.1 Совершенствование технологии получения растительного белкового препарата с помощью ферментативного гидролиза

3.1.1 Оценка качества трипсина путем определения оптимума его биокаталитической активности

Активность ферментов связана со значением pH среды. Некоторые протеолитические ферменты активны в сильнокислой среде при pH от 1,5 до 2 (например, пепсин). Проведены исследования определения оптимума pH трипсина. На рисунке 8 представлена зависимость протеолитической активности фермента трипсина от значения pH среды. Для эксперимента фермент трипсин растворили в фосфатно-буферном растворе (раствор А: 0,1М $C_6H_8O_7 \cdot H_2O$ (21,008 г/л) – лимонная кислота; раствор Б: 0,2М $Na_2HPO_4 \cdot H_2O$ (35,628 г/л) – натрий фосфорнокислый 2-замещенный с различной pH в соотношении 1:10).

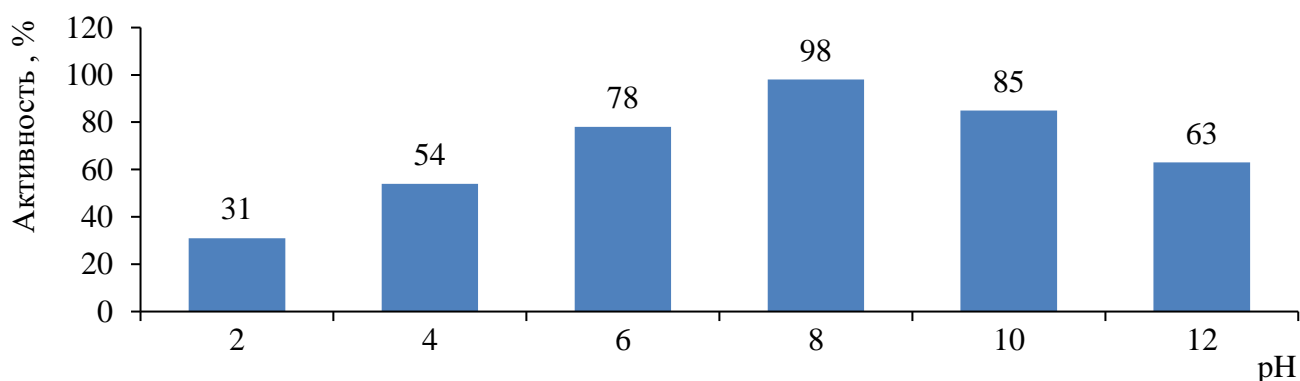


Рисунок 8 – Протеолитическая активность фермента трипсина в зависимости от значения pH среды при температуре 39 °С, %

Из рисунка 8 следует, что активность фермента возрастает со сдвигом рН в сторону нейтральных значений. Так, при рН на уровне 2 активность трипсина составляет 31 %, при рН 4 и 6 – на уровне 54 % и 78 % соответственно, оптимум активности фермента наблюдается при рН среды 8, с увеличением рН отмечается снижение активности трипсина. Так, при рН 10 активность составляет 85 %, при рН 12 – 63 %.

На рисунке 9 представлено влияние температуры на активность фермента трипсина при оптимуме значения рН среды.

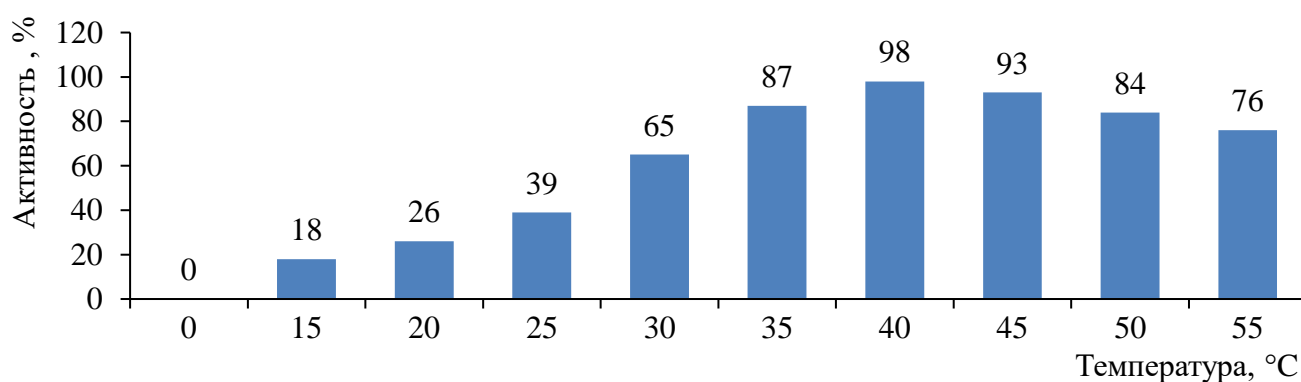


Рисунок 9 – Влияние температуры на активность фермента трипсина при оптимуме значения рН

Данные рисунка 9 показывают, что максимальная протеолитическая активность трипсина отмечается при температуре 40 °С и снижается с увеличением температуры среды. Так, протеолитическая активность при температуре 45; 50 и 55 °С составляет 93 %; 84 % и 76 %. С увеличением температуры среды с 0 °С до 40 °С активность фермента возрастает и находится на уровне 18 %; 26 %; 39 %; 65 %; 87 % и 100 % при температуре 15; 20; 25; 30; 35 и 40 °С.

Таким образом, оптимум активности трипсина отмечается при рН, равном 8, и температуре 40 °С.

Для увеличения активности биоагентов в биотехнологии используют различные физико-химические методы, в частности, экспозицию спектрами солнечного света. Но вместе с тем информации по влиянию различных спектров света на

биокаталитическую активность протеолитических ферментов в научно-технической литературе недостаточно для определения технологии активации или деактивации ферментов, хотя можно предположить, что ферменты имеют фоторецепторную систему, сходную по химической структуре с фитохромами растений.

3.1.2 Исследование влияния света на протеолитическую активность фермента трипсина

В биотехнологии особое внимание уделяется изучению влияния различных физических факторов на биообъекты. При этом исследования по влиянию света различного спектра на активность, метаболизм и другие биологические функции нефотосинтезирующих организмов и биологически активных веществ практически отсутствуют, хотя некоторые из указанных веществ могут иметь или имеют фоторецепторную систему, что подтверждается исследованиями [47; 98] по влиянию света разного спектра на дрожжевые клетки *Saccromyces cerevisiae*. В результате исследований установлено достоверное увеличение массы дрожжей на фоне их экспозиции светом синего и красного спектров. Так, в опытной группе (облучение дрожжей синим светом) прирост биомассы увеличился на 10 % по сравнению с контролем (отсутствие света), в другой опытной группе (облучение красным светом) прирост биомассы увеличился на 5 % по сравнению с образцами дрожжей контрольной группы. В исследовании [47] полученные биоэффекты объясняются возможностью поглощения энергии света синего спектра митохондриями и, соответственно, увеличением биосинтеза макроэргов, а также прямым поглощением квантов синего света элементами митохондриальной энергетической системы, что приводит к повышенному синтезу макроэргов. В дрожжевой клетке имеется аналог фоторецептора – хромопротеид, под действием энергии света он локально нагревается и передает тепло мембране и всей клетке, что приводит к усилению метаболизма и росту дрожжей. Что касается красного света, то он тоже влияет на

биообъекты, но в меньшей степени из-за меньшей энергии квантов [44]. В нашем эксперименте гипотеза активации фермента светом следующая. Для эксперимента фермент трипсин растворяли в воде. Как известно, вода обладает памятью на различные физические воздействия, в том числе на электромагнитное излучение, что выражается в изменении физико-химических свойств за счет информационного взаимодействия структуры воды или – в нашем случае – раствора фермента с объектами различной природы. Вода сохраняет приобретенные свойства и полученную информацию. В качестве переносчиков информации могут рассматриваться различные электромагнитные поля, которые создаются под действием света. Физические поля дистанционно взаимодействуют с веществами, растворенными в ней, и становятся своеобразными носителями информации, что приводит к изменению структуры и эффектам релаксации, т. е. запаздывания изменения физико-химических свойств по отношению к вызывающим их воздействиям [44]. Полученные эффекты могут проявляться в активации трипсина.

Гипотезу воздействия синего света на активацию фермента можно рассматривать с двух сторон.

1. Обратимая активация биокаталитической активности за счет диссипирующей в тепло энергии света и создания благоприятных «мгновенных» стерических деформаций в активном центре фермента.

2. Необратимая активация фермента, которая обуславливается разрывом или, наоборот, образованием ковалентных связей.

В качестве примера первого направления активации фермента можно рассмотреть увеличение активности энзимов, в частности, ферментов фотолиазы и альдолазы под действием света. В частности, для активации фотолиазы при комплексировании с субстратом в темноте требуются кванты света. Каталитическую активность альдолазы усиливает свет, который поглощается и ферментом, и субстратом.

Примером второго направления активации фермента является усиление катализа протеолитическим ферментом папаином, у которого под действием света

разрушается аминокислотный остаток, что приводит к ускорению конформационной активности [44].

Что касается поглощения квантов света, то согласно закону Ламберта – Бера абсолютное количество поглощенной энергии прямо пропорционально мощности светового потока. Следует отметить, что свет разной длины волн поглощается одним и тем же веществом неодинаково, поглощение зависит от способности вещества иметь определенный спектр поглощения. Возможно, трипсин имеет спектр поглощения синего света.

Целесообразно рассмотреть природу поглощения света. Выделяют квантовую и волновую природы света. При квантовой вся энергия света поглощается полностью и сразу молекулой, что является непрерывным процессом. Волновая теория заключается в том, что поглощение света происходит в результате взаимодействия электронного облака молекулы с электрическим вектором волны.

На основании вышеизложенного можно предположить, что высокая энергия квантов синего света позволит повлиять на каталитическую активность трипсина.

В связи с этим нами для активации протеолитического фермента использован свет синего спектра. По завершении эксперимента по влиянию синего света на активность трипсина в работе нами более подробно представлен возможный механизм действия синего света на фермент.

Предварительно нами проведен эксперимент по исследованию влияния всего спектра солнечного света (1-я контрольная группа), синего спектра с длиной волны 435 и 470 нм (3-я опытная группа) и отсутствия света (2-я опытная группа) на биокаталитическую активность трипсина. Активность фермента контрольной группы взяли за 100 %. Время экспозиции светом фермента обусловлено аналогичным экспериментом по влиянию солнечного света на активность протеазы, результаты которого представлены в работах [6; 23].

Результаты исследований представлены в таблице 3.

Экспозицию светом фермента проводили биолампой «Аверс-сан» со встроенными светодиодами, излучающими свет синего спектра с длиной волны 435–470 нм при мощности светового потока на уровне 35 мкВт/см².

Таблица 3 – Влияние видимого света на активность протеолитического фермента трипсина при температурном оптимуме и рН

Характеристика светового потока	Время экспозиции, мин	Протеолитическая активность, %
Рассеянный солнечный свет (1-я контрольная группа)	480	100
Отсутствие света (2-я опытная группа)	–	118
Синий свет с длиной волны 435–470 нм (3-я опытная группа)	480	146

Для регуляции фотоморфогенетических процессов в биообъекте можно использовать свет синего спектра (430–470 нм). Такой спектр отличается незначительной абсорбцией, рассеиванием в жидкости и выраженным фотохимическим эффектом за счет многоквантового поглощения [111].

Из данных таблицы 3 следует, что свет длиной волны 435–470 нм с мощностью светового потока 35 мкВт/см² оказывает положительное влияние на активность трипсина. Так, при облучении светом синего спектра раствора трипсина его активность составляет 146 %, при отсутствии света – 118 %. Возможно, полученные результаты связаны с фотохимическими и фотобиологическими эффектами света синего спектра, что согласуется с результатами исследований [176], свидетельствующими о том, что в биообъекте энергия света модифицируется в химическую. По данным [138], минимальное количество информации, необходимое для появления изменений в клетке, составляет 10–23 бит, что связано с особенностями белков генетической информации.

Нами проведен эксперимент по определению активности фермента трипсина, облученного светом синего спектра. Для опыта подготовили 0,3 %-й раствор трипсина на фосфатном буферном растворе с рН 8,0, так как указанная рН является оптимальной, что установлено в исследованиях, проведенных нами ранее. Сделали разведение раствора фермента в дистиллированной воде в соотношении раствор фермента – дистиллированная вода 1:2, 1:4, 1:6, 1:8 и т. д. до 1:256. Активность фермента определяли экспресс-методикой путем нанесения 1–3 капель раствора фермента на желатиновую пластинку и выдерживания в течение 10–15 мин,

затем проводили учет реакции. Согласно экспресс-методике Л. Я. Телишевой [100], желатиновую тест-пластинку после нанесения фермента необходимо поместить в термостат при температуре 37 °С и выдержать 20–30 мин. Следует отметить, что рекомендуемая температура 37 °С при исследовании активности фермента приводит к размягчению желатиновой пластинки, что не позволяет правильно визуально оценить активность фермента, что связано с термообратимостью геля.

Нами проведены исследования по совершенствованию состава тест-пластинки. Для обоснования внесения новых компонентов в тест-пластинку целесообразно рассмотреть механизм образования геля из желатина. Гелеобразование связано с формированием трехмерной сетчатой структуры, как и при использовании любого желирующего агента. Следует отметить, что при температуре более 40 °С растворенные молекулы желатина состоят из отдельных спиралей, при снижении температуры до 30 °С, т. е. ниже точки затвердевания, образуется гель за счет водородных связей, обеспечивающих стабилизирование структуры. В связи с этим нами предложено модернизировать состав желатиновой тест-пластинки путем введения агара в воду с желатином с нагреванием и разливанием жидкости в чашки Петри. Применение агар-агара в составе желатиновой тест-пластинки обусловлено его физическими свойствами, а именно: гелеобразующая способность агар-агара в 10 раз выше, чем у желатина, он набухает в холодной воде и образует гель при нагревании, который отличается высокой прочностью при охлаждении.

Технология тест-пластинок следующая: берут агар-агар и желатин в соотношении 1:10, перемешивают с помощью магнитной мешалки ПЭ-6119 при 1 200 об/мин в течение 3–5 мин, смесь помещают в емкость, заливают десятикратным количеством дистиллированной воды и выдерживают в течение 30–40 мин до набухания агара и желатина, затем набухший раствор помещают на водяную баню при температуре 70–75 °С до образования геля. Жидким гелем заполняют на 2/3 чашки Петри и охлаждают. Исследованиями установлено, что полученные тест-пластинки стабильны к термообратимости при температурном оптимуме активности фермента.

Для проведения эксперимента контрольный раствор фермента (экспозицию синим светом не проводили) в указанных выше соотношениях в количестве 2–3 капель наносили на желатиновую пластинку и выдерживали при комнатной температуре, затем проводили учет реакции. Опытные образцы раствора трипсина в соотношениях 1:2, 1:4, 1:6, 1:8 и т. д. до 1:256 облучали биолампой «Аверс-сан» в течение 8 ч, наносили по 2–3 капли на разработанную тест-пластинку при температуре 37 °С и учитывали реакцию через 10–15 мин. Учет реакции проводили на основе визуального выявления на пластинке ямок различного радиуса, образованных в результате гидролиза коллагенсодержащего белка желатина. При этом активность фермента выражали в единицах: например, при образовании ямки на желатиновой пластинке на месте нанесения капель раствора фермента в соотношении 1:32 активность фермента составляет 32 ед.

На рисунке 10 представлен учет реакции активности трипсина через 15 мин после нанесения, разведение фермента в соотношении 1:128.



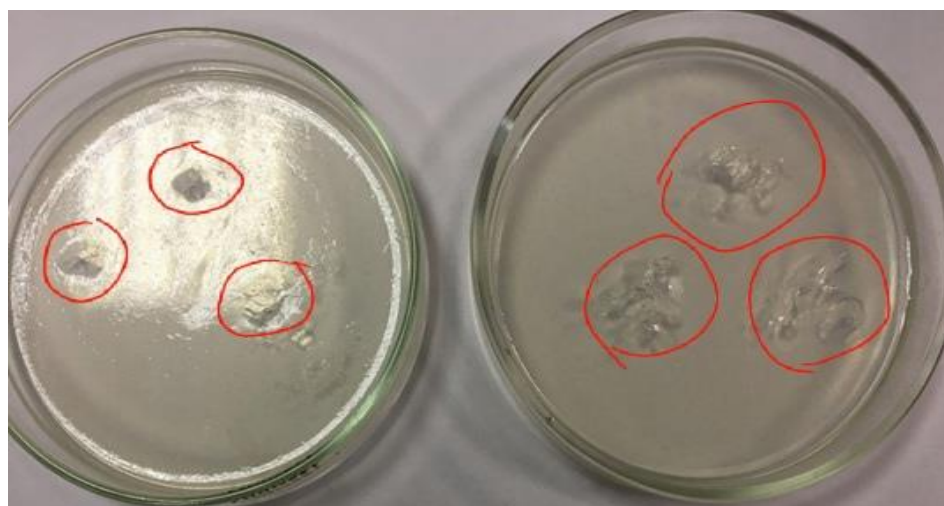
a – контрольный образец *b* – опытный образец

Рисунок 10 – Учет реакции активности трипсина через 15 мин после нанесения (разведение в соотношении 1:128)

На рисунке 10 выделены области гидролиза тест-пластинки. Трипсин, облученный синим светом, начинает проявлять активность в разведении 1:128, в то

время как контрольные образцы не расщепляют тест-пластинку при указанном разведении.

Активность трипсина, облученного синим светом, значительно выше в сравнении с контрольными образцами, о чем свидетельствует диаметр и глубина ямок на желатиновой пластинке после нанесения ферментов. Так, диаметр ямок на желатиновой пластинке с ферментом, облученным синим светом, составляет от 28 до 36 мм, в то время как у контрольных образцов – 10–14 мм. Установлено, что активность контрольных образцов фермента составляет 32 ед. при разведении фермента с дистиллированной водой в соотношении 1:32 (рисунок 11), в то время как активность образцов фермента опытной группы находится на уровне 128 ед.



а – контрольный образец

б – опытный образец

Рисунок 11 – Учет реакции активности трипсина через 15 мин после нанесения (разведение в соотношении 1:32)

Следовательно, облучение раствора трипсина светом синего спектра с длиной волны 435–470 нм позволяет увеличить его активность в 3 раза.

В результате исследований усовершенствована экспресс-методика определения протеолитической активности фермента путем повышения температуры гидролиза тест-пластинки до температурного оптимума активности фермента, что позволяет снизить время учета реакции с 20–30 до 10–15 мин. Можно предполо-

жить, что механизм усиления активности фермента на фоне облучения синим светом обусловлен двумя факторами. Первый связан с присутствием в трипсине аминокислотных остатков, которые образуют полипептидную цепь. Известно, что некоторые белки и аминокислотные остатки воспринимают свет и, соответственно, реагируют на него. Такие белки называют фотоактивируемыми и ретинилиденовыми. Под действием света происходит расщепление полипептидных цепей, например, трипептида His62-Tyr63-Gly64. Ретинилиденовые белки (в частности, каналродопсины или галородопсины) имеют светочувствительные катионные и хлоридные каналы, которые открываются при освещении синим светом. Следовательно, указанные изменения в трипсине под действием света могут привести к усилению биокаталитической активности фермента.

Механизм активации фермента под действием света также может быть связан с процессом фотореактивации – фотохимическим процессом восстановления поврежденных белковых молекул. Теоретическим обоснованием повышения активности трипсина под действием синего света является влияние световой энергии на материальные частицы (остатки белковых молекул в трипсине) путем повышения их химической энергии. Видимый свет относится к электромагнитному излучению, при этом каждой длине волны соответствует определенное количество энергии. Если сравнивать видимый свет с классическими механическими волнами в газах, жидкостях и твердых телах, в которых показателями энергии являются амплитуда и квадрат амплитуды, то энергия электромагнитного излучения определяется интенсивностью светового потока. При этом энергия света раздроблена на порции, получившие название квантов. Величина энергии квантов и определяет изменения в трипсине. Многие процессы в веществе характеризуются пороговой энергией: если отдельные кванты несут меньшую энергию, то как бы много их ни было, они не смогут спровоцировать надпороговый процесс. В качестве доказательства вышеизложенного можно привести следующий пример. Энергии СВЧ-квантов хватает для возбуждения вращательных уровней основного электронно-колебательного состояния некоторых молекул, например, воды. Энергии в доли электрон-вольта хватает для возбуждения колебательных уровней основного состояния в атомах

и молекулах. Кванты синего света имеют энергию 2–3 эВ с интенсивностью светового потока 35 мкВт/см² – этого достаточно для нарушения химических связей и провоцирования некоторых химических реакций, например, тех, что протекают при гидролизе белка. Более того, согласно закону сохранения энергии, энергия не исчезает и не создается, а переходит из одного вида в другой. Соответственно, энергия квантов синего света переходит в химическую энергию, необходимую для усиления катализа.

3.1.3 Научное и экспериментальное обоснование технологических этапов и режимов производства белкового препарата из семян люпина с использованием ферментативного гидролиза

Технологическая схема растительного белкового препарата из семян люпина представлена на рисунке 12.

Замачивание семян люпина в растворе натрия хлорида с концентрацией соли (1-й технологический этап) проводили для удаления оболочки, являющейся источником веществ – ингибиторов трипсина, который нами будет в дальнейшем использован для гидролиза белка. Одним из показателей качества белка является его перевариваемость. На этот показатель растительного белка влияет наличие ингибиторов протеаз [5; 33; 102]. Поскольку мы использовали ферментативный гидролиз белков люпина, необходимо удалить вещества, ингибирующие ферментативную активность трипсина.

Вместе с тем семена люпина содержат незначительное количество ингибиторов трипсина, таких как лектины – вещества, ингибирующие протеазы, что является обоснованием для использования семян люпина в качестве основного сырья для производства белкового препарата. При сравнении с семенами сои, в которых содержится 29–32 г на 1 кг инактивированного трипсина, в семенах люпина

от 2 до 2,5 г на 1 кг, что характеризует их как более ценное сырье для производства продуктов питания [76; 192].

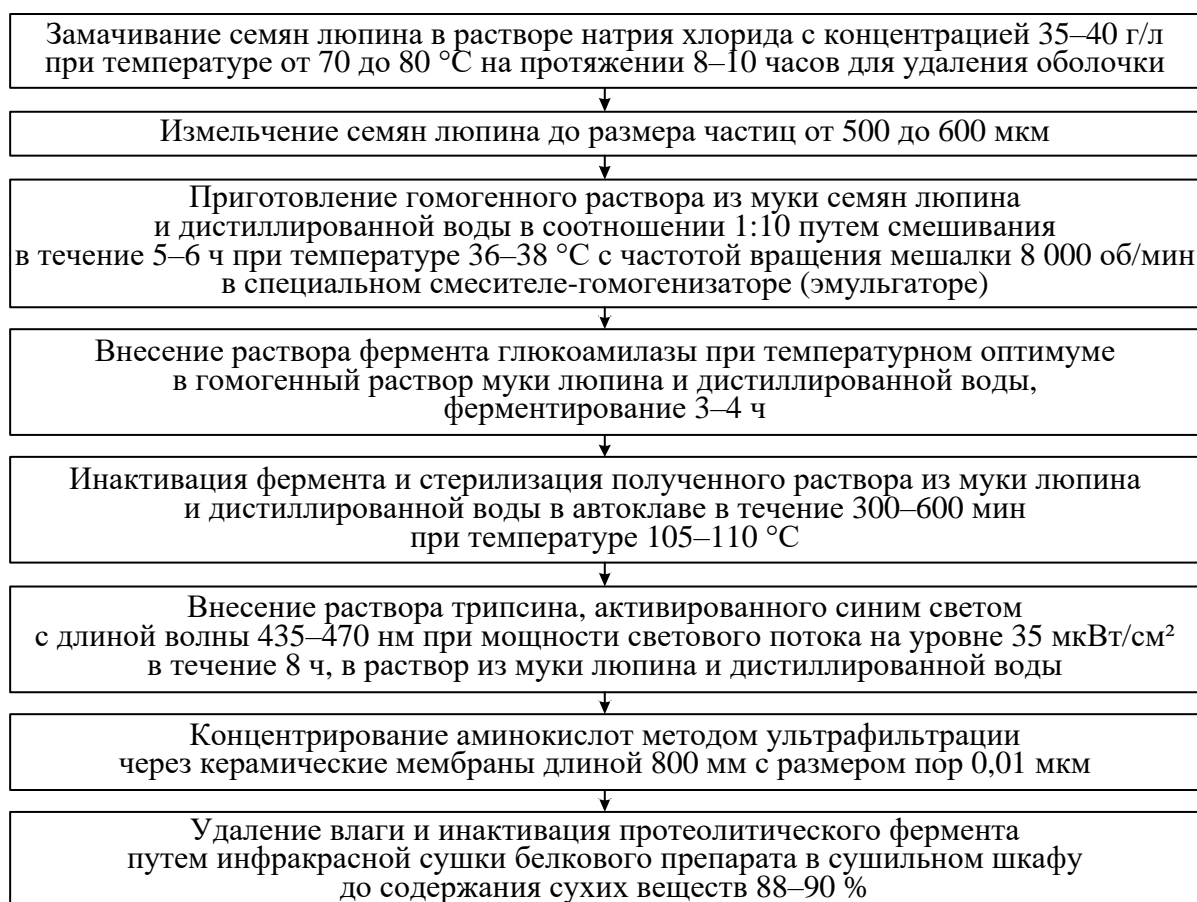


Рисунок 12 – Технологическая схема растительного белкового препарата из семян люпина

В таблице 4 представлена алкалоидность и трипсинингибирующая активность семян люпина, используемого в пищевой промышленности и производстве кормов для сельскохозяйственных животных, по данным [106].

Из данных таблицы 4 следует, что ингибирующая активность трипсина семян люпина узколистного и радужного ниже на 89,24 % в сравнении с семенами, используемыми при производстве кормов для сельскохозяйственных животных. В связи с этим нами в качестве объекта исследований использованы семена люпина узколистного и радужного. Следует отметить, что использованные нами сорта люпина содержат незначительное количество ингибиторов протеолитических

ферментов, что позволяет говорить о высокой перевариваемости и биодоступности белка.

Таблица 4 – Алкалоидность и трипсинингибирующая активность семян люпина, используемых в пищевой промышленности, и семян люпина, используемых при производстве кормов для сельскохозяйственных животных [106]

Показатель	Семена люпина радужного, используемые в пищевой промышленности	Семена люпина узколистного, используемые в пищевой промышленности	Семена люпина, используемые при производстве кормов для сельскохозяйственных животных
Алкалоидность, %	0,001	0,0001	0,017
Активность трипсинингибирующая, МЕ/мл	2,3	2	18,6

В дальнейшем разработанный нами белковый препарат применяли в производстве вареных колбасных изделий, что позволило обеспечить высокую биологическую ценность готового пищевого продукта. Более того, низкое содержание ингибиторов протеолитических ферментов способствует снижению аллергических реакций [4].

Другое важное обоснование использования семян люпина для получения белкового препарата и дальнейшего его использования в рецептуре пищевых продуктов связано с возможностью снижения уровня глюкозы и холестерина в крови [51]. Из вышеизложенного следует, что содержание ингибиторов трипсина в семенах люпина незначительно, при этом основное их количество находится в оболочке семян. Удаление оболочки люпина позволяет использовать трипсин для ферментативного гидролиза семян люпина, а полученный белковый концентрат позиционировать как растительный белковый продукт, не содержащий ингибиторов трипсина.

Следующим технологическим этапом является измельчение семян люпина до размера частиц от 500 до 600 мкм для обеспечения дисперсности продукта

и, соответственно, повышения эффективности дальнейшего удаления крахмала из продукта и ускорения ферментативного катализа.

Гомогенизацию раствора из муки семян люпина и дистиллированной воды проводили для набухания зерен крахмала люпина в процессе адсорбции воды и получения пищевой системы с жидкой дисперсной средой (дистиллированная вода), с твердой дисперсной фазой (частицы люпина размером от 500 до 600 мкм), что позволяет обеспечить равномерную скорость последующего ферментативного катализа.

Раствор фермента в гомогенную массу вносили с целью удаления крахмала и дальнейшего получения белкового продукта с минимальным содержанием углеводов.

Нагревание гомогенной массы проводили для инактивации фермента глюкоамилазы.

Экспозицию раствора трипсина светом синего спектра проводили для повышения его протеолитической активности.

Ультрафильтрацию раствора осуществляли для концентрирования низкомолекулярных белковых соединений, снижения микробной обсемененности полученного продукта и разрушения антигенов, так как в большинстве случаев причиной аллергии являются крупные молекулы белка [184; 190]. Современные технологии позволяют в значительной степени преодолеть эти трудности посредством мембранной ультрафильтрации и (или) нанофильтрации в сочетании с ферментативным гидролизом [148; 187].

На заключительном этапе для увеличения продолжительности хранения и получения продукта с высокой концентрацией белка в сухом веществе белковый препарат подсушивали с помощью инфракрасной сушки.

Целесообразно более подробно представить технологию и определить рациональные и оптимальные технологические параметры некоторых производственных этапов получения растительного белкового препарата.

На первом технологическом этапе производства нами была удалена оболочка семян люпина путем замачивания в растворе поваренной соли (35–40 г/л ди-

стиллированной воды) на 8–10 ч при нагревании до 80 °С. Указанные технологические режимы позволили эффективно удалить оболочку с семян в универсальном гомогенизаторе. В емкость гомогенизатора (рисунок 13) загружали семена люпина, заливали раствором натрия хлорида на дистиллированной воде в соотношении 1:10 и закрывали крышкой.

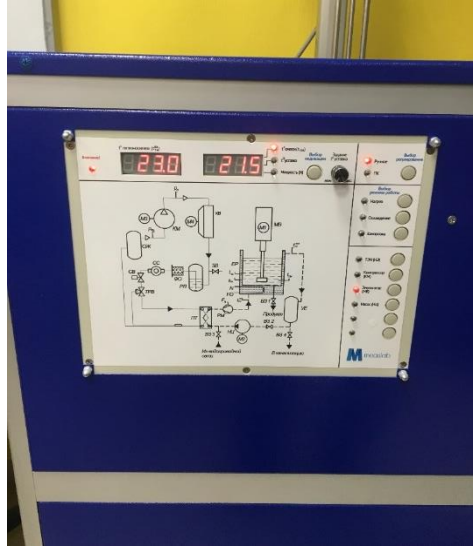


Рисунок 13 – Внешний вид и панель управления экспериментального гомогенизатора

На рисунке 14 представлена оболочка семян люпина после отделения.



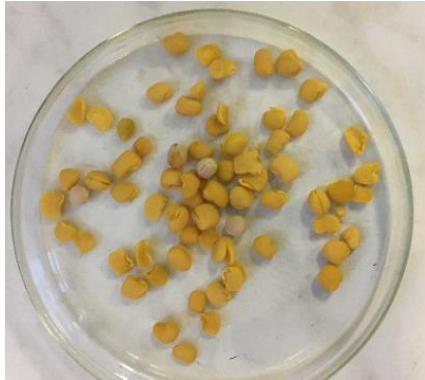
a – отделившаяся оболочка семян люпина сорта «Радужный»



б – отделившаяся оболочка семян люпина сорта «Смена»

Рисунок 14 – Оболочка семян люпина после замачивания в растворе натрия хлорида с концентрацией соли 40 г/л при температуре от 70 до 80 °С

На рисунке 15 представлены семена люпина без оболочки.



a – сорт «Радужный»



б – сорт «Смена»

Рисунок 15 – Семена люпина без оболочки

После отделения оболочки от семян приступали ко второму технологическому этапу – измельчению семян люпина без оболочки.

Затем нами для получения муки из семян люпина с размером частиц от 500 до 600 мкм использован «Термомикс ТМ 31». Для этого семена после предварительного измельчения помещали в емкость «Термомикса» и включали режим «Турбо размельчение» с оборотами ножа 10 200 об/мин. Измельчали в течение 6–8 мин.

Следующим технологическим этапом производства белкового препарата является приготовление гомогенного раствора из муки, полученной из семян люпина, и дистиллированной воды в соотношении 1:10 при температуре 36–38 °С. Для гомогенизации раствора и получения эмульсий нами совместно с кандидатом технических наук, доцентом кафедры пищевой инженерии Уральского государственного экономического университета С. В. Шихалевым разработан и сконструирован универсальный гомогенизатор-эмульгатор с меняющимися насадками для смешивания и гомогенизации в зависимости от дисперсной фазы и дисперсной среды. Целесообразно рассмотреть принципиальную схему работы гомогенизатора (рисунок 16).

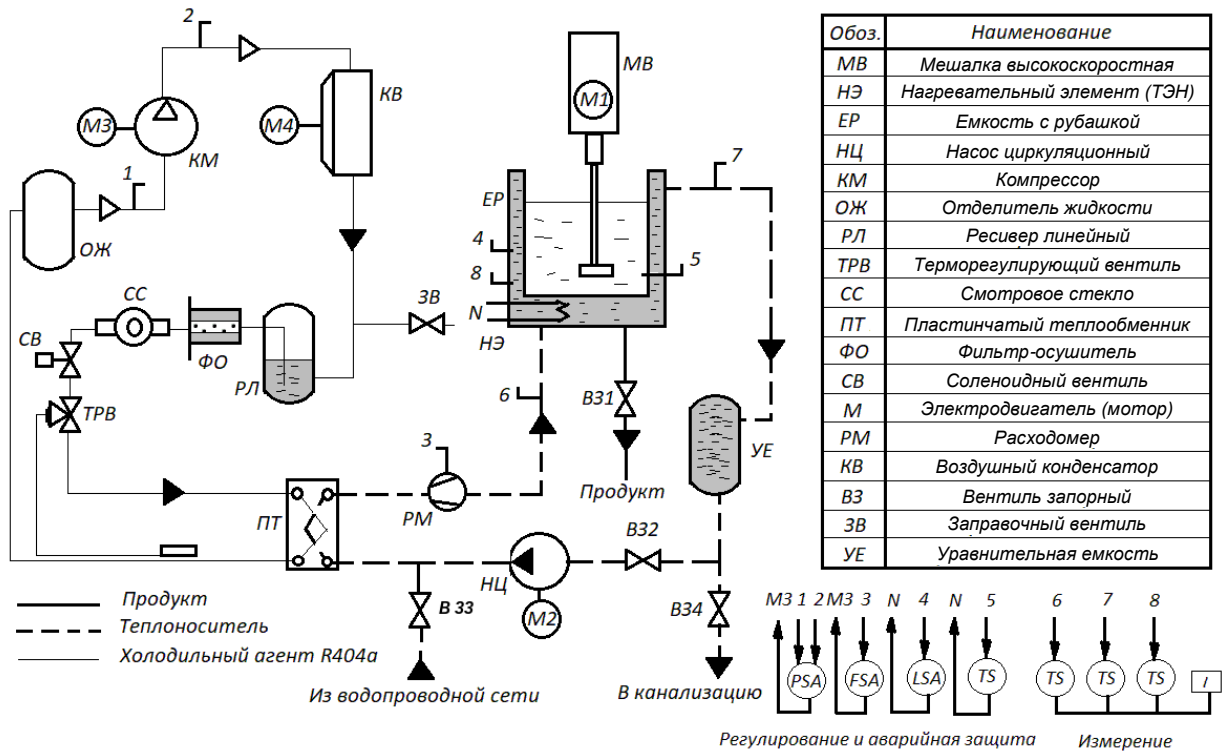


Рисунок 16 – Принципиальная схема гомогенизатора (синхронно-смесительная установка)

Гомогенизатор предназначен для гомогенизации и эмульгирования пищевых продуктов. Исходные компоненты загружали в емкость с рубашкой EP и нагревательными элементами трубчатого типа НЭ, благодаря которым продукт доводится до заданной температуры. Для этого сначала выключается насос НЦ, затем открываются запорные вентили В33 и В34 и осуществляется циркуляция воды в рубашке емкости. Достоинством гомогенизатора является то, что можно быстро охладить полученный продукт (до температуры 4 °С) с помощью холодильной установки, которая запускается после закрытия вентиля В34, возможный имеющийся воздух выпускается через кран Маевского. Для охлаждения продукта до заданной температуры после заполнения циркуляционного контура водой (уравнительная емкость UE должна быть заполнена водой) закрывали вентиль В33, а вентиль В32 открывали и включали насос и компрессор холодильной установки. Достоинством гомогенизатора является то, что возможна в нем и заморозка продукта, для этого нужно слить воду из циркуляционного контура и залить эти-

ленгликоль определенной концентрации. Данные с датчиков отображаются на двух дисплеях: на одном – температура текущего теплоносителя, на другом – температура смеси и текущая мощность нагревателя. Работа всех кнопок блока управления продублирована на экране компьютера.

Процессы эмульгирования и гомогенизации раствора муки из семян люпина осуществляли в емкости гомогенизатора с использованием насадок для миксера L5M компании «Сильверсон» (МВ), что позволяет перемешивать объемы в диапазоне от 1 мл до 12 л, со скоростью до 20 л/мин. Скорость вращения миксера регулировали (возможность регулирования от 0 до 8 000 об/мин) во время гомогенизации, потом устанавливали режим фиксированной скорости вращения 8 000 об/мин, так как при этом режиме достигается максимальная эффективность перемешивания. Гомогенизация раствора проводилась с использованием перемешивающего механизма, состоящего из насадки и головки-сита, который перемещается по стойке при помощи электродвигателя. Для перемешивания использовали головку-сито № 3 с отверстиями 10–14 мм, что позволяет получить высокую степень гомогенизации раствора согласно информации, приведенной в инструкции по эксплуатации гомогенизатора. Время гомогенизации составило 6 ч, его устанавливали с помощью таймера; температуру 10–12 °С задавали кнопкой «Нагрев» на блоке управления в ручном режиме (можно с компьютера, подключенного к гомогенизатору). Работа гомогенизатора начиналась с опроса всех датчиков систем (температуры, вращения мешалки, компрессора) гомогенизатора. Результаты циклического опроса выводятся на монитор компьютера, подключенного к гомогенизатору. В процессе гомогенизации на дисплей устройства выводилась температура, при которой осуществляется процесс. Контроль за выполнением установленного нами режима гомогенизации индуцировался светодиодным индикатором красного цвета. Работа всех систем гомогенизатора выводилась на дисплей компьютера.

Следующим этапом получения белкового препарата является введение в гомогенный раствор фермента глюкоамилазы с целью дальнейшего расщепления и удаления крахмала. Ферментативный гидролиз крахмала начинается в процессе нагревания полученной гомогенной массы для разрушения гранул и введения

фермента в раствор. Известно, что зерна крахмала растворяются в воде плохо, но при повышении температуры они набухают за счет адсорбции влаги, соответственно вязкость раствора увеличивается, затем происходит растворение зерен крахмала при повышении температуры. Гидролиз крахмала проводили при температуре 70–78 °С в течение 5–6 ч в использованном ранее гомогенизаторе.

Целесообразно дать характеристику и раскрыть механизм используемого фермента. Глюкоамилаза относится к глюкогидролазам и представляет ферменты амилазы.

Обоснование использования глюкоамилазы для деструкции крахмала. По механизму действия амилазы делятся на два типа: эндоамилазы и экзоамилазы. К первому типу относится α -амилаза (КФ 3.2.1.1), которая способна разрывать α -1,4 связи в субстрате, в то время как глюкоамилаза (аминоглюкозидаза) является энзимом, атакующим субстрат с невосстанавливающего конца, и ее эффективность значительно выше по сравнению с амилазой, так как она полностью расщепляет крахмал до глюкозы путем взаимодействия с концами амилозы и амилопектина. Более того, использование глюкоамилазы связано с ее широким оптимумом активности (от кислого рН 3,5–5,5 до нейтрального рН 6,0–7,5). В нашем эксперименте использованы кислые и нейтральные глюкоамилазы в соотношении 1:1.

Целесообразно рассмотреть механизм действия глюкоамилазы применительно к нашему субстрату (семена люпина). В данном случае активность глюкоамилазы может быть обусловлена гипотезой об «активной полости», которая предполагает смещение гликозидного остатка до образования глюкозы. Более того, активность «активной полости» глюкоамилазы не зависит от гликозидного остатка, который в нее попадает. Выделяют принципиально разные механизмы отщепления глюкозных остатков с молекулы субстрата:

– быстрая одноцепочечная атака, при которой фермент расщепляет все имеющиеся гликозидные связи;

– неупорядоченная атака, при которой фермент многоцепочечно разрывает гликозидную связь в субстрате, а потом образует субстратный комплекс с другой молекулой и т. д.;

– множественная атака, при которой происходит одновременно несколько каталитических реакций.

Следует отметить, что неупорядоченная и множественная атака фермента на субстрат – это два редких случая катализа, так как нет теоретической причины, по которой субстрат не стал бы взаимодействовать с активным центром фермента без диссоциации фермент-субстратного комплекса или взаимодействовал только с разрывом несколько гликозидных связей в субстрате [103].

Из вышеизложенного следует, что высокая активность фермента глюкоамилазы определяется его широким оптимумом активности и механизмом действия, что послужило основанием его использования при гидролизе зерен крахмала семян люпина.

Под действием фермента амилолитического действия (глюкоамилазы) крахмал, присутствующий в гомогенном растворе из муки из семян люпина и дистиллированной воды, гидролизуется до небольших декстринов, создавая необходимые условия для их удаления.

Однако этим не ограничивается эффект, получаемый при обработке муки из семян люпина. Удаление крахмала позволяет снизить набухание оставшихся зерен крахмала, что приводит к снижению вязкости продукта и имеет большое значение в производстве белкового препарата. Следует отметить, что количество поврежденных зерен крахмала зависит от их доступности для фермента и дисперсности муки. После ферментирования инактивировали фермент подъемом температуры в гомогенизаторе до 105–110 °С. Нагрев до 110 °С приводит к разжижению крахмала и полному диспергированию глюкоамилазы.

На следующем этапе проводили центрифугирование гомогенного раствора муки люпина и дистиллированной воды в течение 400–500 с при 3 000–3 200 об/мин.

Для дальнейшего производства белкового препарата подготавливали протеолитический фермент трипсин путем его обработки светом синего спектра с длиной волны 435–470 нм при мощности светового потока на уровне 35 мкВт/см²

в течение 8 ч (представленная выше и апробированная нами ранее технология активации фермента).

Следующим этапом получения белкового препарата является введение в охлажденный раствор протеолитического фермента при температурном оптимуме активности трипсина 37–40 °С и выдерживание в течение 8 ч.

Важным моментом при производстве белкового препарата является определение степени гидролиза белка по отношению числа расщепленных пептидных цепей к общему числу имеющихся. В разрывании пептидных связей участвуют молекулы воды, что и определяет состав сухого вещества (СВ) полученного препарата. Например, белковый изолят – это продукт, где белок гидролизован на 25 % и содержание белка в сухом веществе составляет не менее 90 %. При этом на каждые четыре молекулы аминокислот приходится только одна молекула воды, что соответствует 20 % воды. Вместе с тем при определении белка методом Кьельдаля возможны погрешности, и содержание белка составит 86 %. Указанную погрешность мы учитывали при определении содержания белка в белковом препарате.

Контролировать степень гидролиза можно по образованию аминогрупп, по кислотности пептидов или по другим их свойствам.

Наиболее точным является рН-статистический метод. Его преимуществом является возможность онлайн-измерений, однако он имеет и некоторые недостатки. Рабочий интервал значений рН ограничен диапазоном 7–9 (в этом интервале карбоксильные и аминогруппы диссоциированы, и гидролиз одной связи дает один протон). Ионизация групп в интервале рН 4–7 не приводит к получению одного иона H^+ или OH^- . В связи с этим точное определение степени гидролиза по изменению рН или по числу эквивалентов основания, требующихся для поддержания значения рН на постоянном уровне, в этом интервале невозможно. При $pH < 4$ этот метод дает точные результаты, однако промышленно выпускаемые ферменты при такой кислотности неактивны. Еще одним недостатком этого метода является необходимость добавления основания при титровании, что зачастую нежелательно, поскольку приводит к накоплению соли в готовом продукте.

Степень гидролиза белка определяют различными методами, которые представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Методы, позволяющие определить степень гидролиза белка [103]

Метод	Сущность метода
<i>OPA</i>	Реакция <i>o</i> -фталдигальдегида (<i>OPA</i>) и первичных аминогрупп с образованием детектируемого окрашенного соединения
<i>TNBS</i>	Реакция 2,4,6-тринитробензолсульфоновой кислоты и аминогрупп с образованием детектируемого окрашенного соединения
Нингидрин	Реакция нингидрина и аминогрупп с образованием детектируемого окрашенного соединения
Формольное титрование, основанное на кислотности	Титрование аминогрупп формальдегидом
pH-статистический метод	В ходе гидролиза значение pH поддерживается постоянным; количество титранта эквивалентно степени гидролиза
Титрование до щелочного pH	Титрование кислоты, образующейся в ходе гидролиза (при pH > 5,5), до pH 8,0
Измерение pH	Контроль pH в ходе гидролиза
Осмометрия	Определение изменения температуры замерзания, которая коррелирует со степенью гидролиза
Метод Брикса	Определение показателя преломления, который коррелирует с содержанием растворенных СВ
Определение растворимого азота	Определение растворимого азота, определение соотношения аминного азота и общего азота
<i>TCA</i> -показатель	Определение количества пептидов, растворимых в трихлоруксусной кислоте (<i>TCA</i>) (высокомолекулярные пептиды выпадают в осадок)
Определение длины пептидной цепи	Метод ВЭЖХ, основанный на гельпроникающей хроматографии
Определение вязкости	Контроль вязкости в ходе гидролиза

Хорошей альтернативой может служить метод, связанный с определением осмолярности, но для получения результата требуется несколько минут. Измерения с помощью осмометра могут представлять определенные трудности при большой вязкости образца или высокой концентрации растворенных веществ (например, соли). Следует также отметить, что при больших скоростях гидролиза

его степень за время между отбором пробы и анализом может измениться, что приводит к ошибкам.

Широко распространены химические методы определения аминокрупп, когда в момент отбора пробы протеазную активность блокируют кислотой или быстрым нагреванием.

В некоторых методах используется корреляция степени гидролиза со свойствами собственно белка. Например, при снижении вязкости, обычно наблюдаемом при гидролизе, белок становится более растворимым – это свойство используется при определении растворимого азота, *ТСА*-показателя и плотности по Бриксу. Эти характеристики очень важны, но точность определения степени гидролиза с их использованием невелика, т. е. они являются лишь индикативными.

В нашем эксперименте определение степени гидролиза белка проводили путем определения соотношения аминного азота и общего азота.

В таблице 6 представлена степень гидролиза белка течение 8 ч.

Таблица 6 – Содержание аминного азота в гидролизате семян люпина в зависимости от времени гидролиза

Время гидролиза, ч	Содержание аминного азота, г/л
0	0,0
1	3,2
2	5,0
3	5,3
4	5,8
5	6,1
6	6,3
7	6,4
8	6,5

Из данных таблицы 6 следует, что степень гидролиза белка в растворе муки из семян люпина увеличивается с повышением времени гидролиза. Значительное образование аминного азота отмечается в первые часы гидролиза. Так, после пер-

вого часа гидролиза содержание аминного азота составляет 3,2 г/л, после второго – 5 г/л. При дальнейшем увеличении времени гидролиза его скорость снижается. Так, после 4; 5; 6; 7 и 8 ч количество аминного азота составляет 5,8; 6,1; 6,3; 6,4 и 6,5 г/л соответственно. Следовательно, целесообразно проводить гидролиз на протяжении 4–5 ч.

На основании приведенных данных по формуле нами рассчитана степень гидролиза белка муки из семян люпина в зависимости от времени гидролиза, которая представлена в таблице 7.

Таблица 7 – Степень гидролиза белка в гидролизате семян люпина в зависимости от времени гидролиза

Время гидролиза, ч	Степень гидролиза белка, %
0	0,0
1	12,4
2	21,8
3	23,2
4	25,9
5	28,5
6	31,4
7	31,7
8	31,8

Из данных таблицы 7 следует, что максимальная степень гидролиза белка в гидролизате семян люпина отмечается через 6 часов гидролиза. Так, при времени гидролиза 1 ч степень гидролиза белка составляет 12,4 %, 2 ч – 21,8 %, 3 ч – 23,2 %, что согласуется со скоростью гидролиза, которая максимальна до 3 ч, а затем постепенно снижается.

Снижение степени гидролиза белка после 3–4 ч связано со снижением количества субстрата или возможным автолизом трипсина.

Указанный гидролиз рассматривается как гидролиз первого порядка, т. е. определяется по накоплению аминного азота, при котором значительно расходу-

ется трипсин, и скорость расщепления молекул фермента может быть определена его кинетическими зависимостями.

В таблице 8 представлена зависимость степени гидролиза белка в гидролизате семян люпина от концентрации фермента трипсина.

Таблица 8 – Зависимость степени гидролиза белка в гидролизате семян люпина от концентрации фермента трипсина при рН 8

Время гидролиза, ч	Степень гидролиза белка (%) в зависимости от концентрации трипсина, г/100 кг гидролизата				
	0,5	1	1,5	2,0	2,5
0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0
1	9,8	12,4	13,7	13,5	13,5
2	18,3	21,8	23,5	24,2	24,1
3	22,5	23,2	24,8	25,3	25,4
4	24,8	25,9	26,7	27,2	27,3
5	26,9	28,5	29,1	30,2	30,1
6	28,5	31,4	32,7	32,8	32,8
7	29,8	31,7	32,2	32,9	32,9
8	30,1	31,8	32,3	32,7	32,8

Из данных таблицы 8 следует, что с увеличением концентрации фермента трипсина степень гидролиза возрастает и становится максимальной при количестве фермента 2 кг/100 кг раствора гидролизата, что позволяет сократить время гидролиза с 4 часов при концентрации фермента 1 кг/100 кг до 2 ч при концентрации фермента 2 кг/100 кг для достижения степени гидролиза 25 %.

Дальнейшее увеличение концентрации трипсина в гидролизате нецелесообразно. Так, при концентрации фермента 2,5 г/100 кг гидролизата степень гидролиза 25 % достигается также через 2 ч.

В таблице 9 представлена зависимость степени гидролиза белка в гидролизате семян люпина от рН.

Таблица 9 – Зависимость степени гидролиза белка в гидролизате семян люпина от рН

рН	Степень гидролиза белка (%) в зависимости от концентрации трипсина, г/100 кг гидролизата				
	0,5	1	1,5	2,0	2,5
3	3,2	3,5	3,6	4,1	4,1
4	3,4	3,6	3,7	3,9	3,9
5	12,6	14,5	17,4	18,9	19,0
6	18,3	19,7	21,3	23,4	23,8
7	25,2	26,7	26,9	27,6	27,5
8	30,1	31,8	32,3	32,7	32,8
9	26,7	27,4	30,8	31,2	31,0
10	21,3	22,4	22,8	23,1	23,1

Из данных таблицы 9 следует, что с увеличением рН с 3 до 8 степень гидролиза белка увеличивается и при рН 4 составляет 3,7 %, а при рН 8 – 32,7 % при концентрации фермента 2,0 кг/100 кг гидролизата.

Нами определен оптимальный режим гидролиза белка муки из семян люпина на основании данных, приведенных в таблице 10.

Таблица 10 – Степень гидролиза белка в гидролизате семян люпина в зависимости от времени гидролиза и рН при концентрации трипсина 2 г/100 кг гидролизата

Время гидролиза, ч	Степень гидролиза белка, %	рН
1	13,5	3
2	24,2	4
3	25,3	5
4	27,2	6
5	30,2	7
6	32,8	8
7	32,9	9
8	32,7	10

На рисунке 17 представлена степень гидролиза белка в гидролизате семян люпина в зависимости от времени гидролиза и pH при концентрации трипсина 2 г/100 кг гидролизата.

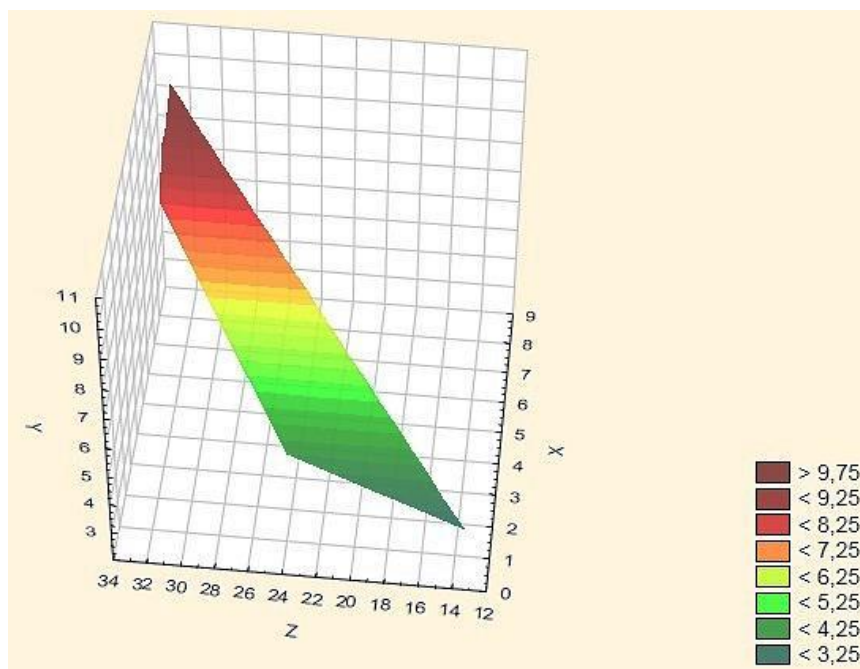


Рисунок 17 – Степень гидролиза белка в гидролизате семян люпина (Z) в зависимости от времени гидролиза (X) и pH (Y) при концентрации трипсина 2 г/100 кг гидролизата

Из рисунка 17 видно, что оптимальные биотехнологические режимы гидролиза белка в 25 % при концентрации трипсина 2 г/100 кг гидролизата и температурном оптимуме активности фермента следующие: pH 7,25–8,25, время гидролиза 4–6 ч.

Затем проводили концентрирование белкового препарата методом ультрафильтрации. Нами совместно с сотрудником кафедры пищевой инженерии кандидата технических наук, доцентом В. А. Лазаревым разработана и сконструирована лабораторная ультрафильтрационная установка. Применение технологии мембранной ультрафильтрации в производстве белковых препаратов позволяет снизить их аллергенность [21; 148].

Схема ультрафильтрационной установки для концентрирования белкового препарата представлена на рисунке 18.

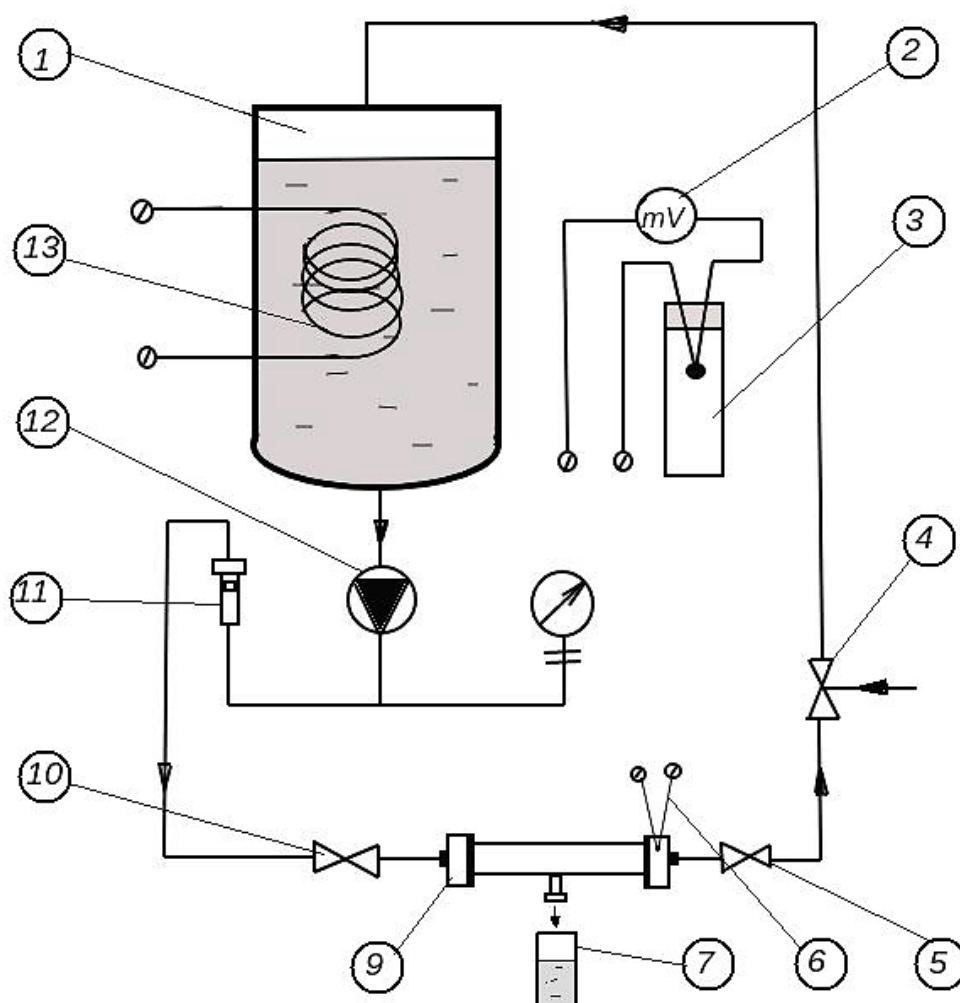


Рисунок 18 – Схема установки для концентрирования раствора белкового препарата методом ультрафильтрации:

1 – бак для исходного раствора/готового концентрата; 2 – милливольтметр;
 3 – сосуд Дьюара; 4 – регулировочный вентиль; 5, 10 – вентили; 6 – термопара;
 7 – сосуд для отвода пермеата; 8 – манометр с разделителем; 9 – ультрафильтрационная ячейка;
 11 – ротаметр; 12 – насос; 13 – змеевик

Установка ультрафильтрации состоит из следующих основных узлов и элементов: циркуляционного бака 1 с исходным белковым раствором, сливом готового продукта после концентрирования; милливольтметра 2; термопары 6; сосуда Дьюара 3; регулировочного вентиля 4 для управления давлением в контуре; вентилей 5 и 10, перекрывающих часть контура; ультрафильтрационной ячейки 9; со-

суда 7, предназначенного для отвода пермеата; ротаметра 11; центробежного насоса 12; змеевика 13.

Рабочим элементом установки является ультрафильтрационная ячейка длиной 900 мм с керамическими мембранами КУФЭ из диоксида титана анатазной модификации с напыленным селективным слоем α -оксида алюминия с размером пор 0,01 мкм.

Принцип работы установки заключается в разделении исходного раствора, поданного в циркуляционный бак, на концентрат, богатый белком, и пермеат, представляющий собой водный раствор, непрерывно отводящийся из аппарата.

При использовании указанной технологии выход белкового концентрата составил 24,3 % к массе исходного сырья.

Предложенная технология ультрафильтрации отличается от известных filtrаций тем, что через ячейки мембран проходят низкомолекулярные аминокислоты с разрушенными генными структурами белка, что не позволяет вызвать пищевую аллергию при включении полученного белкового препарата в рецептуру пищевых продуктов.

На завершающем этапе проводилось удаление влаги из белкового препарата путем сушки при температуре 105–110 °С в сушильном шкафу до содержания СВ на уровне 88–90 %. Указанная температура в сушильном шкафу при сушке белкового концентрата позволяет инактивировать протеолитический фермент.

Таким образом, разработана технология белкового препарата из семян люпина, включающая следующие технологические этапы: удаление оболочки с семян люпина, предварительное измельчение семян люпина на экспериментальной зерновой мельнице, обработка полученной массы ультразвуком, получение муки из семян люпина, получение и гомогенизация раствора из муки семян люпина, обработка гомогенного раствора ферментом глюкоамилазой, инактивация введенного фермента, введение раствора трипсина в гомогенный раствор, концентрирование раствора методом ультрафильтрации, сушка раствора для инактивации фермента, удаления влаги и снижения микробной обсемененности белкового концентрата. Установлены оптимальные биотехнологические режимы гидролиза белка из семян

люпина в 25 % при концентрации трипсина 2 г/100 кг гидролизата: рН 7,25–8,25, время гидролиза 4–6 ч.

3.1.4 Оценка качества, функционально-технологических свойств и микробиологической безопасности растительного белкового препарата, полученного ферментативным гидролизом

Для исследований качества, функционально-технологических свойств (ФТС) и микробиологической безопасности были отобраны образцы растительного белкового препарата, выработанного по предложенной технологии с оптимальным технологическим режимом протеолитического гидролиза.

В таблице 11 представлены органолептические показатели качества белкового препарата.

Таблица 11 – Органолептические показатели качества белкового препарата

Показатель	Характеристика
Внешний вид	Мелкодисперсный порошок
Цвет	Светло-желтый
Запах	Без выраженного запаха
Вкус	Без выраженного вкуса

Из данных таблицы 11 следует, что полученный белковый препарат представляет собой мелкодисперсный порошок светло-желтого цвета, вкус и запах не выражены.

На рисунке 19 представлена микроструктура растительного белкового препарата.

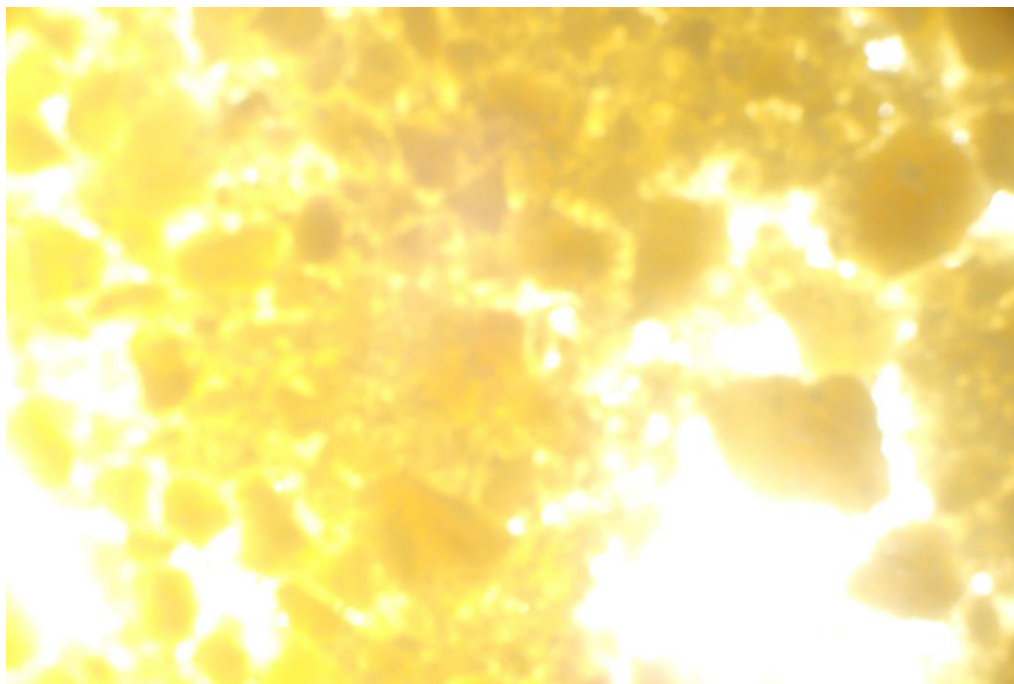


Рисунок 19 – Микроструктура растительного белкового препарата (увеличение $\times 100$)

Из рисунка 19 следует, что белковый препарат имеет однородную гомогенную структуру.

Проведены исследования химического состава растительного белкового препарата (таблица 12).

Таблица 12 – Химический состав растительного белкового препарата ($n = 5$)

Показатель	Значение, %
Массовая доля белка	$74,1 \pm 2,8$
Массовая доля жира	$7,9 \pm 0,3$
Массовая доля влаги	$4,1 \pm 0,3$
Массовая доля золы	$13,9 \pm 0,5$

Из данных таблицы 12 следует, что содержание белка в растительном белковом препарате составляет 74,1 %, жира – 7,9 %, золы – 4,1 % и влаги – 13,9 %. Полученные данные о химическом составе растительного белкового препарата позволяют его отнести к белковым концентратам.

Проведены исследования функционально-технологических свойств растительного белкового концентрата (таблица 13).

Таблица 13 – Функционально-технологические свойства белкового препарата

Показатель	Значение, %
Влагоудерживающая способность (ВУС)	517 ± 4,7
Жирудерживающая способность (ЖУС)	208 ± 5,2
Эмульгирующая способность (ЭС)	98 ± 3,9

Из данных таблицы 13 следует, что растительный белковый препарат отличается высокими функционально-технологическими свойствами. Так, влагоудерживающая способность составляет 517 %, жирудерживающая – 208 % и эмульгирующая способность – 98 %. Приведенные данные согласуются с высоким содержанием белка в белковом концентрате.

Проведены исследования стабильности эмульсии после выдерживания в термостате в течение 24 ч при температуре 40–42 °С. Результаты представлены в таблице 14.

Таблица 14 – Стабильность эмульсии растительного белкового концентрата

Процентное соотношение эмульсии после нагревания, %			Стабильность эмульсии, %
Вода	Масло	Эмульсия	
33,8 ± 1,2	2,4 ± 0,5	63,8 ± 3,9	63,8

Из данных таблицы 14 следует, что стабильность эмульсии после нагревания составляет 63,8 %. Полученные результаты сопоставимы с результатами исследований [24], что позволяет рекомендовать применение разработанного растительного белкового концентрата в рецептуре пищевых продуктов, в частности, мясопродуктов.

Таким образом, полученные данные о ФТС свидетельствуют о перспективах применения разработанного растительного белкового препарата в технологии пищевых продуктов, в частности мясопродуктов.

Белковый препарат характеризуется высокими функционально-технологическими свойствами (ВУС, ЖУС и ЭС), что согласуется с содержанием белка в препарате.

3.2 Практическое применение растительного белкового концентрата, полученного ферментативным гидролизом, в технологии мясных систем

3.2.1 Исследование функционально-технологических характеристик мясного фарша при использовании в рецептуре растительного белкового концентрата, полученного ферментативным гидролизом

Проведены исследования по влиянию гидратированного растительного белкового препарата на функционально-технологические свойства фарша для научного обоснования количества вводимого концентрата в состав вареных колбасных изделий и определения технологического этапа введения.

В таблице 15 представлен химический состав модельных образцов фарша.

Из данных таблицы 15 следует, что введение гидратированного белкового препарата в фарш позволяет увеличить содержание в нем белка на 10,4 %; 19,4 % и 26,6 % при замене мясного фарша на белковый концентрат в количестве 10 %; 20 % и 30 % соответственно. Количество жира в опытных образцах фарша снизилось на 6,7 %; 16,6 % и 21,9 %. Отмечено увеличение содержания массовой доли влаги.

Таблица 15 – Химический состав контрольных и опытных образцов фарша из нежирной свинины ($n = 5$)

Показатель	Значение, %			
	1-я группа (контроль, фарш из нежирной свинины)	2-я группа (опыт, 10 % белкового препарата)	3-я группа (опыт, 20 % белкового препарата)	4-я группа (опыт, 30 % белкового препарата)
Массовая доля белка	12,4 ± 0,4	13,7 ± 0,2	14,8 ± 0,4*	15,7 ± 0,6*
Массовая доля жира	27,1 ± 1,8	25,3 ± 0,9	22,6 ± 1,2*	21,2 ± 1,0*
Массовая доля влаги	60,5 ± 0,3	61,0 ± 0,8	62,6 ± 1,4	63,1 ± 0,3*
Примечание – Различия достоверны в сравнении с контрольной группой при * $p \leq 0,05$.				

Проведены исследования функционально-технологических свойств (ВУС и ЖУС) фарша после термической обработки при температуре 80–85 °С в течение 90–100 мин (таблица 16).

Таблица 16 – Функционально-технологические свойства образцов фарша из нежирной свинины с внесением белкового концентрата на стадии куттерования ($n = 5$)

Показатель	Значение, %			
	1-я группа (контроль, фарш из нежирной свинины)	2-я группа (опыт, 10 % белкового препарата)	3-я группа (опыт, 20 % белкового препарата)	4-я группа (опыт, 30 % белкового препарата)
Влагоудерживающая способность	209 ± 6	248 ± 5*	289 ± 5*	326 ± 7**
Жирудерживающая способность	153 ± 4	174 ± 6*	195 ± 5*	207 ± 6**
Примечание – Различия достоверны при * $p \leq 0,05$; ** $p \leq 0,01$.				

В результате исследований установлено, что внесение белкового препарата в фарш из нежирной свинины в количестве 10 %; 20 % и 30 % повышает влагоудерживающую способность на 18 %, 38,3 % и 60 % соответственно. Аналогичные изменения отмечены при исследовании жирудерживающей способности. Так,

ЖУС во второй, третьей и четвертой опытных группах выше на 13,7 %; 27,5 % и 35,3 % по сравнению с контрольной.

Таким образом, введение в рецептуру фарша из нежирной свинины гидратированного белкового концентрата улучшает функционально-технологические свойства мясной системы. В дальнейших исследованиях будет изучена возможность использования белкового концентрата в производстве вареных колбасных изделий. Важным моментом является то, что вареные колбасы являются эмульсиями, следовательно, исследование способности поглощения и удерживания жира молекулами белка имеет большое значение.

Проведены исследования по определению технологического этапа внесения белкового концентрата в фарш. Для эксперимента сформировали две группы образцов фарша: 1-я группа – белковый концентрат в количестве 10 % вводили в фарш на стадии посола; 2-я группа – белковый концентрат вводили на стадии куттерования.

В таблице 17 представлены функционально-технологические свойства образцов фарша из нежирной свинины с внесением белкового концентрата (10 %) на стадии посола и куттерования.

Таблица 17 – Функционально-технологические свойства образцов фарша из нежирной свинины с внесением белкового концентрата (10 %) на стадии посола и куттерования ($n = 5$)

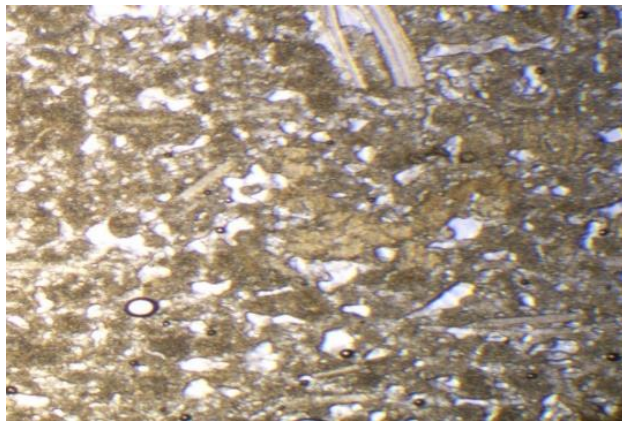
Показатель	Значение, %	
	1-я группа (стадия посола)	2-я группа (стадия куттерования)
Влагоудерживающая способность	224 ± 6	248 ± 5*
Жирудерживающая способность	162 ± 4	174 ± 6*
Примечание – Различия достоверны при * $p \leq 0,05$.		

Из данных таблицы 17 следует, что лучшие функционально-технологические свойства фарша отмечены при внесении белкового концентрата на стадии куттерования. Так, при внесении белкового концентрата на стадии куттеровании ВУС

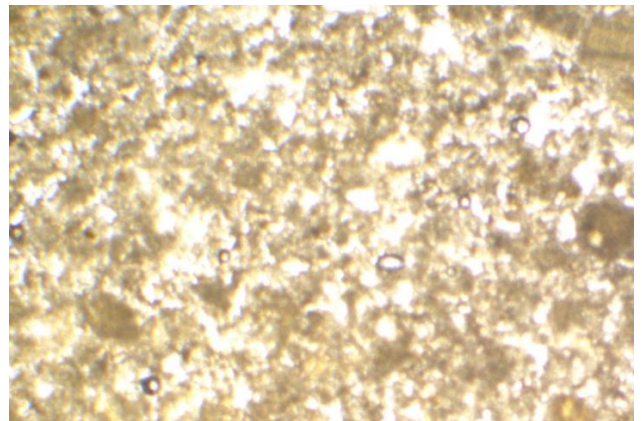
и ЖУС составляют 248 % и 174 % соответственно, в то время как в образцах фарша первой группы – 224 % и 162 % соответственно, что ниже на 10,7 % и 7,4 %.

Проведены исследования микроструктуры первой и второй групп образцов фарша.

На рисунке 20 представлена микроструктура образцов фарша при внесении растительного белкового концентрата (10 %) на стадии посола (*а*) на стадии куттерования (*б*).



а – на стадии посола



б – на стадии куттерования

Рисунок 20 – Микроструктура образцов фарша при внесении растительного белкового концентрата (увеличение $\times 100$)

Из рисунка 20 следует, что фарш представляет собой гомогенную массу, имеет включения белкового вещества и липидных капель. Следует отметить, что при внесении белкового препарата на стадии куттерования образцы фарша отличаются большей однородностью.

3.2.2 Практическое использование растительного белкового концентрата, полученного ферментативным гидролизом, в технологии вареных колбас

Проведены исследования по разработке вареной колбасы с использованием в рецептуре белкового концентрата. В качестве базовой рецептуры использована рецептура вареной колбасы «Докторская».

В таблице 18 представлена рецептура контрольных и опытных образцов вареных колбас.

Таблица 18 – Рецептура контрольных и опытных образцов вареных колбас

Наименование основного сырья и пищевых ингредиентов	1-я группа (контроль)	2-я группа (опыт)
Несоленое сырье, кг/100 кг		
Свинина жилованная нежирная с массовой долей жировой ткани не более 10 %	62	58
Говядина жилованная высшего сорта с массовой долей соединительной и жировой ткани не более 3 %	30	30
Обезжиренное сухое молоко	5	–
Яичный меланж	3	–
Питьевая вода для гидратации белкового препарата	–	10
Белковый концентрат	–	2
Пряности и материалы, г/100 кг несоленого основного сырья		
Поваренная соль	230	230
Кислота аскорбиновая	340	340
Специи (экстракты специй)	50	50
Посоленно-нитритная смесь с содержанием нитрита натрия 0,47 %	1 570	1 570
Вода питьевая	20 000	20 000
Искусственная оболочка диаметром 60–110 мм		

В опытные образцы рецептуры введен растительный белковый препарат в количестве 2 кг, для его гидратации использована питьевая вода в количестве

10 л. В рецептуре опытных образцов колбас снижено содержание свинины жилованной нежирной с массовой долей жировой ткани не более 10 % с 68 до 52 кг, отсутствует молоко сухое и яичный меланж.

В качестве основного мясного сырья использована охлажденная говядина и свинина. Вареные колбасы изготавливали согласно технологической инструкции по производству вареных колбасных изделий по ГОСТ Р 23670-2019.

Согласно исследованиям, проведенным ранее и представленным выше, целесообразно вносить растительный белковый препарат в фарш на стадии куттерования. Разработанный нами растительный белковый препарат, предварительно гидратированный в соотношении 1:10, вносили в фарш после всех пряностей и материалов на стадии куттерования. Воду вводили после гидратирования белкового препарата в количестве 20 л для всех образцов фарша.

Выход колбасных изделий в первой (контроль) группе составил 105,8 %, в то время как при использовании белкового концентрата – 114,3 %.

Проведена дегустационная оценка вареных колбас после выработки и через 45 сут хранения (таблица 19). Обоснованием срока проведения дегустации через 45 сут хранения является то, что у колбасных изделий контрольной группы, выработанных по рецептуре производителя, установлен срок хранения 45 сут.

Таблица 19 – Дегустационная оценка вареных колбас

Показатель	Оценка, балл			
	1-я (контроль)		2-я (опыт)	
	После выработки	Через 45 сут хранения	После выработки	Через 45 сут хранения
Внешний вид	4,8	4,8	4,8	4,8
Цвет на разрезе	4,9	5,0	4,8	4,9
Консистенция	4,7	4,8	4,7	4,8
Аромат	4,8	4,7	4,8	4,7
Вкус	4,7	4,7	4,7	4,7
Общая оценка	23,9	24,0	23,4	24,1

Из данных таблицы 19 следует, что контрольные и опытные образцы вареных колбас после выработки и хранения существенно не различались. Следует отметить, что показатели консистенции и цвета на разрезе получили более высокую оценку в опытных образцах вареных колбас и были выше в общей сумме на 0,2 балла, при этом аромат ниже на 0,1 балла в сравнении с контрольными образцами.

В таблице 20 представлена органолептическая оценка вареных колбас после выработки и через 45 сут хранения.

Таблица 20 – Органолептическая оценка вареных колбас после выработки и через 45 сут хранения

Показателя	Группа	
	1-я (контроль)	2-я (опыт)
Внешний вид	Батоны колбас с чистой и сухой поверхностью	Батоны с чистой сухой поверхностью
Консистенция	Плотная, упругая	Плотная, упругая
Цвет и вид на разрезе	Розовый	Розовый
Запах и вкус	Свойственный продукту, без привкусов, с ароматом вносимых пряностей	Свойственный продукту, без привкусов, с ароматом вносимых пряностей

Из результатов органолептической оценки контрольных и опытных образцов вареных колбас после выработки и через 45 сут хранения установлено, что они соответствуют требованиям ГОСТ Р 23670-2019 и различий не имеют.

Исследован химический состав вареных колбасных изделий, результаты которого представлены в таблице 21.

Из данных таблицы 21 следует, что количество белка в опытных образцах вареных колбас выше на 6,8 %, а жира – ниже на 4,2 % в сравнении с контрольными после выработки, через 45 сут достоверных изменений показателей не отмечается. Полученные данные согласуются с химическим составом белкового концентрата, вводимого в рецептуру колбас.

Таблица 21 – Химический состав контрольных и опытных образцов вареных колбас после выработки и через 45 сут хранения

Показатель	Значение, %	
	1-я группа (контроль)	2-я группа (опыт)
После выработки		
Массовая доля белка	13,2	14,1
Массовая доля жира	14,2	13,6
Массовая доля хлористого натрия (поваренной соли)	1,3	1,3
Массовая доля нитрита натрия	0,0047	0,047
Остаточная активность кислой фосфатазы	0,005	0,005
Через 45 сут хранения		
Массовая доля белка	13,1	14,1
Массовая доля жира	14,1	13,5
Массовая доля хлористого натрия (поваренной соли)	1,3	1,3
Массовая доля нитрита натрия	0,0047	0,047
Остаточная активность кислой фосфатазы	0,005	0,005

Проведены исследования микробиологических показателей вареных колбас (таблица 22).

Таблица 22 – Микробиологические показатели вареных колбас после выработки и через 45 сут хранения

Группа	КМАФАнМ, КОЕ/г	БГКП (колиформы), г	Сульфитредуцирующие клостридии, г	<i>S. aureus</i> , г
После выработки				
Первая	1,2·10	Не обнаружены	Не обнаружены	Не обнаружены
Вторая	1,2·10	Не обнаружены	Не обнаружены	Не обнаружены
Через 45 суток хранения				
Первая	2,5·10	Не обнаружены	Не обнаружены	Не обнаружены
Вторая	2,7·10	Не обнаружены	Не обнаружены	Не обнаружены

Из данных таблицы 22 видно, что все исследуемые микробиологические показатели вареных колбас контрольных и опытных образцов соответствуют требованиям ТР ТС 034/2013 «О безопасности мяса и мясной продукции».

Таким образом, применение растительного белкового препарата ферментативного гидролиза в рецептуре вареных колбас позволяет обеспечить высокие качественные характеристики и микробиологическую безопасность продукта после выработки и хранения.

4 Разработка технологии получения микрокапсулированного поликомпонентного ферментного препарата из пепсина и папаина и оценка его активности и стабильности при хранении

4.1 Разработка технологии получения микрокапсулированного поликомпонентного ферментного препарата из пепсина и папаина путем последовательного нанесения защитного покрытия из мальтодекстрина на ферменты

Проведены исследования по разработке технологии получения поликомпонентного ферментного препарата из пепсина и папаина путем последовательного микрокапсулирования протеолитических ферментов в псевдокипящем слое и оценка их тендеризирующего действия при производстве ветчинных продуктов.

Капсулирование проводили в специально разработанном стеклянном аппарате путем нанесения на поверхность фермента псевдооживленного слоя (ПС), представленного на рисунке 21.

Микрокапсулирование ферментов осуществляется в аппарате с псевдооживленным слоем (ПС) (рисунок 21). Фермент пепсин засыпают в корпус конической формы с расширением вверх 3 (размеры конуса позволяют наносить покрытия разных по размеру частиц и исключить их унос). Воздух подают в нижнюю часть аппарата вентилятором. Изменением напряжения питания вентилятора устанавливают скорость воздуха, обеспечивающую образование ПС необходимой высоты. После этого включается диспергатор жидкого компонента 2. Жидкий компонент (10 %-й раствор мальтодекстрина) в виде тумана подают в воздухопровод. Проходя через пористую перегородку 5, он поступает в ПС покрываемого пепсина. Благодаря хаотическому движению в ПС происходит равномерное покрытие поверхностей частиц пепсина. Этот процесс интенсивен и сопровождается также началом

сушки на поверхности частиц за счет фонтанирующих потоков воздуха, омывающих их со всех сторон. После диспергирования необходимого количества жидкого материала и сушки подача воздуха прекращается, и микрокапсулы готового материала высыпаются в емкость 4.

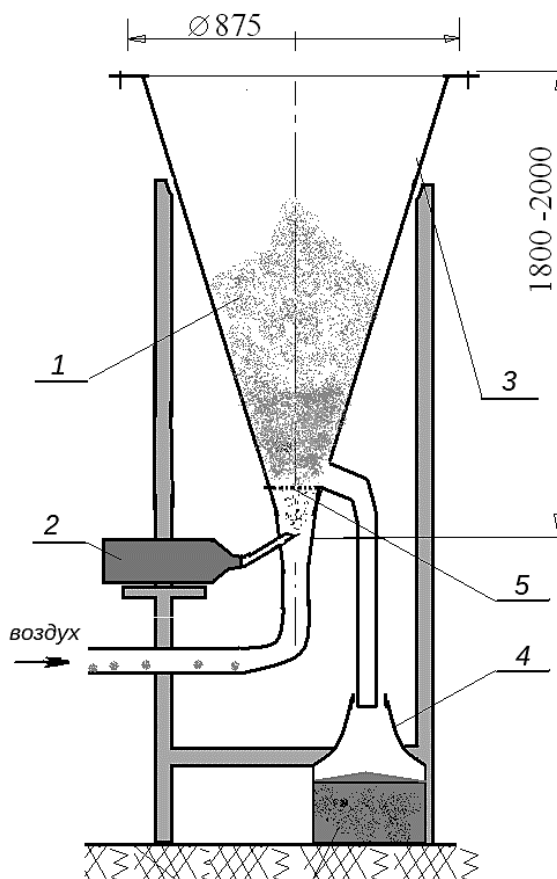


Рисунок 21 – Схема аппарата для микрокапсулирования:

1 – сыпучий материал; 2 – диспергатор жидкого материала; 3 – корпус конической формы; 4 – емкость с сыпучим материалом с покрытием (микрокапсулы); 5 – пористая перегородка

Для получения поликомпонентного ферментного препарата были выбраны пепсин и папаин. Обоснованием использования пепсина в технологии тендеризации мясопродуктов является его способность проявлять свою активность в мясных системах с нехарактерным автолизом (в частности, в мясе с PSE-свойствами).

Папаин применяется в технологии мясопродуктов с целью тендеризация структуры готового изделия и повышения усвояемости белка. При этом оптимум активности папаина составляет pH 6,0, что соответствует pH мяса.

В качестве защитного слоя использовали 10 %-й водный раствор мальтодекстрина, полученный ферментативным методом из кукурузного крахмала в результате его частичного гидролиза и эквивалентной массы декстрозы. При нагревании до 100 °С и при рН 4,0–5,0 кукурузный крахмал разрушается, и в результате этого получается мальтодекстрин и кукурузный сироп.

Соотношение твердого вещества к жидкому (Т/Ж) выдерживали в пределах от 10:1 до 11,5:1. Ожижающим агентом, в том числе в режиме сушки, был воздух комнатной температуры, прокачиваемый через аппарат.

В качестве контроля был взят чистый некапсулированный пепсин (свободный пепсин).

От продолжительности обработки мальтодекстрина в аппарате для микрокапсулирования зависит толщина защитного слоя капсул. Опытным путем была получена линейная зависимость ($p \leq 0,05$) средней толщины нанесения раствора мальтодекстрина на гранулу пепсина в зависимости от продолжительности нанесения на рисунке 22.

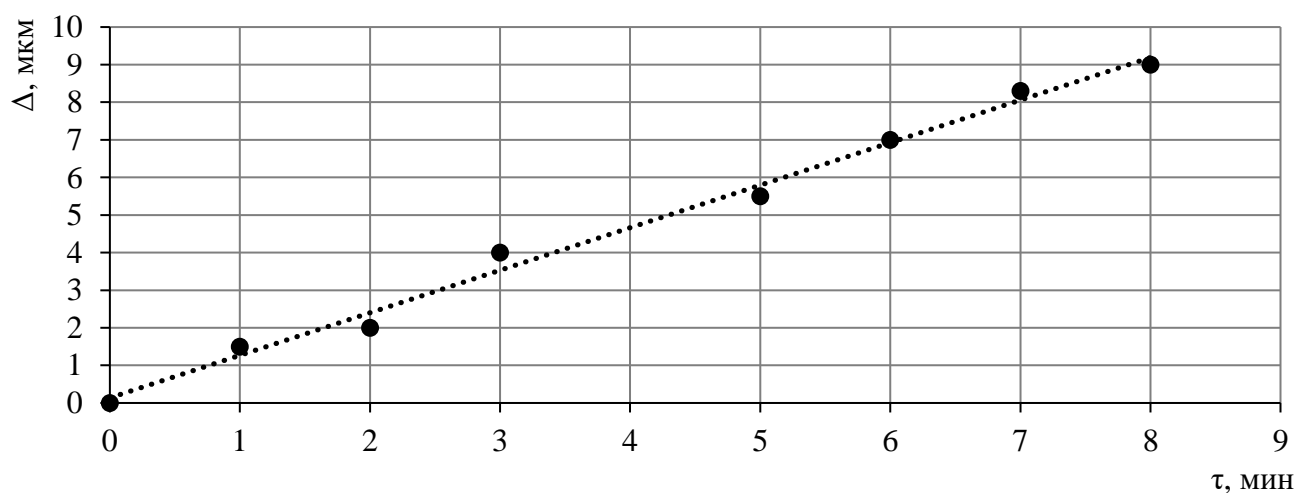


Рисунок 22— Зависимость толщины слоя мальтодекстрина от продолжительности нанесения на пепсин

Через 2 мин обработки раствором мальтодекстрина на грануле пепсина образуется защитный поверхностный слой толщиной 2 мкм от его среднего значе-

ния в конце процесса обработки, а после 6 мин обработки – 6 мкм, после 8 мин – 9 мкм. При этом расчетная скорость воздушного потока с раствором мальтодекстрина в узком сечении конуса рабочей камеры равнялась критической скорости витания крупных частиц пепсина и составила 0,17 м/с. По уравнению неразрывности потока и с учетом скоростей витания и уноса частиц пепсина расчетный размер широкой части конуса аппарата при нанесении раствора мальтодекстрина определяется из соотношения:

$$d_{\text{ш}} = 4,4 \cdot d_{\text{уз}}, \quad (1)$$

где $d_{\text{ш}}$ – диаметр широкой части конуса рабочей камеры; $d_{\text{уз}}$ – диаметр узкой части конуса рабочей камеры.

На рисунке 23 представлены образцы фермента пепсина при увеличении $\times 1500$ до микрокапсулирования.

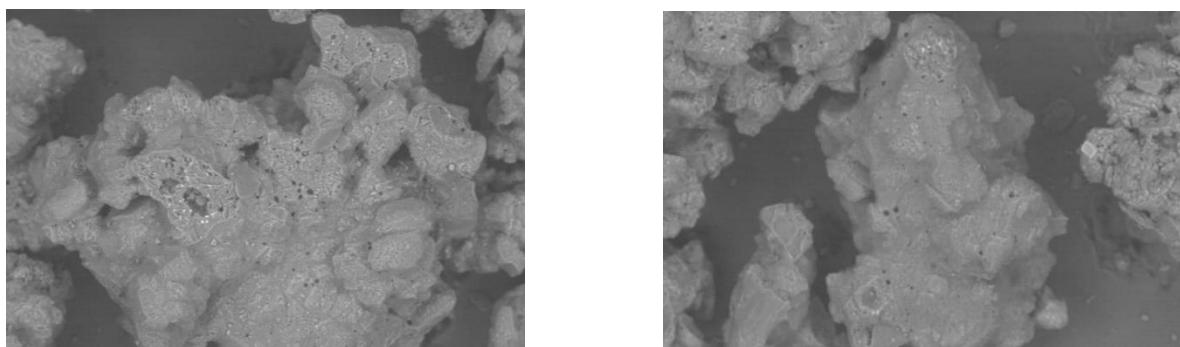


Рисунок 23 – Образцы фермента пепсина до микрокапсулирования (увеличение $\times 1500$)

На рисунке 24 представлено фото фермента после капсулирования при толщине защитного покрытия 6 мкм.

Как показали опыты, толщина покрытия ферментом мальтодекстрином влияет на активность пепсина. Из результатов исследования видно, что чем толще слой мальтодекстрина, тем дольше сохраняется его первоначальная активность (рисунок 25). При этом активность пепсина наиболее стабильна при толщине слоя

6 мкм. По мере уменьшения толщины защитного покрытия фермент быстрее теряет свою первоначальную активность.

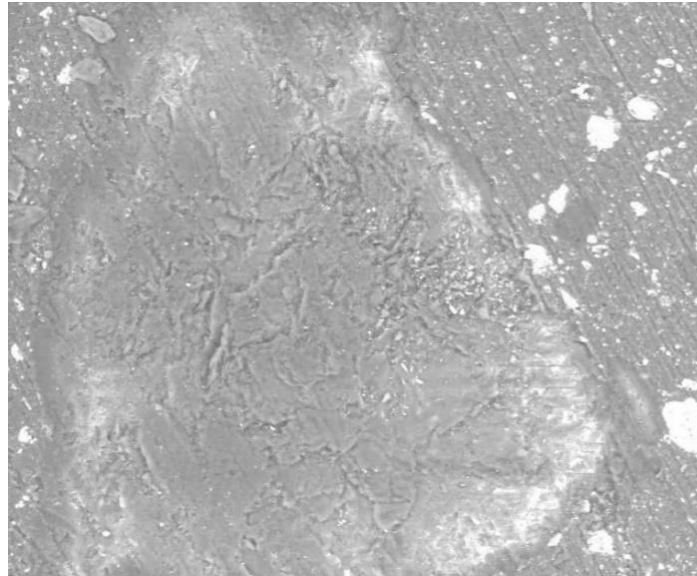


Рисунок 24 – Фермент пепсин после микрокапсулирования при толщине защитного покрытия 6 мкм (увеличение $\times 1500$)

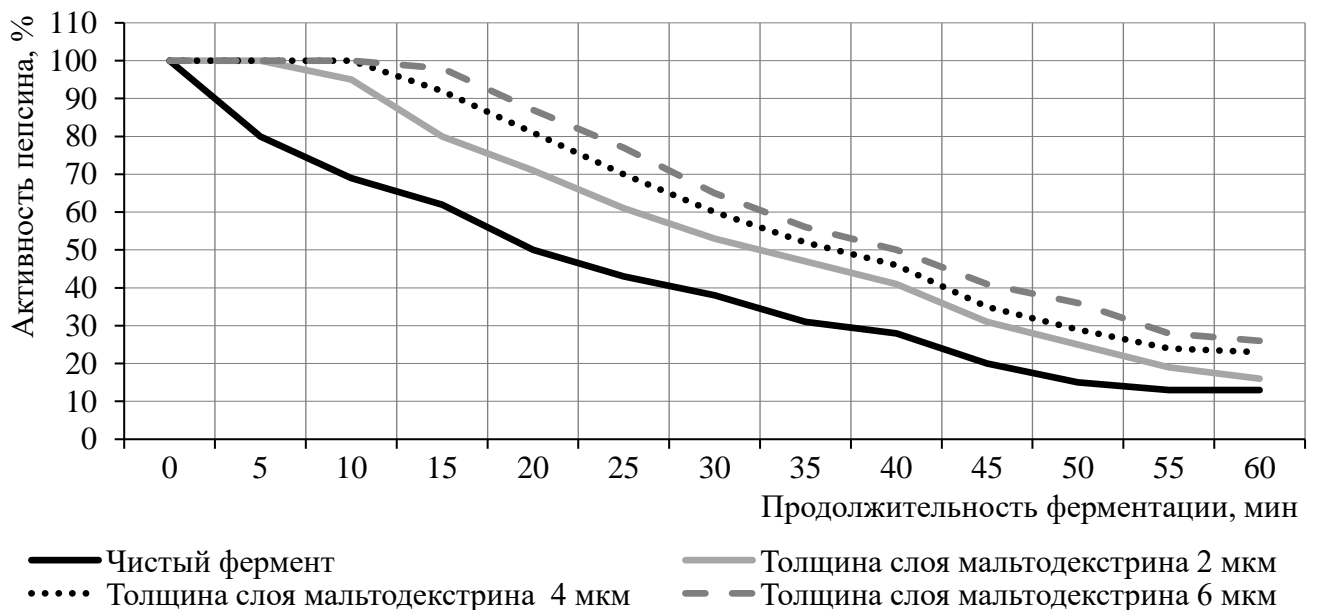


Рисунок 25 – Влияние толщины покрытия пепсина на его активность

Активность пепсина в микрокапсулах с толщиной слоя более 6 мкм не исследовали.

Как видно из данных, представленных на рисунке 26, максимальная активность пепсина, иммобилизованного в растворе мальтодекстрина, сдвигается примерно на 2 ед. рН в щелочную сторону по сравнению со свободным ферментом, что, по всей вероятности, может быть обусловлено ограничением диффузии субстрата, когда отсутствует как распределение протонов, так и ограничение их диффузии.

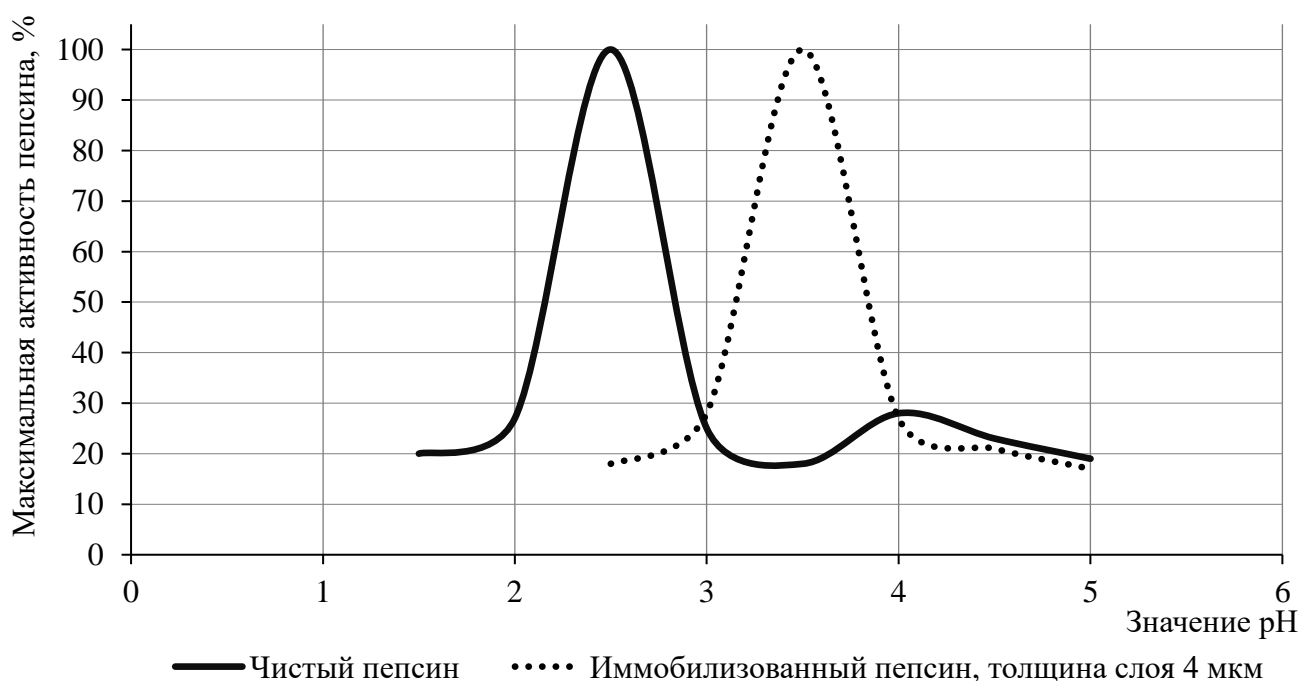


Рисунок 26 – Зависимость активности пепсина от pH при толщине покрытия мальтодекстрином 4 мкм

Следует отметить, что активность пепсина с толщиной слоя мальтодекстрина 4 мкм незначительно ниже, чем у пепсина с толщиной мальтодекстрина 6 мкм.

В связи с этим целесообразно использовать ферменты с защитным слоем мальтодекстрина толщиной 4 мкм. Поэтому при дальнейшем получении ферментного препарата из пепсина и папаина защитное покрытие наносили на пепсин и папаин толщиной слоя 4 мкм.

Технология получения поликомпонентного ферментного препарата из пепсина и папаина включает нанесение защитного покрытия (4 мкм) из мальто-

декстрина на пепсин, нанесение папаина с последующим нанесением слоя мальтодекстрина (4 мкм) при скорости воздушного потока в узком сечении конуса рабочей камеры 0,17 м/с.

В ходе исследований были проведены опыты по влиянию продолжительности хранения чистых ферментов и полученного поликомпонентного ферментного препарата на их активность. Ферменты и ферментный препарат хранили в упакованном виде в сухом, защищенном от света помещении при температуре не выше 2 °С и относительной влажности воздуха не более 75 % в соответствии с ГОСТ Р 52688-2006. Срок хранения чистых ферментов и ферментного препарата не превышал 10 мес.

Исследование протеолитической активности полученного ферментного препарата в зависимости от продолжительности хранения при температуре 0–2 °С показало (рисунок 27), что иммобилизация ферментов с использованием мальтодекстрина стабилизирует активность полученного ферментного препарата практически в течение 6 мес., в то время как у чистых (свободных) ферментов активность уменьшается уже через 3 мес.

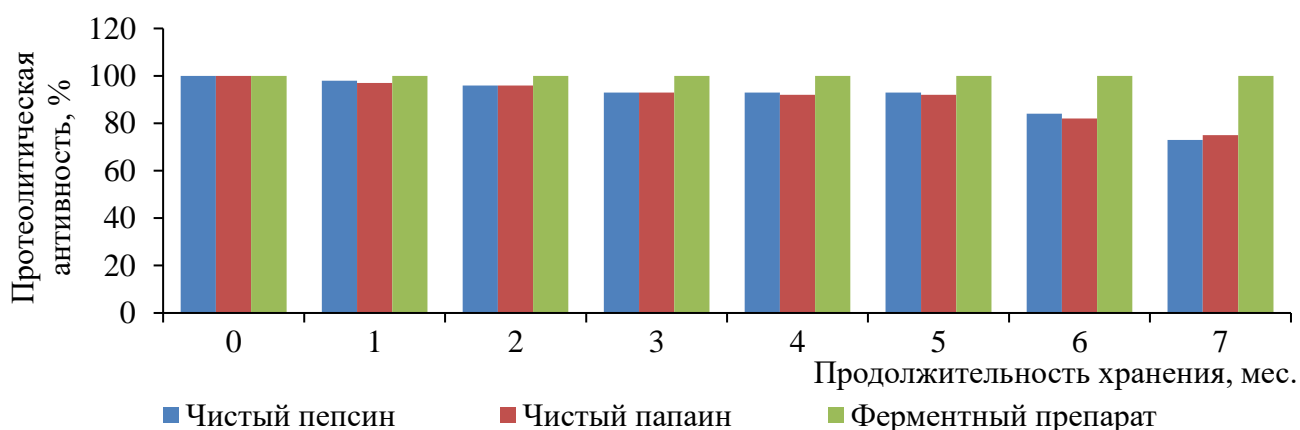


Рисунок 27 – Зависимость протеолитической активности чистых ферментов и микрокапсулированного поликомпонентного ферментного препарата от продолжительности хранения, %

Как видно из представленных результатов, ферментный препарат проявляет высокую протеолитическую активность после 6 мес. хранения.

В результате проведенного исследования была разработана технология получения поликомпонентного ферментного препарата из пепсина и папаина путем микрокапсулирования протеолитических ферментов в псевдокипящем слое из мальтодекстрина толщиной 4 мкм и установлено, что:

– максимальная активность пепсина, иммобилизованного в растворе мальтодекстрина, при увеличении рН реакционной среды сдвигается в щелочную сторону, что не характерно для свободного фермента;

– эффективность разработанной технологии микрокапсулирования обеспечивается за счет диффузии мальтодекстрина в фермент, что позволяет сохранить высокую протеолитическую активность ферментов в течение длительного времени.

4.2 Оценка эффективности применения поликомпонентного ферментного препарата при тендеризации ветчинных изделий

Проведены исследования физико-химических свойств ветчинных изделий в зависимости от продолжительности ферментации. Состав рассола и схема проведения эксперимента описаны в главе 2.

При исследовании эффективности, стабильности при хранении микрокапсулированного поликомпонентного ферментного препарата и дальнейших перспектив его использования в мясной промышленности исходили из оптимума активности ферментов, входящих в препарат. При оценке эффективности учитывали свойства белков мясного сырья как субстратов для ферментов.

В состав мышечной ткани входит однородная система белков, которая называется миогеном, что составляет приблизительно 20 % от поперечно-полосатой мышечной ткани. Миоген хорошо растворим в воде и образует растворы небольшой вязкости, коагулируется при температуре более 55 °С с изоэлектрической точкой при рН в интервале от 6,0 до 6,5.

Другим белком, входящим в состав мяса, является глобулин Х (20 % белка мышечной ткани). Глобулин растворяется в растворах соли невысокой концентрации, коагулируется при температуре 48–52 °С при рН среды в интервале от 5,0 до 5,5.

Белок миозин образует в мышечной ткани глобулиновую фракцию, на долю которой приходится до 49 % белков, содержащихся в мясе. Миозин денатурируется при температуре от 45 до 50 °С, изоэлектрическая точка при рН 5,4.

Белок миозин составляет от 12 % до 15 % общего количества белков мяса.

Актин и миозин образуют актино-миозиновый комплекс в начале автолиза.

В состав мяса входит белок миоглобин, который составляет до 1 % от общего белка. Миоглобин хорошо растворяется в воде и денатурирует при температуре 60 °С. Одним из свойств миоглобина является возможность формировать окраску мяса. Так, в результате присоединения кислорода миоглобин образует оксимиоглобин, придавая мясу светло-розовый цвет, а с увеличением времени хранения мяса переходит в метмиоглобин, формируя более устойчивую окраску.

Свойства вышеуказанных белков мяса позволяют использовать полученный микрокапсулированный поликомпонентный ферментный препарат с учетом оптимума активности его действующих начал (ферментов пепсина и папаина) для сокращения времени тендеризации, массирования и тумблирования мясного сырья.

Можно также предположить синергический эффект воздействия указанных ферментов на мясо и высокую активность даже при гидролизе коллагеновых белков, так как при смещении рН в кислую сторону начинает активно работать пепсин, под воздействием которого коллаген способен набухать даже в водных растворах, которые используются в технологии мясопродуктов. При этом масса коллагена может увеличиваться в 10 раз или до 1 000 % к исходной массе. Исходя из оптимума ферментов пепсина и папаина и специфичности действия можно предположить, что полуконпонентный ферментный препарат будет способен расщеплять коллаген до пролина, оксипролина и гидролизина, повышая биологическую ценность готового продукта.

Другим немаловажным достоинством использования полученного ферментного препарата в технологии мясопродуктов является сохранение его активности в составе рассолов. Например, в рассол входит поваренная соль, содержание которой в мясных системах достигает 3,0 %, что снижает активность чистых ферментов.

Также введение натрия хлорида в мясную систему приводит к увеличению температуры денатурации белков и, соответственно, возрастанию времени ферментации. Следует отметить, что исходное значение рН мясной системы выше изоэлектрической точки (ИЭТ) белков мяса, а при использовании поваренной соли происходит сдвиг рН в кислую сторону, что приводит к усилению протеолитической активности пепсина, входящего в состав поликомпонентного ферментного препарата.

В таблице 23 представлена динамика рН образцов свинины в зависимости от продолжительности ферментации.

Таблица 23 – Динамика рН свинины в зависимости от продолжительности ферментации

Продолжительность ферментации, ч	Значение рН		
	1-я группа	2-я группа	3-я группа
До ферментации	5,72	5,72	5,72
12	5,72	5,72	5,82
24	5,74	5,76	5,91
36	5,77	5,79	6,14

Из данных таблицы 23 следует, что под действием микрокапсулированного ферментного препарата рН сдвигается в щелочную сторону, что связано с образованием оснований в результате гидролиза белка. У образцов ферментированного мяса третьей группы после 36 ч ферментации значение рН увеличилось на 7,4 %. В образцах мяса первой и второй групп достоверных изменений рН не отмечено.

Таким образом, полученные данные косвенно свидетельствуют, что биокаталитическая активность ферментного препарата, полученного с помощью последовательного микрокапсулирования пепсина и папаина в защитные слои из мальтодекстрина, после 6 мес. хранения выше по сравнению с чистыми ферментами.

Большое значение в технологии мясопродуктов имеют функционально-технологические свойства мясного сырья, влияющие на консистенцию и выход готового продукта.

Такой показатель, как водосвязывающая способность (ВСС), обусловлен наличием белковых молекул мяса, способных поглощать, связывать и удерживать влагу за счет появления гидратных оболочек, образующих водородные и электростатические связи.

В таблице 24 представлена динамика ВСС образцов свинины в зависимости от продолжительности ферментации.

Таблица 24 – Динамика водосвязывающей способности образцов свинины в зависимости от продолжительности ферментации

Продолжительность ферментации, ч	Значение ВСС, %		
	1-я группа	2-я группа	3-я группа
До ферментации	58,6	58,5	58,7
12	59,8	59,7	63,4
24	60,5	60,4	64,9
36	61,3	61,8	67,2

Известно, что введение поваренной соли приводит к увеличению содержания влаги в мясных системах, что согласуется с составом рассола, которым шприцевали окорок в нашем эксперименте.

На содержание влаги в продукте также оказывает влияние дополнительное введение в состав веществ белковой природы, так называемых аддитивов. При этом следует учитывать рН среды, так как многие белки в изоэлектрической точке (ИЭТ) теряют способность удерживать влагу. Необходимо отметить важность рН-фактора, так как белки в ИЭТ значительно теряют способность связывать воду.

Из данных таблицы 24 следует, что воздействие посола с чистыми ферментами и поликомпонентным микрокапсулированным ферментным препаратом на уровень водосвязывающей способности существенно отличается. Установлено,

что с увеличением продолжительности ферментации в третьей группе отмечается повышение ВСС. Так, в образцах мяса третьей группы ВСС до ферментации составляла 58,7 %, через 12; 24 и 36 ч 63,4 %; 64,9 % и 67,2 %, в то время как в образцах мяса первой группы – 58,6 %; 59,8 %; 60,5 % и 61,3 %, во второй – 58,5 %; 59,7 %; 60,4 % и 61,8 %. Под действием микрокапсулированного ферментного препарата ВСС закономерно увеличивалась даже до 36 ч ферментации. При этом в образцах окорока первой и второй групп увеличивалась незначительно.

Повышение ВСС в образцах мяса связано с образованием гидрофильных центров белковых молекул в результате деструкции мышечной ткани. Следовательно, ферментация микрокапсулированным поликомпонентным ферментным препаратом приводит к изменению структуры белков мяса и повышению ВСС.

Результаты исследований подтверждают эффективность представленной технологии получения ферментного препарата из пепсина и папаина путем их последовательного микрокапсулирования в мальтодекстрине для обеспечения его стабильности при хранении.

Увеличение ВСС связано с постепенным гидролизом мышечной ткани за счет высвобождения сначала фермента папаина, который максимально активен при рН окорока 5,4.

Одним из показателей содержания влаги в мясных системах является влагоудерживающая способность (ВУС), т. е. способность мясных систем продукта удерживать влагу после нагревания (таблица 25).

Таблица 25 – Динамика ВУС образцов свинины в зависимости от продолжительности ферментации

Продолжительность ферментации, ч	Значение ВУС, %		
	1-я группа	2-я группа	3-я группа
До ферментации	54,1	54,2	54,1
12	54,3	54,4	56,2
24	54,7	54,9	57,8
36	55,1	55,3	59,5

Установлено, что ВУС возрастает в образцах мяса всех исследуемых групп с увеличением времени ферментации. Аналогично ВСС значение показателя ВУС в образцах свинины третьей группы увеличивается на фоне ферментации микрокапсулированным ферментным препаратом. Так, ВУС в третьей группе через 12; 24 и 36 ч составила 56,2 %; 57,8 % и 59,5 %, в то время как в первой – 54,3 %; 54,7 % и 55,1 %. Аналогичные результаты были получены при исследовании ВУС во второй группе и согласуются с данными [6], свидетельствующими об изменении реологических свойств мясных систем при воздействии ферментов. В частности, при посоле мяса образуются нестабильные структуры, которые формируют пластичную массу с высокой вязкостью и адгезией, что придает определенную липкость фаршу и позволяет получить однородную монолитную структуру при воздействии высокой температуры. Показатель вязкости фарша обуславливает усилие, приложенное при резании (показатель «усиление на разрез»), снижение которого свидетельствует о повышении усвояемости готового продукта за счет доступности к перевариванию низкоусвояемого коллагенового белка.

Полученные данные о повышении ВСС и ВУС свинины свидетельствуют о высокой эффективности микрокапсулированного поликомпонентного ферментного препарата и сохранении его активности при хранении.

Таким образом, применение полученного поликомпонентного ферментного препарата можно считать перспективным в производстве мясопродуктов с целью их тендеризации и повышения биоусвояемости.

Следует отметить, что микрокапсулированный ферментный препарат синергичен ферментам катепсинам и может быть инактивирован при повышении температуры в результате тепловой обработки мясного сырья.

В таблице 26 представлена динамика растворимости белка образцов свинины в зависимости от продолжительности ферментации.

Из данных таблицы 26 следует, что процентное содержание азота саркоплазматических белков в образцах мяса возрастает, наибольшее количество отмечается в третьей группе. Так, после ферментации в течение 12; 24 и 36 ч количество азота саркоплазматических белков возросло на 4,6 %; 7,8 % и 10,0 %, в то

время как в первой группе – на 1,2 %; 2,5 % и 4,4 %, во второй – 1,4 %; 2,7 % и 4,6 %.

Таблица 26 – Динамика растворимости белка образцов свинины в зависимости от продолжительности ферментации (азот саркоплазматических белков к общему азоту, %)

Продолжительность ферментации, ч	Азот саркоплазматических белков к общему азоту, %		
	1-я группа	2-я группа	3-я группа
До ферментации	8,2	8,2	8,1
12	9,4	9,6	12,7
24	10,7	10,9	15,9
36	12,6	12,8	18,1

В таблице 27 представлена динамика растворимости белка образцов мяса в зависимости от продолжительности ферментации (азот миофибриллярных белков к общему азоту, %).

Таблица 27 – Динамика растворимости белка образцов свинины в зависимости от продолжительности ферментации (азот миофибриллярных белков к общему азоту, %)

Продолжительность ферментации, ч	Азот миофибриллярных белков к общему азоту, %		
	1-я группа	2-я группа	3-я группа
До ферментации	15,1	15,1	15,2
12	15,4	15,6	17,7
24	16,3	16,4	18,5
36	16,9	17,1	20,8

Из данных таблицы 27 следует, что содержание азота миофибриллярных белков к общему азоту достоверно увеличилось в исследуемых образцах мяса после ферментации. Так, через 12; 24 и 36 ч ферментации в третьей группе оно со-

ставило 17,7 %; 18,5 % и 20,8 %, в первой группе – 15,4 %; 16,3 % и 16,9 %, во второй группе – 15,6 %; 16,0 % и 17,1 %.

В процессе ферментации мяса происходят процессы гидролиза белка, сходные с автолитическими изменениями при созревании под действием катепсинов – собственных ферментов мяса. Следует отметить, что при переработке мясного сырья не всегда удается создать необходимые условия для действия катепсинов, поэтому прибегают к введению в мясную систему протеолитических ферментов, что не только обеспечивает деструктивные изменения белка мяса, но и позволяет равномерно распределить посолочную смесь, улучшить консистенцию и биологическую ценность готового продукта. Использование ферментных препаратов в технологии мясопродуктов целесообразно для повышения эффективности переработки сырья и ускорения технологического процесса. Обычно эффективность действия фермента оценивают по происходящему гидролизу:

– частичный гидролиз, характеризующийся тем, что белковые молекулы разрушаются не полностью, увеличивается содержание свободных аминокислот, что приводит к возрастанию ВУС. Следует отметить, что микроструктура при частичном гидролизе сохраняется, но при этом мясо становится более мягким;

– при гидролизе средней степени происходит расщепление белка, отмечается большое количество свободных аминокислот, мышечная ткань становится более мягкой, но при этом не теряет своей структуры, ВСС начинает незначительно снижаться;

– при глубоком протеолизе содержание свободных аминокислот существенно возрастает до 30 %, мясо приобретает кашеобразную консистенцию и характеризуется ухудшением функционально-технологических свойств.

В нашем эксперименте при ферментации мяса отмечается частичный протеолиз, о чем свидетельствует содержание небелкового азота (таблица 28), в состав которого входят азот полипептидов, свободные аминокислоты и другие азотистые вещества.

В таблице 28 представлена динамика растворимости белка образцов мяса в зависимости от продолжительности ферментации (небелковый азот к общему азоту, %).

Таблица 28 – Динамика растворимости белка образцов мяса в зависимости от продолжительности ферментации (небелковый азот к общему азоту, %)

Продолжительность ферментации, ч	Небелковый азот к общему азоту, %		
	1-я группа	2-я группа	3-я группа
До ферментации	5,7	5,7	5,7
12	6,1	6,3	7,9
24	6,4	6,7	8,9
36	6,8	7,1	10,5

Из данных таблицы 28 следует, что при ферментировании мяса микрокапсулированным поликомпонентным ферментным препаратом отмечается увеличение небелкового азота к общему белку. Так, в третьей группе процентное содержание небелкового азота к общему азоту увеличилось через 12; 24 и 36 ч ферментации на 2,2 %; 3,2 % и 4,8 %, в первой группе – на 0,4 %; 0,7 % и 1,1 %, во второй – на 0,6 %; 1 % и 1,4 %.

Полученные данные свидетельствуют, что микрокапсулированный поликомпонентный ферментный препарат усиливает процессы гидролиза белка с образованием свободных аминокислот и пептидов, что приводит к тендеризации мышечной ткани. Представленные данные показывают высокую эффективность последовательной микрокапсуляции фермента пепсина, а затем папаина в защитный слой из мальтодекстрина в сохранении стабильности и активности при хранении полученного препарата.

В таблице 29 представлена динамика растворимости белка образцов мяса в зависимости от продолжительности ферментации (полипептидный азот к общему азоту, %).

Таблица 29 – Динамика растворимости белка образцов мяса в зависимости от продолжительности ферментации (полипептидный азот к общему азоту, %)

Продолжительность ферментации, ч	Полипептидный азот к общему азоту, %		
	1-я группа	2-я группа	3-я группа
До ферментации	3,0	3,0	3,1
12	3,2	3,3	4,7
24	3,5	3,6	6,0
36	3,8	3,9	6,4

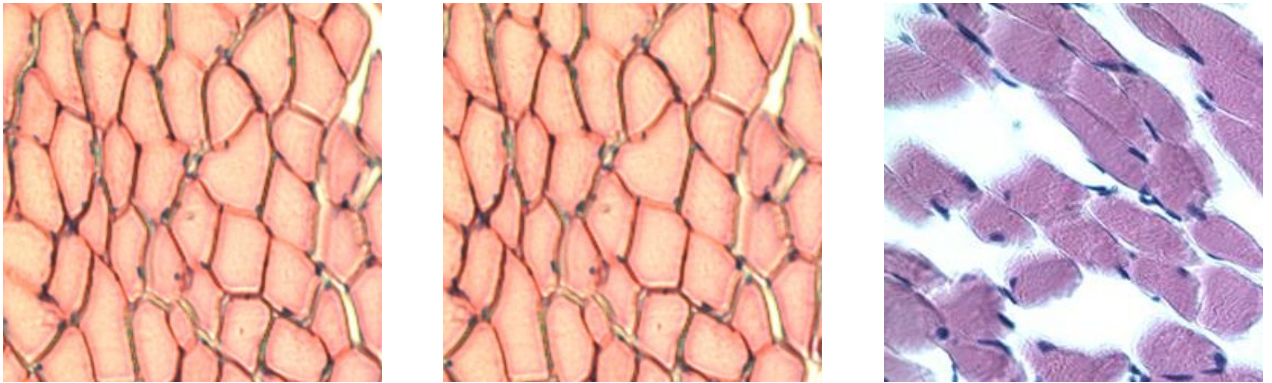
Из данных таблицы 29 следует, что применение микрокапсулированного поликомпонентного ферментного препарата (3-я группа) при ферментации мяса приводит к растворимости белка. Так, количество полипептидного азота к общему азоту возросло через 12; 24 и 36 ч ферментации на 1,6 %; 2,9 % и 3,3 %, в первой группе – на 0,2 %; 0,5 % и 0,8 %, во второй – на 0,3 %; 0,6 % и 0,9 %.

На основании представленных данных можно говорить о том, что азотистые вещества мышечной ткани изменяются под действием ферментов. Процентное содержание азотистых соединений значительно увеличилось в мясе в результате применения микрокапсулированного поликомпонентного ферментного препарата, что свидетельствует об увеличении растворимости белка. В мясе первой и второй групп отмечено несущественное увеличение азотистых соединений.

Таким образом, полученные результаты подтверждают эффективность технологии получения микрокапсулированного поликомпонентного ферментного препарата на основе пепсина и папаина в псевдокипящем слое при сохранении протеолитической активности действующих начал (ферментов).

Для оценки глубины протеолиза под действием ферментов исследуют микроструктуру мяса, что позволяет на различных стадиях гидролиза установить появление деструктивных изменений мышечной ткани, определить степень гидролиза и спрогнозировать функционально-технологические и структурно-механические свойства сырья и, соответственно, качество готовой продукции.

Проведено исследование микроструктуры мясного сырья после шприцевания чистым пепсином (1-я группа), чистым папаином (2-я группа) и микрокапсулированным поликомпонентным ферментным препаратом (3-я группа) (рисунки 28 и 29). Все исследуемые протеолитические ферменты и ферментный препарат хранились в течение 9 мес.



a – рассол с чистым пепсином *б* – рассол с чистым папаином

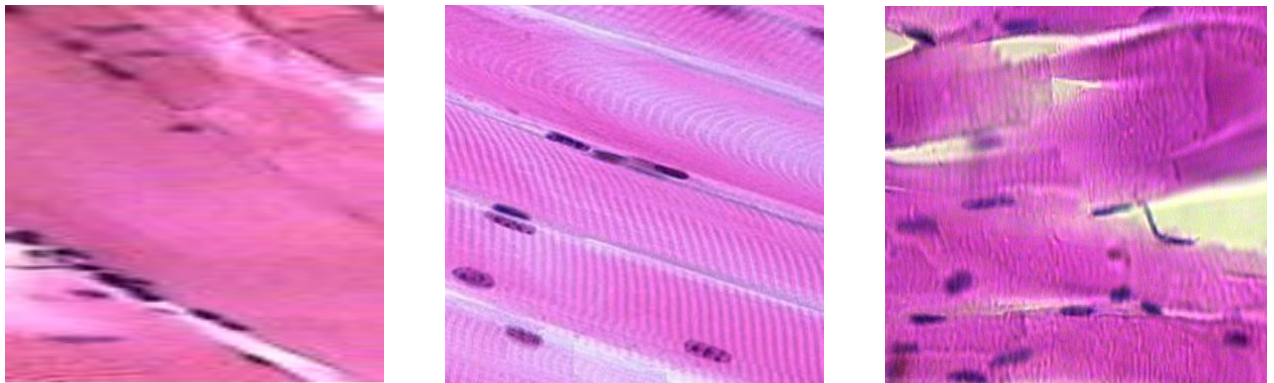
в – рассол
с микрокапсулированным
поликомпонентным
ферментным препаратом

Рисунок 28 – Микроструктура мышечной ткани свинины (поперечный срез) при толщине защитного покрытия 4 мкм, увеличение $\times 100$

Из рисунка 28 следует, что микроструктура мышечной ткани свинины при использовании чистого пепсина и чистого папаина не имеет деструктивных изменений, характеризуется полигональной формой, мышечные волокна целостные, плотно прилегают друг к другу. При применении микрокапсулированного поликомпонентного ферментного препарата, хранившегося в течение 9 мес., мышечные волокна местами неплотно прилегают друг к другу. Сарколема частично разрушена, между волокнами находится белковая масса, образованная в результате ферментативного гидролиза белка.

Из рисунка 29*а* и 29*б* следует, что в мышечных волокнах отсутствуют изменения микроструктуры, волокнистое, клеточное и аморфное строение сохранено, мышечная ткань имеет выраженную поперечнополосатую исчерченность. На ри-

сунке 29в видно, что миофибриллы частично разрушены и отмечается выход ядер клеток в межклеточное пространство.



a – рассол с чистым пепсином *б* – рассол с чистым папаином

в – рассол
с микрокапсулированным
поликомпонентным
ферментным препаратом

Рисунок 29 – Микроструктура мышечной ткани свинины (продольный срез) при толщине защитного покрытия 4 мкм, увеличение $\times 100$

Исследование микроструктуры мышечной ткани под действием чистых ферментов и микрокапсулированного поликомпонентного ферментного препарата говорит о сохранении его протеолитической активности при хранении и усилении действия лизосомальных ферментов при его применении, что позволяет свидетельствовать об эффективности предложенной технологии последовательного (последовательного) микрокапсулирования ферментов в защитный слой из мальтодекстрина для сохранения стабильности ферментов.

Полученные данные о гидролизе белков мышечной ткани мяса под действием поликомпонентного ферментного препарата позволяют рекомендовать его к использованию в технологии мясопродуктов для ускорения процесса посола.

Таким образом, можно констатировать, что в результате действия микрокапсулированного поликомпонентного ферментного препарата, хранившегося в течение 9 мес., белки мышечной ткани подвергаются деструктивным изменениям в результате гидролиза, в то время как микроструктура образцов под действием чисто-

го (немикрокапсулированного) пепсина и папаина не разрушается. Полученные данные свидетельствуют о высокой активности иммобилизированных ферментов.

На рисунке 30 представлено влияние продолжительности хранения чистого пепсина, чистого папаина и микрокапсулированного поликомпонентного ферментного препарата на структурно-механические свойства ветчины.

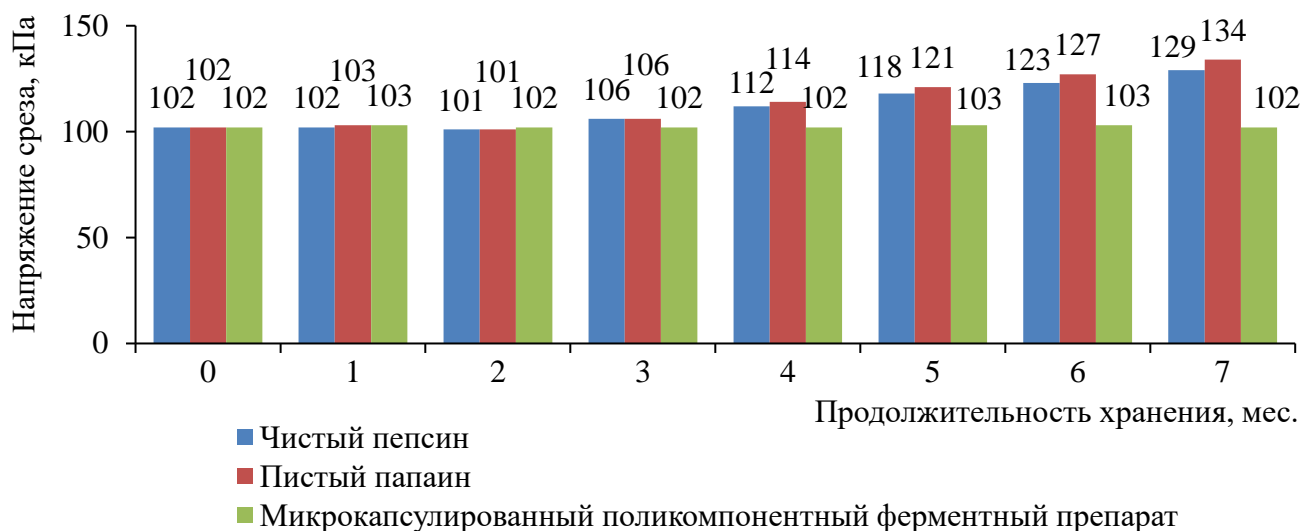


Рисунок 30 – Влияние продолжительности хранения чистого пепсина, чистого папаина и микрокапсулированного поликомпонентного ферментного препарата на структурно-механические свойства ветчины

Установлено, что в течение 3 мес. хранения протеолитическое действие чистых ферментов было практически на одном уровне, что видно из результатов определения величины напряжения среза ветчины. Чистый пепсин и чистый папаин через 3 мес. хранения начали заметно терять свою активность, их протеолитическое действие на продукт существенно снижалось. В то же время микрокапсулированный поликомпонентный ферментный препарат не терял своей активности в течение 7 мес. хранения, что видно по величине напряжения среза ветчины. Эти данные свидетельствуют о защитном действии мальтодекстрина, препятствующем инактивации пепсина и папаина, и подтверждают результаты определения активности чистых ферментов и микрокапсулированного поликомпонентного ферментного препарата (см. рисунок 30).

Результаты исследований показывают, что микрокапсулирование, предполагающее иммобилизацию пепсина и папаина путем последовательного присоединения их к инертной матрице – мальтодекстрину, обеспечивает улучшение пищевой ценности мясного продукта за счет тендеризации исходного сырья. Установлено, что хранение микрокапсулированного поликомпонентного ферментного препарата при температуре 0–2 °С позволяет сохранять его протеолитическую активность по сравнению с чистыми ферментами.

Таким образом, применение микрокапсулированного поликомпонентного ферментного препарата, состоящего из пепсина и папаина, покрытых мальтодекстрином, может быть эффективным способом обеспечения качества ветчины.

Учитывая полученные результаты, можно рекомендовать осуществлять микрокапсулирование протеолитических ферментов пепсина и папаина с использованием мальтодекстрина при толщине покрытия от 4 до 6 мкм, что позволит расширить возможности использования иммобилизованных ферментов при производстве мясных продуктов.

Заключение

В область научных интересов пищевой биотехнологии входят исследования по изучению протеолитической активности ферментов, совершенствованию технологий ферментативного гидролиза белка и направленного действия ферментов на пищевые системы. На основании проведенных исследований предложены способ активации протеолитической активности фермента и экспресс-методика ее определения, технология растительного белкового препарата с использованием активированного протеолитического фермента, технология получения поликомпонентного ферментного препарата, состоящего из последовательно микрокапсулированных пепсина и папаина в защитный слой из мальтодекстрина, проведена практическая апробация результатов исследований и сделаны следующие выводы.

1. Установлено, что оптимум активности трипсина отмечается при рН 8,0 и температуре 40 °С. Разработана технология активации протеолитических свойств фермента трипсина путем экспозиции 0,35 %-го раствора фермента на фосфатном буферном растворе светом синего спектра с длиной волны 435–470 нм и с мощностью светового потока 35 мкВт/см² в течение 480 мин.

2. Усовершенствована экспресс-методика определения протеолитической активности фермента путем повышения температуры гидролиза тест-пластинки до температурного оптимума активности фермента, что позволяет снизить время учета реакции с 20–30 до 10–15 мин.

3. Научно обоснованы и экспериментально подтверждены технологические этапы производства белкового препарата из семян люпина с использованием ферментативного гидролиза, включающие: удаление оболочки и измельчение семян, гомогенизацию раствора из муки семян люпина, обработку ферментом глюкоамилазой с последующей инактивацией, протеолитический гидролиз белка активированным трипсином, ультрафильтрацию и сушку белкового препарата. Установлены оптимальные биотехнологические режимы гидролиза белка из семян люпина

в 25 % при концентрации трипсина 2 г/100 кг гидролизата: рН 7,25–8,25, время гидролиза – 4–6 ч.

4. Проведена оценка органолептических показателей, химического состава, функционально-технологических свойств и микроструктуры растительного белкового препарата ферментативного гидролиза. Установлено, что белковый препарат имеет однородную гомогенную структуру, содержание белка составляет 74,1 %, жира – 7,9 %, золы – 4,1 % и влаги – 13,9 %, влагоудерживающая – 517 %, жироудерживающая – 208 % и эмульгирующая способность – 98 %.

5. На основании исследований органолептических показателей, химического состава и функционально-технологических свойств доказана перспективность замены фарша из нежирной свинины на гидратированный белковый концентрат при производстве вареных колбас. На основании исследований влагоудерживающей, жироудерживающей способности и микроструктуры фарша определен технологический этап внесения гидратированного белкового препарата – стадия куттерования. Установлено, что замена основного мясного сырья в количестве 2 % при производстве вареной колбасы на гидратированный растительный белковый препарат в соотношении 1:10 обеспечивает высокие качественные характеристики готового продукта.

6. Определены рациональные параметры иммобилизации пепсина для толщины защитного покрытия 6 мкм: скорость воздушного потока с 10 %-м раствором мальтодекстрина в узком сечении конуса рабочей камеры составляет 0,17 м/с, время – 6 мин. Предложена технология получения поликомпонентного ферментного препарата путем последовательного микрокапсулирования пепсина и папаина в псевдокипящем слое из мальтодекстрина. Показано, что создание защитного покрытия из мальтодекстрина с толщиной 4 и 6 мкм позволяет сохранить протеолитическую активность ферментов более 6 мес. при температуре хранения 0–2 °С.

7. Экспериментальным путем доказана эффективность применения микрокапсулированного поликомпонентного ферментного препарата в технологии ветчинных изделий. Под действием микрокапсулированного поликомпонентного ферментного препарата, хранившегося более 6 мес., рН мяса после 36 ч фермента-

ции увеличивается на 7,3 %, ВСС – на 8,5 %, ВУС – на 5,4 %, азот саркоплазматических белков к общему азоту – на 10,0 %, азот миофибриллярных белков к общему азоту – на 5,6 %, небелковый азот к общему азоту – на 4,8 %, полипептидный азот к общему азоту – на 3,3 %, изменяется микроструктура (миофибриллы частично разрушены, отмечается выход ядер клеток в межклеточное пространство), напряжение среза ветчинных изделий ниже на 31,4 %. Достоверных изменений показателей гидролиза белка под действием немикрокапсулированных ферментов, хранившихся более 6 мес., не отмечено.

Список сокращений и условных обозначений

ВСС – влагосвязывающая способность.

ВУС – влагоудерживающая способность.

ЖУС – жирудерживающая способность.

ИЭТ – изоэлектрическая точка.

ПС – псевдооживленный слой.

СВ – сухое вещество.

ФТС – функционально-технологические свойства.

ЭС – эмульгирующая способность.

Список литературы

1. Агаркова, Е. Ю. Проектирование протеолиза молочных белков для создания функциональных продуктов со сниженной аллергенностью / Е. Ю. Агаркова, К. А. Березкина, А. Г. Кручинин, И. В. Николаев // Пищевые инновации и биотехнологии : материалы Междунар. науч. конф. (Кемерово, 29 апреля 2014 г.). – Кемерово : КемТИПП, 2014. – С. 21–23.
2. Аксенова, Л. М. Направленная конверсия белковых модулей пищевых продуктов животного и растительного происхождения / Л. М. Аксенова, Л. В. Римарева // Вестник российской академии наук. – 2017. – Т. 87, № 4. – С. 355–357.
3. Алексеева, А. А. Пищевая аллергия к глютену. Современная диетотерапия / А. А. Алексеева, Л. С. Намазова-Баранова, С. Г. Макарова [и др.]. – DOI 10.15690/vsp.v13i5.1152 // Вопросы современной педиатрии. – 2014. – Т. 13, № 5. – С. 71–75.
4. Антипова, Л. В. Перспективы применения люпина в пищевой промышленности / Л. В. Антипова, Ж. И. Богатырева // Успехи современного естествознания. – 2007. – № 10. – С. 82–83.
5. Антипова, Л. В. Технология получения белковых концентратов из люпина / Л. В. Антипова, Ж. И. Богатырева, И. С. Кравцова, И. В. Руднева // Мясная индустрия. – 2009. – № 5. – С. 50–53.
6. Антипова, Л. В. Физико-химические и биокаталитические свойства протеолитического комплекса препарата «Протепсин» / Л. В. Антипова, М. В. Горбунков // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. – 2016. – № 1. – С. 89–93.
7. Антонова, А. С. Микрокапсулирование биологически активных веществ темплатным способом / А. С. Антонова, Ю. В. Носкова, А. С. Смирнова // Молодые ученые – развитию национальной технологической инициативы. – 2020. – № 1. – С. 607–609.

8. Арыкбаева, А. Б. Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* в генетической инженерии / А. Б. Арыкбаева // Альманах научных работ молодых ученых Университета ИТМО : сборник научных трудов XLV науч. и учеб.-метод. конф университета ИТМО (Санкт-Петербург, 2–6 февраля 2016 г). – Санкт-Петербург : Санкт-Петербургский национальный исследовательский университет информационных технологий, механики и оптики, 2016. – С. 88–91.

9. Багрянцева, О. В. Вопросы безопасного использования ферментных препаратов / О. В. Багрянцева, Г. Н. Шатров, О. В. Арнаутов // Молочная промышленность. – 2016. – № 5. – С. 50–52.

10. Багрянцева, О. В. О необходимости внесения изменений в законодательство Евразийского Экономического Союза в области нормирования ферментных препаратов / О. В. Багрянцева, Г. Н. Шатров // Перспективные ферментные препараты и биотехнологические процессы в технологиях продуктов питания и кормов : сборник научных трудов ГНУ ВНИИПБ. – Москва : ВНИИПБТ, 2014. – С. 101–108.

11. Банникова, А. В. Молочные продукты, обогащенные сывороточными белками. Технологические аспекты создания / А. В. Банникова, И. А. Евдокимов // Молочная промышленность. – 2015. – № 1. – С. 64–66.

12. Бикташев, Р. У. Перспективы применения ферментных препаратов растительного происхождения / Р. У. Бикташев // Актуальные вопросы совершенствования технологии производства и переработки продукции сельского хозяйства. – 2018. – № 20. – С. 345–348.

13. Богданова, Е. В. Гидролизаты сывороточных белков в технологии продуктов для спортивного питания / Е. В. Богданова, Е. И. Мельникова // Молочная промышленность. – 2018. – № 4. – С. 45–47.

14. Боярская, Л. А. Гигиеническое обоснование применения функциональных молочных продуктов в профилактике дефицита макро- и микроэлементов / Л. А. Боярская, Е. А. Вильмс, Д. В. Турчанинов, И. В. Богдашин, Ю. В. Ерофеев // Гигиена и санитария. – 2016. – № 11 (95). – С. 1095–1099.

15. Брезе, О. Э. Снижение себестоимости колбасных изделий при использовании растительных и животных белков / О. Э. Брезе, Е. В. Набок // Новое слово в науке: перспективы развития. – 2015. – № 1 (3). – С. 181–185.

16. Быковская, Е. Е. Применение технологии инкапсулирования в различных отраслях промышленности / Е. Е. Быковская, А. А. Кролевец // Известия Юго-Западного государственного университета. – 2012. – Т. XLV, № 2. – С. 137–140.

17. Вилесова, М. С. Разработка микрокапсулированных и гелеобразных продуктов и материалов для различных отраслей промышленности / М. С. Вилесова, Н. И. Айзенштадт, М. С. Босенко [и др.] // Российский химический журнал. – 2001. – № 5–6. – С. 1–10.

18. Вишнева, Е. А. Пищевая аллергия к белкам пшеницы. Трудности диагностики и лечения / Е. А. Вишнева, Л. С. Намазова-Баранова, С. Г. Макарова [и др.]. – DOI 10.15690/pf.v12i4.1424 // Педиатрическая фармакология. – 2015. – Т. 12, № 4. – С. 429–434.

19. Войтенко, О. С. Технология пробиотиков и продуктов на их основе : учеб. пособие / О. С. Войтенко. – Персиановский : Донской ГАУ, 2019. – 171 с.

20. Волощенко, Л. В. Влияние ферментных препаратов на органолептические и функционально-технологические свойства мяса / Л. В. Волощенко, А. И. Трегубова // Международный научно-исследовательский журнал. – 2015. – № 3 (34), ч. 1. – С. 45–47.

21. Гмошинский, И. В. Мембранные технологии – инновационный метод повышения биологической ценности белка для питания детей раннего возраста / И. В. Гмошинский, И. С. Зилова, С. Н. Зорин, Е. Ю. Демкина // Вопросы современной педиатрии. – 2012. – Т. 11, № 3. – С. 57–64.

22. Головач, Т. Н. Причины возникновения пищевой аллергии и пути ее снижения / Т. Н. Головач, А. А. Иванов, Н. Н. Яцков, В. П. Курченко // Перспективные ферментные препараты и биотехнологические процессы в технологиях продуктов питания и кормов : сб. тр. – Москва : ВНИИПБТ, 2016. – С. 147–157.

23. Горбунков, М. В. Физико-химические свойства протеолитического комплекса и применение ферментного препарата «Протепсин» для обработки сырья

животного происхождения : дис. ... канд. техн. наук : 05.18.07, 05.18.04 / Горбунков Михаил Владимирович. – Воронеж, 2016. – 169 с.

24. Гуринович, Г. В. Белковые препараты и пищевые добавки в мясной промышленности: учебное пособие / Г. В. Гуринович, Н. Н. Потипаева, В. М. Позняковский. – Кемерово : КемГУ, 2008. – 168 с.

25. Данилов, М. Б. Использование фосфатов в мясной отрасли : монография / М. Б. Данилов, Н. И. Гомбожапова, Т. М. Бадмаева, С. Н. Павлова. – Улан-Удэ : Изд-во ВСГУТУ, 2015. – 164 с. – ISBN 978-5-89230-604-1.

26. Данько, С. Ф. Звуковая обработка ячменя на разных стадиях солодоращения / С. Ф. Данько, Т. Н. Данильчук, Д. Н. Юрьев, В. В. Егоров // Пиво и напитки. – 2000. – № 5. – С. 50–51.

27. Демьянцева, Е. Ю. Способы инкапсулирования ферментов : учеб.-метод. пособие / Е. Ю. Демьянцева, А. В. Парфенова. – Санкт-Петербург : ВШТЭ СПбГУПТД, 2018. – 20 с.

28. Деревицкая, О. К. Разработка продукта для энтерального питания на мясной основе / О. К. Деревицкая, А. С. Дыдыкин, М. А. Асланова [и др.] // Вопросы питания. – 2018. – № 3. – С. 51–57.

29. Донская, Г. А. Продукты долголетия / Г. А. Донская, А. С. Щекочихина, В. М. Дрожжин // Молочная промышленность. – 2019. – № 11. – С. 43–44.

30. Драгунова, М. М. Метод переработки вторичного коллагенсодержащего сырья с использованием дрожжей *Clavisporalutitaniae* Y3723 / М. М. Драгунова, В. П. Брехова // Техника и технология пищевых производств. – 2014. – Т. 32, № 1. – С. 18–21.

31. Драгунова, М. М. Разработка технологии переработки коллагенсодержащих отходов мясоперерабатывающей промышленности в функциональную кормовую добавку для животных сельскохозяйственного сектора / М. М. Драгунова, А. Ю. Просеков, И. С. Милентьева [и др.] // Вестник Красноярского государственного аграрного университета. – 2014. – Т. 98, № 11. – С. 203–206.

32. Емельянов, В. В. Биохимия : учеб. пособие / В. В. Емельянов, Н. Е. Максимова, Н. Н. Мочульская. – Екатеринбург : Изд-во Урал. ун-та, 2016. – 132 с.

33. Ерашова, Л. Д. Использование нетрадиционных источников белка растительного происхождения / Л. Д. Ерашова, Г. Н. Павлова, Р. С. Ермоленко [и др.] // Пищевая промышленность. – 2009. – № 10. – С. 14–15.
34. Живлянцева, Ю. В. Пептон из вторичных продуктов переработки Атлантической трески: технология, качество, использование / Ю. В. Живлянцева, Л. К. Куранова, В. И. Волченко, В. А. Гроховский // Вестник Камчатского государственного технического университета. – 2018. – № 45. – С. 28–36.
35. Журавская, Н. К. Исследование и контроль качества мяса и мясопродуктов / Н. К. Журавская, Л. Т. Алехина, Л. М. Отряшенкова. – Москва : Агропроиздат, 1985. – 296 с.
36. Зверев, С. В. Использование белого люпина в экономике России / С. В. Зверев, И. А. Панкратьева, А. С. Цыгуткин, А. Л. Штеле // Хранение и переработка зерна. – 2014. – № 5. – С. 31–34.
37. Зверев, С. В., Цыгуткин, А. С. Первичная переработка зерна белого люпина / С. В. Зверев, А. С. Цыгуткин // Современный фермер. – 2014. – № 8. – С. 11–13.
38. Зинина, О. В. Ферменты в мясной отрасли пищевой промышленности / О. В. Зинина, А. А. Соловьева, Я. М. Ребезов [и др.] // Международный студенческий научный вестник. – 2015. – № 6. – URL: <https://eduherald.ru/ru/article/view?%20id=14245> (дата общащения: 28.04.2020).
39. Зинченко, Д. В. Гидролиз белков сои и рапса экстрактом из пилорических придатков трески / Д. В. Зинченко, Т. А. Муранова, Л. А. Меланьина, А. И. Мирошников // Прикладная биохимия и микробиология. – 2019. – Т. 55, № 2. – С. 172–180.
40. Зобкова, З. С. Влияние пищевых добавок и функциональных ингредиентов на качество цельномолочных продуктов / З. С. Зобкова, Т. П. Фурсова, Д. В. Зенина [и др.] // Молочная промышленность. – 2017. – № 2. – С. 50–52.
41. Зорин, С. Н. Ферментативные гидролизаты пищевых белков для специализированных пищевых продуктов диетического (лечебного и профилактического) питания / С. Н. Зорин // Вопросы питания. – 2019. – Т. 88. – № 3. – С. 23–31.

42. Изучение ферментативного гидролиза пшеничной муки при производстве патоки для пивоварения / С. В. Брозов, И. Ю. Сергеева, Д. В. Клиппа, В. А. Помозова // Кузбасс: Образование, наука, инновации : материалы Инновационного конвента. – Новокузнецк : Сиб. гос. индустр. ун-т, 2017. – С. 143–145.

43. Калтович И. В. Рациональные параметры щелочного гидролиза коллагенсодержащего сырья и их влияние на пищевую ценность и показатели безопасности / И. В. Калтович // Потребительская кооперация. – 2019. – № 2 (65). – С. 47–53.

44. Карпенко, Д. В. Оптимизация параметров акустической обработки пивоваренного ячменного солода / Д. В. Карпенко, М. А. Беркетова // Пиво и напитки. – 2012. – № 4. – С. 8–10.

45. Каширских, Е. В. Технология получения белкового концентрата овса посевого с высокими физико-химическими и функционально-технологическими характеристиками / Е. В. Каширских, О. О. Бабич, О. В. Кригер // Техника и технология пищевых производств. – 2019. – № 2. – С. 216–226.

46. Киреев, Е. Д. Влияние тендеризации на флейвор мясных продуктов / Е. Д. Киреев // Молодой ученый. – 2014. – № 20 (79). – С. 149–153.

47. Кобелев, А. В. Влияние разного светового спектра на рост дрожжей *Saccharomyces cerevisia* / А. В. Кобелев, Т. В. Багаева // Сервис виртуальных конференций Рах Gird : материалы II Междунар. интернет-конф. (Казань, 26–27 марта 2013 г.). – Казань : ИП Синяев Д. Н., 2013. – С. 147–149.

48. Коденцова, В. М. Обеспеченность населения России микронутриентами и возможности ее коррекции. Состояние проблемы / В. М. Коденцова, О. А. Вржесинская, Д. В. Рисник [и др.] // Вопросы питания. – 2017. – Т. 86, № 4. – С. 113–124.

49. Косенко, Т. А. Способ модификации сырья животного происхождения для обогащения пищевых систем / Т. А. Косенко, Т. К. Каленик // Вестник Красноярского государственного аграрного университета – 2017. – № 1 (124). – С. 108–113.

50. Кочеткова, А. А. Принципы рационального питания: медико-биологическая значимость мяса и мясопродуктов / А. А. Кочеткова, А. И. Жаринов // Мясная индустрия. – 2015. – № 12. – С. 4–9.

51. Кретов, И. Т. Масло из семян амаранта / И. Т. Кретов, С. Н. Соболев, Л. А. Мирошниченко, И. М. Жаркова // Масложировая промышленность. – 2006. – № 1. – С. 22–24.

52. Кудасова, Д. Е. Микрокапсулирование биологически активных веществ методом двойных эмульсий / Д. Е. Кудасова, Б. Ж. Муталиева, А. А. Сапарбекова, Ж. Р. Елеманова // Современные научные исследования и разработки. – 2018. – № 9 (26). – С. 188–191.

53. Курбатова, Е. И. Микромицет *Aspergillus foetidus* – продуцент комплекса гидролитических ферментов / Е. И. Курбатова, Е. Н. Соколова, Ю. А. Борщева, В. Е. Давыдкина, Л. В. Римарева, В. А. Поляков, Н. С. Погоржельская // Микология и фитопатология. – 2017. – Т. 51, № 1. – С. 34–40.

54. Липин, А. Г. Капсулирование гранул в полимерные оболочки как метод создания минеральных удобрений с регулируемой скоростью высвобождения питательных веществ / А. Г. Липин, В. О. Небукин, А. А. Липин // Современные наукоемкие технологии. Региональное приложение. – 2017. – № 3 (51). – С. 86–90.

55. Липина, А. А. Экспресс-метод оценки миграционной способности выделения акарицидно-репеллентных веществ (АРВ), инкорпорированных в структуру микрокапсулы / А. А. Липина, С. Н. Хахин, О. И. Одинцова [и др.] // Российский химический журнал. – 2018. – № 3. – С. 23–28.

56. Лисицын, А. Б. Прижизненное формирование состава и свойств животного сырья / А. Б. Лисицын, И. М. Чернуха, О. И. Лунина, Л. В. Федулова. – Москва : ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова, 2018. – 439 с. – ISBN 978-5-901768-45-7.

57. Логинова, О. О. Физико-химические и кинетические свойства гетерогенного биокатализатора на основе трипсина, иммобилизованного на матрице хитозана / О. О. Логинова, М. Г. Холявка, В. Г. Артюхов // Биофармацевтический журнал. – 2015. – Т. 7, № 2. – С. 13–16.

58. Лукин, Н. Д. Исследование действия амилолитических ферментов на нативный крахмал различных видов в гетерогенной среде / Н. Д. Лукин, З. М. Бородина, А. А. Папахин [и др.] // Достижения науки и техники АПК. – 2013. – № 10. – С. 62–64.

59. Марченко, В. В. Перспективы использования молочных белковых препаратов в технологии эмульгированных мясопродуктов / В. В. Марченко, Е. Н. Стаценко, Н. В. Судакова // Мясные технологии. – 2014. – № 2 (134). – С. 17–19.

60. Махова, А. А. Изучение ферментативной активности рекомбинантной металлопептидазы, предназначенной для применения в мясной промышленности / А. А. Махова, М. Ю. Минаев, А. В. Куликовский, Н. Л. Вострикова // Вопросы питания. – 2019. – Т. 88, № 4. – С. 95–104.

61. Машанов, А. И. Микробиология с основами биотехнологии: учебное пособие / А. И. Машанов, Н. А. Величко, Ж. А. Плынская. – Красноярск : Краснояр. гос. аграр. ун-т, 2015. – 168 с.

62. Мезенова, О. Я. Сравнительная оценка способов гидролиза коллагенсодержащего рыбного сырья при получении пептидов и исследование их аминокислотной сбалансированности / О. Я. Мезенова, В. В. Волков, Т. Мерзель [и др.] // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2018. – Т. 8, № 4. – С. 83–94.

63. Меренкова, С. П. Научное обоснование принципов проектирования технологии деликатесных мясопродуктов с улучшенными потребительскими характеристиками / С. П. Меренкова, И. Ю. Потороко, И. В. Захаров // Вестник Южно-Уральского Государственного Университета. – 2015. – Т. 3, № 2. – С.18–26.

64. Меренкова, С. П. Практические аспекты использования растительных белковых добавок в технологии мясных продуктов / С. П. Меренкова, Т. В. Савостина // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. – 2014. – № 1. – С. 23–29.

65. Микрокапсулы: перспективы использования в современной фармацевтической практике / Э. Ф. Степанова, М. Е. Ким, К. Б. Мурзагулова, С. Б. Евсеева // Современные проблемы науки и образования. – 2014. – № 5. – URL:

<http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=14927> (дата обращения: 28.04.2020).

66. Михайлова, Г. В. Микрокапсулирование / Г. В. Михайлова // Большая российская энциклопедия : в 30 т. – Москва : Большая Российская энциклопедия, 2012. – Т. 20. – С. 263.

67. Муталиева, Б. Ж. Микрокапсулирование биологически активных веществ и стимуляторов растений / Б. Ж. Муталиева, Д. Е. Кудасова, А. К. Абдуалиева, Г. Е. Калымбетов // Актуальные научные исследования в современном мире. – 2020. – № 10-2 (66). – С. 27–30.

68. Мышалова, О. М. Обоснование способа улучшения функционально-технологических свойств мяса для колбасных изделий / О. М. Мышалова, М. В. Патшина // Современные тенденции развития науки : сб. тез. нац. конф. – Кемерово : Кемеровский государственный университет, 2018. – С. 132–134.

69. Нечаев, А. П. Пищевая химия : учебник / А. П. Нечаев, С. Е. Траубенберг, А. А. Кочеткова. – Санкт-Петербург : ГИОРД, 2015. – 672 с. – ISBN 978-5-98879-196-6.

70. Новикова, Д. С. Использование достижений нанотехнологии в молочной промышленности / Д. С. Новикова // Региональный рынок потребительских товаров: особенности и перспективы развития, формирование конкуренции, качество и безопасность товаров и услуг : материалы V Всерос. науч.-практ. конф. (Тюмень, 17 апреля 2014 г.). – Тюмень : ТюмГНГУ, 2014. – С. 265–268.

71. Новокшанова, А. Л. Анализ аминокислотного состава обезжиренного молока и пахты для производства кисломолочного напитка при внесении гидролизата сывороточных белков / А. Л. Новокшанова, Е. В. Топникова, А. А. Абабкова // Вопросы питания. – 2019. – Т. 88, № 3. – С. 90–96.

72. Носкова, Ю. В. Метод получения микрокапсулированного биологически активного масла жожоба / Ю. В. Носкова, А. С. Антонова // Молодые ученые – развитию национальной технологической инициативы (поиск). – 2019. – № 1-1. – С. 98–99.

73. Обзор рынка биотехнологий в России и оценка перспектив его развития. – Москва : Frost & Sullivan, 2014. – 70 с. – URL: https://www.rvc.ru/upload/iblock/e21/20141020_Russia_Biotechnology_Market_fin.pdf (дата обращения: 28.04.2020).

74. Одинцова, О. И. Микрокапсулирование биологически активных веществ и их использование для функционализации текстильных материалов / О. И. Одинцова, Л. С. Петрова, О. В. Козлова // Известия вузов. Технология текстильной промышленности. – 2018. – № 4. – С. 85–89.

75. Одинцова, О. И. Технология микрокапсулирования функциональных веществ и иммобилизации их на текстильных материалах / О. И. Одинцова, Л. С. Петрова, А. А. Прохорова, К. А. Малышева // Дизайн, технологии и инновации в текстильной и легкой промышленности (Инновации-2018) : сб. материалов Междунар. науч.-техн. конф. – Москва : РГУ им. А. Н. Косыгина, 2018. – С. 117–120.

76. Панкина, И. А. Исследование алкалоидности семян люпина / И. А. Панкина, Л. М. Борисова // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия: Процессы и аппараты пищевых производств. – 2015. – № 4. – С. 80–87.

77. Патент 5405637 USA, МПК A23J 3/34, A23J 3/00, A23L 1/305, A23C 021/02. Milk protein partial hydrolysate and infant formula containing same / Martinez S. V., Leary H. L. Jr., Nichols D. J. – № 08/085213 ; заявл. 30.06.1993 ; опубл. 11.04.1995. – 6 с.

78. Пискаева, А. И. Анализ эффективности и подбор параметров распылительной сушки гидролизатов перопуховых отходов / А. И. Пискаева, О. О. Бабич, Йонг Янг // Техника и технология пищевых производств. – 2019. – № 3. – С. 390–396.

79. Позняковский, В. М. Биологически активные комплексы биотехнологического профиля для нутриентно-метаболической поддержки кишечной микрофлоры / В. М. Позняковский, Н. В. Попова // Современная биотехнология: актуальные вопросы, инновации и достижения : сб. тез. Всерос. с междунар. участием онлайн-конф. – Кемерово : Кемеровский гос. ун-т, 2020. – С. 249–250.

80. Плеханова, Ю. В. Биоэлектрохимические свойства проводящих матриц «фермент/полиэлектролиты/многостенные углеродные нанотрубки» / Ю. В. Плеханова, С. Е. Тарасов, А. Н. Решетиллов // Биохимия, физиология и биосферная роль микроорганизмов : материалы VI Пущинской школы-конференции. – Москва : Изд-во Вода: химия и экология, 2019. – С. 209–211.

81. Процесс получения ферментативных гидролизатов из отходов переработки креветки северной / М. В. Киселева, О. В. Табакаева, Т. К. Каленик, А. Ю. Киселев, Г. С. Татаренко. – DOI 10.21603/2074-9414-2019-4-635-642 // Техника и технология пищевых производств. – 2019. – Т. 49. – С. 635–642.

82. Применение растительных ресурсов и морских гидробионтов с целью создания новых пищевых продуктов / Т. К. Каленик, Т. А. Косенко, А. С. Велиева, Н. Г. Ли, Е. Г. Новицкая // Актуальная биотехнология – 2016. – № 3 (18). – С. 166–167.

83. Прохорова, А. А. Применение метода layer-by-layer для иммобилизации акарицидных веществ на целлюлозных текстильных материалах / А. А. Прохорова, О. И. Одинцова, Е. О. Авакова, В. А. Кузьменко // Известия высших учебных заведений. Химия и химическая технология. – 2016. – № 7. – С. 42–46.

84. Римарева, Л. В. Биодеструкция белков зернового сырья для получения новых хлебобулочных изделий / Л. В. Римарева, Н. А. Фурсова, Е. Н. Соколова [и др.] // Вопросы питания. – 2018. – Т. 87, № 6. – С. 67–75.

85. Римарева, Л. В. Ферментные препараты и биокаталитические процессы в пищевой промышленности / Л. В. Римарева, Е. М. Серба, Е. Н. Соколова [и др.] // Вопросы питания. – 2017. – Т. 86, № 5. – С. 62–74.

86. Римарева, Л. В. Ферменты протеолитического действия и их биокаталитические особенности при конверсии зернового сырья / Л. В. Римарева, М. Б. Оверченко, Е. Н. Соколова [и др.] // Вестник Российской сельскохозяйственной науки. – 2016. – № 6. – С. 62–64.

87. Ручай, Н. С. Технология микробного синтеза : курс лекций / Н. С. Ручай, И. А. Гребенчикова. – Минск : БГТУ, 2014. – 167 с.

88. Свириденко, Ю. Я. Разработка технологии производства гидролизатов сывороточных белков молока с использованием мембранной техники. Часть 1. Подбор ферментного препарата для проведения гидролиза в ферментативном мембранном реакторе / Ю. Я. Свириденко, Д. С. Мягконос, Д. В. Абрамов, Е. Г. Овчинникова // Пищевая промышленность. – 2017. – № 7. – С. 46–48.

89. Свириденко, Ю. Я. Разработка технологии производства гидролизатов сывороточных белков молока с использованием мембранной техники. Часть 2. Оптимизация технологических режимов производства гидролизатов сывороточных белков молока в ферментативном мембранном реакторе / Ю. Я. Свириденко, Д. С. Мягконос, Д. В. Абрамов, Е. Г. Овчинникова // Пищевая промышленность. – 2017. – № 8. – С. 40–43.

90. Серба, Е. М. Зависимость степени деструкции белковых веществ микробной биомассы от состава протеолитического комплекса / Е. М. Серба, М. Б. Оверченко, Н. С. Погоржельская [и др.] // Вестник Российской сельскохозяйственной науки. – 2015. – № 2. – С. 48–51.

91. Серба, Е. М. Получение ферментализованной биомассы для создания пищевых и кормовых добавок / Е. М. Серба, Л. В. Римарева, М. Б. Оверченко [и др.] // Пищевая промышленность. – 2016. – № 6. – С. 20–24.

92. Серба, Е. М. Скрининг активных популяций гриба *Aspergillus oryzae* по способности к синтезу промышленно значимых метаболитов / Е. М. Серба, М. Б. Оверченко, Л. В. Римарева [и др.] // Микология и фитопатология. – 2017. – № 1. – С. 47–53.

93. Серба, Е. М. Ферментативный комплекс для биокаталитической деструкции полимеров микробного и растительного сырья / Е. М. Серба, Л. В. Римарева, Н. С. Погоржельская, П. Ю. Мочалина // Acta Naturae. – 2016. – № S-2. – С. 236–237.

94. Сидорова, Ю. С. Экспериментальная оценка гипополипидемических свойств белков сои, риса и их ферментативных гидролизатов / Ю. С. Сидорова, В. К. Мазо, А. А. Кочеткова // Вопросы питания. – 2018. – Т. 87, № 2. – С. 77–84.

95. Скорбина, Е. А. Технологический эффект от использования биологически активной добавки «Стевия-ВИТ» в хлебопечении / Е. А. Скорбина, О. В. Сычева // Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК – продукты здорового питания. – 2017. – № 1 (15). – С. 29–34.

96. Соколова, Е. Н. Биотехнологические аспекты направленной ферментативной деструкции клеточных стенок растительного сырья для получения экстрактов с повышенным содержанием биологически ценных веществ в качестве компонентов функциональных напитков / Е. Н. Соколова, Е. И. Курбатова, Л. В. Римарева [и др.] // Вопросы питания. – 2016. – Т. 85, № 2. – С. 151–152.

97. Стурова, Ю. Г. Факторы, влияющие на активность ферментных препаратов животного происхождения / Ю. Г. Стурова, А.В. Кригер, К. В. Жидких // Сыроделие и маслоделие. – 2014. – № 3. – С. 47–49.

98. Супрунюк, А. Ю. Влияние обработки монохроматическим светом на характеристики пивных дрожжей / А. Ю. Супрунюк, Д. В. Карпенко // День науки : сб. материалов Общеуниверситетской науч. конф. молодых ученых и специалистов (Москва, 1–30 апреля 2016 г.). – Москва : МГУПП, 2016. – Ч. II. – 181 с.

99. Сусллова, А. И. Основные понятия биохимии. Ферменты: учебное пособие для иностранных студентов / А. И. Сусллова, В. И. Бахтаирова. – Иркутск : ИГМУ, 2014. – 41с.

100. Телишевская, Л. Я. Белковые гидролизаты (получение, состав, применение) : дис.... д-ра биол. наук : 03.00.23 / Телишевская Любовь Яковлевна. – Москва, 2000. – 296 с.

101. Титов, Е. И. О микроструктуре коллагенсодержащего сырья, модифицированного щелочными протеиназами / Е. И. Титов, Е. В. Литвинова, С. Н. Кидяев, В. А. Пчелкина // Мясная индустрия. – 2017. – № 8. – С. 36–38.

102. Тихонов, С. Л. Белковый препарат и перспективы его использования в технологии мясопродуктов / С. Л. Тихонов, И. Н. Третьякова, Н. В. Тихонова, В. А. Лазарев // Индустрия питания = Food Industry. – 2020. – Т. 5, № 2. – С. 53–60.

103. Уайтхерст Р. Дж. Ферменты в пищевой промышленности / Р. Дж. Уайтхерст, М. ван Оорст ; пер. с англ. С. В. Макарова. – Санкт-Петербург : Профессия, 2013. – 408 с.

104. Харитонов, В. Д. Рациональный дизайн биокаталитической конверсии молочных белков для создания продуктов со сниженной аллергенностью / В. Д. Харитонов, В. Г. Будрик, Е. Ю. Агаркова [и др.] // Биотехнология и качество жизни : материалы Междунар. науч.-практ. конф. (Москва, 18–20 марта 2014 г.). – Москва : ЗАО «Экспо-биохим-технологии», 2014. – С. 334–335.

105. Хелинг, А. Исследования различных способов гидролитического процесса вторичного рыбного сырья консервного производства / А. Хелинг, Т. Гримм, В. В. Волков, Н. Ю. Мезенова // Вестник Международной академии холода. – 2016. – № 1. – С. 3–8.

106. Цыгуткин, А. С. Белый люпин как сельскохозяйственная культура / А. С. Цыгуткин, С. В. Зверев // Хранение и переработка зерна. – 2014. – № 4. – С. 20–23.

107. Шурхно, Р. А. Основы биоконверсии растительного сырья : учеб.-метод. пособие / Р. А. Шурхно, Р. З. Агзамов. – Казань : Изд-во КНИТУ, 2014. – 100 с.

108. Юнусов, Т. К. Конформационное состояние алкалоидов, содержащих пиперидиновые и хинолизидиновые циклы : автореф. дис. ... канд. техн. наук / Юнусов Тургун Каримович. – Ташкент, 1975. – 15 с.

109. Anfinsen, C. B. Principles that govern the folding of protein chains / C. B. Anfinsen. – DOI 10.1126/science.181.4096.223 // Science. – 1973. – No. 181, iss. 96. – P. 223–230.

110. Anson, M. L. The estimation of pepsin, tripsin, papain and catheps in with hemoglobin / M. L. Anson. – DOI 10.1085/jgp.22.1.79 // Journal of general physiology. – 1938. – Vol. 22, iss. 1. – P. 77–89.

111. Arrhenius, S. On the theory of chemical reaction velocity / S. Arrhenius // Zeitschrift für Physikalische Chemie. – 1899. – № 28. – S. 317.

112. Bähr, M. Lupin protein positively affects plasma LDL cholesterol and LDL:HDL cholesterol ratio in hypercholesterolemic adults after four weeks of supplementa-

tion: a randomized, controlled crossover study / M. Bähr, A. Fechner, J. Krämer [et al.]. – DOI 10.1186/1475-2891-12-107 // Nutrition journal. – 2013. – Vol. 12. – Art. 107.

113. Ballesteros, L. F. Encapsulation of antioxidant phenolic compounds extracted from spent coffee grounds by freeze-drying and spray-drying using different coating materials / L. F. Ballesteros, M. J. Ramirez, C. E. Orrego [et al.]. – DOI 10.1016/j.foodchem.2017.05.142 // Food chemistry. – 2017. – Vol. 237. – P. 623–631.

114. Bastos, D. S. Ascorbic acid retaining using a new calcium alginate-Capsul based edible film / D. S. Bastos, K. G. Lima Araújo, M. H. Rocha Leão. – DOI 10.1080/02652040802175805 // Journal of microencapsulation. – 2008. – Vol. 26, iss. 2. – P. 97–103.

115. Berg, J. S. A millennial myosin census / J. S. Berg, B. C. Powell, R. E. Cheney. – DOI 10.1091/mbc.12.4.780 // Molecular biology of the cell. – 2001. – Vol. 12, iss. 4. – P. 780–794.

116. Boiero, M. L. Gum arabic microcapsules as protectors of the photoinduced degradation of riboflavin in whole milk / M. L. Boiero, M. Mandrioli, N. Vanden Braber [et al.]. – DOI 10.3168/jds.2013-7886 // Journal of dairy science. – 2014. – Vol. 97, iss. 9. – P. 5328–5336.

117. Boyer, R. Concepts in biochemistry / R. Boyer. – 2nd ed. – New York : John Wiley & Sons, 2002. – 626 p. – ISBN 0-470-00379-0.

118. Briggs, G. E. A note on the kinetics of enzyme action / G. E. Briggs, J. B. Haldane. – DOI 10.1042/bj0190338 // Biochemical journal. – 1913. – Vol. 19, iss. 2. – P. 338–339.

119. Bulambaeva, A. A. Development of new functional cooked sauseges by addition of goji berry and pumpkin powder / A. A. Bulambaeva, D. B. Vlahova-Vangelova, S. G. Dragoev [et al.]. – DOI 10.3923/ajft.2014.180.189 // American journal of food technology. – 2014. – Vol. 9, iss. 4. – P. 180–189.

120. Burgain, J. Encapsulation of probiotic living cells: from laboratory scale to industrial applications / J. Burgain, C. Gaiani, M. Linder, J. Scher. – DOI 10.1016/j.jfoodeng.2010.12.031 // Journal of food engineering. – 2011. – Vol. 104, iss. 4. – P. 467–483.

121. Calabrò, S. Characterization and effect of year of harvest on the nutritional properties of three varieties of white lupine (*Lupinus albus* L.) / S. Calabrò, M. I. Cutrignelli, V. Lo Presti [et al.]. – DOI 10.1002/jsfa.7049 // Journal of the science of food and agriculture. – 2015. – Vol. 95, iss. 25. – P. 3127–3136.

122. Călinoiu, L. F. Chitosan coating applications in probiotic microencapsulation / L. F. Călinoiu, B. E. Ștefănescu, I. D. Pop [et al.]. – DOI 10.3390/coatings9030194 // Coatings. – 2019. – Vol. 9, iss. 3. – P. 194.

123. Capraro, J. Pasta supplemented with isolated lupin protein fractions reduces body weight gain and food intake of rats and decreases plasma glucose concentration upon glucose overload trial / J. Capraro, C. Magni, A. Scarafoni [et al.]. – DOI 10.1039/c3fo60583c // Food & Function. – 2014. – Vol. 5, iss. 2. – P. 375–380.

124. Chalamaiah, M. Immunomodulatory and anticancer protein hydrolysates (peptides) from food proteins: a review / M. Chalamaiah, W. Yu, J. Wu. – DOI 10.1016/j.foodchem.2017.10.087 // Food chemistry. – 2018. – Vol. 245. – P. 205–222.

125. Chanalia, P. Extraction, purification and characterization of low molecular weight Proline imino-peptidase from probiotic *L. plantarum* for meat tenderization / P. Chanalia, D. Gandhi, P. Attri, S. Dhanda. – DOI 10.1016/j.ijbiomac.2017.12.092 // International journal of biological macromolecules. – 2018. – Vol. 109. – P. 651–663.

126. Chatterjee, C. Soybean bioactive peptides and their functional properties / C. Chatterjee, S. Gleddie, C. W. Xiao. – DOI 10.3390/nu10091211 // Nutrients. – 2018. – Vol. 10, iss. 9. – Art. 1211.

127. Cho, D. Y. Antioxidant effect and functional properties of hydrolysates derived from egg-white protein / D. Y. Cho, K. Jo, S. Y. Cho [et al.]. – DOI 10.5851/kosfa.2014.34.3.362 // Korean journal for food science of animal resources. – 2014. – Vol. 34, iss. 3. – P. 362–371.

128. Christensen, H. Immune response in mice to ingested soya protein: antibody production, oral tolerance and maternal transfer / H. Christensen, S. Brix, H. Frøkiaer. – DOI 10.1079/BJN20041093 // British journal of nutrition. – 2004. – Vol. 91, iss. 5. – P. 725–732.

129. Clemente, A. Bowman-Birk inhibitors from legumes as colorectal chemopreventive agents / A. Clemente, M. C. Arques. – DOI 10.3748/wjg.v20.i30.10305 // World journal of gastroenterology. – 2014. – Vol. 20, iss. 30. – P. 10305–10315.

130. Cui, L. Effect of commercial cellulases and refining on kraft pulp properties: Correlations between treatment impacts and enzymatic activity components / L. Cui, F. Meddeb-Mouelhi, F. Laframboise, M. Beauregard. – DOI 10.1016/j.carbpol.2014.08.076 // Carbohydrate polymers. – 2015. – Vol. 115. – P. 193–199.

131. Datukishvili, N. New multiplex PCR methods for rapid screening of genetically modified organisms in foods / N. Datukishvili, T. Kutateladze, I. Gabriadze [et al.] – DOI 10.3389/fmicb.2015.00757 // Frontiers in microbiology. – 2015. – Vol. 6. – Art. 757.

132. Desai, K. G. Recent developments in microencapsulation of food ingredients / K. G. Desai, H. J. Park. – DOI 10.1081/DRT-200063478 // Drying technology. – 2005. – Vol. 23, iss. 7. – P. 1361–1394.

133. Dhakal, S. P. Microencapsulation of vitamins in food applications to prevent losses in processing and storage: a review / S. P. Dhakal, J. He. – DOI 10.1016/j.foodres.2020.109326 // Food research international. – 2020. – Vol. 137. – Art. 109326.

134. Embiriekah, S. Antioxidant activity, functional properties and bioaccessibility of whey protein hydrolysates / S. Embiriekah, M. Bulatović, M. Borić [et al.]. – DOI 10.1111/1471-0307.12428 // International journal of dairy technology. – 2018. – Vol. 71, iss. 1. – P. 243–252.

135. Emese, B. Effect of microencapsulation on viability and survival in simulated gut conditions of probiotic bacteria / B. Emese, B. Zsolt, A. Beáta. – DOI 10.26327/RBL2018.227 // Romanian biotechnological letters. – 2018. – Vol. 23, no. 6. – P. 14140–14145.

136. Enzyme Database – BRENDA. – URL: <http://www.brenda-enzymes.info> (дата обращения: 14.02.2021).

137. Fischer, E. Einfluss der Configuration auf die Wirkung der Enzyme / E. Fischer. – DOI 10.1002/cber.18940270364 // Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft. – 1894. – № 27. – S. 2985–2993.

138. Gasser, C. Engineering of a red-light-activated human cAMP/cGMP-specific phosphodiesterase / C. Gasser, S. Taiber, C. M. Yeh [et al.]. – DOI 10.1073/pnas.1321-600111 // Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America. – 2014. – Vol. 111. – P. 8803–8808.

139. Gbassi, G. Probiotic encapsulation technology: from microencapsulation to release into the gut / G. Gbassi, T. Vandamme. – DOI 10.3390/pharmaceutics4010149 // Pharmaceutics. – 2012. – Vol. 4, iss. 1. – P. 149–163.

140. Gętek, M. The active role of leguminous plant components in type 2 diabetes / M. Gętek, N. Czech, M. Muc-Wierzgoń [et al.]. – DOI // Evid. Based Complement. Alternat. Med. – 2014. – Vol. 29. – P. 39–61.

141. Gharsallaoui, A. Application of spray-drying in microencapsulation of food ingredients. An overview / A. Gharsallaoui, G. Roudaut, O. Chambin [et al.]. – DOI 10.1016/j.foodres.2007.07.004 // Food research international. – 2007. – Vol. 40, iss. 9. – P. 1107–1121.

142. Ghosh, B. C. Enzymatic hydrolysis of whey and its analysis / B. C. Ghosh, L. N. Prasad, N. P. Saha. – DOI 10.1007/s13197-017-2574-z // Journal of food science and technology. – 2017. – Vol. 54, iss. 6. – P. 1476–1483.

143. Gomes, B. Microencapsulation of antioxidant compounds through innovative technologies and its specific application in meat processing / B. Gómez, F. Barba, R. Domínguez [et al.]. – DOI 10.1016/j.tifs.2018.10.006 // Trends in food science and technology. – 2018. – Vol. 82. – P. 135–147.

144. Henri, V. Théorie générale de l'action de quelques diastases / V. Henri // Comptes rendus hebdomadaires des séances de l'Académie des sciences. – 1992. – № 135. – P. 916–919.

145. Hunter, T. Protein kinases and phosphatases: the yin and yang of protein phosphorylation and signaling / T. Hunter. – DOI 10.1016/0092-8674(95)90405-0 // Cell. – 1995. – Vol. 80, iss. 2. – P. 225–236.

146. Jaeger, K. E. Enantioselective biocatalysis optimized by directed evolution / K. E. Jaeger, T. Eggert. – DOI 10.1016/j.copbio.2004.06.007 // *Current opinion in biotechnology*. – 2004. – Vol. 15, iss. 4. – P. 305–313.

147. Jakovetić, S. Production of antioxidant egg white hydrolysates in a continuous stirred tank enzyme reactor coupled with membrane separation unit / S. Jakovetić, N. Luković, B. Jugović [et al.]. – DOI 10.1007/s11947-014-1402-y // *Food and bioprocess technology*. – 2015. – Vol. 8, iss. 2. – P. 287–300.

148. Jayakumar, M. K. G. Remote activation of biomolecules in deep tissues using nearinfrared-to-UV up conversion nanotransducers / M. K. G. Jayakumar, N. M. Idris, Y. Zhang. – DOI 10.1073/pnas.1114551109 // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 2012. – Vol. 109, iss. 22. – P. 8483–8488.

149. Jeyakumari, A. Microencapsulation of bioactive food ingredients and controlled release – a review / A. Jeyakumari, A. A. Zynudheen, U. Parvathy. – DOI 10.15406/mojfpt.2016.02.00059 // *MOJ Food Processing & Technology*. – 2016. – Vol. 2, iss. 6. – P. 214–224.

150. Khazaei, K. M. Application of maltodextrin and gum Arabic in microencapsulation of saffron petal's anthocyanins and evaluating their storage stability and color / K. M. Khazaei, S. M. Jafari, M. Ghorbani, A. Hemmati Kakhki. – DOI 10.1016/j.carbpol.2014.01.042 // *Carbohydrate polymers*. – 2014. – Vol. 105, iss. 1. – P. 57–62.

151. Kiewiet, M. Immunomodulatory protein hydrolysates and their application / M. Kiewiet, M. Faas, P. de Vos. – DOI 10.3390/nu10070904 // *Nutrients*. – 2018. – Vol. 10, iss. 7. – P. 904.

152. Kondratyev, M. S. In silico design and virtual screening of inulinase immobilization ligands with highest affinity / M. S. Kondratyev, M. G. Kholyavka, A. V. Kabanov [et al.]. – DOI 10.1080/07391102.2015.1032832 // *Journal of biomolecular structure and dynamics*. – 2015. – Vol. 33, iss. 1. – P. 128–129.

153. Koshland, D. E. Application of a theory of enzyme specificity to protein synthesis / D. E. Koshland. – DOI 10.1073/pnas.44.2.98 // *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. – 1958. – Vol. 44, iss. 2. – P. 98–104.

154. Lefranc-Millot, C. Protein from vegetable sources: a focus on pea protein / C. Lefranc-Millot, V. Teichman-Dubois. – DOI 10.1002/9781119385332.ch10 // Novel proteins for food, pharmaceuticals and agriculture / ed. by M. Hayes. – New York : John Wiley and Sons, 2018. – P. 197–216.

155. Lilley, D. Structure, folding and mechanisms of ribozymes / D. Lilley. – DOI 10.1016/j.sbi.2005.05.002 // Current opinion in structural biology. – 2005. – Vol. 15, iss. 3. – P. 313–323.

156. Mackie, R. I. Recent advances in rumen microbial ecology and metabolism: potential impact on nutrient output / R. I. Mackie, B. A. White. – DOI 10.3168/jds.S0022-0302(90)78986-2 // Journal of dairy science. – 1990. – Vol. 73, iss. 10. – P. 2971–2995.

157. Mahdavi, S. A. Microencapsulation optimization of natural anthocyanins with maltodextrin, gum Arabic and gelatin / S. A. Mahdavi, S. M. Jafari, E. Assadpoor, D. Dehnad. – DOI 10.1016/j.ijbiomac.2016.01.011 // International journal of biological macromolecules. – 2016. – Vol. 85. – P. 379–385.

158. Mann, B. Bioactive peptides from whey proteins / B. Mann, S. Athira, R. Sharma [et al.]. – DOI 10.1016/B978-0-12-812124-5.00015-1 // Whey proteins / ed. by H. Deeth, N. Bansal. – New York : Academic Press, 2019. – P. 519–547.

159. Mehran, M. Improvement of thermal stability and antioxidant activity of anthocyanins of *Echium amoenum* petal using maltodextrin/modified starch combination as wall material / M. Mehran, S. Masoum, M. Memarzadeh. – DOI 10.1016/j.ijbiomac.2020.01.197 // International journal of biological macromolecules. – 2020. – Vol. 148. – P. 768–776.

160. Michaelis, L. Die Kinetik der Invertinwirkung / L. Michaelis, M. Menten // Biochemische Zeitschrift. – 1913. – № 49. – S. 333–369.

161. Mitrovic, A. Inhibition of endopeptidase and exopeptidase activity of cathepsin B impairs extracellular matrix degradation and tumour invasion / A. Mitrović, B. Mirković, I. Sosič [et al.]. – DOI 10.1515/hsz-2015-0236 // Biological chemistry. – 2016. – Vol. 397, iss. 2. – P. 165–174.

162. Mulcahy, E. M. Preparation, characterisation and functional applications of whey protein-carbohydrate conjugates as food ingredients : PhD thesis / E. M. Mulcahy. – University College Cork, 2017. – 311 p.

163. Noh, D. O. Preparation of egg white liquid hydrolysate (ELH) and its radical-scavenging activity / D. O. Noh, H. J. Suh. – DOI 10.3746/pnf.2015.20.3.183 // Nutrition and food science. – 2015. – Vol. 20, iss. 3. – P. 183–189.

164. Nutritional evaluation of protein foods / ed. by P. Pellet, V. Young. – Tokyo : United Nations University, 1980. – 154 p. – ISBN 92-808-0129-5.

165. Oxford dictionary of biochemistry and molecular biology / ed. by A. D. Smith [et al.]. – Oxford : Oxford University Press, 1997. – ISBN 0-19-854768-4.

166. Palacio, M. I. α -Galactosides present in lupin flour affect several metabolic parameters in Wistar rats / M. I. Palacio, A. R. Weisstaub, A. Zuleta [et al.]. – DOI 10.1039/c6fo01297c // Food & Function. – 2016. – Vol. 7, iss. 12. – P. 4967–4975.

167. Paparo, L. Randomized controlled trial on the influence of dietary intervention on epigenetic mechanisms in children with cow's milk allergy: the EPICMA study / L. Paparo, R. Nocerino, C. Bruno [et al.]. – DOI 10.1038/s41598-019-38738-w // Scientific reports. – 2019. – Vol. 9, iss. 1. – Art. 2828.

168. Petru, A. Microencapsulation in food products / A. Petru, C. Dima // Agro-Life scientific journal. – 2014. – Vol. 3, no. 1. – P. 9–14.

169. Poshina, D. Modification of spruce sulphite pulp by cellulase treatment / D. Poshina, E. Novozhilov // Cellulose chemistry and technology. – 2015. – Vol. 49, iss. 2. – P. 187–194.

170. Prosekov, A. A study of polyfunctional properties of biologically active peptides / A. Prosekov, O. Babich, L. Dyshlyuk [et al.] // Research journal of pharmaceutical, biological and chemical sciences. – 2016. – Vol. 7, iss. 4. – P. 2391–2400.

171. Protein Quality Evaluation: report of Joint FAO/WHO Expert Consultation. – Rome : FAO, 1990. – 66 p. – ISBN 92-5-103097-9.

172. Prusiński, J. White lupin (*Lupinus albus* L.) – nutritional and health values in human nutrition – a review / J. Prusiński. – DOI 10.17221/114/2016-CJFS // Czech journal of food sciences. – 2017. – Vol. 35. – P. 95–105.

173. Queiroz Brito Cunha, C. C. Improvement of bread making quality by supplementation with a recombinant xylanase produced by *Pichia pastoris* / C. C. Queiroz Brito Cunha, A. R. Gama, L. C. Cintra [et al.]. – DOI 10.1371/journal.pone.0192996 // PLoS One. – 2018. – Vol. 13, iss. 2. – Art. 0192996.

174. Quintieri, L. Reduction of whey protein concentrate antigenicity by using a combined enzymatic digestion and ultrafiltration approach / L. Quintieri, L. Monaci, F. Baruzzi [et al.]. – DOI 10.1007/s13197-017-2625-5 // Journal of food science and technology. – 2017. – Vol. 54, iss. 7. – P. 1910–1916.

175. Ramos, P. E. Physiological protection of probiotic microcapsules by coatings / P. E. Ramos, M. A. Cerqueira, J. A. Teixeira, A. A. Vicente. – DOI 10.1080/10408-398.2017.1289148 // Critical reviews in food science and nutrition. – 2018. – Vol. 58, iss. 11. – P. 1864–1877.

176. Rimareva, L. V. Reduced allergenicity of foods of plant nature by the method of enzymatic hydrolysis / L. V. Rimareva, E. N. Sokolova, E. M. Serba [et al.]. – DOI 10.13005/ojc/330448 // Oriental journal of chemistry. – 2017. – Vol. 33, iss. 4. – P. 2009–2015.

177. Santana, A. Influence of different combinations of wall materials on the microencapsulation of jussara pulp (*Euterpe edulis*) by spray drying / A. Santana, D. Cano-Higuita, R. de Oliveira, V. Telis. – DOI 10.1016/j.foodchem.2016.05.148 // Food chemistry. – 2016. – Vol. 212. – P. 1–9.

178. Sarmadi, B. Antioxidative peptides from food proteins: a review / B. Sarmadi, A. Ismail. – DOI 10.1016/j.peptides.2010.06.020 // Peptides. – 2010. – Vol. 31, iss. 10. – P. 1949–1956.

179. Schmiechen, Z. Recent developments in understanding the mechanisms of food allergy / Z. Schmiechen, K. Weessler, P. Frischmeyer-Guerrero. – DOI 10.1097/MOP.0000000000000806 // Current opinion in pediatrics. – 2019. – Vol. 31, iss. 6. – P. 807–814.

180. Serikkaisai, M. S. Effect of dry goji berry and pumpkin powder on quality of cooked and smoked beef with reduced nitrite content, advance / M. S. Serikkaisai,

S. G. Dragoev, Y. M. Uzakov [et al.]. – DOI 10.19026/ajfst.6.126 // Journal of food science and technology. – 2014. – Vol. 6, iss. 7. – P. 877–883.

181. Sewani-Rusike, C. Investigation of hypoglycemic and hypolipidemic effects of an aqueous extract of *Lupinus albus* legume seed in streptozotocin-induced type I diabetic rats / C. Sewani-Rusike, D. Jumbam, L. Chinhoyi, B. Nkeh-Chungag. – DOI 10.4314/ajtcam.v12i2.8 // African journal of traditional, complementary and alternative medicines. – 2015. – Vol. 12, iss. 2. – P. 36–42.

182. Silva, P. T. Microencapsulation: concepts, mechanisms, methods and some applications in food technology / P. T. Silva, L. L. M. Fries, C. R. Menezes [et al.]. – DOI 10.1590/0103-8478cr20130971 // Ciência rural. – 2014. – Vol. 44, iss. 7. – P. 1304–1311.

183. Sörensen, S. P. L. Enzymstudien II. Über die Messung und Bedeutung der Wasserstoffionenkonzentration bei enzymatischen Prozessen / S. P. L. Sörensen // Biochemische Zeitschrift. – 1909. – Vol. 21. – S. 131–304.

184. Szajewska, H. A partially hydrolyzed 100 % whey formula and the risk of eczema and any allergy: an updated meta-analysis / H. Szajewska, A. Horvath. – DOI 10.1186/s40413-017-0158-z // World allergy organization journal. – 2017. – Vol. 10, iss. 1. – Art. 27.

185. Tilburg, M. Prevalence of functional gastrointestinal disorders in infants and toddlers / M. van Tilburg, P. Hyman, L. Walker [et al.]. – DOI 10.1016/j.jpeds.2014.11.039 // Journal of pediatrics. – 2015. – Vol. 166, iss. 3. – P. 684–689.

186. Vandenplas, Y. Prevalence and health outcomes of functional gastrointestinal symptoms in infants from birth to 12 months of age / Y. Vandenplas, A. Abkari, M. Bellaiche [et al.]. – DOI 10.1097/MPG.0000000000000949 // Journal of pediatric gastroenterology and nutrition. – 2015. – Vol. 61, iss. 5. – P. 531–537.

187. Vasella, A. Glycosidase mechanisms / A. Vasella, G. Davies, M. Böhm. – DOI 10.1016/s1367-5931(02)00380-0 // Current opinion in chemical biology. – 2002. – Vol. 6, iss. 5. – P. 619–629.

188. Wagner, A. Vitamins and coenzymes / A. Wagner, K. Folkers. – New York : Interscience Publishers, 1975. – 532 p.

189. Worsøe Jørgensen, A. L. Colostrum and bioactive colostrum peptides differentially modulate the innate immune response of intestinal epithelial cells / A. L. Worsøe Jørgensen, H. R. Juul-Madsen, J. Stagsted. – DOI 10.1002/psc.1190 // Journal of peptide science. – 2010. – Vol. 16, iss. 1. – P. 21–30.

190. Xiaowei, L. Identification of bitter peptides in whey protein hydrolysate / L. Xiaowei, J. Deshou, G. Devin. – DOI 10.1021/jf4019728 // Journal of agricultural and food chemistry. – 2014. – Vol. 62, iss. 25. – P. 5719–5725.

191. Ying, D. Effect of encapsulant matrix on stability of microencapsulated probiotics / D. Ying, L. Sanguansri, R. Weerakkody [et al.]. – DOI 10.1016/j.jff.2016.06.020 // Journal of functional foods. – 2016. – Vol. 25. – P. 447–458.

192. Yoshie-Stark, Y. Effect of different pasteurization conditions on bioactivities of *Lupinus albus* protein isolates / Y. Yoshie-Stark, J. Bez, A. Wäsche. – DOI 10.1016/j.lwt.2004.12.007 // LWT – Food science and technology. – 2006. – Vol. 39. – P. 118–123.

193. Zambrowicz, A. Antioxidant and antimicrobial activity of lecithin free egg yolk protein preparation hydrolysates obtained with digestive enzymes / A. Zambrowicz, M. Pokora, E. Eckert [et al.]. – DOI 10.31989/ffhd.v2i12.69 // Functional foods in health and disease. – 2012. – Vol. 2, iss. 12. – P. 487–500.

194. Zhao, G. Y. Tenderization effect of cold-adapted collagenolytic protease MCP-01 on beef meat at low temperature and its mechanism / G. Y. Zhao, M. Y. Zhou, H. L. Zhao [et al.]. – DOI 10.1016/j.foodchem.2012.03.118 // Food chemistry. – 2012. – Vol. 134, iss. 4. – P. 1738–1744.

Приложение А (обязательное)

Протоколы испытаний



УТВЕРЖДАЮ:
Начальник испытательной лаборатории
Малахова С. Ю.
30 мая 2019 г.



ЗАО «Комбинат пищевой «Хороший вкус»
Испытательная лаборатория

Адрес испытательной лаборатории: 620137, Российская федерация, Свердловская область, г. Екатеринбург, ул. Вилюнова, д. 35.
Телефон: (343) 369-37-87, факс (343) 341-75-41

Протокол испытаний
№ 1-2 от «30» мая 2019 г.

1. Условия отбора, доставки образцов (проб):
Дата и время отбора образцов (проб): по предъявлению
Ф.И.О., должность лица, проводившего отбор проб: - Третьякова Ирина Николаевна, аспирант
2. Место отбора: - ЗАО «Комбинат пищевой «Хороший вкус»
3. Изготовитель: - ЗАО «Комбинат пищевой «Хороший вкус»
4. Цель испытаний: испытание продукции по показателям безопасности в соответствии с требованиями ТР ТС 021/2011, ТР ТС 034/2013.

5. Регистрационный номер, наименование образца (пробы), НД на продукцию, дата выработки:

Регистрационный номер	Наименование образца (пробы)	НД на продукцию	Дата выработки
1	Колбаса вареная №1	-	23.05.2019
2	Колбаса вареная №2	-	23.05.2019

6. Дополнительные сведения: дата испытаний 23.05.2019 г.

7. Методики (методы) проведения испытаний:

- ГОСТ 9959-2015 «Мясо и мясные продукты. Общие условия проведения органолептической оценки»;
- ГОСТ 25011-2017 «Мясо и мясные продукты. Методы определения белка»;
- ГОСТ 23042-2015 «Мясо и мясные продукты. Методы определения жира»;
- ГОСТ 9957-2015 «Мясо и мясные продукты. Методы определения содержания хлористого натрия»;
- ГОСТ 8558.1-2015 «Продукты мясные. Методы определения нитрита»;
- ГОСТ 23231-2016 «Изделия колбасные вареные и продукты из мяса вареные. Метод определения остаточной активности кислой фосфатазы»;
- ГОСТ 23392-78 «Мясо. Методы химического и микроскопического анализа свежести»;
- ГОСТ 10444.15-94 «Продукты пищевые. Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов»;
- ГОСТ 31747-2012 «Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий)»;
- ГОСТ 31746-2012 «Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества коагулазоположительных стафилококков и Staphylococcus aureus»;
- ГОСТ 29185-2014 (ISO 15213:2003) «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета сульфитредуцирующих бактерий, растущих в анаэробных условиях»;
- ГОСТ 7702.2.6-2015 «Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Методы выявления и определения количества сульфитредуцирующих клостридий»;
- ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002) «Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода Salmonella»;
- ГОСТ 32031-2012 «Продукты пищевые. Методы выявления бактерий Listeria monocytogenes».

Регистрационный номер № 1 в журнале; № 1 протокола испытаний

№ п/п	Определяемые показатели	Единицы измерения	Результаты испытаний	Величина допустимого уровня	НД на методы испытаний
Органолептические показатели					
1	Внешний вид	-	Батоны с чистой сухой поверхностью	-	ГОСТ 9959-2015
2	Консистенция	-	Плотная, упругая	-	
3	Цвет и вид на разрезе	-	Светло-розового цвета. Фарш равномерно перемешан	-	
4	Запах и вкус	-	Свойственный продукту, без привкусов, с ароматом вносимых пряностей	-	
Физико-химические показатели					
5	Массовая доля белка	г/100 г	13,1		ГОСТ 25011-2017
6	Массовая доля жира	г/100 г	14,1		ГОСТ 23042-2015
7	Массовая доля хлористого натрия (поваренной соли)	г/100 г	1,3		ГОСТ 9957-2015
8	Массовая доля нитрита натрия	г/100 г	0,0047		ГОСТ 8558.1-2015
9	Остаточная активность кислой фосфатазы	г/100 г	0,005		ГОСТ 23231-2016
Микробиологические показатели					
10	КМАФАнМ	КОЕ/г	2,5-10	1x10 ³	ГОСТ 10444.15-94
11	БГКП (колиформы)	г	В 1,0 не обнаружено	В 1,0 не допускается	ГОСТ 31747-2012
12	<i>S. aureus</i>	г	В 1,0 не обнаружено	В 1,0 не допускается	ГОСТ 31746-2012
13	Сульфитредуцирующие клостридии	г	В 0,01 не обнаружено	В 0,01 не обнаружено	ГОСТ 29185-2014
14	Патогенные микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы	г	В 25 не обнаружено	В 25 не допускается	ГОСТ 31659-2012
15	<i>L. monocytogenes</i>	г	В 25 не обнаружено	В 25 не допускается	ГОСТ 32031-2012
Органолептические показатели					
1	Внешний вид	-	Батоны с чистой сухой поверхностью	-	ГОСТ 9959-2015
2	Консистенция	-	Плотная, упругая	-	
3	Цвет и вид на разрезе	-	Светло-розового цвета. Фарш равномерно перемешан	-	
4	Запах и вкус	-	Свойственный продукту, без привкусов, с ароматом вносимых пряностей	-	
Физико-химические показатели					
5	Массовая доля белка	г/100 г	14,1		ГОСТ 25011-2017
6	Массовая доля жира	г/100 г	13,5		ГОСТ 23042-2015
7	Массовая доля хлористого натрия (поваренной соли)	г/100 г	1,3		ГОСТ 9957-2015
8	Массовая доля нитрита натрия	г/100 г	0,047		ГОСТ 8558.1-2015
9	Остаточная активность кислой фосфатазы	г/100 г	0,005		ГОСТ 23231-2016
Микробиологические показатели					
10	КМАФАнМ	КОЕ/г	2,7-10	1x10 ³	ГОСТ 10444.15-94

Данный протокол распространяется только на образцы, подвергнутые испытанию

Полная или частичная перепечатка протокола без разрешения испытательной лаборатории запрещена

11	БГКП (колиформы)	г	В 1,0 не обнаружено	В 1,0 не допускается	ГОСТ 31747-2012
12	S. aureus	г	В 1,0 не обнаружено	В 1,0 не допускается	ГОСТ 31746-2012
13	Сульфитредуцирующие клостридии	г	В 0,01 не обнаружено	В 0,01 не обнаружено	ГОСТ 29185-2014
14	Патогенные микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы	г	В 25 не обнаружено	В 25 не допускается	ГОСТ 31659-2012
15	L. monocytogenes	г	В 25 не обнаружено	В 25 не допускается	ГОСТ 32031-2012

Регистрационный номер № 2 в журнале; № 2 протокола испытаний

Дата выдачи результатов: 30 мая 2019 г.

Ответственный за оформление протокола:


(подпись)

/ Палешева Е.В. / Старший врач-бактериолог
(Ф.И.О.)

(должность)



УТВЕРЖДАЮ:
Начальник испытательной лаборатории
Малахова С. Ю.
12 апреля 2019 г.



ЗАО «Комбинат пищевой «Хороший вкус»
Испытательная лаборатория

Адрес испытательной лаборатории: 620137, Российская Федерация, Свердловская область, г. Екатеринбург, ул. Вилонова, д. 35.
Телефон: (343) 369-37-87, факс (343) 341-75-41

**Протокол испытаний
№ 1-2 от «12» апреля 2019 г.**

1. Условия отбора, доставки образцов (проб):

Дата и время отбора образцов (проб): по предъявлению

Ф.И.О., должность лица, проводившего отбор проб: - Третьякова Ирина Николаевна, аспирант

2. Место отбора: - ЗАО «Комбинат пищевой «Хороший вкус»

3. Изготовитель: - ЗАО «Комбинат пищевой «Хороший вкус»

4. Цель испытаний: испытание продукции по показателям безопасности в соответствии с требованиями ТР ТС 021/2011, ТР ТС 034/2013.

5. Регистрационный номер, наименование образца (пробы), НД на продукцию, дата выработки:

Регистрационный номер	Наименование образца (пробы)	НД на продукцию	Дата выработки
1	Колбаса вареная №1	-	08.04.2019
2	Колбаса вареная №2	-	08.04.2019

6. Дополнительные сведения: дата испытаний 08.04.2019 г.

7. Методики (методы) проведения испытаний:

- ГОСТ 9959-2015 «Мясо и мясные продукты. Общие условия проведения органолептической оценки»;
- ГОСТ 25011-2017 «Мясо и мясные продукты. Методы определения белка»;
- ГОСТ 23042-2015 «Мясо и мясные продукты. Методы определения жира»;
- ГОСТ 9957-2015 «Мясо и мясные продукты. Методы определения содержания хлористого натрия»;
- ГОСТ 8558.1-2015 «Продукты мясные. Методы определения нитрита»;
- ГОСТ 23231-2016 «Изделия колбасные вареные и продукты из мяса вареные. Метод определения остаточной активности кислой фосфатазы»;
- ГОСТ 23392-78 «Мясо. Методы химического и микроскопического анализа свежести»;
- ГОСТ 10444.15-94 «Продукты пищевые. Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов»;
- ГОСТ 31747-2012 «Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий)»;
- ГОСТ 31746-2012 «Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества коагулазоположительных стафилококков и Staphylococcus aureus»;
- ГОСТ 29185-2014 (ISO 15213:2003) «Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета сульфитредуцирующих бактерий, растущих в анаэробных условиях»;
- ГОСТ 7702.2.6-2015 «Мясо птицы, субпродукты и полуфабрикаты из мяса птицы. Методы выявления и определения количества сульфитредуцирующих клостридий»;
- ГОСТ 31659-2012 (ISO 6579:2002) «Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода Salmonella»;
- ГОСТ 32031-2012 «Продукты пищевые. Методы выявления бактерий Listeria monocytogenes».

Регистрационный номер № 1 в журнале; № 1 протокола испытаний

№ п/п	Определяемые показатели	Единицы измерения	Результаты испытаний	Величина допустимого уровня	НД на методы испытаний
Органолептические показатели					
1	Внешний вид	-	Батоны с чистой сухой поверхностью	-	ГОСТ 9959-2015
2	Консистенция	-	Плотная, упругая	-	
3	Цвет и вид на разрезе	-	Светло-розового цвета. Фарш равномерно перемешан	-	
4	Запах и вкус	-	Свойственный продукту, без привкусов, с ароматом вносимых пряностей	-	
Физико-химические показатели					
6	Массовая доля белка	г/100 г	13,2		ГОСТ 25011-2017
7	Массовая доля жира	г/100 г	14,2		ГОСТ 23042-2015
8	Массовая доля хлористого натрия (поваренной соли)	г/100 г	1,3		ГОСТ 9957-2015
	Массовая доля нитрита натрия	г/100 г	0,0047		ГОСТ 8558.1-2015
	Остаточная активность кислой фосфатазы	г/100 г	0,005		ГОСТ 23231-2016
Микробиологические показатели					
9	КМАФАнМ	КОЕ/г	1,2-10	1x10 ³	ГОСТ 10444.15-94
10	БГКП (колиформы)	г	В 1,0 не обнаружено	В 1,0 не допускается	ГОСТ 31747-2012
11	<i>S. aureus</i>	г	В 1,0 не обнаружено	В 1,0 не допускается	ГОСТ 31746-2012
12	Сульфитредуцирующие клостридии	г	В 0,01 не обнаружено	В 0,01 не обнаружено	ГОСТ 29185-2014
13	Патогенные микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы	г	В 25 не обнаружено	В 25 не допускается	ГОСТ 31659-2012
14	<i>L. monocytogenes</i>	г	В 25 не обнаружено	В 25 не допускается	ГОСТ 32031-2012
Органолептические показатели					
1	Внешний вид	-	Батоны с чистой сухой поверхностью	-	ГОСТ 9959-2015
2	Консистенция	-	Плотная, упругая	-	
3	Цвет и вид на разрезе	-	Светло-розового цвета. Фарш равномерно перемешан	-	
4	Запах и вкус	-	Свойственный продукту, без привкусов, с ароматом вносимых пряностей	-	
Физико-химические показатели					
6	Массовая доля белка	г/100 г	14,1		ГОСТ 25011-2017
7	Массовая доля жира	г/100 г	13,6		ГОСТ 23042-2015
8	Массовая доля хлористого натрия (поваренной соли)	г/100 г	1,3		ГОСТ 9957-2015
	Массовая доля нитрита натрия	г/100 г	0,047		ГОСТ 8558.1-2015
	Остаточная активность кислой фосфатазы	г/100 г	0,005		ГОСТ 23231-2016
Микробиологические показатели					
9	КМАФАнМ	КОЕ/г	1,2-10	1x10 ³	ГОСТ 10444.15-94

Данный протокол распространяется только на образцы, подвергнутые испытанию

Полная или частичная перепечатка протокола без разрешения испытательной лаборатории запрещена

стр 2 из стр 3

10	БГКП (колиформы)	г	В 1,0 не обнаружено	В 1,0 не допускается	ГОСТ 31747-2012
11	S. aureus	г	В 1,0 не обнаружено	В 1,0 не допускается	ГОСТ 31746-2012
12	Сульфитредуцирующие клостридии	г	В 0,01 не обнаружено	В 0,01 не обнаружено	ГОСТ 29185-2014
13	Патогенные микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы	г	В 25 не обнаружено	В 25 не допускается	ГОСТ 31659-2012
14	L. monocytogenes	г	В 25 не обнаружено	В 25 не допускается	ГОСТ 32031-2012

Регистрационный номер № 2 в журнале; № 2 протокола испытаний

Дата выдачи результатов: 12 апреля 2019 г.

Ответственный за оформление протокола:  / Палдиева Е.В. / Старший врач-бактериолог
(подпись) (Ф.И.О.) (должность)

 Испытательная лаборатория	УТВЕРЖДАЮ: Начальник испытательной лаборатории Малахова С. Ю. 25 января 2019 г.
--	---

ЗАО «Комбинат пищевой «Хороший вкус»
Испытательная лаборатория

Адрес испытательной лаборатории: 620137, Российская федерация, Свердловская область, г. Екатеринбург, ул. Вилонова, д. 35.
Телефон: (343) 369-37-87, факс (343) 341-75-41

Протокол испытаний
№ 1 от «25» января 2019 г.

1. Условия отбора, доставки образцов (проб):

Дата и время отбора образцов (проб): по предъявлению

Ф.И.О., должность лица, проводившего отбор проб: - Третьякова Ирина Николаевна, аспирант

2. Место отбора: - ЗАО «Комбинат пищевой «Хороший вкус»

3. Изготовитель: - ЗАО «Комбинат пищевой «Хороший вкус»

4. Цель испытаний: испытание продукции по показателям безопасности в соответствии с требованиями ТР ТС 021/2011, ТР ТС 034/2013.

5. Регистрационный номер, наименование образца (пробы), НД на продукцию, дата выработки:

Регистрационный номер	Наименование образца (пробы)	НД на продукцию	Дата выработки
1	Белковый препарат	-	21.01.2019

6. Дополнительные сведения: дата испытаний 21.01.2019 г.

7. Методики (методы) проведения испытаний:

- ГОСТ Р 54390-2011 «Продукты пищевые. Определение общего азота путем сжигания по методу Дюма и расчет содержания белка. Часть 2. Зерновые, бобовые и молотые зерновые продукты»;

- ГОСТ 29033-91 «Зерно и продукты его переработки. Метод определения жира»;

- ГОСТ 27494-2016 «Мука и отруби. Методы определения зольности»

Регистрационный номер № 1 в журнале; № 1 протокола испытаний

№ п/п	Определяемые показатели	Единицы измерения	Результаты испытаний	Величина допустимого уровня	НД на методы испытаний
Органолептические показатели					
1	Внешний вид	-	Мелкодисперсный порошок	-	
2	Цвет	-	Светло-желтый		
3	Запах	-	Без выраженного запаха	-	
4	Вкус	-	Без выраженного вкуса	-	
Физико-химические показатели					
5	Массовая доля белка	г/100 г	74,1		ГОСТ Р 54390-2011
6	Массовая доля жира	г/100 г	7,9		ГОСТ 29033-91
7	Массовая доля золы	г/100 г	4,1		ГОСТ 27494-2016

Регистрационный номер № 2 в журнале; № 2 протокола испытаний

Дата выдачи результатов: 25 января 2019 г.

Ответственный за оформление протокола:  Палешева Е.В. / Старший врач-бактериолог
(подпись) (Ф.И.О.) (должность)

Приложение Б (обязательное)

Документы на устройство фототерапевтическое Биолампа «АВЕРС-Сан»

ДЕКЛАРАЦИЯ О СООТВЕТСТВИИ

Закрытое акционерное общество «Научно-производственная компания «АВЕРС»
(ЗАО «НПК «АВЕРС»)

наименование организации или фирмы, имя, отчество индивидуального предпринимателя, принявших декларацию о соответствии

Россия, 113054, г. Москва, Озерковская наб., д. 48-50, стр.1, тел. (495)-625-00-43, факс (495)-625-88-95
адрес по почте, факс

зарегистрировано Государственным учреждением Московская регистрационная палата
20.01.2003г. ОГРН 1037739153430
сведения о регистрации организации или индивидуального предпринимателя, наименование регистрирующего органа, дата регистрации, регистрационный номер

в лице Генерального директора Грачёв Владимир Иванович
должность, фамилия, имя, отчество руководителя организации от имени которой принимается декларация

заявляет, что Устройство фототерапевтическое Биолампа «АВЕРС-Сан».
наименование, тип, марка продукции, на которую составляется декларация

ТУ 9444-003-58668926-2006
ОКП 94 4430 ТН ВЭД 9018 90 850 0
декларация, код ОКП, ТН ВЭД, сведения о стандартах, на которые ссылается декларант

Серийный выпуск
номера изделий, детали, компоненты, материалы, принадлежности, комплектующих, детали

Изготовитель - Закрытое акционерное общество «Научно-производственная компания «АВЕРС»
(ЗАО «НПК «АВЕРС»)

Россия, 113054, г. Москва, Озерковская наб., д. 48-50, стр.1, тел. (495)-625-00-43, факс (495)-625-88-95

соответствует требованиям ГОСТ Р 50444-92, ГОСТ Р 50267.0-92 (МЭК 601-1-88)
обозначение нормативных документов, соответствие

которым подтверждено данной декларацией, с указанием пунктов этих нормативов



документов, описывающих требования для данной продукции

Декларация принята на основании Протокол испытаний № 499-Р от 13.01.2010г.
информация о документах, на основании которых принята декларация

ИЦ МИ АНО «ВНИИИМТ» № РОСС RU.0001.21ИМ04; Сертификат № Z-08-251-МР о соответствии продукции требованиям Европейской директивы 93/42/ЕЕС, выданный BERLIN CERT, Германия; Регистрационное удостоверение Федеральной службы по надзору в сфере здравоохранения и социального развития № ФСР 2010/09435 от 15.12.2010г.


Дата принятия декларации 18 марта 2011г.

Декларация о соответствии действительна до 18 марта 2014г.

М.П.  В.И. Грачёв
инициалы, фамилия 

Сведения о регистрации декларации о соответствии Декларация зарегистрирована
Органом по сертификации медицинских изделий АНО «ВНИИИМТ» (ОС МИ АНО «ВНИИИМТ»)
наименование и адрес органа по сертификации, зарегистрировавшего декларацию

№ РОСС RU.0001.11ИМ02 Адрес: 129301, г. Москва, ул. Касаткина, д. 3
18 марта 2011г. № РОСС RU.ИМ02.Д00012
дата регистрации и регистрационный номер декларации

М.П.  Б.И. Леонов
Подпись, инициалы, фамилия руководителя органа по сертификации



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА ПО НАДЗОРУ В СФЕРЕ ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
И СОЦИАЛЬНОГО РАЗВИТИЯ

РЕГИСТРАЦИОННОЕ УДОСТОВЕРЕНИЕ
№ ФСР 2010/09435

от 15 декабря 2010 года

Срок действия: не ограничен.

Настоящее удостоверение выдано

ЗАО НПК "АВЕРС",
Россия, 113054, Москва, Озерковская набережная, д.48-50, стр.1

и подтверждает, что изделие медицинского назначения
(изделие медицинской техники)

Устройство фототерапевтическое Биолампа "АВЕРС-Сан"
по ТУ 9444-003-58668926-2006

производства

ЗАО НПК "АВЕРС",
Россия, 113054, Москва, Озерковская набережная, д.48-50, стр.1

класс потенциального риска 2а

соответствующее комплекту регистрационной документации

КРД № 69006 от 11.11.2010

приказом Росздравнадзора от 15 декабря 2010 года № 11214-Пр/10
разрешено к производству, продаже и применению на территории Российской
Федерации.

Врио руководителя Федеральной службы
по надзору в сфере здравоохранения
и социального развития

Е.А. Тельнова

011465



ОКП 94 4430

Группа Р 24

Утверждаю
Генеральный директор
НПК «АВЕРС»



В.И. Грачёв

2006 г.

Устройство фототерапевтическое
Биолампа «АВЕРС-Сан»

АВУД 03.00.000 ПС

ПАСПОРТ

2006 г.

Инв. № подл.	Подпись и дата	Взамен. инв. №	Инв. № дубл.	Подпись и дата

Приложение В
(обязательное)

Документ о регистрации заявки на выдачу патента
«Способ получения ферментного препарата»

Форма № 94 ИЗ, ПМ, ПО-2016

Федеральная служба по интеллектуальной собственности
Федеральное государственное бюджетное учреждение

«Федеральный институт промышленной собственности»
(ФИПС)


Бережковская наб., 38, корп. 1, Москва, Г-59, ГСП-5, 125993


Телефон (8-499) 240-60-15 Факс (8-495) 531-63-18

УВЕДОМЛЕНИЕ О ПРИЕМЕ И РЕГИСТРАЦИИ ЗАЯВКИ

26.01.2021	003294	2021101622
<i>Дата поступления</i>	<i>Входящий №</i>	<i>Регистрационный №</i>

Заявление о выдаче патента Российской Федерации на изобретение

 ФИПС Федеральная служба по интеллектуальной собственности Федеральное государственное бюджетное учреждение «Федеральный институт промышленной собственности» (ФИПС)	(1) РЕГИСТРАЦИОННЫЙ №	ВХОДЯЩИЙ №
	(2) ДАТА ПЕРЕВОДА изобретения на русский язык	
СОВЦО Ю.Д. <small>(индивидуальное имя и фамилия, наименование организации заявителя)</small> <input type="checkbox"/> (3) заявитель и автор изобретения <input type="checkbox"/> (4) заявитель изобретения <input type="checkbox"/> (5) заявитель и автор изобретения	АДРЕС ДЛЯ ПЕРЕПИСКИ <small>(полный адрес филиала в городе или населенном пункте)</small> 119146, Москва, Фрунзенская наб., 32, кв.42 В.И. Гребчу	
	Телефон (495) 240 60 49 Факс (495) 531 63 18 Адрес электронной почты: info@fips.ru АДРЕС ДЛЯ СЕКРЕТНОЙ СЕРВИСНОЙ <small>связи по почте только по адресу изобретения!</small>	
ЗАЯВЛЕНИЕ о выдаче патента Российской Федерации на изобретение		в Федеральную службу по интеллектуальной собственности Бережковская наб., д. 38, корп. 1, с. Москва, Г-59, ГСП-5, 125993, Российская Федерация
(3) НАЗВАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ФЕРМЕНТНОГО ПРЕПАРАТА		
(7) ЗАЯВИТЕЛЬ: Общество с ограниченной ответственностью Научно-производственная компания «АВЕРС» Фрунзенская наб., д. 32, кв. 42, Москва, 119146 <input type="checkbox"/> Собрание создано за счет средств федерального бюджета <input type="checkbox"/> государственное учреждение <input type="checkbox"/> муниципальное учреждение <input type="checkbox"/> муниципальное предприятие <input type="checkbox"/> государственное предприятие <input type="checkbox"/> муниципальное предприятие <input type="checkbox"/> частное предприятие <input type="checkbox"/> частное учреждение <input type="checkbox"/> частное предприятие		ИДЕНТИФИКАТОРЫ ЗАЯВИТЕЛЯ ОГРН 5117140025 ИНН 77040161 ИНН 77040161 ОКФС 0801001 ДОКУМЕНТЫ КОД СТАТЬИ
(14) ПРЕДСТАВИТЕЛЬ(Ы) ЗАЯВИТЕЛЯ (полное наименование, фамилия, имя, отчество, должность и при наличии лица, выполняющего административные функции, наименование организации для адреса для корреспонденции по почте и телефону) Контакт от _____ № _____		<input type="checkbox"/> патентный поверенный <input type="checkbox"/> представитель по доверенности <input type="checkbox"/> представитель по телефону

Общее количество документов в листах	26	Лицо, зарегистрировавшее документы
Из них: - количество листов комплекта изображений изделия (для промышленного образца)	0	Совцо Ю.Д. 
Количество платёжных документов	1	
Сведения о состоянии делопроизводства по заявкам размещаются в Открытых реестрах на сайте ФИПС по адресу: www.fips.ru/register-web		

Приложение Г
(обязательное)

Технические условия ТУ 914616-087-02069214-2021



МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Уральский государственный экономический университет»
(УрГЭУ)

УТВЕРЖДАЮ
Ректор ФГБОУ ВО «Уральский
государственный экономический университет»
Я. П. Силин
«15» января 2021г.

БЕЛКОВЫЙ ПРЕПАРАТ

ТЕХНИЧЕСКИЕ УСЛОВИЯ
ТУ 914616-087- 02069214-2021

Дата введения: «15» января 2021г.

РАЗРАБОТЧИК:

И.С. Брашко аспирант Брашко И.С.

И.Н. Третьякова аспирант Третьякова И.Н.

Т.И. Гулова старший преподаватель кафедры пищевой инженерии Гулова Т.И.

г. Екатеринбург, 2021 г.

Приложение Д
(обязательное)

Акты внедрения результатов исследования



АКТ

внедрения материалов диссертации **Третьяковой Ирины Николаевны** «Интенсификация гидролиза растительных и животных белков путем повышения активности и стабильности протеолитических ферментов» представленную на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности **05.18.07 - Биотехнология пищевых продуктов и биологических активных веществ** в учебный процесс кафедры «Пищевая инженерия» ФГБОУ ВО «Уральский государственный экономический университет»


Мы, нижеподписавшиеся, зав. кафедрой «Пищевая инженерия» ФГБОУ ВО «Уральский государственный экономический университет», доктор технических наук, профессор Тихонов С.Л. и доктор технических наук, профессор кафедры «Пищевая инженерия» ФГБОУ ВО «Уральский государственный экономический университет» Пищиков Г.Б. составили настоящий акт о том, что материалы диссертационной работы Третьяковой Ирины Николаевны «Интенсификация гидролиза растительных и животных белков путем повышения активности и стабильности протеолитических ферментов» с 2020-2021 учебного года используются в учебном процессе в лекционных курсах, при проведении практических занятий и лабораторных работ у бакалавров по направлению подготовки 19.03.01 «Биотехнология», профиль «Пищевая биотехнология».

Зав. кафедрой «Пищевая инженерия»,
доктор технических наук, профессор

С.Л. Тихонов

Профессор кафедры «Пищевая инженерия»,
доктор технических наук

Г.Б. Пищиков


 <p>ХОРОШИЙ ВКУС ЗАО «Комбинат пищевой «Хороший вкус»</p>	<p>УТВЕРЖДАЮ: начальник испытательной лаборатории <i>Малахова С.Ю.</i> Малахова С.Ю. «12» апреля 2019 г.</p>
---	---



АКТ Внедрения

Мы нижеподписавшиеся, старший врач-бактериолог Палешева Е.В., менеджер по качеству Терентьева О.В. составили настоящий акт о том, что результаты диссертационной работы Третьяковой И.Н. «Интенсификация гидролиза растительных и животных белков путем повышения активности и стабильности протеолитических ферментов» по специальности 05.18.07 - Биотехнология пищевых продуктов и биологических активных веществ используются при разработке рецептур колбасных изделий с применением растительных белковых препаратов на предприятии ЗАО «Комбинат пищевой «Хороший вкус».

Врач-бактериолог  Е.В. Палешева

Менеджер по качеству  О.В. Терентьева