

Изобретения и патенты

На правах рукописи

Соколенко

16. Патент РФ №2209828. Штамм дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* ZS, используемый в производстве прессованных дрожжей / Соколенко Г.Г., Земсков А.М., Ильина Н.В. // Заявка № 2000121925 от 16.08.2000 г. Оpubл. 10.08.2003. Бюл. №22.

17. Патент РФ №2264714. Способ ингибирования картофельной болезни хлебобулочных изделий / Бобрешова О.В., Кулищев П.И., Соколенко Г.Г. и др. // Заявка №2004100350 от 05.01.2004. Оpubл. 10.06.2005. Бюл. №33.

18. Патент РФ №2314715. Соево-грибной продукт / Соколенко Г.Г., Панова Н.В. // Заявка №2006100193/13 от 10.01.2006. Оpubл. 20.01.2008. Бюл. №18.

19. Патент РФ №2367158. Консервированный продукт из мяса перепелов и способ его приготовления / Котарев В.И., Бухтоярова И.Н., Соколенко Г.Г. // Заявка №2008120269/13 от 21.05.2008. Оpubл. 20.09.2009. Бюл. №26.

20. Патент РФ №2370041. Консервированный продукт из мяса перепелов и способ его приготовления / Котарев В.И., Бухтоярова И.Н., Соколенко Г.Г. // Заявка № 2008120288 от 21.05.2008. Оpubл. 20.10.2009. Бюл. №29.

21. Патент РФ № 24514523. Напиток на основе молочной сыворотки с экстрактом амаранта / Соколенко Г.Г., Вострикова Т.В., Полянский К.К. // Заявка № 2010138024 /10; заявл. 13.09.2010. Оpubл. 27.05.2012. Бюл. № 15.

Соколенко Галина Григорьевна

НАУЧНОЕ ОБОСНОВАНИЕ И РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИЙ ФУНКЦИОНАЛЬНЫХ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ НА ОСНОВЕ НАТИВНОГО И БИОМОДИФИЦИРОВАННОГО ПИЩЕВОГО СЫРЬЯ

Статьи и материалы конференций

22. Земсков, А.М. Новый штамм *Saccharomyces cerevisiae* для производства хлебопекарных дрожжей / А.М. Земсков, Г.Г. Соколенко // Материалы второго съезда Общества биотехнологов России – Москва, 13-15 октября. – 2004. – С. 92-93.

23. Соколенко, Г.Г. Разработка технологии соево-грибного продукта / Г.Г. Соколенко, Н.В. Панова // Вестник Воронежского государственного аграрного университета. Научные доклады и сообщения. – 2006. – №12. – С. 87-90.

24. Яровой С.А. Влияние инулина на активность дрожжей при сбраживании молочной сыворотки / С.А. Яровой, Г.Г. Соколенко, К.К. Полянский // Переработка молока. – 2010. – №7. – С. 58-59.

25. Соколенко, Г.Г. Ингибиторы протеаз сои и соевых продуктов / Г.Г. Соколенко // Организация и регуляция физиолого-биохимических процессов: Межрегион. сб. науч. работ. ВГУ, 2012. – Вып.13. – С. 182-186

26. Соколенко, Г.Г. Выращивание дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* на соке топинамбура для получения биомассы / Г.Г. Соколенко // Междунауч. конф. «Биотехнология: реальность и перспективы». – Саратов: ИЦ «Наука», 2014. – С. 75-77.

Специальность 05.18.07 – Биотехнология пищевых продуктов и биологических активных веществ

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
доктора технических наук

Подписано в печать 21.09.15. Формат 60 × 84 1/16

Усл. печ. л. Печ. л. 1,0. Тираж 100 экз. Заказ № 139.

Университет ИТМО. 197101, Санкт-Петербург, Кронверкский пр., 49

Изд.-инф. комплекс. 191002, Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, 9

Санкт-Петербург – 2015

Работа выполнена в ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I»

Официальные оппоненты:

Магомедов Газибег Омарович

доктор технических наук, профессор, ФГБОУ ВПО «Воронежский государственный университет инженерных технологий», заведующий кафедрой технологии хлебопекарного, кондитерского, макаронного и зерноперерабатывающего производств

Самофалова Лариса Александровна

доктор технических наук, доцент, ФГБОУ ВПО «Государственный университет учебно-научно-производственный комплекс», профессор кафедры химии и биотехнологии

Канарский Альберт Владимирович

доктор технических наук, профессор, ФГБОУ ВПО «Казанский национальный исследовательский технологический университет», профессор кафедры пищевой биотехнологии

Ведущая организация: ФГБОУ ВПО Воронежский государственный университет

Защита состоится « 24 » декабря 2015 г. в 14.00 ч. на заседании диссертационного совета Д 212.227.09 при Санкт-Петербургском национальном исследовательском университете информационных технологий, механики и оптики по адресу: 191002, г. Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, д. 9, ауд. 2219.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Санкт-Петербургского национального университета информационных технологий, механики и оптики по адресу: 191002, г. Санкт-Петербург, ул. Ломоносова, д. 9, и на сайте fppo.ifmo.ru.

Автореферат разослан « 9 » ноября 2015 года

Ученый секретарь
диссертационного совета 212.227.09
доктор технических наук, профессор

Колодязная
Валентина Степановна

ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. В современных условиях население России испытывает влияние комплекса неблагоприятных факторов, таких как экологическое неблагополучие, неполноценное питание, возрастание стрессовых воздействий, что ведет к снижению продолжительности жизни и рождаемости, иммунитета и устойчивости к заболеваниям и неблагоприятным факторам окружающей среды. Несмотря на положительные тенденции в питании населения РФ, смертность от хронических болезней, развитие которых связано с алиментарным фактором, остается высокой. В соответствии с концепцией государственной политики в области здорового питания основные направления решения этой проблемы предусматривают расширение отечественного производства основных видов продовольственного сырья, отвечающего современным требованиям качества и безопасности, создание функциональных продуктов питания, обладающих высокой биологической ценностью и физиолого-метаболическими свойствами, повышающими адаптационные способности человека в условиях «экологического риска».

Большой вклад в развитие теоретических и практических основ технологии функциональных продуктов внесли отечественные ученые А.А. Покровский, В.А. Тутельян, В.Б. Спиричев, В.М. Позняковский, Л.Н. Шатнюк, Б.П. Суханов, А.Г. Храмов, И.А. Рогов, Л.А. Забодалова, Т.В. Меледина, З.С. Зобкова и другие.

Актуальным направлением на современном этапе является поиск новых сырьевых источников белка и биологически активных веществ, разработка и совершенствование биотехнологических способов для создания функциональных пищевых продуктов, включающих нутриенты растительного происхождения. Введение в состав пищевых продуктов нетрадиционных растительных культур дает возможность не только создавать биологически активные аминокислотные комплексы, но и оказывать существенное влияние на органолептические показатели, структурно-механические свойства готовой продукции, ход реакций ферментации и цветообразования. Получение функциональных продуктов питания на основе сои, амаранта, топинамбура, грибов вешенка, содержащих биологически активные вещества, обладающие антиоксидантными, гепатопротекторными, пребиотическими и иммуностимулирующими свойствами, будет способствовать решению основных вопросов рационального питания и ликвидации дефицита белка и микронутриентов в пищевых продуктах.

К настоящему времени в России подавляющее большинство пищевых ингредиентов импортируется, в связи с чем организация их производства является актуальной, социально востребованной задачей. Эффективность решения этой проблемы во многом определяется применением продуктов микробиологического синтеза и биомассы одноклеточных организмов. Поэтому получение и использование новых высокопродуктивных штаммов дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и *Kluyveromyces marxianus*, обладающих высокой ферментативной активностью, поиск новых субстратов для получения экологически безопасной биомассы дрожжей с высоким содержанием биологически активных веществ являются актуальными.

В связи с этим исследования, посвященные селекции и изучению перспективных штаммов дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и *Kluyveromyces marxianus*, и разработке технологий функциональных продуктов питания на основе растительных культур амаранта, топинамбура, сои, грибов вешенка, являются актуальными.

Работа выполнена в 2000-2014 гг. в соответствии с отраслевыми научными программами в рамках Российской научно-технической программы фундаментальных и приоритетных прикладных исследований по научному обеспечению развития агропромышленного комплекса Российской Федерации по теме: «Проведение научных исследований и развитие экологически безвредных, высокотехнологичных методов комплексной переработки продукции сельского хозяйства».

Цель работы – исследование и обоснование технологических параметров биомодификации пищевого сырья, получение и изучение штаммов дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и *Kluyveromyces marxianus* для использования в процессах биомодификации, разработка технологий функциональных низкокалорийных продуктов питания.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

- осуществить селекционные исследования по получению новых штаммов дрожжей *S. cerevisiae* с высокой продуктивностью и ферментативной активностью, позволяющих расширить спектр субстратов для производства дрожжевой биомассы;
- провести молекулярно-генетические исследования регуляции экспрессии генов β-фруктозидаз дрожжей *S. cerevisiae* и *K. marxianus* с помощью ПЦР;
- исследовать влияние инулина на дрожжи *S. cerevisiae* G и *K. marxianus* Y-1148 и разработать способ получения биомассы дрожжей выращиванием на соке топинамбура;
- разработать технологию дрожже-сывороточного концентрата биомодификацией молочной сыворотки дрожжами *K. marxianus* Y-1148;
- обосновать оптимальные условия получения экстрактов листьев амаранта *A. paniculatus*, обладающих высокой антиоксидантной активностью; разработать рецептуры и технологии функциональных напитков с их содержанием;
- изучить химический состав и антипитательные свойства сортов сои в условиях Центрально-Черноземного региона (ЦЧР) и методы их инактивации; разработать биотехнологии функциональных напитков на основе соевого молока;
- разработать рецептуры и технологии низкокалорийных функциональных пищевых продуктов с использованием грибов вешенка (*Pleurotus ostreatus*);
- разработать техническую документацию на полученные функциональные продукты питания и провести производственную апробацию.

Научная новизна работы. Получен новый штамм дрожжей *S. cerevisiae* ZS, отличающийся высокой продуктивностью и ферментативной активностью. Штамм депонирован Всероссийской коллекцией микроорганизмов ИБФМ РАН, регистрационный номер ВКМ Y-2902D (Патент № 2209828).

Получен новый штамм дрожжей *S. cerevisiae* G, отличающийся способностью к ферментации инулина и росту на средах, содержащих инулин в качестве единственного источника углерода.

Научно обоснована эффективность использования штамма *S. cerevisiae* G для получения биомассы на соке топинамбура без предварительного гидролиза инулина, что позволяет объединять процессы его осахаривания и ферментации.

Проведены молекулярно-генетические исследования регуляции экспрессии генов β-фруктозидаз дрожжей *S. cerevisiae* G и *K. marxianus* Y-1148. Определена экзон-интронная структура генов, кодирующих ферменты β-фруктофуранозидазу и инулиназу дрожжей *S. cerevisiae* G и *K. marxianus* Y-1148, и осуществлен подбор праймеров для проведения количественной ПЦР. Выявлена зависимость показателя экспрессии генов β-фруктозидаз дрожжей *S. cerevisiae* G и *K. marxianus* Y-1148 от источника углерода. Для *S. cerevisiae* G – синтез инулиназы конститутивный и не регулируется катаболитной репрессией, для *K. marxianus* Y-1148 – индуцибельный и подвержен катаболитной репрессии.

Установлено стимулирующее действие инулина и сока топинамбура на накопление биомассы дрожжей *S. cerevisiae* G и *K. marxianus* Y-1148 при ферментации солодового сусле и молочной сыворотки.

Научно обоснованы и экспериментально подтверждены параметры биомодификации молочной сыворотки дрожжами *K. marxianus* Y-1148 для получения дрожже-сывороточного концентрата, изучен его аминокислотный состав и установлена высокая биологическая ценность.

Научно обоснованы и экспериментально подтверждены оптимальные условия получения экстрактов амаранта с высокой антиоксидантной активностью, разработаны новые функциональные напитки на их основе – сывороточный напиток с экстрактом амаранта и пивной напиток «Амарантный».

Установлено стимулирующее действие экстрактов листьев амаранта *A. paniculatus* на дрожжи *S. cerevisiae* при выращивании в молочной сыворотке и пивном сусле.

Методом компьютерной цветометрии определены значимые коэффициенты корреляции между значениями антиоксидантной активности и красной компонентой модели цветности экстрактов амаранта.

Получены новые функциональные продукты на основе соевого молока и грибов вешенка, сбалансированные по аминокислотному составу, с высокой биологической ценностью и низкой калорийностью.

Практическая значимость работы. Получены новые штаммы дрожжей *S. cerevisiae*, отличающиеся высокой продуктивностью. Штамм дрожжей *S. cerevisiae* ZS внедрен в производство ЗАО «Воронежские дрожжи». Это позволило увеличить на 18% выработку дрожжей с хорошими хлебопекарными свойствами.

Разработан способ выращивания инулиназоактивных дрожжей *S. cerevisiae* на соке топинамбура, позволяющий увеличить выход биомассы дрожжей на 24% по сравнению с выходом при выращивании на питательной среде, приготовленной из мелассы. Получено положительное решение на заявку «Способ выращивания хлебопекарных дрожжей» (Заявка № 2014143297 от 27.10.2014 г.)

Биомодификацией молочной сыворотки дрожжами *K. marxianus* Y-1148 получен дрожже-сывороточный концентрат, который по содержанию белка соответствует обезжиренному молоку, по содержанию лейцина, тирозина, суммы метионина и цистина превосходит белок молока соответственно в 1,5; 2,0

и 1,5 раза, по органолептическим свойствам напоминает молоко, что позволяет рекомендовать его к применению в производстве молочных продуктов.

Разработаны технологии и рецептуры новых функциональных продуктов питания на основе соевого молока, грибов вешенка, листьев амаранта, сбалансированные по аминокислотному составу, обладающие высокой пищевой ценностью и низкой калорийностью, потребление которых будет способствовать улучшению структуры питания населения (патенты №2367158, № 2367158, №2370041).

Разработана технология пивного напитка «Амарантный», содержащего экстракт листьев амаранта. Технология апробирована в производственных условиях пивоваренных предприятий ООО «Райт» и ООО «ЧП Артель» г. Воронежа.

Разработан проект технической документации на производство функциональных продуктов питания (ТУ и ТИ): №9232-016-00492894-2015 «Напиток сывороточный с экстрактом амаранта»; №9146-017-00492894-2015 «Напиток соевый сквашенный»; №9146-018-00492894-2015 «Напиток соевый десертный», технологическая инструкция по производству пивного напитка «Амарантный» ГОСТ 55292-2012 ПА-ТИ №03-12-2014.

Результаты исследований используются в учебном процессе при чтении лекций и проведении лабораторно-практических работ студентов, обучающихся по направлению ЗБ.03.07 «Технология производства и переработки сельскохозяйственной продукции».

Научная новизна и практическая значимость работы подтверждена получением шести патентов РФ.

Апробация работы. Основные положения и результаты диссертационной работы докладывались и обсуждались на международных и региональных научных, научно-практических конференциях и съездах: I, II, V съездах Общества биотехнологов России (Москва, 2004, 2005, 2008); Всероссийской научно-технической конференции-выставке «Высокоэффективные пищевые технологии, методы и средства для их реализации» (Москва, 2004); «Пищевые технологии» (Казань, 2004); «Экология безопасности человека: концепция факторов риска, экологической безопасности и управления рисками» (Пенза, 2006); «Актуальные проблемы развития технологии производства продуктов питания» (Воронеж, 2008); «Современные технологии производства продуктов питания: состояние, проблемы и перспективы развития» (Воронеж, 2010); «Биология – наука XXI века» (Москва, 2012); «Глинковские чтения» (Воронеж, 2013); «Производство и переработка с/х продукции: менеджмент качества и безопасности» (Воронеж, 2013); «Агротехнологии XXI века: концепции устойчивого развития» (Воронеж, 2014); «Биотехнология: реальность и перспективы» (Саратов, 2014).

Публикации. Автор имеет 79 научных работ, по материалам исследований опубликовано 50 печатных работ, в том числе 21 – в рецензируемых изданиях, рекомендованных ВАК России, из них – 6 патентов РФ.

Личный вклад автора. Автору принадлежит ведущая роль в выборе направления исследования, анализе и обобщении полученных результатов. В работах, выполненных в соавторстве, автором лично проведена постановка задач, моделирование изучаемых процессов, научное обоснование и обобщение результатов. Вклад автора является определяющим и заключается в непосред-

ственном участии на всех этапах исследования и обсуждения результатов в научных публикациях и докладах.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, 5 глав, заключения, перечня сокращений и обозначений, принятых в работе, списка литературы и приложений. Материалы диссертационной работы изложены на 293 страницах компьютерного текста и включают 46 рисунков, 52 таблицы, 12 приложений. Список цитируемой литературы содержит 312 наименований, в том числе 77 – иностранных.

Основные положения, выносимые на защиту:

- получение штаммов дрожжей *S. cerevisiae*, обладающих высокой продуктивностью и ферментативной активностью, обеспечивающих выход продукции высокого качества и использование новых субстратов для производства дрожжевой биомассы;
- результаты молекулярно-генетического исследования регуляции экспрессии генов β -фруктозидаз дрожжей *S. cerevisiae* G и *K. marxianus* Y-1148 с помощью ПЦР;
- стимулирующее действие инулина на дрожжи *S. cerevisiae* G и *K. marxianus* Y-1148; способ получения дрожжевой биомассы выращиванием инулиназоактивного штамма дрожжей *S. cerevisiae* G на соке топинамбура без проведения предварительного гидролиза инулина;
- биотехнология дрожже-сывороточного концентрата биомодификацией молочной сыворотки дрожжами *K. marxianus* Y-1148;
- результаты исследований по определению оптимальных параметров получения экстрактов листьев амаранта; биотехнологии функциональных напитков, содержащих экстракт листьев амаранта.
- результаты изучения химических свойств и активности антипитательных веществ сортов сои в условиях ЦЧР; технологии и рецептуры соевых функциональных напитков.
- технологии функциональных продуктов питания с использованием грибов вешенка, обладающих высокой биологической ценностью, сбалансированным аминокислотным составом и низкой калорийностью.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИОННОЙ РАБОТЫ

Во введении обоснована актуальность темы диссертационной работы, научная новизна и практическая значимость выполненных исследований.

Аналитический обзор посвящен критическому анализу научной и патентной литературы в области применения дрожжей *S. cerevisiae* и *K. marxianus* Y-1148, ценности сои, амаранта, топинамбура и грибов вешенка (*Pleurotus ostreatus*) как пищевого сырья, обоснована целесообразность их применения для получения экологически чистых функциональных продуктов питания и биологически активных добавок.

Объекты и методы исследований. Для получения экспериментальных данных проводился комплекс физико-химических, биохимических, микробиологических и молекулярно-генетических исследований.

Объектом для проведения микробиологических исследований служили штаммы микроорганизмов: *K. marxianus* Y-1148 (получен из ВКМ г. Пущино),

S. cerevisiae ZS и *S. cerevisiae* G – из коллекции кафедры биохимии и микробиологии ВГАУ, *S. cerevisiae* LB7 – производственная культура дрожжей ЗАО «Воронежский дрожжевой завод», молочнокислые бактерии родов *Bifidobacterium* и *Lactobacillus* фирмы «Lactina».

Технологические показатели дрожжей определяли по ГОСТу 54731-2011.

Инулинсодержащая биодобавка получена из свежих клубней топинамбура по ТУ № 9360-001 – 50477279-2000 (состав: инулин – 86%, редуцирующие сахара – 7%, клетчатка – 6%, минеральные вещества и микроэлементы – 1%).

Экстракты из листьев амаранта получали по ГОСТ 1938-85 «Чай. Методы анализа» и методом настоев (Государственная фармакопея СССР. Вып. 2, 11-е изд., 1989). Определение рутина в листьях амаранта проводили по методу, изложенному в ГФ XI, «Трава зверобоя продырявленного».

Изучение антиоксидантной активности (АОА) амаранта проводили вольтамперометрическим способом на анализаторе «ЦветЯуза-01-АА».

Анализ параметров цветности изображений проводился в режиме *off-line* программами интегрального анализа цветности в среде пакета *Mathcad 14* или *MatLab 7*. Использовались цветовые модели *RGB* и *Irgb*.

Активность ингибиторов трипсина и химотрипсина семян сои определяли казеинолитическим методом М.Л. Какейда в модификации И.И. Бейкена (Ермаков А.В., 1987). Активность уреазы семян сои определяли по ГОСТ 13979.9-69 «Методика выполнения измерений активности уреазы».

Аминокислотный состав сырья определяли на аминокислотном анализаторе «Бриз».

Физико-химические показатели пива и пивного напитка определяли на анализаторе спиртосодержащих напитков «Колос-2».

Для определения экспрессии гена дрожжевой инулиназы проведен дизайн праймеров. Подбор затравки проводили на основе сиквенсов гена инулиназы у дрожжей *K. marxianus* и гена инвертазы у *S. cerevisiae* из базы данных *National Center for Biotechnology Information* (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov>). Нормализацию данных по экспрессии β-фруктозидаз осуществляли относительно 4 *housekeeping* генов: *ALG9*, *TAF10*, *TFC1*, *UBC6*.

Выделение и очистку дрожжевой РНК осуществляли по стандартной методике (Chomczynski P., Sacchi N., 1986). Для проведения реакции обратной транскрипции использовали фермент обратную транскриптазу вируса лейкемии мышей Монони (*M-MLV*; *Sileks*, *cat. № E1211*) и олиго(дТ) праймеры.

Генетическую паспортизацию сортов сои осуществляли методом геномного фингерпринта *RAPD*-ПЦР.

Для амплификации геномной ДНК использовали 6 праймеров: *Oligo 1*, *Oligo 2*, *Oligo 4*, *Oligo 16*, *Oligo 17*, *Oligo 31*, синтезированных фирмой «Евроген» (Москва). Температуру отжига для каждого из праймеров подбирали в компьютерной программе *OLIGO 6*. Амплификацию проводили в амплификаторе *CFX96* (*Touch Real Time System*, *Bio-Rad*, США). Продукты амплификации разделяли электрофорезом в 2% агарозном геле с 1X TAE-буфером. Фрагменты ДНК анализировали в трансиллюминаторе «*Vilber Lourmat*» (Франция).

Экспериментальная часть работы выполнена в лаборатории биологических анализов и лабораториях кафедры «Биохимия и микробиология» ФГОУ ВПО Воронежский ГАУ. Часть исследований проведена на кафедре ВГУ «Физиоло-

гия и биохимия клетки» и в производственной лаборатории ЗАО «Воронежские дрожжи».

Статистическую обработку проводили с использованием пакетов прикладных статистических программ *Excel*, *Statistica 6.0*. Достоверность различий оценивали по критерию Стьюдента при 95% уровне значимости.

Схема проведения исследований приведена на рисунке 1.

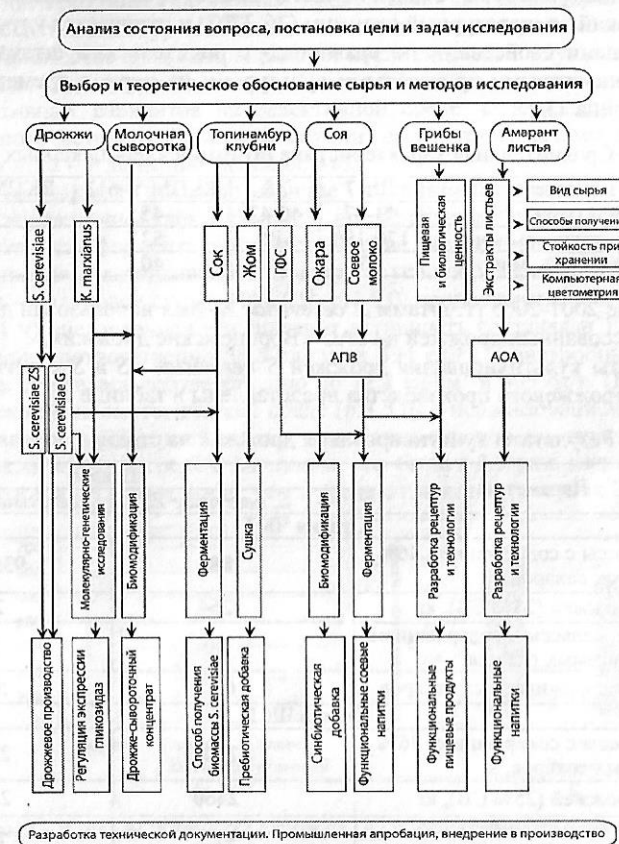


Рисунок 1 – Схема проведения исследований (АОА – антиоксидантная активность; АПВ – антипитательные вещества; ГФС – глюкозо-фруктозный сироп)

Получение новых штаммов *S. cerevisiae* и их изучение. Актуальной проблемой дрожжевой промышленности является создание высококоррелябельных, экологически чистых технологий. Одним из путей решения этой проблемы является создание и внедрение в производство новых продуктивных штаммов

S. cerevisiae с высокой ферментативной активностью, применение которых позволит интенсифицировать производство и расширить спектр сырья.

В результате проведенных исследований были получены новые штаммы дрожжей *S. cerevisiae* ZS и *S. cerevisiae* G. Штамм *S. cerevisiae* ZS получен методом естественной селекции путем отбора активных вариантов из культуры производственных дрожжей штамма *S. cerevisiae* ЛВ-7. Штамм *S. cerevisiae* ZS имеет стабильно высокий выход биомассы, высокую ферментативную активность, широкий температурный оптимум (26-37°C) и отличается улучшенными хлебопекарными свойствами по сравнению с родительским штаммом и известными аналоговыми дрожжевыми культурами на период времени его создания (таблица 1).

Таблица 1 – Сравнительная характеристика штаммов хлебопекарных дрожжей

Показатели	ЛВ-7	ZS	ВКПМ У-611	ВКПМ У-453
Подъемная сила, мин	43-47	40-42	45	46
Мальтазная активность, мин	170-180	40	53	54
Зимазная активность, мин	80	36	40	43

В течение 2001-2005 гг. штамм *S. cerevisiae* ZS был использован для производства прессованных дрожжей на ЗАО «Воронежские дрожжи».

Результаты культивирования дрожжей *S. cerevisiae* ZS и *S. cerevisiae* ЛВ-7 на стадиях дрожжевого производства представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты культивирования дрожжей на стадиях производства

Параметры	Штамм	
	<i>S. cerevisiae</i> ZS	<i>S. cerevisiae</i> ЛВ-7
Стадия ЧК I		
Расход мелассы с содержанием 46% сбраживаемых сахаров, кг	880	935-430
Биомасса дрожжей (25% СВ), кг	264	243
Выход, % от мелассы с содержанием 46% сбраживаемых сахаров	30	26
Выход, % от сбраживаемых сахаров	65,2	56,5
Стадия ЧК II		
Расход мелассы с содержанием 46% сбраживаемых сахаров, кг	2700	2780
Биомасса дрожжей (25% СВ), кг	2460	2146
Выход, % от мелассы с 46% сбраживаемых сахаров	91,2	77,2
Выход, % от сбраживаемых сахаров	198	167,8
Товарная стадия		
Расход мелассы с содержанием 46% сбраживаемых сахаров, кг	9600	9600
Биомасса дрожжей (25% СВ), кг	9120	7680
Выход, % от мелассы с содержанием 46% сбраживаемых сахаров, кг	95	80
Выход, % от сбраживаемых сахаров	206	174

Из таблицы 2 видно, что выход биомассы дрожжей штамма *S. cerevisiae* ZS на всех стадиях производства выше, чем родительского штамма *S. cerevisiae* ЛВ-7. Использование штамма *S. cerevisiae* ZS на ЗАО «Воронежские дрожжи» позволило увеличить выработку дрожжей на 18% в сутки (с 30,7 до 36,5 т).

В настоящее время поиск альтернативных источников углеводов для дрожжевой промышленности является актуальной проблемой. В этом отношении большой практический интерес представляет инулинсодержащее сырье, прежде всего топинамбур (*Helianthus tuberosus* L.), который может быть использован в качестве среды выращивания после гидролиза инулина.

На основе родительского штамма *S. cerevisiae* ZS с использованием метода отбора активных вариантов на селективной среде, содержащей в качестве единственного источника углерода инулин, был получен штамм *S. cerevisiae* G, обладающий инулиназной активностью.

Для *S. cerevisiae* G показано наличие инулиназной активности внутриклеточной и внеклеточной локализации с преобладанием первой. Установлено, что на активность фермента оказывает влияние вид источника углерода в среде выращивания и интенсивность аэрации. В условиях аэрации (среда культивирования – солодовое сусло, 10% СВ, pH 5,0, продолжительность инкубирования – 24 ч) внеклеточная инулиназная активность составляла 12% от внутриклеточной (соответственно 58,5 ед/см³ и 494 ед/г), в анаэробных условиях активность снижалась соответственно до 12,8 ед/см³ и 405 ед/г. При выращивании дрожжей на синтетической среде (pH 5,0) с использованием одного источника углерода (2%) установлено, что максимальную инулиназную активность дрожжи имели в среде с инулином, она была в 3,3 раза выше, чем в среде с сахарозой и в 1,8 раза выше, чем в среде с глюкозой (рисунок 2).

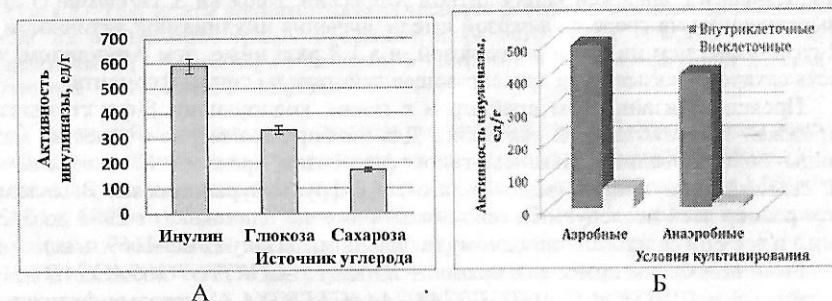


Рисунок 2 – Влияние источника углерода (А) и интенсивности аэрации среды (Б) на инулиназную активность *S. cerevisiae* G

Дрожжи штамма *S. cerevisiae* G обладают высокой ферментативной активностью и хорошими хлебопекарными свойствами: подъемная сила – 38-40 мин, мальтазная активность – 32 мин, зимазная активность – 34 мин, активность β-фруктофуранозидазы – 317 ед/г, осмоустойчивость – 8-10 мин.

Таким образом, свойства штамма *S. cerevisiae* G определяют возможность его использования в производстве хлебопекарных дрожжей с применением негидролизованного инулинсодержащего сырья, что позволит объединить процессы осахаривания и ассимиляции инулина.

Молекулярно-генетическое изучение экспрессии генов β -фруктозидаз дрожжей *S. cerevisiae* G и *K. marxianus* Y-1148

В настоящее время известно ограниченное число инулазоактивных штаммов дрожжей *S. cerevisiae*, недостаточно изучены механизмы регуляции биосинтеза инулиназы. Дрожжи *K. marxianus* являются наиболее широко используемыми и хорошо изученными продуцентами инулиназы. В связи с этим представляет интерес сравнительное изучение регуляции экспрессии генов β -фруктозидаз дрожжей *K. marxianus* и *S. cerevisiae*.

Изучена инулиназная активность дрожжей *S. cerevisiae* G и *K. marxianus* Y-1148 при выращивании на средах с различными источниками углерода. Установлено, что наиболее высокие значения инулиназной активности исследуемые дрожжи имели на среде с инулином. При этом активность *S. cerevisiae* G была выше активности *K. marxianus* Y-1148 почти в 4 раза (таблица 3).

Таблица 3 – Активность инулиназы дрожжей *K. marxianus* и *S. cerevisiae* при выращивании на средах с различными источниками углерода

Источник углерода	Активность инулиназы, ед/г биомассы	
	<i>K. marxianus</i> Y-1148	<i>S. cerevisiae</i> G
Инулин	150	590
Глюкоза	78	334
Сахароза	120	173

На среде с сахарозой дрожжи *K. marxianus* Y-1148 имели инулиназную активность выше, чем на среде с глюкозой, в 1,5 раза, но на 20% ниже, чем на среде с инулином. Таким образом, биосинтез инулиназы этого штамма, индуцибельный и подвержен катаболитной репрессии. Дрожжи *S. cerevisiae* G при выращивании на среде с глюкозой имели значения инулиназной активности в 2 раза выше, чем на среде с сахарозой, и в 1,8 раза ниже, чем с инулином, то есть сахароза оказывала репрессирующее действие на синтез фермента.

Проведен дизайн пары праймеров к генам, кодирующим β -фруктозидазы дрожжей *S. cerevisiae* и *K. marxianus*. Для подбора праймеров в качестве матрицы использовались сиквенсы генов ферментов дрожжей *K. marxianus* и *S. cerevisiae*: инулиназы (эндо- и экзо-) и β -фруктофуранозидазы. Выявлено, что размер всех исследуемых генов был примерно одинаков (от 2983 до 3325 п.н.) и все они содержали по одному небольшому экзону (1436-1669 п. н.).

Были подобраны праймеры: прямой – *IPFYSK f 5'-GGKTTGGTACGATG-3'* и обратный – *IPFYSK r 5'-AGTGTGAAGAAAGTTTGYA-3'*, которые фланкируют участок экзона генов размером от 760 до 790 п.н. в зависимости от фермента и объекта.

Из биомассы дрожжей *K. marxianus* Y-1148 и *S. cerevisiae* G получены препараты тотальной РНК (0,5-0,8 нг) и проведена обратная транскрипция с помощью олиго (дТ) праймеров с целью получения кДНК, которую использовали для постановки количественной ПЦР. В качестве заправки были задействованы праймеры IPFYSK. Результаты исследований полученных ампликонов методом электрофореза подтвердили теоретически определенный размер амплифицируемого участка в 760-790 п.н. (рисунок 3).

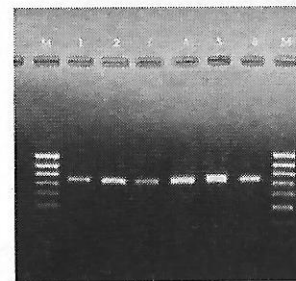


Рисунок 3 – Электрофореграмма продуктов ПЦР дрожжей *S. cerevisiae* G и *K. marxianus* Y-1148 после выращивания на питательной среде, содержащей в качестве источника углерода: глюкозу – 1,4; сахарозу – 2,5; инулин – 3,6; 1-3 – амплифицированный участок гена гликозидазы *S. cerevisiae* G; 4-6 – амплифицированный участок гена гликозидазы *K. marxianus* Y-1148; М – маркеры длин фрагментов от 80 до 1031 п. н.

Анализ нормализованных данных *K. marxianus* показал, что экспрессия генов β -фруктозидаз у *S. cerevisiae* G и *K. Y-1148* наблюдалась во всех случаях при росте на питательных средах, содержащих сахарозу, глюкозу или инулин (рисунок 4).

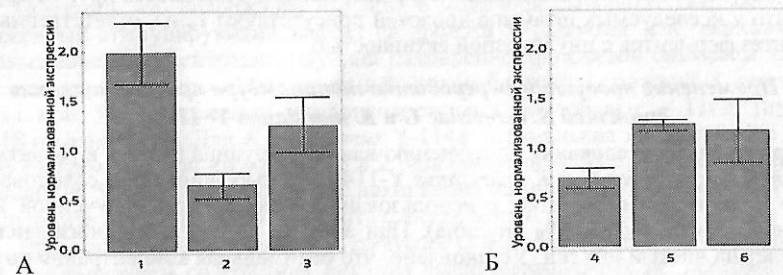


Рисунок 4 – Результаты нормализованной экспрессии генов гликозидаз дрожжей при росте на питательных средах с единственным источником углерода: А – для *S. cerevisiae* G (1 – глюкоза, 2 – сахароза, 3 – инулин); Б – для *K. marxianus* Y-1148 (4 – глюкоза, 5 – сахароза, 6 – инулин)

У дрожжей *S. cerevisiae* G уровень экспрессии генов β -фруктозидаз имеет наибольшее значение при выращивании на среде, содержащей глюкозу, а на среде с инулином активность в 1,6 раза меньше, чем на глюкозе, и в 1,95 раза больше, чем на сахарозе. У дрожжей *K. marxianus* Y-1148 при росте на средах с инулином и сахарозой экспрессии исследуемых генов были одинаковы, а на среде с глюкозой – в 1,74 раза меньше. В условиях проведенного эксперимента было установлено, что для инулиназы *K. marxianus* Y-1148 индуктором была сахароза, а глюкоза – репрессором, в то время как для *S. cerevisiae* G глюкоза – индуктор, а сахароза – репрессор.

Таким образом, в зависимости от источника углерода, входящего в состав среды культивирования, осуществляется экспрессия того гена β -фруктозидаз, активация которого необходима в данной среде для синтеза соответствующего фермента и метаболизма сахара.

С целью выявления однородности нуклеотидного состава анализируемых ампликонов были получены кривые плавления продуктов амплификации *S. cerevisiae* G и *K. marxianus* Y-1148 (рисунок 5).

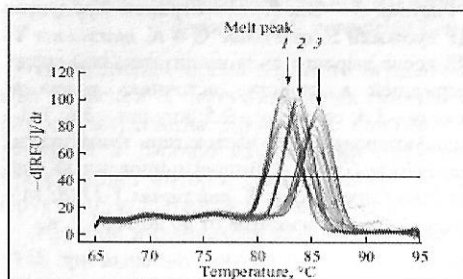


Рисунок 5 – Tm пики кривых диссоциации ампликонов *S. cerevisiae* G и *K. marxianus* Y-1148 в средах:
1 – с сахарозой ($t_{пл.} - 82,5^{\circ}\text{C}$);
2 – с инулином ($t_{пл.} - 83,9^{\circ}\text{C}$);
3 – с глюкозой ($t_{пл.} - 86,0^{\circ}\text{C}$).
-D[RFU]/dt – относительная единица флуоресценции

Полученные кривые плавления были представлены тремя Tm пиками и были одинаковыми для *S. cerevisiae* G и для *K. marxianus* Y-1148 после выращивания на идентичных средах. Это свидетельствует о том, что продукты амплификации у дрожжей при метаболизме разных сахаров отличаются друг от друга и что у исследуемых штаммов дрожжей присутствуют гены, ответственные за синтез ферментов с инулиназной активностью.

Применение продуктов переработки топинамбура при выращивании дрожжей *S. cerevisiae* G и *K. marxianus* Y-1148

Проведены исследования по изучению влияния инулина на рост и развитие дрожжей *S. cerevisiae* G и *K. marxianus* Y-1148 при выращивании в солодовом сусле и молочной сыворотке, с использованием биодобавки, полученной из клубней топинамбура (86% инулина). При анализе результатов производили пересчет на чистый инулин. Установлено, что оптимальная концентрация инулинсодержащей биодобавки в сусле для *S. cerevisiae* G была 3%, для *K. marxianus* Y-1148 – 1%, при этом накопление биомассы было выше контроля соответственно на 30 и 23% (рисунок 6, А).

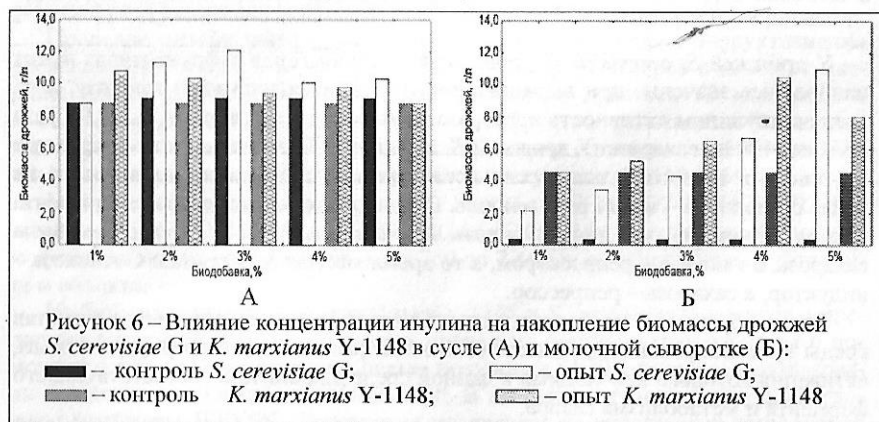


Рисунок 6 – Влияние концентрации инулина на накопление биомассы дрожжей *S. cerevisiae* G и *K. marxianus* Y-1148 в сусле (А) и молочной сыворотке (Б):
■ – контроль *S. cerevisiae* G; □ – опыт *S. cerevisiae* G;
■ – контроль *K. marxianus* Y-1148; □ – опыт *K. marxianus* Y-1148

После выращивания дрожжей *S. cerevisiae* G и *K. marxianus* Y-1148 в сусле с этими концентрациями добавки инулин не был обнаружен, что свидетель-

ствует о максимальной инулиназной активности дрожжей, а при концентрациях инулина в сусле выше оптимальных, инулин накапливался (рисунок 7).

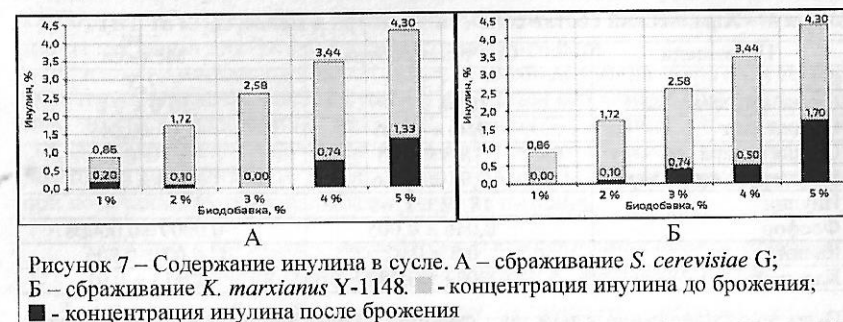


Рисунок 7 – Содержание инулина в сусле. А – сбраживание *S. cerevisiae* G; Б – сбраживание *K. marxianus* Y-1148. ■ – концентрация инулина до брожения; ■ – концентрация инулина после брожения

Показано, что содержание инулина в молочной сыворотке оказывало выраженный стимулирующий эффект на дрожжи *S. cerevisiae* G и *K. marxianus*. С повышением концентрации инулина накопление дрожжевой биомассы значительно увеличивалось. Максимальный выход биомассы дрожжей *S. cerevisiae* был при 5% содержания инулинсодержащей биодобавки – 11г/л (против 0,18 г/л контроля). Для *K. marxianus* Y-1148 оптимальная концентрация была 4% со стимулирующим эффектом в 2 раза (рисунок 6, Б). Повышение концентрации до 5% вызывало снижение накопления биомассы *K. marxianus* Y-1148 в результате ингибирования фермента с инулиназной активностью.

При выращивании дрожжей *S. cerevisiae* G и *K. marxianus* Y-1148 в сыворотке с повышением содержания инулина выше оптимальных концентраций повышалось содержание сахаров до гидролиза и незначительное повышение концентрации инулина после выращивания дрожжей. Это свидетельствует об использовании инулина дрожжами в качестве единственного источника углерода.

Таким образом, установлено стимулирующее действие инулина на рост и размножение дрожжей *S. cerevisiae* G и *K. marxianus* Y-1148 при сбраживании молочной сыворотки и солодового сусле. Дрожжи *S. cerevisiae* G более активно сбраживают инулин и накапливают биомассу как в сусле, так и в молочной сыворотке, при этом в молочной сыворотке стимулирующий эффект более выражен из-за отсутствия лактазной активности. На основании полученных результатов можно рекомендовать применение инулинсодержащей биодобавки при получении продуктов функциональной значимости для повышения эффективности сбраживания сусле и молочной сыворотки инулиназоактивными дрожжами *S. cerevisiae* G и *K. marxianus* без дополнительного внесения сахарозы.

К настоящему времени недостаточно исследований по применению инулинсодержащего сырья для получения биомассы дрожжей *S. cerevisiae*. Известные способы применения *S. cerevisiae* с использованием топинамбура предусматривают гидролиз инулина с помощью минеральных кислот, ферментных препаратов или активации инулина топинамбуром. Использование негидролизованного сока топинамбура с применением инулиназоактивных дрожжей-продуцентов является эффективным и экономически выгодным способом.

Проведены исследования по разработке способа выращивания дрожжей инулиназоактивного штамма *S. cerevisiae* G на соке топинамбура без предвари-

тельного гидролиза инулина. Из свежих клубней топинамбура получен сок и определен его химический состав (таблица 4).

Таблица 4 – Химический состав сока топинамбура и мелассы (% от СВ)

Показатели	Сок топинамбура	Меласса
pH	6,0	7,5
Сухие вещества, %	10,68 ± 0,96	10,0 ± 0,8
Общий азот	0,06 ± 0,005	0,19 ± 0,017
Общие сахара	18,8 ± 1,68	5,7 ± 0,51
Редуцирующие сахара	0,08 ± 0,006	0,13 ± 0,01
Инулин	18,72 ± 1,68	-
Фосфор	0,046 ± 0,005	0,0009 ± 0,00008
Калий	0,3 ± 0,02	0,07 ± 0,006
Кальций	0,022 ± 0,002	0,113 ± 0,01

Вывявлено содержание в нем достаточного количества питательных веществ, необходимых для размножения дрожжей, и более высокое содержание фосфора и калия, витаминов группы В и биотина по сравнению с мелассой (СВ 10%).

Установлено, что дрожжи *S. cerevisiae* G хорошо растут на негидролизованном соке топинамбура с исходным значением pH (6,0) без внесения минеральных солей. Максимальное накопление биомассы в этих условиях составило 60 г/л (культивирование 24 ч с аэрацией при 30°C), что соответствует накоплению при выращивании на мелассной среде (pH 5,0, содержание $(NH_4)_2SO_4$ – 0,3%). Сок топинамбура имеет невысокое содержание азота, и внесение сульфата аммония повышает накопление биомассы (рисунок 8, А). Влияние pH на накопление биомассы дрожжей проводили с внесением $(NH_4)_2SO_4$ в концентрации, равной его содержанию в мелассной среде – 0,3% (рисунок 8, Б).

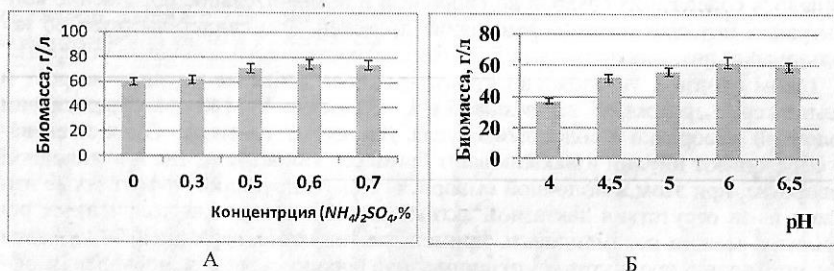


Рисунок 8 – Зависимость накопления биомассы дрожжей *S. cerevisiae* G при выращивании в соке топинамбура: А – от содержания $(NH_4)_2SO_4$ (pH – 6,0); Б – от pH сока, при 0,3% $(NH_4)_2SO_4$

Максимальное суточное накопление биомассы дрожжей (74,6 г/л) в соке топинамбура выявлено при концентрации $(NH_4)_2SO_4$, равной 0,6% и pH 6,0, что на 24% больше, чем при выращивании на мелассной среде (60 г/л) (рисунок 8, А).

Вывявлено, что дрожжи *S. cerevisiae* G после выращивания на негидролизованном соке топинамбура имели хорошие хлебопекарные свойства: подъемная сила – 38-40 мин, мальтазная активность – 32-34 мин. Дрожжи *S. cerevisiae* G, полученные выращиванием на соке топинамбура и на мелассной среде, имели

близкие показатели подъемной силы и мальтазной активности. Это свидетельствует о перспективности использования сока топинамбура в производстве хлебопекарных дрожжей и получения экологически чистой дрожжевой биомассы как сырья для биологически активных веществ.

С целью комплексного использования клубней топинамбура жом топинамбура после отделения сока высушен и определен его химический состав. Показано высокое содержание пищевых волокон – инулина (46,6%), пектина (14,35%), клетчатки (4,6%), обладающих пребиотическими свойствами, что позволяет рекомендовать его для использования в пищевой промышленности при получении функциональных продуктов питания.

Технология дрожже-сывороточного концентрата биомодификацией молочной сыворотки дрожжами *K. marxianus* Y-1148

Значительные объемы и высокая пищевая ценность неиспользованной молочной сыворотки в России обуславливают целесообразность ее полного сбора и рационального использования с применением биотехнологических методов.

Проведены исследования по биомодификации молочной сыворотки дрожжами штамма *K. marxianus* Y-1148. Эти дрожжи имеют фермент β-галактозидазу и способны использовать лактозу в качестве источника углерода, обладают высокой продуктивностью и разрешены к использованию в пищевой промышленности (СанПиН 2.3.2.1078-01).

Ферментацию проводили на неосветленной творожной сыворотке с аэрацией. Определены оптимальные условия культивирования дрожжей *K. marxianus* Y-1148 в условиях периодического культивирования: pH 5,5; время культивирования – 24 часа; температура – 30-32°C, оптимальное количество инокулята – 3%. Биомодификацией молочной сыворотки получен дрожже-сывороточный концентрат (ДСК), химический состав которого представлен в таблице 5.

Таблица 5 – Химический состав ДСК, %

Показатель	Цельное молоко	Молочная сыворотка	ДСК
Сухое вещество	12,5	5,0	7,8
Азот	0,56	0,17	0,43
Сырой протеин	3,5	1,08	2,75
Жир	3,7	0,094	2,73
Сахара	4,85	4,8	0,126
БЭВ	5,0	4,3	4,8
Кальций	0,13	0,04	0,048
Фосфор	0,12	0,05	0,039

ДСК содержит сухих веществ в 1,6 раза больше, чем в исходной сыворотке, белка больше в 2,7 раза, жира – в 30 раз. Определен аминокислотный состав ДСК и контрольного образца, содержащего денатурированные белки сыворотки (на анализаторе аминокислот Т339) (таблица 6).

Ферментация значительно улучшила аминокислотный состав сыворотки, возросло содержание лизина в 2 раза, лейцина – в 5 раз, фенилаланина – в 3,5 раза. Количество серосодержащих аминокислот метионина и цистина в продукте биомодификации почти в 3 раза выше, чем в сыворотке. Общее содержание аминокислот в ДСК близко к его уровню в белке молока и превышает в 2,8 раза эту ве-

8
не жал
Амин
валли
метионин
лизин
треонин
3,5 – фенилаланин
метионин
триптофан
лизин

личину в контроле. Белок ДСК отличается от белка молока повышенным содержанием незаменимых аминокислот: лейцина – в 1,5 раза, суммы метионина и цистина – в 1,5 раза, изолейцина – на 27%, фенилаланина – на 18%, гистидина больше в 3,3 раза, тирозина – в 2 раза.

Таблица 6 – Аминокислотный состав ДСК и молочного сырья (мг/100 г продукта)

Аминокислота	Молоко	Белок сыворотки	ДСК
Аспарагиновая к-та	193	52	120
Треонин	151	42	112
Серин	133	34	128
Глутаминовая к-та	464	270	409
Пролин	190	100	141
Глицин	136	45	118
Аланин	60	18	111
Валин	180	108	149
Метионин+цистин	120	48	143
Изолейцин	194	48	120
Лейцин	282	76	378
Тирозин	104	40	207
Фенилаланин	112	38	132
Гистидин	41	42	137
Лизин	273	138	242
Аргинин	78	30	69
Общая сумма а/к	2710	1100	2820
Сумма незаменимых а/к	1416	538	1483
% незаменимых а/к	52,25	48,9	52,6

Определение аминокислотного сора показало, что полученный ДСК не имеет аминокислот, лимитирующих биологическую ценность. Биомасса дрожжей составляет 50% от массы дрожже-сывороточного осадка, что определяет высокую биологическую ценность ДСК.

Исследовано влияние сока топинамбура на выход дрожже-белковой массы при биомодификации молочной сыворотки *K. marxianus* Y-1148 и установлен его стимулирующий эффект. Максимальный стимулирующий эффект (2,8 раза) выявлен при содержании в молочной сыворотке 15% сока топинамбура и продолжительности культивирования 24 часа (рисунок 9).

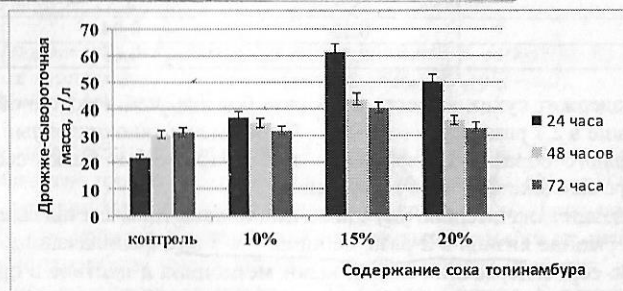


Рисунок 9 – Зависимость дрожже-сывороточной массы от концентрации сока топинамбура и времени культивирования *K. marxianus* Y-1148

Применение сока топинамбура в процессе биомодификации молочной сыворотки дрожжами *K. marxianus* Y-1148 позволяет значительно повысить выход ДСК и его биологическую ценность за счет содержания инулина и витаминно-минерального комплекса топинамбура.

В результате проведенных исследований разработана технология ДСК проведением биомодификации молочной сыворотки. Полученный продукт по органолептическим показателям напоминает молоко, по сбалансированности незаменимых аминокислот близок шкале «идеального белка», по содержанию белка – обезжиренному молоку. Белок ДСК превосходит белок молока по содержанию лейцина, метионина, цистина, тирозина и гистидина. Результаты исследований позволяют рекомендовать ДСК в производстве молочных продуктов.

Изучение антиоксидантных свойств экстрактов листьев амаранта

Перспективным растительным сырьем для производства функциональных продуктов питания и биологически активных добавок с антиоксидантными свойствами является амарант (*Amaranthus L.*). Из зеленой массы амаранта наибольшей биологической ценностью и содержанием антиоксидантных веществ обладают листья, они представляют интерес для получения биологически активных добавок с антиоксидантными свойствами.

На основании изучения химического состава листьев амаранта (*A. paniculatus*) выявлено, что листья амаранта в фазе цветения имеют наиболее высокое содержание антиоксидантных веществ и являются предпочтительным сырьем для производства функциональных продуктов.

Определено влияние способов заготовки сырья и методов экстракции на АОА экстрактов. Установлено, что экстракты, полученные методом настоев по ГФ, имели АОА выше, чем экстракты, полученные по ГОСТ 1938-85: из свежих листьев – на 27%, замороженных – на 28%, сушеных – на 9%. Максимальное значение АОА имел экстракт из свежих листьев (таблица 7).

Таблица 7 – АОА экстрактов листьев амаранта (мг/л, стандарт – кверцетин)

Вид сырья	АОА экстрактов (ГОСТ)	АОА экстрактов (ГФ)
Свежие листья	383,2±6,2	525,9±12,3
Замороженные листья	323,2±4,5	446,5±8,4
Сушеные листья	219±5,0	241±5,8

Исследовано влияние продолжительного хранения (4°C, в течение 8 мес.) экстрактов листьев амаранта на их антиоксидантную активность (рисунок 10).

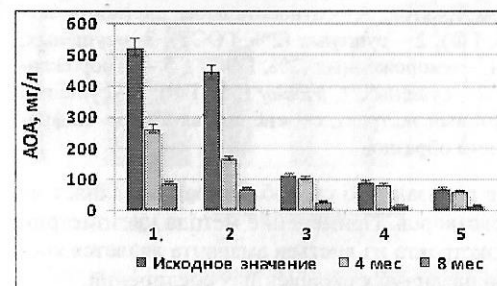


Рисунок 10 – Изменение антиоксидантной активности экстрактов амаранта при хранении (стандарт – кверцетин): 1 – свежие листья (цветение); 2 – сушеные листья (цветение); 3 – водно-спиртовой настой свежих листьев (цветение); 4 – свежие листья (бутонизация); 5 – замороженные листья (бутонизация)

В течение всего срока хранения максимальная антиоксидантная активность сохранялась у экстракта из свежих листьев, собранных в фазе цветения. Величина АОА водных настоев была выше АОА водно-спиртового экстракта, что свидетельствует о присутствии в листьях амаранта большей частью водорастворимых антиоксидантов.

Через 4 мес. хранения АОА экстрактов из свежих и сушеных листьев снижалась соответственно на 50 и 75%, при этом значения их АОА оставались высокими. Водно-спиртовые экстракты были более стабильны, через 4 мес. их АОА снизилась всего на 6,6 %. Выявлено, что экстракты, полученные из свежих и замороженных листьев, имели близкие значения АОА, и в процессе хранения динамика их снижения была одинаковой.

Таким образом, максимальную антиоксидантную активность имеют водные экстракты, полученные способом настоев из свежих листьев амаранта, заготовленных в фазе цветения. Хранение экстрактов при 4°C позволяет сохранить АОА в течение 4 мес. на высоком уровне.

Экстракты листьев амаранта, полученные разными методами и из различного сырья, отличались по цвету и интенсивности окраски благодаря содержанию окрашенных соединений, которые обладают антиоксидантными свойствами. С целью определения зависимости между окраской экстрактов амаранта и АОА были проведены исследования цветности образцов экстрактов амаранта методом цветометрии. Суть цветометрического метода заключается в компьютерной обработке оцифрованных изображений экстрактов с целью определения параметров цветности образцов и использования их в качестве аналитического сигнала. Цветометрические измерения экстрактов представлены на рисунке 11.



Рисунок 11 – Показатели цветности экстрактов. А – относительная цветность экстрактов из: 1 – сушеных листьев (2%, ГФ); 2 – сушеных (2%, ГОСТ); 3 – сушеных, 2%, нагреванием 1,5 часа при 50 °С; 4 – замороженных (2%, ГОСТ); 5 – замороженных (2%, ГФ); 6 – сушеных (5%, ГФ); 7 – сушеных *A. tricolor* (5%, ГФ); 8 – сушеных *A. tricolor* (2%, ГОСТ); 9 – водно-спиртовый экстракт, свежие листья 5%; Б – цифровое изображение сканирования цветности образцов

Анализ полученных результатов показал, что способ экстракции влияет на проявление компонент цветности растворов. Применение метода цветометрии позволяет сделать вывод, что цвет экстракта из листьев амаранта является косвенной характеристикой экстракции различных окрашенных соединений.

Показатели АОА исследуемых экстрактов были преобразованы в показатели относительной цветности (ОЦ), выраженной в системе *lrgb*, в которой цвет выражен в относительных единицах к сумме цветности. Максимальной АОА обладали экстракты, полученные из сушеных и замороженных листьев методом настоев по ГФ, который способствует экстракции термоустойчивых флавоноидных соединений. Цветность этих экстрактов характеризуется наиболее высоким значением красной компоненты.

В результате проведенных исследований выявлена корреляция между АОА и цветностью экстрактов амаранта, что подтверждается высокими коэффициентами регрессии по каждой цветовой компоненте. Данные по цветометрическим измерениям (ЦИ) и АОА исследуемых экстрактов были отфильтрованы в порядке уменьшения общей яркости образцов I. При определении визуальной неоднозначности цветности от значений АОА применен коэффициент корреляции Пирсона. Рассчитана корреляционная матрица и определены положительный коэффициент корреляции красной компоненты цвета r со значениями АОА ($C_{\text{корр}} = 0,43$) и слабо положительный – между красной и синей компонентами ($C_{\text{корр}} = 0,038$). На основании полученных результатов можно рекомендовать применение метода цветометрии для оценки АОА экстрактов из листьев амаранта.

Использование листовой массы амаранта в производстве функциональных напитков

Экстракты листьев амаранта, обладающие высокой антиоксидантной активностью, представляют интерес для производства функциональных напитков.

Для изучения биологической активности экстрактов листьев амаранта исследовали их влияние на дрожжи *S. cerevisiae* при сбраживании молочной сыворотки и пивного суслу. Установлено стимулирующее влияние экстракта амаранта (АОА – 276 мг/л, СВ – 1,0%, pH – 6,4) на размножение и физиологическую активность рас хлебопекарных и пивных дрожжей *S. cerevisiae*. При сбраживании молочной сыворотки, содержащей 4% сахарозы, дрожжами *S. cerevisiae* ZS максимальное накопление биомассы показано при содержании экстракта 1%, что на 13% выше контроля. При сбраживании охмеленного пивного суслу дрожжами *S. cerevisiae* W 34/70 при этой концентрации экстракта выход биомассы дрожжей был выше контроля на 19% (рисунок 12).

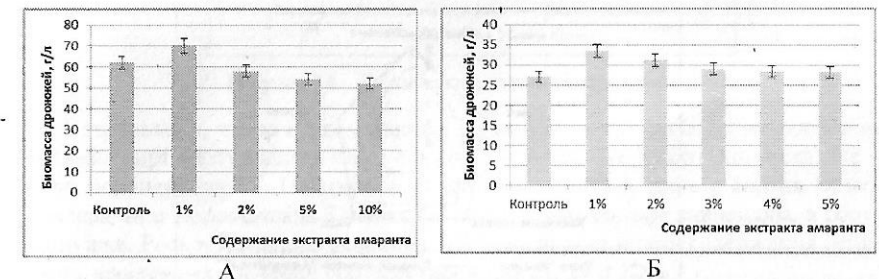


Рисунок 12 – Влияние экстракта амаранта на размножение дрожжей *S. cerevisiae* при сбраживании: А – молочной сыворотки; Б – пивного суслу

Проведены исследования по получению сыровоточного кваса сбраживанием молочной сыворотки с использованием водного экстракта листьев амаранта. Выявлено, что при содержании экстракта амаранта 1% (по массе сыворотки) напиток имел высокие органолептические показатели. Сбраживание сыворотки проводили культурой *S. cerevisiae* ZS в течение 14-16 часов при температуре 30°C согласно рецептуре (мас.%): экстракт амаранта – 1; сахароза – 4, дрожжевая закваска – 3. Полученный напиток имел освежающий кисло-сладкий вкус, появился аромат и привкус свежеспеченного хлеба, специфический сыровоточный привкус отсутствовал. Содержание антиоксидантных веществ амаранта и витаминно-минеральный комплекс сыворотки придают напитку профилактические свойства.

Разработан пакет технической документации на сыровоточный напиток с экстрактом амаранта (ТУ, ТИ, РЦ) №9232-016-00492894-2015. Новизна технического решения подтверждена получением патента № 20101380240.

Современной тенденцией пивоваренного производства является расширение ассортимента путем выпуска напитков с использованием нетрадиционного растительного сырья с целью формирования новых органолептических, физиологических и физико-химических свойств. Была разработана технология производства пивного напитка и рецептура с использованием листьев амаранта. Проведены производственные испытания в условиях ООО «ЧП Артель» по выпуску опытной партии пивного напитка «Амарантный». Водный экстракт сушеных листьев амаранта, взятых в количестве 0,1% от объема сбраживаемого сусле, вносили на стадии охмеления. Сбраживание охмеленного сусле с экстрактом листьев амаранта проводили дрожжами *S. cerevisiae* расы W 34/70. Установлено положительное влияние экстракта амаранта на физиологическое состояние дрожжей: они лучше флокулировали, в осадочных дрожжах по сравнению с контролем упитанность дрожжевых клеток была на 10% выше (соответственно 92 и 82%), а процент мертвых клеток ниже (соответственно 2,0 и 4,5%).

Основные физико-химические показатели пивного напитка «Амарантный» и пива «Ямское» (контроль) были почти идентичны и соответствовали нормированным значениям. Пивной напиток отличался по органолептическим показателям от контрольного сорта и имел большую высоту пены (соответственно 45 и 30 мм), более высокую пеностойкость (соответственно 4 мин 20 сек и 3 мин 40 сек) (рисунок 13).

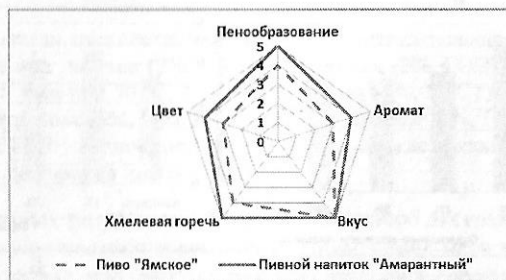


Рисунок 13 – Органолептический профиль качества напитков

Пивной напиток «Амарантный» отличался более гармоничным вкусом с мягкой хмелевой горечью, чистым свежим запахом, появился слегка острый аромат лайма, гармонично сочетающийся с солодовым вкусом, цвет с выраженным золотистым оттенком.

Определено содержание рутина в пивном напитке (2,4 мг%). Исходя из рекомендуемой суточной нормы потребления рутина для взрослого человека, 200 мл пивного напитка «Амарантный» позволит обеспечить организм человека на 16% рутином. Применение в пивоваренном производстве листьев амаранта позволит расширить ассортимент пивных напитков с улучшенными вкусовыми показателями.

Была разработана технологическая инструкция по производству пивного напитка «Амарантный» ГОСТ Р 55292-2012 ПА-ТИ №03-12-2014 и проведена апробация в условиях пивоваренных производств «ЧП Артель» и «ООО Райт» г. Воронеж.

Изучение химического состава и антипитательных свойств сортов сои в условиях ЦЧР

Особое место в решении проблемы дефицита белка занимают соя и продукты ее переработки благодаря высокому содержанию сбалансированного белка, жира и биологически активных веществ с выраженными лечебно-профилактическими свойствами. Содержание белка и ингибиторов протеаз в семенах сои колеблется в широких пределах и зависит от биологических особенностей сорта, условий выращивания и природно-климатических зон выращивания (Петибская В.С., 2012). Был изучен химический состав семян 5 сортов сои урожая 2010-2012 гг., районированных для ЦЧР (рисунок 14).

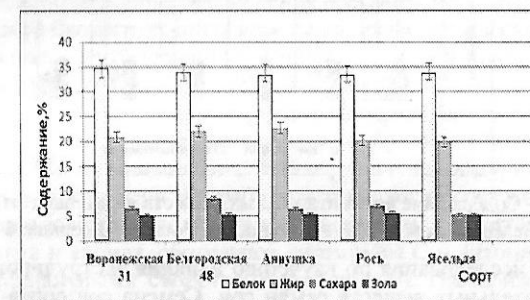


Рисунок 14 – Химический состав семян сортов сои

Установлено, что за исследованный период 1-е место по содержанию белка занимал сорт Белгородская 48, 2-е – сорт Ясельда, 3-е – сорт Аннушка, 4-е – сорт Воронежская 31. Показатели содержания белка и жира в сортах Белгородская 48 и Воронежская 31 соответствовали заявленным значениям, а сорта Аннушка, Рось и Ясельда в условиях ЦЧР имели показатели содержания белка ниже заявленных значений соответственно на 21, 19 и 12%.

За исследованный период средняя урожайность сортов была 12,1 ц /га. Наиболее урожайными были сорта Белгородская 48 и Воронежская 31, наименее урожайный – сорт Ясельда (9,7 ц/га). Рассчитан сбор белка и жира. Средний сбор белка за исследованный период для исследованных сортов составил 408 кг/га. Наиболее высокий сбор белка имели сорта Белгородская 48 (520 кг/га) и Воронежская 31 (411 кг/га), наименьший – сорт Ясельда (329 кг/га).

Проведены исследования по выявлению генетического полиморфизма исследованных сортов сои с помощью метода *RAPD*-ПЦР. Получены профили, которые не различались числом и размером ПЦР-фрагментов для всех исследованных сортов и генетические отличия не были обнаружены. Обнаруженная высокая степень сходства *RAPD*-профилей сортов сои Аннушка, Воронежская 31, Рось, Ясельда, Белгородская 48 свидетельствует об их близком родстве.

Исследования по определению в семенах сортов сои активности антипитательных веществ показали, что все сорта имели низкие активности ингибиторов протеаз, со средними значениями ТИА (трипсинингибирующая активность) – 16,4 мг/г, ХИА (химотрипсинингибирующая активность) – 13,05 мг/г, и высокую гемагглютинирующую активность со средним значением 57,7 ГАЕ/мг. Уреазная активность сортов была в пределах нормы (2,14-2,62 ед. рН) (рисунок 15). Наиболее низкие значения ТИА имел сорт Рось (15,72 мг/г). Сорта Белгородская 48 и Воронежская 31 по ТИА отличались незначительно (соответственно 16,45 и 17,10 мг/г).

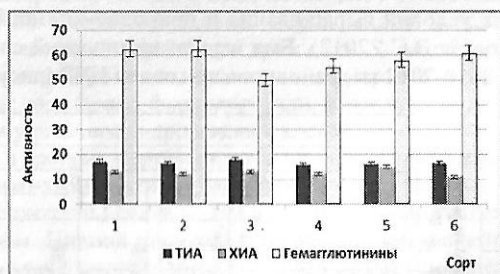


Рисунок 15 – Содержание антипитательных веществ в семенах сои сортов: 1 – Воронежская 31; 2 – Белгородская 48; 3 – Аннушка; 4 – Рось; 5 – Ясельда; 6 – Воронежская 31

Проведены исследования по изучению влияния экструдирования на активность антипитательных веществ семян сои. Семена сои сорта Воронежская 6 подвергали обработке на экструдере УММП (ОАО «Луч», г. Белгород) (размер фильеры – 3 мм). Выбор рациональных режимов экструдирования осуществляли по снижению ТИА семян сои.

Наиболее значительное снижение ТИА и ХИА наблюдалось при 130°C, и составляло соответственно 3,8 и 2,0% от исходных значений (таблица 8). Учитывая инактивирующее действие высоких температур на дефицитные серосодержащие аминокислоты и лизин, рекомендуемой температурой экструдирования является 110°C, при которой сохраняется биологическая активность сои,

а ТИА имеет значение 1,83 мг/г, допустимое для использования сои на пищевые и кормовые цели.

Таблица 8 – Влияние экструзии на активность антипитательных веществ сои

Режим	ТИА, мг/г	ХИА, мг/г	Лектины, АЕ/мг	Уреаза, ед. рН
Без обработки	16,35	10,88	60,98	1,15
110°C	1,83	2,78	0	0,03
120°C	1,26	2,28	0	0,03
130°C	0,62	0,215	0	0,02

Исследована активность ингибиторов протеаз в продуктах переработки семян сои (Белгородская 48) – соевом молоке и окаре. Для соевого молока показаны значения: ТИА – 0,22 мг/г, ХИА – 0,21 мг/г, что составляет соответственно 1,4 и 1,7% от содержания в семенах. Для окары они были соответственно 0,31 и 0,32 мг/г, и 1,6 и 2,6%. Гемагглютинирующая активность в соевом молоке и окаре отсутствовала.

Автоклавирование соевого молока (0,1 МПа, 20 мин) полностью не инактивировало ингибиторы протеаз, их активность сохранялась (ТИА – 0,106 мг/г, ХИА – 0,061 мг/г). Таким образом, соевое молоко и окара, использованные для получения разработанных продуктов, по содержанию ингибиторов протеаз соответствуют требованиям ТР ТС 021/2011 (не более 5 мг/г).

Разработка функциональных пищевых продуктов на основе соевого молока и грибов вешенки

Соевое молоко является одним из основных продуктов, получаемых из сои. Оно может быть использовано для получения обогащенных и ферментированных напитков с высокой биологической ценностью и профилактическим действием.

Соевое молоко характеризуется низким содержанием витамина С (7 мг/100 г). Выявлено, что внесение 15 мг% аскорбиновой кислоты в соевое молоко стимулирует развитие молочнокислых бактерий *Str. thermophilus* и *Lbc. bulgaricum* в 3,3 раза. Это определяет целесообразность получения соевых напитков, обогащенных витамином С путем включения натуральных ягод, богатых аскорбиновой кислотой. Разработана технология соевого напитка сквашенного с использованием ягод черной смородины, которые придают ему гармоничный вкус и аромат, обогащают витамином С и антоцианами, обладающими антиоксидантными свойствами (таблица 9). Пастеризованное соевое молоко сквашивали закваской, содержащей *Str. thermophilus* и *Lbc. bulgaricum*, ягоды смородины (замороженные) вносили после сквашивания (40-41°C, 4-6 ч, до 80-90°Т) в количестве 5 мас%. В полученном напитке содержание витамина С обеспечивает 40% рекомендуемой величины суточного потребления, антоцианы смородины – более 50% суточной пормы (таблица 9), концентрация молочнокислых бактерий – $1,5 \times 10^9$ КОЕ/см³.

На основе соевого молока получена ряженка с использованием в качестве заквасок разных штаммов *Str. thermophilus* («Лактина»). Выявлена зависимость наличия привкуса горечи соевой ряженки от штамма *Str. thermophilus* закваски, что свидетельствует о целесообразности селекции заквасочных молочно-

кислых бактерий для получения аналогов кисломолочных продуктов на основе соевого молока.

Разработан функциональный соевый напиток, обогащенный фруктозой (4,95%), которая вносилась с глюкозо-фруктозным сиропом (ГФС), полученным из топинамбура. ГФС служит подсластителем и улучшает вкус соевого молока. Полученный напиток имеет приятный вкус, абрикосовый аромат благодаря содержанию ароматизатора «Абрикосовый» (0,005%), низкую калорийность (51 ккал). Фруктоза определяет функциональную направленность напитка, она оказывает положительное воздействие при повышенных физических и интеллектуальных нагрузках, корректирует нарушения углеводного обмена. Содержание фруктозы в напитке обеспечивает 29% рекомендуемой величины ее суточного потребления.

Разработаны проекты технической документации (ТУ, ТИ, РЦ): № 9146-017-00492894-2015 «Напиток соевый сквашенный» и № 9146-018-00492894-2015 «Соевый напиток десертный».

С целью комплексной переработки семян сои при производстве соевого молока проведены исследования по использованию окары для получения синбиотической добавки путем твердофазного культивирования пробиотического штамма *Bacillus cereus* IP5832. Учитывая высокое содержание питательных веществ в окаре, в нее не вносили дополнительных химических компонентов. Определены оптимальные условия культивирования пробиотика (40°C; pH – 6,5; 24 ч) и химический состав высушенного продукта биомодификации (% от СВ): СВ – 89 ± 1,2; белок – 33,08 ± 1,7; сахара – 1,75 ± 0,08; жир – 21,54 ± 1,1; клетчатка – 6,95 ± 0,3; минеральные вещества – 4,8 ± 0,24; кальций – 0,8 ± 0,04; фосфор – 0,99 ± 0,05. Благодаря пребиотическим веществам окары (соевые пептиды, олигосахариды) и содержанию спор пробиотика *Bacillus cereus* IP5832 ($2,25 \times 10^7 \pm 0,12 \times 10^7$ КОЕ/г), полученная биодобавка обладает синбиотическим действием. Установлена стабильность биодобавки: при хранении в течение года при 18–23°C концентрация спор изменялась незначительно.

В настоящее время возрос интерес к грибам вешенка обыкновенная (*Pleurotus ostreatus*) как функциональному пищевому и лекарственному продукту в связи с высоким содержанием полноценного белка, минеральных веществ, пищевых волокон и фармакологически активных соединений (полисахариды, β-глюканы, протеогликины, лектины и другие), которые оказывают на организм противовоспалительное, иммуностимулирующее, противораковое, антисклеротическое, гепатопротекторное, антиоксидантное воздействия. Грибы вешенка хорошо культивируются в искусственных условиях, являются экологически безопасным, доступным сырьем и важным резервом расширения ассортимента пищевых продуктов с лечебно-профилактическими свойствами.

Несмотря на широкий ассортимент соевых продуктов питания, грибы довольно редко входят в их состав. Результаты изучения химического и аминокислотного состава плодовых тел вешенки показали целесообразность комбинирования вешенки и соевого молока для получения функциональных продуктов питания. Определен химический состав плодовых тел вешенки, выращенных на подсолнечной лузге, (% от СВ): белок – 24,76 ± 1,8; жир – 2,25 ± 0,16;

сахара – 0,7 ± 0,03; клетчатка – 8,06 ± 0,3; зола – 5,9 ± 0,24, калий – 0,75 ± 0,23; фосфор – 0,42 ± 0,02; кальций – 0,3 ± 0,01. Аминокислотный состав белков вешенки определяли на аминокислотном анализаторе «Breeze».

По содержанию незаменимых аминокислот (41,7%) белок вешенки соответствует требованиям ФАО со значительным содержанием треонина, валина, гистидина, лимитирующими являются серосодержащие аминокислоты метионин и цистин. В белке соевого молока содержится больше, чем в белке вешенки, лизина – в 2 раза, тирозина – 3,8 раза, изолейцина – 1,5 раза, лейцина – 1,8 раза, фенилаланина – 1,6 раза. Содержание метионина и цистина в соевом молоке в 10 раз выше, чем в вешенке. По аминокислотному составу белки вешенки удачно сочетаются с белками соевого молока и компенсируют дефицит серосодержащих аминокислот вешенки. Комбинирование соевого молока и грибов вешенка позволяет получать продукты с высокой пищевой ценностью, со сбалансированным аминокислотным составом, содержащие биологически активные вещества сои и вешенки, обладающие профилактическими свойствами.

Разработаны рецептуры и технологии соево-грибных продуктов, основными компонентами которых являются грибы вешенка и соевое молоко. Состав продукта «Суфле грибное» (мас.%) : соевое молоко – 56; грибы вешенка – 35; масло растительное – 5; кукурузный крахмал – 2,16; камедь ксантановая – 0,35; соль – 0,6; сахар – 0,8; специи (кориандр, базилик, куркума). Соево-грибной соус готовили в соответствии с рецептурой (мас.%) : соевое молоко – 66,3; вешенка – 20; томатный соус – 8,9; масло растительное – 1,9; кукурузный крахмал – 0,8; камедь ксантановая – 0,32; соль – 0,4; сахар – 1,2; специи (петрушка, базилик).

Разработанные соево-грибные продукты характеризуются гармоничным сочетанием ингредиентов по вкусу и консистенции, высокой пищевой и биологической ценностью, сбалансированным аминокислотным составом (таблица 9). Их производство позволит расширить ассортимент экологически безопасных низкокалорийных функциональных продуктов с применением натуральных компонентов растительного происхождения.

Новизна технического решения разработанных соево-грибных продуктов подтверждена получением патента № 2314715.

Перспективным сырьем для получения функциональных продуктов питания является перепелиное мясо, которое характеризуется высоким содержанием полноценного белка и низким содержанием жира (соответственно 21,6 и 4,6%). Употребление 100 г перепелиного мяса удовлетворяет суточную потребность в белке на 36%, потребность по всем незаменимым аминокислотам – более чем на 60%, в цинке – на 23%, селене – на 32%. Комбинирование грибов вешенка и перепелиного мяса позволяет получать продукты, обогащенные белком, незаменимыми аминокислотами, макро- и микроэлементами. Высокое содержание метионина и цистина (25,4 мг/г) в мясе перепелов составляет 74% от рекомендуемой величины суточного потребления и компенсирует их дефицит в вешенке.

С использованием грибов вешенка и перепелиного мяса разработаны технология и рецептура функционального продукта, содержащего 40% плодовых тел вешенки и 39,2% мяса перепелов (целые тушки). Продукт отличается высоким содержанием белка, сбалансированным аминокислотным составом, высоким содержанием макро- и микроэлементов, оригинальным гармоничным вкусом.

Новизна технического решения продукта, полученного на основе грибов вешенки и перепелиного мяса, подтверждена получением патента №2367158.

Биологическая ценность разработанных продуктов и содержание функциональных ингредиентов в зависимости от рекомендуемой величины суточного потребления (МР 2.3.1.1915-04) приведены в таблице 9.

Таблица 9 – Содержание функциональных ингредиентов в продуктах

Название продукта	Функциональный ингредиент, % от рекомендуемой величины с. п.											
	B2	B6	PP	C	D	Fe	P	Cu	ПВ	ИФ	АЦ	ЭЦ ккал/кДж
Соевый напиток десертный	21	23	1,5	15	23	5,7	-	23	3,8	38	-	51/214
Соевый напиток сквашенный	21	23	1,5	43	23	5,7	-	23	3,8	38	>50	36/151
Суфле грибное	32	22	21	11	23	13,6	13	38	15	28	-	83/348
Соево-грибной соус	11	9,2	12,3	5,2	9,6	4,2	3	14	4,1	13	-	56/235
Вешенка с перепелиным мясом	19	13,2	27	2,2	6,3	21	22	23	3,5	-	-	88/369

ЭЦ – энергетическая ценность; с. п. – суточное потребление; ПВ – пищевые волокна; ИФ – изофлавоны (генистин); АЦ – антоцианы; витамин D = D2 (эргокальциферол) + D3 (холекальциферол).

Таким образом, в результате проведенных исследований разработаны технологии продуктов для рационов здорового питания, которые содержат физиологически функциональные ингредиенты в количестве более 15% от суточной потребности, что соответствует нормативным документам (ГОСТ Р 52349-2005). Разработанные продукты отличаются высокой пищевой и биологической ценностью, сбалансированностью аминокислотного состава, низкой калорийностью и экологической безопасностью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании теоретических и экспериментальных исследований разработаны рецептуры и технологии функциональных продуктов питания на основе нативного и биомодифицированного сырья, получены продуктивные штаммы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* с высокой ферментативной активностью, позволяющие расширить спектр субстратов и повысить выход биомассы. Потребление разработанных продуктов будет способствовать снижению алиментарно-зависимых заболеваний и расширению ассортимента функциональных продуктов питания, что имеет важное социально-экономическое значение.

1. Получен штамм дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* ZS, обладающий высоким выходом биомассы и улучшенными хлебопекарными свойствами: подъемная сила – 40-42 мин, мальтазная активность – 40 мин, зимазная активность – 36 мин. Использование штамма *S. cerevisiae* ZS в производстве хлебопекарных

дрожжей позволило увеличить выработку дрожжей с хорошими хлебопекарными свойствами на 18%.

Получен штамм дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* G, отличающийся способностью использовать инулин в качестве единственного источника углерода. Научно обоснована и экспериментально доказана эффективность применения штамма *Saccharomyces cerevisiae* G для получения биомассы на соке топинамбура без предварительного гидролиза инулина, что позволяет объединить процессы его осахаривания и ферментации.

2. Определена экзон-интронная структура генов, кодирующих ферменты инулиназу и β-фруктофуранозидазу дрожжей *S. cerevisiae* G и *K. marxianus* Y-1148, и осуществлен подбор праймеров для проведения количественной ПЦР. Установлено различие продуктов амплификации исследуемых дрожжей при метаболизме инулина, глюкозы, сахарозы и наличие генов, ответственных за синтез ферментов с инулиназной активностью. Выявлена зависимость показателя экспрессии генов β-фруктозидаз дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* G и *Kluyveromyces marxianus* Y-1148 от источника углерода. Для *Saccharomyces cerevisiae* G синтез фермента с инулиназной активностью конститутивный и не регулируется катаболитной репрессией, для *Kluyveromyces marxianus* Y-1148 – индуцибельный и подвержен катаболитной репрессии.

3. Установлено стимулирующее действие инулина на размножение и накопление биомассы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* G и *Kluyveromyces marxianus* Y-1148 при выращивании в молочной сыворотке и в сусле, что позволило исключить применение сахарозы как источника углерода и интенсифицировать брожение при получении функциональных продуктов, содержащих инулин.

Разработан способ выращивания хлебопекарных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* G на питательной среде из сока топинамбура без проведения гидролиза инулина, позволяющий получить накопление биомассы на 24% выше, чем при выращивании дрожжей на питательной среде из мелассы.

4. Разработана технология дрожже-сывороточного концентрата биомодификацией молочной сыворотки дрожжами *Kluyveromyces marxianus* Y-1148, по органолептическим свойствам напоминающего молоко. Содержание белка в продукте (2,8%) соответствует обезжиренному молоку, по аминокислотному составу имеет по сравнению с белком молока повышенное содержание аминокислот лейцина, тирозина, суммы метионина и цистина – соответственно в 1,5; 2,0 и 1,5 раза. Это позволяет рекомендовать ДСК к применению в производстве молочных продуктов.

5. Определены оптимальные условия получения экстрактов листьев амаранта *A. paniculatus* с высокой антиоксидантной активностью, они могут быть использованы как источник антиоксидантных соединений. Установлено стимулирующее действие водных экстрактов амаранта на накопление биомассы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в молочной сыворотке и пивном сусле соответственно на 13 и 19%.

6. Исследованием экстрактов листьев амаранта *A. paniculatus* методом компьютерной цветометрии определен коэффициент парной линейной корреляции между красной компонентой цвета г и значениями АОА ($C_{корр} = 0,43$) и между

красной компонентой и синей ($S_{\text{конт}} = 0,038$). Это позволяет рекомендовать применение метода цветометрии для оценки АОО экстрактов из листьев амаранта.

7. Теоретически обоснована и практически реализована технология функциональных напитков с использованием экстракта листьев амаранта (*A. paniculatus*): «Сывороточный напиток с экстрактом амаранта» и пивной напиток «Амарантный», отличающиеся антиоксидантными и высокими органолептическими свойствами.

8. Установлено, что в условиях ЦЧР районированные сорта сои Воронежская 31 и Белгородская 48 имеют более высокие показатели белковой продуктивности и сбора жира по сравнению с сортами Аннушка, Рось, Ясельда. Эти сорта сои характеризуются низкими значениями активности ингибиторов протеаз: ТИА – соответственно 17,10 и 15,72 мг/г, ХИА – соответственно 13,08 и 12,17 мг/г и рекомендуются для получения функциональных продуктов.

9. Разработаны рецептуры и технологии функциональных соевых напитков – комбинированного десертного напитка и соевого сквашенного напитка, отличающихся высокой биологической ценностью и низкой калорийностью.

10. Разработана технология синбиотической добавки биомодификацией соевой овары с высокой пищевой ценностью и стабильностью при хранении.

11. Разработаны рецептуры и технологии функциональных продуктов питания с использованием грибов вешенка: «Суфле грибное», «Соево-грибной соус», «Вешенка с перепелиным мясом», отличающиеся высоким содержанием биологически активных веществ и сбалансированные по аминокислотному составу, производство которых позволит расширить ассортимент экологически безопасных функциональных продуктов низкой калорийности с профилактическими свойствами.

12. Разработан проект технической документации на производство функциональных продуктов питания: «Напиток сывороточный с экстрактом амаранта» (ТУ, ТИ, 9232-016-00492894-2015); «Напиток соевый сквашенный» (ТУ, ТИ 9146-017-00492894-2015); «Напиток соевый десертный» (ТУ, ТИ 9146-018-00492894-2015), технологическая инструкция по производству пивного напитка «Амарантный» (ГОСТ 55292-2012 ПА-ТИ №03-12-2014).

Проведена апробация разработанной технологии пивного напитка «Амарантный» в производственных условиях пивоваренных предприятий ООО «Райт» и ООО «ЧП Артель» г. Воронежа.

СПИСОК НАИБОЛЕЕ ЗНАЧИМЫХ РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО МАТЕРИАЛАМ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, рекомендованных ВАК РФ

1. Соколенко, Г.Г. Микробиологические особенности кисломолочных продуктов из сои / Г.Г. Соколенко, К.К. Полянский // Молочная промышленность. – 2008. – №7. – С. 42-43.
2. Соколенко, Г.Г. Дрожже-сывороточный концентрат / Г.Г. Соколенко, К.К. Полянский, Д.А. Гуторов // Молочная промышленность. – 2008. – №12. – С. 69-70.

3. Соколенко, Г.Г. Антибиотическая активность функциональных кисломолочных напитков / Г.Г. Соколенко // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2009. – №10. – С. 33-34.

4. Котарев, В.И. Консервированный продукт из мяса перепелов с овощами / В.И. Котарев, И.Н. Бухтоярова, Г.Г. Соколенко, Н.А. Каширина // Птица и птицепродукты. – 2009. – №2. – С. 64-65.

5. Соколенко, Г.Г. Сывороточный квас с экстрактом амаранта / Г.Г. Соколенко, Т.В. Вострикова, К.К. Полянский // Молочная промышленность. – 2010. – №7. – С.46-47.

6. Котарев, В.И. Функциональный продукт из мяса перепелов с грибами / В.И. Котарев, И.Н. Бухтоярова, Г.Г. Соколенко // Пищевая промышленность. – 2010. – №3. – С.16-17.

7. Соколенко, Г.Г. Применение инулинсодержащей биодобавки при сбраживании молочной сыворотки и пивного сула дрожжами *Saccharomyces cerevisiae* и *Kluyveromyces marxianus* / Г.Г. Соколенко, С.А. Яровой, К.К. Полянский // Биотехнология. – 2010. – №6. – С. 42-46.

8. Яровой, С.А. Комплексное влияние инулина и молочной сыворотки на развитие дрожжей рода *Saccharomyces* / С.А. Яровой, Г.Г. Соколенко, В.В. Манешин, К.К. Полянский // Вестник Воронежского государственного аграрного университета. – 2010. – № 4 (27). – С. 52-55.

9. Рудаков, О.Б. Исследование продуктов комплексной переработки топинамбура методом гелпроникающей и тонкослойной хроматографии / О.Б. Рудаков, С.А. Яровой, Г.Г. Соколенко, К.К. Полянский // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2010. – Т.10, вып. 6. – С. 916-922.

10. Соколенко, Г.Г. К вопросу о применении искусственных заменителей молочного жира / Г.Г. Соколенко, С.В. Чистяков, Н.В. Зяблова // Вопросы питания. – 2012. – № 6. – С. 80-83.

11. Баранова, Т.В. Исследование антиоксидантной активности амаранта в условиях Центрально-Черноземного региона / Т.В. Баранова, Г.Г. Соколенко // Вестник БФУ им Капта. – 2012. – Вып. №7. – С.24-27.

12. Соколенко, Г.Г. Инулиназоактивный штамм *Saccharomyces cerevisiae* G / Г.Г. Соколенко, Н.А. Карпеченко // Биотехнология. – 2013. – №6. – С.18-22.

13. Соколенко, Г.Г. Биотехнология получения кормовой добавки синбиотического действия / Г.Г. Соколенко, И.Н. Пономарева // Вестник Воронежского государственного аграрного университета. – 2013. – №3 (38) – С. 72-76.

14. Соколенко, Г.Г. Выращивание хлебопекарных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* на соке топинамбура для получения биомассы / Г.Г. Соколенко, И.Н. Пономарева // Вестник Воронежского государственного аграрного университета. – 2014. – №3(42) – С.103-108.

15. Соколенко, Г.Г. Изучение экспрессии гена инулиназы дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и *Kluyveromyces marxianus* / Г.Г. Соколенко, Н.А. Карпеченко // Микробиология. – 2015. – Том 84. – № 1. – С. 1-5.