

тодика по подготовке препаратов для изучения степени адгезии.

Результаты микроскопических исследований показали, что отобранные штаммы обладают ярко выраженным колонизирующим эффектом. Определяли средний индекс адгезии микроорганизмов (ИАМ). Высоко адгезивные свойства бифидобактерий (ИАМ > 4) подтверждает тот факт, что на одну эритроцитарную клетку фиксируется до 20-30 бактериальных клеток, не менее выраженными адгезивными свойствами обладают и лактобациллы: *Lb. acidophilus* (ИАМ = 15-20), *Lb. casei* (ИАМ = 12-15), *Lb. rhamnosus* (ИАМ = 8-10). Наличие общей высокой адгезивности у выбранных штаммов лактобацилл и бифидобактерий в целом подтверждает способность пробиотических культур к усилению колонизации кишечника и повышению естественной резистентности организма человека.

Проведенные исследования позволили сформировать консорциум заквасочных культур для производства обогащенного кисломолочного продукта.

#### **ПОДБОР ЗАКВАСОЧНЫХ КУЛЬТУР ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА КОРМОВ ДЛЯ ЖИВОТНЫХ**

Бурыкина И.М.

*ГНУ СЗНИИМЛПХ Россельхозакадемии  
Вологда, Россия*

Известно, что плохая усвояемость сыворотки организмом животного обусловлена низким содержанием азотистых веществ по сравнению с основным энергетическим компонентом сыворотки – лактозой. Однако ее избыточное содержание снижает переваримость и эффективность использования питательных веществ рациона в целом.

Проблему использования остаточной лактозы молочной сыворотки было решено достичь путем подбора штаммов молочнокислых бактерий с повышенной активностью фермента β-галактозидазы, расщепляющего лактозу молока до легкоусвояемых глюкозы и галактозы. Проведенные сравнительные исследования β-галактозидазной активности различных штаммов *Str. thermophilus* свидетельствуют, что активность β-галактозидазы у большинства штаммов составляет 13320 - 15375 ед./мг белка. В то время как у штамма *Str. thermophilus* CM 1351 она соответствует 30750 ед./мг белка, что превышает средний уровень в 2-3 раза. Кроме того, данный штамм способен накапливать внеклеточную β-галактозидазу в культуральной жидкости.

Из доминантной микрофлоры рубца коров были выделены штаммы *Clostridium cellobiоparum* и *Ruminococcus flavefaciens*. Исследование свойств данных штаммов показало, что они обладают высокой ферментативной активностью

расщепления полисахаридов (целлюлозы, крахмала, целлобиозы, лактозы и других). В дальнейшей работе в состав поликомпонентной закваски включали *Str. thermophilus*, *Clostridium cellobiоparum* и *Ruminococcus flavefaciens*.

Доза бактериальной закваски оказывает непосредственное влияние на параметры молочнокислого процесса, поэтому проведены исследования по выбору соотношения культур в составе закваски. В ходе исследований установлено оптимальное соотношение культур *Str. thermophilus* : *Cl. cellobiоparum* : *R. flavefaciens* – 3:1:1, что обеспечивает высокую степень гидролиза лактозы и оптимальную продолжительность процесса. Критериями роста молочнокислых микроорганизмов принято считать выделение молочной кислоты, которое зависит, в основном, от присутствия углеводов.

Установлено, что увеличение доли *Str. thermophilus* в закваске усиливает процесс кислотообразования, что сказывается на кислотности продукта. Целлюлозолитические бактерии *Cl. cellobiоparum* и *Rum. flavefaciens* несколько сдерживают процесс накопления кислотности, в то же время увеличивают полноту гидролиза лактозы. Для нивелирования влияния кислотности среды на развитие микроорганизмов закваски провели подбор химических реагентов, способствующих нейтрализации кислой среды и созданию благоприятных условий развития микрофлоры закваски.

Таким образом, подобранный состав микрофлоры закваски и выбранные режимы сквашивания позволило провести гидролиз лактозы в молочной сыворотке на 86,2 %, остаточное количество лактозы в сыворотке составило (0,56±0,06)%, что значительно повышает усвояемость молочной сыворотки организмом животного.

#### **ОБОСНОВАНИЕ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ СИНЕЗЕЛЕННЫХ ВОДОРОСЛЕЙ ДЛЯ ВЫДЕЛЕНИЯ ХЛОРОФИЛЛА И ФИКОБИЛИПРОТЕИНОВ КАК ПИЩЕВЫХ КРАСИТЕЛЕЙ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ**

Ефимов А.А., Белова Т.П., Ефимова М.В.  
*Камчатский государственный технический университет*

*Петропавловск-Камчатский, Россия*

В настоящее время во всем цивилизованном мире достигли высокого уровня пищевые технологии, кулинарное искусство. Международная торговля обеспечивает наличие на прилавках магазинов и на рынках самых разнообразных, в том числе экзотических, продуктов как растительного, так и животного происхождения.

Постановлением Правительства РФ № 917 от 10 августа 1998 г. принята Концепция государственной политики в области здорового питания населения Российской Федерации на период до 2005 г., в которой определено: «Питание является одним из важнейших факторов, определяющих здоровье населения... Остро стоит проблема качества пищевых продуктов и продовольственного сырья».

Показатели качества пищевых продуктов определяются их химическим составом, физическими и органолептическими свойствами (цветом, внешним видом, формой, размерами, прочностными характеристиками), гигиеническими свойствами, биологической и энергетической ценностью.

Основной группой веществ, определяющих внешний вид продуктов питания, являются пищевые красители и вещества, способствующие сохранению окраски.

Цвет пищевых продуктов, их внешняя привлекательность играют большую роль в реализации продуктов питания, оценке их стоимости, в конкуренции на рынке. Уже несколько веков назад для этих целей использовали корни, листья и цветы растений и полученные из них соки и экстракты, продукты органического и минерального происхождения. Появившиеся в начале 20 века яркие и стойкие синтетические красители во многом вытеснили натуральные пигменты. Их появление обострило вопрос о безопасности и гигиенической оценке синтетических красителей и привело к возникновению ряда законодательных документов в этой области (например, Закон РФ «О качестве и безопасности пищевых продуктов» от 2 января 2000 г.).

В то же время при реализации современных пищевых технологий, включающих различные виды тепловой обработки, продукты часто изменяют свою первоначальную окраску, а иногда приобретают неэстетичный внешний вид. Особенно сильно меняется цвет при консервировании овощей и фруктов, что связано в основном с превращением хлорофиллов в феофитин или с изменением цвета антоциановых красителей в результате изменения pH среды или образования комплексов с металлами.

Для придания пищевым продуктам характерной для них окраски используют натуральные (природные) или синтетические красители. В частности, согласно СанПиН 2.3.2.1293-03, к натуральным органическим пищевым красителям относят антоцианы, кармины, каротины, красный рисовый, красный свекольный, куркумины, каротиноиды, рибофлавины, сахарный колер, алканин, пищевые танины, хлорофилл и медные комплексы хлорофилла и хлорофиллина.

В правилах применения отдельных красителей оговариваются вид продукта и максимальные уровни их использования, если таковые установлены. При использовании пищевых краси-

телей, передозировка которых не представляет опасности для здоровья человека, их следует применять в соответствии с установившейся производственной практикой и в количестве, не превышающем необходимого для достижения поставленной цели. При этом потребитель не должен вводиться в заблуждение.

Природные красители – естественные компоненты пищевых продуктов или биологических объектов, не употребляемых обычно в качестве продуктов питания или составной их части. Натуральные красители обычно выделяют из природных источников в виде смеси соединений, различных по своей химической природе, состав которой зависит от источника и технологии получения, в связи с чем бывает сложно обеспечить его постоянство. Натуральные красители, как правило, не обладают токсичностью, но для многих из них установлены допустимые суточные дозы (ДСД). Некоторые натуральные красители обладают биологической активностью.

Сырьем для получения натуральных пищевых красителей служат различные части дикорастущих и культурных растений, отходы их переработки, водоросли.

Одними из распространенных натуральных пищевых красителей являются хлорофиллы. Хлорофиллы – магнийзамещенные производные порфирина – природные пигменты, придающие зеленую окраску многим наземным растениям и водорослям, овощам, плодам. По своему химическому строению хлорофилл близок к пигменту крови человека – гемоглобину. Кроме того, в последнее время установлено, что хлорофилл обладает стимулирующим и тонизирующим действием, активизирует основной обмен, тонус кишечника, сердечно-сосудистой системы, дыхательного центра, стимулирует грануляцию и эпителизацию тканей, влияет на формулу крови, увеличивая лейкоциты и гемоглобин, оказывает бактериостатическое действие.

Пищевой краситель хлорофилл (E140) состоит из синезеленого хлорофилла *a* и желтозеленого хлорофилла *b*, находящихся в соотношении 3 : 1. Применение их в качестве красителя в пищевой промышленности сдерживается их нестойкостью, т.к. при повышенной температуре в кислых средах зеленый цвет переходит в оливковый, затем в грязно-желто-бурый вследствие образования феофитина. Хлорофиллы растворимы в масле. Для окраски продуктов питания в настоящее время используют хлорофиллы, выделенные из капусты, ботвы моркови, крапивы и др.

Производные хлорофилла используются в медицине для фотодинамической терапии рака. В литературе описано бактерицидное и антиоксидантное действие хлорофилла, а также применение хлорофилла для окраски мыла, масел, жиров, кремов, алкогольных и безалкогольных напитков, косметических средств, одеколона, духов, в качестве дезодоранта и в других целях. В Японии

хлорофиллы используют для подкрашивания рыбных паст и некоторых других кулинарных изделий. В Европе хлорофилл применяется для подкрашивания масел, жиров, ароматических эссенций.

По СанПиН 2.3.2.1293-03, хлорофиллы можно добавлять в некоторые виды сыров, овощи в уксусе, рассоле или масле, джемы, желе, мармелад и другие подобные продукты. Кроме того, в документе указано, что «...хлорофиллы разрешается использовать для изготовления всех пищевых продуктов, за исключением тех, подкрашивание которых не допускается, ... и в которые могут быть добавлены только определенные красители». К таким продуктам относят те, добавление красителей в которые будет искажать натуральный цвет (молочные, яйцопродукты, мясо-, рыбопродукты, мука, крупы, фрукты, овощи свежие и сушеные, сахар, глюкоза, мед, какао продукты, кофе, специи, соль поваренная, продукты для детей до 3-х лет, вода питьевая бутилированная и в банках.

Важно отметить, что, согласно СанПиН 2.3.2.1293-03, для пищевого красителя хлорофилла (E140) не установлен максимальный уровень в продуктах питания. Его применение должно осуществляться в соответствии с технологической инструкцией, что «...определяется технологической целесообразностью; количество добавляемых пищевых добавок не должно превышать уровень, необходимых для достижения технологического эффекта в соответствии с современной технологией (рекомендуемой практикой) производства пищевых продуктов». Вряд ли когда-либо появится документ, ограничивающий нас в потреблении продуктов растительного происхождения; а ведь подавляющее их большинство содержат хлорофилл.

Для выделения хлорофилла нами предложено использование биомассы термофильных синезеленых водорослей, которые по отсутствию ядра сближаются с бактериями, а по наличию хлорофилла и способности синтезировать молекулярный кислород – с растениями. Синезеленые водоросли преобладают в планктоне богатых минеральными веществами водоемов, где их массовое развитие вызывает «цветение» воды.

Обладая фотоавтотрофным (миксотрофным) типом питания, синезеленые водоросли легко приспосабливаются к различным условиям обитания и к их изменениям. Большинство синезеленых водорослей способны синтезировать все органические вещества своей клетки за счет энергии света. Как правило, синезеленые водоросли занимают доминирующее положение в альгобактериальных сообществах.

Результаты исследования состава биомассы синезеленых водорослей показали, что они являются источниками разнообразных биологически активных веществ, в том числе пигментов.

В отличие от растений, в состав пигментов которых входит как хлорофилл *a*, так и хлорофилл *b*, синезеленые водоросли содержат только хлорофилл *a*, обеспечивающий поглощение света до 750 нм. Кроме того, к пигментам синезеленых относятся фикобилины (голубой – фикоциан и красный – фикоэритрин) и каротиноиды. Хлорофилл *a* составляет до 81% от количества спирторастворимых пигментов синезеленых водорослей. Содержание каротина – до 16 % сырого вещества. В клетках цианобактерий найдены также пигменты миксоксантин, миксоксантофилл, оциллаксантин.

Для получения ценных химических компонентов, а также в качестве пищевого сырья синезеленые водоросли культивируют во многих странах мира в открытых и закрытых установках различной конструкции. Актуально культивирование видов, обитающих в районах активного вулканизма на территории нашей страны. Это обусловлено их способностью к быстрому воспроизводству биомассы в условиях высоких температур и постоянством химического состава термальных вод природных источников.

В горячих источниках Камчатки нами идентифицировано 35 видов синезеленых водорослей. Их приспособленность к активной жизни при экстремально высокой температуре базируется на своеобразии физико-химических, структурных и функциональных свойств всех компонентов клетки. Важно отметить, что в исследованных гидротермах Камчатки синезеленые водоросли являются доминирующими и характеризуются высокой скоростью прироста биомассы – до 50,0 мг сухого вещества в час на площади 1 м<sup>2</sup>.

Использование синезеленых водорослей как источника пищевого красителя позволяет получать не смесь синезеленого хлорофилла *a* и желто-зеленого хлорофилла *b*, как в случае традиционного использования растений, а «чистый» изумрудного цвета хлорофилл *a*, который к тому же в силу особенностей метаболизма термофилов, устойчив к воздействию повышенных температур.

Результаты исследований, проведенных нами в 1995–2006 гг., показали, что возможно и перспективно промышленное культивирование цианобактерий, естественной средой обитания которых являются горячие источники Камчатки.

Объектом наших исследований являлись синезеленые водоросли рода *Phormidium*, доминирующие в альгобактериальных сообществах Нижне-Паратунских термальных источников.

Для выделения хлорофилла использован метод спиртовой экстракции. Для идентификации полученного вещества применили спектрофотометрический метод, опробованный на кафедре физиологии растений МГУ. На основе результатов проведенных спектральных анализов был получен спектр поглощения выделенного нами

пигмента. Максимумы поглощения 430,1 и 662 нм.

Для выделения фикобилипротеинов был использован метод, предложенный F.W. J. Teale и R.E. Daled Бирмингемского университета. При идентификации фикобилипротеинов спектрофотометрическим методом получили спектр с максимумом поглощения фикоцианина 620, фикоэритрина – 565, аллофикоцианина – 654 нм.

Нами также разработан оптический экспресс-метод определения содержания хлорофилла в биомассе цианобактерий с использованием авторской компьютерной программы, позволяющей быстро и точно обрабатывать фотоданные.

Таким образом, исходя из особенностей пигментного состава синезеленых водорослей, их метаболизма, скорости прироста биомассы, их можно использовать как сырье для выделения хлорофилла *a*, фикобилипротеинов как пищевых красителей и биологически активных веществ.

*Работа выполнена при поддержке гранта фундаментальных исследований ДВО РАН на 2006-2008 гг. «Микроорганизмы Дальнего Востока России: систематика, экология, биотехнологический потенциал».*

#### **ОБОСНОВАНИЕ ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ФИКОЦИАНИНА ИЗ СИНЕЗЕЛЕННЫХ ВОДОРΟΣЛЕЙ КАК ПИЩЕВОЙ ДОБАВКИ**

Ефимов А.А.

*Камчатский государственный технический  
университет*

*Петропавловск-Камчатский, Россия*

Целью проведенной работы являлось определение способов, технологических режимов выделения фотопигмента фикоцианина из синезеленых водорослей и получения из него пищевой добавки – пищевого красителя.

В качестве сырья использовали биомассу термофильных синезеленых водорослей рода *Phormidium*, культивируемых в искусственных условиях.

Биомассу промывали для удаления загрязнений, компонентов среды культивирования. Промывание производили на сите с размером ячеей 1,0x1,0 мм пресной питьевой водой, соответствующей требованиям СанПиН 2.1.4.1074, температурой не выше 20°C, расход воды 10:1.

Размер ячеей оказывает влияние на потери биомассы за счет потери отдельных клеток, целых трихомов с промывными водами. Для выбора размера ячеей сита промывание проводили на ситах с размером ячеей 1,5x1,5, 1,0x1,0, 0,5x0,5 мм. Синезеленые водоросли рода *Phormidium* образуют длинные нити (трихомы), связанные между собой полисахаридной слизью. Такие структуры хорошо задерживаются на сите с крупной (1,5x1,5 мм) ячеей. Минимальные потери – 0,5%

от массы исходного сырья получили при использовании сита с размером ячеей 0,5x0,5 мм. Однако при этом из-за забивания ячеей сита биомассой резко возросла продолжительность промывания. Оптимальным оказалось промывание биомассы на сите с размером ячеей 1,0x1,0 мм.

Промывание вели до исчезновения в промывной воде следов сульфат-ионов, определяемых реакцией с ионами бария, т. к. содержание сульфат-ионов в питательной среде при культивировании синезеленых водорослей наибольшее. Для равномерности протекания процесса промывание проводили при перемешивании. При медленном, осторожном перемешивании клеточные стенки не повреждаются, не происходит их вымывания и потерь внутриклеточного содержимого.

После промывания биомассу хранили до дальнейшей переработки. Условия хранения оказывают значительное влияние на состояние и выход целевых веществ. Фикоцианин по своей химической природе – белок, характеризующийся, как и все белки, химической и микробиологической лабильностью. Фикоцианин в синезеленых водорослях является фотопигментом и изменяет свои свойства при воздействии света. При хранении биомассы необходимо обеспечить такие условия, которые предотвращают изменения фикоцианина, обеспечивают его максимальный выход как готового продукта.

Исследовали такие способы хранения до обработки как охлаждение, замораживание, сушка. Изменения в биомассе определяли по содержанию небелкового азота как показателю порчи белка и по содержанию фикоцианина. Для предотвращения изменений фотопигментов хранение проводили в темноте. Предельный срок хранения без охлаждения при температуре 20°C определяли по органолептическим показателям и по содержанию небелкового азота; он составил не более 6 ч. При хранении в охлажденном до 4-9°C состоянии в течение 5 сут. содержание фикоцианина не изменялось, однако уже через 3 сут. повышение содержания небелкового азота и появление неприятного запаха свидетельствовало о начальной стадии порчи. Предельный срок хранения при температуре 4-9°C – до 48 ч.

При хранении биомассы в замороженном состоянии при температуре минус 18°C не только не снизилось содержание фикоцианина, но и увеличился его выход до 84% от начального содержания в биомассе за счет дезинтеграции субклеточных чехлов и клеточных стенок при замораживании-размораживании. Тем не менее, увеличение выхода пигмента при такой дезинтеграции оказалось незначительно большим, чем при проведенной на дальнейших этапах технологии механической гомогенизации. С учетом значительных энергетических затрат на замораживание и длительное хранение замораживание биомассы не имеет преимуществ перед охлаждением. Сушка