

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
«МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ПИЩЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВ»**

На правах рукописи

**БИЛЯЛОВА АНАСТАСИЯ СЕРГЕЕВНА
РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ И ТОВАРОВЕДНАЯ ОЦЕНКА
БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЙ ДОБАВКИ К ПИЩЕ НА ОСНОВЕ
ВЫСШЕГО БАЗИДИАЛЬНОГО ГРИБА**

**Специальность 05.18.15 – Технология и товароведение пищевых продуктов
и функционального и специализированного назначения и общественного
питания**

Диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ

кандидат технических наук,

профессор **Л.И. Войно**

Москва – 2014

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- БАВ – биологически активные вещества;
- БАД – биологически активная добавка;
- ГМЦ – гемицеллюлоза;
- БГКП – бактерии группы кишечной палочки;
- ЖУС – жиродерживающая способность;
- ЖЭС – жиромульгирующая способность;
- КЖ – культуральная жидкость;
- КМАФАнМ – количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов;
- КОЕ – колониеобразующая единица;
- ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты;
- ПСр – питательная среда;
- ПФЭ – полный факторный эксперимент;
- ПЦР – полимеразноцепная реакция;
- РВ – редуцирующие вещества;
- СВ – сухие вещества;
- СЭ – стойкость эмульсии;
- ТУ – технические условия;
- ФПП – функциональные продукты питания;
- ФЭК – фотоэлектроколориметр.

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	8
Глава 1 Обзор литературы	13
1.1 Проблемы полноценного питания в настоящее время	13
1.2 Концепция функционального питания	15
1.3 Биологически активные добавки (БАД)	21
1.3.1 Характеристика БАД	21
1.3.2. Нутрицевтики	23
1.3.3. Парафармацевтики	24
1.3.4. Эубиотики	25
1.4 Грибы класса базидиомицеты – продуценты биологически активных веществ	26
1.4.1 Пищевая ценность плодовых тел базидиомицетов	29
1.4.2 Биологически активные вещества базидиомицетов	31
1.4.3 Практическое применение высших базидиомицетов	34
1.4.3.1 Грибная индустрия	34
1.4.3.2 Использование грибов в кормопроизводстве	36
1.4.3.3 Использование препаратов грибного происхождения в медицине	37
1.4.3.4 Применение грибной биомассы в косметологии	38
1.5 Характеристика гриба <i>Laetiporus sulphureus</i>	38
1.5.1 Пищевая ценность гриба <i>Laetiporus sulphureus</i>	40
1.5.2 Лечебные свойства <i>Laetiporus sulphureus</i>	43
Заключение.....	46
Глава 2 Материалы и методы	48
2.1 Материалы исследований	48
2.1.1 Приборы	48
2.1.2 Расходные материалы, лабораторная посуда	49
2.1.3 Химические реактивы	50

2.1.4 Сырье, применявшееся в работе	52
2.1.5 Питательные среды, используемые в работе	53
2.1.6 Штаммы микроорганизмов, использованные в работе	53
2.2 Методы	54
2.2.1 Выращивание культур микроорганизмов	54
2.2.1.1 Выращивание культур микроорганизмов в условиях глубоинной ферментации	54
2.2.1.2 Выращивание культур микроорганизмов поверхностным способом на чашках Петри	55
2.2.2 Выделение чистой культуры гриба	55
2.2.3 Поддержание чистых культур грибов и приготовление посевного материала	56
2.2.4 Методы исследования грибов в чистой культуре	56
2.2.4.1 Морфологические признаки	56
2.2.4.2 Фенотипическая характеристика	56
2.2.4.3 Филогенетические особенности культуры	56
2.2.5 Определение содержания сухих веществ	57
2.2.6 Определение величины pH растворов	57
2.2.7 Математические методы планирования эксперимента для оптимизации питательной среды	58
2.2.7.1 Полный факторный эксперимент с использованием метода крутого восхождения	58
2.2.7.2 Метод Гаусса-Зейделя	60
2.2.8 Определение содержания белка по методу Лоури	60
2.2.9 Определение аминокислотного состава белков	61
2.2.10 Определение массовой доли липидов	61
2.2.11 Определение жирнокислотного состава липидов	61
2.2.12 Определение содержания «сырой» клетчатки	61
2.2.13 Определение содержания гемицеллюлоз	62

2.2.14	Определение содержания витаминов А и Е в препарате	62
2.2.15	Определение содержания никотинамида в препарате	62
2.2.16	Метод определения содержания редуцирующих веществ в питательных средах	62
2.2.17	Определение антимикробных свойств биомассы	63
2.2.18	Определение сорбционной способности препарата	63
2.2.19	Определение острой токсичности препарата	64
2.2.20	Определение качества клейковины муки.....	64
2.2.21	Определение влажности мякиша хлеба	64
2.2.22	Определение пористости хлеба	64
2.2.23	Метод определения жиरोудерживающей способности	64
2.2.24	Метод определения жиροэмульгирующей способности	65
2.2.25	Определение стойкости эмульсии	66
2.2.26	Определение кислотности готовой продукции	66
2.2.27	Проведение микробиологического контроля	66
2.2.28	Методика изготовления пшеничного хлеба с введением в рецептуру препарата «Летисульфурин»	67
2.2.29	Методика изготовления макаронных изделий с введением в рецептуру препарата «Летисульфурин»	68
2.2.30	Методика изготовления майонеза с введением в рецептуру препарата «Летисульфурин»	69
2.2.31	Органолептическая оценка качества пищевых продуктов.....	70
2.2.32	Расчет пищевой и энергетической ценности.....	70
Глава 3	Результаты исследований и их обсуждение	71
3.1	Исследования отношения потребителей к продуктам питания, обогащенных БАД	71
3.2	Скрининг продуктивных штаммов грибов рода <i>Laetiporus</i>	75
3.3	Исследование фенотипических признаков и идентификация штамма гриба ЗХ	76

3.3.1 Культуральные признаки штамма 3X	76
3.3.2 Морфологические признаки штамма 3X	77
3.3.3 Физиолого-биохимические признаки штамма 3X	77
3.3.4 Идентификация штамма 3X до вида с помощью анализа 18S рРНК	78
3.4 Разработка технологии биологически активной добавки методом глубинного культивирования гриба <i>L. sulphureus</i> 3X	78
3.4.1 Подбор питательной среды для глубинного культивирования	78
3.4.2 Оптимизация состава питательной среды для глубинного культивирования <i>L. sulphureus</i> 3X с помощью математических методов	80
3.4.3 Изучение влияния pH исходной ферментационной среды на выход биомассы.....	84
3.4.4 Определение оптимальной дозы посевного материала <i>L. sulphureus</i> 3X .	85
3.4.5 Изучение динамики накопления биомассы <i>L. sulphureus</i> 3X на оптимизированной по составу питательной среде	86
3.4.6 Получение сухого препарата «Летисульфурин».....	87
3.5 Определение потребительских свойств препарата «Летисульфурин».....	89
3.5.1 Органолептическая и биохимическая характеристика препарата «Летисульфурин»	89
3.5.2 Микробиологические показатели препарата «Летисульфурин»	90
3.5.3 Определение жирнокислотного состава липидов препарата «Летисульфурин»	91
3.5.4 Определение аминокислотного состава белков препарата «Летисульфурин»	92
3.5.5 Определение антагонистических свойств препарата «Летисульфурин».....	93
3.5.6 Оценка сорбционной способности препарата «Летисульфурин» по отношению к микроорганизмам	94
3.5.7 Оценка острой токсичности препарата «Летисульфурин»	95
3.5.8 Исследование технологических свойств препарата «Летисульфурин»...	96

3.5.9 Исследование влияние препарата «Летисульфурин» на качество клейковины муки	97
3.6 Апробация препарата «Летисульфурин» в составе рецептур пищевых продуктов	97
3.6.1 Использование препарата «Летисульфурин» при изготовлении пшеничного хлеба	98
3.6.2 Использование препарата «Летисульфурин» при изготовлении макаронных изделий	104
3.6.3 Использование препарата «Летисульфурин» при изготовлении майонеза	109
ВЫВОДЫ	116
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	117
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	137

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы. Здоровье человека в значительной степени определяется степенью обеспеченности организма энергией и целым рядом незаменимых нутриентов. Здоровье может быть достигнуто и сохранено только при условии полного удовлетворения физиологических потребностей человека в этих веществах.

Техническая революция XX века привела к снижению энергетических затрат человека до уровня 2500 ккал в сутки. Для обеспечения организма таким количеством энергии необходим небольшой объем пищи, который по пищевой ценности не способен в полной мере удовлетворить физиологические потребности человека.

Как показывает мировой и отечественный опыт, наиболее быстрым и экономически обоснованным путем улучшения пищевого статуса человечества является применение специально созданных биологически активных добавок (БАД) к пище. Использование БАД в составе традиционных продуктов питания позволяет расширить ассортимент функциональных продуктов питания.

В качестве перспективных источников биологически активных добавок являются высшие базидиальные грибы и их метаболиты.

В настоящее время актуальным является разработка технологии производства биологически активной добавки к пище на основе высшего базидиального гриба и оценка её потребительских свойств.

Степень разработанности темы исследования. Большой теоретический и практический вклад в развитие технологии функциональных пищевых продуктов сделан отечественными и зарубежными учеными: М.Н. Волгаревым, В.И. Ганиной, А.Ф. Дорониным, Н.К. Журавской, Ю.А. Ивашкиным, А.А. Кочетковой, Л.С. Кудряшовым, М.А. Манвеловой, В.М. Позняковским, В.И. Покровским, И.А. Роговым, Е.И. Титовым, Э.С. Токаевым, В.Б. Толстогузовым, В.А. Тутельяном, Н.А. Тихомировой, В.Д. Шендеровым, А.М. Уголевым и др.

Фундаментальный вклад в изучение особенностей, химического состава и практической значимости грибов для человека внесли В.И. Билай, А.С. Бухало, А.С. Бондарцева, Ю.Т. Жук, Н.В. Сабуров, И.Э. Цапалова, А.А. Ячевский.

Однако, до сих пор исследования, посвященные поискам и разработкам технологии получения БАД к пище на основе грибов, следует считать крайне актуальными и своевременными. Остается важным расширение ассортимента высококачественных пищевых продуктов, обогащенных микронутриентами природного происхождения. В связи с этим разработка технологии грибной биологически активной добавки открывает перспективы для реализации их природного потенциала при получении пищевых продуктов.

Цели и задачи исследования. Целью настоящей работы является разработка технологии и товароведная оценка биологически активной добавки к пище на основе высшего базидиального гриба.

В соответствии с поставленной целью были определены **следующие задачи:**

1. Изучить предпочтение потребителей к продуктам питания, обогащенных микронутриентами.
2. Отобрать и идентифицировать активный грибной продуцент.
3. Разработать технологию и техническую документацию получения биологически активной добавки на основе гриба *Laetiporus sulphureus*.
4. Провести товароведную оценку полученной БАД к пище и определить ее технологические свойства.
5. Определить направления использования препарата для повышения качества и пищевой ценности продуктов питания. Разработать техническую документацию на продукты питания с использованием БАД «Летисульфурин».

Научная новизна. В результате скрининга высших грибов отобран активный штамм гриба *Laetiporus sulphureus* способный синтезировать биологически активные вещества.

Установлено, что оптимизация питательной среды и условий культивирования позволяет получать грибную биологически активную добавку с повышенным содержанием жирорастворимых витаминов А и Е.

Теоретически обоснована и экспериментально подтверждена целесообразность введения БАД «Летисульфурин» в рецептуры пшеничного хлеба, макаронных изделий и майонеза, оказывающая положительное влияние на органолептические показатели и пищевую ценность продукции.

Практическая значимость. На основе наиболее перспективного штамма *Laetiporus sulphureus* 3X, выявленного в результате отбора разработана технология биологически активной добавки к пище.

Штамм гриба *L.sulphureus* 3X депонирован во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов под номером F 1188.

Разработаны проекты технических условий и лабораторного регламента на получение БАД к пище «Летисульфурин».

Показана возможность использования БАД к пище «Летисульфурин» в составе рецептур пшеничного хлеба, макаронных изделий и майонеза. Установлено, что применяемая добавка положительно влияет на органолептические, физико–химические и микробиологические показатели готовых изделий, при этом повышается пищевая ценность продуктов. Результаты исследований подтверждены актами лабораторных испытаний и разработаны проекты технических условий на полученные продукты.

Основные положения диссертации используются в учебном процессе на кафедрах «Биотехнология и технология продуктов биоорганического синтеза» и «Товароведение и общественное питание» ФГБОУ ВПО «МГУПП».

Методология и методы исследования. Методологической основой диссертации являются труды отечественных и зарубежных учёных, их разработки, оценки качества и применение БАД для создания обогащённых продуктов питания с улучшенными потребительскими свойствами.

При решении поставленных задач применяли общепринятые и специальные методы исследований – социологические, органолептические, физико-химические, микробиологические, хроматографические.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Оценка потребительских предпочтений в выборе продуктов питания, обогащенных биологически активными добавками.
2. Результаты отбора активного продуцента биологически активных веществ.
3. Результаты экспериментальных исследований по подбору условий культивирования и получения биологически активной добавки к пище. Определение товароведных характеристик и технологических свойств БАД.
4. Целесообразность применения БАД «Летисульфурин» в составе рецептур некоторых пищевых продуктов.

Апробация работы. Основные положения работы докладывались на российских и международных конференциях: IX Международной научной конференции студентов и молодых ученых «Живые системы и биологическая безопасность населения» (Москва, 2011 г.); Международной конференции «Биология – наука XXI века» (Москва, 2012); X научно-практической конференции с международным участием «Технологии и продукты здорового питания. Функциональные продукты питания» (Москва, 2012). Образцы препарата «Летисульфурин» выставлялись на Международной выставке-конференции «Биоиндустрия 2012», (Санкт-Петербург, 2012) и на I Международной научно-практической конференции-выставке «Планирование и обеспечении подготовки и переподготовки кадров для отраслей пищевой промышленности и медицины» (Москва, 2012).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 7 работ, в том числе 3 статьи в журналах, входящих в перечень ВАК РФ.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, выводов, библиографического списка, включающего 194 источника, и 13 приложений. Работа изложена на 184 страницах машинописного текста, включает 38 таблиц и 15 рисунков.

Глава 1 Обзор литературы

По исследуемой тематике опубликованы монографии, научно-исследовательские статьи и сообщения, диссертационные работы зарубежных и отечественных авторов, материалы различных конференций, семинаров и симпозиумов, статистические сведения и научно-популярные издания. Независимо от их значимости и содержания начнем обзор литературы с рассмотрения публикаций о проблемах полноценного питания в настоящее время.

1.1 Проблемы полноценного питания в настоящее время

Здоровье человека определяется состоянием, которое позволяет ему чувствовать себя с физической и психологической сторон наиболее комфортно. Одним из основных факторов, влияющих на здоровье современного человека, является характер, уровень и структура питания (Тутельян, 2001). Недостаточное и несбалансированное питание, связанное с дефицитом макро – и микронутриентов, вызывает развитие и рост числа различных заболеваний.

Стремительное развитие науки и техники в XIX—XX веках внесло большие изменения и в образ жизни, и в питание современного человека. Индустриализация сельскохозяйственного производства привела к резкому снижению пищевой ценности многих растительных продуктов питания. Постоянное и интенсивное использование в сельском хозяйстве одних и тех же земель привело к их минеральному истощению (Барановский, 1998; Батурин, 2005).

Глобальное загрязнение поверхностных вод и суши, приводит к загрязнению продуктов питания токсичными элементами, пестицидами, антибиотиками, радионуклидами, которые обуславливают ослабление защитных сил организма, что также способствует нарастанию негативных тенденций в состоянии здоровья населения.

Другим негативным фактором, существенно нарушающим структуру питания, является увеличение использование продуктов питания высококалорийных, рафинированных, подвергнутых консервированию, длительному хранению, интенсивной технологической обработке, что неизбежно приводит к снижению содержания важных микронутриентов (Спиричев, 1999).

В результате технического прогресса и социальных изменений в 2-2,5 раза сократились энергозатраты большинства населения и в настоящее время они достигли критического уровня (около 2,2—2,5 тыс. ккал в день) (Волгарев, 2000). Естественно, что это количество энергии должно обеспечиваться поступлением гораздо меньшего объема пищи.

Малый объем пищи с учетом прогрессивно снижающейся пищевой ценности многих растительных продуктов, не позволяет в настоящее время даже чисто теоретически обеспечить организм человека всеми необходимыми пищевыми веществами (Волгарев, 1997).

Исследования, проводимые Институтом питания РАМН в различных регионах России в последние несколько лет, также выявили существенные отклонения рациона россиян от формулы сбалансированного питания (Тутельян, 2001; Спиричев, 2005).

Следствием этого является наличие большого числа лиц, с одной стороны, с избыточной массой тела — одним из ведущих факторов риска атеросклероза, ишемической болезни сердца, гипертонической болезни, сахарного диабета, а с другой стороны, лиц со сниженной резистентностью к неблагоприятным естественным и техногенным факторам внешней среды, и иммунодефицитам.

На основании этих объективных и субъективных причин проблему питания и оздоровление населения, приведение рациона к физиологическим нормам и потребностям человека можно разрешить двумя путями.

Первый путь заключается в составлении рациона из натуральных высококачественных продуктов и обучение населения навыкам и правилам рационального питания.

Накопленный международный опыт свидетельствует, что таким традиционным путем практически невозможно достичь быстрой коррекции структуры питания населения. Кроме того, как свидетельствуют наблюдения отечественных и зарубежных ученых, доступность продовольствия населению и обеспеченность его нутриентами, как правило, вещи, не связанные между собой (Коденцова, 2004).

Второй путь – развитие пищевой промышленности, ориентированной на разработку и создание новых функциональных продуктов питания (ФПП) и биологически активных добавок (БАД) (Гапаров, 2001; Пахомов, 2006).

1.2 Концепция функционального питания

Одним из основателей, предложивших продукты питания и отдельные их компоненты в качестве фармацевтических препаратов, являлся Лайнус Полинг. В 60-80гг. 20 века Лайнус Полинг выдвинул теорию «Ортомoleкулярной медицины», согласно которой физическая боль и психическое заболевание могут быть излечены не с помощью лекарственных средств, а путем отбора и применения оптимальных количеств определенных макро – и микронутриентов или веществ эндогенного происхождения (Шендеров, 2002).

В нашей стране активным исследователем фармакологических эффектов пищевых продуктов являлся директор Института питания академик А.А. Покровский.

Лидером по разработкам ФПП является Япония. Первые разработки по созданию таких продуктов был начат в Японии в 1984 году. Достижения Японии часто берутся за основу в Европе и США. В 1991 г. японское правительство установило систему сертификации ФПП. Новая система была направлена на то, чтобы помочь продвигать производство продуктов питания, нацеленных на решение серьезных проблем со здоровьем (Шендеров, 2002).

Концепция «Функциональное питание» как самостоятельное научно-прикладное направление в области здорового питания в современном

терминологическом плане сложилась в начале 90-х годов. С современных позиций «функциональное питание» – это продукты специального назначения естественного или искусственного происхождения, которые предназначены для систематического ежедневного употребления и направлены на восполнение недостатка в организме энергетических, пластических или регуляторных пищевых субстанций (Шендеров, 2002).

В «Научной концепции функционального питания в Европе», (Bellisle, 1998, Verschuren, 2002), говорится, что продукты питания могут быть отнесены к функциональным, если продемонстрировано их положительное влияние на конкретную функцию организма человека (не включая традиционные питательные эффекты) и рекомендуется идентифицировать конкретные маркеры этих функций (Таблица 1).

Таблица 1 – Ключевые функции функциональных пищевых продуктов (Шендеров, 2002).

Функция	Маркер
Рост, развитие и дифференциация	адаптивные изменения в организме матери во время беременности и лактации; рост и развитие плода; рост и развитие ребенка в период новорожденности и детства
Защита против соединений, обладающих оксидазой активностью	исследование структуры и функций ДНК, белков, липопротеинов, полиненасыщенных жирных кислот, клеточных мембран);
Сердечно - сосудистая система	гомеостаз липопротеинов; целостность эндотелия и артериол; наблюдение за факторами, участвующими в коагуляции и фибринолизе; уровень гомоцистеина в плазме крови; контроль за кровяным давлением
Сахарный диабет и ожирение	вес тела, состав и распределение жирового слоя; сохранение энергетического баланса; содержание глюкозы, инсулина и триацилглицеридов в сыворотке крови; адаптация к физическим упражнениям
Состояние костной ткани	плотность костной ткани, кинетика ионов кальция, фосфора, магния
Физиология желудочно-кишечного тракта	вес и консистенция фекалий, частота стула, время транзита содержимого пищеварительного тракта, состав и количество газов в выдыхаемом воздухе, количество гастроинтестинальных гормонов
Состояние нормальной микрофлоры	количество и состав микроорганизмов в фекалиях, состояние биопленки, гистохимические, морфологические исследования содержимого пищеварительного тракта, биотипирование выделяемых микроорганизмов, состав микробных метаболитов, нагрузочные пробы с

	индикаторными микроорганизмами и химическими субстанциями, исследование микроорганизм-ассоциированных характеристик
Состояние иммунной системы	состояние ассоциированной с пищеварительным трактом лимфоидной ткани, активность фагоцитоза, содержание эндотоксина в сыворотке крови, количество иммуноглобулинов различных классов, т- и в-лимфоцитов, интерлейкинов и медиаторов иммунного ответа и воспаления, ответ на вакцинацию
Поведенческие реакции и состояние психического здоровья	аппетит, чувство сытости, познавательные способности, настроение и жизнестойкость, способность справляться со стрессом

Продукты функционального питания используются для: регуляции иммунитета; липидного и углеводного обменов; артериального давления; предупреждения развития сенильного синдрома; улучшения сна и памяти; коррекции сексуальной активности; оптимизации функции пищеварительного тракта; усиления лактации; замедления ухудшения зрения; снятия утомляемости; похудения, улучшения обеспечения организма кислородом; предотвращения анемических состояний; защиты печени от химических повреждений; защиты от радиации и мутагенного воздействия ксенобиотиков, с целью повышения противоопухолевой защиты (Arai, 2002). В настоящее время на рынке Японии (Yi, 1999) присутствуют большое количество традиционных продуктов, обогащенных разнообразными функциональными ингредиентами.

Первоначально основными категориями физиологически функциональных ингредиентов, предложенными японскими исследователями для производства ФПП, были молочнокислые бактерии и бифидобактерии; олигосахариды; пищевые волокна и омега-3 жирные кислоты (Шендеров, 2002). В последующем этот перечень значительно расширился и к началу 21-го века включал уже 14 наименований: пищевые волокна; витамины; олигосахариды и сахароспирты; молочнокислые бактерии; фосфолипиды, холины; аминокислоты; пептиды; протеины; нуклеиновые кислоты; макро- и микроэлементы; гликозиды; ПНЖК; спирты, цитамин, органические кислоты; растительные ферменты и другие фитосоединения; лектины.

Наиболее популярными для включения в состав ФПП в настоящее время являются более сотни физиологически функциональных ингредиентов. Они широко используются для обогащения традиционных продуктов (молочные, хлебобулочные, напитки, сухие завтраки, растительные масла и т.д.) с целью придания им функциональных свойств (например, кальций, витамин D и K, изофлавоны для поддержания хорошего состояния костной ткани; витамины B6, B12, A, C, E, фолиевая кислота, каротиноиды, линолевая, линоленовая кислоты, омега-3 жирные кислоты, фитостеролы, фитостанолы, хитозан, пектины - для снижения риска развития сердечно-сосудистых заболеваний; витамины A, C, E, цинк, железо, магний, аминокислоты, L-карнитин, креатин, цистеин-содержащие пептиды для поддержания хорошей физической и спортивной формы; различные пребиотики и пробиотики для поддержания общей резистентности организма и сохранения нормальных функций пищеварительного тракта (Шендеров, 2002).

Наряду с достаточно хорошо известными для медицинской общественности физиологически активными функциональными субстанциями (молочнокислые бактерии, витамины, минералы, не насыщенные жирные кислоты, пищевые волокна), в состав БАД и ФПП все чаще начинают включать и другие относительно недавно идентифицированные микро- и макронутриенты, проявляющие позитивные эффекты на организм человека (пребиотики, лектины, биофлавоноиды и другие различного состава и происхождения) (Цыб, 1999).

В связи с этим, под ФПП подразумеваются пищевые продукты, которые посредством добавления определённых пищевых ингредиентов изменяются таким образом, что они начинают приносить специфическую пользу, оказывают регулирующее действие на физиологические функции, биохимические реакции и психосоциальное поведение человека, способствуют снижению риска возникновения какого-либо заболевания и оказывают положительный эффект воздействия на здоровье и самочувствие человека, в сравнении с традиционными пищевыми продуктами (Тутельян, 2002). Необходимо отметить, что ФПП предназначены для систематического употребления в составе пищевых рационов всеми возрастными группами населения.

Меняя содержание и соотношение поступающих с ФПП определенных пищевых компонентов, можно регулировать многие метаболические процессы, происходящие в органах и тканях, через прямое или опосредованное воздействие на клеточные и ядерные рецепторы, гормонально-ферментные системы, процессы всасывания и выделения, тем самым, катализируя или ингибируя соответствующие обменные процессы, микробное население желудочно-кишечного тракта, что должно приводить к положительной модификации физиологических функций организма, снижению действия повреждающих факторов, восстановлению баланса между окружающей средой и внутренней средой организма (Цыганков, 2009).

Создание ФПП должно проходить по плану (Тимофеев, 2000), включающему:

- анализ предпосылок и перспектив для создания продукта с заданным влиянием (гиполипидемическим, антиоксидантным и радиопротекторным, адаптационным, иммунно- и мембранозащитным, гепапротекторным) на конкретные функции организма;
- выбор и обоснование состава (факторов) моделируемого продукта и уровней варьирования компонентов в соответствии с физиологическими нормами и техническим заданием медиков на продукт;
- совместное со специалистами в области экспериментальной и клинической медицины выявление показателей, характеризующих данное свойство (функций отклика);
- технологические исследования по составлению рецептуры и выработки опытной партии продукта для выявления срока его гарантийного хранения с учетом динамики изменений пищевой и физиологической ценности в зависимости от состава и продолжительности хранения продукта;
- экспериментальная и/или клиническая апробация опытной партии;
- статистическая обработка результатов для составления регрессионных моделей, описывающих количественную взаимосвязь компонентного состава

продукта и медико-биологических или клинических характеристик прогнозируемых свойств;

- оптимизация рецептуры продукта для достижения максимального воздействия и клиническая оценка достоверности ожидаемого влияния продукта оптимального состава;

- выбор определяющих факторов для дальнейшего совершенствования рецептуры с целью расширения сферы применения продукта в функциональном питании для коррекции или предупреждения различных нарушений обменных, адаптационных и защитных процессов в организме;

- моделирование нового комплексного продукта на основе сопоставительной статистической обработки эффективности ранее созданных продуктов (без экспериментальных и клинических исследований).

С практической точки зрения важно, чтобы продукты функционального питания отвечали следующим требованиям (Цыганков, 2009):

- имели привычные вкусовые качества;
- могли оптимально включаться в утвержденные лечебно-профилактические рационы и максимально восполнять имеющиеся круглогодичные дефициты эссенциальных макро – и микронутриентов;

- оказывали положительный эффект, восстанавливая и активируя защитно-приспособительные механизмы при функциональных нарушениях в деятельности органов и систем, препятствуя запуску патогенетических механизмов развития болезни (первичная профилактика);

- способствовали компенсации и восстановлению нарушенных функций;
- быть общедоступным и приемлемым по стоимости.

Согласно ГОСТ Р 52349-2005 «Продукты пищевые. Продукты пищевые функциональные. Термины и определения» и Изменениям N 1 к ГОСТ Р 52349-2005, пищевой продукт может быть отнесен в разряд функционального пищевого продукта, если содержание в нем биоусвояемого функционального действующего ингредиента находится в пределах 15-50% средней суточной потребности в соответствующем нутриенте.

Следует иметь в виду что, ограничение количественного содержания функционального ингредиента в ФПП обусловлено тем, что подобные продукты предназначены для постоянного использования в составе обычных рационов питания, которые могут включать и другие пищевые продукты с тем или иным количеством и спектром потенциальных функциональных ингредиентов. Превышение суточной потребности в функциональных нутриентах может привести к возникновению нежелательных побочных эффектов (Шендеров, 2005).

Одной из задач непосредственно касающейся технологов-разработчиков ФПП является создание соответствующей формы выпуска функционального продукта (чай, коктейли, напитки, кисели, каши, супы, соусы и т.д.), способствующей наибольшему проявлению профилактических или корректирующих свойств (Кацерикова, 2004).

Реальное развитие концепции «Функциональное питание» возможно при государственной поддержке этого направления, развития научных исследований в области нутрициологии, информации населения о преимуществах регулярного употребления функциональных продуктов питания, улучшения технологии создания продуктов с гарантированным содержанием биологически активных функциональных ингредиентов, лишенных побочных эффектов и сохраняющих привычные для покупателя потребительские характеристики традиционных пищевых продуктов.

1.3 Биологически активные добавки (БАД)

1.3.1 Характеристика БАД

Биологически активные добавки – природные (идентичные природным) биологически активные вещества, предназначенные для употребления одновременно с пищей или введения в состав пищи. БАД подразделяют на нутрицевтики (пищевые вещества), обладающие пищевой ценностью, и

парафармацевтики (минорные компоненты пищи), обладающие выраженной биологической активностью (Нечаев, 2012).

БАД к пище являются источниками пищевых, минорных, пробиотических и пребиотических природных биологически активных веществ пищи, обеспечивающих поступление их в организм человека при употреблении с пищей или введении в состав пищевых продуктов. Биологически активные вещества, компоненты пищи и продукты, являющиеся их источниками, используемые при изготовлении биологически активных добавок к пище, должны обеспечивать их эффективность и не оказывать вредного воздействия на здоровье человека (Богатырев, 1997).

В качестве растительного источника БАД могут использоваться пищевые и лекарственные растения, в состав которых входят биологически активные вещества с установленными эффектами позитивного физиологического воздействия. Наряду с наземными растениями для получения БАД используют различные виды морских водорослей. К числу перспективных источников животного происхождения относятся различные виды рыбы и морепродуктов. Многие источники макро- и микроэлементов имеют минеральное происхождение (Нечаев, 2012). В настоящее время большое внимание уделяется созданию БАД биотехнологическим способом. (Пилат, 2002). Вырабатываются БАД в виде экстрактов, настоев, бальзамов, изолятов, порошков, сухих и жидких концентратов, сиропов, таблеток, капсул и других форм (Нефедова, 2012).

По мнению многих ученых, широкое применение БАД является единственным, наиболее быстрым, экономически приемлемым и научно обоснованным путем решения проблемы связанной с питанием. Оно не требует радикальной перестройки пищевой промышленности и сельского хозяйства и может быть реализовано с использованием имеющихся мощностей пищевого и фармацевтического производства (Садоян, 2006).

Функциональная роль БАД связана с тремя направлениями их использования (Голубев, 2003):

1. Нутрицевтики

2. Парафармацевтики

3. Эубиотики

1.3.2 Нутрицевтики

Нутрицевтики — это БАД к пище, применяемые для коррекции химического состава пищи человека, представляют собой эссенциальные нутриенты — природные ингредиенты пищи: витамины и их близкие предшественники; полиненасыщенные жирные кислоты, омега-3 и другие ПНЖК; макро- и микроэлементы; отдельные аминокислоты; некоторые моно- и дисахариды; пищевые волокна (Нечаев, 2012).

Нутрицевтики подразделяют на следующие группы (Нечаев, 2007):

- БАД — источники белка и аминокислот;
- БАД — источники эссенциальных жирных кислот, липидов и жирорастворимых витаминов;
- БАД — источники углеводов;
- БАД — источники пищевых волокон;
- БАД — источники водорастворимых витаминов;
- БАД — источники макро- и микроэлементов.

Использование нутрицевтиков позволяет:

- достаточно легко и быстро ликвидировать дефицит эссенциальных пищевых веществ, повсеместно обнаруживаемый у большинства взрослого и детского населения России;
- в максимально возможной степени индивидуализировать питание конкретного здорового человека в зависимости от потребностей организма, существенно отличающихся не только по полу, возрасту, интенсивности физической нагрузки, но и в связи с генетически обусловленными особенностями биохимической конституции отдельного индивидуума, его биоритмами, физиологическим состоянием, а также экологическими условиями зоны обитания;

- максимально удовлетворить измененные физиологические потребности в пищевых веществах больного человека;
- повысить за счет усиления элементов ферментной защиты клетки неспецифическую резистентность организма к воздействию неблагоприятных факторов окружающей среды у населения, проживающего в экологически неблагоприятных регионах;
- усилить и ускорить связывание и выведение ксенобиотиков из организма;
- направленно изменить путем воздействия, прежде всего, на ферментные системы метаболизма ксенобиотиков промежуточный обмен отдельных веществ, в частности токсикантов.

Иными словами, применения БАД — нутрицевтиков является эффективной формой первичной и вторичной профилактики, а также лечения таких широко распространенных хронических заболеваний, как ожирение, сердечно-сосудистые заболевания, злокачественные новообразования, иммунодефицитные состояния (Нечаев, 2012; Сарафанова 2005).

1.3.3 Парафармацевтики

Парафармацевтики — это БАД к пище, применяемые для профилактики, вспомогательной терапии и поддержки в физиологических границах функциональной активности органов и систем, как правило, являются минорными компонентами пищи: органические кислоты, флавоноиды, кофеин, биогенные амины, регуляторные ди – и олигопептиды, некоторые олигосахариды и многие другие, так называемые, натурпродукты. К этой же категории, несомненно, могут быть отнесены и БАД, способствующие уменьшению суммарной энергетической ценности рациона или регулирующие аппетит и нашедшие широкое применение для профилактики и лечения ожирения (Нечаев, 2012).

По назначению парафармацевтики подразделяют на следующие основные группы:

- БАД общеукрепляющего действия;
- тонизирующие БАД;
- иммуномодуляторы;
- адаптогены;
- антистрессоры;
- БАД, улучшающие функционирование желудочно-кишечного тракта;
- БАД для профилактики сердечно-сосудистых заболеваний;
- аппетитогенные БАД;
- БАД, улучшающие функционирование головного мозга;
- БАД, улучшающие функционирование печени, желчного пузыря, поджелудочной железы и мочевыводящей системы;
- БАД, улучшающие функции эндокринной системы и обмена веществ;
- БАД геронтологического назначения.

1.3.4 Эубиотики

Эубиотики представляют собой живые микроорганизмы и (или) их метаболиты, оказывающие нормализующее действие на состав и биологическую активность микрофлоры желудочно-кишечного тракта (Саловарова, 2004).

Эубиотики подразделяются на пробиотики, пребиотики и синбиотики.

Пробиотики — это живые микроорганизмы и вещества микробного происхождения (микробные метаболиты), оказывающие при естественном способе введения позитивные эффекты на физиологические, биохимические и иммунные реакции организма путем стабилизации и оптимизации функции его нормальной микрофлоры (Артюхова, 2010).

Пребиотики — это препараты немикробного происхождения, способные оказывать позитивный эффект на организм через селективную стимуляцию роста или усиление метаболической активности нормальной микрофлоры кишечника.

Синбиотики — это препараты, полученные в результате рациональной комбинации пробиотиков и пребиотиков.

Функциональная роль эубиотиков направлена на (Артюхова, 2004):

- колонизацию желудочно-кишечного тракта пробиотическими микроорганизмами, проявляющими антагонизм в отношении условно-патогенных и патогенных бактерий, вирусов, грибов и дрожжей;
- улучшение нарушенного баланса микроорганизмов в кишечнике и устранение дисбактериозов и дисбиозов в целом;
- ускорение рециркуляции эстрогена, экскретирующегося в желудочно-кишечный тракт с желчью;
- оптимизацию пищеварения и нормализацию моторной функции кишечника путем выработки субстанций, оказывающих морфокинетическое действие;
- регуляцию времени прохождения пищи по желудочно-кишечному тракту за счет участия в метаболизме желчных кислот, ингибирования синтеза серотонина;
- предотвращение негативного влияния радиации, химических загрязнителей пищи, канцерогенов, загрязненной воды за счет повышения неспецифической иммунорезистентности.

Последняя функция пробиотиков в настоящее время вызывает особо повышенный интерес.

1.4 Грибы класса базидиомицеты – продуценты биологически активных веществ

Перспективным источником для создания ФПП, а также получения диетических, лечебно-профилактических и лекарственных препаратов являются отдельные виды макромицетов, в частности, грибы класса *Basidiomycetes*.

Вопросам изучения химического состава и пищевой ценности, определению природы биологически активных и лекарственных веществ, изолированных из высших базидиомицетов, посвящено большое число экспериментальных работ, результаты которых обобщались и обсуждались в ряде обзоров и монографий.

Базидиомицеты - высшие грибы с многоклеточным мицелием. К ним относятся около 30 тыс. видов (и микроскопические грибы, и грибы с крупными

плодовыми телами) (Бухало, 1988). Среди этих грибов многочисленные почвенные сапрофиты - хорошо всем известные шляпочные грибы (например, шампиньоны, навозники), есть и паразиты растений (например, широко распространенные и очень опасные для сельскохозяйственных растений головневые и ржавчинные грибы). К базидиомицетам относятся и микоризообразующие шляпочные грибы, которые успешно развиваются только в тесном контакте с корнями древесных растений (например, белый, подберезовик, подосиновик и многие другие лесные грибы). Есть среди базидиальных грибов и сапрофиты на древесине - это многочисленные трутовики - активные разрушители древесины и валежника (Черепанова, 1981).

Половое спороношение у них - базидиоспоры, т. е. экзогенные споры на особых выростах – базидиях. Такая базидия закладывается из двухъядерных клеток. Половых органов нет. Половой процесс осуществляется путем слияния двух вегетативных клеток гаплоидного мицелия, вырастающего из базидиоспоры и состоящего из одноядерных клеток. У гомоталлических видов могут сливаться гифы одного и того же мицелия. У гетероталлических видов, к которым относится большинство базидиальных грибов, сливаются клетки гиф, берущих начало от спор противоположных половых знаков: + и –. При этом происходит слияние цитоплазмы, а ядра объединяются в пары - дикарионы, которые затем делятся синхронно. Такой дикариофитный мицелий (с двухъядерными клетками), пронизывая субстрат (почву, древесину, стебли и листья растений-хозяев), может существовать длительное время. У некоторых базидиальных грибов, например у трутовиков, растущих на деревьях, или у лесных шляпочных грибов, мицелий многолетний (Дьяков, 2012).

На концах дикариофитных гиф из двухъядерных клеток образуются базидии. На базидии развиваются 2-4 базидиоспоры, сидящие на маленьких шипообразных выростах базидии - стеригмах. Дикариофитный мицелий у большинства видов базидиальных грибов характеризуется наличием пряжек, особых клеточек у поперечной перегородки клеток мицелия. Базидии с базидиоспорами могут возникать прямо на мицелии. Но у большинства базидиомицетов они образуются

на плодовых телах или внутри них (Кутафьева, 2003).

Рассеивание базидиоспор происходит путем их активного отбрасывания. В основе этого лежит повышение в самой базидии внутриклеточного давления в результате гидролиза гликогена. Процесс гидролиза сопровождается притоком в базидию воды, в результате чего и повышается в ней давление. Оно передается к базидиоспоре через узкий канал стеригмы, что значительно его ослабляет. В результате зрелая базидиоспора получает незначительный толчок при отбрасывании и отлетает всего на несколько десятых миллиметра. В дальнейшем она подхватывается токами воздуха. В закрытых плодовых телах (у гастеромицетов) базидиоспоры не отбрасываются так активно. Они освобождаются в результате разрушения базидий и общей оболочки плодового тела, а затем разносятся токами воздуха (Мюллер, 1995).

Плодовые тела базидиомицетов различны по форме и консистенции, сложены из дикариофитного мицелия. Они могут быть паутинистыми, рыхлыми, плотно-войлочными, кожистыми, деревянистыми, мягко мясистыми, могут иметь форму пленок, корочек, могут быть копытообразными или состоять из шляпки и ножки.

Спороносный слой (гимений) плодового тела у примитивных видов располагается на верхней стороне плодовых тел, а у более высокоорганизованных - на нижней. Гимений базидиальных грибов состоит из базидий с базидиоспорами и парафиз. У некоторых видов в гимений находятся цистиды - крупные клетки, возвышающиеся над гимениальным слоем. Они защищают гимениальный слой и особенно базидий от давления сверху. Форма цистид для многих видов постоянна и часто служит признаком для их определения. Поверхность плодового тела, несущую гимений, называют гименофором. У низших представителей он гладкий, а у более высокоорганизованных имеет форму зубцов, трубочек, пластинок (Горленко, 1991).

Классификация Базидиальных грибов основана на особенностях строения их плодовых тел и спороношений. Обычно Базидиальные грибы делят на два подкласса: холобазидиомицеты (*Holobasidiomycetes*) с одноклеточной базидией -

холобазидией, и фрагмобазидиомицеты (*Phragmobasidiomycetes*) либо с 4-клеточной базидией - фрагмобазидией, либо с одноклеточной - шаровидной, грушевидной или удлинённой дихотомически раздвоенной базидией (Дворонина, 1990; Черепанова, 2005).

1.4.1 Пищевая ценность плодовых тел базидиомицетов

Химический состав грибов изменяется в процессе роста, а также зависит от условий культивирования, состава субстратов, сроков хранения и других факторов (Crizan, 1978; Beelman, 1989). Анализируя литературные данные (Беккер, 1963; Соломко, 1997), можно отметить ряд закономерностей, касающихся изменений состава в зависимости от физиологического состояния мицелия и фаз развития плодовых тел культивируемых грибов. В молодых плодовых телах грибов и в биомассе активно растущего мицелия содержание белка и нуклеиновых кислот всегда выше, чем в старых плодовых телах или мицелии в стационарной фазе роста, а содержание клетчатки, напротив, увеличивается по мере старения плодовых тел или истощения источников питания мицелия (Поединок, 2007).

В молодых плодовых телах *Pleurotus ostreatus*, выросших на древесине, содержание общего белка составляет не более 22% сухой массы, а у грибов, культивируемых на оптимизированных по составу субстратах, может достигать 35%, что значительно выше, чем в большинстве злаков и овощей (Соломко, 2004). Наиболее высокое содержание белка среди культивируемых видов съедобных грибов отмечается у копротрофного вида *Agaricus bisporus*, который культивируют на богатых органическим азотом компостах. Однако и для этого вида отмечен широкий диапазон варьирования состава в зависимости не только от состава субстрата и волны плодоношения, но и от соотношения массовой доли шляпок и ножек гриба в анализируемой средней пробе, поскольку их состав различается (Beelman, 1989; Феофилова, 2003).

Грибы содержат относительно немного жиров (от 1,1 до 8,3% сухой массы), которые состоят из различных классов липидных соединений, включая свободные жирные кислоты, моноглицериды, фосфолипиды, стерины и пр. В составе различных видов культивируемых грибов присутствуют в основном так называемые омыляемые липиды (Huang, 1985; Senatore, 1990).

В грибах установлено наличие большого числа разнообразных высокомолекулярных компонентов, таких как β - глюканы, гетерополисахариды, пептоглюканы, хитин и т.д. (Bartnicki-Garcia, 1968; Беккер, 1988). Их суммарное содержание в зависимости от возраста и вида гриба может колебаться от 10 до 50% сухой массы (Crisan, 1978).

В плодовых телах различных видов дикорастущих и культивируемых грибов общее содержание минеральных веществ может достигать более 13% (Соломко, 2004).

Общее содержание важных для питания человека макроэлементов, в число которых входят калий, фосфор, натрий, кальций, магний достигает 60-70% массы золы дикорастущих и культивируемых видов съедобных грибов (Бисько, 1983). В грибах, как и в рыбных продуктах, больше всего калия и фосфора, содержание которых может составлять до 50 и 16% массы золы соответственно (Гродзинская, 1985; Соломко, 1986).

Вещества, определяющие специфический вкус и аромат грибов, стимулирующие аппетит и придающие исключительную привлекательность грибам как деликатесному продукту весьма разнообразны. Предпочтения в отношении запаха и вкуса грибов субъективны и весьма отличаются. У грибов разных видов специфический вкус и запах определяется сочетанием множества летучих компонентов (спиртов, альдегидов и т.п.), а также комбинацией таких нелетучих веществ, как нуклеотиды с большим количеством минорных продуктов метаболизма аминокислот и углеводов (Белова, 2005; Мау, 2005; Tsai, 2007).

1.4.2 Биологически активные вещества базидиомицетов

В России исследования биологически активных веществ (БАВ) макромицетов были начаты в 50-60-е гг. прошлого столетия. Исследовали общий химический состав многих традиционно используемых в питании базидиомицетов. Были изучены БАВ из грибов этого класса, закономерности ростовых процессов и особенностей биосинтеза вторичных метаболитов. Базидиомицеты из родов *Inonotus*, *Piptoporus*, *Polyporus* и др. были отмечены как наиболее активные продуценты БАВ (Бухало, 2005).

Появившийся в последнее время термин «грибной нутрицевтик» используется для обозначения нового класса соединений, экстрагируемых из плодовых тел макромицетов вообще и базидиомицетов в частности. Многие грибные нутрицевтики базидиомицетов обладают не только пищевыми, но и лечебными свойствами (Белова, 1991).

Изучение БАВ из базидиомицетов позволяет предположить, что использование высших грибов в качестве пищи или биологически активных добавок к пище может служить эффективным средством борьбы с определёнными болезнями. Исследования показывают, что соединения, экстрагированные из грибов, практически не токсичны, даже в больших дозах. Длительное применение их в качестве тонизирующего средства способно значительно улучшить здоровье человека.

Из макромицетов изолировано около 60 типов антибиотиков, активных в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, микроскопических грибов, включая дрожжи. Действующие вещества принадлежат к различным классам химических соединений – терпеноидам, хинонам, пуринам, пиримидинам, производным фенолов и др. (Белова, 1992; Денисова, 1998).

Ещё в конце 60-х годов было показано, что ряд соединений ароматической природы, такие как галловая кислота и её производные, найденные в культурах

грибов, подавляют размножение вируса ядерного полиэдроза и инактивируют вирус табачной мозаики (Шиврина, 1969; Теплякова, 2012).

Противораковая активность обнаружена у многих базидиомицетов. Это виды родов *Agaricus*, *Auricularia*, *Boletus*, *Coriolus*, *Calvatia*, *Coptinus*, *Flammulina*, *Ganoderma*, *Grifola*, *Hohenbuehelia*, *Hericium*, *Inonotus*, *Lentinus*, *Nidula*, *Paxillus*, *Pholiota*, *Piptoporus*, *Pleurotus*, *Tremella*, *Tricholoma*, *Volvariella*. По механизму действия грибные метаболиты, обладающие противораковой активностью, можно разделить на две основные группы (Низковская, 1983). Первая объединяет вещества, непосредственно воздействующие на клетки злокачественных опухолей. Вторую группу составляют соединения, которые осуществляют лечебный эффект, стимулируя иммунную систему. Как химиотерапевтические агенты, способные подавлять развитие раковых клеток HeLa in vitro, описаны синтезированные базидиальными грибами терпеноиды, стероиды, гамма-пироны, цитотоксические фенолы, жирные кислоты и др. (Бабицкая, 2003; Пучкова, 2006; Крупнодерова, 2006).

Вторую группу составляют иммунотерапевтические агенты, чье противоопухолевое действие базируется на усилении иммунных ответов. Подавляющее большинство соединений этой группы, выделенных из видов семейств *Polyporaceae*, *Tricholomataceae*, *Agaricaceae*, представлено полисахаридами, основным компонентом которых являются 1-3-бета-D-глюканы. Описаны также эффективные иммуностимуляторы иной химической природы, например, конъюгаты полисахаридов, белки. Механизм иммунотерапевтического действия грибных метаболитов основан на усилении различных иммунных ответов, обычно подавленных у онкологических больных: на активации макрофагов, усилении активности Т-клеток, повышении уровня сывороточных факторов, на минорных эффектах, приводящих к уменьшению токсичности химиотерапевтических средств. Выявлены метаболиты базидиальных грибов с антиканцерогенной активностью, способные блокировать эффект ряда канцерогенов, в частности, N-бутил-N-бутанолнитрозоамин (Краснопольская, 2001).

Лектины – ещё одна группа биологически активных компонентов грибов, представляют собой протеины или гликопротеины, специфически связанные с сахарами. Лектины не являются ни антителами, ни ферментами. Некоторые лектины проявляют противоопухолевое и иммуномодулирующее действия. Другие – избирательно склеивают клетки млекопитающих, которые были трансформированы как спонтанно, так и канцерогенными вирусами или химическими канцерогенами. Подобные исследования позволяют значительно продвинуться в изучении раковых заболеваний. Кроме того, некоторые лектины могут быть использованы для ингибирования злокачественных клеток (Леонова, 2005).

Способность снижать содержание холестерина в крови обнаружена у многих базидиальных грибов, относящихся к семействам *Polyporaceae* и *Agaricaceae*. Механизм снижения холестерина связывают, во-первых, с наличием в базидиомицетах ловастатинов – ингибиторов редуктазы (Gunde-Cimerman, 1993), во-вторых, в результате адсорбции холестерина не перевариваемыми в желудочно-кишечном тракте высокомолекулярными полисахаридами, такими, например, как предлагаемый в Японии препарат из *Tremella fuciformis*, который рекомендуется для снижения холестерина и профилактики атеросклероза (Fujimoto, 1991).

Высшие базидиальные грибы являются хорошим натуральным **источником антиоксидантных компонентов**. Высокая антиоксидантная активность показана для экстрактов из плодовых тел многих видов дикорастущих и культивируемых съедобных и лекарственных грибов, включая виды рода *Pleurotus*, а также *Flammulina velutipes*, *Hypsizygus marmoreus*, *Agrocybe aegerita* и др. (Шишкина, 2006; Cheung, 2000).

Антиоксидантные свойства грибов связаны с присутствием в их составе хорошо известных антиоксидантов – витаминов С и Е, а также таких микроэлементов, как селен и цинк (Бадалян, 2003). Антиоксидантное действие бетулинана А – бензохинона, изолированного из *Lenzites betulinus*, было в четыре раза сильнее, чем действие витамина Е при сравнительном исследовании

ингибирования процесса перекисного окисления липидов. Высокой антиоксидантной активностью обладает вариегатовая кислота – вещество полифенольной природы, содержащееся в этанольных экстрактах *Boletus edulis* и других видов (Бадалян, 2000).

Показано, что плодовые тела ряда широко культивируемых базидиальных грибов содержат стабильный природный антиоксидант с уникальными свойствами – эрготионин, который является необычным серосодержащим производным (2-тиоимидазол) аминокислоты гистидина (Dubost, 2006; Beelman, 2007; Grigat, 2007). Содержание эрготионина в плодовых телах ксилотрофных видов *Pleurotus ostreatus*, *P. eryngii*, *Lentinus edodes* и *Grifola frondosa* составляет от 1,72 до 2,09 мг на 1 г сухой массы, а в плодовых телах *Agaricus bisporus* значительно ниже (0,41 - 0,68 мг/г).

Способность регулировать кровяное давление, описано у грибов рода *Pleurotus*, *Grifola frondosa*, *Lentinus edodes*, *Polyporus confluens*. Среди метаболитов, обладающих подобной активностью, можно отметить пептидогликан и фруктогликан, грифолин и неогрифолин (Краснопольская, 2001).

1.4.3 Практическое применение высших базидиомицетов

1.4.3.1 Грибная индустрия

С давних пор внимание ученых-микологов и грибников-любителей привлекала перспектива превращения грибов в сельхозкультуру (Калер, 1960). Еще с 600 года н.э. в странах Юго-Восточной Азии начали культивировать гриб *Lentinula edodes* - шиитаке (шиитаке), или черный лесной гриб. С VI столетия в Китае и Корее выращивают аурикулярию уховидную, или иудино ухо, а также близкие к нему древесные уши. Во Франции давно занимаются черным трюфелем. Около 300 лет более чем в 70 странах мира разводят шампиньоны, так

как с ними меньше хлопот, они не образуют микориз и живут на почве, богатой органикой (Бухало, 1978).

Всего в мире используют уже около 40 видов, из которых 10-12 выращивают в промышленных масштабах – около 5млн. т/год на сумму более 10 млрд. долларов США, что сравнимо с производством кофе. В экономически развитых странах (Япония, Германия, Франция) потребление их на душу населения составляет около 50 кг/год. В ряде стран (Франция, Англия, США, Голландия и др.) создана целая грибная индустрия, осуществляющая и выращивание, и переработку (Морозов, 2000).

Первое место в мире по объемам производства среди искусственно выращиваемых грибов занимает шампиньон (37,6%), за ним шиитаке (16,8%) и виды вешенки (16,2%), виды иудиного (8,6%), соломенного гриба (6,1%), опенка зимнего (4,7%), снежного гриба (3,2%). На частицу других грибов (буковый гриб, кольцевик, гриб-баран, опенок летний, навозник белый лохматый и др.) приходится менее 7%. В странах Европы и Северной Америки преобладает производство шампиньонов, в странах Юго-восточной Азии первенство принадлежит или шиитаке (Япония), или вешенке (Китай, Таиланд) (Билай, 2000).

Интенсивное развитие промышленного культивирования съедобных грибов обусловлено несколькими факторами (Сычов, 2003):

- высокой производительностью культивирования грибов, которые являются самой высокоурожайной сельскохозяйственной культурой;
- грибы являются источником белка, витаминов, микроэлементов;
- для культивирования съедобных грибов используются отходы сельского, лесного хозяйства и перерабатывающей промышленности, то есть одновременно решается проблема производства продуктов питания и экологическая проблема утилизации отходов, которая стоит сегодня достаточно дорого;
- технология культивирования грибов является экологически чистой и ее можно полностью механизировать;

- выращивание грибов является безотходным производством, поскольку субстраты после сбора грибов можно использовать в качестве белковой витаминизированной добавки на корм скоту или как удобрения.

На рынке сегодня широко используются несколько типов продуктов из грибов в форме (Цапалова, 2007):

- сушеные плодовые тела грибов в виде капсул или таблеток;
- порошок культивируемых грибов, спиртные и водные вытяжки из порошка;
- концентраты и их смеси;
- сушеные комбинированные препараты из субстратной грибницы;
- биомасса или экстракт грибницы, собранной из глубинной жидкой культуры и выращенной в ферментере.

Во многих лабораториях ведутся поиски новых для культивирования видов грибов. Некоторые из них (рядовка фиолетовая, зонтик пестрый) уже введены в производство.

1.4.3.2 Использование грибов в кормопроизводстве

Для рентабельного ведения животноводства необходимо переходить на инновационные технологии кормления. Жизнестойкость и продуктивность сельскохозяйственных животных и птицы можно обеспечить с помощью полноценного и сбалансированного рациона кормов. Поэтому в современных условиях актуальным становится использование натуральных кормов на основе грибных кормовых добавок. В результате использования грибной биомассы базидиомицетов в качестве кормовой добавки решается проблема несбалансированности рационов кормления животных, а также увеличение потребления натурального мяса и молока, при производстве которых не используются искусственные стимуляторы роста и антибиотики (Юцковский, 2004).

1.4.3.3 Использование препаратов грибного происхождения в медицине

В Китае выпускаются капсулы с полисахаридным препаратом из *Tremella fuciformis*, который рекомендуется использовать для восстановления функции иммунной системы при химиотерапии и радиотерапии раковых больных. Наряду с полностью или частично очищенными препаратами полисахаридов выпускают таблетки из мицелия *Hericium erinaceus* и *Ganoderma lucidum*, таблетки *Marasmius androsaceus*, глубинно выращенный мицелий, которого содержит значительное количество маразмиевой кислоты, применяемой для лечения невралгий и ревматоидных артритов. Таблетки из мицелия *Armillariella mellea* применяются в разных случаях нервных заболеваний, включая эпилепсию. Каждая таблетка содержит 50 мг сухого порошка глубинно выращенного мицелия. Выпускаются таблетки из глубинно выращенного мицелия *Armillariella tabescens*, которые понижают давление и увеличивают секреторные функции организма (Yang, 1989).

Так называемые полисахаридные иммуномодуляторы, безусловно, – наиболее значительная группа современных лекарственных препаратов из грибов, которые производятся и используются в Японии, Китае и других странах Юго-Восточной Азии как вспомогательные средства в терапии рака. Лентинан из *Lentinus edodes*, шизофиллан из *Schizophyllum commune*; крестин, который получают экстракцией мицелия *Trametes versicolor*; фракция из *Grifola frondosa* и полисахаридный препарат тремелластин из *Tremella fuciformis* широко используются в клиниках этих стран для иммунотерапии раковых больных в дополнение к такому основному лечению, как хирургическое удаление опухоли, радиотерапия и химиотерапия (Denisova, 2001).

Результаты клинического использования указанных препаратов свидетельствуют о том, что положительное их действие было очевидным, как правило, только в случаях применения после хирургического удаления опухоли.

1.4.3.4 Применение грибной биомассы в косметологии

Экстракты из рейши применяют также как составные компоненты лосьонов от загара, предохраняющих от излишнего ультрафиолетового облучения. В Японии предлагаются способы получения и использования биомассы *Tremella fuciformis* как основы для косметического использования в виде туалетной воды, лосьонов и кремов (Соломко, 2004).

1.5 Характеристика гриба *Laetiporus sulphureus*

Перспективным источником для создания биологически активной добавки является высший базидиальный гриб серно-желтый трутовик - *Laetiporus sulphureus*.

Laetiporus sulphureus – гриб - трутовик семейства Полипоровые (Polyporaceae). Трутовиковые грибы относятся к классу Базидиальных грибов, к подклассу Холобазидиомицеты (Holobasidiomycetidae). Этот подкласс объединяет грибы с нераздельной одноклеточной, булавовидной или цилиндрической базидией (Banic, 1999; Иванов, 2005; Волкова, 2011).

Он является ксилотрофом, факультативным сапротрофом, возбудителем бурой гнили, которая развивается в основном скрыто в центральной части ствола (Banic, 2000).

Серно-жёлтый трутовик имеет однолетнее плодовое тело, расположенное невысоко над землёй на стволах деревьев. На первой стадии развития оно выглядит как каплевидная желтоватая масса. Постепенно плодовое тело твердеет, приобретая характерную форму «уха», состоящего из нескольких сросшихся веерообразных псевдошляпок, часто сидящих на одном общем основании, изредка одиночных. Размер шляпок от 10 до 40 см. Максимальная толщина у ствола дерева — около 7 см. Масса гриба может достигать 20 кг. Гриб покрыт лёгким пушком кремово-жёлтого цвета (Озерова, 2006; Билялова, 2011).

Плодовые тела *L. sulphureus* имеют яркий оранжевый окрас с розовым оттенком, но со временем яркость цветов теряется, они выцветают и становятся бледно-желтыми.

Растет серно-жёлтый трутовик с последней декады мая до сентября (массовое плодоношение с конца мая до третьей декады июня) в лиственных лесах (чаще на дубах, ивах, реже на кленах, ясенелистных, грушах) в парках, садах. Интенсивность и продолжительность освещения влияют на сроки появления плодоношения, величину, окраску, форму и степень развития плодовых тел. Свет — одно из наиболее существенных условий для развития плодовых тел в культуре. В темноте или при недостаточном освещении образуются лишь зачатки плодовых тел в виде цилиндрических или другой формы выростов. В литературе этот гриб называют «Желтым цыпленком леса».

По отношению к кислороду *L. sulphureus* является аэробом. Хорошо растет на твердых и жидких питательных средах. *L. sulphureus* как и многие грибы участвует в круговороте азота и углерода, в процессах минерализации.

Молодые плодовые тела *L. sulphureus* съедобные, и в некоторых странах мира они считаются деликатесом, а цена 1 кг этого гриба достигает от 0,6 до 8,1 долларов США. В юго-восточных странах этот гриб широко употребляется в традиционной народной медицине (Дзыгун, 2011).

Гименофор трубчатый, с мелкими округлыми или зубчатыми порами (3 – 5 на 1 мм). Трубочки жёлтые, короткие, длиной 2 - 4 мм (Киселева, 2012). Молодые грибы обильно выделяют водянистые капельки жёлтого цвета.

Споровый материал бледно-кремовый. Генеративные гифы в ткани тонкостенные, с простыми перегородками, относительно редко ветвящиеся, диаметром 4 – 12 мкм. С возрастом появляются связывающие гифы с утолщенными или толстыми стенками, сильно ветвящиеся, с ветвями, отходящими от главного ствола, диаметр 4 – 20 мкм, полностью замещающие генеративные. Базидии булабовидные, с 2 – 4 стеригмами и соответственно формируют 2 или 4 базидиоспоры.

Большая часть веществ, необходимых грибам для питания, находится в нерастворимом состоянии, особенно это касается источников углеродного питания. Поэтому огромную роль в жизни грибов играют ферменты, переводящие различные соединения из нерастворимого состояния в растворимое. Все без исключения дереворазрушающие грибы обладают способностью разлагать целлюлозу, так как фермент, разрушающий целлюлозу, имеется в клетках всех трутовиков. Полипоровые грибы развиваются на древесине, вызывая белую или бурую гниль. При проникновении гиф гриба в древесную клетку экзоферменты растворяют ее оболочку. Отверстие, образующееся в оболочке древесной клетки, всегда несколько шире, чем диаметр гифы. В процессе разложения древесина изменяет окраску, становится красноватой или ржаво-красной, затем темно-бурой от освобожденного лигнина. При этом она легко крошится, заметно теряет в объеме и массе.

Грибы рода *Laetiporus sulphureus* хорошо растут и развиваются при твердофазном и глубинном культивировании. Эффективность синтеза БАВ грибом зависит от многих факторов: влажность среды, наличие макро- и микроэлементов, температура культивирования, освещенность.

1.5.1 Пищевая ценность гриба *Laetiporus sulphureus*

Биомасса гриба содержит до 38–40% СВ белка, характеризующегося высоким содержанием особо ценных незаменимых аминокислот. Около 40% общего количества аминокислот приходится на аланин, лейцин, аспарагиновую и глютаминовую кислоты, а среди свободных аминокислот значительное содержание аланина и треонина. В плодовых телах *L. sulphureus*, выращенных на экспериментальных плантациях, обнаружено 24 свободных аминокислоты, общее содержание которых составило 1,00–6,59 %. Фракционный состав протеина *L. sulphureus*, представленный альбуминами — $20,49 \pm 0,74$ %, глобулинами — $10,87 \pm 0,48$, глутелином — $6,58 \pm 0,15$ и проламином — $14,26 \pm 0,70$ % (процент

от общего протеина), свидетельствует о высокой пищевой ценности белка этого гриба. (Дзыгун, 2011).

Важными компонентами, как плодовых тел, так и мицелия являются полимерные соединения, которые входят в состав клеточной стенки. Среди таких соединений стоит отметить пектиновые вещества, состав которых в мицелии *L. sulphureus* составляет 3,5% фракции, которые не разрушаются при нагревании в концентрированных кислотах, и полисахариды, которые определяют довольно широкий спектр фармакологических свойств лечебных грибов (Рипачек, 1967). Материал клеточной стенки плодовых тел *L. sulphureus* на 78-88 % состоит из (1→3)- α -D-глюкана, также присутствуют хитин и (1→3)- β -D-глюкан, который получил название ламинаран. Установлено, что 98,8% всех полисахаридов плодовых тел этого гриба содержат глюкозу (Агафонова, 2007). Полисахаридные фракции содержат фукозу, манозу и галактозу в соотношении 18:35:41, которые являются составляющими разветвленного полисахарида с (1→6) - связанными α -D-галактопиранозой в главной цепи и с L-фукопиранозой, α -D-манопиранозой и 3-O- α -манопиранозо-L-фукопиранозой в боковых цепях. По данным литературы (Шиврина, 1961; Alquini. 2004), этот фукоманогалактан *L. sulphureus* подобен по структуре таким же полисахаридам из других базидиомицетов, которые обеспечивают значительную биологическую активность и широко применяются в биохимических исследованиях. По фракционному составу среди полисахаридов плодовых тел *L. sulphureus* выделяют пять фракций водорастворимых полисахаридов с молекулярной массой — $(1,5-5,6) \cdot 10^4$ Да и две фракции щелочерастворимых полисахаридов с молекулярной массой $(1,5-1,8) \cdot 10^5$ Да. Водорастворимый β -(1→3)-гетероглюкан с молекулярной массой $5,6 \cdot 10^4$ Да и с галактозой, манозой, фукозой, рамнозой и ксилозой в боковых цепях получил название латипоран А. Щелочерастворимые полисахариды представлены линейным β -(1 → 3)-гомоглюканом (Олейников, 2012).

На липидную фракцию в плодовых телах *L. sulphureus* приходится 0,60-1,03 %, в ее составе преобладают жирные кислоты с длинной цепи C12-C25 и доминированием кислот C16—C18-ряда. Ненасыщенные жирные кислоты:

пальмитоолеиновая (*цис*-9-гексадекановая), *цис*-вакценовая (*цис*-11-октадекановая), олеиновая и линолевая — составляют до 70% липидного комплекса. Насыщенные жирные кислоты представлены лауриновой, миристиновой, пентадекановой, пальмитиновой, маргариновой, стеариновой, арахидовой, бегеновой, трикозановой и лигноцериновой. Содержание этих кислот составляло 27,79 – 42,39 % суммарного содержания нейтральных липидов (Агафонова, 2007; Гвоздикова, 2004). Содержание липидов в мицелии *L. sulphureus* превышает 20% сухой биомассы с преобладанием линолевой кислоты (65 – 70 % жирных кислот), что похоже на жирнокислотный состав плодовых тел (Гвоздкова, 2002).

Фосфолипиды мицелия *L. sulphureus* составляют $8,0 \pm 1,5$ % липидов и представлены лизофосфатидилхолином ($4,1 \pm 1,2\%$), сфингомиелином ($0,6 \pm 0,3\%$), фосфатидилхолином ($21,0 \pm 1,7\%$), фосфатидилинозитом и фосфатидилсерином ($15,3 \pm 1,6\%$), фосфатидилэтаноламином ($41,5 \pm 2,2\%$), фосфатидилглицерином, кардиолипином и фосфатидиловой кислотой ($17,6 \pm 2,2$ %) (Капич, 1993).

Зрелые плодовые тела *L. sulphureus* имеют кисловатый вкус, что связано с накоплением органических кислот, общее содержание которых составляет 3,27-5,05 %. В состав органических кислот входит винная, лимонная, яблочная, малоновая и янтарная кислоты. В зрелых плодовых телах *L. sulphureus* содержание свободных органических кислот достигается до 1,44 %, а связанных до 3,80 % (Агафонова, 2007). В глубинной культуре *L. sulphureus* также накапливает кислоты. После культивирования уровень pH культуральной жидкости снижается до 2,5-2,7. Такая значительная кислотность культуральной жидкости связана с накоплением пропионовой, масляной, изомасляной, изовалериановой, валериановой, молочной, щавелевой и гиппуровой кислот (Дзыгун, 2011).

Плодовые тела *L. sulphureus* имеет такие стеролсодержащие фракции: вещества, которые экстрагируются спиртом, — 10,58 %; неомыляемые вещества (стероидные вещества) — 2,54 %; тритерпеновые кислоты — 1,14 % сухого веса

(Шиврина, 1965). Тритерпеновая эбуриковая кислота обнаружена в культуральном мицелии *L. sulphureus*, синтезируется из остатков уксусной кислоты. Это дает грибу возможность утилизировать уксусную кислоту, которая в значительных количествах может накапливаться грибами бурой гнили.

Содержание органических кислот, углеводов, жирных кислот, фенолов, алкалоидов и аминокислот в значительной степени определяется климатическими условиями места произрастания гриба.

1.5.2 Лечебные свойства *Laetiporus sulphureus*

Высокое биологическое действие биомассы лекарственных грибов в определенной степени зависит от наличия в их составе комплекса физиологически активных соединений. Различные биологически активные соединения, синтезируемые *L. sulphureus* обеспечивают фармакологические свойства биомассы в качестве лечебно-профилактического препарата. Наибольшее содержание биологически активных соединений и наиболее выраженный антиоксидантный эффект приходится на фазу зрелого плодового тела (Гвоздиков, 2002).

Носителем биологической активности мицелия гриба является липокаротиноидный комплекс. В составе каротиноидных пигментов мицелия гриба *L. sulphureus* выявлено 3 фракции, которые являются ксантофиллами, а точнее, кетокаротиноидными кислотами. Количественное соотношение каротиноидных фракций в общей их компоненте составляет - 6,4:86,7:6,9. Наиболее высокий удельный вес приходится на пигмент, получивший тривиальное название лэтипорксантин (Гвоздиков, 2006). Спиртовые ксантофиллсодержащие экстракты мицелия гриба, проявляют высокую антиоксидантную активность (70 – 90% по отношению к ионолу), которая обусловлена природой ряда липофильных соединений, входящих в их состав (Щерба, 2000; Гвоздиков, 2002; Агафонова, 2005).

На протяжении многих лет ярко-оранжевый пигмент из мицелия *L. sulphureus* - лэтипороксантин был признан основным каротиноидным пигментом гриба. Исследования немецко-итальянской группы учёных дали основание выделить пигменты *L. sulphureus*, названные ими «лэтипоровыми кислотами», в новый класс полиеновых соединений.

Из литературных источников (Ефременкова, 2006; Semerdžieva, 1986) известно, что серно-желтый трутовик проявляет антагонистическую активность относительно бактерии *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, что связано синтезом сульфидина (производный сульфаниловой кислоты). Обнаружена противомикробная активность *L. sulphureus* относительно *Bacillus subtilis* MB964, *Serratia marcescens* MB252 и *Staphylococcus aureus* MB5393 (Suay, 2000), антифунгальная активность против некоторых видов дереворазрушающих грибов, таких как *Coniophora cerebella*, *Coriolus versicolor*, *Fomes fomentarius*, *Trametes radiciperda* и к земляному микромицету *Trichoderma viride* (Шиврина, 1965).

Спиртовый и водный экстракты из *L. sulphureus* проявляют иммуномодулирующие свойства, облегчая последствия влияния бактериального эндотоксина на иммунную систему, снижая воспалительный запальный цитокинез фактора некрозу опухолей α -TFN и стимулируя освобождение регуляторного интерлейкина IL-4 (Konska, 1994).

Японскими исследователями (Tokumitsu Okamura, 2000) установлено, что культуральная жидкость *L. sulphureus* штамма W008T проявляет тромболитическую активность по сравнению с другими исследованными грибами.

Латипоран А из полисахаридов водорастворимой фракции в экспериментах *in vivo* на модели токсического CCl₄-гепатита крыс проявлял протекторные свойства за счет влияния на процессы перекисного окисления липидов, снижая концентрации малонового диальдегида (Гродзинская, 2004; Агафонова, 2007). Экзополисахариды *L. sulphureus* var. *miniatus* проявляли дозозависимый стимулирующий эффект на пролиферацию клеток RINm5F инсулином и секрецию инсулина (Hwang, 2010).

Известно использование экстракта из биомассы гриба *L. sulphureus* в качестве противовирусного средства в отношении растительных вирусов (патент Японии 1272508, МПК A01N 63/04, опубликованный 31.10.1989 г.).

Квачевой З.Б., Капичем А.Н., Вотяковым В.И., Николаевой С.Н. установлено, что экстракты мицелия этого гриба проявляли активность в отношении вариантов вируса простого герпеса первого типа (ВПГ-1), устойчивых к ингибиторам ацикловиру и фосфоноуксусной кислоте, обладающим высокой избирательностью антивирусного эффекта (Капич, 2004; Квачева, 2005).

Филипповой Е. И., Мазурковой Н. А. и другими получен патент РФ №2475530 опубликованный 22.03.2011 «Ингибитор репродукции вируса гриппа А на основе экстракта базидиального гриба *Laetiporus sulphureus*». Где на основании проведенных исследований токсичности и противовирусной активности водных экстрактов базидиального гриба *L. sulphureus* выявлено, что грибной экстракт малотоксичен для культуры клеток MDCK и лабораторных животных. Установлено, что экстракт подавляет размножение пандемического вируса гриппа A/Moscow/226/2009 (H1N1) в культуре клеток MDCK. В опытах *in vivo* при пероральном введении экстракта базидиомицета мышам, инфицированным штаммом пандемического вируса гриппа A/Moscow/226/2009 (H1N1), наблюдается уменьшение его продукции в легких животных.

Наличие в глубинном мицелии гриба *L.sulphureus* целого комплекса биологически активных липофильных соединений: каротиноидов, полиеновых жирных кислот, стероидных соединений (эргостерин, тритерпеновые кислоты), фосфолипидов и др., обладающих фармакологическими свойствами, может послужить основой для разработки технологии получения биологически активной добавки.

Заключение

Анализируя литературные данные, следует отметить, что в настоящее время является перспективным получение БАД на основе высших базидиальных грибов, в частности *Laetiporus sulphureus*. В Белоруссии производится БАД к пище «Летипорин» общеукрепляющего действия, направленный на улучшение функций сердечно-сосудистой системы, кишечника, иммунитета, устойчивости к простудным заболеваниям. В состав «Летипорина» входит мицелий гриба трутовика серно-желтого, полученный путем глубинного культивирования чистой культуры гриба в промышленных условиях, аскорбиновая кислота и микрокристаллическая целлюлоза (Гвоздикова, 2004, 2005).

В Институте микробиологии НАН Беларуси разработан и производится препарат «Липокар» на основе биомассы трутовика серно-желтого. Препарат «Липокар» предназначен для применения в промышленном птицеводстве (для цыплят-бройлеров, кур-несушек, племенных кур, уток, гусей, индюков и перепелов) в качестве иммуностимулирующего, антиоксидантного, антистрессорного и детоксицирующего средства, а также для обогащения продуктов птицеводства каротиноидами.

Вместе с тем мало работ, связанных с получением БАД в пищу, так как большее внимание уделяется получению грибных препаратов для медицинских целей.

Употребление БАД на основе *Laetiporus sulphureus* в составе пищевых продуктов будет обеспечивать недостающие потребности человека в ненасыщенных жирных кислотах, витаминах. Возможно получение препарата иммуностимулирующего действия на основе липокаротиноидного комплекса гриба *Laetiporus sulphureus*. В лабораторных условиях гриб выращивается в кислой среде, а, следовательно, обладает высокой устойчивостью к инфицированию посторонней микрофлорой, что создает возможность вести процесс ферментации в полустерильных условиях, характеризуется

крупноклеточной структурой, позволяющей легко отделять его от культуральной жидкости.

В этой связи видится целесообразность разработки технологии получения БАД в пищу на основе *Laetiporus sulphureus*.

Решение задач диссертационного исследования на базе современных представлений и методов биотехнологии позволит в известной мере дополнить имеющиеся данные по культивированию исследуемого гриба и рассмотреть возможность использования биомассы в качестве БАД в составе пищевых продуктов.

Глава 2 Материалы и методы

2.1 Материалы исследований

2.1.1 Приборы

- Автоклав ВК 75;
- Аналитические весы Ohaus Adventurer Pro AV264;
- Вакуум-насос KNFLAB;
- Весы VIC-5100d1;
- Водяная баня типа LT-6 / ЛТ-6;
- Горелка ГОСТ 25336-82;
- Дистиллятор ДЭ-4-02 ЭМО;
- Дозатор с переменным объемом дозирования 20-200, 50-5000, 100-1000, 100-5000 мм³ типа Эппендорф;
- Качалочная установка для выращивания микроорганизмов в колбах (180-200 об/мин);
- Колонка хроматографическая Chorompack Capillary column test Report CP;
- Лабораторная зерновая мельница ЛЗМ-1М;
- Механический дозатор для стеклянных пипеток;
- Микроскоп МИКМЕД-5, №ХН7939;
- Прибор Чижовой «Кварц-21М33-1»;
- рН-метр портативный ПИК-1;
- Спектрофотометр, СФ-2000;
- Сушильный шкаф СШ -10;
- Термостат ТС – 1/80 СПУ, ТУ 9452-002-00141798-97;
- Фотоэлектроколориметр лабораторный КФК-3-0;
- Холодильник бытовой электрический с морозильной камерой, обеспечивающей температуру -20° С Indesit;

- Хроматограф газовый Carlo Erba, Strumentazione HRGC 5300 Mega Series, Италия;
- Центрифуга лабораторная настольная типа ОПн-8;
- Электроплитка бытовая, ГОСТ 14919-83.

2.1.2 Расходные материалы, лабораторная посуда

- Бумага фильтровальная лабораторная, ГОСТ 12026-76;
- Бюксы, ГОСТ 25336-82;
- Бюретка, ГОСТ 29251-91;
- Вата медицинская, ГОСТ 5556-81;
- Воронка капельная, ГОСТ 25336-82;
- Воронки стеклянные, ГОСТ 23740-79;
- Держатели для пробирок;
- Камера Тома-Горяева, ТУ У 33.1. -14307481-045:2008;
- Колбы конические объемом 250 см³, ГОСТ 1770-74;
- Колбы мерные вместимостью 25, 50, 100, 250, 500, 1000 см³, ГОСТ 1770-74;
- Колбы Эрленмейера емкостью 750 см³, ТУ 92-89/029-91;
- Марля медицинская, ГОСТ 9412-93;
- Мензурки вместимостью 50, 100 см³, ГОСТ 1770-74;
- Микробиологическая петля, ГОСТ 492-73;
- Наконечники для автоматических дозаторов типа Эппендорф;
- Обратные холодильники;
- Окуляр метр, ГОСТ 7885-56;
- Покровные стекла, ГОСТ 6672-75;
- Предметные стекла, ГОСТ 9284-75;
- Пробирки на шлифе вместимостью 10, 15, 25 см³, ГОСТ 1770-74;
- Пробирки стеклянные, ГОСТ 1770-74 ;
- Пробки резиновые разного диаметра для колб, ТУ 38 105 1835-88;
- Секундомер;

- Скашиватели, ТУ 64-1-361-80;
- Стекланные пипетки объемом 1,2,5,10 см³, ГОСТ 1770-74;
- Стекланные стаканчики объемом 50, 100, 500 см³, ГОСТ 1770-74;
- Ступка фарфоровая, ГОСТ 9147-80;
- Термометр ртутный стекланный лабораторный, ГОСТ 28498-90;
- Цилиндры вместимостью 50, 100 см³, ГОСТ 1770-74;
- Чашки Петри, ГОСТ 25336-82;
- Шпатели;
- Штативы для пробирок;
- Эксикатор, ГОСТ 25336-82.

2.1.3 Химические реактивы

- Агар микробиологический, ГОСТ 17206-84;
- Борная кислота, ГОСТ 18704-78;
- Бычий сывороточный альбумин, ТУ 6-09-10-342-75;
- Вода дистиллированная, ГОСТ 6709-72;
- Водорода пероксид (высококонцентрированный), ГОСТ 50632-93;
- Гексан-н, ТУ 2631-003-05807999-98;
- Гидроксид аммония, ГОСТ 3760-64;
- Гидроксид натрия, ГОСТ 2263 79;
- Гидрофосфат калия, ГОСТ 2439-75;
- Гидрофосфат натрия, ГОСТ 11773-76;
- Гидрохлорид, ГОСТ 857-95;
- Глюкоза, ГОСТ 6038-79;
- Дигидрофосфат калия, ГОСТ 4198-75;
- Дрожжевой экстракт;
- Иодид калия, ГОСТ 4232-74;
- Казеинат натрия, ГОСТ 17626-81;
- Калий двухромовый, ГОСТ 4220-75;

- Калий сернокислый, ГОСТ 4145-74;
- Калий-натрий виннокислый, ГОСТ 5845-79;
- Карбонат кальция, ГОСТ 12085-88;
- Карбонат натрия, ГОСТ 5100-85;
- Кислород, ГОСТ 5583;
- Кислота лимонная, ГОСТ 908-2004;
- Кислота ортофосфорная, ГОСТ 6552;
- Кислота серная, ГОСТ 4204-66;
- Кислота уксусная ледяная, ГОСТ 61-75;
- Крахмал, ГОСТ 7699-78;
- Медь сернокислая 5-водная, ГОСТ 4165-78;
- Метиловый красный, 0,02% раствор;
- Н-гексан, ТУ 2631-003-05807999-98;
- Натрий азотистокислый, ГОСТ 4197-77;
- Натрий сернокислый, ГОСТ 4166-76;
- Натрий хлористый, ГОСТ 4233-77;
- Нитрат калия, ГОСТ 19790-74;
- п-Нитроанилин, ГОСТ 4398-59;
- Пептон, ГОСТ 13805-76;
- Реактив Нesslerа ГОСТ 4517-87;
- Реактив Фолина-Чиокалтеу, Panreac;
- Сульфат аммония, ГОСТ 9027-82;
- Сульфат железа, ГОСТ 4517;
- Сульфат магния, ГОСТ 4523-77;
- Сульфат меди, ГОСТ 19347-74;
- Сульфат цинка, ГОСТ 4174;
- Трихлоруксусная кислота (ТХУ), ТУ 6-09-1926-77;
- Уксусная кислота, ГОСТ 19814-74;
- Фенолфталеин, ГОСТ 4919.1-77;

- Хлорид аммония, ГОСТ 2210-73;
- Хлорид кальция, ГОСТ 450;
- Хлорид марганца, ГОСТ 612-75;
- Хлороформ, ГОСТ 20015-88;
- Цитрат натрия, ГОСТ 31227-2004;
- Этилацетат, ГОСТ 8981-78;
- Этиловый спирт, ГОСТ 5963-67.

2.1.4 Сырье, применявшееся в работе

В ходе работы было использовано сырье, первичное и вторичное сырье.

Молочная сыворотка по ГОСТ Р 53438-2009, изготовитель ЗАО «Лактис».

Соевая мука необезжиренная по ГОСТ 3898-56, изготовитель ООО «Гарнец».

Мука овсяная по ТУ 9293-002-43175543-03, изготовитель ООО «Гарнец».

Мука гречневая по ТУ 9293-002-43175543-03, изготовитель ООО «Гарнец».

Вода по СанПиН 2.1.4.1074-01.

Горчичный порошок по ТУ 9146-015-49073982.

Дрожжи сухие по ГОСТ Р 54731-2011.

Масло подсолнечное по ГОСТ Р 52465-2005.

Маргарин по ГОСТ Р 52178-2003.

Мука пшеничная по ГОСТ Р 52189-2003.

Сахар – песок по ГОСТ 21-94.

Соль поваренная пищевая по ГОСТ Р 51574-2000.

Яйца куриные по ГОСТ 52121-2003.

Яичный порошок по ГОСТ Р 53155-2008.

2.1.5 Питательные среды, используемые в работе

Состав питательных сред (ПСр), используемых в работе, представлен в таблице 3.

Таблица 3– Составы питательных сред, используемых в работе.

Питательная среда	Состав
№1 Сабуро	Панкреатический гидролизат рыбной муки -10,0 г/дм ³ ; панкреатический гидролизат казеина - 10,0 г/дм ³ ; экстракт пекарных дрожжей - 2,0 г/дм ³ ; натрий дигидрофосфат- 2,0 г/дм ³ ; глюкоза- 40,0 г/дм ³ ; агар- 10,0±2,0 г/дм ³ .
№2 Глюкозопептонная среда	Глюкоза – 40г/дм ³ ; пептон – 20г/дм ³ .
№3 Лактозопептонная среда	Лактоза – 40г/дм ³ ; пептон – 20г/дм ³ .
№ 4 ГРМ - агар	Панкреатический гидролизат рыбной муки – 24,0 г/дм ³ ; NaCl – 4,00 г/дм ³ ; агар микробиологический – 10,0 г/дм ³ .
№5 Оптимизированная среда	Соевая мука необезжиренная – 40,0 г/дм ³ ; NH ₄ NO ₃ – 15,4 г/дм ³ .

2.1.6 Штаммы микроорганизмов, использованные в работе

В качестве объектов на различных этапах исследования использовались: плодовые тела высших базидиомицетов, чистая культура гриба *Laetiporus sulphureus* 3X, биологически активная добавка к пище «Летисульфурин».

В работе была использована лабораторная коллекция микроорганизмов кафедры «Биотехнология» ФГБОУ ВПО «МГУПП», коллекция культур микроорганизмов, выделенных сотрудниками кафедры из природных источников обитания.

2.2 Методы

Все измерения проводили не менее чем в трех повторностях. Статистическая обработка результатов экспериментальных исследований проводилась с помощью программы Microsoft Excel 2010. В работе представлены средние результаты с достоверностью 95%.

2.2.1 Выращивание культур микроорганизмов

2.2.1.1 Выращивание культур микроорганизмов в условиях глубоинной ферментации

Глубинное культивирование штамма-продуцента проводили в колбах Эрленмейера емкостью 750 см³ со 100 см³ ПСр на качалочной установке при $n=180$ об/мин в течение 10 суток при 25°C. Стерилизацию ПСр осуществляли в автоклаве при 0,1 МПа в течение 30-40 минут. Состав ферментационной среды указан в каждом эксперименте.

В качестве посевного материала использовали суспензию инокулята исследуемого гриба, выращенного в колбах малого объема на жидкой питательной среде состава ПСр №1 в течение 5 суток при 25° -27° С. Инокулят вносили в колбы Эрленмейера в количестве 20% от объема питательной среды.

По завершению культивирования грибные клетки из культуральной жидкости удаляли центрифугированием при 8000 об/мин в течение 15-20 мин и высушивали конвективным методом с температурой теплоносителя-воздуха не более 45-50°C до остаточной влажности 8-10%.

2.2.1.2 Выращивание культур микроорганизмов поверхностным способом на чашках Петри

Поверхностное культивирование штамма-продуцента проводили в чашках Петри диаметром 10 см с 20 см³ стерильной агаризованной ПСр в течение 8 суток при 25° С. Стерилизацию ПСр осуществляли в автоклаве при 0,1 МПа в течение 30-40 минут. Состав ферментационной среды указан в каждом эксперименте. Посев проводили микробиологической петлей уколом.

В качестве посевного материала использовали поверхностную культуру гриба, выращенного в пробирках на скошенной агаризованной среде состава ПСр №1.

2.2.2 Выделение чистой культуры гриба

Плодовые тела серно-желтого трутовика собирались в Центральных областях России согласно «Определителю грибов» Томаса Лессо. Выделение вели по общепринятой методике тканевым методом (Билай, 1982). Перед выделением плодовое тело осторожно очищали от прилипших растительных остатков, промывали в стерильной воде и сушили на фильтровальной бумаге. С целью стерилизации плодовое тело обтирали 96–% этиловым спиртом или быстро обжигали над пламенем горелки.

Из плодового тела стерильным сверлом вырезали кусочек диплоидного мицелия и в асептических условиях вносили его на питательный субстрат. После инкубирования в термостате при температуре 24-26°С на третьи сутки появлялся первый мицелий гриба, который вновь пересеивался на питательный агар и многократным пересевом добивались получения чистой культуры гриба.

2.2.3 Поддержание чистых культур грибов и приготовление посевного материала

Чистые культуры грибов хранились в пробирках со скошенным Сабуро-агаром (ПСр №1) в холодильнике при температуре 4°C. Смыв с них использовали как посевной материал при засеве небольших объемов жидких и твердофазных питательных сред.

2.2.4 Методы исследования грибов в чистой культуре

2.2.4.1 Морфологические признаки

С помощью фазовой оптической микроскопии на микроскопах МИКМЕД 5 исследовали форму, размер и соединение гиф, наличие спор и пряжек.

2.2.4.2 Фенотипическая характеристика

Изучение морфологических и физиолого-биохимических характеристик выделенных культур проводили, руководствуясь общей стратегией фенотипической дифференциации, описанной в литературных источниках (Войно, 2005; Гусев, 2003; Нетрусов, 2005).

2.2.4.3 Филогенетические особенности культуры

Идентификация культуры проводили путем анализа секвенсов вариабельных участков 18S рНК, а также ПЦР анализа с использованием видоспецифических праймеров в лаборатории ФГУП ГосНИИГенетика.

Этапы проведения исследования:

I. Рассев культуры до отдельной колонии и получение биомассы для анализа 18S рНК.

II. Выделение РНК.

III. Идентификация штамма по последовательности гена, кодирующего 18S рРНК.

III. 1 Выбор праймеров и режимы ПЦР.

Консервативные праймеры для наработки генов, кодирующих 18S рРНК:

NS1–gtagtcatatgcttgctc;

NS4 – cttccgtcaattcctttaag;

с режимами реакции:

1. 95°C – 3 минуты;

2. 35 циклов;

95°C – 30 сек;

57°C – 30 сек;

72°C – 30 сек;

3. 72°C – 5 минут.

IV. Секвенирование генов, кодирующих 18S рРНК, сравнение секвенсов и построение деревьев родства.

V. Условия электрофореза ПЦР исследуемых образцов: 1,0% агарозный гель, электрофорез при напряженности электрического поля 5 В/см.

2.2.5 Определение содержания сухих веществ

Концентрация сухих веществ в питательной среде и культуральной жидкости измеряли с помощью лабораторного рефрактометра марки РПЛ-3.

Содержание сухих веществ и влаги в препарате определяли методом высушивания до постоянной массы в сушильном шкафу (Иванова, 1985).

2.2.6 Определение величины рН растворов

Определение величины рН измеряли потенциометрическим методом с использованием рН-метра HANNA рН 211.

2.2.7 Математические методы планирования эксперимента для оптимизации питательной среды

2.2.7.1 Полный факторный эксперимент с использованием метода крутого восхождения

Полный факторный эксперимент (ПФЭ) с использованием метода крутого восхождения, позволяет реализовать все возможные комбинации основных уровней независимых переменных факторов среды, установить оптимальные концентрации этих компонентов среды с учетом их совместного влияния на выход биомассы, а также найти и обосновать оптимальный состав среды.

Верхний и нижний уровни устанавливались экспериментально предварительными однофакторными опытами. Учитывались эффекты двойного и тройного взаимодействия факторов. Коэффициенты уравнения регрессии, а также коэффициенты двойного и тройного взаимодействия факторов определялись по методу наименьших квадратов. Значимость коэффициентов регрессии проверялась по критерию Стьюдента. Для определения оптимального состава питательной среды пользовались программой «крутого восхождения» по методу Бокса-Уилсона (Грачев, 2005; Гайдадин, 2008).

Факторами, влияющими на эффективность накопления биомассы *L. sulphureus* 3X, являются концентрации в питательной среде соевой муки, NH_4NO_3 , KH_2PO_4 , $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$.

Уровни изучаемых факторов представлены в таблице 4 и выражены в % от объема питательной среды.

Таблица 4 – Значение факторов в натуральных переменных, единицы варьирования и концентрация основных компонентов ферментационных сред

Компонент среды	Фактор	Основной уровень (0), %	Нижний уровень (-1), %	Верхний уровень (+1), %	Единицы варьирования, %
Соевая мука	X ₁	4,0	3,0	5,0	1,0
NH ₄ NO ₃	X ₂	1,5	0,5	1,0	0,5
KH ₂ PO ₄	X ₃	0,3	0,2	0,4	0,1
MgSO ₄ *7H ₂ O	X ₄	0,1	0,05	0,15	0,05

Таблица 5 – Полный факторный эксперимент для четырех факторов

Номер опыта	Фактор в безразмерной величине			
	X ₁	X ₂	X ₃	X ₄
1	-1	-1	-1	-1
2	+1	-1	-1	-1
3	-1	+1	-1	-1
4	+1	+1	-1	-1
5	-1	-1	+1	-1
6	+1	-1	+1	-1
7	-1	+1	+1	-1
8	+1	+1	+1	-1
9	-1	-1	-1	+1
10	+1	-1	-1	+1
11	-1	+1	-1	+1
12	+1	+1	-1	+1
13	-1	-1	+1	+1
14	+1	-1	+1	+1
15	-1	+1	+1	+1
16	+1	+1	+1	+1
17	0	0	0	0

На основании матрицы (таблица 5) были составлены 17 вариантов питательных сред, которые использовали для культивирования гриба *L. sulphureus* ЗХ. Эксперименты проводились в трёхкратной повторности.

Коэффициенты уравнения регрессии определяются по методу наименьших квадратов, поэтому необходимо отметить, что экспериментальные данные должны быть однородными и нормально распределенными. Любой коэффициент уравнения регрессии определяется скалярным произведением столбца Y на соответствующий столбец, отнесенный к числу опытов в матрице планирования N :

$$b_i = \frac{1}{N} \sum_{j=1}^N x_{ij} y_i,$$

где b_i - коэффициент регрессии, N - число возможных комбинаций; x_{ij} - значение переменной в соответствующем столбце, y_i - выход биомассы г/дм³ СВ.

2.2.7.2 Метод Гаусса-Зейделя

Метод Гаусса-Зейделя – метод экспериментального поиска экстремума функций многих переменных, предусматривает поочередное нахождение частных экстремумов целевой функции по каждому фактору. При этом на каждом i -ом этапе стабилизируются $n-1$ факторов, и варьирует только один i -ый фактор. Задачу поиска максимума методом Гаусса-Зейделя решают в несколько этапов, объединенных в циклы (Шкатов, 1970; Емельянов, 2002; Alqadi, 2007).

Сначала находили оптимум для одного фактора, затем полученное значение использовали как фон и определяли оптимум следующего фактора и т.д. Результатом проведения экспериментов являлось максимальное увеличение выходного фактора (Телишевская, 2000).

2.2.8 Определение содержания белка по методу Лоури

Метод основан на двух реакциях, приводящих к образованию сине-фиолетовой окраски: образовании биуретового комплекса при действии на белок сернокислой меди в щелочном растворе и восстановлении фосфомолибденового, фосфовольфрамового реагента (реактива Фолина) тирозином, триптофаном и другими аминокислотами, содержащимися в белке. Интенсивность сине-

фиолетового окрашивания измеряли на ФЭК при длине волны 750 нм против контрольного раствора воды. Концентрацию белка в растворе определяли по калибровочной кривой, построенной по бычьему сывороточному альбумину (Lowry, 1951; Дарбре, 1989; Иванова, 2002).

2.2.9 Определение аминокислотного состава белков

Определение аминокислотного состава проводили методом жидкостной хроматографии высокого давления на аминокислотном анализаторе «Biotronik». Гидролиз проводили 6н. HCl.

2.2.10 Определение массовой доли липидов

Содержание липидов в исследуемых образцах определяли методом Сокслета согласно ГОСТ 15113.9-77.

2.2.11 Определение жирнокислотного состава липидов

Определения жирнокислотного состава липидов препарата проводили методом газовой хроматографии согласно ГОСТ 54055-2010.

2.2.12 Определение содержания «сырой» клетчатки

3г исследуемого образца обрабатывают 200 см³ 1,25 % раствора серной кислоты при кипении в колбе в течение 30 минут. Затем в колбу вводят столько 25 % NaOH, сколько его требуется для нейтрализации серной кислоты и создания концентрации щёлочи в растворе 1,25%. Кипятят в течение 30 минут, поддерживая постоянный объём. После чего осадок (целлюлозу) промывают водой до полного удаления щёлочи (индикатор – фенолфталеин). Спиртом и

эфиром переводят осадок на взвешенный фильтр, высушивают до постоянной массы и определяют содержание целлюлозы в % к массе СВ (Иванова, 2006).

2.2.13 Определение содержания гемицеллюлоз

Гидролиз гемицеллюлоз (ГМЦ) проводили семикратным количеством 6% раствора NaOH в течение часа при 20-25°C. Раствор нейтрализовали HCl, фильтровали через взвешенный фильтр и высушивали. Количество ГМЦ определяли по разнице массы навески до и после гидролиза (Иванова, 2006).

2.2.14 Определение содержания витаминов А и Е в препарате

Определение витаминов А и Е в препарате проводили методом жидкостной хроматографии согласно ГОСТ 50928-96.

2.2.15 Определение содержания никотинамида в препарате

Определение содержания никотинамида в препарате проводили методом капиллярного электрофореза согласно ГОСТ Р 52741-2007.

2.2.16 Метод определения содержания редуцирующих веществ в питательных средах

Определение сахаров по методу Шомоди-Нельсона (Войно, 2005). Определение сахаров проводил на фотоэлектрическом колориметре при длине волны 508 нм. Для определения сахаров готовили опытный раствор. Для этого отбирали 1 см³ фильтрата. К нему приливали 1 см³ раствора Шомоди и кипятили 15 минут на водяной бане. Затем смесь быстро охлаждали на ледяной бане. К 2 см³ этой смеси добавляли 1 см³ раствора Нельсона и доводили объем дистиллированной водой до 10 см³. Раствор тщательно перемешивали. При

оптической плотности раствора выше 0,5 определение повторяли с большим разведением. Количество сахаров определяли по калибровочной кривой, построенной по растворам глюкозы.

Для определения содержания редуцирующих веществ (РВ) использовали также метод Бертрана (Ермакова, 1972).

2.2.17 Определение антимикробных свойств препарата

Антимикробную активность препарата определяли методом диффузии на ГРМ. В качестве тест-организмов использовали *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*.

Производили высев газонем тест-организма на ГРМ среду в чашках Петри, затем производили вырезание блоков на поверхности агара сверлом, в образовавшиеся отверстия вносили исследуемые образцы и помещали в термостат при температуре 30°C на 3 суток.

Анализ чашек проводили каждые сутки, отмечая задержку роста (Егоров, 1994; Бурмистрова, 2002).

2.2.18 Определение сорбционной способности препарата

Сорбционную способность белкового продукта определяли по бактериальной нагрузке на 1 г препарата. Использовался ряд чистых культур: *Bacillus cereus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus mesentericus*, *Bacillus pullulans*, *Bacillus pumilus*, *Bacillus subtilis*, *Brevibacterium sp.*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas putida*, *Sarcina sp.*, *E. coli*.

В суспензию микроорганизмов, содержащую 10^7 клеток, вносили 5% препарата и выдерживали при температуре 36-37°C при постоянном перемешивании. Через 1 час суспензию центрифугировали в течение 5 минут при 5000 об/мин и в супернатанте определяли количество оставшихся клеток микроорганизмов с помощью камеры Горяева-Тома (Войно, 1999). Сорбционную

способность выражали в процентах по отношению к начальному содержанию клеток микроорганизмов в суспензии.

2.2.19 Определение острой токсичности препарата

Определение острой токсичности препарата проводили методом биотестирования на стилонихиях согласно ГОСТ Р 52337-2005.

2.2.20 Определения качества клейковины муки

Определения количества и качества клейковины в пшенице проводили методом, предусматривающий отмывание клейковины из теста и методом определения качества клейковины, предусматривающий измерение ее упругоэластичных свойств согласно ГОСТ 27839-88.

2.2.21 Определение влажности мякиша хлеба

Определение влажность мякиша готовой продукции проводили согласно ГОСТ 21094-75.

2.2.22 Определение пористости хлеба

Определение пористости готового хлеба проводили согласно ГОСТ 5669-96.

2.2.23 Метод определения жиरोудерживающей способности

Жиरोудерживающая (ЖУС) способность характеризуется количеством жира, удерживаемого продуктом против силы тяжести.

Сущность метода заключается в определении количества жира, оставшегося в пробе после удаления излишков жира.

Навеску препарата в количестве 1г помещали в градуированную центрифужную пробирку, добавляли 5 см³ подсолнечного масла, перемешивали в течение 1 минуты при скорости вращения мешалки 100 об/мин. и оставляли в покое на 30 минут. Затем смесь центрифугировали в течение 25 минут со скоростью 3200 об/мин. Взвешивали пробирку с навеской и маслом. Замеряли общий объем смеси в пробирке и объем масла, оставшегося неадсорбированным. Сливали неадсорбированное масло и устанавливают пробирки в наклонном положении для удаления оставшегося масла на 10 минут. Взвешивают пробирки.

Обработка результатов.

ЖУС в процентах рассчитывают двумя способами:

1. Способ весовой

$ЖУС = ((a - b) / c) \times 100$; где a – вес пробирки с белком и связанным маслом, г; b – вес пробирки с белком, г; c – навеска белка, г

2. Способ объемный

$ЖУС = ((5 - V_{св}) / c \times d \times 100$; где c – навеска белка, г; $V_{св}$ – объем масла, оставшегося неадсорбированным, см³.

2.2.24 Метод определения жирозэмульгирующей способности

Жирозэмульгирующая способность (ЖЭС) характеризуется отношением объема эмульсионного слоя к общему объему смеси масла и препарата.

Навеску препарата в количестве 1,7г помещают в миксер, добавляют 25см³ дистиллированной воды и суспензируют в течение 1 минуты со скоростью 4000об/мин. в течение 5 минут.

После этого эмульсию разливают поровну в 4 калиброванные центрифужные пробирки и центрифугируют в течение 5 минут со скоростью 2000об/мин.

Жирозэмульгирующую способность (ЖЭС) в процентах определяют по формуле:

$\text{ЖЭС} = (V_z / V_0) \times 100$; где V_z – объем заэмульгированного слоя, см^3 ;

V_0 – общий объем смеси, см^3 .

2.2.25 Определение стойкости эмульсии

Определение стойкости эмульсии (СЭ) готовой продукции проводили согласно ГОСТ Р 53595-2009.

2.2.26 Определение кислотности готовой продукции

Определение кислотности готовой продукции проводили согласно ГОСТ Р 53595-2009 и ГОСТ 5670-96.

2.2.27 Проведение микробиологического контроля

Микробиологический контроль полученных продуктов определяли в соответствии с Таможенным регламентом таможенного союза 021/2011 «О безопасности пищевых продуктов». Готовили разведения, для чего 1 см^3 образца последовательно переносили в ряд пробирок с 9 см^3 физиологического раствора.

Посев на плотные среды производили из разных разведений. Засеянные чашки Петри помещали в термостат. Сроки учета микроорганизмов зависели от состава питательной среды и группы учитываемых микроорганизмов.

На МПА или ГРМ на 2-3 сутки инкубации учитывали споровые и неспоровые формы бактерий (общая обсеменённость). На среде Чапека на 5-7 сутки учитывали колонии актиномицетов, на среде Сабуро на 5-7 сутки – колонии грибов и дрожжей.

Определение количества бактерий группы кишечной палочки (БГКП). 1 см^3 средней пробы помещали в стерильную пробирку с 9 см^3 среды Кесслер. Посевы выдерживали в термостате при $35-37^\circ\text{C}$ в течение 24 часов. Если наблюдалось

газообразование или изменение окраски среды, делали посев на среду фуксин-сульфитный агар (среда Эндо).

2.2.28 Методика изготовления пшеничного хлеба с введением в рецептуру препарата «Летисульфурин»

Приготовление пшеничного хлеба осуществляли согласно рецептуре, приведенной в таблице 6.

Таблица 6 – Рецептура пшеничного хлеба

Наименование сырья	Расход сырья на 100 г пшеничного хлеба, г		
	Контроль	Вариант 1 (с добавлением 0,05% «Летисульфурин»)	Вариант 2 (с добавлением 0,1% «Летисульфурин»)
Мука пшеничная	100	100	100
Дрожжи прессованные	1	1	1
Соль	1,5	1,5	1,5
Сахар-песок	6	6	6
Маргарин	3,5	3,5	3,5
«Летисульфурин»		0,05	0,1
Вода	54	54	54

Подготовка сырья. Прессованные дрожжи освобождали от упаковки, грубо измельчали и готовили однородную суспензию в воде при температуре 30-35°C.

Сахар-песок растворяли в воде в емкостях с мешалками при температуре около 40°C до концентрации раствора 55%, а затем перекачивали в сборники.

Соль растворяли в воде до концентрации 40 %-ного раствора.

Приготовление теста. В тестомесильную машину периодического действия загружали согласно рецептуре муку (для опытных образцов муку смешивали с «Летисульфурин»), дрожжевую суспензию, раствор соли, раствор сахара, маргарин и воду. Продолжительность замеса теста 7-10 минут. Брожение теста происходит в дежах в течение 2 часов.

Разделка теста и формование тестовых заготовок. Разделка теста на куски массой 405 грамм осуществляли в тестоделительной машине. Куски теста с делительной машины поступали в тестоокруглитель и окончательное формование на тестозакаточной машине. Для расстойки тестовые заготовки передавали в камеры расстоечного шкафа при температуре воздуха 30-35°C и относительной влажности 85%. Продолжительность расстойки 30 минут.

Выпечка готовых изделий. Выпечка тестовых заготовок происходила в пекарной камере хлебопекарной печи при температуре 220 – 240°C в течение 30 минут.

2.2.29 Методика изготовления макаронных изделий с введением в рецептуру препарата «Летисульфурин»

Приготовление макаронных изделий типа «Лапша домашняя» осуществляли согласно рецептуре, приведенной в таблице 8.

Таблица 8 – Рецептура «Лапши домашней»

Наименование сырья	Расход сырья на 100 г полуфабриката, г		
	Контроль	Вариант 1 (с добавлением 0,05% «Летисульфурин»)	Вариант 2 (с добавлением 0,1% «Летисульфурин»)
Мука пшеничная	87,5	87,5	87,5
Мука на подпыл	6	6	6
Яйцо	25	25	25
Соль	2,5	2,5	2,5
«Летисульфурин»	0	0,04	0,09
Вода	17,5	17,5	17,5

Приготовление. В холодную воду вводили сырые яйца, соль, перемешивали, добавляли муку (для опытных образцов муку смешивали с «Летисульфурин») не ниже 1-го сорта и замешивали крутое тесто, которое выдерживали 20-30 минут для того чтобы оно лучше раскатывалось. Куски готового теста клали на стол, посыпанной мукой и раскатывали в пласт толщиной 1-1,5 мм.

Пересыпанные мукой пласты складывали один на другой, нарезали их на полоски шириной 35-45 мм, которые в свою очередь резались поперек полосками шириной 3-4 мм или соломкой. Лапшу раскладывали на посыпанные мукой столы слоем не более 10 мм и подсушивали в сушильном шкафу 2-3 часа при температуре 25-30°C.

2.2.30 Методика изготовления майонеза с введением в рецептуру препарата «Летисульфурин»

Приготовление майонеза осуществляли согласно рецептуре, приведенной в таблице 10.

Таблица 10 – Рецептура майонеза

Наименование сырья	Расход сырья на 100 г соуса, г		
	Контроль	Вариант 1 (с добавлением 0,05% «Летисульфурин»)	Вариант 2 (с добавлением 0,1% «Летисульфурин»)
Масло растительное	67	67	67
Сахар-песок	1,6	1,6	1,6
Горчичный порошок	0,25	0,25	0,25
Яичный порошок	5	4,9	4,95
Соль	1,1	1,1	1,1
Уксусная кислота (80%)	0,05	0,05	0,05
Вода	25	25	25
«Летисульфурин»		0,05	0,1
Итого	100,0	100,0	100

Приготовление. Проводили пастеризацию сухих продуктов (за исключением грибной добавки) в минимальном количестве воды при $t=75^{\circ}\text{C}$ 8 минут; параллельно проводили пастеризацию соответствующего количества «Летисульфурин» (для опытных образцов) в оставшемся количестве воды при

$t = 75^{\circ}\text{C}$ 10 минут. Затем охлаждали до 25°C , смешивали и постепенно вводили масло, интенсивно перемешивая. Взбивали полученную майонезную эмульсию в гомогенизаторе 3 минуты при 1500-2000 об/мин, вводили уксусную кислоту и продолжали гомогенизировать в течение 5 минут при 4000 об/мин.

2.2.31 Органолептическая оценка качества пищевых продуктов

Органолептическую оценку качества пищевых продуктов проводили, используя 5-ти бальные шкалы. При этом каждый показатель качества оценивался по пяти уровням. Очередность оценки отдельных показателей должна отвечать естественной последовательности органолептической оценки: сначала необходимо определить качественные показатели, оцениваемые зрительно, затем запах, консистенцию и вкус (Головня, 1988; Дубцов, 2000).

2.2.32 Расчет пищевой и энергетической ценности продуктов

Определение пищевой и энергетической ценности разработанных изделий проводили в соответствии с методикой расчета химического состава и пищевой ценности (Дубцов, 2000; Скурихин, 2002).

Глава 3 Результаты исследований и их обсуждение

3.1 Исследования отношения потребителей к продуктам питания, обогащенных БАД

В связи с тем, что товарное предложение должно максимально удовлетворять требования покупателей, были проведены маркетинговые исследования по выявлению потребительских предпочтений в отношении продуктов питания с добавлением БАД. В ходе эксперимента выборочным методом с помощью анкетного опроса (Беляевский, 2004) было опрошено 200 респондентов Московской области в возрасте старше 40 лет.

Исследование проводили в три этапа: сбор первичной социологической информации; подготовка собранной информации к обработке; анализ обработанной информации, формирование выводов.

По результатам исследования были составлены диаграммы, представленные на рисунках 1-6.

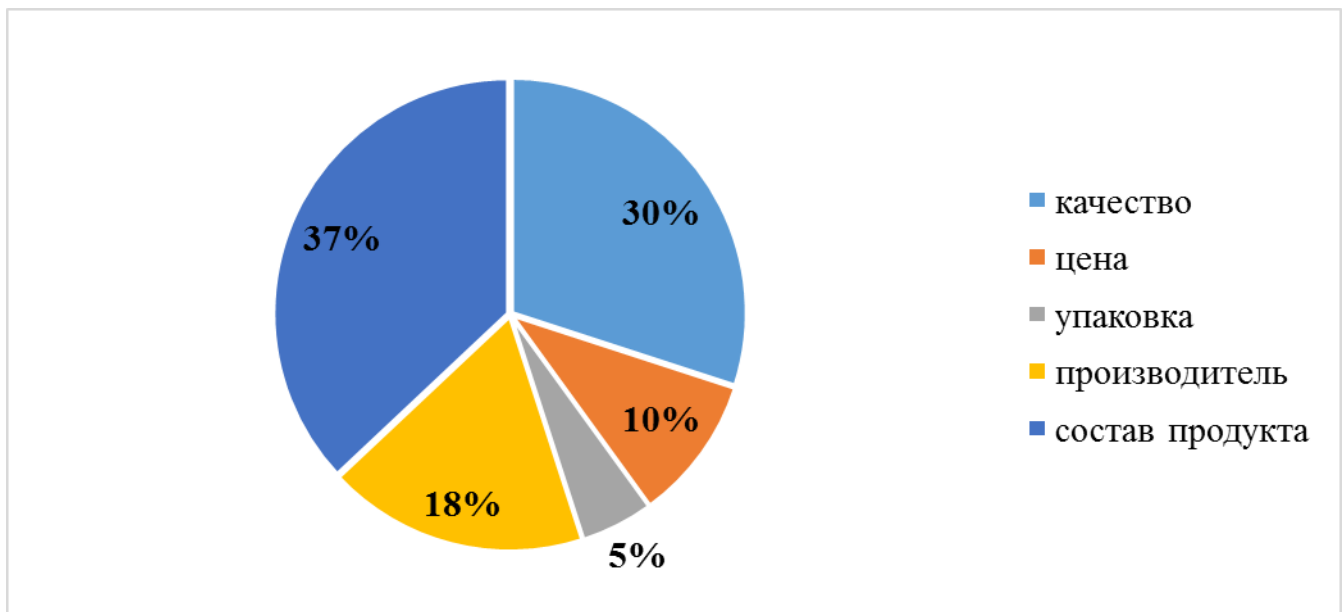


Рисунок 1 – Первостепенный фактор при покупке продукта

Более 37% опрошенных при покупке обращают внимание на состав продукта, 30% смотрят на качество продукта, 18% на производителя, руководствуются ценой 10% и 5% смотрят на упаковку.

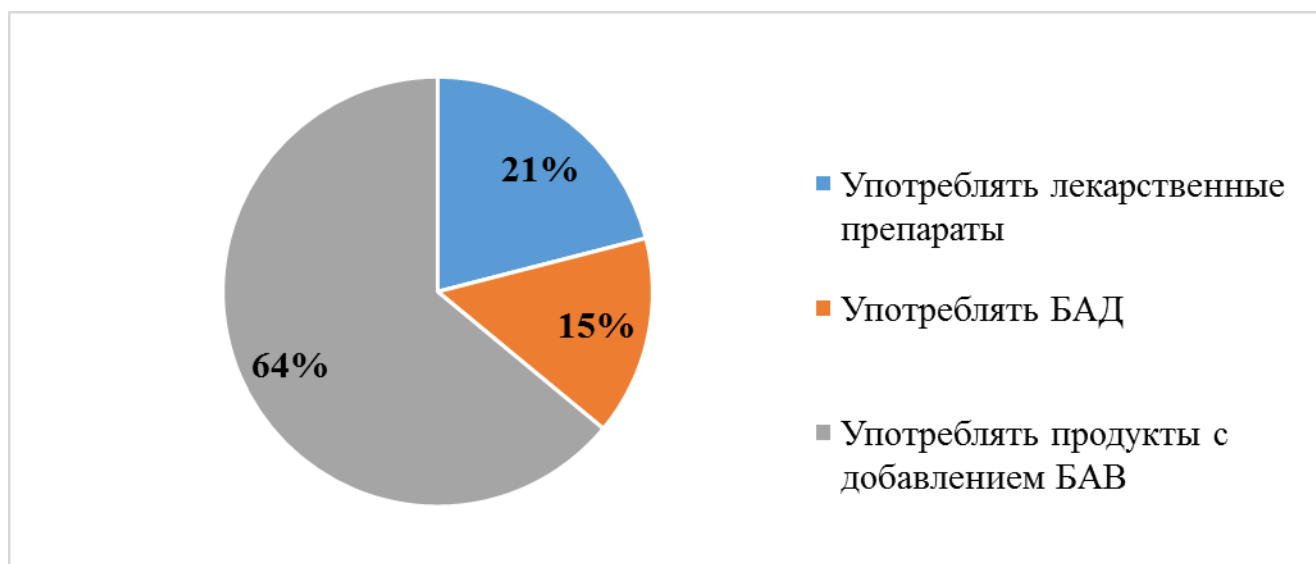


Рисунок 2– Предпочтения респондентов в целях профилактики болезней

Употреблять продукт с добавлением БАВ с целью профилактики заболеваний готовы 64% респондентов, 21% употребляют для этой цели лекарственные препараты и 15% - биологически активные добавки.

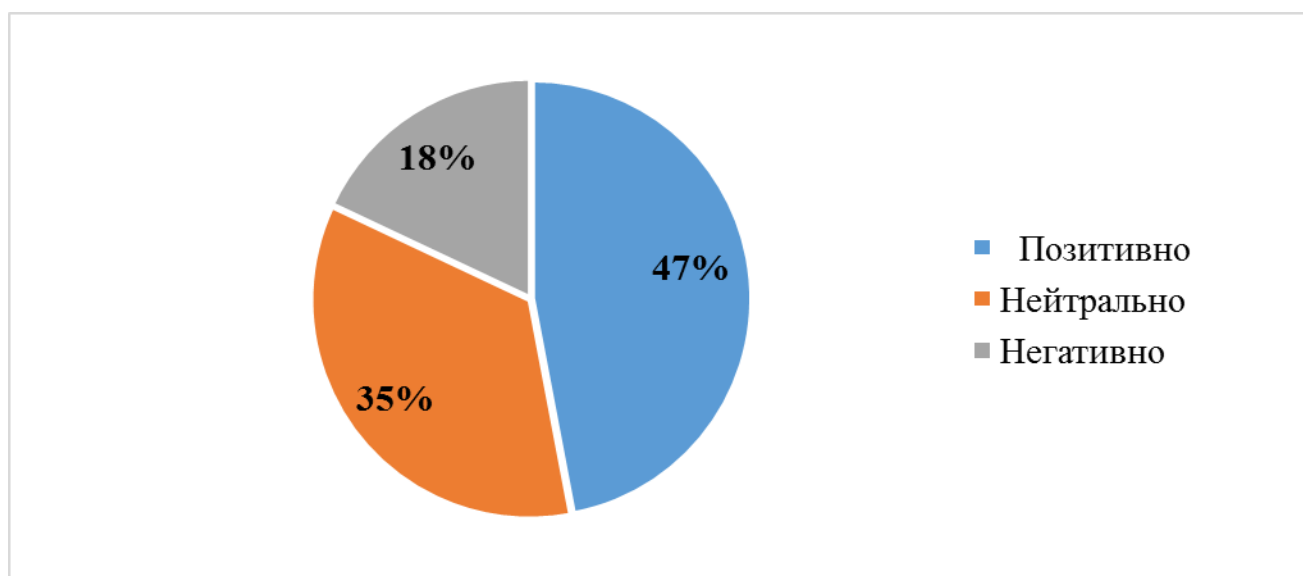


Рисунок 3 – Отношение респондентов к обогащенным продуктам

Большая часть (47%) опрошенных позитивно относятся к обогащенным продуктам, 35% нейтрально и лишь 18% не готовы потреблять обогащенные продукты.

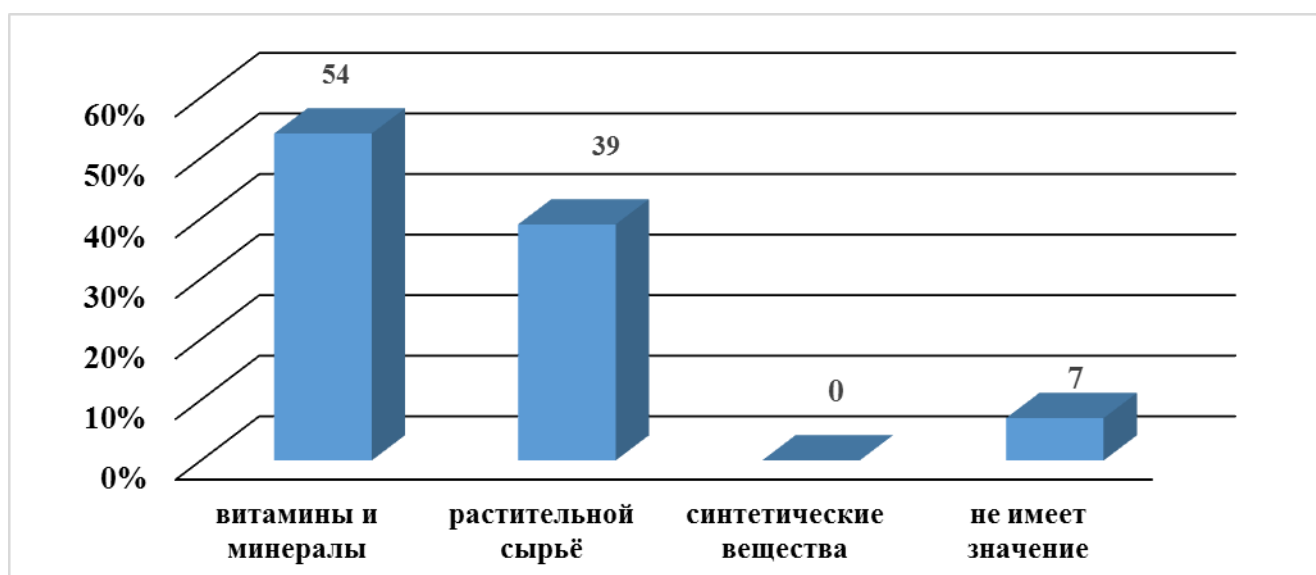


Рисунок 4 – Отношение респондентов к ингредиентам, обогащающим продукт

Анализ полученных данных показал, что больше половины (54%) опрошенных потребителей хотели, чтобы продукты были обогащены витаминно-минеральным комплексом, так как считают эту добавку наиболее полезной. Растительной сырьё в качестве обогатителя предпочли бы 39% респондентов. Безразличие выразили 7% респондентов, однако, ни один из опрашиваемых не выразил желание покупать продукты, обогащенные синтетическими добавками для улучшения вкуса и цвета.

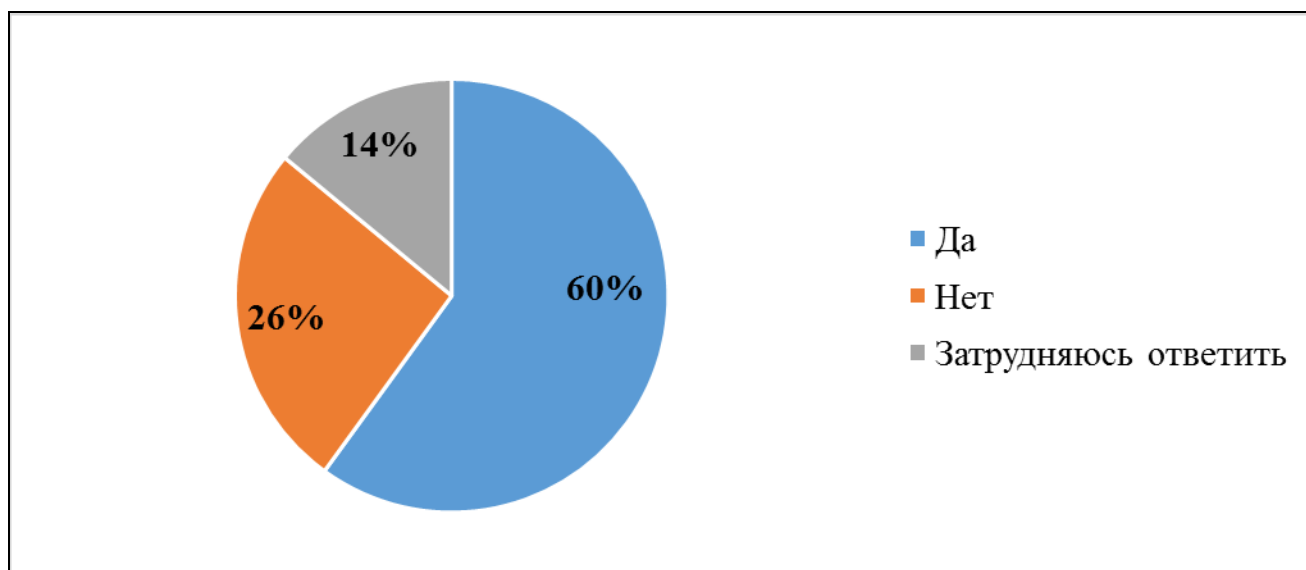


Рисунок 5 – Готовность респондентов к употреблению БАВ в составе продуктов питания

По результатам исследования установлено, что 60% будут употреблять БАД в составе продуктов питания так как, считают употребление обогащенной продукции целесообразным и полезным. 26% опрошенных не готовы к употреблению таких продуктов питания. Около 14% респондентов затруднились ответить на данный вопрос в связи с тем, что им необходима дополнительная информация о потребительских свойствах обогащенных продуктов.

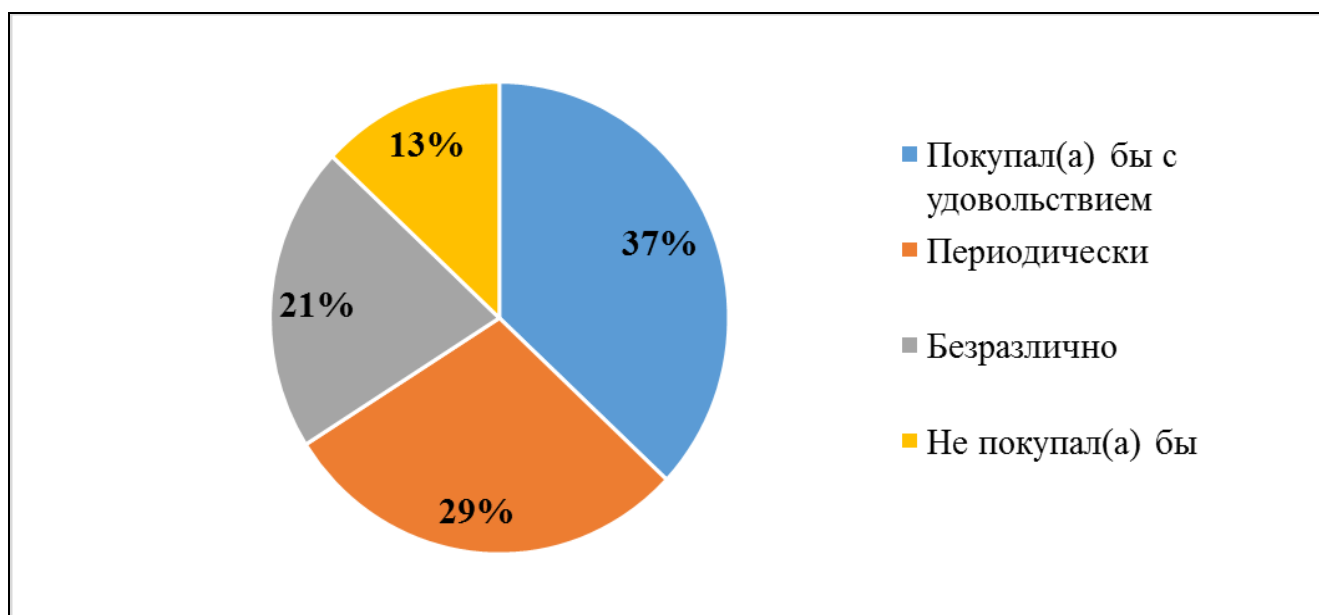


Рисунок 6 – Отношение потребителей к появлению на рынке продуктов питания с добавлением БАД

Большая часть опрошенных (37%) покупала бы продукты питания с добавлением БАД, периодически приобретали бы данный продукт 29% респондентов, 21% отнеслись к этому безразлично и лишь 13% не покупали бы продукты питания с добавлением БАД. Следовательно, основная доля покупателей стремится употреблять полезные продукты.

Таким образом, маркетинговые исследования потребительских предпочтений Московской области подтверждают необходимость и актуальность разработки продуктов питания с добавлением БАД. Установлено, что при появлении на рынке данная продукция будет пользоваться спросом.

3.2 Скрининг продуктивных штаммов грибов рода *Laetiporus*

В процессе работы было получено 4 высокопродуктивных штамма (скрининг проводили, как указано в п. 2.2.2). Характеристика полученных культур представлена в таблице 11.

Таблица 11 – Характеристика полученных культур

Штамм	Место сбора плодового тела	Характеристика роста колонии на агаризованной среде	Характеристика мицелия
пд	г. Москва Дуб	Радиально растущие гифы мицелия	Светло-оранжевый, воздушный мицелий короткий
вяЗ	Новгородская обл. Ясень	Рост гиф по концентрическим окружностям	Светло-оранжевый, воздушный мицелий короткий
няо	г. Ногинск Ясень	Радиально растущие гифы мицелия	Оранжевый, воздушный мицелий короткий
3X	г. Ногинск Ясень	Радиально растущие гифы мицелия	Ярко-оранжевый, воздушный мицелий короткий

Из литературных источников известно, что грибы *L. sulphureus* выращивают на питательных средах состава ПС№ 2 и ПС№3. Поэтому для отбора штамма с максимальным выходом биомассы проводили глубинное культивирование полученных культур согласно п. 2.2.1.1. Результаты представлены на рисунке 7.

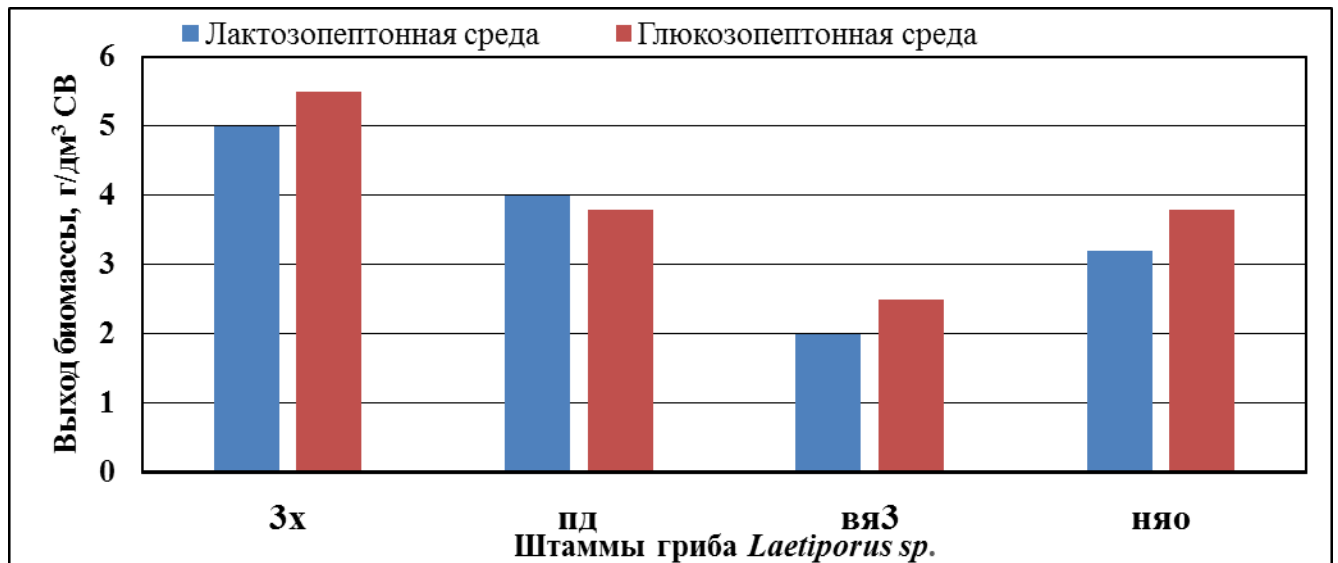


Рисунок 7 – Рост штаммов в зависимости от питательной среды

Из рисунка 7 видно, что наибольший выход биомассы, на лактозопептонной и глюкозопептонной средах составляет 5,0 и 5,5 г/дм³ СВ соответственно, образуется в результате культивирования грибного штамма 3X, который и был отобран для дальнейших исследований.

3.3 Исследование фенотипических признаков и идентификация штамма гриба 3X

При определении видовой принадлежности гриба учитывали совокупность морфологических, культуральных и физиолого-биохимических признаков. Исследования, включая оценку морфологических, культуральных и физиолого-биохимических признаков изолята, а также идентификацию штамма до вида проводили согласно методике, указанной в п. 2.2.4.1 – 2.2.4.3. Результаты исследования описаны в п. 3.3.1– 3.3.4.

3.3.1 Культуральные признаки штамма 3X

На агаризованной среде штамм 3X формирует колонии с ватообразным воздушным мицелием, отдельные гифы которого беспорядочно переплетаются. В процессе роста колонии приобретают ярко-оранжевую окраску, экссудат не

образуется. При глубинном культивировании образуются фрагментированные структуры с плотным центром оранжево-красного цвета, с приятным медовым запахом, наблюдается снижение рН культуральной жидкости до значений 2,5-3,0.

3.3.2 Морфологические признаки штамма 3X

Микроскопические исследования изучаемого штамма показали, что формируются длинные септированные гифы с простым ветвлением, без пряжек. На гифах обнаруживаются овальные и шарообразные бесполое структуры, расположенные интеркалярно или терминально.

3.3.3 Физиолого-биохимические признаки штамма 3X

Характеристика физиолого-биохимических свойств штамма 3X представлена в таблице 12.

Таблица 12– Анализ физиолого-биохимических признаков штамма 3X

Отношение к кислороду	Аэроб
Отношение к T⁰C: T min T опт T max	 <15 ⁰ C 25 ⁰ C >30 ⁰ C
Отношение к рН среды: рН 1,0-2,5 рН 3,0-7,0 рН 7,5-11,0	 Рост очень слабый Обильный рост Рост очень слабый
Амилолитическая активность	Обладает
Протеолитическая активность	Обладает
Липолитическая активность	Обладает
Целлюлолитическая активность	Обладает, слабая
Каталазная активность	Не обладает
Пероксидазная активность	Не обладает

Из таблицы 12 видно, что оптимальная температура роста штамма 3X 25⁰C, рН среды находится в диапазоне 3,0-7,0. Установлено, что штамм 3X проявляет

амилолитическую, протеолитическую, липолитическую ферментативные активности, целлюлолитическая активность слабая. По результатам проведенных исследований был сделан вывод о принадлежности штамма 3X к роду *Laetiporus*.

3.3.4 Идентификация штамма 3X до вида с помощью анализа 18S рРНК

Идентификация штамма *Laetiporus. sp* 3X с помощью анализа 18S рРНК осуществлялась в лаборатории ФГУП ГосНИИГенетика и подтверждена заключением об идентификации, утвержденным директором Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов (Приложение 1).

Анализ нуклеотидной последовательности, кодирующей часть 18S рРНК, исследуемого штамма установил, что штамм с вероятностью 98% относится к виду *Laetiporus sulphureus*.

Штамм депонирован во Всероссийской коллекции промышленных микроорганизмов под номером F-1188 (Приложение 2).

3.4 Разработка технологии биологически активной добавки методом глубинного культивирования гриба *L. sulphureus* 3X

3.4.1 Подбор питательной среды для глубинного культивирования

Для определения наиболее эффективных компонентов питательной среды в качестве жидкой фазы использовали: молочную сыворотку (содержание СВ 5.5%), мелассное сусло (содержание СВ 3%), 5% раствор крахмала и воду. Сухими компонентами среды являлись: необезжиренная соевая, овсяная и гречневая мука, дрожжевой экстракт, пептон, соли аммония. При конструировании питательных сред варьировали составом и концентрацией различных компонентов. Глубинное культивирование проводили согласно п. 2.2.1.1.

Лучшие результаты исследований представлены в таблице 13.

Таблица 13 – Выход биомассы гриба *L.sulphureus* 3X на различных питательных средах

Состав среды		pH среды	pH КЖ*	Выход биомассы, г/дм ³ СВ
Овсяная мука 2% +	молочная сыворотка	6,2	2,7	16,5
	мелассное сусло	6,5	3,2	14,3
	вода	6,6	2,7	15,7
Овсяная мука 3% +	молочная сыворотка	5,5	2,8	17,6
	мелассное сусло	6,4	3,2	15,4
	вода	6,8	2,7	18,4
Гречневая мука 2% +	молочная сыворотка	5,1	2,7	17,2
	мелассное сусло	6,8	2,8	14,3
	вода	6,9	2,6	15,8
Необезжиренная соевая мука 1% +	молочная сыворотка	5,0	2,8	16,8
	мелассное сусло	6,2	2,8	15,4
	вода	6,5	2,6	15,7
Необезжиренная соевая мука 3% +	молочная сыворотка	5,0	2,6	17,2
	мелассное сусло	6,4	2,8	16,4
	вода	6,5	2,5	19,6
Пептон 1% +	молочная сыворотка	5,5	3,7	8,75
	мелассное сусло	6,7	3,4	7,6
	5-% раствор крахмала	6,9	3,4	10,7
Пептон 2% +	молочная сыворотка	5,8	3,0	11,4
	мелассное сусло	6,8	3,1	9,8
	5-% раствор крахмала	6,7	2,7	12,4
Дрожжевой экстракт 2% +	молочная сыворотка	5,9	2,8	13,4
	мелассное сусло	6,4	2,9	7,3
	5-% раствор крахмала	6,8	3,2	11,5

* КЖ- Культуральная жидкость

Установлено, что характер роста и выход биомассы гриба при выращивании на средах разного состава значительно отличаются. В ходе исследования выявлено, что выход биомассы варьировал от 7,3 до 19,6 г/дм³ СВ. Однако,

максимальный выход биомассы $19,6 \text{ г/дм}^3$ СВ был получен на питательной среде, содержащей 3% необезжиренной соевой муки и воду.

3.4.2 Оптимизация состава питательной среды для глубинного культивирования *L. sulphureus* 3X с помощью математических методов

Методы математического планирования эксперимента нашли широкое применение для подбора питательных сред в целях повышения выхода биомассы или накопления определенных продуктов обмена веществ микроорганизмов. Они позволяют не только одновременно изучить действие нескольких факторов на интересующий нас процесс, но и количественно оценить степень этого влияния (Нетрусов, 2005).

Подобрать состав наиболее благоприятной питательной среды для роста и развития с минимальными затратами времени позволяют методы математического планирования экспериментов (Бирюков, 1985; Грачев, 2005)

Определение наиболее эффективного состава питательной среды для глубинного культивирования *L. sulphureus* 3X проводили по результатам реализации метода крутого восхождения, совмещающего в себе планирование ПФЭ с методом движения по градиенту (согласно п. 2.2.7.1).

Факторами, влияющими на эффективность накопления биомассы *L. sulphureus* 3X, являются содержание в питательной среде необезжиренной соевой муки (X_1), NH_4NO_3 (X_2), KH_2PO_4 (X_3), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (X_4).

Матрица, составленная с учетом изменения уровней изучаемых факторов, и результаты реализации метода ПФЭ 2^4 приведены в таблице 14.

Таблица 14 – Матрица ПФЭ 2^4

Номер опыта	Фактор в % от объема среды				Выход биомассы (Y), г/дм^3 СВ
	X_1	X_2	X_3	X_4	
1	3,0	0,5	0,2	0,05	20,1
2	5,0	0,5	0,2	0,05	25,3
3	3,0	1,0	0,2	0,05	22,5

4	5,0	1,0	0,2	0,05	28,2
5	3,0	0,5	0,4	0,05	21,4
6	5,0	0,5	0,4	0,05	26,3
7	3,0	1,0	0,4	0,05	23,8
8	5,0	1,0	0,4	0,05	29,2
9	3,0	0,5	0,2	0,15	20,4
10	5,0	0,5	0,2	0,15	26,1
11	3,0	1,0	0,2	0,15	23,2
12	5,0	1,0	0,2	0,15	28,1
13	3,0	0,5	0,4	0,15	21,4
14	5,0	0,5	0,4	0,15	27,1
15	3,0	1,0	0,4	0,15	24,3
16	5,0	1,0	0,4	0,15	27,1
17	4,0	1,5	0,3	0,1	27,6

На основании матрицы были составлены 17 вариантов питательных сред, которые использовали для культивирования гриба *L. sulphureus* 3X.

Проверка показала, что экспериментальные данные являются нормально распределенными и однородными. Приведенная в таблице 18 матрица обладает следующими свойствами: 1) свойство ортогональности (равенство нулю скалярных произведений всех векторов; 2) симметричность относительно центра; 3) условие нормировки; 4) ротабельность, то есть точки в матрице планирования подбираются так, что точность предсказаний значений параметра оптимизации одинакова на равных расстояниях от центра эксперимента и не зависит от направления.

Полином первой степени при проведении планирования эксперимента ПФЭ 2^4 имел вид $Y = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + b_3X_3 - b_4X_4$, то есть

$$Y = 46,8 + 10,9 X_1 + 0,88 X_2 + 0,46 X_3 - 1,4 X_4.$$

Эффекты взаимодействия определяли аналогично линейным эффектам: коэффициенты парного взаимодействия равны соответственно: $b_{12}=2,6$; $b_{13} = -0,99$;

$b_{23} = -3,9$; $b_{14} = -1,93$; $b_{24} = -4,1$; $b_{34} = -2,4$; $b_{123} = -0,5$; $b_{234} = -2,34$; $b_{124} = -0,13$; $b_{134} = 0,32$; $b_{234} = -2,33$; $b_{1234} = -1,6$.

Полученное уравнение регрессии имело следующий вид:

$$Y = 46,8 + 10,9X_1 + 0,88X_2 + 0,46X_3 - 1,4X_4 + 42,31X_1X_2 - 0,99X_1X_3 - 3,9X_2X_3 - 0,5X_1X_2X_3 - 1,93X_1X_4 - 4,1X_2X_4 - 0,13X_1X_2X_4 - 2,4X_3X_4 + 0,32X_1X_3X_4 - 2,33X_2X_3X_4 - 1,6X_1X_2X_3X_4.$$

Проверку адекватности полученной модели проводили с использованием F-критерия Фишера. Вычисленное значение F было меньше табличного $F_{0,05}$, что доказывает адекватность найденной модели.

Полученные данные свидетельствуют о том, что следует признать значимыми коэффициенты b_1 , b_2 и b_{12} и включить их в модель, а коэффициенты b_3 , b_4 , b_{13} , b_{23} , b_{12} , b_{14} , b_{24} , b_{124} , b_{34} , b_{134} , b_{234} , b_{1234} незначимы и их следует отбросить, не включая в искомую модель. На основании полученных данных математическая модель (уравнение регрессии), включающая только значимые коэффициенты, выглядит следующим образом:

$$Y = 46,8 + 10,9X_1 + 0,88X_2 + 42,31X_1X_2.$$

Установлено что на выход биомассы влияет концентрация необезжиренной соевой муки и NH_4NO_3 .

На основании результатов проведенного ПФЭ можно предположить, что для дальнейшей оптимизации среды применение метода крутого восхождения будет эффективным, так как полученная линейная модель адекватна и не является резко асимметричной относительно коэффициентов.

На следующем этапе исследований расчет крутого восхождения проводили в такой последовательности:

1. Величину шага движения по градиенту концентраций факторов в среде рассчитывали по стандартной методике, исходя из значений коэффициентов регрессии. С этой целью переход к новому натуральному масштабу интервалов варьирования осуществляли с помощью формулы: $L_i = b_i \delta_i$, где b – коэффициенты регрессии, δ_i – единицы варьирования. Рассчитано, что $L_1 = 10,9$

$L_2 = 0,44$. Абсолютная величина $|L_{max}|$ имеет наибольшее значение для соевой муки, следовательно, соевая мука является базовым фактором. Для остальных факторов коэффициенты рассчитывали по формуле:

$$y_i = \frac{L_i}{|L_{max}|}, \text{ где } y_i - \text{новые коэффициенты при значимых факторах.}$$

Рассчитанные коэффициенты составили для соевой муки и нитрата аммония соответственно: $y_1 = 1,0$, $y_2 = 0,04$.

2. Для базового фактора (X_1) выбирали модуль шага движения по градиенту ($h_{баз}$). Шаг движения не должен превышать интервала варьирования по базовому фактору $h_{баз} = \delta_{баз}$. Поэтому, в нашем случае, учитывая, что $\delta_{баз1} = 1,0$, принимаем $h_{баз} = 0,5$. Рассчитывали шаги движения остальных факторов (h_i) по формуле $h_i = h_{баз} y_i$. Округляя значения h_2 , имеем следующие шаги движения по градиенту: $h_1 = 0,5$, $h_2 = 0,02$.

3. Рассчитывали условия и результаты опытов крутого восхождения (мысленных опытов). Значения факторов, определяющие условия опытов, определяли по формуле: $X_{ji} = X_{j-1,i} + h_i$, где j – номер опыта, i – номер фактора. Результаты мысленных опытов (y_{jm}) рассчитывали по модели $Y = 46,8 + 10,9 X_1 + 0,88 X_2$ для X_{li} , вычисленных по формуле $X_{ji} = X_{j-1,i} + h_i$. Аналогично рассчитывали условия и результаты остальных опытов (таблица 15).

Движение по градиенту считали эффективным, если реализация мысленных опытов, рассчитанных на стадии крутого восхождения, приводила к увеличению значения параметра оптимизации по сравнению с наилучшим результатом в матрице полного факторного эксперимента (таблица 16).

Таблица 15 – Расчет крутого восхождения для определения количества соотношения компонентов среды

Характеристика фактора и опыта	X_1	X_2
Интервал варьирования (δ_i)	1,0	0,5
Коэффициент регрессии (bi)	10,9	0,88
Произведение $Li=bi\delta_i$	10,9	0,44
Коэффициент (y)	1	0,04
Шаг движения(hi)	0,5	0,02

Таблица 16 – Состав сред и выход биомассы, выявленная в результате мысленных и реализованных опытов методом крутого восхождения

№ опыта	X ₁ , %	X ₂ , %	у _{мысл.} , г/дм ³ СВ	у _{реал.} , г/дм ³ СВ
1	4,0	1,5	30,0	25,9
2	4,0	1,52	30,2	26,4
3	4,5	1,5	30,6	28,5
4	4,5	1,52	33,1	29,6
5	4,5	1,54	33,4	30,4
6	4,5	1,56	33,9	30,4

Как видно из таблицы 16, наибольший выход биомассы, достигнут на средах №5 и № 6. С экономической точки зрения наиболее целесообразно использовать среду № 5.

В результате эксперимента по плану «крутого восхождения» разработана ПСр №5 следующего состава (%): необезжиренная соевая мука – 4,5; NH₄NO₃ – 1,54, на которой достигнут наибольший выход биомассы (30,4 г/дм³ СВ).

3.4.3 Изучение влияния pH исходной ферментационной среды на выход биомассы

Для определения основных параметров культивирования проводили планирование эксперимента согласно методу Гаусса-Зейделя (как указано в п. 2.2.7.2), предусматривающего последовательное изучение влияющих факторов и использование каждого предыдущего в качестве фона для последующего.

В процессе эксперимента последовательно варьировали следующие факторы: pH питательной среды; посевная доза; длительность культивирования.

Для изучения влияния pH ферментационной среды на выход биомассы значение pH питательной среды доводили до 2,5-8,0 с помощью растворов 1н. NaOH и 1н. HCl. Изучаемые среды засеивали готовым посевным материалом. Культивирование проводили в условиях, указанных в п. 2.2.1.1. Результаты эксперимента представлены на рисунке 8.

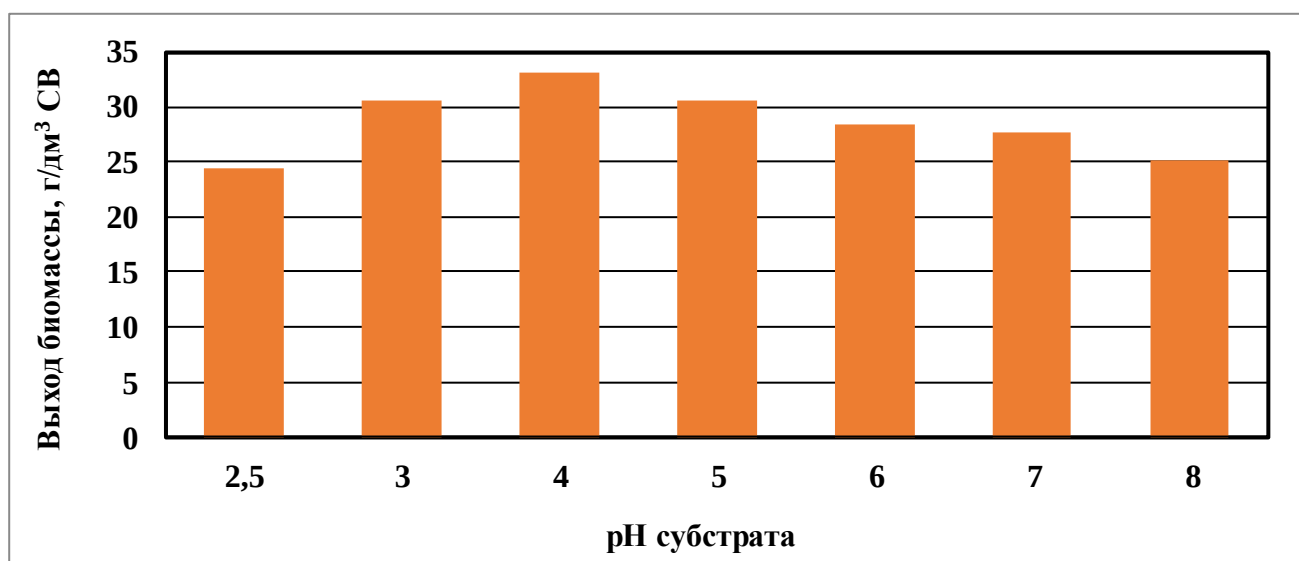


Рисунок 8 – Выход биомассы *L.sulphureus 3X* в зависимости от pH субстрата

Как видно из представленных данных наибольший выход биомассы 33,2 г/дм³ СВ был получен при начальном значении pH субстрата 4,0. Подкисление субстрата повысило выход биомассы на 9%. Положительное влияние кислой среды субстрата связано с тем, что гриб *L.sulphureus* относится к ацидофильным организмам (Агафонова, 2007). При повышении значений pH субстрата выше 5,0 выход биомассы снижается.

3.4.4 Определение оптимальной дозы посевного материала *L. sulphureus 3X*

Для определения оптимальной дозы посевного материала культуру *L. sulphureus 3X* выращивали на оптимизированной среде при pH 4,0. Затем проводили засев ферментационной среды готовым посевным материалом в количестве 1; 5; 10; 15; 20; 25% по объему. Результаты эксперимента представлены на рисунке 9.

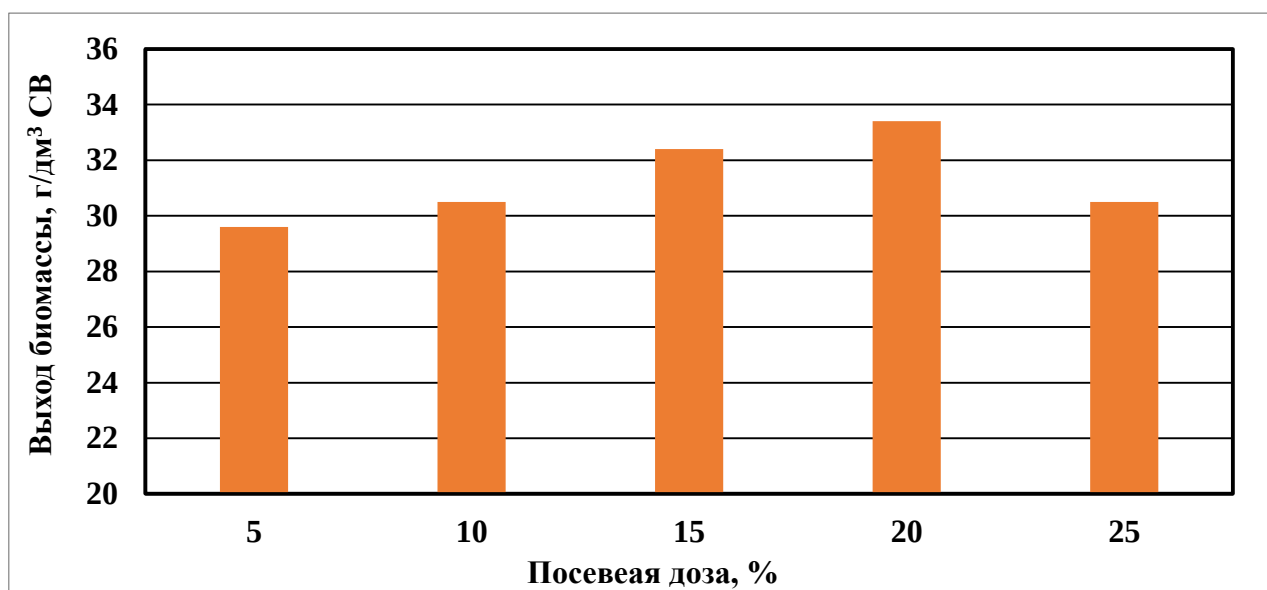


Рисунок 9 – Влияние дозы посевного материала *L. sulphureus* 3X на выход биомассы

Из рисунка 9 видно, что максимальный выход биомассы 32,4 г/дм³ СВ наблюдается при посевной дозе 20%. Посевная доза ниже 20% недостаточна для обеспечения интенсивного процесса накопления биомассы. Применение посевных доз более 20% не целесообразно, так как выход биомассы снижается. Таким образом, оптимальной посевной дозой для культивирования *L. sulphureus* 3X на данной ферментационной среде является доза 20%.

3.4.5 Изучение динамики накопления биомассы *L. sulphureus* 3X на оптимизированной по составу питательной среде

В связи с тем, что для культивирования *L. sulphureus* 3X была предложена новая питательная среда, следовало изучить динамику накопления биомассы. Для выполнения поставленной задачи ПСр№5 засеивали суспензией клеток гриба *L. sulphureus* 3X, объем посевной дозы 20%, pH среды 4,0. Культуру выращивали в течение 13 суток на качалочной установке при температуре 25±1°C и определяли количество грибной биомассы, высушенной до остаточной влажности 10%.

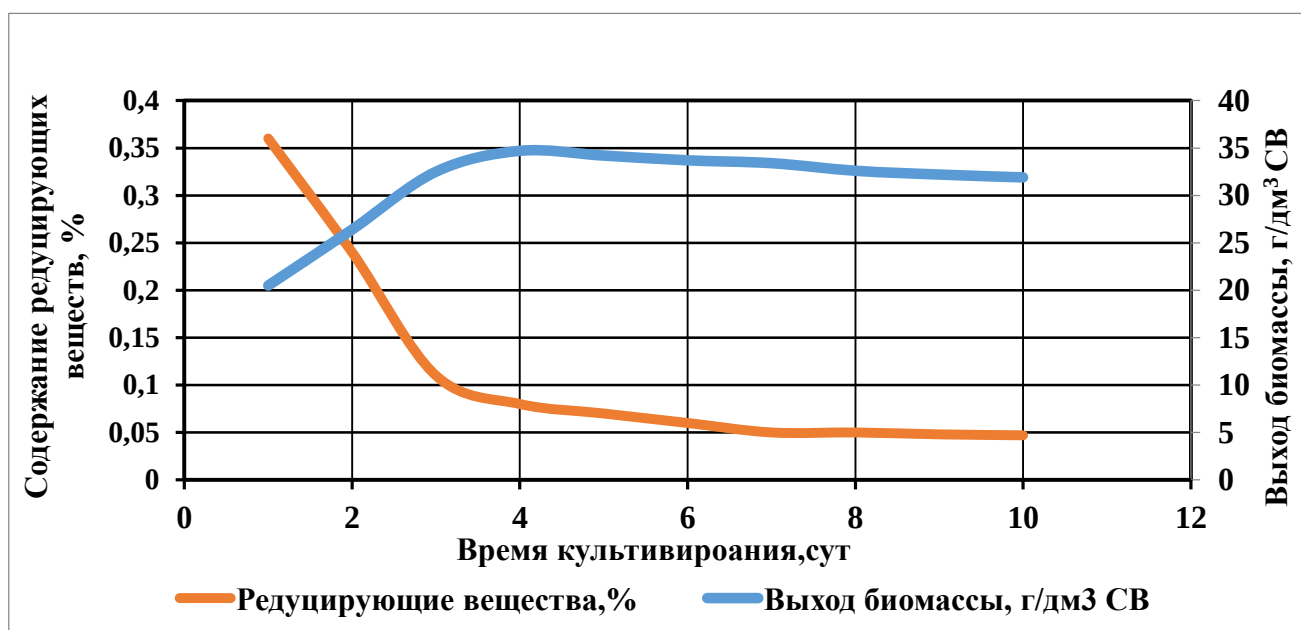


Рисунок 10 – Динамика роста гриба *L.sulphureus* 3X и потребление РВ в процессе культивирования

Из полученных данных (рисунок 10) следует, что культивирование *L. sulphureus* 3X целесообразно вести 4 суток, к этому времени наблюдается максимальный выход биомассы 34,7 г/дм³ СВ. Дальнейшее культивирование не эффективно, так как происходит снижение содержания питательных веществ в посевной среде.

3.4.6 Получение сухого препарата «Летисульфурин»

После культивирования мицелиальную биомассу гриба *Laetiporus sulphureus* 3X отделяли от культуральной жидкости, высушивали конвективным методом при температуре 40-50°C и измельчали. Полученному препарату присвоено коммерческое название «Летисульфурин».

Аппаратурное оформление, блок-схема (рисунок 11), условия и технологические режимы получения препарата отражены в разработанном проекте Лабораторного регламента (Приложение 3). Разработан проект технических условий на получение препарата «Летисульфурин» (Приложение 4).

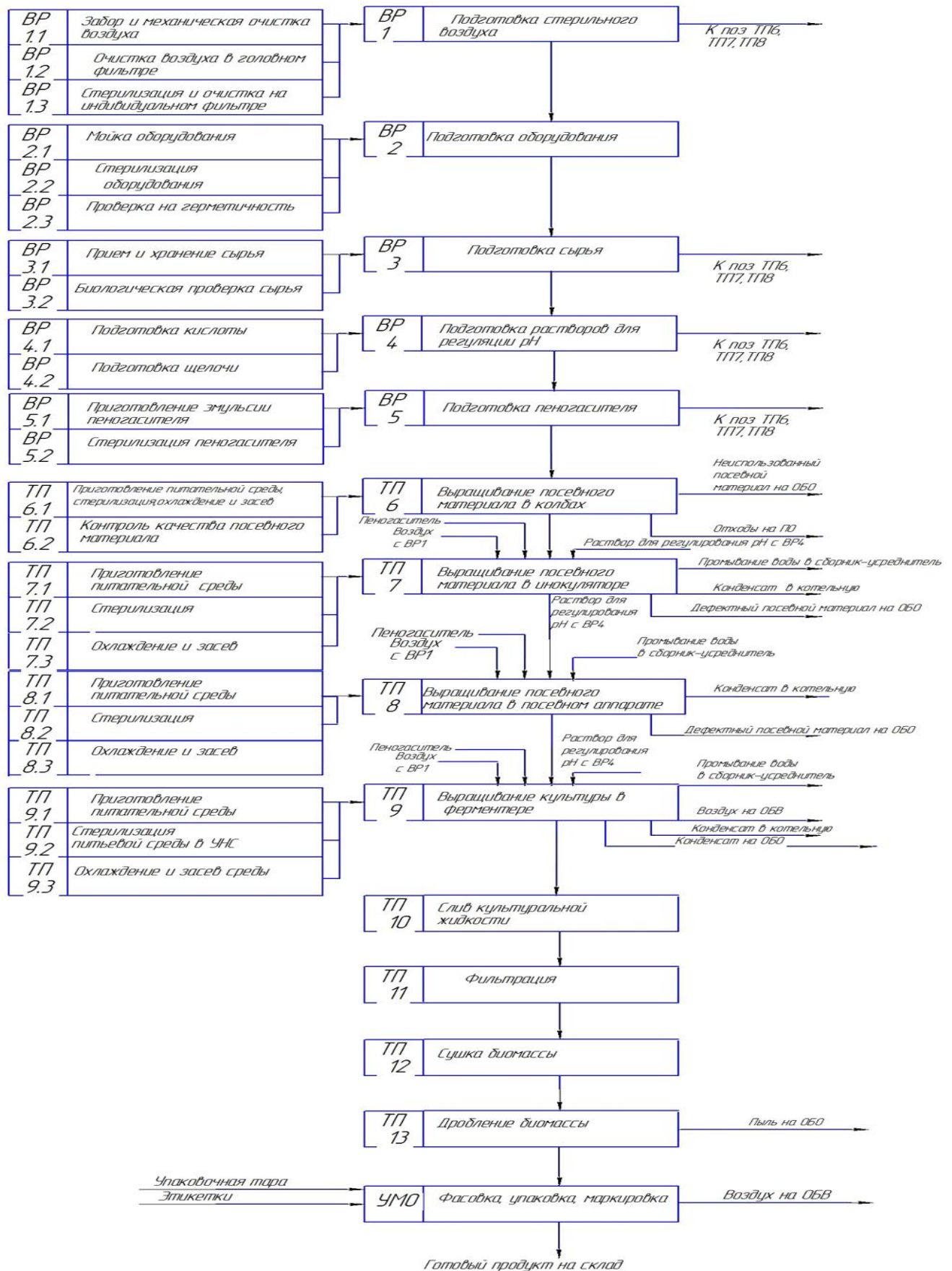


Рисунок 11 – Технологическая блок-схема получения препарата «Летисульфурин»

Проведен расчет экономической эффективности разработанной технологии получения препарата «Летисульфурин» (Приложение 5), который показал, что оптовая цена препарата «Летисульфурин» составляет 120,6 руб. за 1 кг.

3.5 Определение потребительских свойств препарата «Летисульфурин»

3.5.1 Органолептическая и биохимическая характеристика препарата «Летисульфурин»

Препарат «Летисульфурин» охарактеризован по органолептическим и биохимическим показателям. Данные исследования представлены в таблицах 17 и 18.

Таблица 17 – Органолептическая характеристика препарата «Летисульфурин»

Показатель	Характеристика
внешний вид	тонкодисперсный порошок
цвет	насыщенный оранжевый
запах	медовый

Таблица 18 – Биохимический состав препарата «Летисульфурин»

Наименование показателя	Значение показателя по результатам исследований
Массовая доля влаги, % СВ	8,0-10,0
Массовая доля белковых веществ, % СВ	30,0-35,0
Массовая доля жира, % СВ	17,0-20,0
Массовая доля клетчатки, % СВ	22,0-25,0
Массовая доля гемицеллюлоз, % СВ	12,0-15,0
Массовая доля нуклеиновых кислот, % СВ	2,5-3,0
Витамина А, мг/г	26,2
Витамин Е, мг/г	118,5
Каротиноиды, мг/г	39,2
Никотинамид, мг/г	1,01

Данные биохимического анализа показывают, что полученный препарат богат белком, жиром, клетчаткой, содержит каротиноиды, витамины А и Е. Известно, что витамины А и Е играют важную роль в организме человека. Витамин А участвует в процессах роста и репродукции, участвует в биохимических процессах, связанных с деятельностью мембран клеток функционирования органов зрения, поддержании иммунитета. Витамин Е является иммуномодулятором, способствующим укреплению иммунозащитных сил организм, и эффективным антиоксидантом (Нечаев, 2012). Таким образом, препарат «Летисульфурин» может быть рекомендован в качестве биологически активной добавки для обогащения пищевых продуктов витаминами А и Е.

3.5.2 Микробиологические показатели препарата «Летисульфурин»

Исследование микробиологических показателей проводили согласно методике, указанной в п. 2.2.27. Результаты представлены в таблице 19.

Таблица 19 – Микробиологические показатели препарата «Летисульфурин»

Уровень	кМАФАнМ, КОЕ/г, не более	Масса продукта (г), в которой не допускаются			Дрожжи, КОЕ/г, не более	Плесени, КОЕ/г, не более	Живые клетки гриба
		БГКП	E.coli	Патогенные, в том числе сальмонеллы			
Допустимый	$1 \cdot 10^4$	0,1	1,0	10,0	100	100	Не допускаются
Определяемый	$1 \cdot 10^3$	Не выявлены	Отсутствует	Нет	Не выявлены	Не выявлены	Не обнаружены

Препарат отвечает всем микробиологическим нормам согласно ТР ТС 021/2011 и является безопасным для использования в качестве биологически активной добавки в технологиях пищевых продуктов.

3.5.3 Определение жирнокислотного состава липидов препарата «Летисульфурин»

Жирнокислотный состав липидной фракции определяли согласно п. 2.2.11 на аппаратурной базе НИИ Питания РАМН (Приложение 6). Результаты эксперимента представлены в таблице 20.

Таблица 20 – Жирнокислотный состав препарата «Летисульфурин»

Название ЖК	Индекс ЖК	Содержание, %
изо-тетрадекановая	14:0i	0,04
миристиновая	14:0	0,13
изо - пентадекановая	15:0i	0,12
пентадекановая	15:0	0,13
изо - гексадекановая	16:0i	0,26
пальмитиновая	16:0	10,45
пальмитолеиновая	16:1 9-цис	0,06
изо - гептадекановая	17:0i	0,42
маргариновая	17:0	0,45
гептадеценная	17:1	0,04
изо - октадекановая	18:0i	0,53
стеариновая	18:0	8,07
олеиновая	18:1 9-цис	19,69
вакценовая	18:1 11-транс	1,47
октадеценная	18:1 11-цис	0,71
изо - октадекадиеновая	18:2i	0,05
линолевая	18:2 ω-6	48,08
γ-линоленовая	18:3 ω-6	0,49
α-линоленовая	18:3 ω-3	4,36
арахиновая	20:0	0,99
гондоиновая	20:1	0,73
эйкозодиеновая	20:2 ω-6	0,03
эйкозатриеновая	20:3 ω-6	0,06
арахидоновая	20:4 ω-6	0,43

бегеновая	22:0	1,25
эруковая	22:1	0,20
лигноцериновая	24:0	0,76

Данные жирнокислотного состава свидетельствуют о высоком содержании полиненасыщенных жирных кислот (53,45%) в полученном препарате, при этом большее количество кислот (49%) приходится на омега-6-жирные кислоты. Омега-6-жирные кислоты являются структурными элементами клеточных мембран и обеспечивают нормальное развитие и адаптацию организма человека к неблагоприятным факторам окружающей среды. Необходимо отметить, что линолевая и линоленовая кислоты, входящие в состав семейства омега-6, не синтезируются в организме человека и должны поступать с пищей.

3.5.4 Определение аминокислотного состава белков препарата «Летисульфурин»

Определение аминокислотного состава проводили, как указано в п. 2.2.9 в Институте естественных наук (Вьетнам) (Приложение 7). Результаты представлены в таблице 21.

Таблица 21 – Аминокислотный состав препарата «Летисульфурин»

№	Наименование аминокислот	Содержание аминокислоты в препарате, % СВ
1	Аспарагиновая кислота	1,80
2	Глутаминовая кислота	7,14
3	Серин	1,57
4	Гистидин	0,96
5	Глицин	1,70
6	Треонин*	1,14
7	Аланин	1,68
8	Аргинин	1,65
9	Тирозин	1,22

10	Валин*	1,65
11	Метионин*	0,72
12	Фенилаланин*	1,45
13	Изолейцин*	2,17
14	Лейцин*	2,42
15	Лизин*	2,19
16	Пролин	3,64

* – незаменимые аминокислоты

Как видно из таблицы 21, суммарная доля семи незаменимых аминокислот (кроме триптофана) в полученном препарате составляет 15,38% от СВ. Таким образом, препарат «Летисульфурин» обладает повышенной пищевой ценностью и может быть рекомендован к применению в рецептурах пищевых продуктов.

3.5.5 Определение антагонистических свойств препарата «Летисульфурин»

Антагонизм в микробном мире явление довольно распространенное. Он обусловлен либо различной скоростью роста, либо выделяемыми продуктами метаболизма. Антагонистическая активность препарата «Летисульфурин» была исследована по отношению к бактериям вида *E. coli* и *B. subtilis*, по методу, описанному в п. 2.2.17.

Таблица 22 – Антагонистические признаки препарата «Летисульфурин»

Тест-организм	Препарат «Летисульфурин»
<i>E.coli</i> , задержка роста, мм	4-5
<i>B. subtilis</i> , задержка роста, мм	4

Как следует из таблицы 22, препарат проявляет антагонистическую активность к *E.coli* и *B.subtilis*, сдерживает рост и развитие условно-патогенных бактерий.

3.5.6 Оценка сорбционной способности препарата «Летисульфурин» по отношению к микроорганизмам

Исследование сорбционной способности «Летисульфурина» по отношению к микроорганизмам (в т.ч. патогенным и условно-патогенным) проводили, как указано в п. 2.2.18.

Известно, что большинство *Enterobacteriaceae* находятся в кишечном тракте позвоночных животных (Calandra, 2012; Schierack, 2007). Среди этого семейства встречаются патогенные и условно-патогенные виды, вызывающие серьезные заболевания, как у человека, так и у животных (Penry, 1992). В лабораторных условиях была определена сорбционная способность препарата «Летисульфурин» по отношению к *E. coli*.

Большинства бактерий рода *Bacillus* встречаются в почве (Aslim, 2001), ввиду этого есть вероятность их попадания в организм животных в процессе приема пищи. Некоторые бациллы, например *Bacillus cereus*, патогенны и являются причиной токсикоинфекций (Bottone, 2010). В связи с этим была исследована сорбционная способность препарата по отношению к группе бактерий рода *Bacillus*.

Среди бактерий семейства *Pseudomonadaceae* встречаются виды (*Pseudomonas aeruginosa*), способные вызывать заболевания (Murphy, 2008). Известен псевдомонадный энтерит, возникающий при употреблении контаминированной возбудителем воды (Патент № 2230466). Поэтому третьей группой исследуемых бактерий были *Pseudomonas fluorescens* и *Pseudomonas putida*.

Результаты представлены на рисунке 12.

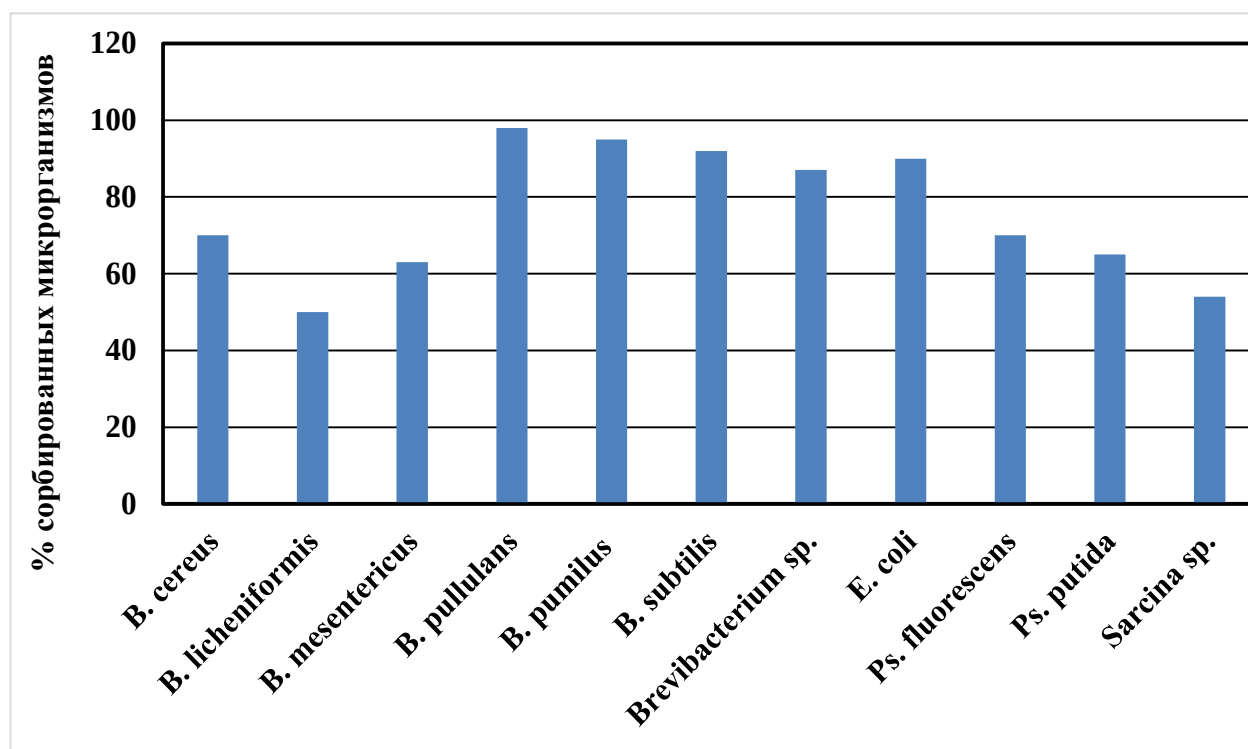


Рисунок 12 – Способность препарата «Летисульфурин» к сорбированию микроорганизмов

Как видно из рисунка 12, препарат «Летисульфурин» способен сорбировать большинство микроорганизмов. Для микроорганизмов *B. pullulans*, *B. pumilus*, *B. subtilis* сорбционная способность составила более 90%.

Таким образом, ярко выраженный адсорбционный потенциал разработанного препарата к микрофлоре, в т.ч. патогенной и условно-патогенной, позволяет использовать полученную добавку в качестве энтеросорбента.

3.5.7 Оценка острой токсичности препарата «Летисульфурин»

Определение острой токсичности препарата «Летисульфурин» проводили согласно методу, описанному в п. 2.2.19. Исследование водного экстракта с последующим воздействием их на стилонихий *Stylonychia mytilus* показало, что инфузории не изменяют свою вытянуто-овальную форму на округлую, не меняют движение на беспорядочное с поворотом вокруг своей поперечной оси и не подвергаются распаду – лизису.

Установлено, что разработанный препарат «Летисульфурин» не обладает острой токсичностью.

3.5.8 Исследование технологических свойств препарата «Летисульфурин»

Препарат «Летисульфурин» может применяться во многих отраслях пищевой промышленности и ассортиментный перечень изготовленных с использованием полученного препарата продуктов и полуфабрикатов, предназначенных для конечного потребителя, может быть весьма широк. При этом следует отметить, что различные биологически активные добавки по-разному могут влиять на качество полуфабрикатов и готовых изделий, что зависит от технологических свойств белков, входящих в состав добавки.

В работе было проведено исследование некоторых технологических свойств полученного препарата согласно п. 2.2.23, 2.2.24, 2.2.25.

Для изучения технологических свойств проводили опыты по определению жиродерживающей (ЖУС) и жирозэмульгирующей (ЖЭС) способностей и стойкость эмульсии (СЭ), путем приготовления эмульсии подсолнечного масла с разработанным препаратом. В качестве сравнения использовали эмульсию подсолнечного масла с яичным порошком. Результаты представлены в таблице 23.

Таблица 23 – Технологические свойства препарата «Летисульфурин»

Образцы	Функциональные свойства		
	ЖУС, %	ЖЭС, %	СЭ, %
Яичный порошок	185	54	56
«Летисульфурин»	167	61	67

Технологические свойства разработанной добавки сопоставимы с показателями яичного порошка. Следовательно, препарат «Летисульфурин» может быть рекомендован в качестве эмульгатора в составе рецептур масложировых продуктов эмульсионной природы.

3.5.9 Исследование влияние препарата «Летисульфурин» на качество клейковины муки

Исследование влияние препарата «Летисульфурин» на качество клейковины муки проводили согласно п. 2.2.20. В пшеничную муку высшего сорта вносили препарат в количестве 0,05% и 0,1% от массы муки. Результаты представлены в таблице 24.

Таблица 24 – Влияние препарата «Летисульфурин» на качество клейковины

Наименование пробы	Количество клейковины, %	Значение на приборе ИДК, ед. пр. ИДК	Растяжимость клейковины, см
Мука пшеничная высшего сорта	31,2	71	9,0
Мука пшеничная высшего сорта + 0,05% «Летисульфурин»	31,0	74	8,5
Мука пшеничная высшего сорта + 0,1% «Летисульфурин»	30,0	75	8,0

Из результатов исследования видно, что добавление препарата «Летисульфурин» не оказывает негативного влияния на клейковину муки и подтверждается возможность использование разработанной добавки в составе рецептур мучных пищевых продуктов.

3.6 Апробация препарата «Летисульфурин» в составе рецептур пищевых продуктов

Одним из направлений производства функциональных продуктов питания является обогащение их витаминам. Согласно СанПиН 2.3.2.1078-01 глава VIII: «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов, обогащенных витаминами и минеральными веществами, внесение

витаминов в продукты осуществляют в количествах, соответствующих степени этого дефицита, т. е. 15 – 50 % средней суточной потребности на 100 г изделия. Именно такой подход чаще всего используют при обогащении продуктов питания массового потребления, адресуемых самым широким слоям населения (мука, хлеб, молоко, напитки, кондитерские изделия и т. п.).

Исходя из изложенного выше, количество вносимой добавки рассчитывали, исходя из суточной потребности в витаминах А и Е (Скрухин, 1991) и их содержания в исходном сырье (Тутельян, 2002).

3.6.1 Использование препарата «Летисульфурин» при изготовлении пшеничного хлеба

В рамках экспериментальной части диссертационного исследования образцы пшеничного хлеба были изготовлены в ОАО «Ногинский хлебокомбинат», как указано в п. 2.2.28. Органолептические показатели готовых образцов представлены в таблице 25.

Таблица 25 – Органолептические показатели образцов пшеничного хлеба с добавлением БАД «Летисульфурин»

Наименование показателя	Контроль	Вариант 1 (с добавлением 0,05% «Летисульфурин»)	Вариант 2 (с добавлением 0,1% «Летисульфурин»)
Внешний вид	Форма правильная. Бледно-желтый цвет корки.	Форма правильная. Светло-желтый цвет корки.	Форма правильная. Желтый цвет корки.
Состояние мякиша	Пропеченный, не влажный на ощупь, без следов непромеса. Цвет мякиша белый.	Пропеченный, не влажный на ощупь, без следов непромеса. Цвет мякиша светло-желтый. Присутствуют частицы добавки.	Пропеченный, не влажный на ощупь, без следов непромеса. Цвет мякиша светло-желтый. Присутствуют частицы добавки.

Вкус	Свойственный данному виду изделий, без постороннего привкуса.	Свойственный данному виду изделий, без постороннего привкуса.	Свойственный данному виду изделий, без постороннего привкуса.
Запах	Свойственный данному виду изделию, без постороннего запаха	Свойственный данному виду изделию, без постороннего запаха	Свойственный данному виду изделию, без постороннего запаха

Органолептические оценка качества образцов пшеничного хлеба определяли в соответствии с методикой, приведенной в п. 2.2.31. Специально для определения органолептических оценки хлебобулочных изделий с добавлением препарата «Летисульфурин» была составлена 5-балльная шкала, учитывающая семь показателей качества (таблица 26).

Таблица 26 – Шкала органолептической оценки качества хлебобулочных изделий с добавлением препарата «Летисульфурин»

Показатели качества изделия	Количество баллов	Характеристика уровня качества
Форма изделия	5	Хлеб с куполообразной верхней коркой
	4	Хлеб с заметно выпуклой верхней коркой
	3	Хлеб с едва выпуклой верхней коркой
	2	Хлеб с плоской верхней коркой
	1	Хлеб с вогнутой верхней коркой
Структура пористости	5	Пористость равномерная, поры мелкие, тонкие
	4	Пористость достаточно равномерная, поры мелкие или только средние, тонкостенные
	3	Пористость неравномерная, поры различной величины и средней толщины
	2	Поры очень мелкие, недоразвитые или крупные, толстостенные, незначительное количество плотных беспористых участков, незначительные пустоты
	1	Значительное количество плотных

		(беспористых) участков, мякиш оторван от верхней корки, значительные пустоты
Эластичность мякиша	5	Мякиш очень мягкий, нежный, эластичный
	4	Мякиш мягкий, эластичный
	3	Мякиш средней мягкости, эластичный
	2	Мякиш уплотненный, недостаточно эластичный, слегка заминающийся
	1	Мякиш сильно заминающийся, влажный на ощупь, липкий
Запах	5	Запах интенсивно выраженный, характерный для данного вида изделий, приятный
	4	Запах выраженный, характерный для данного вида изделий, приятный
	3	Запах слабо выраженный, характерный для данного вида изделий
	2	Запах слегка посторонний, невыраженный
	1	Запах сильно кислый, горьковатый, посторонний, неприятный
Вкус	5	Вкус интенсивно выраженный, характерный для данного вида изделия, привкус добавки отсутствует
	4	Вкус выраженный, характерный для данного вида изделия, привкус добавки отсутствует
	3	Вкус слабо выраженный, характерный для данного вида изделия, чувствуется привкус добавки
	2	Вкус пресный, резко кислый, чувствуется привкус добавки
	1	Вкус совершенно пресный, сильнокислый, горький
Состояние поверхности	5	Поверхность гладкая, без пузырей, трещин и подрывов
	4	Поверхность достаточно гладкая, единичные мелкие пузыри, едва заметные мелкие трещины и подрывы
	3	Поверхность неровная, слегка пузырчатая,

		шероховатая, заметные, но не крупные трещины и подрывы, едва заметные рубцы
	2	Поверхность неровная, бугристая, заметно пузырчатая, крупные трещины и подрывы, заметные рубцы, морщинистая
	1	Поверхность с разорванной коркой и выплывами мякиша
Цвет корки	5	Равномерный, без подгорелостей
	4	Равномерный, но темноватый или светловатый, без подгорелостей
	3	Равномерный, но излишне темная или светлая окраска, без подгорелостей
	2	Неравномерный, излишне темная или светлая окраска с незначительными подгорелостями
	1	Неравномерный, нетипичный, бледный или горелый цвет, излишня подгорелость

Для проведения органолептического анализа была сформированна группа дегустаторов, прошедших проверку сенсорной чувствительности. Результат органолептической оценки пшеничного хлеба с добавлением БАД «Летисульфурин» представлен на рисунке 13.

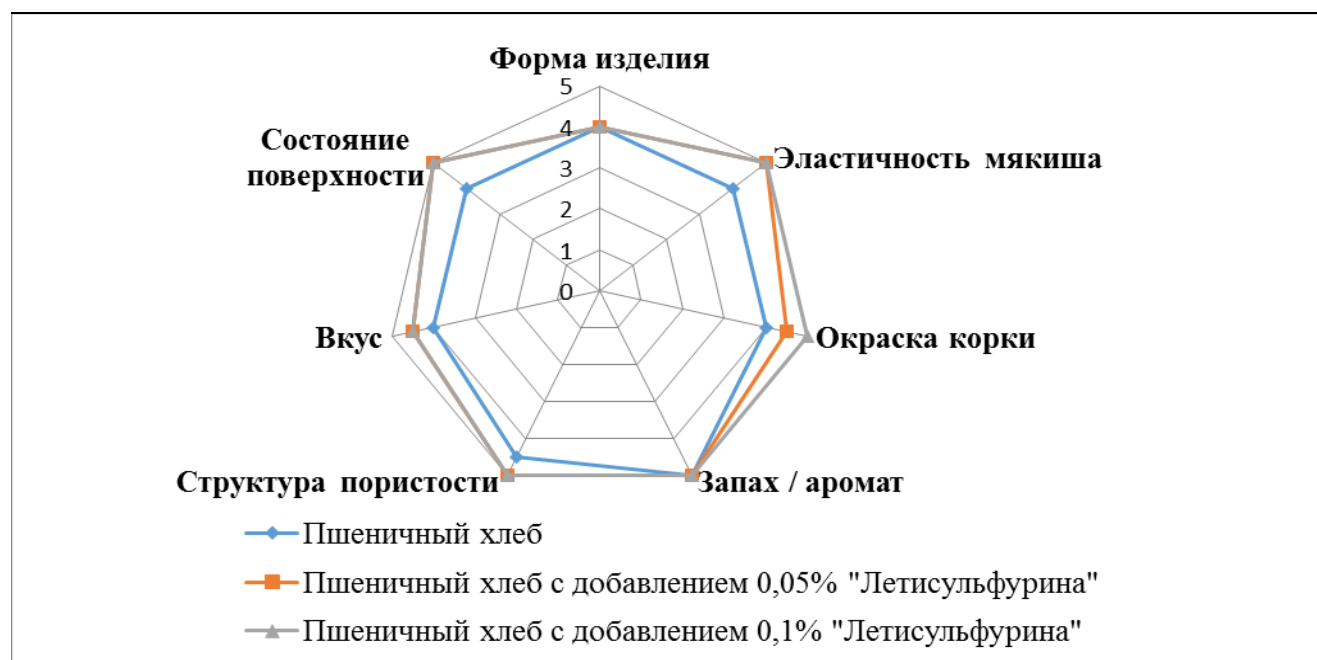


Рисунок 13 – Органолептическая оценка пшеничного хлеба с добавлением БАД «Летисульфурин»

Физико-химические и микробиологические показатели образцов представлены в таблицах 27 и 28.

Таблица 27 – Физико-химические и микробиологические показатели образцов пшеничного хлеба с добавлением БАД «Летисульфурин»

	Влажность мякиша, %	Пористость, %	Кислотность, град.
Требования по ГОСТ Р 52462-2005	Не более 44	Не менее 72	Не более 3
Контроль	43	74	1,6
Вариант 1 (с добавлением 0,05% «Летисульфурина»)	43	78	1,6
Вариант 2 (с добавлением 0,1% «Летисульфурина»)	44	83	1,6

Таблица 28 – Микробиологические показатели образцов пшеничного хлеба с добавлением БАД «Летисульфурин»

Показатели	Нормируемые показатели безопасности по ТР ТС 021/2011	Контроль	Вариант 1 (с добавлением 0,05% «Летисульфурина»)	Вариант 2 (с добавлением 0,1% «Летисульфурина»)
кМАФАнМ, КОЕ в 1 г продукта, не более	не более $1 \cdot 10^3$	$2 \cdot 10^2$	$1,7 \cdot 10^2$	$1,6 \cdot 10^2$
БГКП, в 1 г продукта	не допускаются в 1 г	Не обнаруже ны	Не обнаружены	Не обнаружены
Дрожжи, КОЕ в 1 г продукта, не более	не нормируются	Не обнаруже ны	Не обнаружены	Не обнаружены
Плесневые грибы, КОЕ в 1 г продукта, не более	не более 50	Не обнаруже ны	Не обнаружены	Не обнаружены

Патогенные микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы, в 25 г продукта	не допускаются в 25 г	Не обнаружены	Не обнаружены	Не обнаружены
--	-----------------------	---------------	---------------	---------------

Анализируя таблицы 27 и 28 можно сделать вывод, введение грибной добавки не влияет на физико-химические и микробиологические показатели. По физико-химическим показателям полученные образцы соответствовали ГОСТ Р 52462-2005 «Изделия хлебобулочные из пшеничной муки. Общие технические условия». Следует отметить, что введение препарата «Летисульфурин» привело к повышению качества готовых изделий.

Пищевая ценность хлебобулочных изделий с добавлением препарата «Летисульфурин» определена расчетным методом согласно п. 2.2.32. Результаты расчета пищевой и энергетической ценности разработанных изделий представлены в таблице 29.

Таблица 29 – Пищевая и энергетическая ценность 150 г хлебобулочных изделий с добавлением препарата «Летисульфурин»

Показатели	Пшеничный хлеб / (% удовлетворения суточной потребности)	Пшеничный хлеб с 0,05% «Летисульфурин»/ (% удовлетворения суточной потребности)	Пшеничный хлеб с 0,1% «Летисульфурин»/ (% удовлетворения суточной потребности)
Белки, г	8,7/ (13,3)	8,7/ (13,3)	8,7/ (13,3)
Жиры, г	3,3/ (4,7)	3,3/ (4,7)	3,3/ (4,7)
Углеводы, г	64,5/ (25)	64,5/ (25)	64,5/ (25)
Пищевые волокна, г	3,0/ (15)	3,0/ (15)	3,0/ (15)
Витамины, мг			
Витамин А	0	1,1/ (110)	2,3/ (225)
Витамин Е	1/ (12)	5,8/ (39)	11,5/ (76)

Витамин РР	1,0/ (5)	1,2/ (6)	1,2/ (6)
Энергетическая ценность, ккал	310,0/ (12,6)	310,0/ (12,6)	310,0/ (12,6)

Согласно расчетам введение БАД «Летисульфурин» в количестве 0,1% от массы муки приводит к значительному обогащению витаминами А и Е, содержание которых в 150 г пшеничного хлеба превышает суточную норму потребления. При внесении препарата в количестве 0,05% от массы муки в состав рецептуры пшеничного хлеба удовлетворяется суточная норма в витамине А на 110 %, в витамине Е на 39%. При этом энергетическая ценность хлеба остается на уровне традиционной рецептуры и составляет 310 ккал.

Результаты проведенных испытаний подтверждены актом о наработке опытных партий хлеба с пищевой добавкой «Летисульфурин» (утвержден главным технологом ОАО «Ногинский хлебокомбинат») (Приложение 8). Разработан проект технических условий на получение хлеба из пшеничной муки с добавлением в рецептуру БАД «Летисульфурин» (Приложение 9).

3.6.2 Использование препарата «Летисульфурин» при изготовлении макаронных изделий

В рамках экспериментальной части диссертационного исследования на кафедре «Технологии общественного питания» МГУПП были изготовлены макаронные изделия типа «Лапша домашняя», как указано в п. 2.2.29. Органолептические показатели представлены в таблице 30.

Таблица 30 – Органолептические показатели макаронных изделий

Показатели	Контроль	Вариант 1 (с добавлением 0,05% «Летисульфурин»)	Вариант 2 (с добавлением 0,1% «Летисульфурин»)
Цвет	Соответствует сорту муки, без следов	Светло-оранжевый, присутствуют	Темно-оранжевый, присутствуют частицы

	промесса	частицы добавки	добавки
Поверхность	Гладкая	Гладкая	Гладкая
Излом	Стекловидный	Стекловидный	Стекловидный
Форма	Соответствует типу изделия	Соответствует типу изделия	Соответствует типу изделия
Вкус	Свойственный данному виду изделию, без постороннего вкуса	Свойственный данному виду изделию, без постороннего вкуса	Свойственный данному виду изделию, без постороннего вкуса
Запах	Свойственный данному виду изделию, без постороннего запаха	Свойственный данному виду изделию, без постороннего запаха	Свойственный данному виду изделию, без постороннего запаха
Влажность, %	13	13	13

Органолептическую оценку качества готовых образцов макаронных изделий определяли в соответствии с методикой, приведенной в п. 2.2.31. Специально для определения органолептических оценок полученных продуктов была разработана 5-балльная шкала. При этом каждому баллу соответствовала определенная характеристика макаронных изделий (таблица 31).

Таблица 31 – Шкала органолептической оценки качества макаронных изделий с добавлением препарата «Летисульфурин»

Показатели качества изделия	Количество баллов	Характеристика уровня качества
Консистенция	5	Упругая, без мучного ядра
	4	Слегка размягчённая
	3	Мягкая
	2	Мягкая, слегка расплывшаяся
	1	Сильно расплывшаяся
Внешний вид	5	Поверхность гладкая, форма правильная, изделия не слипаются
	4	Форма правильная, поверхность гладкая, изделия слегка слипаются или их незначительная часть

		теряет форму
	3	Форма правильная, изделия заметно слипаются частично, часть теряют форму или имеют трещины
	2	Изделия слипаются с образованием комьев, их значительное количество теряет форму или имеет трещины
	1	Большая часть изделий теряет форму, слипается или превращается после варки в осколки
Вкус	5	Вкус интенсивно выраженный, характерный для данного вида изделия, привкус добавки отсутствует
	4	Вкус выраженный, характерный для данного вида изделия, привкус добавки отсутствует
	3	Вкус слабо выраженный, характерный для данного вида изделия, чувствуется привкус добавки
	2	Вкус пресный, резко кислый, чувствуется привкус добавки
	1	Вкус совершенно пресный, сильноокислый, горький
Запах/аромат	5	Запах интенсивно выраженный, характерный для данного вида изделий, приятный
	4	Запах выраженный, характерный для данного вида изделий, приятный
	3	Запах слабо выраженный, характерный для данного вида изделий
	2	Запах слегка посторонний, невыраженный
	1	Запах сильно кислый, горьковатый, посторонний, неприятный
Цвет	5	Однотонный, типичный для данного сорта
	4	Однотонный, слегка светлее или темнее
	3	Значительно темнее или светлее типичного
	2	Не однотонный
	1	Серый, коричневый

Для проведения органолептического анализа была сформированна группа дегустаторов, прошедших проверку сенсорной чувствительности. Результат органолептической оценки макаронных изделий типа «Лапша домашняя» с добавлением БАД «Летисульфурин» представлен на рисунке 14.

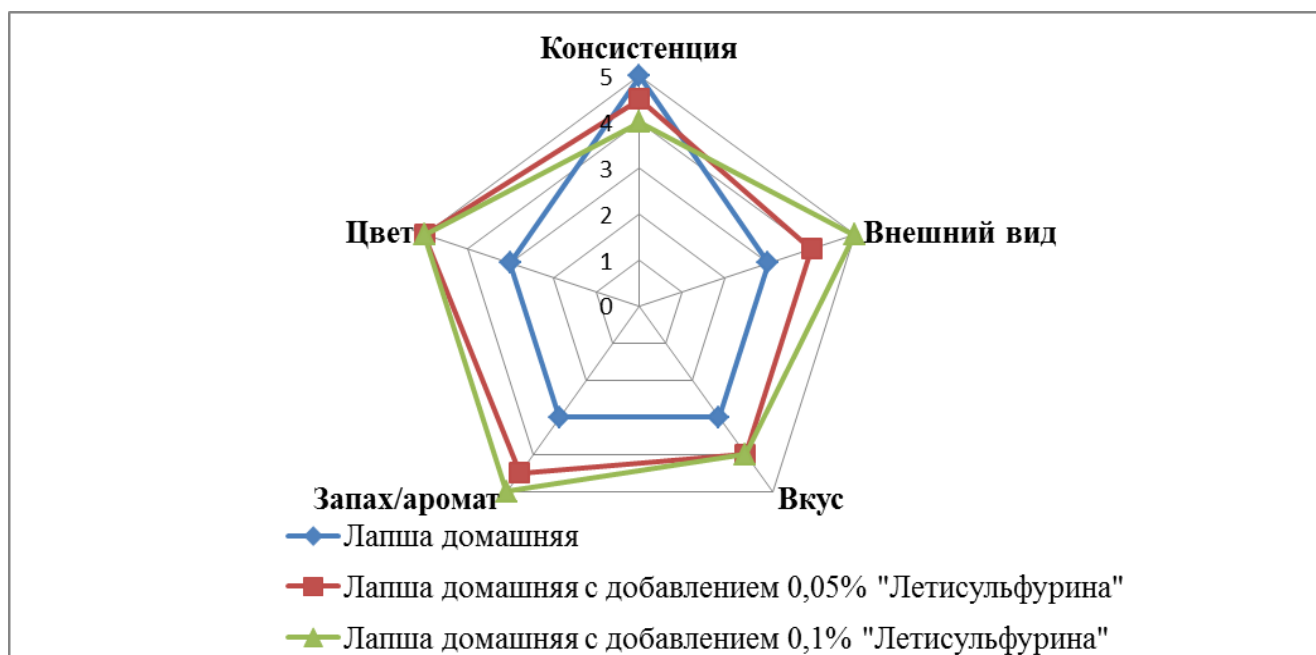


Рисунок 14 – Органолептическая оценка готовых макаронных изделий типа «Лапша домашняя» с добавлением БАД «Летисульфурин»

Установлено, что поверхность, излом и влажность готовых изделий соответствовали требованиям ГОСТ Р 51865-2010 «Изделия макаронные. Общие технические условия». Введение препарата «Летисульфурин» улучшало органолептические показатели готовых макаронных изделий типа «Лапша домашняя».

При хранении в течение трёх недель исследованы микробиологические показатели «Лапши домашней» (таблица 32).

Таблица 32 – Микробиологические показатели «Лапши домашней»

Показатели	Нормируемые показатели безопасности по ТР ТС 021/2011	Контроль	Вариант 1 (с добавлением 0,05% «Летисульфурин»)	Вариант 2 (с добавлением 0,1% «Летисульфурин»)
кМАФАнМ, КОЕ в 1 г продукта, не более	$1 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^3$	$1,5 \cdot 10^3$	$1,4 \cdot 10^3$
БГКП, в 1 г продукта	Не допускаются	Не обнаруже	Не обнаружены	Не обнаружены

		ны		
Дрожжи, КОЕ в 1 г продукта, не более	100	50	45	42
Плесневые грибы, КОЕ в 1 г продукта, не более	200	100	95	93
Патогенные микроорга- низмы, в т.ч. сальмонеллы в 25 г продукта	Не допускаются	Не обнаруже ны	Не обнаружены	Не обнаружены

Как видно из таблицы 32, исследованные образцы по микробиологическим показателям отвечали требованиям ТР ТС 021/2011, предъявляемым к макаронным изделиям.

Пищевая ценность макаронных изделий с добавлением препарата «Летисульфурин» определена расчетным методом согласно п. 2.2.32. Результаты расчета пищевой и энергетической ценности разработанных изделий представлены в таблице 33.

Таблица 33 – Пищевая и энергетическая ценность 100 г макаронных изделий типа «Лапша домашняя» с добавлением препарата «Летисульфурин»

Показатели	Лапша домашняя/ (% удовлетворения суточной потребности)	Лапша домашняя с 0,05% «Летисульфурин»/ (% удовлетворения суточной потребности)	Лапша домашняя с 0,1% «Летисульфурин»/ (% удовлетворения суточной потребности)
Белки, г	9,7/ (15)	9,7/ (15)	9,7/ (15)
Жиры, г	3,1/ (4,4)	3,1/ (4,4)	3,1/ (4,4)

Углеводы, г	50,5/ (19,6)	50,5/ (19,6)	50,5/ (19,6)
Пищевые волокна, г	1,9/ (9,5)	1,9/ (9,5)	1,9/ (9,5)
Витамины, мг			
Витамин А	0,07/ (10)	1,0/ (100)	2,1/ (210)
Витамин Е	1,0/ (6,6)	5,7 / (38)	11,0/ (73)
Витамин РР	0,9/ (4,5)	1,0/ (5)	1,1/ (5,5)
Энергетическая ценность, ккал	270,0/ (10,8)	270,0/ (10,8)	270,0/ (10,8)

Согласно расчету, рекомендуемая доза применения БАД «Летисульфурин» 0,05% от массы муки. При употреблении 100 г макаронных изделий с добавлением препарата «Летисульфурин» в количестве 0,05% от массы муки суточная потребность организма взрослого человека в витаминах А и Е удовлетворяется на 100% и 38% соответственно.

Результаты подтверждены актом лабораторных испытаний (Приложение 10). Разработан проект технических условий на получение макаронных изделий с добавлением в рецептуру БАД «Летисульфурин» (Приложение 11).

3.6.3 Использование препарата «Летисульфурин» при изготовлении майонеза

В рамках экспериментальной части диссертационного исследования на кафедре «Технологии общественного питания» МГУПП были изготовлены образцы майонеза, как указано в п. 2.2.30. Органолептическая характеристика готового соуса представлена в таблице 34.

Таблица 34 –Характеристика готового майонеза

Наименование показателей	Контроль*	Вариант 1 (с добавлением 0,05% «Летисульфурин»)	Вариант 2 (с добавлением 0,1% «Летисульфурин»)
Внешний вид, консистенция	Однородный сметанообразный	Однородный продукт, с единичными	Однородный продукт, с единичными пузырьками

	продукт, с единичными пузырьками воздуха	пузырьками воздуха, присутствуют частицы добавки	воздуха, присутствуют частицы добавки
Вкус	Присущий классическому майонезу, с лёгким привкусом горчицы	Присущий классическому майонезу	Присущий классическому майонезу, слегка кисловатый
Запах	Присущий классическому майонезу	Присущий классическому майонезу	Присущий классическому майонезу
Цвет	Белый	Светло-желтый	Светло-желтый

* в соответствии с ГОСТ 53590-2009 «Майонез и майонезные соусы (общие технические условия)»

Органолептическую оценку исследуемых образцов проводили согласно п. 2.2.31. Для определения органолептической оценки была разработана 5-балльная шкала. При этом каждому баллу соответствовала определенная характеристика макаронных изделий (таблица 35).

Таблица 35 – Шкала органолептической оценки качества майонеза с добавлением препарата «Летисульфурин»

Показатели качества изделия	Количество баллов	Характеристика уровня качества
Консистенция	5	Однородная, густая
	4	Однородная, не очень густая
	3	Однородная, слегка расслоившаяся
	2	Неоднородная
	1	Неоднородная, расслоившаяся
Внешний вид	5	Сметанообразный продукт, наличие частиц пряностей, точечные вкрапления добавки
	4	Сметанообразный продукт, наличие частиц пряностей, точечные вкрапления добавки
	3	Жидкий продукт, наличие частиц пряностей, точечные вкрапления добавки
	2	Жидкий продукт, наличие частиц пряностей,

		точечные вкрапления добавки
	1	Жидкий расслоившийся продукт, наличие частиц пряностей, точечные вкрапления добавки
Вкус	5	Вкус интенсивно выраженный, характерный для данного вида изделия, привкус добавки отсутствует
	4	Вкус выраженный, характерный для данного вида изделия, привкус добавки отсутствует
	3	Вкус слабо выраженный, характерный для данного вида изделия, чувствуется привкус добавки
	2	Вкус пресный, резко кислый, чувствуется привкус добавки
	1	Вкус совершенно пресный, сильнокислый, горький
Запах/аромат	5	Запах интенсивно выраженный, характерный для данного вида изделий, приятный
	4	Запах выраженный, характерный для данного вида изделий, приятный
	3	Запах слабо выраженный, характерный для данного вида изделий
	2	Запах слегка посторонний, невыраженный
	1	Запах сильно кислый, горьковатый, посторонний, неприятный
Цвет	5	Однотонный, типичный для данного сорта
	4	Однотонный, слегка светлее или темнее
	3	Значительно темнее или светлее типичного
	2	Неоднотонный
	1	Серый, коричневый

Для проведения органолептического анализа была сформированна группа дегустаторов, прошедших проверку сенсорной чувствительности. Результат органолептической оценки майонеза с добавлением БАД «Летисульфурин» представлен на рисунке 15.

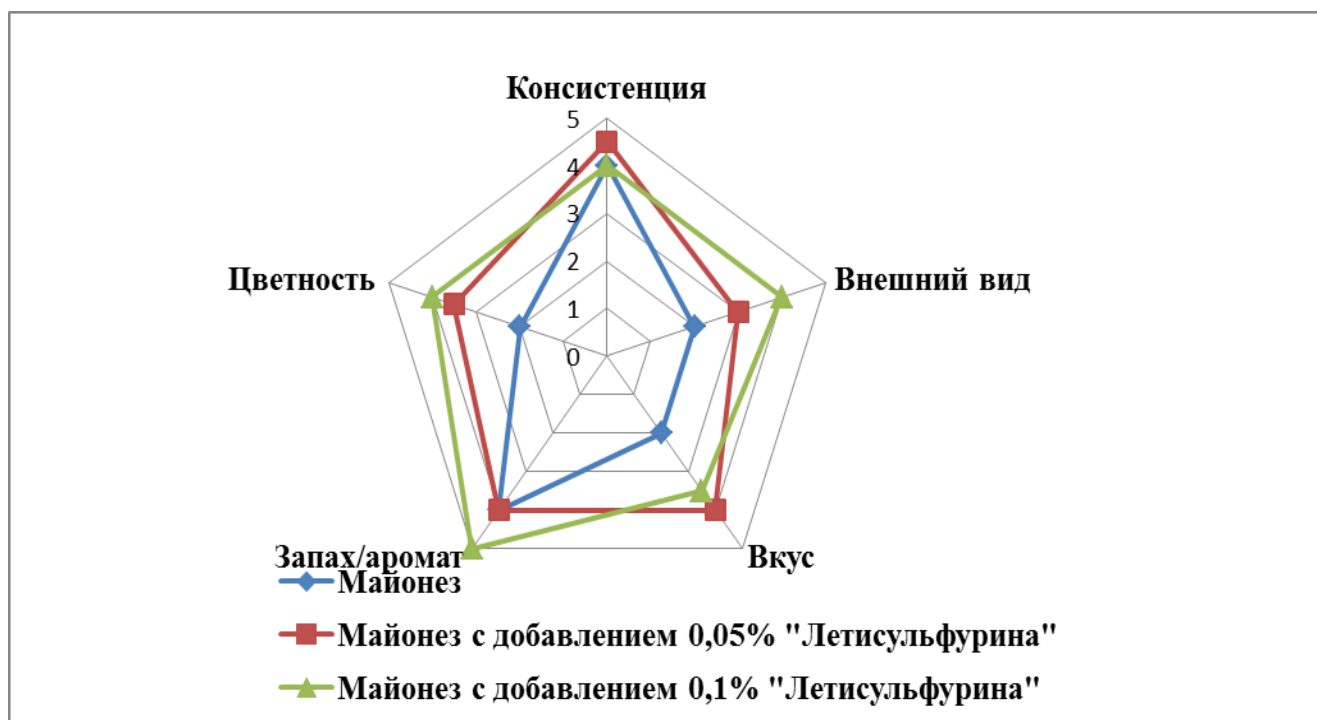


Рисунок 15 – Органолептическая оценка майонеза с добавлением БАД «Летисульфурин»

Контрольный и опытные образцы были заложены на хранение в течение месяца при температуре +4 +6. В процессе хранения периодически отбирались пробы и определялись органолептические, физико-химические и микробиологические показатели образцов. Результаты представлены в таблицах 36 и 37.

Таблица 36 – Изменение кислотности и стойкости эмульсии майонеза в процессе хранения

Время хранения, сут.	Физико-химические показатели	Контроль	Вариант 1 (с добавлением 0,05% «Летисульфурин»)	Вариант 2 (с добавлением 0,1% «Летисульфурин»)
0	Стойкость эмульсии, %	100	100	100
	Кислотность	0,36	0,34	0,34
10	Стойкость эмульсии, %	100	100	100
	Кислотность	0,36	0,34	0,33
20	Стойкость эмульсии, %	99	99	99

	Кислотность	0,39	0,36	0,35
30	Стойкость эмульсии, %	98	98	99
	Кислотность	0,41	0,37	0,38

В процессе хранения показатели стойкости эмульсии и кислотности контрольного и опытных образцов незначительно отличались друг от друга. Физико-химические показатели контрольного и опытных образцов практически не менялись на протяжении всего срока хранения.

Таблица 37 – Микробиологические показатели опытного и контрольных образцов майонеза после 30 суток хранения

Показатели	Нормируемые показатели безопасности по ТР ТС 021/2011	Контроль	Вариант 1 (с добавлением 0,05% «Летисульфурин»)»	Вариант 2 (с добавлением 0,1% «Летисульфурин»)»
кМАФАнМ, КОЕ в 1 г продукта, не более	$1 \cdot 10^4$	200	150	140
БГКП, в 1 г продукта	Не допускаются	Не обнаружены	Не обнаружены	Не обнаружены
Дрожжи, КОЕ в 1 г продукта, не более	$5 \cdot 10^2$	Не обнаружены	Не обнаружены	Не обнаружены
Плесневые грибы, КОЕ в 1 г продукта, не более	50	Не обнаружены	Не обнаружены	Не обнаружены
Патогенные микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы в 25 г продукта	Не допускаются	Не обнаружены	Не обнаружены	Не обнаружены

Исследуемые образцы по микробиологическим показателям отвечали всем требованиям ТР ТС 021/2011, предъявляемые к майонезу.

Известно, что майонез относится к высококалорийным пищевым продуктам. Согласно СанПиН 2.3.2.2804-10 глава VIII при обогащении высококалорийных

пищевых продуктов содержание витаминов должно составлять от 15 % до 50 % от нормы физиологической потребности организма в расчете на 100 ккал (1 стандартную порцию продукта). Согласно расчету энергетической ценности 100 ккал содержится в 16 г полученных изделий.

Пищевая ценность майонеза с добавлением препарата «Летисульфурин» определена расчетным методом согласно п. 2.2.32. Результаты расчета пищевой ценности 100 ккал полученных изделий представлены в таблице 38.

Таблица 38 – Пищевая 100 ккал майонеза с добавлением препарата «Летисульфурин»

Показатели	Майонез/ (% удовлетворения суточной потребности)	Майонез с 0,05%/ «Летисульфурин» (% удовлетворения суточной потребности)	Майонез с 0,1%/ «Летисульфурин» (% удовлетворения суточной потребности)
Белки, г	0,4/ (0,6)	0,4 / (0,6)	0,4/ (0,6)
Жиры, г	11,0/ (15,7)	11,0/ (15,7)	11,0/ (15,7)
Углеводы, г	0,3/ (0,1)	0,3/ (0,1)	0,3/ (0,1)
Пищевые волокна, г	0	0,02/ (0,1)	0,02/ (0,1)
Витамины, мг			
Витамин А	0	0,2/ (20)	0,4/ (40)
Витамин Е	4,8/ (32)	5,7/ (38)	6,6/ (44)
Витамин РР	0	0,1/ (0,6)	0,1/ (0,6)

Расчет пищевой ценности 100 ккал майонеза показал, что добавление препарата «Летисульфурин» приводит к увеличению содержания жирорастворимых витаминов А и Е. При употреблении 16 г майонеза с добавлением 0,05% «Летисульфурин» суточная потребность в витаминах А и Е удовлетворяется на 20% и 38% соответственно, а при употреблении майонеза с добавлением 0,1% «Летисульфурин» – на 40% в витамине А и 44% в витамине Е.

Полученные результаты подтверждены актом лабораторных испытаний (Приложение 12). Разработан проект технических условий на получение майонезного соуса с добавлением в рецептуру БАД «Летисульфурин» (Приложение 13).

ВЫВОДЫ:

1. Изучены предпочтения потребителей к продуктам питания, обогащенных микронутриентами. Потребительские предпочтения в отношении БАД свидетельствуют о том, что 64% респондентов готовы употреблять продукты с добавлением БАВ с целью профилактики заболеваний и 60% готовы употреблять БАВ в составе продуктов питания. Обоснована необходимость разработки продуктов питания с добавлением биологически активных добавок.
2. Отобран активный грибной продуцент. По результатам скрининга выделен продуктивный штамм гриба. На основании изучения совокупности его морфологических, культуральных, физиолого-биохимических и филогенетических характеристик исследуемой культуры новый штамм идентифицирован как высший базидиальный гриб *Laetiporus sulphureus* 3X.
3. Разработана технология биологически активной добавки «Летисульфурин» глубинным способом культивирования грибной культуры *L. sulphureus* 3X. Состав ферментационной среды: необезжиренная соевая мука – 4,5%; NH_4NO_3 – 1,54%; pH среды 3.0; посевная доза 20%; время культивирования 4 суток. Разработаны проекты технической документации производства БАД к пище «Летисульфурин».
4. Проведена товароведная оценка полученной биологически активной добавки к пище «Летисульфурин». Установлены жирнокислотный и аминокислотный составы, и технологические свойства препарата «Летисульфурин».
5. Определены направления использования БАД «Летисульфурин» при изготовлении пищевых продуктов, предназначенных для конечного потребителя, на примере пшеничного хлеба, макаронных изделий и майонеза. Проведена их товароведная оценка и разработаны проекты технической документации.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. ГОСТ 10444.15-94 Продукты пищевые. Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов. - М.: Стандартинформ, 2010. - 7с.
2. ГОСТ 15113.9-77 Концентраты пищевые. Методы определения жира. - М.: Стандартинформ, 2003. - 9с.
3. ГОСТ Р 54731-2011 Дрожжи хлебопекарные прессованные. Технические условия.. - М.: Стандартинформ, 2012. - 16с.
4. ГОСТ 21-94 Сахар. Технические условия. - М.: Стандартинформ, 2012. - 14с.
5. ГОСТ 21094-75 Хлеб и хлебобулочные изделия. Метод определения влажности. - М.: Стандартинформ, 2006. - 4с.
6. ГОСТ 27839-88 Определение количества и качества клейковины. - М.: Стандартинформ, 2007. - 9с.
7. ГОСТ 28805-90 Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества осмотолерантных дрожжей и плесневых грибов. - М.: Стандартинформ, 2010. - 4с.
8. ГОСТ Р 53155-2008 Продукты яичные жидкие и сухие пищевые. Технические условия- М.: Стандартинформ, 2010. - 14с.
9. ГОСТ 3898-56 Мука соевая дезодорированная. Технические условия. - М.: Стандартинформ, 2006. - 5с.
10. ГОСТ 52121-2003 Яйца куриные пищевые. Технические условия. - М.: Стандартинформ, 2008. - 11с.
11. ГОСТ 5669-96 Хлебобулочные изделия. Метод определения пористости. - М.: Стандартинформ, 2006. - 5с.
12. ГОСТ 56 -96 Хлебобулочные изделия. Метод определения кислотности. - М.: Стандартинформ, 2006. - 8с.
13. ГОСТ 8227 -56 Хлеб и хлебобулочные изделия. Укладывание, хранение и транспортирование. - М.: Стандартинформ, 2006. - 6с.

14. ГОСТ Р 50928 - 96 Премиксы. Методы определения витаминов А, D, Е. - М.: Стандартиформ, 1999. - 14с.
15. ГОСТ Р 51574 - 2000 Соль поваренная пищевая. Технические условия. - М.: Стандартиформ, 2005. - 15с.
16. ГОСТ Р 51865-2010 Изделия макаронные. Общие технические условия. - М.: Стандартиформ, 2011. - 12с.
17. ГОСТ Р 52178-2003 Маргаины. Общие технические условия. - М.: Стандартиформ, 2010. - 15с.
18. ГОСТ Р 52189-2003 Мука пшеничная. Общие технические условия. - М.: Стандартиформ, 2008. - 11с.
19. ГОСТ Р 52337-2005 Корма, комбикорма, комбикормовое сырье. Методы определения общей токсичности. - М.: Стандартиформ, 2011. - 19с.
20. ГОСТ Р 52462-2005 Изделия хлебобулочные из пшеничной муки. Общие технические условия. - М.: Стандартиформ, 2011. - 20с.
21. ГОСТ Р 52465-2005 Масло подсолнечное. Технические условия. - М.: Стандартиформ, 2011. - 19с.
22. ГОСТ Р 52741-2007 Премиксы. Определение содержания витаминов: В1 (тиаминхлорида), В2 (рибофлавина), В3 (пантотеновой кислоты), В5 (никотиновой кислоты и никотинамида), В6 (пиридоксина), В9 (фолиевой кислоты), С (аскорбиновой кислоты) методом капиллярного электрофореза. - М.: Стандартиформ, 2007. - 23с.
23. ГОСТ Р 53438-2009 Сыворотка молочная. Технические условия. - М.: Стандартиформ, 2010. - 12с.
24. ГОСТ Р 53590-2009 Майонезы и соусы майонезные. Общие технические условия. - М.: Стандартиформ, 2011. - 16с.
25. ГОСТ Р 53595-2009 Майонезы и соусы майонезные. Правила приемки и методы испытаний. - М.: Стандартиформ, 2011. - 32с.
26. ГОСТ Р 54055-2010 Пищевые продукты переработки яиц сельскохозяйственной птицы. Метод определения жирнокислотного состава. - М.: Стандартиформ, 2012. - 16с.

27. СанПиН 2.1.4.1074-01 Питьевая вода. Гигиенические требования к качеству воды централизованных систем питьевого водоснабжения. Контроль качества. Санитарно-эпидемиологические правила и нормативы.
28. СанПиН 2.3.2.2804-10 «Дополнение и изменения № 22 к СанПиН 2.3.2.1078-01 «Гигиенические требования безопасности и пищевой ценности пищевых продуктов».
29. Сборник рецептур блюд и кулинарных изделий для предприятий общественного питания // НИЧОП, Управление общественного питания Минторга СССР. - М.: Экономика, 1981. - 720с.
30. Методические рекомендации МР 2.3.1.1915-04 "Рекомендуемые уровни потребления пищевых и биологически активных веществ". Москва. Изд. ГОУ "Оренбург. Гос. Университет". - 2004. - 36с.
31. Технический регламент таможенного союза «О безопасности пищевой продукции» (021/2011)
32. Агафонова С.В. Влияние климатических условий среды на антиоксидантный эффект экстрактов из плодовых тел *Laetiporus sulphureus* / С.В. Агафонова, Г.Б. Боровский, Т.А. Пензина и др. // Третий конгресс медицинской микологии, Москва, 2005. М., - 2005.- 325с.
33. Агафонова С.В. Влияние условий произрастания на содержание полисахаридов в плодовых телах *Latieporus sulphureus* / С.В. Агафонова, Г.Б. Боровский, Т.А. Пензина и др. // Пятый конгресс медицинской микологии, Москва, 2007. М., 2007. - 405с.
34. Агафонова С.В., Изучение химического состава и особенностей накопления биологически активных соединений в плодовых телах *Laetiporus sulphureus* в условиях Прибайкалья // Автореферат дис. на соиск. учен. степ. канд. биол. наук - Иркутск.: 2007.
35. Адлер, Ю.П. Планирование эксперимента при поиске оптимальных условий / Ю.П. Адлер, Е.В. Макаров, Ю.В. Грановский. - М.: Наука, 1996. - 279 с.

36. Артюхова С. И., Гаврилова Ю. А. Использование пробиотиков и пребиотиков в биотехнологии производства биопродуктов. - Омск : ОмГТУ, 2010. - 115с.
37. Артюхова С.И. Разработка биотехнологических основ производства продуктов синбиотиков // Пробиотики, пребиотики, синбиотики и функциональные продукты питания. Современное состояние и перспективы: Сб. мат-лов конф. - Москва, 2004. - С. 168 - 169.
38. Бабицкая В.Г., Щерба В.В., Гвоздкова Т.С. Институт микробиологии НАН Беларуси "Новые биологически активные добавки на основе глубинного мицелия базидиальных грибов" // Успехи медицинской микологии (материалы 5-го Всероссийского Конгресса по медицинской микологии) - М: 2007. - т. IX - С. 188 - 193.
39. Бабицкая. В.Г. Физиологически активные соединения и биологическое действие глубинного мицелия базидиомицета *Ganoderma lucidum* (Curt.: Fr.) P. Karst / В.Г. Бабицкая, С.В. Хлюстов, Л.В. Пленина и др. // Биотехнология. 2003. - № 4. - С. 35-44.
40. Бадалян С.М. Основные группы и терапевтическая значимость биоактивных метаболитов, образуемых макромицетами // Проблемы медицинской микологии - 2000. - 3, № 1. - С. 16-23.
41. Бадалян С.М., Гаспаряп А.В., Гарибян Н.Г., Исследование антиоксидантной активности некоторых базидиальных макромицетов // Микология и фитопатология - 2003. - Вып. 5. - С. 63-67 .
42. Барановский А.Ю. Советы по питанию россиянам - СПб: Атон, 1998. — 416с.
43. Батурин А.К., Мендельсон Г.И. Питание и здоровье: проблемы XXI века // Пищевая промышленность. - 2005. - №5. - С. 38-40.
44. Беккер З.Э. Физиология грибов и их практическое использование. М.: МГУ, 1963. - 267с.
45. Беккер З.Э. Физиология и биохимия грибов. М.: МГУ. 1988. - 230 с.

46. Белова Н.Б., И.Я. Ефремова. Препараты из высших базидиальных грибов - объект патентно-правовой охраны // Микология и фитопатология - 1992. - Вып. 4 - С. 321-324.
47. Белова Н.В. Базидиомицеты источники биологически активных веществ / Н.В. Белова // Растительные ресурсы Т.27. - Вып. 2. - 1991. - С. 8-17.
48. Белова Н.В. Перспективы использования биологически активных соединений высших базидиомицетов в России // Микология и фитопатология - 2004. - 38, №2. - С. 1-7.
49. Билай В. Т. Грибы нынче. // АГРО перспектива, 2000. - №5. - 11с.
50. Билай В.И Методы экспериментальной микологии. - Киев: Наукова думка, 1982. – 242 с.
51. Билялова А.С., Войно Л.И., Шпидонова Е.А. Характеристика гриба *Laetiporus sulphureus* - продуцента биологически активных веществ// Живые системы и биологическая безопасность населения: тезисы докл. IX международной научной конференции студентов и молодых ученых – М., 2011- С.378-379.
52. Бирюков В.В., Кантере В.М. Оптимизация периодических процессов микробиологического синтеза. - М.: Наука, 1985. - 196с.
53. Бисько Н.А., Бухало А.С, Вассер С.П. Высшие съедобные базидиомицеты в поверхностной и глубинной культуре. - Киев: Наукова думка, 1983. - 312 с.
54. Богатырев А.Н., Большаков О.В., Макеева И.А., Тутельян В.А. Использование БАД в пищевых продуктах. // Пищевая промышленность. -1997. - №9.- С. 25-27.
55. Бурмистрова, А.Л. Антибиотики и антибиотикорезистентность. Проблемы и пути решения / А.Л. Бурмистрова, Л.И. Бахарева, Н.Э. Шафикова. - Челябинск: Челябинский Дом печати, 2002. - 178с.
56. Бухало А. С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре - Киев: Наукова думка, 1988. - 194с.
57. Бухало А.С. Лекарственные препараты и пищевые добавки из макромицетов. - Успехи медицинской микологии: материалы третьего

всероссийского конгресса по медицинской микологии, М, 24-25 марта 2005 / Национальная академия микологии; редкол.: Ю.В. Сергеев (и др.). - Москва, 2005. - Т5. - С. 254-256.

58. Бухало А.С., Поединок Н.Л., Михайлова О.Б., Ломберг М.Л., Скрининг штаммов лекарственных макромицетов в коллекции культур шляпочных грибов // Успехи медицинской микологии (материалы 5-го Всероссийского Конгресса по медицинской микологии) - М: 2007 - т. IX - С. 227-230.

59. Бухало А.С., Соломко Э.Ф., Пархоменко Л.П., и др. Опыт глубинного выращивания *Pleurotus ostreatus* Kumm. на комплексных средах // Производство высших съедобных грибов СССР. Киев: Наук, думка, 1978. - С. 29-32.

60. Войно Л.И. Методические указания к выполнению лабораторных работ по разделу "дрожжи" курса "Микробиология" / Л.И. Войно. - М.: МГУПП, 1999. – 19с.

61. Войно Л.И., Матреничева В.В. Методические указания к выполнению лабораторных работ по общей микробиологии (для студентов специальностей 070100 "Биотехнология" и 271500 "Пищевая биотехнология"). - М.: МГУПП, 2005. - 46с.

62. Волгарев М.Н. О нормах физиологических потребностях человека в пищевых веществах и энергии: ретроспективный анализ и перспективы развития. Вопрос питания, №4, 2000. - 3с.

63. Волгарев М.Н. Питание и здоровье населения России. Биологически активные добавки - нутрицевтики и их использование с профилактической и лечебной целью при наиболее распространённых заболеваниях. Сборник материалов 3-го международного симпозиума, Тюмень, 1997. - 3с.

64. Волкова А. С., Войно Л. И., Русакова М. И. Разработка условий культивирования высшего базидиального гриба *Laetiporus sulphureus* с целью получения биологически активной добавки.// Сборник материалов: Технология и производственный менеджмент -М.: МГУПП, 2011г.- С.126-131.

65. Гайдадин А.Н. Применение полного факторного эксперимента при проведении исследований. Методические указания. / сост. А.Н. Гайдадин, С.А. Ефремова// ВолгГТУ. - Волгоград, 2008. - 16с.
66. Гапаров М.М. Питание детей первого года жизни: взгляд нутрициолога. Вопросы питания, №4, 2001. - С. 23-27.
67. Гвоздикова Т.С., и др. Биологически активная добавка на основе мицелия гриба *Laetiporus sulphureus* и её функциональное назначение // Успехи медицинской микологии: Материалы III Всероссийского конгресса по медицинской микологии, 2005. - С. 257-259.
68. Гвоздикова Т.С., Мишина Л.Т., Черноок Т.В. и др. Глубинный мицелий ксантофилсодержащего гриба *Laetiporus sulphureus* - основа новой биологически активной добавки // Успехи медицинской микологии - 2004. - 3. - С. 218-220.
69. Гвоздикова Т.С., Пленина Л.В., Капич А.Н. и др. Лекарственный базидиальный гриб *Laetiporus sulphureus* - источник биологически активных соединений // Перспективы использования лекарственных грибов при решении экологических проблем: Материалы международной научно - практической конференции (Киев, сентябрь, 2004) . - Киев, 2004. - С. 18-20.
70. Гвоздикова Т.С., Сорока О.Н., Черноок Т.В., Залашко М.В. Эффективность антиоксидантного действия различных концентраций спиртового экстракта из мицелия каротинсинтезирующего гриба *Laetiporus sulphureus* // Микробиология и биотехнология XXI столетия: Материалы международной конференции, посвященной 100-летию со дня рождения С.А. Самцевича, Минск, 22-24 мая 2002 г. - Минск, 2002. - С. 24-25.
71. Гвоздикова Т.С., Черноок Т.В., Залашко М.В. Исследование АОА индивидуальных липофильных соединений спиртового экстракта гриба *L. sulphureus* // Микробиология и биотехнология XXI столетия: Материалы международной конференции, Минск - 2002. - С. 94-95.
72. Гвоздикова, Т.С. Серно-желтый трутовик - перспективный объект биотехнологии / Т.С. Гвоздикова и др. // Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии: материалы международной

- конференции, Минск - Раков 1 - 2 июня 2006 г. / ГНУ "Институт микробиологии НАН Белоруссии"; редкол.: З.М. Алещенкова и др. - Минск, 2006. - С. 232-235.
73. Головня Р.В., Еникеева Н.Г. Сенсорный анализ для органолептического контроля качества традиционных и новых пищевых продуктов/ Методы анализа пищевых продуктов. –М.: Наука, 1988.- С.15-63.
74. Голубев В.Н. и др. Пищевые и биологически активные добавки. - М.: Издательский центр "Академия", 2003. - 208с.
75. Горленко М.В., Федоров А.А., Жизнь растений (том.2), Грибы - М.: Просвещение, 1991. - 475 с.
76. Грачев Ю.П., Плаксин Ю.М. Математические методы планирования экспериментов. - М.: ДеЛи принт, 2005. - 296с.
77. Гродзинская А.А. Содержание радиоцезия в дикорастущих лекарственных грибах Украины // Материалы международной научно-практической конференции "Перспективы использования лекарственных грибов при решении медико-экологических проблем", Киев, 10-11 сентября 2004. - К., 2004. - 84с.
78. Гусев М.В., Минеева Л.А. Микробиология. Учебник для студ. Биол. специальностей вузов. - 4-е изд., стер. - М.: Издательский центр "Академия", 2003. - 464с.
79. Дворнина А.А., Базидиальные съедобные грибы в искусственной культуре - Кишинёв: Штиинца, 1990. - 113с.
80. Денисова Н. П., Лечебные свойства грибов. Этномикологический очерк - СПб.: Изд. СПбГМУ, 1998. - 59с.
81. Дзыгун Л.П. Врачебный ксилотрофный базидиомицет *Laetiporus sulphureus* (bull.: fr.) Murrill - перспективный объект биотехнологии. // "Научные вести НТУУ "КП". - 2011 . - №3. - С. 40-49.
82. Дьяков Ю.Т., Сидорова И.И. Возможная роль грибов в ранней колонизации суши // Серия "Гео-биологические системы в прошлом". М.: ПИН РАН - 2012. - С. 120-137.

83. Дубцов Г.Г. Методические указания к выполнению лабораторно-практических работ по курсу «Товароведение и экспертиза продовольственных товаров». - М.: Издательский комплекс МГУПП, 2000. – 75с.
84. Егоров Н.С. Основы учения об антибиотиках / Н.С. Егоров. - М.: Изд-во МГУ, 1994. - 512с.
85. Емельянов А.А. Имитационное моделирование экономических процессов: Учеб.пособие / А.А. Емельянов, Е.А. Власова, Р.В. Дума. - М.: Финансы и статистика, 2002. - 368с.
86. Ермакова А.И. Методы исследования растений. - Л.: Колос, 1972. - С.136-141.
87. Ефременкова, О.В. Антимикробные свойства базидиального гриба *Laetiporus sulphureus* в условиях глубинного культивирования / О.В. Ефременкова и др. // Успехи медицинской микологии: материалы IV Всерос. конгресса по медицинской микологии, Москва, 29-31 марта, 2006 г. / Национальная академия микологии; редкол.: Ю.В. Сергеев и др. - Москва, 2006. - Т. 7. - С. 280-281.
88. И. Белова Н.Б. О природе запаха базидиомицетов // Производство высших съедобных грибов в СССР. - Киев: Наук, думка, 1985. - С. 20-21.
89. Иванов А.И., Сашенкова С.А., Ильина Г.В., Озерова Н.С. Эколого-биологические особенности трутовика серно-желтого (*Laetiporus sulphureus*(Bull.:Fr.) Murill) на основе изучения его мицелиальных культур // Микология и фитопатология. - 2005. - Т.37. - Вып. 3. - С.14 - 19.
90. Иванова Л.А. Методические указания к выполнению лабораторных работ по курсу "Теоретические основы биотехнологии". Раздел 2. Биохимические основы синтеза биологически активных веществ. Часть I Белки / Л.А. Иванова, Ю.А. Тырсин, И.М. Грачева, С.Н. Бутова, И.А. Типисева, В.В. Матреничева. - М.: Издательский комплекс МГУПП, 2002. - 46с.
91. Иванова Л.А. Методические указания к лабораторному практикуму по дисциплине "Технология комбинированных пищевых систем, аналогов и лечебно-профилактических продуктов" / Л.А. Иванова, Н.В. Рыжова. - М. Издательский комплекс МГУПП, 2006. - 46с.

92. Иванова Л.А., Войно Л.И. Методические рекомендации к проведению лабораторных работ по технологии белковых препаратов, аминокислот и липидов. - М.: Издательский комплекс МГУПП, 1985. - 42с.
93. Калер Л.Б., Шиндлер Э.Г. Съедобные грибы - ценное сырье для консервной промышленности //Труды Белорусского НИШИИ.- Минск, 1960. - С. 25-38.
94. Капич А.Н. Антиоксидантные, радиозащитные и противовирусные свойства экстрактов мицелия гриба *Laetiporus sulphureus*. / А.Н. Капич и др. // Успехи медицинской микологии: материалы II Всероссийского конгресса по медицинской микологии Москва, 24-25 марта 2004 г. / Национальная академия микологии; редкол.: Ю.В. Сергеев и др.- Москва, 2004. - Т. 5. - С. 146-148.
95. Капич А.Н., Шишкина Л.Н. Фосфолипиды мицелия дереворазрушающих базидиомицетов // Микология и фитопатология. - 1993. - 27, № 3. - С. 32-37.
96. Кацерикова, Н.В. Технология продуктов функционального питания: Учебное пособие. / Кемеровский технологический институт пищевой промышленности. - Кемерово, 2004. - 146с.
97. Квачева З.Б., Капич А.Н., Вотяков В.И., Николаева С.Н. Противовирусная активность экстрактов мицелия базидиального гриба *Laetiporus sulphureus* / Успехи медицинской микологии. - 2005. - Т.5. - С. 271-273.
98. Киселева О.В., Миронов П.В., Литовка Ю.А. Морфологические особенности базидиального гриба "*Laetiporus sulphureus*" в поверхностной и глубинной культуре// Вестник КрасГАУ, 2012. - №1.- 94с.
99. Коденцова В.М. Обеспеченность витаминами и минералами. Международная специальная выставка "Аптека 24": материалы научной программы, 2004. - 43с.
100. Краснопольская Л.М., Белицкий И.В., Искусственно культивируемые базидиальные грибы как основа лечебно-оздоровительных продуктов // Материалы докладов 1-ой Российской научно-практической конференции "Актуальные проблемы инноваций с нетрадиционными растительными ресурсами и создания функциональных продуктов" - Москва, 2001. - С. 322-329.

101. Крупнодерова Т.А. Лекарственные свойства грибов рода *Ganoderma* P.Karst. // Успехи медицинской микологии. М.: НА Микологии, 2006. - Т. 6. - с. 288-290.
102. Кутафьева Н.П. Морфология грибов: Учеб. пособие. 2-е изд., испр. и доп. Новосибирск: Сиб. унив. изд-во, 2003. - 215с.
103. Леонова И.Б., Жарикова Г.Г., Биологически активные вещества базидиомицетов// Актуальные вопросы товароведения сырья животного происхождения, продуктов животноводства, промышленных и продовольственных товаров / Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии - Москва, 2005. - С. 234-237.
104. Морозов А. И. Грибы: Руководство по разведению. Д.: Сталкер, 2000. – 304с.
105. Мюллер Э., Лёффлер В. Микология.- М.: Мир, 1995. - 343с.
106. Нетрусов А,И., Егорова М.А., Захарчук Л.М. Практикум по микробиологии: учебное пособие для студентов высших учебных заведений. - М.: Издательский центр "Академия", 2005. - 608с.
107. Нефедова Н.С., Саловарова В.П. Биологически активные добавки и их роль в поддержании здоровья. Сборник МИЭЛ ИГУ "Оценка качества и безопасность потребительских товаров, 2012. - С. 44-46.
108. Нечаев А. П., Траубенберг С. Е., Кочеткова А. А. и др. Пищевая химия: [учебник для вузов /.]; под ред. А. П. Нечаева. - Изд. 5-е, испр. и доп. - СПб. : ГИОРД, 2012. - 672с.
109. Нечаев А.П. Пищевые и биологически активные добавки, ароматизаторы и технологические вспомогательные средства. Учебное пособие. СПб: ГИОРД, 2007. - 248с.
110. Низковская О.П. Противоопухолевые свойства высших базидиомицетов / О.П. Низковская // Микология и фитопатология. 1983. - Т.17. - №3. - С. 243-247.
111. Озерова Н.С. Экологические особенности ксилотрофных базидиомицетов родов *Laetiporus sulphureus*. Пензенской области: Автореф. дис. ...канд. биол. наук. - Москва, 2006. - 23с.

112. Олейников Д. Н. Структурно-функциональное исследование биополимеров растительного и грибного происхождения и совершенствование методов их анализа. // Автореферат дис. на соиск. учен. степ. доктра. фарм. наук -Улан-Удэ.: 2012.
113. Пат. 2230466 Российская Федерация, МПК А 23 L1/30, А 23 J1/18 Способ производства биологически активной добавки / Иванова Л.А., Иванова И.С., Мартыанов В.А.; патентообладатель Московский государственный университет пищевых производств. - № 2002132035/13; заявл. 28.11.02; опубл. 20.06.04.
114. Патент РФ №2475530, МК А61К31/7105, А61К39/00, А61Р31/12. Ингибитор репродукции вируса гриппа А на основе экстракта базидиального гриба *Laetiporus sulphureus*. / Ямковая Т.В., Мазуркова Н. А., Загребельный С. Н., Панин Л. Е., Ямковой В. И.; патентообладатель ООО "Виталанг" - №2004117057/13; заявл. 18.01.12; опубл. 22.03.11
115. Пахомов А. Н. Экспериментальное обоснование создания функциональных пищевых продуктов и БАД на основе растительного сырья //Изв, вузов. Пищевая технология. - 2006. - № 2/3. - С. 15-18.
116. Пилат Т.Л., Иванов А.А. Биологически активные добавки к пище. -М.: Аввалон, 2002. - 710с.
117. Поединок Н.Л., Ефременкова О.В., Михайлова О.Б., Негрейко А.М., Биосинтетическая активность некоторых высших лекарственных грибов после световых воздействий //Успехи медицинской микологии (материалы 5-го Всероссийского Конгресса по медицинской микологии) - М: 2007. - т. IX - С. 176-178.
118. Пучкова Л.И. Лабораторный практикум по технологии хлебопекарного производства /Л.И. Пучкова. - СПб.: ГИОРД, 2004. - 264 с.
119. Пучкова Т.А., Смирнов Д.А. Ксилотрофные грибы родов *Ganoderma* и *Lentinus* - продуценты полисахаридов. //Успехи медицинской микологии. М.: НА Микологии, 2006. - Т. 6. - С. 297-300.
120. Рипачек В. Биология дереворазрушающих грибов / Пер. с чеш. М. Гашковой. - М.: Лесная промышленность, 1967. - 276с.

121. Садоян В.А. Биологически активные добавки на фармацевтическом рынке. Справочное руководство.- М.: Литтерра, 2006. - 200с.
122. Саловарова В.П. Пробиотики и функциональное питание / В.П. Саловарова, Г.В. Юринова // Современные проблемы подготовки товароведов-экспертов : сб. ст.. - Иркутск, 2004. - С. 36-38.
123. Скурихин И.М., Нечаев А.П. Все о пище с точки зрения химика. - М.: Высшая школа, 1991 - 288с.
124. Скурихин И.М., Волгарев М.Н. Химический состав пищевых продуктов: справочные таблицы содержания аминокислот, жирных кислот витаминов, макро-микроэлементов, органических кислот и углеводов.- М.: Агропромиздат, 2002.- 360с.
125. Соломко Э.Ф. Грибы как физиологически функциональный пищевой продукт и источник фармакологически активных лекарственных веществ // Перспективы использования лекарственных грибов при решении медико-экологических проблем: Материалы международной конференции (10-11 сентября). - Киев, 2004. - С. 70-80.
126. Соломко Э.Ф. Сравнительный химический состав и питательная ценность мицелия съедобных грибов, выращенных глубинным методом // Производство высших съедобных грибов в СССР. - Киев: Наук. думка, 1978. - С. 98-104.
127. Соломко Э.Ф., Аре Р.Ю., Стеганцева Е.М. Продуктивность базидиального гриба *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kumm. при глубинном культивировании на комплексных средах // Биотехнология. - 1988. - 4, № 5. - С. 629-633.
128. Соломко Э.Ф., Бухало А.С., Митропольская Н.Ю. Лекарственные свойства базидиальных макромицетов // Проблемы экспериментальной ботаники и экологии растений. - Киев, 1997. - С. 156-167.
129. Соломко Э.Ф., Гродзинская А.А., Пащенко Л.А., Пчелинцева Р.К. Минеральный состав некоторых видов культивируемых и дикорастущих грибов класса Basidiomycetes // Микология и фитопатология - 1986. - № 6. - С. 474-478.

130. Соломко Э.Ф., Зинченко В.А. Грибная пищевая добавка, повышающая противолучевую резистентность организма // Успехи медицинской микологии - 2004. - 3. - С. 251-252.
131. Спиречев В.Б. Микронутриенты в питании и здоровье человека. Реализация концепции государственной политики в области здорового питания России: Сб. материалов всероссийского научно-практического семинара. Томск, 1999. - С. 19-34.
132. Спиречев, В.Б., Шатнюк, Л.Н., Позняковский, В.М. Обогащение пищевых продуктов витаминами и минеральными веществами. - Новосибирск: Сибирское университетское издательство, 2005. - 548с.
133. Сычов П. А., Ткаченко Н. П Грибы и грибоводство - Донецк: Сталкер, 2003. -354с.
134. Телишевская Л.Я. Белковые гидролизаты. Получение, состав, применение / Л.Я. Телишевская; под ред. А.Н. Панина. - М.: Аграрная наука, 2000. - 295с.
135. Теплякова Т.В., Булычев Л.Е., Косогова Т.А., Ибрагимова Ж.Б., Юрганова И.А., Кабанов А.С., Пучкова Л.И., Бормотов Н.И., Бардашева А.В.: "Противовирусная активность экстрактов из базидиальных грибов в отношении ортопоксвирусов". - Проблемы особо опасных инфекций. 2012. - № 3(113). - С. 99-101.
136. Тимофеев Т.И., Шахрай Т. А., Плоmodityло О.В., Ягунова Т.А. Принципы разработки функциональных фосфолипидных продуктов. //Научно-практическая конференция "Техника и технологии пищевых производств на рубеже 21 века"; Кубанский технологический университет, Краснодар. - www.mstu.edu.ru/publish/conf/food/text23.htm
137. Томас Лессо. Грибы: Определитель. - М.: ООО "Издательство АСТ"; 2003. - 304с.
138. Тутельян В.А. Сбалансированное питание - основа процветания нации/ Доклад на VI Всероссийской конференции "Здоровое питание: воспитание, образование, реклама". - М.: БАД-Бизнес, 2001. - С. 5-9

139. Тутельян В.А. Сбалансированное питание - основа процветания нации/ Доклад на VI Всероссийской конференции "Здоровое питание: воспитание, образование, реклама". - М.: БАД-Бизнес, 2001. - С. 11-15
140. Тутельян В.А., Попова Т.С. - Новые стратегии в лечебном питании, М: Медицина - 2002. - 135с.
141. Тутельян, В.А. и др. Политика здорового питания. Федеральный и региональный уровни. - Новосибирск, 2002. - 19с.
142. Тырсин Ю.А. Методические указания к выполнению лабораторных работ по курсу "Специальная биохимия" / Ю.А. Тырсин, Л.А. Иванова, А.Ю. Кривова. - М.: Издательский центр МГАПП, 1993. - 66с.
143. Феофилова Е.П., Алексеев А.А., Терешина В.М., Меморская А.С. Вклад современной микологии в создание биотехнологий медицинского назначения // Успехи медицинской микологии - 2004. - 3. - С. 139-141.
144. Феофилова Е.П., Терешина В.М., Меморская А.С. Достижения и проблемы новой отрасли биотехнологии: получение медицинских препаратов на основе биологически активных веществ мицелиальных грибов // Успехи медицинской микологии - 2003. - 1. - С. 254-256.
145. Цапалова И.Э., Позняковский В.М., Бакайтис В.И., Кутафьева Н.П. Экспертиза грибов: учебно-справочное пособие. /Сибирское университетское издательство, 2007. - 288с.
146. Цыб, А.Ф., Розиев, Р.А. Продукты с нетрадиционными биологически активными добавками // Молочная промышленность. - 1999. - № 11. - с. 11-13.
147. Цыганков В.Г. и др. Задачи и перспективы разработки продуктов функционального питания. - Труды БГУ. - 2009. - т.4, ч.1. - 8с.
148. Черепанова Н. П. "Систематика грибов". - СПб: Изд-во С.-Петербур. Университета - 2005. - 334с.
149. Черепанова Н.П. Морфология и размножение грибов: Учеб. пособие. - Л.: Издательство Ленинградского университета, 1981. - 120с.

150. Шендеров Б. А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. - т.3. Пробиотики и функциональное питание. М: Из - во Грант - 2001. - 288с .
151. Шендеров Б.А. Пробиотики, пребиотики и синбиотики. Общие и избранные разделы проблемы. // Пищевые ингредиенты. Сырье и добавки. 2005. - №2. - С. 23-26.
152. Шендеров Б.А., А.И. Труханов. Продукты функционального питания: современное состояние и перспективы их использования в восстановительной медицине. // Вестник восстановительной медицины, 2002. - №1. - С. 38-42.
153. Шендеров Б.А., Лахтин В.М. Лектины – новая потенциальная категория физиологически активных функциональных пищевых ингредиентов // Вестник восстановительной медицины. 2004. - N 1. - С. 33-38.
154. Шендеров Б.А, Доронин А.Ф. Функциональное питание. М.: ГРАНТЬ, 2002 - 296с.
155. Шендеров Б.А. Базовые механизмы регуляции гомеостаза и их модуляция нутриентами// Клиническое питание. 2004. - №3. - С.14-19.
156. Шендеров Б.А. Современное состояние и перспективы развития концепции "Функциональное питание" // Пищевая промышленность, 2003. - № 5. - С. 4-7.
157. Шендеров Б.А., А.И. Труханов. Продукты функционального питания: современное состояние и перспективы их использования в восстановительной медицине. // Вестник восстановительной медицины. 2002. - №1. - С. 38-42 .
158. Шиврина А.Н. Биологически активные вещества высших грибов. - М.; Л.: Наука, 1965. - 197с.
159. Шиврина А.Н. К вопросу о биохимии древоразрушающих грибов // Комплексное изучение физиологически активных веществ низших растений. М.-Л.: АН СССР, 1961. - С. 44-56.
160. Шишкина Л.Н. Антиоксидантная активность липидов ксилотрофных базидиомицетов / Шишкина Л.Н., Капич А.Н // Успехи медицинской микологии. 2006. - Т. 7. - С. 262-263.

161. Шкатов Е.Ф. Промышленная и санитарная очистка газов нефтепереработки от сероводорода / Е.Ф. Шкатов, Я.С. Анципович. - М.: ЦНИИТЭнефтехим, 1970. - 111с.
162. Юцковский А.Д. К перспективе применения препаратов полученных из грибов / А.Д. Юцковский, С.В. Черных, Е.В. Новикова // Успехи медицинской микологии: материалы II всероссийского конгресса по медицинской микологии, Москва, 24-25 марта 2004 г. / Национальная академия микологии; редкол.: Ю.В. Сергеев и др. - Москва, 2004. - Т. 5. - С. 284-285.
163. Alqadi R. An efficient parallel Gauss-Seidel algorithm for the solution of load flow problems / R. Alqadi, M. Khammash // The International Arab Journal of Information Technology. - 2007. - Vol.4, №2. - P.148-152.
164. Alquini G. Polysaccharides from fruit bodies of the basidiomycetes *Laetiporus sulphureus* (Bull.: Fr.) Murr / G. Alquini, E.R. Carbonero, F.R. Rosado, C. Cosentino y, M. Iacomini // FEMS Microbiology Letters. 2004. - V.230.- P. 47-52.
165. Arai S. Global view on functional foods: Asian perspectives // British J. Nutrition. 2002, v.88, Suppl. 2, P. 139-143.
166. Aslim B. Determination of some properties of *Bacillus* isolated from soil / B. Aslim, N. Saglam, Y. Beyatli // Turkish Journal Biology. - 2001. - №26. - Pp. 41-48.
167. Banic M. T., Burdsall H. H. Incompatibility between *Laetiporus cincinnatus* and *L. sulphureus* in culture // Mycotaxon. 1999. V 70, P. 461-469.
168. Banic M. T., Burdsall H. H. Incompatibility groups among North American populations of *Laetiporus sulphureus sensu lato* // Mycologia. 2000. 92(4), p. 649-655.
169. Beelman R., Edwards C. Variability in the composition and nutritional value of the cultivated mushroom *Agaricus bisporus* // Mushr. News. - 1989. - N 17. - P. 20-26.
170. Beelman R.B., Dubost N.J., Hausman M. L Ergothioneine, a potent antioxidant in cultivated mushrooms: a review // Intern. Med. Mushr. - 2007. - 9, N 3/4. - P. 279-280.
171. Bellisle F., Diplock A.T., Hornstra G. et al. Functional Food Science in Europe/ // British J. Nutrition. 1998, v.80, Suppl.1, P. 1-193.
172. Bottone E.J. *Bacillus cereus*, a volatile human pathogen / E.J. Bottone // Clinical Microbiology Reviews. - 2010. - Vol. 23, №2. - P. 382-398.

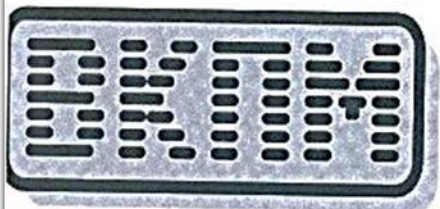
173. Calandra T. Intestinal microbiome, gastroenteritis caused by *Escherichia coli* and resistant *Enterobacteriaceae* or the Art of living with our intestines / T. Calandra, D. Lew // *Revue Medicale Suisse*. - 2012. - 338, №8. - P. 875-876.
174. Cheung L.M., Cheung P.C.K., Ooi V.E.C. Antioxidant activity and total phenolics of edible mushroom extracts // *Food Chem.* - 2003. - 1. - P. 249-255.
175. Crisan E.V., Sands A. Nutritional value // *The biology and cultivation of edible mushrooms*. - New York, etc.: Acad. Press, 1978. - P. 137-168.
176. Denisova N. P. Tradition of using medicinal mushrooms among the nations of the World // *International journal of medicinal mushrooms*. 2001. V. 3, P. 98.
177. Dubost N.J., Beelman R.B., Peterson D., Royse D.J. Identification and quantification of ergothioneine in cultivated mushrooms by liquid chromatography-mass spectroscopy // *Intern. J. Med. Mushr.* - 2006. - 8, N 3. - P. 215-222.
178. Fujimoto S., Furue H., Kimura T., Kondo T. et al. Clinical outcome of postoperative adjuvant immunochemotherapy with sifosfamide for patients with resectable gastric cancer- a randomised controlled study // *Eur. J. Canc.* - 1991. – V. 27. - P. 1114-1118.
179. Grigat S., Harfinger S., Pal S., Striebinger R. et al. Probing the substrate specificity of the ergothioneine transporter with methimazole, hercynine, and organic cations. // *Biochem. Pharm.* - 2007. - 74. - P. 309-316.
180. Gunde-Cimerman N., Friedrich J., Cimerman A., Benicki N. Screening fungi for the production of an inhibitor of HMG-CoA reductase- production of mevastatin by the fungi of the genus *Pleurotus* // *FEMS Microbiol. Lett.* - 1993. – V. 111. - P. 203-206.
181. Huang B.-H., Yung K.-H., Chang S.-T. The sterol composition of *Volvariella volvacea* and other edible mushrooms // *Mycologia*. - 1985. - N 6. - P. 959-963.
182. Hwang H.S., Yun J.W. Hypoglycemic effect of polysaccharides produced by submerged mycelial culture of *Laetiporus sulphureus* on streptozotocin-induced diabetic rats // *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. - 2010. – V. 15. - P. 173-181.

183. Kanska G., Guillot J., Dusser M. et al. Isolation and Characterization of an N-Acetylglucosamine-Binding Lectin from the Mushroom *Laetiporus sulphureus* // J. Biochem. - 1994. – V.116. - P. 519-523.
184. Lowry O.H. Protein measurement with the Folin reagent / O.H. Lowry, N.J. Rosebrough, A.L. Farr, R.J. Randall // Journal of Biological Chemistry. - 1951. - Vol. 193. - P. 317-325.
185. Mau J.-L. The umami taste of edible and medicinal mushrooms // Intern. J. Med. Mushr. - 2005. – V. 7. - P. 113-119.
186. Murphy T.F. *Pseudomonas aeruginosa* in chronic obstructive pulmonary disease / T.F. Murphy, A.L. Brauer, K. Eschberger, P. Lobbins, L. Grove, X. Cai, S. Sethi // American Journal of Respiratory Critical Care Medicine. - 2008. – V. 8. - P. 853-860.
187. Penny M.E. Virulence properties of Enterobacteriaceae isolated from the small intestine of children with diarrhea / M.E. Penny, S.M. Scotland, H.R. Smith, M.M. McConnell, S.K. Knutton, R.B. Snack // Pediatric Infectious Disease Journal. - 1992. - 11, № 8. - P. 623-630.
188. Schierack P. Composition of intestinal Enterobacteriaceae populations of healthy domestic pigs / P. Schierack, N. Walk, K. Reiter, K.D. Weyrauch, L.H. Wieler // Microbiology. - 2007. - V. 153, №11. - P. 3830-3837.
189. Semerdzieva M., Veselsy J. Leive houby dzive a nyni - SAV. - Praha: Academia, 1986. – 177p.
190. Suay I., Arenal F., Asensio F.J. et al. Screening of basidiomycetes for antimicrobial activities // Antonie van Leeuwenhoek. - 2000. –V. 78. - P. 129-139.
191. Tokumitsu Okamura, Tomomi Takeno, Shoko Fukuda et al. Cultural characteristics of *Laetiporus sulphureus*, producing an anti-thrombin substance // Bull. Mukogawa Women's Univ. Nat. Sci. - 2000. – V. 48. - P. 65-68.
192. Tsai S.-Y., Tsai H.-Y., Mau J.-L. Nonvolatile taste components of fruit bodies and mycelia of shaggy ink cap mushroom *Coprinus comatus* (O.F. Mull.: Fr.) Pers. (Agaricomycetidae) // Intern. J. Med. Mushr. - 2007. – V. 9. - P. 47-55 .
193. Verschuren P.M. Functional Foods: Scientific and Global Perspectives (Summary Report) // British J. Nutrition. 2002, V.88, Suppl.2- P.125-130.

194. Yi D., Youg P., Wenkui L. Chinese Functional Food. Beijing, New World Press, 1999 - P.19-20 .

Приложения

Приложение 1



Всероссийская Коллекция Промышленных Микроорганизмов ФГУП ГосНИИ Генетика

Россия, Москва, 117545, 1-ый Дорожный проезд, 1, ФГУП ГосНИИ Генетика - ВКПМ;
(095) 3151210; факс: (095) 3151210; Эл. почта: vkpm@genetka.ru

Идентификация штамма 3х на основе анализа последовательности 18S рРНК.

Выдано: Биляловой А.С.

Дата: 05.02.2013

I. Рассев культуры заказчика до отдельных колоний и получение биомассы для анализа 18S РНК

II. Выделение ДНК. (Genomic DNA Purification Kit)

III. Идентификация штамма по последовательности гена, кодирующего 18S рРНК

III.1. Выбор праймеров и режимы ПЦР.

Консервативные праймеры для наработки последовательности гена, кодирующего 18S рРНК [1]:

NS1 – gtagtcataatgcttgctc

NS4 - ctccgtaattccttaag

Режим реакции ПЦР:

1. 95°C - 3 мин.
2. 35 циклов
 - 95°C - 30 сек.
 - 57°C - 30 мин.
 - 72°C - 30 сек.
3. 72°C - 5 мин

III.2. Секвенирование генов 18S рРНК и домейна D1/D2 гена 26S рРНК, сравнение секвенсов и построение деревьев родства.

Секвенирование проводилось на автоматическом секвенаторе AB3000.

Для анализа секвенсов использовалась специализированная компьютерная программа BLAST [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>].

Достоверность результатов. Были определены последовательности достаточные для отнесения штамма к определенной таксономической группе микроорганизмов.

V. Условия электрофореза ПЦР исследуемых образцов.

1,0% агарозный гель, электрофорез при напряженности электрического поля 5 В/см

Этапы анализа.

а) Секвенирование участков последовательности, кодирующей ген 18S рРНК.

При секвенировании участка ДНК, кодирующего ген 18S рДНК исследуемого штамма, получена следующая последовательность:

ACCTCTAGCAGCCCCATACTGATGCCCCCAACTGTCCCTATACAATCATCACGGCGACT
 CTAGAAACCAACAATAAGAACCGCACGTCCTATTTTATTATTCCATGCTAATGTATAC
 GGGCACAGGCCTGCTTTGAACACTCTAATTATCTCAAGGTAAACGTCCTGGTTCCCCGA
 CACACCCAGCGAAGGGCATGCCGGTACACCAAGAGGTGAAGACCCGGCCAGGAAGTACAC
 GCTTCATACGATGGACCGCCCGGCCAGGTCTGAAGTTCAACTACGAGCGTTTAACTGCA
 ACAACTTTAATATACGCTATTGGAGCTGGAATTACCGCGGCTGCTGGCACCAGACTTGCC
 CTCCTAATTGTTTCCTCGTTAAGGGATTTAAATTGTACTCATTCCTAATTATAAGACCCGAAA
 GAGCCCTATATTGTTATTTATTGTCACTACCTCCCCGTGTCGGGATTGGGTAAT

б) Анализ последовательностей гена, кодирующего 18S рРНК.

Анализ сходства нуклеотидной последовательности гена, кодирующего 18S рДНК, изучаемого штамма был проведен с помощью сервера BLAST [<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast>].

Результаты.

Первичный скрининг по базе данных GenBank показал, что исследуемый штамм принадлежит к следующей систематической группе: Eukaryota; Fungi; Dikarya; Basidiomycota; Agaricomycotina; Agaricomycetes; Polyporales; Laetiporus

Штаммы, принимающие участие в анализе и уровень сходства последовательности гена, кодирующего 18S рРНК изучаемого штамма показан в таблице:

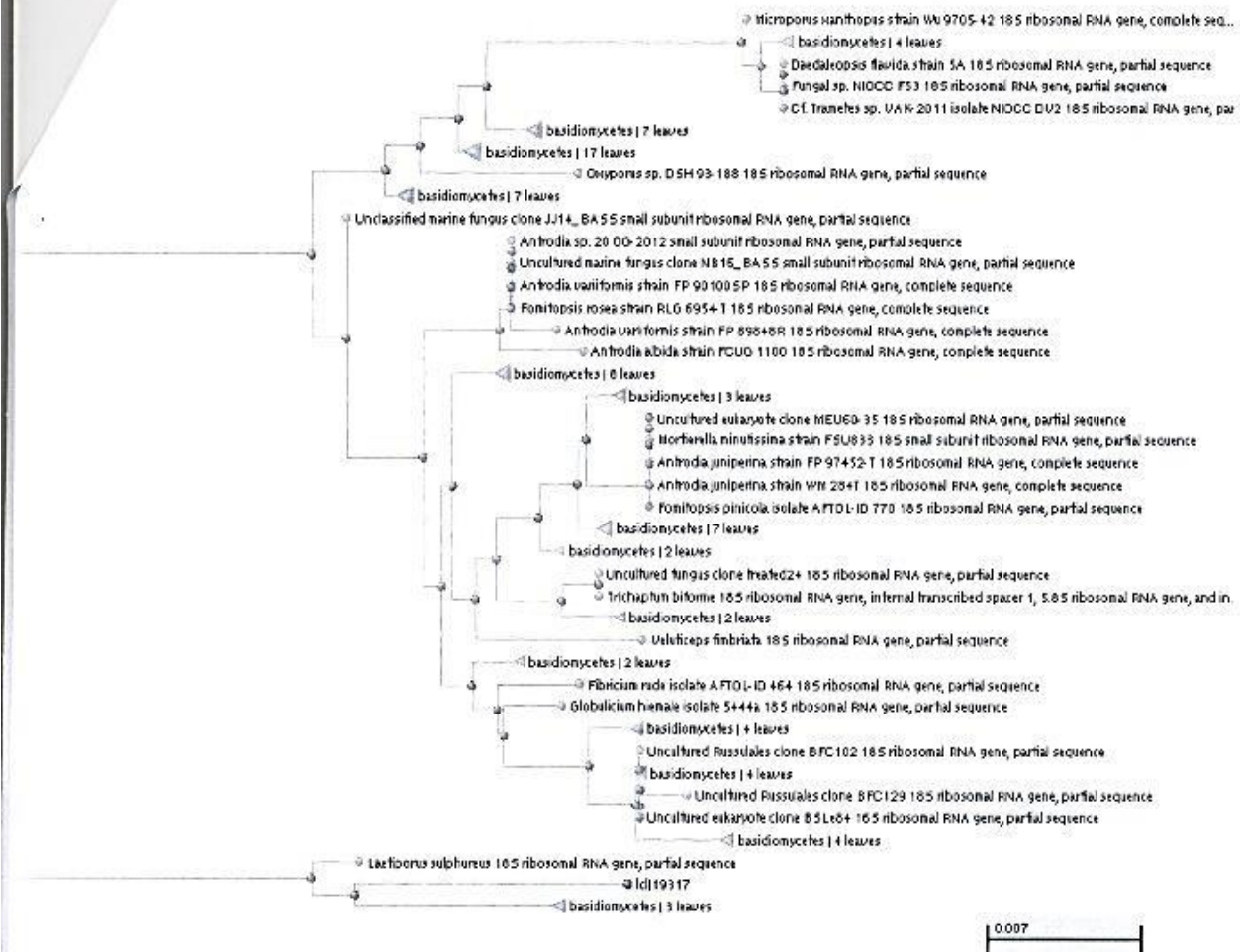
Description	Max score	Total score	Accession
1  <u>Laetiporus sulphureus 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>		819	98% AY218384.1
2  <u>Laetiporus sulphureus isolate AFTOL-ID 769 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>		808	98% AY705966.1
3  <u>Laetiporus sulphureus 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>		789	97% AF026597.1
4  <u>Laetiporus sulphureus 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</u>		789	97% U59079.1
5  <u>Bondarzewia berkeleyi 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>		706	94% AF026575.1
6  <u>Bondarzewia berkeleyi 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</u>		706	94% U59062.1
7  <u>Acanthophysium cerussatum strain FPL-11527 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</u>		702	94% AF518568.1
8  <u>Tubulicrinis inornatus isolate 1601a 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>		701	94% DQ873658.1
9  <u>Tubulicrinis gracillimus strain HHB-13180-sp. 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</u>		701	94% AF518592.1
10  <u>Xylobolus frustulatus gene for 18S rRNA, partial sequence</u>		701	94% AB084609.1
11  <u>Bondarzewia montana 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</u>		701	94% U59063.1
12  <u>Odonticium romellii isolate 1514a 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>		695	93% DQ873638.1
13  <u>Resinicium meridionale strain FPI 10438 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</u>		695	93% DQ834910.1
14  <u>Antrodia sinuosa strain L-6192SP 18S ribosomal RNA gene, complete sequence</u>		695	93% AY336787.1
15  <u>Antrodia sinuosa strain RLG 1182R 18S ribosomal RNA gene, complete sequence</u>		695	93% AY336786.1
16  <u>Punctularia strigosozonata strain HHB-11897-sp. 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</u>		695	93% AF518586.1
17  <u>Xylobolus subpileatus gene for 18S rRNA, partial sequence</u>		695	93% AB084610.1
18  <u>Antrodia sinuosa 18S rRNA gene, isolate 211</u>		695	93% AJ488906.1
19  <u>Oxyporus sp. DSH 93-188 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>		695	94% AF026616.1
20  <u>Auricularia sp. PBM2295 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</u>		691	93% DQ234542.1
21  <u>Hymenochaetales sp. GG-2011 voucher CFMR:HHB17347 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>		689	93% JN368234.1
22  <u>Dendrocorticium sp. CFMR FPI02956 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>		689	93% JN368230.1
23  <u>Antrodia sp. 20 OG-2012 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</u>		689	93% JQ780624.1
24  <u>Auricularia auricula-judae strain AU110 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer, 28S ribosomal RNA gene, intergenic spacer</u>		689	93% JN712676.1

Description	Max score	Total score	Accession
1. and 5S ribosomal RNA gene, complete sequence; and intergenic spacer 2. partial sequence			
25 <u>Gloeophyllum trabeum strain KU-41 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	689	93%	JF682770.1
26 <u>Gloeophyllum trabeum 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	689	93%	HM536068.1
27 <u>Gloeophyllum subferrugineum 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	689	93%	JHM536066.1
28 <u>Gloeophyllum striatum voucher ARIZ AN027866 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	689	93%	HM536064.1
29 <u>Auricularia polytricha isolate 39 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	689	93%	JHM347337.1
30 <u>Uncultured Russulales clone BFC129 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	689	93%	GU306001.1
31 <u>Uncultured Russulales clone BFC102 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	689	93%	GU305974.1
32 <u>Uncultured marine fungus clone NB16_BASS small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	689	93%	EU158830.1
33 <u>Unclassified marine fungus clone JJ14_BASS small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	689	93%	EU154981.1
34 <u>Resinicium meridionale strain FP150352 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	689	93%	DQ974210.1
35 <u>Uncultured eukaryote clone BSI.c84 16S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	689	93%	EF682483.1
36 <u>Uncultured fungus clone treated24 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	689	93%	EF674406.1
37 <u>Agrocybe erebia isolate AFTOL-ID 1807 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	689	93%	DQ440631.1
38 <u>Antrodia sitchensis strain H11B 12513 18S ribosomal RNA gene, complete sequence</u>	689	93%	AY336785.1
39 <u>Antrodia variiformis strain FP 90100SP 18S ribosomal RNA gene, complete sequence</u>	689	93%	AY336782.1
40 <u>Antrodia xantha strain FCUG 100 18S ribosomal RNA gene, complete sequence</u>	689	93%	AY336775.1
41 <u>Fomitopsis rosea strain RLG 6954-T 18S ribosomal RNA gene, complete sequence</u>	689	93%	AY336764.1
42 <u>Microporus xanthopus strain Wu 9705-42 18S ribosomal RNA gene, complete sequence</u>	689	93%	AY336756.1
43 <u>Rigidoporus vinctus strain Chen 674 18S ribosomal RNA gene, complete sequence</u>	689	93%	AY336752.1
44 <u>Antrodia sp. CBS 101451 isolate AFTOL-ID 1504 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	689	93%	DQ115778.2
45 <u>Dendrocorticium roseocarpum small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	689	93%	AF334910.1
46 <u>Antrodia xantha small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	689	93%	AF334902.1
47 <u>Gloeophyllum abietinum 18S rRNA gene, isolate P254</u>	689	93%	AJ560802.1
48 <u>Gloeophyllum trabeum gene for 18S rRNA, partial sequence</u>	689	93%	AB084611.1
49 <u>Stereum ostrea small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	689	93%	AF082856.1
50 <u>Poria versipora 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	689	93%	AF082672.1
51 <u>Resinicium meridionale 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	689	93%	AY293142.1
52 <u>Trichaptum laricinum 18S ribosomal RNA gene, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence, and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	689	93%	U63477.1
53 <u>Trichaptum fusco-violaceum 18S ribosomal RNA gene, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence, and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	689	93%	U63472.1
54 <u>Trichaptum bifforme 18S ribosomal RNA gene, internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence, and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	689	93%	U63473.1

Description	Max score	Total score	Accession
55 <u>Aleurodiscus botryosus 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	689	93%	AF026603.1
56 <u>Stereum hirsutum 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	689	93%	AF026588.1
57 <u>Lentinellus ursinus 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	689	93%	AF026580.1
58 <u>Lentinellus omphalodes 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	689	93%	AF026579.1
59 <u>Antrodia carbonica 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	689	93%	AF026570.1
60 <u>Stereum hirsutum 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	689	93%	U59095.1
61 <u>Lentinellus ursinus 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	689	93%	U59081.1
62 <u>Lentinellus omphalodes 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	689	93%	U59078.1
63 <u>Antrodia carbonica 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	689	93%	U59059.1
64 <u>Stereum gausapatum small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	688	93%	AF082855.1
65 <u>Stereum annosum 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	688	93%	AF026587.1
66 <u>Stereum annosum 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	688	93%	U59094.1
67 <u>Trametes sp. M1 ZM-2012 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	684	93%	KC422247.1
68 <u>Dendrothele nivosa voucher CFMR/FP102030 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	684	93%	JN368228.1
69 <u>Basidiomycota sp. 58 OG-2012 small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	684	93%	JQ780628.1
70 <u>Uncultured eukaryote clone MEU60-35 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	684	93%	JQ693077.1
71 <u>Alnicola inculta voucher TU<EST>:TU110279 18S ribosomal RNA (SSU) gene, partial sequence</u>	684	93%	JN939114.1
72 <u>Alnicola inculta voucher TU<EST>:L3890 18S ribosomal RNA (SSU) gene, partial sequence</u>	684	93%	JN939079.1
73 <u>Tylospora asterophora voucher TU<EST>:TU110326 18S ribosomal RNA (SSU) gene, partial sequence</u>	684	93%	JN939064.1
74 <u>Daedaleopsis flavidia strain 5A 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	684	93%	JF712850.1
75 <u>Fungal sp. NIOCC F53 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	684	93%	JF497105.1
76 <u>Cf. Trametes sp. VAK-2011 isolate NIOCC DV2 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	684	93%	HQ916733.1
77 <u>Veluticeps fimbriata 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	684	93%	HM536084.1
78 <u>Gloeophyllum sepiarium 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	684	93%	HM536062.1
79 <u>Piloderma fallax CFMR:S-12 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	684	93%	GU187644.1
80 <u>Uncultured Russulales clone BFC118 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	684	93%	GU305990.1
81 <u>Uncultured Russulales clone BFC115 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	684	93%	GU305987.1
82 <u>Uncultured Russulales clone BFC111 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	684	93%	GU305983.1
83 <u>Trametes versicolor strain 1 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	684	93%	GQ472774.1
84 <u>Mortierella minutissima strain FSU833 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	684	93%	EU736293.1
85 <u>Trametes sp. CPCC 480671 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	684	93%	FJ515315.1
86 <u>Uncultured Agaricomycotina clone D0735_20_M small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	684	93%	EU647060.1
87 <u>Agaricomycotina sp. MEG7 18S ribosomal RNA gene, partial sequence</u>	684	93%	EU594355.1
88 <u>Auricularia auricula-judae AFTOL-ID 1681 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal</u>	684	93%	DQ520099.1

Description	Max score	Total score	Accession
transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence			
89  Globulicium hiemale isolate 5444a 18S ribosomal RNA gene, partial sequence		684	93% DQ873594.1
90  Jahnoporus hirtus isolate AFTOL-ID 1687 18S small subunit ribosomal RNA gene, partial sequence		684	93% DQ911607.1
91  Antrodia juniperina strain FP 97452-T 18S ribosomal RNA gene, complete sequence		684	93% AY336793.1
92  Antrodia juniperina strain WM 284T 18S ribosomal RNA gene, complete sequence		684	93% AY336792.1
93  Antrodia sitchensis strain HHB 5298SP 18S ribosomal RNA gene, complete sequence		684	93% AY336784.1
94  Antrodia variiformis strain FP 89848R 18S ribosomal RNA gene, complete sequence		684	93% AY336783.1
95  Antrodiella americana strain H11B 4100-SP 18S ribosomal RNA gene, complete sequence		684	93% AY336781.1
96  Antrodia albida strain FCLG 1100 18S ribosomal RNA gene, complete sequence		684	93% AY336777.1
97  Fomitopsis pinicola isolate AFTOL-ID 770 18S ribosomal RNA gene, partial sequence		684	93% AY705967.1
98  Trametes versicolor isolate AFTOL-ID 768 18S ribosomal RNA gene, partial sequence		684	93% AY705965.1
99  Fibricium rude isolate AFTOL-ID 464 18S ribosomal RNA gene, partial sequence		684	93% AY654888.1
100  Uncultured basidiomycete isolate dln04344.096 18S ribosomal RNA gene, partial sequence		684	93% AY969209.1

Анализ данных последовательностей позволяет построить филогенетическое дерево для представителей видов данной подгруппы микроорганизмов.



Критерием отнесения микроорганизма к тому или иному виду считается гомология не менее 97% [3]. По данному критерию исследуемый штамм можно отнести к виду *Laetiporus sulphureus*.

Анализ филогенетического родства, построенный с использованием штаммов близкородственных микроорганизмов показал, что наиболее близким к исследуемому штамму является *Laetiporus sulphureus*.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

По результатам проведенного анализа нуклеотидной последовательности, кодирующей часть 18S рРНК, исследуемого штамма установлено, что исследуемый штамм наиболее близок к виду *Laetiporus sulphureus* (98%).

Литература:

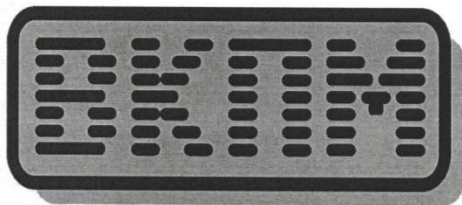
1. Michael A. Innis, David H. Gelfand, John J. Sninsky, Thomas J. White. PCR protocols. A guide to methods and applications. Academic press, INC. 1990.
2. Биохимия, 2007, 72, 12, 1659-1667
3. E. De Clerck,* T. Vanhoutte, T. Hebb, J. Geerinck, J. Devos, and P. De Vos. Isolation, Characterization, and Identification of Bacterial Contaminants in Semifinal Gelatin Extracts Applied and Environmental Microbiology, June 2004, p.3664-3672.

Директор ВКПМ
Проф.



С.П. Синецкий

Приложение 2



Всероссийская Коллекция Промышленных Микроорганизмов ФГУП ГосНИИГенетика

✉ Россия, Москва, 117545, 1-ый Дорожный проезд, 1, ФГУП ГосНИИГенетика - ВКПМ;
☎ (095) 3151210; факс: (095) 3151210; Эл. почта: vkpm@genetika.ru;

Форма ВКПМ-ВР/4

№ 1188

« 07 » 11 2013 г

НАЦИОНАЛЬНОЕ ПАТЕНТНОЕ ДЕПОНИРОВАНИЕ

СПРАВКА О ДЕПОНИРОВАНИИ

Всероссийская Коллекция Промышленных Микроорганизмов (ВКПМ)
ФГУП ГосНИИГенетика приняла на национальное патентное депонирование культуру:

Laetiporus sulphureus 3X

Дата депонирования: 26 ноября 2012 года

Депозитор: ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет пищевых производств»

Продукт, продуцируемый штаммом (область применения штамма):
Витамины А, Е, каротиноиды и полиненасыщенные жирные кислоты.

РЕГИСТРАЦИОННЫЙ НОМЕР ВКПМ: F-1188

Директор ВКПМ
д.б.н., проф.



Синеокий С.П.

Приложение 3

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Московский государственный университет пищевых производств»
(ФГБОУ ВПО «МГУПП»)

«Утверждаю»

Проректор по научной работе

Н.В. Лабутина

2013 г.



**ЛАБОРАТОРНЫЙ РЕГЛАМЕНТ
ПО ПРОИЗВОДСТВУ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОЙ ДОБАВКИ
«ЛЕТИСУЛЬФУРИН» (проект)**

Руководитель разработки:

к.т.н., профессор

 Л.И. Войно

Исполнитель:

Аспирант

 А.С. Билялова

Москва
2013 г.

Приложение 4

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Московский государственный университет пищевых производств»
(ФГБОУ ВПО «МГУПП»)



«Утверждаю»

проректор по научной работе

Н.В. Лабутина

« » _____ 2013 г.

БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНАЯ ДОБАВКА «ЛЕТИСУЛЬФУРИН»

Технические условия (проект)

Дата введения в действие « » _____ 2013г.

Руководитель разработки:

к.т.н., профессор

Л.И. Войно

Исполнитель:

Аспирант

А.С. Билялова

Москва

2013 г.

Приложение 5

ЭКОНОМИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

Расчет экономической эффективности производства препарата «Летисульфурин»

Расчет и анализ себестоимости

Количество готовой продукции, получаемое за год составляет 100 тонн.

Планирование себестоимости состоит в расчет плановой калькуляции себестоимости единицы и определении суммы годовых затрат на производство и реализации (таб. 1,2).

Таблица 1 - Расчет расходов сырья и материалов, расчет материальных затрат

сырьё, материалы, энергетические затраты	затраты на единицу продукции			затраты
	норма расхода на ед. продукции	цена ед. сырья и материалов, руб.	сумма, руб. коп.	всего на год
Сырьё:	<i>На 1 т</i>	<i>1 кг</i>	<i>На 1 т</i>	<i>На 100 т</i>
Соевая мука	1395 кг	18	25110	2511000
NH ₄ NO ₃	479 кг	60	600	60000
H ₂ SO ₄	1 л	75	75	7500
NaOH	0,3 л	50	15	1500
Пеногаситель (лапрон)	1,92 кг	350	672	67200
спирт	33,600 л	100	3360	336000
Итого сырья:	-	—	53182	5318200
Материалы:				
Мешки бумажные	100	1	100	10000

Вата	0,60 кг	100	60	6000
Марля	6,00 м ²	10	60	6000
Одноразовая пластиковая посуда	12 ч. Петри 12 пипеток и т.д. (48)	5,00 в среднем за одно пластиковое изделие	240	24000
Качалочные колбы V = 750 см ³	15 штук	70	1050	105000
Итого материалов:	—	—	1530	151000
Энергетические затраты:				
Электроэнергия	1180 кВтч	1	1180	118000
топливо	60 Гкал	75	4500	450000
вода	150 м ³	14	2100	210000
Итого энергетических затрат:	—	—	7780	778000

Таблица 2 –Калькуляция себестоимости продукции

Наименование статей затрат	Себестоимость единицы продукции(т)	Затраты на весь выпуск
1. Сырье и материалы - всего	54692	5469200
2. Топливо и энергия на технологические цели	7780	778000
3. Заработная плата основная и дополнительная производственных рабочих	3860,04	3860355
4. Отчисления на социальные нужды	13125,207	1312520,7
5. Расходы на подготовку и освоение производства	1930,178	193017,8

6. Общепроизводственные и общехозяйственные расходы	38603,55	3860355
7. Коммерческие расходы	579,05	57905
Полная себестоимость	120570,1	15531353,5

Отчисления на социальные нужды составляют 34% от заработной платы (основной и дополнительной); расходы на подготовку и освоение производства – 5%; общепроизводственные и общехозяйственные расходы – 100%; коммерческие расходы – 1,5%.

2. Расчет оптовой цены

Оптовая цена - цена товара в условиях его оптовой продажи, обычно она ниже розничной, так как при оптовой продаже меньше издержки обращения в расчете на единицу товара.

Проект оптовой цены:

$$Ц_{\text{опт.}} = C_{\text{ед.}} \cdot 1,2 = 120570,1 \cdot 1,2 = 144684,03 \text{ руб/т}$$

Прибыль:

$$\text{Пр.} = Ц_{\text{опт.}} - C_{\text{ед.}} = 144684,03 - 120570,1 = 24114,01 \text{ руб/т}$$

Прибыль годовая:

$$\text{Пр}_{\text{год.}} = \text{Пр} \cdot Z = 24114,01 \text{ руб/т} \cdot 100 \text{ т/год} = 2411400,5 \text{ руб/год}$$

Товарная продукция - объем всей произведенной предприятием за определенный период (как правило, за год) конечной продукции, исчисленный в денежном выражении.

Товарная продукция:

$$\text{ТП} = Ц_{\text{опт.}} \cdot Z_{\text{корр.}} = 144684,03 \text{ руб/т} \cdot 100 \text{ т/год} = 14468403 \text{ руб/год}$$

Затраты на 1 рубль товарной продукции:

$$З = C_{\text{год}} / \text{ТП} = 15531353,5 \text{ руб/т} / 14468403 \text{ руб/год} = 1,07 \text{ руб/руб}$$

Рентабельность – относительный показатель экономической эффективности.

Рентабельность:

$$R = \text{Пр} / C_{\text{ед.}} \cdot 100\% = (2411400,5 \text{ руб/т}) / (120570,1 \text{ руб/т}) \cdot 100\% = 20\%$$

Технико-экономические показатели конечного продукта

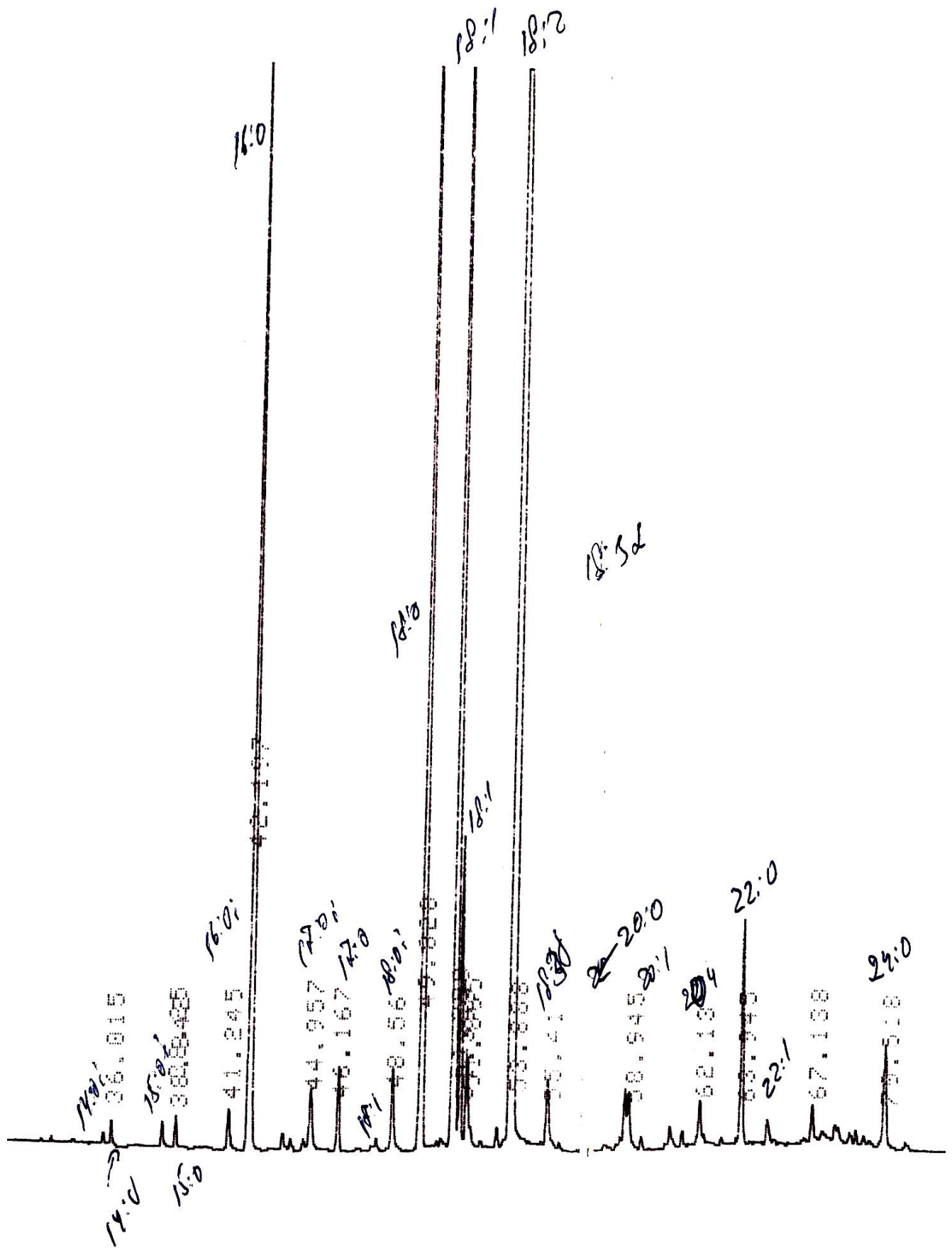
Технико-экономические показатели напитка из арбуза и пшеничных отрубей представлены в таблице 3, при этом за единицу продукции принята тонна получаемого напитка.

Таблица 3 – Технико-экономические препараты «Летисульфурин»

Показатель	Единица измерения	Величина
Выпуск продукции за год, т	т	100
Себестоимость 1 т продукции	Руб	120570,1
Затраты на рубль товарной продукции	Руб	1,07
Оптовая цена 1 т продукции	Руб	144684,03
Товарная продукция	Руб	14468403
Прибыль на единицу продукции	Руб	24114,01
Прибыль в год	Руб	2411400,5
Рентабельность	%	20

Таким образом, средняя стоимость продукции 120,6 рублей/кг.

Приложение 6



Приложение 7



LIFE SCIENCES INSTITUTE
Analytical laboratory quality control of agricultural products
and agricultural materials



VILAS 603

ANALYSIS RESULTS

Analytical agency: Analytical laboratory quality control of agricultural products and agricultural materials – Life Sciences institute – Thai Nguyen University.

Tel: 0280.370.00.83

Samples by: Anastasiya Bilyalova

Data: 01/07/2013

Number of samples: 01

Sample Code:

Nº1: Letisulphurin

Target analysis: amino acids.

I - ANALYSIS METHODOLOGY

On the high-pressure liquid chromatography HPLC 1200

II - ANALYSIS RESULTS

Nº	Name of amino acid	Nº1
1	Aspartic	1,80
2	Glutamic	7,14
3	Serine	1,57
4	Histidine	0,96
5	Glycine	1,70
6	Threonin	1,14
7	Alanine	1,68
8	Arginine	1,65
9	Tyrosine	1,22
10	Valine	1,65
11	Methionine	0,72
12	Phenylalanine	1,45
13	Isoleucine	2,17
14	Leucine	2,42
15	Lysine	2,19
16	Proline	3,64

Head of laboratory

Dr. Nguyen Thi Hai



Thai Nguyen, 31th July 2013

Director

VIỆN TRƯỞNG
PGS.TS. Trần Văn Phùng

Приложение 8

ОТКРЫТОЕ АКЦИОНЕРНОЕ ОБЩЕСТВО
 «НОГИНСКИЙ ХЛЕБОКОМБИНАТ»
 Россия, г. Ногинск, ул. Шоссе Энтузиастов, д. 36.
 Тел: (496)514-52-52
 Email: lab@nhleb.ru

АКТ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ОПЫТНЫХ ПАРТИИ ХЛЕБА С ПИЩЕВОЙ ДОБАВКОЙ «ЛЕТИСУЛЬФУРИН»

Характеристика готового продукта в соответствии с
 ГОСТ Р 52462-2005

Наименование показателей	Характеристика и норма
Форма и поверхность	Соответствует
Цвет	Оранжевый
Состояние мякиша	Пропеченный, не влажный на ощупь, без следов непромеса, присутствуют частицы добавки.
Вкус	Свойственный данному виду изделию, без постороннего вкуса
Запах	Свойственный данному виду изделию, без постороннего запаха
Влажность	44%
Пористость	60%

Состав: мука пшеничная высшего сорта, дрожжи хлебопекарные, сахар-песок, соль поваренная пищевая, маргарин, Летисульфурин, вода.

Описание технологического процесса:

Прием и хранение сырья.

Подготовка сырья к пуску в производство.

Приготовление теста.

Разделка теста и формование тестовых заготовок.

Выпечка, фасование и упаковывание готовых изделий.

Прием и хранение сырья

Цеховые емкости, используемые при приготовлении хлеба, промываются согласно «Инструкции по проведению санитарно-гигиенических мероприятий».

Все сырье, поступившее в цех, должно быть проверено согласно нормативной документации.

Подготовка сырья к пуску в производство.

Прессованные дрожжи освобождают от упаковки, грубо измельчают и готовят однородную суспензию в воде при температуре 30-35°C.

Сахар-песок растворяют в воде в емкостях с мешалками при температуре около 40°C до концентрации раствора 55%, а затем перекачивают в сборники.

Соль растворяют в воде до концентрации 40 %-ного раствора.

Приготовление теста

В тестомесильную машину периодического действия с подкатными дежами загружают согласно рецептуре муку, дрожжевую суспензию, раствор соли, раствор сахара, маргарин, Лецитинсульфурин и воду. Продолжительность замеса теста 7-10 минут. Брожение теста происходит в дежах в течении 2 часов.

Разделка теста и формование тестовых заготовок.

Разделка теста на куски массой 405 грамм осуществляется в тестodelительной машине. Куски теста с делительной машины поступают в тестоокруглитель и окончательное формование на тестозакаточной машине. Для расстойки тестовые заготовки передаются в камеры расстойного шкафа

при температуре воздуха 30-35⁰С и относительной влажности 85%.

Продолжительность расстойки 30 минут.

Выпечка готовых изделий, фасование и упаковывание готовых изделий.

Выпечка тестовых заготовок происходит в пекарной камере хлебопекарной печи при температуре 220 – 240⁰С в течение 30 минут.

Упаковка, маркировка, транспортирование, хранение производится в соответствии с требованиями ГОСТ 8227 и ГОСТ Р 52462-2005

Главный технолог



Ефремова Л.К.



Приложение 9

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Московский государственный университет пищевых производств»
(ФГБОУ ВПО «МГУПП»)



«Утверждаю»

проректор по научной работе

 Н.В. Лабутина

«___» _____ 2013 г.

Хлеб из пшеничной муки с добавлением в рецептуру биологически
активной добавки «Летисульфурин»

Технические условия (проект)

Дата введения в действие «___» _____ 2013г.

Руководитель разработки:

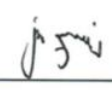
к.т.н., профессор



Л.И. Войно

Исполнитель:

Аспирант



А.С. Билялова

Москва
2013 г.

Приложение 10

УТВЕРЖДАЮ



Проректор по научной работе

Лабутина Н.В.

«_____» _____ 2013

АКТ

**лабораторных испытаний использования препарата «Летисульфурин»,
полученного на кафедре «Биотехнология» МГУПП, при приготовлении
макаронных изделий**

Мы, нижеподписавшиеся: зав.кафедрой «Технология общественного питания» МГУПП, д.т.н., проф. Дубцов Г.Г., к.б.н., доц. Молчанова Е.Н. и сотрудники кафедры «Биотехнология» МГУПП, зав.кафедрой, д.т.н., проф. Иванова Л.А., к.т.н., проф. Войно Л.И., асп. Билялова А.С. составили настоящий акт о том, что в лабораторных условиях кафедры «Технология общественного питания» МГУПП в период 20.05.2013 г. по 27.05.2013 г. были приготовлены образцы макаронных изделий типа «Лапша домашняя» с добавлением в рецептуру препарата «Летисульфурин», полученной на кафедре «Биотехнология» МГУПП.

Приготовление «Лапши домашней» осуществляли согласно рецептуре, приведенной в табл.1.

Таблица 1 – Рецептура «Лапши домашней»

Наименование сырья	Расход сырья на 100г готового изделия, г		
	Контроль (традиционная рецептура)	Вариант 1 (с 0,05% «Летисульфурин»)	Вариант 2 (с 0,1% «Летисульфурин»)
Мука пшеничная	87,5	87,5	87,5
Мука на подпыл	6	6	6
Яйцо	25	25	25

Соль	2,5	2,5	2,5
Летисульфурин	0	0,04	0,09
Вода	17,5	17,5	17,5

В холодную воду вводят сырые яйца, соль, перемешивают, добавляют муку (для опытных образцов муку смешивали с «Летисульфурин») не ниже 1-го сорта и замешивают крутое тесто, которое выдерживают 20-30 минут для того чтобы оно лучше раскатывалось. Куски готового теста кладут на стол, посыпанной мукой и раскатывают в пласт толщиной 1-1,5 мм.

Пересыпанные мукой пласты складывают один на другой, нарезают их на полоски шириной 35-45 мм, которые в свою очередь режут поперек полосками шириной 3-4 мм или соломкой.

Лапшу раскладывают на посыпанные мукой столы слоем не более 10мм и подсушивают 2-3ч при температуре 40-50°С. В таблице 2 представлены органолептические показатели «Лапши домашней».

Таблица 2 – Органолептические показатели «Лапши домашней»

	Вариант1 (Контроль)	Вариант 2	Вариант 3
Цвет	Соответствует сорту муки, без следов промесса	Светло- оранжевый, присутствуют частицы добавки	Темно-оранжевый, присутствуют частицы добавки
Поверхность	Гладкая	Гладкая	Гладкая
Излом	Стекловидный	Стекловидный	Стекловидный
Форма	Соответствует типу изделия	Соответствует типу изделия	Соответствует типу изделия
Вкус	Свойственный данному виду изделию, без постороннего вкуса	Свойственный данному виду изделию, без постороннего вкуса	Свойственный данному виду изделию, без постороннего вкуса
Запах	Свойственный данному виду изделию, без	Свойственный данному виду изделию, без	Свойственный данному виду изделию, без

	постороннего запаха	постороннего запаха	постороннего запаха
Влажность, %	13	13	13
Сохранность формы сваренных изделий, %,	100	100	100

Характеристика макаронных изделий типа «Лапша домашняя» при хранении

Контрольный и опытные образцы были заложены на хранение при комнатной температуре и в течение недели через каждые сутки проверялись качественные характеристики изделий и микробиологические показатели.

Таблица 3 – Изменение влажности макаронных изделий в процессе хранения

Образец	Время хранения, сут.			
	1	3	5	7
	Влажность, %			
Вариант 1 (Контроль)	13	13	12	12
Вариант 2	13	12	11	11
Вариант 3	13	12	12	11

Таблица 4 – Микробиологические показатели макаронных изделий

Показатели	Нормируемые показатели безопасности ТР ТС 021/2011	Вариант 1 (контроль)	Вариант 2	Вариант 3
кМАФАнМ, КОЕ в 1 г продукта, не более	$1 \cdot 10^5$	$2 \cdot 10^3$	$1,5 \cdot 10^3$	$1,4 \cdot 10^3$

БГКП, в 1 г продукта	Не допускаются	Не обнаружены	Не обнаружены	Не обнаружены
Дрожжи, КОЕ в 1 г продукта, не более	100	Не обнаружены	Не обнаружены	Не обнаружены
Плесневые грибы, КОЕ в 1 г продукта, не более	200	Не обнаружены	Не обнаружены	Не обнаружены
Патогенные микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы в 25 г продукта	Не допускаются	Не обнаружены	Не обнаружены	Не обнаружены

Исследуемые образцы по микробиологическим показателям отвечают всем требованиям ТР ТС 021/2011, предъявляемые к макаронным изделиям.

Выводы

1. Показана возможность использования препарата «Летисульфурин» при изготовлении макаронных изделий типа «Лапша домашняя» и введение биологически активной добавки «Летисульфурин» в рецептуру не оказывает негативного влияния на вкусовые качества и форму полученных изделий.
2. Опытные образцы не уступали контролю и, следовательно, препарат может быть использован в качестве биологически активной добавки при производстве макаронных изделий типа «Лапша домашняя», обогащая изделие витаминами А и Е.
3. Анализируя результаты проведенных лабораторных испытаний способа приготовления макаронных изделий типа «Лапша домашняя» с

добавлением в рецептуру биологически активной добавки «Летисульфурин», комиссия признала целесообразным продолжение испытаний в промышленных масштабах.

Представители кафедры «Технология общественного питания» МГУПП:

Зав.кафедрой, д.т.н., проф.



Дубцов Г.Г.

Доцент, к.б.н., доц.



Молчанова Е.Н.

Представители кафедры «Биотехнология» МГУПП:

Зав.кафедрой, д.т.н., проф.



Иванова Л.А.

Научный руководитель, к.т.н., проф.



Войно Л.И

Аспирант



Билялова А.С.

Приложение 11

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Московский государственный университет пищевых производств»
(ФГБОУ ВПО «МГУПП»)

«Утверждаю»

проректор по научной работе

Н.В. Лабутина

2013 г.



Макаронные изделия с добавлением в рецептуру биологически
активной добавки «Летисульфурин»

Технические условия (проект)

Дата введения в действие «___» _____ 2013г.

Руководитель разработки:
к.т.н., профессор

 Л.И. Войно

Исполнитель:
Аспирант

 А.С. Билялова

Москва
2013 г.

Приложение 12

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по научной работе

Лабутина Н.В.

2013

AKT

лабораторных испытаний использования биологически активной добавки «Летисульфурин», полученной на кафедре «Биотехнология» МГУПП, при приготовлении соуса «Майонез»

Мы, нижеподписавшиеся: зав.кафедрой «Технология общественного питания» МГУПП, д.т.н., проф. Дубцов Г.Г., к.б.н., доц. Молчанова Е.Н. и сотрудники кафедры «Биотехнология» МГУПП, зав.кафедрой, д.т.н., проф. Иванова Л.А., к.т.н., проф. Войно Л.И., асп. Билялова А.С. составили настоящий акт о том, что в лабораторных условиях кафедры «Технология общественного питания» МГУПП в период с 13.05.2013 г. по 20.05.2013 г. были приготовлены образцы соуса «Майонез» с добавлением в рецептуру грибной биологически активной добавки «Летисульфурин», полученной на кафедре «Биотехнология» МГУПП.

Приготовление соуса «Майонез» осуществляли согласно рецептуре, приведенной в табл.1.

Таблица 1 - Рецепттура соуса «Майонез»

Наименование сырья	Расход сырья на 100 г соуса, г		
	Контроль	Вариант 1 (с добавлением 0,05% «Летисульфурин»)	Вариант 2 (с добавлением 0,1% «Летисульфурин»)
Масло растительное	67	67	67
Сахар-песок	1,5	1,5	1,5
Горчичный порошок	0,25	0,25	0,25
Яичный порошок	5	5	5
Соль	1,1	1,1	1,1
Уксусная кислота (9%)	0,5	0,5	0,5
Вода	24,65	24,55	24,15
«Летисульфурин»		0,05	0,1
Итого	100,0	100,0	100,0

Приготовление. Проводят пастеризацию сухих продуктов (за исключением грибной добавки) в минимальном количестве воды при $t=75^{\circ}\text{C}$, 8 мин.; параллельно проводят пастеризацию соответствующего количества «Летисульфурин» (для опытных образцов) в оставшемся количестве воды при $t = 75^{\circ}\text{C}$, 10 мин. Затем охлаждают до 25°C , смешивают и постепенно вводят масло интенсивно перемешивая. Взбивают полученную майонезную эмульсию в гомогенизаторе 3 минуты при 1500-2000 об/мин., вводят уксусную кислоту и продолжают гомогенизировать в течение 5 мин., при 4000 об/мин.

Таблица 2 – Характеристика готового соуса «Майонез» в соответствии с ГОСТ 53590-2009 «Майонез и майонезные соусы (общие технические условия)»

Наименование показателей	Контроль	Вариант 1	Вариант 2
Внешний вид, консистенция	Однородный сметанообразный продукт, с единичными пузырьками воздуха	Однородный продукт, с единичными пузырьками воздуха, присутствуют частицы добавки	Однородный продукт, с единичными пузырьками воздуха, присутствуют частицы добавки
Вкус	Присущий классическому майонезу, с лёгким привкусом горчицы	Присущий классическому майонезу	Присущий классическому майонезу, слегка кисловатый
Запах	Присущий классическому майонезу	Присущий классическому майонезу	Присущий классическому майонезу
Цвет	Белый	Светло-желтый	Светло-желтый

Характеристика соуса «Майонез» при хранении

Контрольный и опытные образцы были заложены на хранение в течение месяца при температуре $t = +4\text{--}+6^{\circ}\text{C}$. В процессе хранения периодически отбирались пробы и определялись органолептические, физико-химические и микробиологические показатели образцов.

Таблица 3 – Физико-химические показатели соуса «Майонез» в процессе хранения

Время хранения, сут.	Физико-химические показатели соусов	Контроль	Вариант 1	Вариант 2
0	Стойкость эмульсии, %	100	100	100
	Кислотность	0,36	0,34	0,34
10	Стойкость эмульсии, %	100	100	100
	Кислотность	0,36	0,34	0,33
20	Стойкость эмульсии, %	99	99	99
	Кислотность	0,39	0,35	0,36
30	Стойкость эмульсии, %	98	98	99
	Кислотность	0,41	0,37	0,38

В процессе хранения показатели стойкости эмульсии и кислотности контрольного и опытных образцов незначительно отличаются друг от друга. Физико-химические показатели контрольного и опытного образцов практически не меняются на протяжении всего срока хранения.

Таблица 4 – Микробиологические показатели опытного и контрольного образцов соуса «Майонез» после 30 суток хранения

Показатели	Нормируемые показатели безопасности ТР ТС 021/2011	Контроль	Вариант 1	Вариант 2
кМАФАнМ, КОЕ в 1 г продукта, не более	$1 \cdot 10^4$	200	150	140
БГКП, в 1 г продукта	Не допускаются	Не обнаружены	Не обнаружены	Не обнаружены
Дрожжи, КОЕ в 1 г продукта, не более	$5 \cdot 10^2$	Не обнаружены	Не обнаружены	Не обнаружены
Плесневые грибы, КОЕ в 1 г продукта, не более	50	Не обнаружены	Не обнаружены	Не обнаружены
Патогенные микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы в 25 г продукта	Не допускаются	Не обнаружены	Не обнаружены	Не обнаружены

Исследуемые образцы по микробиологическим показателям отвечают всем требованиям ТР ТС 021/2011, предъявляемым к соусам «Майонез».

Выводы

1. Показано, что введение биологически активной добавки «Летисульфурин» в рецептуру не влияет на технологию производства соуса «Майонез». Введение добавки в количестве 0,05% и 0,1% улучшает цвет соуса;

добавлением в рецептуру биологически активной добавки «Летисульфурин», комиссия признала целесообразным продолжение испытаний в промышленных масштабах.

Представители кафедры «Технология общественного питания» МГУПП:

Зав.кафедрой, д.т.н., проф.



Дубцов Г.Г.

Доцент, к.б.н., доц.



Молчанова Е.Н.

Представители кафедры «Биотехнология» МГУПП:

Зав.кафедрой, д.т.н., проф.



Иванова Л.А.

Научный руководитель, к.т.н., проф.



Войно Л.И.

Аспирант



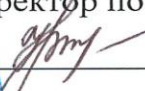
Билялова А.С.

Приложение 13

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего профессионального образования
«Московский государственный университет пищевых производств»
(ФГБОУ ВПО «МГУПП»)

«Утверждаю»

проректор по научной работе

 Н.В. Лабутина

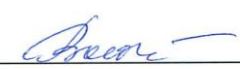
«» _____ 2013 г.

Соус «Майонез» с добавлением в рецептуру биологически активной
добавки «Летисульфурин»

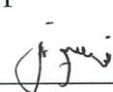
Технические условия (проект)

Дата введения в действие «___» _____ 2013г.

Руководитель разработки:
к.т.н., профессор

 Л.И. Войно

Исполнитель:
Аспирант

 А.С. Билялова

Москва
2013 г.