

Учреждение образования
«МОГИЛЕВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ПРОДОВОЛЬСТВИЯ»

УДК 663.8; 663.479; 663.534

ЦЕД
ЕЛЕНА АЛЕКСЕЕВНА

**НАУЧНЫЕ ОСНОВЫ СОЗДАНИЯ
НОВЫХ БИОТЕХНОЛОГИЙ ПРОДУКТОВ БРОЖЕНИЯ
С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИРОДНОГО
КОНСОРЦИУМА РИСОВОГО ГРИБА *ORYZAMYCES INDICI* РГЦ**

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
доктора технических наук
по специальности 05.18.07 – биотехнология пищевых продуктов
и биологически активных веществ

Могилев, 2018

Работа выполнена в учреждении образования «Могилевский государственный университет продовольствия»

Научный консультант	ВАСИЛЕНКО Зоя Васильевна, доктор технических наук, профессор, член-корреспондент НАН Беларуси, Заслуженный деятель науки Республики Беларусь, заведующий кафедрой технологии продукции общественного питания и мясопродуктов Могилевского государственного университета продовольствия
Официальные оппоненты:	ГЕРНЕТ Марина Васильевна, доктор технических наук, профессор, заведующий отделом «Технология пивоварения» Всероссийского научно-исследовательского института пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН ОЛИЙНИЧУК Сергей Тимофеевич, доктор технических наук, старший научный сотрудник, заведующий отделом технологии продуктов брожения Института продовольственных ресурсов Национальной академии аграрных наук Украины ЛЕВАНДОВСКИЙ Леонид Викторович, доктор технических наук, профессор, профессор кафедры технологии и организации ресторанного хозяйства Киевского национального торгово-экономического университета
Оппонирующая организация	ФГБОУ ВО «Московский государственный университет технологий и управления имени К.Г. Разумовского» (ПКУ)

Защита состоится «7» июня 2018 года в 14⁰⁰ часов на заседании Совета по защите диссертаций Д 02.17.01 при учреждении образования «Могилевский государственный университет продовольствия» по адресу: Республика Беларусь, 212027, г. Могилев, пр. Шмидта, 3, ауд.206, тел. ученого секретаря (+375 222) 47-77-65, e-mail: mgur@mogilev.by.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке учреждения образования «Могилевский государственный университет продовольствия».

Автореферат разослан «4» мая 2018 года.

Ученый секретарь
Совета по защите диссертаций,
к.т.н., доцент

_____ О.В. Мащикова

ВВЕДЕНИЕ

Одним из основных приоритетных направлений государственной инновационной политики Республики Беларусь на 2016–2020 годы является разработка и внедрение новых наукоемких технологий, способствующих созданию конкурентоспособных продуктов питания с новыми, недостижимыми в рамках существующих производств, свойствами.

Особенно это актуально для развития современной пищевой промышленности, выпускающей большинство продуктов питания с применением различного рода пищевых добавок, содержащих в своем составе вредные для организма человека ксенобиотики. Наиболее широко такие пищевые добавки – искусственные и идентичные натуральным красители, подсластители, ароматизаторы, консерванты – применяются для производства безалкогольных напитков, что создает проблему безопасности их потребления для здоровья человека и особенно детей. Это диктует необходимость поиска и создания новых направлений в производстве безалкогольных напитков, позволяющих исключить из технологического процесса использование неблагоприятных пищевых добавок и обеспечить получение продуктов питания с натуральным естественным составом, высокой биологической ценностью и длительными сроками годности.

Решение этой важной проблемы возможно за счет использования потенциальной способности микроорганизмов продуцировать в ходе своей жизнедеятельности биологически значимые вещества, которые обеспечивают не только требуемое качество продукта без применения каких-либо пищевых добавок, но и позволяют придать ему существенную биологическую ценность и функциональные свойства. В связи с этим изыскание и изучение новых высокоэффективных видов микроорганизмов (их сообществ), способных осуществлять процессы сочетанного брожения, является весьма актуальной и важной проблемой. С этой точки зрения представляют интерес сформировавшиеся в ходе эволюции природные консорциумы микроорганизмов, представляющие собой фактически готовые комбинированные закваски естественного происхождения, одним из представителей которых является биокультура под тривиальным названием «рисовый гриб».

Вопрос об использовании рисового гриба в качестве источника брожения при производстве ферментированных напитков, равно как и составляющих его отдельных микроорганизмов-ассоциантов, до настоящего времени в науке не рассматривался. В то же время научное и практическое решение этого вопроса перспективно в создании нового биотехнологического направления производства продуктов брожения, позволяющего без использования пищевых добавок существенно повысить эффективность технологических процессов их получения с одновременным улучшением показателей качества получаемого продукта. Кроме того, ввиду отсутствия в Республике Беларусь базы отечественных высокоэффективных источников

брожения актуально и решение проблемы импортозамещения продуцентов зарубежного производства на имеющихся производственных площадках.

В связи с вышеизложенным решение проблемы поиска и комплексного изучения новых высокоэффективных отечественных сбраживающих компонентов, обоснования их применения для создания инновационных технологий получения новых безопасных конкурентоспособных продуктов имеет важное научно-практическое значение и определяет актуальность представленной к защите диссертационной работы.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Связь работы с крупными научными программами, темами. Диссертационная работа выполнена на кафедре технологии пищевых производств Могилевского государственного университета продовольствия в рамках выполнения государственной программы фундаментальных исследований «Вывучэнне механізмаў рэгуляцыі функцый арганізмаў у норме і паталогіі з мэтай распрацоўкі новых падыходаў да карэкцыі парушэнняў працэсаў жыццядзейнасці. Вывучэнне этыяпатагенезу найбольш распаўсюджаных і зноў узнікаючых хвароб чалавека і распрацоўка на іх основе новых медыцынскіх тэхналогій (рэгуляцыя і патагенез)», утвержденной Постановлением Президиума НАН Беларуси 18.03.2004 № 19, 22.04.2004 № 32, темы № 03-29 «Разработка научно-практических основ получения новых пищевых продуктов брожения лечебно-профилактического назначения» (№ ГР 20032102); темы № 2007-18 «Разработка технологии новых натуральных безалкогольных напитков брожения», выполняемой по заказу ОАО «Молодечнопиво» (№ ГР 20032755); темы № 2007-29 «Научное обоснование влияния различных технологических факторов на выход этилового спирта и его органолептические свойства» (№ ГР 2008150), темы № 2008-05 «Разработка научно-практических основ биотехнологии пищевого этилового спирта на основе интенсификации процесса сбраживания спиртового сусла» (№ ГР 20082082), выполняемых по заказу Белорусского государственного концерна пищевой промышленности «БЕЛГОСПИЦЕПРОМ»; темы № 2010-28 «Исследование и разработка новых технологий производства безалкогольных напитков, натуральных квасов брожения, безалкогольных напитков брожения на основе рисового гриба с внедрением их на ОАО «Новогрудский винзавод»» (№ ГР 20110710); в соответствии с планом НИР кафедры технологии пищевых производств по темам «Разработка и совершенствование технологии по переработке растительного сырья и создание новых видов пищевых продуктов» (ГБ 96-02, № ГР 19961207) и «Разработка ресурсосберегающих технологий получения солода и напитков брожения с использованием местного растительного сырья и новых видов микроорганизмов» (ГБ 31-03, № ГР 20112368).

Цель и задачи исследования. Цель работы – создание научных основ использования микроорганизмов природного консорциума – рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ в бродильных производствах и разработка на их основе новых эффективных биотехнологий безопасных безалкогольных и алкогольных продуктов брожения.

В соответствии с поставленной целью в работе предусматривалось решение следующих задач:

– теоретически обосновать концепцию использования природного консорциума микроорганизмов – рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ в бродильных производствах;

– установить биологические характеристики и провести идентификацию микробного состава консорциума рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ, определить показатели его гигиенической безопасности, установить закономерности его жизнедеятельности от условий внешней среды и разработать основы регуляции его метаболических функций;

– исследовать биохимические свойства рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ и его метаболическую способность, установить закономерности биосинтетических функций рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ, функциональные параметры его культивирования, пути регуляции процессов роста и разработать биотехнологию получения закваски – консорциума рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ в промышленных условиях с определением режимов ее хранения;

– разработать комплексную модель ферментации питательного субстрата при использовании в качестве источника брожения рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ и на этой основе разработать научные положения биотехнологии новых натуральных ферментированных безалкогольных напитков с последующей комплексной доклинической оценкой их свойств;

– провести скрининг чистых культур микроорганизмов-ассоциантов из состава консорциума рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ, исследовать технологические свойства и разработать новые критерии оценки их метаболической активности, установить закономерности развития новых микроорганизмов при сбраживании разных видов субстратов и на этой основе разработать научные положения интенсивных технологий производства хлебного кваса и пищевого этилового спирта с использованием микроорганизмов-ассоциантов рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ;

– установить закономерности формирования биологической активности метаболита рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ и с применением математического моделирования обосновать параметры процессов его получения и применения в спиртовом производстве;

– провести промышленную апробацию новых биотехнологий получения продуктов брожения с использованием природного консорциума рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ и его микроорганизмов-ассоциантов, определить их экономическую эффективность;

– разработать методологию изучения природных консорциумов микроорганизмов на примере рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ для их применения в технологиях бродильных производств.

Научная новизна заключается в создании научных основ нового направления в биотехнологиях безалкогольных и алкогольных продуктов брожения, базирующихся на привнесении новых знаний о развитии и функциях природного консорциума рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ и позволяющих обосновать совокупность биотехнологических решений для производства новых биологически ценных продуктов питания на основе закономерностей и регуляции метаболических функций полисимбиотических культур микроорганизмов, исключающих использование любого рода пищевых добавок.

Природный консорциум микроорганизмов – рисовый гриб *Oryzomyces indicis* РГЦ БИМ γВ-220Д (далее рисовый гриб *Oryzomyces indicis* РГЦ), задепонированный в коллекции непатогенных микроорганизмов Института микробиологии НАН Беларуси, является новым сбраживающим компонентом, позволяющим получать новые натуральные ферментированные безалкогольные напитки с функциональными, стимулирующими и профилактическими свойствами без применения каких-либо пищевых добавок.

Идентифицирован видовой состав рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ и определены закономерности его жизнедеятельности в зависимости от условий внешней среды. Разработаны основы регуляции метаболических функций рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ, позволяющие управлять биосинтетической и ферментативной активностью биокультуры и обеспечивать ее витальность на высоком уровне. Найдена взаимосвязь биосинтетических функций рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ и наличия в питательной среде винограда сушеного вида кишмиш, обеспечивающего активацию процессов роста биокультуры.

Впервые определена антибиотическая способность ферментированного рисовым грибом *Oryzomyces indicis* РГЦ субстрата в отношении целого ряда патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, таких как *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enterica*, приводящих к дисбактериозу кишечника, что обуславливает перспективность использования рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ для производства функциональных продуктов питания, обеспечивающих поддержание нормальной микрофлоры кишечника человека.

Инсталлированы метаболические закономерности в продуцировании рисовым грибом *Oryzomyces indicis* РГЦ органических низкомолекулярных и высокомолекулярных жирных кислот, в том числе Омега (ω)-3 и Омега (ω)-6, ферментов, витаминов, аминокислот, летучих ароматообразующих компонентов, формирующих биологическую ценность и физико-химические, органолептические показатели ферментированных напитков.

Впервые теоретически обоснованы и разработаны научные положения инновационной биотехнологии новых натуральных безалкогольных

ферментированных напитков без каких-либо пищевых добавок, обладающих функциональными, профилактическими и стимулирующими свойствами, базирующиеся на новых знаниях о закономерностях процессов ферментации субстрата при использовании в качестве источника брожения рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ, что расширяет область применения природных консорциумов микроорганизмов в пищевых производствах.

Впервые показано, что применение в квасном и спиртовом производстве выделенных из рисового гриба новых сбраживающих компонентов – микроорганизмов-ассоциантов – дрожжей *Zygosaccharomyces fermentati* Naganishi CD и молочнокислых бактерий *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* СК, обладающих высокими технологическими свойствами, позволяет интенсифицировать биохимические процессы получения хлебного кваса и пищевого этилового спирта, повысить их эффективность и улучшить показатели качества готового продукта.

Впервые разработаны новые критерии оценки технологических свойств микроорганизмов квасного производства, позволяющие охарактеризовать метаболическую способность сбраживающего компонента формировать высокий вкусовой и органолептический профиль напитка и его физико-химические показатели качества.

Впервые определены закономерности и разработана физико-математическая модель формирования биологической активности ферментируемой рисовым грибом *Oryzomyces indicis* РГЦ питательной среды, положенные в основу биотехнологии получения метаболита рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ с высокими значениями карбогидразной и протеолитической активности, применение которого позволяет повысить эффективность биологических и биохимических процессов спиртового производства.

Положения, выносимые на защиту

1. Идентификация микробного состава природного консорциума рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ, показавшая, что он представляет собой сообщество микроорганизмов разных таксономических групп – дрожжей (*Zygosaccharomyces fermentati* Naganishi, *Pichia membranae faciens* Hansen), уксуснокислых (*Acetobacter aceti*), молочнокислых (*Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum*) бактерий, а также токсикологические показатели, подтверждающие безопасность использования рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ и его микроорганизмов-ассоциантов в пищевых производствах.

2. Условия культивирования рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ, позволяющие поддерживать витальность биокультуры на высоком уровне: двухкомпонентный состав питательной среды с углеводсодержащим компонентом – сахарозой – и растительным компонентом – виноградом сушеным вида кишмиш, продолжительность культивирования – 5 сут с последующей заменой питательной среды, а также зависимости биосинтетических и ферментативных процессов жизнедеятельности рисового

гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ от состава питательной среды и условий культивирования, позволившие разработать биотехнологию закваски – консорциума рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ, состоящую из 12-ти лабораторных и 4-х производственных стадий: продолжительность одной стадии – трое суток, соотношение рисового гриба и питательной среды – 1:10, концентрация сахарозы в питательной среде на лабораторных стадиях (K_s) – 3,4 %, на производственных стадиях – 5 % – 7 %, концентрация винограда сушеного вида кишмиш – 5 г/дм³ – 8 г/дм³, температура культивирования – (25±5) °С, значения pH среды – 4–6; показатели качества закваски на основе консорциума рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ и обоснование режимов ее хранения, обеспечивающих сохранность биокультуры без потери ее ферментативной активности: при температуре 18 °С – 22 °С – на питательной среде с 1%-ной концентрацией сахарозы в течение 7 сут с последующей заменой питательной среды; при температуре 2 °С – 6 °С – на питательной среде с 1%-ной концентрацией сахарозы в течение 15 сут с последующей заменой питательной среды.

3. Антибиотическая способность рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ, заключающаяся в подавлении развития целого ряда патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, таких как *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enterica*, позволившая установить, что продукты брожения, полученные с использованием рисового гриба, способны регулировать и поддерживать нормальную микрофлору кишечника человека, а также метаболическая способность рисового гриба синтезировать биологически активные и другие вещества: витамины (B_1 – 0,03–0,048 мг/100 г, B_2 – 0,26–0,64 мг/100 г, B_5 – 0,11–0,36 мг/100 г, фолиевая кислота (B_c) – 4,3–20,0 мкг/100 г, С – 0,18–0,28 мг/100 г, Е – 0,97–1,15 мг/100 г, РР – 0,43–0,52 мг/100 г); аминокислоты (170,2–595,0 мг/100 г); высокомолекулярные жирные кислоты (36 кислот), в том числе Омега (ω)-3 и Омега (ω)-6 при КЭМ = 0,62 (4,25 и 15,73 % от общей суммы); органические низкомолекулярные кислоты (молочная (0,26–1,45 г/дм³), уксусная (0,11–1,89 г/дм³), винная (0,14–1,15 г/дм³), щавелевая (0,001–0,015 г/дм³), янтарная (0,024–0,098 г/дм³), лимонная (0,004–0,01 г/дм³), фумаровая (0,0001–0,0004 г/дм³), шикимовая (0,001–0,0032 г/дм³); летучие ароматообразующие компоненты: альдегиды (ацетальдегид (0,6–2,6)×10⁻³ % масс.), бутиральдегид (0,08–0,62)×10⁻⁴ % масс.), кетоны (ацетон (0,02–0,13)×10⁻³ % масс.), карбонильные соединения (диацетил (0,01–0,15)×10⁻³ % масс.), эфиры (этилацетат (0,15–1,61)×10⁻³ % масс.), спирты (этанол (0,018–0,34 % масс.), изобутанол (0,08–0,87)×10⁻³ % масс.), пропанол (0,11–0,32)×10⁻³ % масс.), изоамилол (0,05–0,66)×10⁻³ % масс.), что позволило обосновать биологическую ценность, а также органолептические и физико-химические свойства получаемых с использованием рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ продуктов брожения.

4. Новая инновационная биотехнология производства натуральных ферментированных безалкогольных напитков функционального назначения

серии «Рисовит» («Рисовит», «Рисовит-клюква», «Рисовит-черная смородина», «Рисовит-вишня»), заключающаяся в использовании нового сбраживающего компонента – закваски – консорциума рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ для ферментации субстрата с оптимальными концентрациями – сахарозы 4,8 % – 5,0 %, винограда сушеного вида кишмиш – 3 г/дм³ – 4 г/дм³; в двустадийном внесении ягодных соков (клюквенного, вишневого, черносмородинового) – 1 % – 2 % до начала ферментации и 4 % – 5 % на стадии купаживания, температура ферментации – (25±5) °С, продолжительность ферментации – 2–3 сут, нагрев продукта в течение 4–5 мин при температуре (95±5) °С, позволяющая получать новые натуральные ферментированные безалкогольные напитки без использования каких-либо пищевых добавок и обеспечивающая их высокие органолептические, физико-химические показатели качества, биологическую ценность и срок годности не менее 90 сут; а также комплексная доклиническая оценка безалкогольного напитка брожения «Рисовит», позволившая установить его функциональное, профилактическое и стимулирующее действия, проявляющиеся в уменьшении уровня низкомолекулярных триглицеридов (на 2,5 %), увеличении количества общего белка (на 6,6 %), концентрации иммуноглобулинов G в крови подопытных животных (в 12 раз), повышении уровня пролиферации клеток сердца (+45 %), семенников (+40 %), тимуса (+ 38 %), крови (+ 29 %), печени (+ 24 %), селезенке (+ 15 %), снижении уровня апоптотических клеток от 8 % (в крови) до 18 % (в мышцах), а также снижении на 46 % индуцированных уретаном опухолей в легких мышей.

5. Технология производства хлебного кваса с использованием микроорганизмов-ассоциантов рисового гриба – молочнокислых бактерий *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* СК и дрожжей *Zygosaccharomyces fermentati Naganishi CD*, обладающих высокими функциональными свойствами: бродильной активностью (1,2 г СО₂/100 см³), степенью сбраживания (82 %), скоростью накопления клеточной биомассы ($\mu_d=0,28 \text{ ч}^{-1}$; $\mu_{МКБ}=0,51 \text{ ч}^{-1}$), кислотообразующей ($K_{КМКБ}=2,6$; $K_{КД}=1,5$) и ароматообразующей ($K_{АМКБ}=1,28$; $K_{АД}=1,1$) способностью и обеспечивающая сокращение на 4–6 ч время брожения квасного суслу с одновременным улучшением органолептических показателей хлебного кваса и повышением сроков годности до 10 сут, что позволяет решить проблему импортозамещения микроорганизмов, традиционно закупаемых за рубежом; а также разработку новых подходов в оценке свойств микроорганизмов квасного производства, формировать высокий вкусовой и органолептический профиль напитка и его физико-химические показатели.

6. Технология производства пищевого этилового спирта, заключающаяся в использовании микроорганизмов-ассоциантов рисового гриба – дрожжей *Zygosaccharomyces fermentati Naganishi CD*, обладающих термотолерантными и осмофильными свойствами, высокой бродильной активностью, обеспечивающими по сравнению с закупаемыми за рубежом импортными расами дрожжей увеличение крепости зрелой бражки и повышение ее показателей качества за счет снижения образования побочных

продуктов; а также биотехнология получения метаболита рисового гриба с высокими значениями протеолитической – (366 ± 18) ед/г, осаживающей – $(17,84 \pm 0,86)$ ед/г, амилолитической – $(11,79 \pm 0,58)$ ед/г, позволяющими на 17 % уменьшить дозу внесения амилолитических ферментных препаратов, исключить внесение на стадии дрожжегенерирования ферментных препаратов протеолитического спектра действия и не разрешенных в Республике Беларусь экзогенных источников азота (карбамида и суперфосфата), что в целом позволяет повысить физиологическое состояние спиртовых дрожжей и увеличить выход этанола.

7. Методология природных консорциумов микроорганизмов на примере рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ, включающая в себя направления исследовательской деятельности, реализация которых позволит выявить свойства и возможности природных консорциумов микроорганизмов и использовать их потенциал для получения высококачественных натуральных продуктов брожения.

Личный вклад соискателя. Основные теоретические и практические результаты диссертации получены лично соискателем. Автору принадлежат выбор научно-технического направления, планирование и проведение экспериментальных исследований, статистическая обработка, анализ и обобщение полученных результатов, положенных в основу разработки новых биотехнологий и их внедрения в производство. Соискателем разработано новое научное направление в биотехнологиях продуктов брожения, основывающееся на закономерностях жизнедеятельности и регуляции метаболических функций природного консорциума микроорганизмов – рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ и выделенных из его состава микроорганизмов-ассоциантов и использовании их в качестве новых источников брожения при получении натуральных ферментированных продуктов, что вносит существенный вклад в развитие теории и практики биотехнологий пищевых безалкогольных и алкогольных продуктов с биологически ценными и безопасными свойствами. Совместно с научным консультантом, членом-корреспондентом НАН Беларуси, д.т.н., профессором З.В. Василенко осуществлены постановка научной идеи исследования, определены направления проведения исследований, анализ и обсуждение полученных результатов. В диссертационную работу включены выполненные под руководством автора исследования аспирантов Королевой Л.М., Волковой С.В. Большинство научных работ [3,5, 7–10, 12–16, 18–23, 25–39, 42, 43, 45–53, 55–60, 63–65, 69, 70, 73, 75–79, 81, 82] подготовлено автором самостоятельно или при его непосредственном участии. В публикациях, написанных в соавторстве, соискателю принадлежит получение, анализ, обработка и систематизация экспериментальных данных.

Апробация результатов диссертации. Основные положения и результаты диссертационных исследований представлялись и обсуждались на международных научно-технических конференциях и семинарах: «Техника и технология пищевых производств» (Могилев, 21–23 апреля 1999 г., 24–26 апреля 2000 г., 24–26 апреля 2002 г., 26–28 марта 2003 г.,

18–20 мая 2005 г., 22–23 мая 2007 г., 21–22 мая 2009 г., 27–28 апреля 2011 г., 26–27 апреля 2012 г., 25–26 апреля 2013 г., Могилев, 23–24 апреля 2015 г.; «Научные исследования по совершенствованию технологий производства алкогольной и безалкогольной продукции», Могилев, 29 ноября 2012 г.; «Микробиология и биотехнология XXI столетия» (Минск, 22–24 мая 2002 г.); «Новые технологии в пищевой промышленности» (Минск, 3–4 октября 2002 г.); «Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии» (Минск, 26–28 мая 2004 г.); «New Technologies in traditional Food» (Jelgava, 2005 г.); «Перспективы развития технологии и техники бродильных производств» (Воронеж, 2005 г.); «Перспективы производства продуктов питания нового поколения» (Минск, 6–7 октября 2005 г.); «Интеллектуальные системы принятия решений и информационные технологии» (Черновцы, 19–21 апреля 2006 г.); «Перспективные технологии в безалкогольной отрасли» (Минск, 19 мая, 2007 г.); «Annals of Warsaw University of Life Sciences – SGGW» (Варшава, 2008 г. (Польша)); «Хранительна наука, техника и технологии» (Пловдив, 22–25 октября 2008 г., 15–16 октомври 2010 г., 14–15 октомври 2011 г., 19–20 октомври 2012 г. (Болгария)), «Современные проблемы техники и технологии пищевых производств» (Барнаул, 17 ноября, 2009 г.); «Научный потенциал молодежи – будущему Беларуси (Пинск, 27 марта 2009 г.), «Прогресивна техника та технології харчових виробництв, ресторанного та готельного господарств і торгівлі. Економічна стратегія і перспективи розвитку сфери торгівлі та послуг» (Харків, 18 жовтня 2012 г.); XX Международная выставка-конгресс «Высокие технологии. Инновации. Инвестиции» (Санкт-Петербург, 12–14 марта 2014 г.).

По итогам проведенных исследований разработаны новые биотехнологии производства натуральных ферментированных безалкогольных напитков с функциональными свойствами серии «Рисовит», хлебного кваса «Белыничский», сбраживающие компоненты, технологические решения и методические рекомендации получения пищевого этилового спирта сорта «Люкс», которые внедрены на предприятиях Республики Беларусь. Акты внедрения результатов исследований в производство и образовательный процесс приведены в соответствующих приложениях диссертации.

Опубликованность результатов исследований. Результаты диссертационных исследований опубликованы в 82 печатных работах, из них 33 научные работы, соответствующие пункту 18 «Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий в Республике Беларусь» от 22 февраля 2006 г. и опубликованные в рекомендуемых ВАК научных отечественных и зарубежных изданиях (11 авторских листов), 5 статей в научных журналах, 4 статьи в сборниках научных трудов, 34 публикации в сборниках материалов и тезисов докладов. Получено 3 патента и 3 паспорта на исследуемые микроорганизмы (природный консорциум микроорганизмов – рисовый гриб *Oryzomyces indicis* ПГЦ, дрожжи *Zygosaccharomyces fermentati* Naganishi CD, молочнокислые бактерии *Lactobacillus paracasei* subsp.

paracasei). Разработано и утверждено 30 технологических нормативно-правовых документов и методические рекомендации по использованию результатов научно-исследовательских работ в производстве пищевого этилового спирта.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, общей характеристики работы, восьми глав основного материала, в том числе 5 экспериментальных, с выводами по каждой главе, заключения, библиографического списка, приложений. Диссертация изложена на 360 страницах, в том числе содержит 200 страниц текста, 152 рисунка и 48 таблиц. Объем приложений включает 94 наименования (135 страниц). Список использованных библиографических источников включает 495 наименования, собственные публикации соискателя составляют 82 наименования (всего 47 страниц).

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

В первой главе *«Современные безалкогольные напитки в свете проблемы безопасности продуктов питания»* представлен аналитический обзор данных литературы о современном состоянии производства безалкогольных напитков в свете проблемы безопасности продуктов питания. Рассмотрены аспекты использования всех видов применяемых в безалкогольном производстве пищевых добавок и показано, что большинство из них содержат чужеродные химические вещества, оказывающие негативное действие на организм человека. Это создает серьезную проблему в современной безалкогольной отрасли и диктует необходимость поиска и создания новых направлений в производстве безалкогольных напитков, позволяющих исключить из технологического процесса использование неблагоприятных пищевых добавок. Рассмотрены научно-практические аспекты создания безалкогольных напитков функциональной направленности. Акцентировано внимание на том, что безалкогольные напитки, содержащие в своем составе физиологически значимые ингредиенты и потому позиционируемые как функциональные продукты, не могут в полной мере считаться таковыми в случае содержания в их составе хотя бы одного ЧХВ-содержащего компонента [23, 39].

Особую актуальность приобретают безалкогольные напитки брожения, представляющие собой субстраты растительного происхождения, органолептические и физико-химические свойства которых формируются в результате жизнедеятельности определенных видов микроорганизмов. Рассмотрены виды микроорганизмов, используемые для получения хлебного кваса [1–4, 34]. Показано, что при совместном культивировании в механически составленной комбинированной закваске они вступают в антагонистические взаимоотношения, что ухудшает показатели качества как самой комбинированной закваски, так и получаемого на ее основе хлебного кваса.

Рассмотрены естественные симбиотически сложившиеся в ходе эволюции консорциумы микроорганизмов – кефирный гриб, тибетский гриб, чайный гриб, рисовый гриб, способные осуществлять биоконверсию углеводов, общностью которых является форма их существования – зооглея. Наиболее изученным на сегодняшний день природным консорциумом микроорганизмов является чайный гриб, наименее изученной биокulturой является рисовый гриб [29].

На основании обобщения литературных данных выдвинута гипотеза о том, что установление закономерностей развития рисового гриба, его метаболических свойств позволит получать безопасные биологически ценные натуральные напитки с функциональными свойствами без использования ЧХВ-содержащих пищевых добавок, а использование микроорганизмов-ассоциантов рисового гриба позволит расширить ассортимент пищевых продуктов брожения с полезными свойствами. Показана необходимость научного обоснования использования биологического потенциала метаболита рисового гриба в технологиях получения продуктов брожения.

Во второй главе представлен перечень и характеристика объектов, материалов и методик исследований, использованных в диссертации. Основными объектами исследования являлись: природный консорциум микроорганизмов – рисовый гриб *Oryzomyces indicis* РГЦ БИМ γ В-220Д, культивируемый на территории Республики Беларусь, а также выделенные из его состава чистые культуры микроорганизмов-ассоциантов – молочнокислые бактерии *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* СК БИМ В-701 Д, дрожжи *Zygosaccharomyces fermentati Naganishi* расы CD БИМ Y-225 Д. В работе также использованы дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* расы М, КМ-94, 12, 985-Т, молочнокислые бактерии *Betabacterium brevis* штаммы β -11 и β -13, ароматообразующий стрептококк *Streptococcus diacetylactis* штаммы d_1 , d_4 , d_5 , d_6 , d_{10} , d_{11} , d_{12} , d_{13} , d_{14} , d_{15} .

При выполнении исследований использованы общепринятые и специальные методы исследования – микробиологические, физико-химические, биохимические, биологические и молекулярно-генетические, в том числе методы газовой («Хром-5» (Чехия), «Цвет-500» (РФ)), высокоэффективной жидкостной хроматографии («Hewlett Packard» (Германия), «HRGC 5300» (Италия), «Agilent 1200» (Германия)), спектрофотометрии, в том числе атомно-абсорбционной (Agilent AA 240 FS (США), фотоколориметрии, а также методы цитометрии с использованием гемоанализатора «Humasaunt» (Германия), проточной цитометрии («Cytomics FC 500 (Beckman Coulter, USA)), биохимического анализа сыворотки крови с использованием автоматического анализатора «Hitachi-902» (Швейцария). Для оценки качества сырья, полупродуктов и готовой продукции использовали методы, принятые и стандартизированные в безалкогольной и спиртовой промышленности. Статистическую обработку, графическую интерпретацию результатов исследований, математическое планирование эксперимента проводили с

использованием компьютерных программ Microsoft Office Excel, Maple 12 и Statistika.

В третьей главе «Биологическая характеристика природного консорциума микроорганизмов – рисового гриба *Oryzomyces indicī* РГЦ и основы регуляции его обменных процессов» изложены результаты теоретических и экспериментальных исследований по научному обоснованию использования биологического потенциала эволюционно сложившегося природного консорциума микроорганизмов рисового гриба для разработки новых биотехнологий получения продуктов брожения, а также установлению его важнейших физиолого-биохимических характеристик, условий культивирования и факторов, влияющих на его жизнедеятельность. Практическое применение симбиотических взаимоотношений микроорганизмов в современных производствах продуктов брожения весьма ограничено и используется лишь при получении хлебного кваса путем сбраживания квасного суслу комбинированной закваской. Однако комбинированную закваску для производства хлебного кваса составляют чисто механически, без учета видовых особенностей применяемых микроорганизмов. По нашему мнению, такой механически создаваемый, искусственный биоценоз двух видов микроорганизмов может приводить к удлинению периода их адаптации друг к другу, неполному использованию метаболического потенциала, что впоследствии не может не сказаться не только на показателях качества самой закваски, но и получаемого хлебного кваса.

Согласно нашей гипотезе, использование рисового гриба как комбинированной закваски естественного происхождения позволит исключить все недостатки механически составляемой комбинированной закваски, устранив антагонизм между механически смешанными микробами, и упростить процесс получения готового напитка брожения при сохранении его высоких показателей качества.

Идентификация микробного состава рисового гриба показала, что рисовый гриб представляет собой ассоциативный консорциум разных таксономических групп микроорганизмов: дрожжей – *Zygosaccharomyces fermentati Naganishi*, *Pichia membranaefaciens Hansen*, молочнокислых бактерий – *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei*, *Leuconostoc mesenteroides subsp. dextranicum*, уксуснокислых бактерий – *Acetobacter aceti* [6, 59]. Биокультура рисового гриба задепонирована с присвоением предложенного нами латинского названия – *Oryzomyces indicī* РГЦ (БИМ γВ-220Д) – и выдачей паспорта в коллекции непатогенных микроорганизмов Института микробиологии НАН Беларуси, где она хранится в лиофильно высушенном состоянии [77]. Исследования санитарно-химических, микробиологических, токсикологических показателей консорциума рисового гриба *Oryzomyces indicī* РГЦ, проведенные в ГУ «Республиканский научно-практический центр гигиены», показали, что изучаемая биоккультура полностью соответствует гигиеническим требованиям безопасности и может быть использована в производстве пищевых продуктов.

Выявленные закономерности жизнедеятельности рисового гриба *Oryzomyces indicī* РГЦ показали, что биосинтетическая и метаболическая активности исследуемого консорциума проявляются только в двухкомпонентной питательной среде, содержащей одновременно углеводсодержащий и растительный компоненты. Оптимальной формой углеводного питания для рисового гриба *Oryzomyces indicī* РГЦ среди моно- (глюкоза, фруктоза) и дисахаров (сахароза, мальтоза) является сахароза, а формой растительного компонента в сравнении с курагой, инжиром, черносливом – виноград сушеный. Наличие указанных компонентов в составе питательного субстрата позволяет обеспечить наибольшую активность метаболических процессов в клетках биокультуры и получать ферментированный продукт с заданными показателями качества. Продолжительность культивирования рисового гриба составляет 5 суток, после чего требуется пересев биокультуры на новый питательный субстрат [10, 11].

В четвертой главе «*Исследование метаболической активности консорциума рисового гриба Oryzomyces indicī* РГЦ, обуславливающей биологическую ценность сброживаемой среды» проведены исследования по определению метаболической способности рисового гриба *Oryzomyces indicī* РГЦ продуцировать различные биологически активные метаболиты, имеющие важное физиологическое значение для организма человека, а также продукты обмена веществ, отвечающие за вкусовой и ароматический фон ферментированного продукта.

Впервые обнаружена антибиотическая активность ферментируемой консорциумом рисовым грибом *Oryzomyces indicī* РГЦ питательной среды по отношению к целому ряду патогенных микроорганизмов, а именно: *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enterica* и условно-патогенных – *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, развитие которых приводит к нарушению нормального микробиоценоза кишечника человека, известного под названием дисбактериоз (рисунок 1) [18, 74].

Особую значимость имеет обнаруженная ярко выраженная антагонистическая активность рисового гриба по отношению к золотистому стафилококку *Staphylococcus aureus*, вызывающему ряд тяжелых патологий. Он отличается высокой антибиотикорезистентностью, и в настоящее время нет антибиотика, который подавлял бы развитие этого микроба. Таким образом, выявленная антибиотическая активность рисового гриба *Oryzomyces indicī* РГЦ определяет перспективность его использования для производства продуктов питания, обладающих способностью регулировать биологическое равновесие кишечника, нарушенное при различных заболеваниях желудочно-кишечного тракта человека.

В ходе своей жизнедеятельности рисовый гриб *Oryzomyces indicī* РГЦ синтезирует важнейшие для организма человека вещества – витамины – тиамин (В₁), рибофлавин (В₂), пантотеновая кислота (В₅), фолиевая кислота (В_с), токоферол (Е), ниацин (РР), аскорбиновая кислота (С); аминокислоты – семнадцать из двадцати, в том числе восемь эссенциальных – треонин, валин, метионин, лейцин, изолецин, фенилаланин, цистеин, лизин, а также две

незаменимые для детского организма аминокислоты – аргинин и гистидин; низкомолекулярные органические кислоты – щавелевую, винную, молочную, уксусную, лимонную, янтарную, фумаровую, шикимовую, причем преобладающими кислотами в ферментированной среде являются молочная и уксусная кислоты (таблица 1) [17, 25, 39, 60].

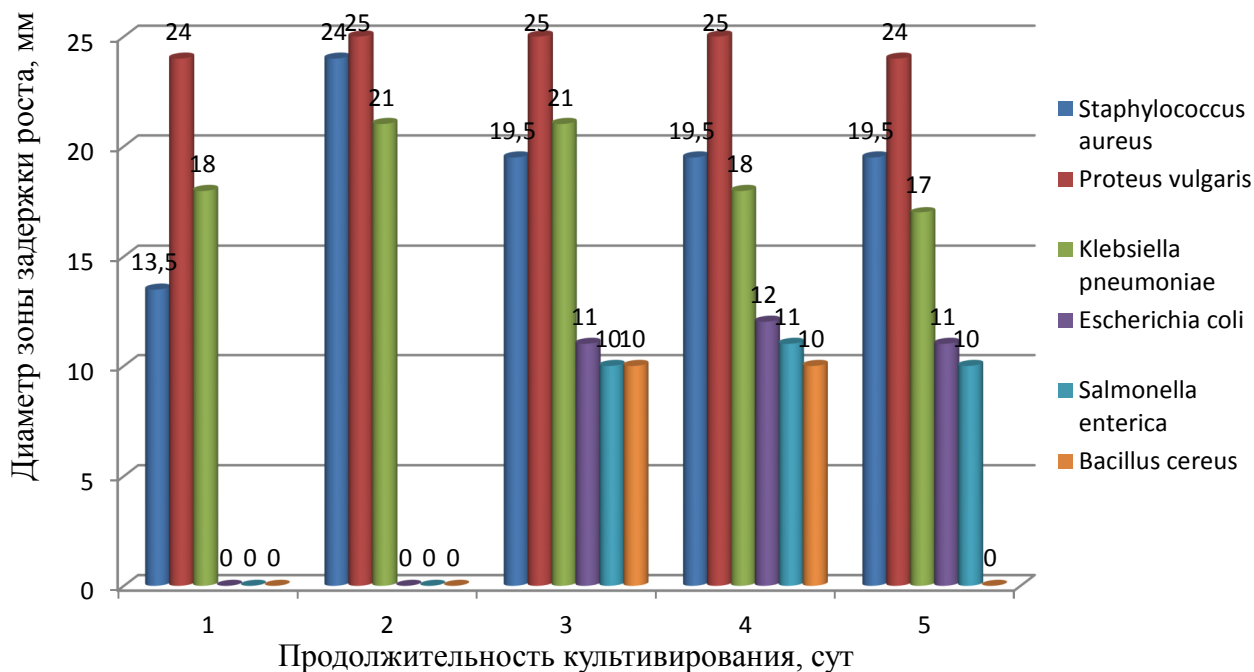


Рисунок 1. – Антибиотическая активность рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ

Установлено, что ферментируемые рисовым грибом *Oryzomyces indicis* РГЦ питательные субстраты содержат как классические жирные кислоты с четным числом углеродных атомов, так и редко встречаемые формы жирных кислот с нечетным числом атомов углерода (валерьяновая, энантовая, пеларгоновая, тридекановая, пентадекановая, гептадеценовая, маргариновая, генейкозановая, трикозановая); обнаружены также две изоокислоты – изолауриновая и изомиристиновая (таблица 2) [26]. На долю ненасыщенных жирных кислот приходится 42 % от всего идентифицированного спектра изучаемых веществ. Причем преобладающей жирной кислотой в ферментируемом рисовым грибом питательном субстрате является арахидоновая кислота, относящаяся к группе Омега-6. Коэффициент эффективности метаболизации НЗЖК, отражающий количество арахидоновой кислоты к сумме других ненасыщенных кислот продукта, получаемого на основе рисового гриба, характеризуется высоким значением и составляет КЭМ=0,62 [26, 71].

Важное значение имеет установленный факт наличия высокой гидролитической активности рисового гриба – β -фруктофуранозидазной (инвертазной), амилолитической (АС), осаживающей (ОС), протеолитической (ПС) (рисунок 2) [10, 21].

Таблица 1. – Состав метаболитов рисового гриба *Oryzomyces indicus* РГЦ, образующихся при ферментации питательного субстрата

Наименование веществ	Содержание биологически активных веществ в ферментируемой среде		
	Продолжительность ферментации, сут		
	1	3	5
Витамины			
Е, мг/100 г	1,15±0,23	1,10±0,22	0,97±0,19
В ₁ , мг/100 г	0,048±0,002	0,04±0,08	0,033±0,007
В ₂ , мг/100 г	0,64±0,13	0,35±0,07	0,26±0,05
В ₆ , мкг/100 г	20,0±3,6	15,0±2,7	4,3±0,8
РР, мг/100 г	0,52±0,08	0,46±0,07	0,43±0,06
В ₅ , мг/кг	0,36±0,09	0,23±0,06	0,11±0,03
С, мг/100 г	0,28±0,04	0,21±0,03	0,18±0,03
Аминокислоты, мг/100 г			
Аспарагиновая кислота	4,9±1,0	8,3±1,7	27,3±5,5
Глутаминовая кислота	5,4±1,1	22,7±4,5	42,7±8,5
Серин	5,7±1,1	7,1±1,4	17,4±3,5
Треонин	3,5±0,7	20,9± 4,2	16,7±3,3
Глицин	9,4±1,9	8,1±1,6	32,1± 6,4
Аланин	11,9±2,4	4,2±0,8	44,7±8,9
Аргинин	3,9±0,8	8,7±1,7	36,8±7,4
Пролин	10,8±2,2	24,5±4,9	19,9±4,0
Валин	12,9±2,6	12,5±2,5	20,2±4,0
Метионин	2,7±0,5	9,3±1,9	12,2±2,4
Лейцин	3,2±0,6	4,8±1,0	15,1±3,0
Изолейцин	3,1±0,6	3,8±0,8	30,4±6,1
Фенилаланин	37,7±7,5	4,7±0,9	69,3±13,9
Цистеин	20,4±4,1	23,7±4,7	79,0±15,8
Лизин	3,9±0,8	8,0±1,6	22,8±4,6
Гистидин	17,4±3,5	12,5±2,5	58,8±11,8
Тирозин	13,2±2,6	47,9±9,6	49,5±9,9
Общее суммарное количество аминокислот, мг/100 г	170,2±34,0	231,6±46,3	595,0±119,0
Органические кислоты, г/дм³			
Щавелевая	0,01±0,0005	0,015±0,0008	0,001±0,00005
Винная	0,15±0,008	0,14±0,007	0,14±0,007
Молочная	0,26±0,01	1,20±0,06	1,45±0,07
Уксусная	0,11±0,006	0,69±0,03	1,89±0,09
Шикимовая	0,001±0,0001	0,0032±0,0002	0,0012±0,0001
Лимонная	0,005±0,0003	0,010±0,001	0,004±0,0002
Янтарная	0,024±0,0012	0,098±0,005	0,086±0,004
Фумаровая	0,0004±0,00002	0,0003±0,00001	0,0001±0,00001
Летучие ароматические вещества, % масс			
Ацетальдегид	(1,72±0,08) × 10 ⁻³	(1,91±0,09) × 10 ⁻³	(0,66±0,03) × 10 ⁻³
Бутиральдегид	(0,08±0,004) × 10 ⁻⁴	(0,22±0,01) × 10 ⁻⁴	(0,63±0,03) × 10 ⁻⁴
Ацетон	(0,02±0,001) × 10 ⁻³	(0,10±0,005) × 10 ⁻³	(0,13±0,006) × 10 ⁻³
Этилацетат	(0,15±0,007) × 10 ⁻³	(1,18±0,06) × 10 ⁻³	(1,35±0,07) × 10 ⁻³
Диацетил	(0,01±0,001) × 10 ⁻³	(0,07±0,004) × 10 ⁻³	(0,15±0,008) × 10 ⁻³
Изобутанол	(0,07±0,004) × 10 ⁻³	(0,87±0,04) × 10 ⁻³	(0,56±0,03) × 10 ⁻³
Пропанол	(0,11±0,005) × 10 ⁻³	(0,23±0,01) × 10 ⁻³	(0,33±0,02) × 10 ⁻³
Изоамилол	(0,05±0,003) × 10 ⁻³	(0,19±0,009) × 10 ⁻³	(0,59±0,03) × 10 ⁻³

Таблица 2. – Содержание высокомолекулярных жирных органических кислот в питательной среде, ферментируемой рисовым грибом *Oryzomyces indicis* РГЦ

Наименование органической кислоты	Длина С-цепи: количество двойных связей	Содержание жирных кислот, % от общей суммы		
		Продолжительность ферментации, сут		
		1	3	5
Валерьяновая	C ₅	0,071±0,004	0,748±0,037	следы
Капроновая	C ₆	0,285±0,014	1,766±0,088	следы
Каприловая	C ₈	3,089±0,154	5,794±0,289	2,726±0,136
Энантовая	C ₇	0,111±0,006	0,172±0,009	следы
Пеларгоновая	C ₉	0,585±0,029	0,667±0,033	0,704±0,035
Каприновая	C ₁₀	3,494±0,175	3,409±0,170	5,896±0,295
Ундециловая	C ₁₁	0,428±0,021	0,374±0,019	0,023±0,001
Изолауриновая	C ₁₂	0,976±0,049	1,241±0,062	3,492±0,175
Лауриновая	C ₁₂	4,303±0,215	4,838±0,242	4,689±0,234
Лауролеиновая	C _{12:3}	0,943±0,047	0,566±0,028	0,569±0,028
Тридекановая	C ₁₃	1,110±0,056	1,032±0,052	0,851±0,043
Миристиновая	C ₁₄	2,772±0,139	2,902±0,145	2,563±0,128
Изомиристиновая	C ₁₄	0,877±0,044	0,647±0,032	0,540±0,027
Миристолеиновая	C _{14:1}	0,993±0,049	1,233±0,062	1,013±0,051
Пентадекановая	C ₁₅	0,720±0,036	1,148±0,057	0,776±0,039
Пентадеценовая	C _{15:1}	6,356±0,318	5,874±0,294	5,901±0,295
Пальмитиновая	C ₁₆	10,777±0,539	9,518±0,476	9,443±0,472
Пальмитолеиновая	C _{16:1}	3,245±0,162	3,784±0,189	2,867±0,143
Гексадекадиеновая	C _{16:2}	0,717±0,036	0,521±0,026	0,798±0,039
Маргариновая	C ₁₇	1,022±0,051	1,190±0,059	1,179±0,059
Гептадеценовая	C _{17:1}	1,383±0,069	1,197±0,060	1,286±0,064
Стеариновая	C ₁₈	7,091±0,355	3,778±0,189	4,152±0,207
Олеиновая	C _{18:1}	10,557±0,528	6,053±0,303	10,971±0,549
Линолевая	C _{18:2}	4,485±0,224	2,201±0,110	3,769±0,188
Линоленовая	C _{18:3}	2,201±0,110	2,051±0,103	2,316±0,116
Арахидиновая	C ₂₀	1,285±0,064	1,079±0,054	1,234±0,062
Гондовая	C _{20:1}	2,671±0,134	5,666±0,283	5,654±0,283
Эйкозодиеновая	C _{20:2}	1,545±0,077	1,345±0,067	1,736±0,087
Генеикозановая	C ₂₁	0,116±0,006	0,129±0,006	0,142±0,007
Эйкозатриеновая	C _{20:3}	0,703±0,035	0,578±0,029	1,078±0,054
Арахидононовая	C _{20:4}	12,293±0,615	15,732±0,787	10,079±0,504
Бегеновая	C ₂₂	2,679±0,134	2,206±0,110	3,572±0,179
Эруковая	C _{22:1}	-	0,658±0,033	0,118±0,006
Трикозановая	C ₂₃	1,039±0,052	1,270±0,064	1,391±0,069
Лигноцериновая	C ₂₄	0,877±0,044	1,413±0,071	1,457±0,073
Нервоновая	C _{24:1}	0,906±0,045	0,661±0,033	0,631±0,032

Наиболее высокий уровень активности присущ протеолитическим ферментам (230 ед/г), обеспечивающим процесс протеолиза и накопления в ферментируемой среде низкомолекулярных источников азота. Очевидно, что такая протеолитическая система компенсирует недостаток усвояемого азота в

субстрате и обеспечивает биосинтетические функции биокультуры, требующие значительного количества азотистых веществ.

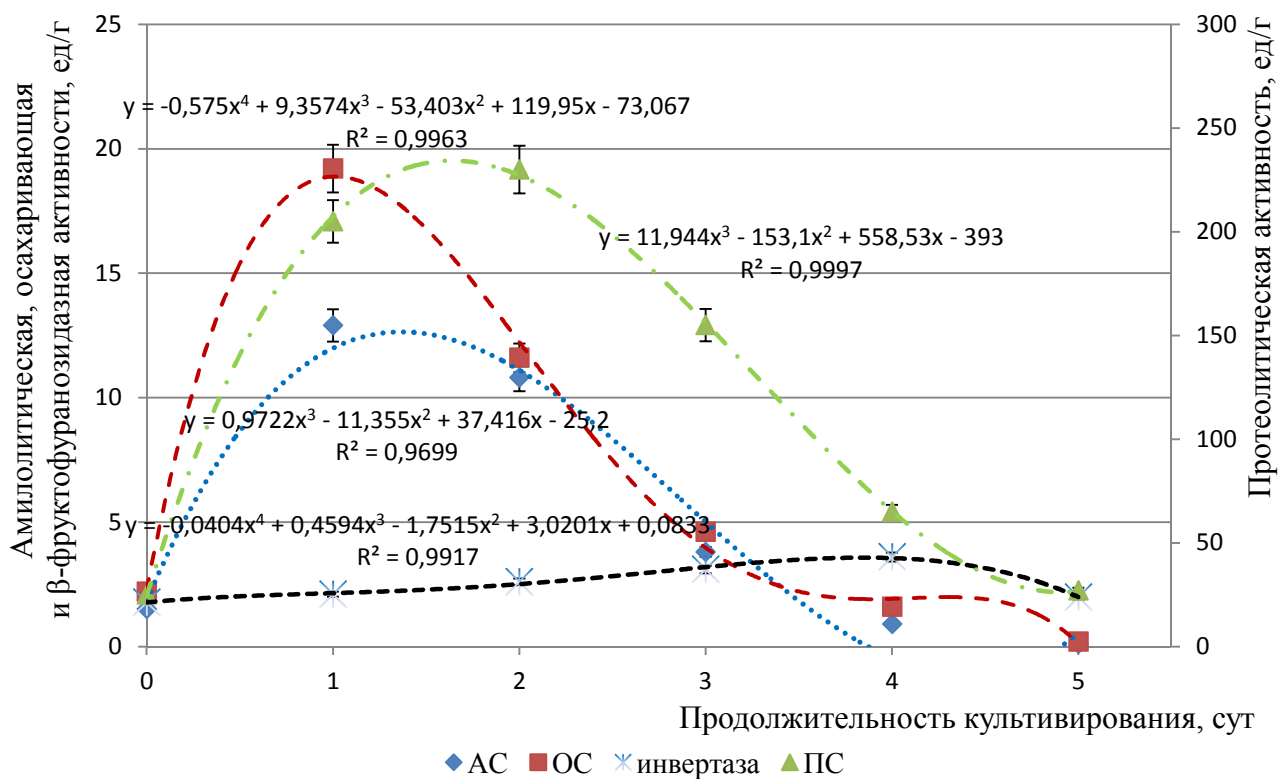


Рисунок 2. – Зависимость АС, ОС, ПС и β-фруктофуранозидазы рисового гриба *Oryzomyces indicii* РГЦ от продолжительности культивирования

Это подтверждают данные о наличии аминного азота в ферментируемой среде [7, 8, 55], наибольшее содержание которого коррелирует с максимумом протеолитической активности рисового гриба, что свидетельствует о перспективности использования консорциума рисового гриба *Oryzomyces indicii* РГЦ в бродильных производствах и, в частности, как источника биологически активных соединений.

Исследование ароматообразующей способности рисового гриба *Oryzomyces indicii* РГЦ, показало, что жизнедеятельность биокультуры сопровождается процессом синтеза таких летучих ароматических соединений, как уксусный, масляный альдегиды, ацетон, диацетил, этилацетат, этанол, пропанол, изобутанол, изоамилол, участвующих в формировании органолептических свойств продукта, концентрация которых зависит от компонентного состава ферментируемой среды [14].

Таким образом, биологическая ценность и вкусовые особенности продукта брожения, получаемого в результате жизнедеятельности рисового гриба *Oryzomyces indicii* РГЦ, обусловлены широкой гаммой веществ, играющих важную роль в метаболических процессах организма человека. Причем образуемые биокультурой физиологически значимые вещества конгруэнтны аналогичным метаболитам организма человека, поскольку

получаются не путем химического синтеза, а образуются в результате процесса обмена веществ, единого для всех живых существ.

В пятой главе «Исследование биосинтетических функций консорциума рисового гриба *Oryzomyces indicī* РГЦ и функциональных параметров его культивирования» была изучена субстратная регуляция биосинтетических функций рисового гриба *Oryzomyces indicī* РГЦ, кинетические и функциональные параметры его культивирования.

Установлено, что биосинтетические функции рисового гриба *Oryzomyces indicī* РГЦ зависят от концентрации винограда сушеного в питательном субстрате. Максимальное накопление биомассы исследуемого консорциума обеспечивает концентрация винограда сушеного в питательной среде $5 \text{ г/дм}^3 - 8 \text{ г/дм}^3$. Очевидно, это связано с содержанием в нем оптимальной концентрации веществ-активаторов ферментов, отвечающих за скорость накопления биомассы рисового гриба. Это подтверждается тем, что последующее увеличение концентрации винограда сушеного не приводило к заметному увеличению биомассы рисового гриба [11, 13, 53].

Концентрация сахарозы в питательной среде как пластического компонента также оказывала влияние на метаболические функции рисового гриба *Oryzomyces indicī* РГЦ. Наибольшая активность рисового гриба проявлялась в питательной среде с концентрацией сахарозы – 5 % – 7 %, что коррелирует с высокой активностью клеточного фермента β -фруктофуранозидазы, ответственного за гидролиз сахарозы. Константа насыщения (K_s) составляет 3,4 % сахарозы [10].

Учитывая большое многообразие винограда сушеного, было исследовано влияние его видов и разновидностей на обменные процессы рисового гриба *Oryzomyces indicī* РГЦ и особенности химического состава получаемого продукта брожения. Исследовали три разновидности вида винограда сушеного кишмишных сортов – сабза, бедона, шигани, две разновидности изюма – окрашенный и светлый, а также авлон как смесь кишмишных и изюмных сортов. Установлено, что наиболее оптимальным видом винограда сушеного, обеспечивающим активную жизнедеятельность рисового гриба *Oryzomyces indicī* РГЦ и прирост его биомассы в 2,0–2,8 раза, является кишмиш независимо от его разновидностей [11, 13].

Выявлена возможная причина стимулирующего действия винограда сушеного на развитие биокультуры, заключающаяся в минеральном составе винограда сушеного. Показано, что важнейшим элементом для жизнедеятельности консорциума является калий, превалирующий во всех исследуемых кишмишных разновидностях винограда сушеного, концентрация которого влияет на синтез биомассы рисового гриба *Oryzomyces indicī* РГЦ [11]. Найдена прямая зависимость между содержанием ионов калия в клетках консорциума *Oryzomyces indicī* РГЦ и процессами его роста. Стимулирующее действие растительной добавки на развитие биокультуры рисового гриба отмечается при содержании калия в винограде сушеном в концентрации 1755 мг/кг – 1966 мг/кг [11, 53].

Определены кинетические и функциональные параметры развития рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ и построена кривая его роста: кардинальные температурные точки: минимум – 2 °С, максимум – 40 °С, оптимум – (25±5) °С, значение рН среды – 4–6, продолжительность трофофазы – 3 сут, длительность идиофазы – 2 сут, удельная скорость роста биомассы – 0,025 сут⁻¹ [10, 44, 51, 55].

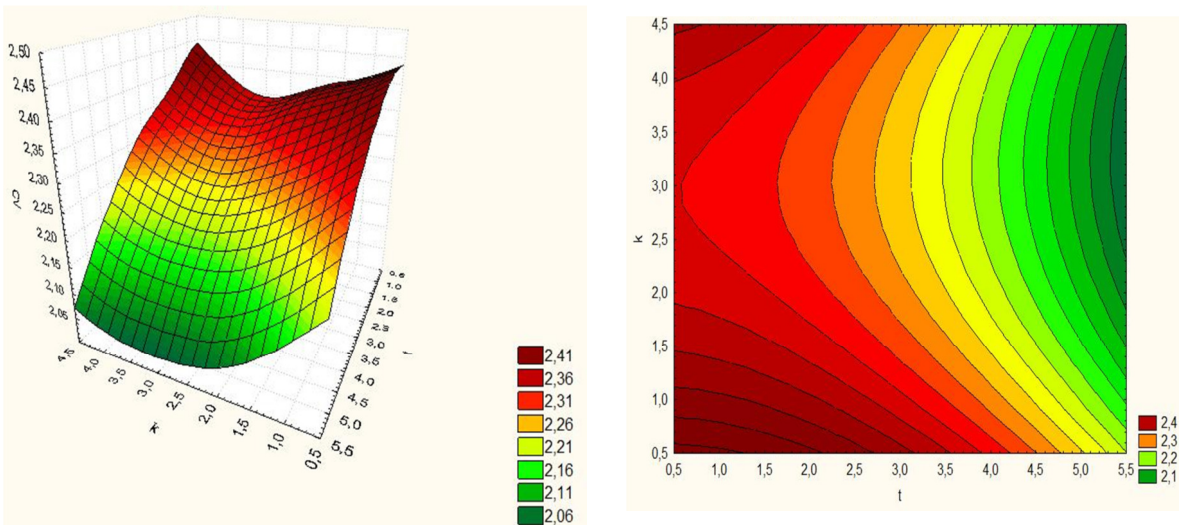
Исследования по определению закономерностей биосинтетических функций рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ и факторов, влияющих на его жизнедеятельность, явились основанием разработки биотехнологии получения нового сбраживающего компонента – закваски на основе консорциума рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ, обеспечивающей наращивание биомассы рисового гриба в промышленных количествах по двум технологическим схемам – из нативных и лиофильно высушенных гранул биокультуры. Определены требования к показателям качества – внешний вид, размеры, консистенция гранул, цвет, аромат, вкус, микробиологические характеристики, ферментативная активность, рН и др., которым должна соответствовать закваска *Oryzomyces indicis* РГЦ. Разработаны два режима хранения закваски – консорциума *Oryzomyces indicis* РГЦ, обеспечивающие сохранность высокой биологической активности рисового гриба: *1 режим* – на питательной среде с 1%-ной концентрацией сахарозы при температуре 18 °С – 22 °С, пересев на свежую питательную среду – 1 раз в 7 дней; *2 режим* – на питательной среде с 1%-ной концентрацией сахарозы при температуре 2 °С – 6 °С, пересев на свежую питательную среду – 1 раз в 15 дней [20].

В шестой главе «Научные положения биотехнологии натуральных ферментированных безалкогольных напитков на основе закваски – консорциума рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ» приведены теоретические и экспериментальные результаты исследований процесса ферментации питательного субстрата при использовании в качестве сбраживающего компонента – природного консорциума рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ.

В связи с тем, что процесс брожения протекает под ферментативным воздействием сбраживающего компонента, который во избежание эффектов ингибирования должен находиться в строго определенном соотношении с ферментируемой питательной средой, были проведены исследования по определению оптимального соотношения концентраций рисового гриба и всех компонентов питательной среды. Разработана комплексная модель процесса ферментации питательного субстрата с использованием рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ, включающая в себя систему уравнений, описывающих изменения ключевых параметров брожения, – содержание сухих, редуцирующих веществ, этилового спирта, титруемой кислотности, активности β-фруктофуранозидазы – в зависимости от управляющих факторов, что позволило обосновать оптимальные режимы технологического процесса сочетанного брожения при получении продукта с заданными свойствами. В качестве эталонного соотношения компонентов была принята

среда с весовым количеством рисового гриба:сахарозы:винограда сушеного, в г на 1 дм³, – 24:24:1 (1:1:1). Степень варьирования исследуемых компонентов составляла от 1:1:1 до 4:4:4 (65 вариантов). Продолжительность ферментации при оптимальной температуре (25±5) °С составляла 5 сут. Вычислены коэффициенты зависимости концентраций k_2 , k_c , k_g для рисового гриба, сахарозы и винограда сушеного соответственно.

Пример графической интерпретации зависимости содержания сухих веществ (% масс) от концентрации рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ и продолжительности ферментации (1) в виде поверхности отклика и поверхности линий равных уровней представлен на рисунке 3.



а)

б)

Рисунок 3. – Зависимость содержания сухих веществ в субстрате от концентрации рисового гриба и продолжительности ферментации: а) в виде поверхности отклика; б) поверхности линий равного уровня

$$m_{cv} = 2,543 + 10^{-2}(-\tau^2 + 2,25 \cdot k_2^2 - 0,3 \cdot \tau \cdot k_2) + 9,3 \cdot 10^{-3} \cdot \tau - 0,13 \cdot k_2. \quad (1)$$

Аналогично получены уравнения зависимости содержания сухих веществ (% масс) от концентрации сахарозы, винограда сушеного и продолжительности ферментации (2) и (3):

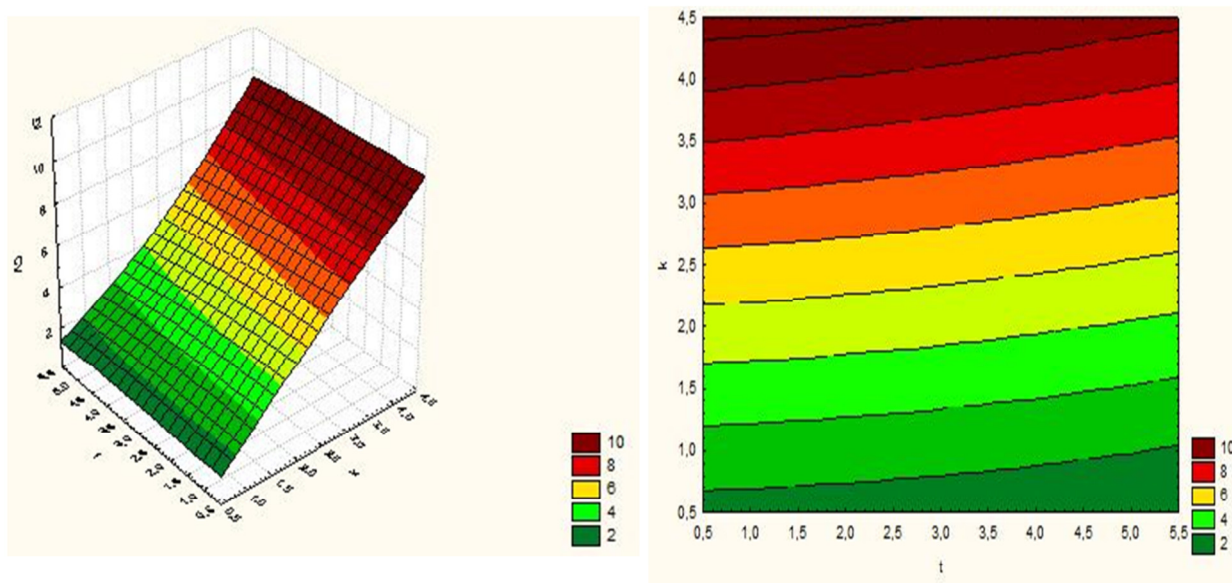
$$m_{cv} = 0,115 - 7,5 \cdot 10^{-2} \cdot \tau + 2,285 \cdot k_c, \quad (2)$$

$$m_{cv} = 2,69 + 10^{-2}(0,18 \cdot \tau^2 + 5 \cdot \tau - 2,4 \cdot \tau \cdot k_g + 2,75 \cdot k_c^2) - 0,195 \cdot k_g. \quad (3)$$

Получено эмпирическое уравнение (4), учитывающее влияние общего повышения концентраций всех трех компонентов в эталонной пропорции на контролируемый параметр:

$$m_{св} = 0,77 + 10^{-2}(1,61 \cdot \tau^2 + 0,36 \cdot \tau - 3,4 \cdot \tau \cdot k_o + 9,25 \cdot k_o^2) - 1,76 \cdot k_o \quad (4)$$

Графическая интерпретация зависимости (4) позволяет контролировать изменение содержания сухих веществ в течение всего производственного цикла брожения при заданных параметрах ферментации (рисунок 4).



а)

б)

Рисунок 4. – Зависимость содержания сухих веществ от общей концентрации компонентов и продолжительности ферментации в виде: а) поверхности отклика; б) поверхности линий равного уровня

Математический анализ всех полученных зависимостей (1–29) показал, что наиболее оптимальными условиями ведения процесса ферментации при использовании в качестве сбраживающего компонента рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ является состав ферментируемого субстрата: сахара – 4,8 %, виноград сушеный – 3 г/дм³; концентрация сбраживающего компонента – закваски *Oryzomyces indicis* РГЦ – 48 г/дм³, продолжительность ферментации – 3 сут. Рассчитаны кинетические характеристики процесса ферментации при использовании закваски *Oryzomyces indicis* РГЦ, позволившие охарактеризовать интенсивность изменения ключевых параметров ферментации в зависимости от внешних факторов [16, 44, 54, 58].

Разработана инновационная биотехнология производства нового натурального ферментированного безалкогольного напитка «Рисовит» с использованием в качестве сбраживающего компонента рисового гриба – закваски *Oryzomyces indicis* РГЦ [7, 5, 20, 81]. Проведенные совместно с сотрудниками ГУ НПЦ «Институт фармакологии и биохимии НАН Беларуси» комплексные доклинические исследования напитка «Рисовит», полученного на основе природного консорциума рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ, позволили установить его стимулирующее, иммуномодулирующее, онкопротекторное и профилактическое действия на живой организм. Это

проявляется в повышении количества общего белка (на 6,6 %), увеличении концентрации иммуноглобулинов G (в 12 раз), снижении содержания низкомолекулярных триглицеридов, образующих холестериновые бляшки в кровеносных сосудах (на 2,5 %), что свидетельствует о профилактических свойствах напитка «Рисовит» [28, 40].

По индексу пролиферации в норме клеточные популяции располагались в следующей последовательности: семенники (ИП=22,73 %)→мышцы (ИП=21,26 %)→костный мозг (ИП=20,92 %)→сердце (ИП=19,53 %)→тимус (ИП=16,06 %)→селезенка (ИП=12,98 %)→кровь (ИП=12,82 %)→печень (ИП=10,35 %). После введения животным напитка «Рисовит» уровень пролиферации клеток повысился в сердце (+45 %), семенниках (+40 %), тимусе (+38 %), крови (+29 %), печени (+24 %) и селезенке (+15 %) по отношению к контролю. У этих животных не выявлено изменений пролиферации клеток костного мозга и мышц по сравнению с контролем. Уровень апоптотических клеток после введения напитка «Рисовит» животным снижался в пределах 1 % в тимусе, 8 % – крови, 11 % – костном мозге, 12 % – печени, 16 % – сердце и 18 % – мышцах. В семенниках апоптотической гибели клеток после введения напитка животным выявлено не было. Таким образом, повышение уровня пролиферации клеток и понижение количества апоптотических клеток свидетельствуют о стимулирующем действии напитка «Рисовит» на клетки различной функциональной специализации в организме. Наибольший стимулирующий эффект напитка наблюдался в клетках большинства изученных систем (семенники, тимус, сердце, кровь, селезенка, печень) [24, 28, 40].

На модели опухолеобразования (внутрибрюшное введение уретана мышам линии ICR) изучены противоопухолевые свойства напитка «Рисовит» (таблица 3). Показано, что на фоне индукции уретаном опухолей в легких и одновременного введения животным напитка наблюдается снижение (на 46 %) частоты развития аденом в легких этих животных по сравнению с контролем [28, 40].

Таблица 3. – Противоопухолевые свойства напитка на основе рисового гриба *Oryzamyces indicis* РГЦ

Количество аденом в легких в расчете на 1 мышшь			
Группа 1 (уретан) n=7	Группа 2 (рисовый гриб+уретан) n=8	Группа 3 (рисовый гриб) n=9	Группа 4 (интактный контроль) n=10
16,29±2,09	7,43±1,01	2,89±0,39	3,63±1,0
	P _{1,2} <0,01	P _{1,3} <0,001 P _{2,3} <0,001	P _{1,4} <0,01

Выявленные эффекты свидетельствуют об онкопротекторных свойствах напитка «Рисовит» по отношению к данной патологии, что свидетельствует о

перспективности использования консорциума *Oryzomyces indicis* РГЦ в создании продуктов питания для онкологических больных.

Для расширения ассортимента натуральных ферментированных безалкогольных напитков на основе рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ была изучена возможность использования различных ягодных соков – клюквенного, черносмородинового, вишневого [7, 8, 27]. Установлено, что двухстадийное внесение соков в питательную среду (1 % – 2 % до брожения и 4 % – 5 % сока на стадии купажирования) позволяет одновременно интенсифицировать процесс ферментации напитка и повысить органолептические свойства готового продукта. Разработана биотехнология новых натуральных ферментированных безалкогольных напитков серии «Рисовит», получаемых с использованием консорциума *Oryzomyces indicis* РГЦ и ягодных соков – «Рисовит-клюква», «Рисовит-черная смородина», «Рисовит-вишня» (рисунок 5). Полученные напитки обладают не только высокими физико-химическими, органолептическими показателями качества, но и существенной биологической ценностью за счет содержания в них значительного спектра биологически ценных веществ (витаминов (В₁, В₂, В₃, В_с, Р, Е, РР), аминокислот, низко- и высокомолекулярных органических кислот и т.д.), принимающих участие в обменных реакциях организма человека [20, 35–37, 42]. Инновационная биотехнология получения функциональных безалкогольных напитков брожения на основе рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ внедрена на ОАО «Новогрудский винзавод».

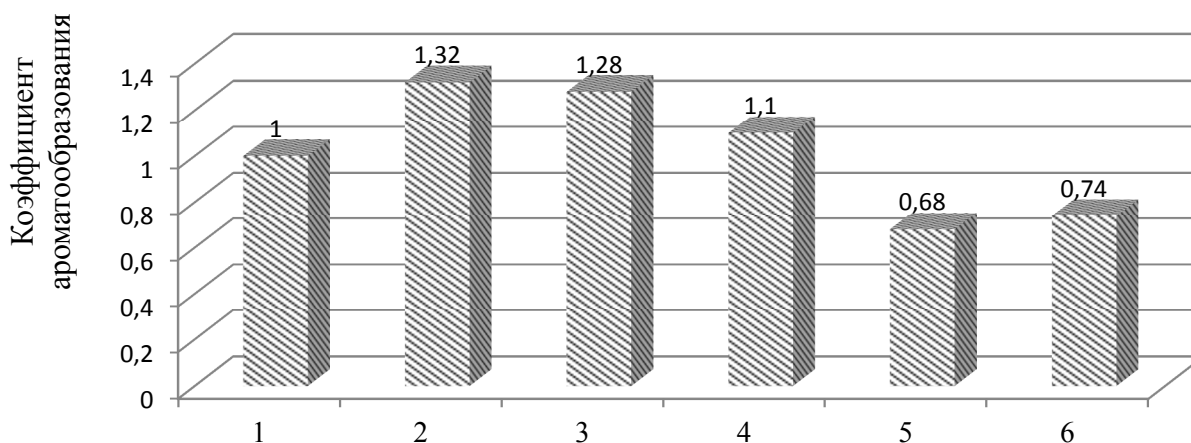
В седьмой главе «Научные основы технологии хлебного кваса с использованием микроорганизмов-ассоциантов рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ» исследованы физиолого-биохимические свойства отдельных микроорганизмов-ассоциантов рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ для производства других видов продуктов брожения и, в частности, хлебного кваса. Скрининг чистых культур микроорганизмов-ассоциантов из состава консорциума рисового гриба, применительно к условиям квасоварения, показал, что производственно-ценными свойствами обладают две культуры – молочнокислые бактерии *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* СК БИМ В-701 Д и дрожжи *Zygosaccharomyces fermentati* Naganishi CD БИМ Y-225 Д, задепонированные с выдачей паспортов в коллекции непатогенных микроорганизмов Института микробиологии НАН Беларуси [15, 19, 78, 79].

Учитывая, что все микроорганизмы в ходе своей жизнедеятельности по-разному продуцируют ароматообразующие и кислотообразующие вещества, нами были предложены новые критерии оценки свойств микроорганизмов квасного производства, позволяющие охарактеризовать их метаболическую активность и способность формировать высокий органолептический профиль напитка – коэффициент кислотообразования (K_K) и коэффициент ароматообразования (K_A).



Рисунок 5. – Процессуально-технологическая схема получения натуральных ферментированных безалкогольных напитков серии «Рисовит» на основе консорциума рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ

Расчет приведенных критериев позволил установить, что новые МКБ-ассоцианты и дрожжи-ассоцианты характеризуются высокой степенью кислото- ($K_{КМКБ}=2,6$ и $K_{КД}=1,5$) и ароматообразования ($K_{АМКБ}=1,28$ и $K_{АД}=1,1$), что весьма важно для формирования заданных показателей качества хлебного кваса с высокими физико-химическими и органолептическими свойствами. Определены и рассчитаны K_K и K_A для ряда микроорганизмов квасного производства – молочнокислых бактерий *Betabacterium brevis* штаммов β -11 и β -13, ароматообразующего стрептококка *Streptococcus diacetylactis*, дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* расы *M*, *КМ-94* (рисунок 6) [1–4, 33, 45, 80].



1 – *B.brevis* β -11+ β -13, 2 – *St.diacetylactis* *d*₆, 3 – *Lb.paracasei* *CK*,
4 – *Zygosacch fermentati* *CD*, 5 – *Sach.cerevisiae* *M*, 6 – *Sach.cerevisiae* *КМ-94*
Рисунок 6. – Сравнительный анализ ароматообразующей способности микроорганизмов квасного производства

Развитие МКБ-ассоциантов *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* в составе комбинированной закваски сопровождается многосторонним стимулирующим эффектом, заключающимся в интенсификации молочнокислого и спиртового брожения, осуществляемого сопряженно развивающимися дрожжевыми клетками традиционных рас. Усиление обменных процессов микроорганизмов проявлялось в увеличении концентрации клеток (в 2–3 раза) и повышении от 20 % до 70 % образования ароматообразующих продуктов обмена веществ. Применение для сбраживания квасного сусла комбинированной закваски с МКБ-ассоциантами позволяет существенно повысить ароматический профиль напитка, сократить на 6 ч продолжительность брожения квасного сусла и одновременно улучшить показатели готового хлебного кваса [19, 78].

Показана целесообразность применения в виде монозакваски дрожжей-ассоциантов *Zygosaccharomyces fermentati Naganishi CD* для сбраживания квасного сусла, что позволяет упростить технологию получения хлебного кваса, сократить продолжительность брожения квасного сусла на 4 ч, обеспечить высокие физико-химические и органолептические показатели хлебного кваса и увеличить срок годности готового напитка с 2 до 10 сут [15, 70, 78].

Применение новых для квасного производства технологических решений, основывающихся на использовании микроорганизмов-ассоциантов рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ, позволяет повысить эффективность квасного производства и решить вопрос импортозамещения сбраживающих компонентов, закупаемых в настоящее время за рубежом, за счет создания отечественной базы высокоэффективных источников брожения с производственно-ценными свойствами.

Восьмая глава «Научные основы применения микроорганизмов-ассоциантов рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ и его биопотенциала в производстве пищевого этилового спирта» посвящена исследованиям по использованию рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ и его микроорганизмов-ассоциантов в производстве пищевого этилового спирта.

Дрожжи-ассоцианты рисового гриба *Zygosacch. fermentati* CD при культивировании на спиртовом сусле проявляют термофильные (30 °С – 35 °С), осмофильные (20 % – 23 %), высокие бродильные свойства (степень сбраживания 82 %). Применение дрожжей-ассоциантов *Zygosacch. fermentati* CD для сбраживания ржаного спиртового сусла позволяет в сравнении с традиционными расами повысить концентрацию этанола в зрелой бражке до 40 % и улучшить фракционный состав летучих примесей этанола за счет снижения фракций примесей, ухудшающих показатели качества пищевого этанола (высших спиртов – на 64 %, альдегидов – на 18 %), а также повысить на 32 % концентрацию веществ, участвующих в образовании букета водочных изделий. Для новых дрожжей *Zygosacch. fermentati* CD рассчитан коэффициент эффективности спиртообразования ($K_{ЭС}=0,89$), характеризующий баланс между образованием суммарных побочных примесей и этанолом, что подтверждает высокое качество получаемого этанола [30, 41, 61, 64, 66, 67, 75]. Дрожжи *Zygosaccharomyces fermentati Naganishi* расы CD внедрены на спиртовом заводе Мирский филиал ОАО «Гродненский ликеро-водочный завод».

Изучение закономерностей ферментативных процессов в питательной среде при развитии рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ позволило разработать физико-математическую модель формирования биологической активности метаболита рисового гриба, основывающуюся на системе уравнений, описывающих зависимости карбогидразной и протеолитической активности ферментируемого субстрата от условий культивирования [21]. Определен единый критерий эффективности процесса ферментации (5):

$$K_3 = \frac{(-5,375\tau + 22,985)}{OC^*} + \frac{(-0,44\tau^2 + 1,02\tau + 1,21)}{ДС^*} + \frac{(77,37\tau^3 - 619\tau^2 + 1346,5\tau - 440,11)}{ПС^*} + \frac{25,35e^{-0,753\tau}}{АС^*} \quad (5)$$

где OC^* , $ДС^*$, $ПС^*$, $АС^*$ – экстремумы функций, полученные в интервале $1 \leq \tau \leq 2$.

Разработанная физико-математическая модель была положена в основу биотехнологии получения метаболита рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ

с высокой ферментативной активностью [21]. Сравнительный анализ показателей качества метаболита рисового гриба и применяемых в спиртовом производстве природных источников биологически активных веществ, (таблица 4), показал, что метаболит рисового гриба практически по всем видам ферментативной активности (за исключением декстринолитической) значительно превосходит солодовое молоко независимо от его вида: по ПС – в 3000 раз, ОС – в 6 раз, АС – 2 раза, аминному азоту – в 3 раза. Это свидетельствует о перспективности использования метаболита *Oryzomyces indicis* РГЦ в качестве источника комплекса гидролитических ферментов [9, 12, 21, 22, 31].

Таблица 4 – Показатели качества метаболита рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ и других компонентов природного происхождения, применяемых в спиртовом производстве

Наименование исследуемых показателей	Метаболизат рисового гриба	Солодовое молоко	
		из овса голозерного «Вандроўнік»	из ячменя «Гонар»
Содержание сухих веществ, %	2,8±0,1	5,5±0,3	5,0±0,3
Содержание аминного азота, мг/100 см ³	23,2±1,2	5,4±0,3	4,7±0,2
Осахаривающая активность (ОС), ед/г	17,84±0,86	3,14±0,2	2,86±0,1
Амилолитическая активность (АС), ед/г	11,79±0,58	7,14±0,35	5,54±0,27
Декстринолитическая активность (ДС), ед/г	0,37±0,01	19,60±0,9	7,20±0,4
Протеолитическая активность (ПС), ед/г	366±18	0,13±0,01	0,11±0,01

Традиционная технология производственного дрожжегенерирования при получении пищевого этанола предусматривает использование в качестве азотистого питания неорганических химических добавок – карбамида и суперфосфата, применение которых в настоящее время в Республике Беларусь не разрешено. Установлено, что использование при приготовлении производственных спиртовых дрожжей метаболита рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ в концентрации 12 % от объема суслу позволяет повысить физиологическую активность дрожжей без использования карбамида и суперфосфата. Об этом свидетельствовало увеличение их общей биомассы (на 30 %), количества почкующихся клеток (на 60 %), снижение концентрации мертвых клеток (на 40 %), что обеспечивает повышение крепости зрелой бражки на 15 % и одновременно позволяет уменьшить норму внесения ферментных препаратов амилолитического спектра действия (на 17 %), исключить использование ферментных препаратов протеолитического спектра действия, что в совокупности снижает себестоимость получаемого этанола на 5,5 % [22, 40].

На основании результатов диссертационной работы и учитывая имеющиеся в литературных источниках малочисленные, разрозненные и противоречивые данные о природных консорциумах микроорганизмов, отсутствие сведений об их жизнедеятельности и функциях, была разработана

методология исследований природных консорциумов микроорганизмов на примере рисового гриба *Oryzomyces indicii* РГЦ. Методология включает в себя алгоритмы исследовательской деятельности, реализация которых позволит развить теорию и практику использования природных источников микроорганизмов в биотехнологиях продуктов брожения и обеспечить промышленное получение натуральных ферментированных пищевых продуктов с высокой биологической ценностью.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Основные научные результаты диссертации

1. Разработано новое научное направление в биотехнологиях продуктов брожения, основанное на закономерностях жизнедеятельности и метаболических функциях природного консорциума микроорганизмов рисового гриба *Oryzomyces indicii* РГЦ, идентифицированного как сообщество микроорганизмов разных таксономических групп – дрожжей (*Zygosaccharomyces fermentati* Naganishi, *Pichia membranae faciens* Hansen), уксуснокислых бактерий (*Acetobacter aceti*), молочнокислых бактерий (*Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei*, *Leuconostoc mesenteroides* subsp. *dextranicum*), а также выделенных из его состава микроорганизмов-ассоциантов – дрожжей *Zygosaccharomyces fermentati* Naganishi CD и молочнокислых бактерий *Lactobacillus paracasei* subsp. *paracasei* CK, включающее изучение и систематизацию новых данных о их развитии, физиолого-биохимических и функциональных свойствах, теоретическое и экспериментальное обоснование процессов ферментации на их основе, разработку новых подходов в оценке их метаболической активности, что позволило создать новые виды биологически ценных натуральных продуктов питания, инновационные биотехнологии их получения и усовершенствовать уже существующие технологии. Определены токсикологическая безопасность, санитарно-химические, и микробиологические показатели рисового гриба *Oryzomyces indicii* РГЦ и его микроорганизмов-ассоциантов, показавшие соответствие их гигиеническим требованиям безопасности для использования в пищевых производствах [5–7, 23, 29, 59, 77–79].

2. Установлено, что жизнедеятельность рисового гриба *Oryzomyces indicii* РГЦ, его биосинтетические, ферментативные, метаболические функции зависят от состава питательного субстрата и условий культивирования. Показано, что высокий уровень витальности биокультуры обеспечивает двухкомпонентная питательная среда, содержащая оптимальный углеводный компонент – сахарозу – в концентрации не менее 3 %, обязательное наличие растительного компонента – винограда сушеного вида кишмиш (шигани, сабза, бедона с содержанием калия 1755 мг/кг – 1966 мг/кг) в концентрации не менее 3 г/дм³, продолжительность культивирования в несменяемой среде – не более 5 сут, температура культивирования – (25±5) °С, значении рН среды – 4–6. Выявленные закономерности положены в основу

биотехнологии получения нового сбраживающего компонента закваски – консорциума рисового гриба *Oryzomyces indicii* РГЦ по двум технологическим схемам из нативных гранул, состоящую из 5-ти лабораторных и 5-ти производственных стадий, и лиофильно высушенных гранул биокультуры, состоящую из 12-ти лабораторных и 4-х производственных стадий: продолжительность одной стадии – трое суток, соотношение рисового гриба и питательной среды – 1:10, концентрация сахарозы в питательной среде на лабораторных стадиях соответствует установленной константе насыщения (K_s) – 3,4 %, на производственных стадиях – оптимальный диапазон – 5 % – 7 %, концентрация винограда сушеного в зависимости от его вида – 5 г/дм³ – 8 г/дм³, температура культивирования – (25±5) °С, значения pH среды – 4–6, что обеспечивает наращивание биомассы рисового гриба *Oryzomyces indicii* РГЦ в производственных масштабах. Разработаны показатели качества, которым должна соответствовать закваска на основе консорциума рисового гриба *Oryzomyces indicii* РГЦ, включающие в себя требования к внешнему виду, размерам, цвету, аромату, вкусу, консистенции гранул биокультуры, ферментативной активности, pH, санитарно-химическим и микробиологическим показателям. На основе установленных закономерностей β-фруктофуранозидазной активности рисового гриба *Oryzomyces indicii* РГЦ разработаны режимы хранения закваски, обеспечивающие ее витальность и ферментативные свойства (не менее 4 ед/г) – минимальная концентрация сахарозы в питательной среде – (1,0±0,2) %, продолжительность хранения в несменяемой питательной среде при температуре (20±2) °С – 7 сут, при температуре (4±2) °С – 15 сут, после чего требуется пересев биокультуры на новый питательный субстрат [10, 11, 13, 44, 51, 53, 55, 63].

3. На основании результатов исследований по определению закономерностей метаболической активности рисового гриба *Oryzomyces indicii* РГЦ – антибиотической, кислотообразующей, витаминообразующей, аминокислототообразующей, ароматообразующей – установлено, что функциональные свойства ферментированных напитков, их биологическая ценность, физико-химические и органолептические показатели качества формируются за счет способности рисового гриба *Oryzomyces indicii* РГЦ синтезировать биологически активные и физиологически важные для организма человека вещества – витамины (В₁ – 0,03–0,048 мг/100 г, В₂ – 0,26–0,64 мг/100 г, В₅ – 0,11–0,36 мг/100 г, фолиевая кислота (В_с) – 4,3–20,0 мкг/100 г, С – 0,18–0,28 мг/100 г, Е – 0,97–1,15 мг/100 г, РР – 0,43–0,52 мг/100 г); аминокислоты (170,2–595,0 мг/100 г); высокомолекулярные жирные кислоты (36 кислот), в том числе Омега (ω)-3 и Омега (ω)-6 при КЭМ = 0,62 (4,25 и 15,73 % от общей суммы); органические низкомолекулярные кислоты (молочная (0,26–1,45 г/дм³), уксусная (0,11–1,89 г/дм³), винная (0,14–1,15 г/дм³), щавелевая (0,001–0,015 г/дм³), янтарная (0,024–0,098 г/дм³), лимонная (0,004–0,01 г/дм³), фумаровая (0,0001–0,0004 г/дм³), шикимовая (0,001–0,0032 г/дм³); летучие ароматообразующие компоненты: альдегиды (ацетальдегид

($0,6-2,6$) $\times 10^{-3}$ % масс.), бутиральдегид ($0,08-0,62$) $\times 10^{-4}$ % масс.), кетоны (ацетон ($0,02-0,13$) $\times 10^{-3}$ % масс.), карбонильные соединения (диацетил ($0,01-0,15$) $\times 10^{-3}$ % масс.), эфиры (этилацетат ($0,15-1,61$) $\times 10^{-3}$ % масс.), спирты (этанол ($0,018-0,34$ % масс.), изобутанол ($0,08-0,87$) $\times 10^{-3}$ % масс.), пропанол ($0,11-0,32$) $\times 10^{-3}$ % масс.), изоамилол ($0,05-0,66$) $\times 10^{-3}$ % масс.), концентрация которых зависит от состава питательного субстрата и продолжительности культивирования рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ [11, 14, 17, 25, 26, 49, 60, 71].

Выявленная антибиотическая способность рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ в отношении целого ряда патогенных и условно-патогенных микроорганизмов, приводящих к дисбактериозу кишечника, таких как *Staphylococcus aureus*, *Proteus vulgaris*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enterica*, свидетельствует о перспективности использования рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ для производства функциональных продуктов питания, обеспечивающих поддержание нормальной микрофлоры кишечника человека [18, 74].

4. На основании теоретических и экспериментальных результатов исследований процесса ферментации питательного субстрата при использовании в качестве сбраживающего компонента – консорциума рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ разработана комплексная модель процесса ферментации с его использованием, отражающая характер метаболических процессов биокультуры, кинетику ферментации и включающая систему уравнений, определяющих зависимости ключевых параметров брожения – содержание сухих, редуцирующих веществ, этилового спирта, титруемой кислотности, активности β -фруктофуранозидазы, органолептических показателей – от управляющих факторов – концентраций сбраживающего компонента, сахарозы, винограда сушеного, продолжительности ферментации, что позволило обосновать оптимальные параметры процесса сочетанного брожения при получении ферментированного продукта с заданными свойствами. Найдены коэффициенты для управляющих факторов – k_2 (рисового гриба), k_c (сахарозы), k_g (винограда сушеного), а также зависимости, учитывающие влияние общих концентраций всех трех компонентов в исследуемой системе, что позволяет контролировать изменения ключевых параметров ферментации в течение всего производственного цикла. Определены кинетические характеристики процесса ферментации на основе рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ – интенсивность изменения ключевых параметров (I_{cv} , I_{ϕ} , I_{pg} , I_k , I_{cn}), что позволило установить закономерности биохимических характеристик сбраживаемого субстрата и биокультуры от внешних факторов [8, 16, 43, 51, 54, 55, 58].

5. Разработанная комплексная модель процесса ферментации питательного субстрата на основе рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ положена в основу новой инновационной биотехнологии производства натуральных ферментированных безалкогольных напитков функционального назначения серии «Рисовит» – «Рисовит-клюква», «Рисовит-черная

смородина», «Рисовит-вишня», заключающейся в использовании нового сбраживающего компонента – закваски – консорциума рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ для ферментации субстрата с оптимальными концентрациями – сахарозы 4,8 % – 5,0 %, винограда сушеного вида кишмиш – 3 г/дм³ – 4 г/дм³; двухстадийном внесении ягодных соков (клюквенного, вишневого, черносмородинового) – 1 % – 2 % до начала ферментации и 4 % – 5 % на стадии купаживания, температура культивирования – (25±5) °С, продолжительность ферментации – 2–3 сут, нагрев продукта при температуре (95±5) °С в течение 4–5 мин, что обеспечивает срок годности напитка не менее 90 сут, и позволяет получать новые натуральные ферментированные безалкогольные напитки без использования пищевых добавок. Определены органолептические и физико-химические показатели новых напитков, что подтверждает их высокое качество и существенную биологическую ценность [7, 8, 20, 27, 32, 35–37, 47, 48, 50, 52, 56, 57, 62, 65, 81].

Комплексная доклиническая оценка нового натурального ферментированного безалкогольного напитка «Рисовит», позволила установить, что напиток на основе рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ обладает профилактическим и стимулирующим действиями, выражающимися в уменьшении уровня низкомолекулярных триглицеридов (на 2,5 %), увеличении количества общего белка (на 6,6 %), концентрации иммуноглобулинов G в крови подопытных животных (в 12 раз), повышении уровня пролиферации клеток сердца (+45 %), семенников (+40 %), тимуса (+ 38 %), крови (+ 29 %), печени (+ 24 %), селезенке (+ 15 %), снижении уровня апоптотических клеток от 8 % (в крови) до 18 % (в мышцах), а также снижении на 46 % индуцированных уретаном опухолей в легких мышей [24, 28, 40].

7. На основании результатов исследований по определению физиолого-биохимических, функциональных свойств микроорганизмов, выделенных из рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ, а также закономерностей их развития применительно к условиям квасного и спиртового производств, установлено, что производственно-ценными свойствами обладают два вида микроорганизмов – дрожжи *Zygosaccharomyces fermentati Naganishi CD* и молочнокислые бактерии *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei СК*. Показано, что новые виды микроорганизмов характеризуются высокими функциональными свойствами – бродильной активностью (1,2 г СО₂/100 см³), степенью сбраживания (82 %), скоростью накопления клеточной биомассы ($\mu_d=0,28$ ч⁻¹; $\mu_{МКБ}=0,51$ ч⁻¹), кислотообразующей ($K_{КМКБ}=2,6$; $K_{КД}=1,5$), ароматообразующей ($K_{АМКБ}=1,28$; $K_{АД}=1,1$) способностью, осмофильными и термотолерантными свойствами, что позволило научно обосновать и интенсифицировать технологии получения хлебного кваса и пищевого этанола с их использованием [15, 19, 30, 32, 33, 76].

Использование для сбраживания квасного суслу микроорганизмов-ассоциантов рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ обеспечивает сокращение продолжительности ферментации на 4–6 ч, позволяет упростить технологию, одновременно повысить ароматический профиль напитка и срок годности

продукта до 10 сут (вместо 2–3 сут по классической технологии), что решает проблему импортозамещения микроорганизмов квасного производства, закупаемых за рубежом, и создает предпосылки для создания отечественной базы высокоэффективных источников брожения с производственно-ценными свойствами [15, 19, 30, 56].

Предложены новые критерии оценки свойств микроорганизмов квасного производства, в особенности новых видов, – коэффициент кислотообразования (K_K) и коэффициент ароматообразования (K_A), позволяющие охарактеризовать их способность формировать высокий органолептический и вкусовой профиль хлебного кваса, его физико-химические показатели качества. Рассчитаны K_K и K_A для микроорганизмов квасного производства – молочнокислых бактерий *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* CK, *Betabacterium brevis* β -11, β -13, *Streptococcus diacetylactis*, дрожжей *Zygosaccharomyces fermentati Naganishi CD*, *Saccharomyces cerevisiae* расы M, KM-94, на основании чего установлены биохимические особенности и метаболическая активность исследуемых источников брожения в отношении ароматообразующих и кислотообразующих продуктов обмена веществ [1–4, 33, 45, 46].

8. На основании установленных высоких функциональных свойств дрожжей-ассоциантов рисового гриба – дрожжей *Zygosaccharomyces fermentati Naganishi CD* применительно к условиям спиртового производства разработана технология получения пищевого этилового спирта с их использованием, обеспечивающая по сравнению с традиционными расами повышение крепости зрелой бражки до 40 %, улучшение ее физико-химических показателей качества и фракционного состава летучих примесей этанола за счет снижения фракций примесей, ухудшающих показатели качества пищевого этанола (высших спиртов – на 64 %, альдегидов – на 18 %) и повышения на 32 % концентрации этилацетата, участвующего в образовании букета водочных изделий, что подтверждает рассчитанный для новых дрожжей *Zygosacch. fermentati CD* коэффициент эффективности спиртообразования ($K_{ЭС}=0,89$) [30, 38, 41, 61, 64, 66, 67, 75, 82].

9. Теоретические и экспериментальные результаты исследований закономерностей ферментативных процессов в питательной среде при культивировании рисового гриба *Oryzomyces indicis* ПГЦ позволили разработать физико-математическую модель формирования протеолитической и карбогидразной активности метаболита рисового гриба, включающую в себя систему уравнений, описывающих зависимости между амилолитической, осаживающей, декстринолитической, протеолитической активностями ферментируемого субстрата и условиями культивирования биокультуры. С помощью физико-математической модели определен единый критерий эффективности процесса ферментации, связывающий между собой комплекс факторов и обеспечивающий высокие биологически активные свойства метаболита. Разработанная модель положена в основу биотехнологии получения метаболита рисового гриба с высокой биологической активностью

– протеолитической (366 ± 18) ед/г, амилолитической ($11,79\pm 0,58$) ед/г, осаживающей ($17,84\pm 0,86$) ед/г, применение которого в спиртовом производстве позволяет исключить внесение на стадии дрожжегенерирования ферментных препаратов протеолитического спектра действия и не разрешенных в Республике Беларусь экзогенных источников азота (мочевины и карбамида), улучшить физиологическое состояние спиртовых дрожжей за счет увеличения общей биомассы (на 30 %) и почкующихся клеток (на 60 %), снижения концентрации мертвых клеток (на 40 %), уменьшить на 17 % норму внесения ферментных препаратов амилолитического спектра действия и обеспечить повышение крепости зрелой бражки на 15 %, что увеличивает выход этанола и снижает его себестоимость [9, 12, 21, 22, 31, 68, 69, 72, 73].

10. На основании результатов диссертационной работы разработана методология исследований природных консорциумов микроорганизмов на примере рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ, включающая алгоритмы исследовательской деятельности, реализация которых позволит развить теорию и практику использования природных источников микроорганизмов в биотехнологиях продуктов брожения и расширить область применения природных консорциумов микроорганизмов в пищевых производствах [29].

11. Решена важная инженерно-прикладная проблема обеспечения народонаселения страны безопасными натуральными биологически ценными безалкогольными и алкогольными продуктами брожения на основе использования природного консорциума рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ [23, 39].

Рекомендации по практическому использованию результатов

1. Новая инновационная биотехнология производства натуральных ферментированных безалкогольных напитков серии «Рисовит» научно-техническим советом концерна «БЕЛГОСПИЩЕПРОМ» признана инновационным продуктом, впервые произведенным в Республике Беларусь, и не имеющим аналогов в отечественной и зарубежной безалкогольной промышленности и рекомендована к внедрению на предприятиях РБ.

2. Для практического использования результатов диссертационной работы разработаны и утверждены 28 нормативных технологических документов, что позволяет организовать производство новых видов напитков на специализированных предприятиях: *технические условия* ТУ ВУ 700036606.100–2013 «Квасы брожения «Рисовит»; *двенадцать рецептур*: РЦ РБ 700036606.064–2007 – Напиток безалкогольный сброженный «Клюковка», РЦ РБ 700036606.065–2007 – Напиток безалкогольный сброженный «Смородинка», РЦ РБ 700036606.123–2011 – Напиток безалкогольный негазированный «Рисовит оригинальный», РЦ РБ 700036606.121–2011 – Напиток безалкогольный негазированный «Рисовит-красная смородина», РЦ ВУ 700036606.122–2011 – «Напиток безалкогольный негазированный «Рисовит-клюква», РЦ ВУ 700036606.119–2011 – «Напиток безалкогольный негазированный «Рисовит-черная смородина», РЦ ВУ 700036606.118–2011 – «Напиток безалкогольный

негазированный «Рисовит-вишня», РЦ ВУ 700036606.117–2011 – «Напиток безалкогольный негазированный «Рисовит», РЦ ВУ 700036606.157–2013 «Квас брожения «Рисовит», РЦ ВУ 700036606.160–2013 «Рисовит-вишня», РЦ ВУ 700036606.159–2013 «Рисовит-клюква», РЦ ВУ 700036606.158–2013 «Рисовит-черная смородина»; *тринадцать технологических инструкций*: ТИ РБ 700036606.032–2007 – Технологическая инструкция по производству сброженного безалкогольного напитка «Клюковка», ТИ РБ 700036606.033–2007 «Технологическая инструкция по производству сброженного безалкогольного напитка «Смородинка», ТИ РБ 700036606.074–2011 – Напиток безалкогольный негазированный «Рисовит оригинальный», ТИ РБ 700036606.072–2011 – Напиток безалкогольный негазированный «Рисовит-красная смородина», ТИ РБ 700036606.068–2011 – Напиток безалкогольный негазированный «Рисовит», ТИ РБ 700036606.073–2011 – Напиток безалкогольный негазированный «Рисовит-клюква», ТИ РБ 700036606.070–2011 – Напиток безалкогольный негазированный «Рисовит-черная смородина», ТИ РБ 700036606.069–2011 – Напиток безалкогольный негазированный «Рисовит-вишня», ТИ РБ 700036606.103–2013 «Технологическая инструкция по производству кваса брожения «Рисовит-черная смородина»», ТИ ВУ 700036606.104–2013 «Квас брожения «Рисовит-клюква», ТИ ВУ 700036606.105–2013 «Квас брожения «Рисовит-вишня», ТИ ВУ 700036606.102–2013 Квас брожения «Рисовит», ТИ ВУ 700036606.114–2013 «Технологическая инструкция по получению биомассы закваски жидкой – биокультуры рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ, используемой в качестве сбраживающего компонента при производстве квасов брожения «Рисовит», РЦ ВУ 700036606.162–2013 «Хлебный квас «Белыничский», ТИ ВУ 700036606.107–2013 «Технологическая инструкция по производству хлебного кваса «Белыничский».

3. Производство натуральных ферментированных безалкогольных напитков функционального назначения серии «Рисовит» с использованием нового сбраживающего компонента – рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ – расширяет ассортимент безалкогольных напитков, обогащенных биологически ценными веществами эндогенного происхождения и не содержащих в своем составе неблагоприятных для здоровья человека пищевых добавок (ароматизаторов, красителей, подкислителей, консервантов). Данная группа напитков позиционирована на потребителя, заботящегося о своем здоровье, и может быть использована для организации здорового, профилактического и функционального питания.

4. Для импортозамещения микроорганизмов квасного производства, традиционно закупаемых за рубежом, производителям хлебного кваса предложены новые сбраживающие компоненты – дрожжи-ассоцианты *Zygosaccharomyces fermentati Naganishi* CD и молочнокислые бактерии-ассоцианты *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* СК, использование которых способствует достижению социального и экономического эффекта за счет упрощения технологии, улучшения качества напитка, повышения

биологической ценности и снижения себестоимости, что позволяет внести существенный вклад в развитие безалкогольной отрасли Республики Беларусь. Технология хлебного кваса «Белыничский» с использованием микроорганизмов-ассоциантов рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ внедрена на Белыничском РАЙПО.

5. Для интенсификации процесса сбраживания спиртового сусла и увеличения выхода этилового спирта производителям пищевого этанола предложены технологические решения, применение которых способствует достижению экономического эффекта за счет импортозамещения закупаемых микроорганизмов и снижения себестоимости продукта, повышения качества белорусской алкогольной продукции. Для предприятий разработаны и утверждены *технологическая инструкция* ТИ ВУ 700036606.109–2013 «Технологическая инструкция приготовления производственных дрожжей *Zygosaccharomyces fermentati Naganishi* расы CD и зрелой бражки с их использованием при получении пищевого этилового спирта, *технологическая инструкция* ТИ ВУ 700036606.152–2017 «Технологическая инструкция приготовления метаболита рисового гриба и производственных дрожжей с его использованием» и *методические рекомендации* по использованию результатов научно-исследовательских работ, опытно-конструкторских и технологических работ, выполняемых в учреждении образования «Могилевский государственный университет продовольствия», в производстве пищевого этилового спирта.

6. *Экономическая значимость* результатов диссертационной работы подтверждается экономическими расчетами и экономическими эффектами, достигаемыми за счет получения прибыли от производства напитков брожения функционального назначения серии «Рисовит» в размере 8878 тыс. неденоминированных белорусских рублей на 1 дал напитка, а также за счет импортозамещения микроорганизмов для квасного и спиртового производства, увеличения выхода продукта, что обеспечивает снижение себестоимости хлебного кваса на 7 % и годовой экономический эффект – 1268,37 млн руб.; снижение себестоимости спирта этилового ректифицированного сорта «Люкс» – на 5,5 % и годовой экономический эффект – 3660 млн руб.; а также за счет повышения качества и конкурентоспособности белорусской безалкогольной и алкогольной продукции на внутреннем и зарубежных рынках.

7. Результаты исследований внедрены в образовательный процесс учреждения образования «Могилевский государственный университет продовольствия», что нашло отражение в трех учебных пособиях «Основы микробиологии, санитарии и гигиены», «Технология и оборудование для производства спирта и ликеро-водочных изделий: в двух частях», «Технология безалкогольных напитков» и могут быть также использованы в научных исследованиях магистрантов, аспирантов, соискателей и других научных работников.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ**Статьи в научных изданиях, входящих в перечень ВАК**

1. Косминский, Г. И. Получение хлебного кваса с использованием в комбинированной закваске новых молочнокислых бактерий / Г. И. Косминский, Е. А. Цед, Л. М. Якиревич (Королева) // Известия вузов. Пищевая технология. – 1996. – № 5–6. – С. 47–48.
2. Косминский, Г. И. Изучение свойств ароматобразующего стрептококка применительно к квасному производству / Г. И. Косминский, Е. А. Цед, Л. М. Якиревич (Королева) // Известия вузов. Пищевая технология. – 1996. – № 3–4. – С. 29–30.
3. Цед, Е. А. Оптимизация микробиологического состава комбинированной закваски для производства хлебного кваса / Е. А. Цед, Г. И. Косминский, Л. М. Якиревич (Королева) // Известия вузов. Пищевая технология. – 2000. – № 4. – С. 47–50.
4. Прибыльский, В. Л. Изучение технологических свойств новой расы квасных дрожжей / В. Л. Прибыльский, Г. И. Косминский, Е. А. Цед, Л. М. Якиревич (Королева), М. А. Хотомцева // Известия вузов. Пищевая технология. – 2000. – № 4. – С. 46–47.
5. Цед, Е. А. Рисовый гриб – основа безалкогольных напитков / Е. А. Цед, Л. М. Королева, В. Л. Прибыльский, Л. И. Рыдевская. // Пиво и напитки. – 2001. – № 5. – С. 38.
6. Королева, Л. М. Идентификация микробного состава поликультуры рисового гриба как основы получения ферментированных безалкогольных напитков / Л. М. Королева, Е. А. Цед, Н. К. Коваленко, С. С. Нагорная // Пиво и напитки. – 2007. – № 2. – С. 40–42.
7. Цед, Е. А. Новый ферментированный безалкогольный напиток на основе рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ / Е. А. Цед, Л. М. Королева // Пиво и напитки. – 2007. – № 2. – С. 48–50.
8. Цед, Е. А. Исследование влияния фруктовых добавок на метаболизм рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ при получении безалкогольных напитков брожения / Е. А. Цед, З. В. Василенко, Л. М. Королева // Вестник Могилев. гос. ун-та продовольствия. – 2007. – № 1. – С. 20–26.
9. Цед, Е. А. Перспективы использования нового вида солода в спиртовом производстве / Е. А. Цед, С. В. Волкова, Л. М. Королева, И. С. Гайдукович // Вестник Могилев. гос. ун-та продовольствия. – 2007. – № 2 (3). – С. 19–24.
10. Цед, Е. А. Технологические свойства рисового гриба – источника брожения при получении ферментированных безалкогольных напитков / Е. А. Цед, З. В. Василенко, Л. М. Королева // Вестник Могилев. гос. ун-та продовольствия. – 2008. – № 1 (4). – С. 55–61.
11. Василенко, З. В. Исследование роли изюма как растительного компонента питательной среды в метаболизме рисового гриба *Oryzomyces*

indici РГЦ / З. В. Василенко, Е. А. Цед, Л. М. Королева, Е. А. Трилинская // Вестник Могилев. гос. ун-та продовольствия. – 2008. – № 1 (4). – С. 20–27.

12. Цед, Е. А. Изучение возможности использования нового вида зернового сырья белорусской селекции для получения солода / Е. А. Цед, С. В. Волкова, Л. М. Королева // Производство спирта и ликероводочных изделий. – 2008. – № 1. – С. 12–14.

13. Цед, Е. А. Исследование влияния видов винограда сушеного на биохимические процессы получения безалкогольных напитков брожения на основе рисового гриба *Oryzomyces indicii* РГЦ / Е. А. Цед, З. В. Василенко, Л. М. Королева, С. В. Волкова, Е. А. Трилинская, А. Н. Лилишенцева // Вестник Могилев. гос. ун-та продовольствия. – 2010. – № 2 (9). – С. 26–31.

14. Цед, Е. А. Исследование динамики образования летучих ароматических веществ в питательной среде при культивировании рисового гриба *Oryzomyces indicii* РГЦ / Е. А. Цед, З. В. Василенко, Л. М. Королева, С. В. Волкова, В. В. Соловьев // Пищевая промышленность: наука и технологии. – 2010. – № 4 (10). – С. 52–58.

15. Цед, Е. А. Применение нового вида дрожжей *Zygosaccharomyces fermentati naganishi* в квасном производстве / Е. А. Цед, З. В. Василенко, Л. М. Королева, С. В. Волкова // Пищевая промышленность: наука и технологии. – 2010. – № 4 (10). – С. 75–80.

16. Цед, Е. А. Оптимизация состава питательной среды для культивирования рисового гриба *Oryzomyces indicii* РГЦ как нового сбраживающего компонента для получения безалкогольных напитков брожения / Е. А. Цед, З. В. Василенко, Л. М. Королева, С. В. Волкова, Е. Н. Писаренко // Вестник Могилев. гос. ун-та продовольствия. – 2010. – № 2 (9). – С. 43–49.

17. Королева, Л. М. Рисовый гриб как продуцент биологически ценных веществ при получении натуральных безалкогольных напитков брожения / Л. М. Королева, З. В. Василенко, Е. А. Цед, С. В. Волкова, А. А. Миронцева, Т. М. Тананайко // Пиво и напитки. – 2010. – № 4. – С. 12–13.

18. Цед, Е. А. Антибиотические свойства безалкогольного напитка брожения на основе рисового гриба / Е. А. Цед, З. В. Василенко, Л. М. Королева, С. В. Волкова, Н. К. Коваленко, И. Л. Гармашева, Л. Т. Олещенко // Пиво и напитки. – 2011. – № 6. – С. 32–38.

19. Цед, Е. А. Рисовый гриб как источник новых молочнокислых бактерий для квасного производства / Е. А. Цед, З. В. Василенко, Л. М. Королева, С. В. Волкова, Ю. А. Глушцова // Пиво и напитки. – 2011. – № 4. – С. 22–25.

20. Цед, Е. А. Напитки брожения на основе рисового гриба / Е. А. Цед, З. В. Василенко, Л. М. Королева, С. В. Волкова, Н. И. Титенкова // Пиво и напитки. – 2011. – № 5. – С. 58–61.

21. Цед, Е. А. Оптимизация технологических параметров получения метаболита рисового гриба для использования его в спиртовом производстве / Е. А. Цед, З. В. Василенко, Л. М. Королева, С. В. Волкова, А. Н. Мыслицкая,

Д. О. Ткаченко // Вестник Могилев. гос. ун-та продовольствия. – 2011. – № 1 (10). – С. 59–66.

22. Цед, Е. А. Исследование возможности использования метаболита рисового гриба в спиртовом производстве / Е. А. Цед, З. В. Василенко, Л. М. Королева, С. В. Волкова, В. В. Колпакова // Производство спирта и ликеро-водочных изделий. – 2011. – № 2. – С. 69–73.

23. Цед, Е. А. Современные безалкогольные напитки как продукты безопасного и здорового питания / Е. А. Цед // Вестник Могилев. гос. ун-та продовольствия. – 2011. – № 2 (11). – С. 32–39.

24. Николаевич, Л. Н. Научные и практические аспекты нового подхода к оценке свойств функциональных продуктов питания на основе натуральных ингредиентов / Л. Н. Николаевич, Е. В. Морозова, Д. А. Хоняк, В. Н. Бабодей, Е. А. Цед // Пищевая промышленность: наука и технологии. – 2011. – № 1. – С. 76–80.

25. Цед, Е. А. Рисовый гриб как продуцент органических кислот при получении безалкогольных напитков брожения / Е. А. Цед, З. В. Василенко, Л. М. Королева, С. В. Волкова, С. В. Астапенко, Н. М. Селемина // Пиво и напитки. – 2012. – № 4. – С. 26–29.

26. Цед, Е. А. Жирные кислоты, продуцируемые рисовым грибом при получении безалкогольных напитков брожения / Е. А. Цед, З. В. Василенко, Л. М. Королева, С. В. Волкова, Н. К. Коваленко // Пиво и напитки. – 2012. – № 3. – С. 44–47.

27. Цед, Е. А. Исследование возможности использования имбиря при получении безалкогольных напитков брожения на основе рисового гриба / Е. А. Цед, З. В. Василенко, Л. М. Королева, С. В. Волкова, В. Л. Прибыльский, Л. А. Волчек // Вестник Могилев. гос. ун-та продовольствия. – 2012. – № 1 (12). – С. 45–50.

28. Цед, Е. А. Доклиническая комплексная оценка свойств напитка брожения на основе рисового гриба / Е. А. Цед, З. В. Василенко, Л. М. Королева, С. В. Волкова, С. В. Астапенко, Н. М. Селемина // Пиво и напитки. – 2012. – № 5. – С. 64–67.

29. Цед, Е. А. Природные консорциумы микроорганизмов как потенциальные источники бродильных процессов / Е. А. Цед // Вестник Могилев. гос. ун-та продовольствия. – 2012. – № 2 (13). – С. 93–100.

30. Цед, Е. А. Использование дрожжей-ассоциантов рисового гриба в спиртовом производстве / Е. А. Цед // Вестник Могилев. гос. ун-та продовольствия. – 2013. – № 2 (15). – С. 32–37.

31. Цед Е. А. Новый вид осаживающего средства при производстве пищевого этилового спирта / Е. А. Цед, С. В. Волкова, А. А. Миронцева, Л. М. Королева, Е. Н. Писаренко, Л. М. Кучерявый // Вестник Могилев. гос. ун-та продовольствия. – 2014. – № 1 (16). – С. 53–60.

32. Цед Е. А. Исследование влияния различных рас дрожжей на показатели качества сброженных соков при получении фруктовых дистиллятов

/ Е. А. Цед, С. В. Волкова, О. В. Яковлева, А. А. Миронцева // Вестник Могилев. гос. ун-та продовольствия. – 2015. – № 1 (18). – С. 29–38.

33. Цед Е. А. Новые подходы в оценке технологических свойств микроорганизмов квасного производства / Е. А. Цед // Вестник Могилев. гос. ун-та продовольствия. – 2017. – № 1 (22). – С. 38–44.

Статьи в научных журналах

34. Цед, Е. А. Хлебный квас как перспективный напиток современности / Е. А. Цед, Г. И. Косминский, Л. М. Якиревич (Королева) // Международный аграрный журнал. – 2001. – № 3. – С. 46–47.

35. Цед, Е. А. Функциональные напитки на основе полисимбиотической культуры рисового гриба / Е. А. Цед, Л. М. Королева, В. Л. Прибыльский, Е. В. Шульман // International scientific practical conference «New Technologies in traditional Food», Jelgava, 11 мая 2005 г. – J. : Latvia University of Agriculture, 2005. – С. 138–142.

36. Tsed, E. New fermentation source in the technology of fermented non-alcoholic beverages / Elena Tsed, Zoya Basilenko, Lidia Koroleva, Elena Lebedok, Irina Ivanova // Annals of Warsaw University of Life Sciences – SGGW. Agriculture No 52 (Agricultural and Forest Engineering), Warsaw. – 2008. – № 52. – С. 103–106.

37. Цед, Е. А. Рисовый гриб – новый источник брожения в технологии ферментированных безалкогольных напитков. / Е. А. Цед, Л. М. Королева, С. В. Волкова // Хранительна наука, техника и технологии 2008 : научни трудове Научна конференция с международно участие, Пловдив, 24–25 октомври 2008 г. / Университет по Хранителни Технологии ; редкол. : К. Василев [и др.]. – Пловдив, 2008. – том LV, Issue 1. – С. 175–179.

38. Цед, Е. А. Разработка новой технологии получения пищевого этилового спирта / Е. А. Цед, С. В. Волкова, Л. М. Королева // Хранительна наука, техника и технологии 2010 : научни трудове Научна конференция с международно участие, Пловдив, 15–16 октомври 2010 г. / Университет по Хранителни Технологии ; редкол.: К. Василев [и др.]. – Пловдив, 2010. – т. LVII, Св. 1, Vol. LVII, Issue 1. – С. 549–556.

39. Василенко, З. В. Натуральные напитки брожения на основе рисового гриба как перспективное направление развития современного безалкогольного производства / З. В. Василенко, Е. А. Цед, Л. М. Королева, С. В. Волкова // Весці НАН Беларусі. (Сер. аграр. навук). – 2011. – № 3. – С. 108–113.

40. Василенко, З. В. Профилактические и онкостатические свойства безалкогольного напитка брожения на основе рисового гриба / З. В. Василенко, Л. Н. Николаевич, Е. А. Цед, Л. М. Королева, С. В. Волкова // Весці НАН Беларусі. Сер. аграр. навук. – 2012. – № 4. – С. 113–118.

41. Василенко, З. В. Сравнительный анализ эффективности использования различных видов дрожжей в спиртовом производстве

/ З. В. Василенко, Е. А. Цед, С. В. Волкова // Весці НАН Беларусі. (Сер. аграр. навук). – 2016. – № 3. – С. 113–118.

42. Цед, Е. А. Влияние янтарной кислоты на развитие рисового гриба – нового сбраживающего компонента при получении безалкогольных напитков / Е. А. Цед, З. В. Василенко, Л. М. Королева, С. В. Волкова, Е.С. Кислякова // Хранителна наука, техника и технологии 2011 : научни трудове Научна конференция с международно участие, Пловдив, 14–15 октомври 2011 г. / Университет по Хранителни Технологии ; редкол. : Георги Вълчев [и др.]. – Пловдив, 2011. – т. LVIII, Св. 2. – С. 331–336.

Материалы, опубликованные в других научных изданиях

43. Цед, Е. А. Исследование и разработка технологии напитка брожения на основе рисового гриба / Е. А. Цед, Л. М. Якиревич (Королева), Н. А. Каминская // Техника и технология пищевых производств: тез. докл. II Междунар. науч.-техн. конф. студентов и аспирантов, Могилев, 21–23 апреля 1999 г. / Могилевский технологический ин-т ; редкол. : Т. С. Хасаншин [и др.]. – Могилев : МТИ, 1999. – С. 56–57.

44. Василенко, З. В. Исследование влияния технологических параметров среды на жизнедеятельность рисового гриба / З. В. Василенко, Е. А. Цед, Л. М. Якиревич (Королева), Л. П. Яромич, Н. А. Каминская // Техника и технология пищевых производств : тез. докл. II Междунар. науч.-техн. конф., Могилев, 22–24 ноября 2000 г. / Могилевский технологический ин-т ; редкол. : Т. С. Хасаншин [и др.]. – Могилев : МТИ, 2000. – С. 105–106.

45. Цед, Е. А. Применение новых возбудителей брожения в квасном производстве / Е. А. Цед, В. Л. Прибыльский, Л. М. Якиревич (Королева), Л. П. Доброскок, Н. Р. Карабушева // Техника и технология пищевых производств : тез. докл. II Междунар. науч.-техн. конф., Могилев, 22–24 ноября 2000 г. / Могилевский технологический ин-т ; редкол. : Т. С. Хасаншин [и др.]. – Могилев : МТИ, 2000. – С. 89–90.

46. Цед, Е. А. Исследование некоторых технологических характеристик новой расы квасных дрожжей / Е. А. Цед, В. Л. Прибыльский, Г. И. Косминский, Л. М. Якиревич (Королева) // Микробиология и биотехнология XXI столетия : материалы Междунар. конф., Минск, 1–2 июня 2000 г. / Ин-т микробиологии НАН Беларуси [и др.] ; редкол. : А. Г. Лобанок [и др.]. – Минск, 2000. – С. 138.

47. Цед, Е. А. Использование нетрадиционных микроорганизмов для получения напитков брожения / Е. А. Цед, Л. М. Якиревич (Королева), О. М. Горевая // Микробиология и биотехнология XXI столетия : материалы междунар. науч.-практ. конф., Минск, 22–24 мая 2002 г. / Ин-т микробиологии НАН Беларуси [и др.] ; редкол. : А. Г. Лобанок [и др.]. – Минск, 2002. – С. 273–274.

48. Цед, Е. А. Новый напиток брожения / Е. А. Цед, Л. М. Якиревич (Королева), Л. П. Яромич, Л. Н. Шпилькова // Техника и технология пищевых

производств : материалы III Междунар. научн.-техн. конф., Могилев, 24–26 апреля 2002 г. / Могилевский гос. технологический ин-т ; редкол. : Т. С. Хасаншин [и др.]. – Могилев : МГТИ, 2002. – С. 30–31

49. Цед, Е. А. Изучение свойств нового напитка брожения, полученного с использованием рисового гриба / Е. А. Цед, Л. М. Якиревич (Королева), Л. П. Доброскок, Н. В. Карабушева // Техника и технология пищевых производств : материалы III Междунар. научн.-техн. конф., Могилев, 24–26 апреля 2002 г. / Могилевский гос. технологический ин-т ; редкол. : Т. С. Хасаншин [и др.]. – Могилев : МГТИ, 2002. – С. 31–32.

50. Цед, Е. А. Новая технология получения сброженных безалкогольных напитков / Е. А. Цед, Л. М. Якиревич (Королева), Л. П. Яромич, А. Н. Позднякова // Техника и технология пищевых производств : материалы IV Междунар. научн.-техн. конф., Могилев, 26–28 марта 2003 г. : в 2 ч. / Могилевский гос. ун-т продовольствия ; редкол. : Т. С. Хасаншин [и др.]. – Могилев : МГУП, 2003. – Ч.1. – С. 69–70.

51. Цед, Е. А. Исследование особенностей культивирования и жизнедеятельности рисового гриба / Е. А. Цед, Л. М. Якиревич (Королева), Е. А. Трилинская, О. В. Гаенкова // Техника и технология пищевых производств : материалы IV Междунар. научн.-техн. конф., Могилев, 26–28 марта 2003 г. : в 2 ч. / Могилевский гос. ун-т продовольствия ; редкол. : Т. С. Хасаншин [и др.]. – Могилев : МГУП, 2003. – Ч.1. – С. 71–72.

52. Цед, Е. А. Новый напиток для диабетиков / Е. А. Цед, Л. М. Якиревич (Королева), О. Н. Макаеева, Л. П. Яромич // Техника и технология пищевых производств : материалы IV Междунар. научн.-техн. конф., Могилев, 26–28 марта 2003 г. : в 2 ч. / Могилевский гос. ун-т продовольствия ; редкол. : Т. С. Хасаншин [и др.]. – Могилев : МГУП, 2003. – С. 70–71.

53. Цед, Е. А. Исследование влияния растительных компонентов питательной среды на жизнедеятельность рисового гриба / Е. А. Цед, Л. М. Королева, В. Л. Прибыльский, О. В. Веранкова // Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии : материалы Междунар. науч. конф., Минск, 26–28 мая 2004 г. / Ин-т микробиологии НАН Беларуси ; редкол. : А. Г. Лобанок [и др.]. – Минск, 2004. – С. 120–121.

54. Иванова, И. Д. Математическое моделирование в пищевой промышленности РБ / И. Д. Иванова, Е. А. Цед, Л. М. Королева // Інтелектуальні системи прийняття рішень та інформаційні технології : тез. доп. Міжнар. наук.-практ. конф., Чернівці, 19–21 травня 2004 р. / Буковинський університет (Україна) ; наук. ред. : В. К. Євдокименко. – Чернівці : Рута, 2004. – С. 159.

55. Цед, Е. А. Исследование углеводного и азотного обменов естественной полисимбиотической культуры рисового гриба / Е. А. Цед, Л. М. Королева // Техника и технология пищевых производств : тез. докл. V Междунар. научн.-техн. конф., Могилев, 18–20 мая 2005 г. / Могилевский гос. ун-т продовольствия ; редкол. : Т. С. Хасаншин [и др.]. – Могилев : МГУП, 2005. – С. 26.

56. Цед, Е. А. Разработка технологии сброженного безалкогольного напитка на основе естественных микроорганизмов-симбионтов / Е. А. Цед, Л. М. Королева // Техника и технология пищевых производств : тез. докл. V Междунар. науч.-техн. конф., Могилев, 18–20 мая 2005 г. / Могилевский гос. ун-т продовольствия ; редкол. : Т. С. Хасаншин [и др.]. – Могилев : МГУП, 2005. – С. 26–27.

57. Цед, Е. А. Новый безалкогольный напиток брожения / Е. А. Цед, Л. М. Королева // Перспективы производства продуктов питания нового поколения : материалы междунар. научн.-практ. конф., Минск, 6–7 октября 2005 г./ РУП «БелНИИ пищевых продуктов» ; редкол. : З. В. Ловкис [и др.]. – Минск, 2005. – С. 88–89.

58. Цед, Е. А. Моделирование процессов брожения / Е. А. Цед, Л. М. Королева // Інтелектуальні системи прийняття рішень та інформаційні технології : матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., Чернівці, 17–19 травня 2006 р. / Буковинський університет (Україна) ; наук. ред. : В. М. Окуненко [и др.]. – Чернівці : Рута, 2006. – С. 183–184.

59. Цед, Е. А. Видовой состав микрофлоры рисового гриба *Oryzomyces indicus* как источника брожения при получении ферментированных безалкогольных напитков / Е. А. Цед, Л. М. Королева // Техника и технология пищевых производств : тез. докл. VI Междунар. науч.-техн. конф., Могилев, 22–23 мая 2007 г. / Могилевский гос. ун-т продовольствия ; редкол.: А. В. Акулич (отв. ред) [и др.]. – Могилев : МГУП, 2007. – С. 75–76.

60. Цед, Е. А. Исследование способности продуцирования аминокислот рисовым грибом *Oryzomyces indicus* РГЦ при получении безалкогольных напитков брожения / Е. А. Цед, Л. М. Королева // Техника и технология пищевых производств : тез. докл. VI Междунар. науч.-техн. конф., Могилев, 22–23 мая 2007 г. / Могилевский гос. ун-т продовольствия; редкол. : А. В. Акулич (отв. ред) [и др.]. – Могилев : МГУП, 2007. – С. 76.

61. Кузьмина, А. А. Исследование возможности использования в спиртовом производстве новых рас дрожжей / А. А. Кузьмина, С. В. Волкова, Е. А. Цед, Л. М. Королева // Техника и технология пищевых производств : тез. докл. VI Междунар. науч.-техн. конф. студентов и аспирантов, Могилев, 24–25 апреля 2008 г. / Могилевский гос. ун-т продовольствия ; редкол. : А. В. Акулич (отв. ред) [и др.]. – Могилев : МГУП, 2008. – С. 25–26.

62. Королева, Л. М. Функциональные напитки брожения на основе рисового гриба / Л. М. Королева, Е. А. Цед, Е. А. Трилинская // Современные проблемы техники и технологии пищевых производств : материалы XII Междунар. науч.-техн. конф., – 17 ноября, 2009 г. / Алт. гос. техн. ун-т им. И.И. Ползунова ; под общ. ред. О.Н. Тереховой. – Барнаул : Алт. гос. техн. ун-т им. И.И. Ползунов, 2009. – С. 287–288.

63. Цед, Е. А. Влияние видов винограда сушеного на биохимические процессы при получении безалкогольных напитков брожения // Е. А. Цед, Л. М. Королева, С. В. Волкова, В. К. Подгорбунская // Техника и технология пищевых производств : тез. докл. VII Междунар. науч.-техн. конф., Могилев,

21–22 мая 2009 г. / Могилевский гос. ун-т продовольствия ; редкол. : А. В. Акулич (отв. ред.) [и др.]. – Могилев : МГУП, 2009. – С. 27.

64. Цед, Е. А. Разработка способов интенсификации процесса сбраживания спиртового сусла / Е. А. Цед, А. А. Миронцева, С. В. Волкова, Л. М. Королева, Л. П. Лосева, Ю. В. Жильцова // Техника и технология пищевых производств : тез. докл. VII Междунар. науч.-техн. конф., Могилев, 21–22 мая 2009 г. / Могилевский гос. ун-т продовольствия ; редкол. : А. В. Акулич (отв. ред.) [и др.]. – Могилев : МГУП, 2009. – С. 50.

65. Цед, Е. А. Способ консервации натуральных безалкогольных напитков брожения на основе рисового гриба // Е. А. Цед, Л. М. Королева, С. В. Волкова, Н. И. Титенкова, Е. А. Трилинская // Техника и технология пищевых производств : тез. докл. VII Междунар. науч.-техн. конф., Могилев, 21–22 мая 2009 г. / Могилевский гос. ун-т продовольствия ; редкол. : А. В. Акулич (отв. ред.) [и др.]. – Могилев : МГУП, 2009. – С. 53.

66. Миронцева, А. А. Исследование возможности применения новых рас спиртовых дрожжей для сбраживания высококонцентрированных сред / А. А. Миронцева, С. В. Волкова, Е. А. Цед // Научный потенциал молодежи – будущему Беларуси : материалы III Междунар. молодежной науч.-практ. конф., Пинск, 27 марта 2009 г. / УО «Полесский государственный университет», Национальный банк Республики Беларусь [и др.] ; редкол.: К. К. Шебеко [и др.]. – Пинск : ПолесГУ, 2009. – С. 194.

67. Волкова, С. В. Исследование фракционного состава летучих примесей этилового спирта в зависимости от вида и расы спиртовых дрожжей / С. В. Волкова, Е. А. Цед, Л. М. Королева // Техника и технология пищевых производств : материалы VIII Междун. науч.-техн. конф., Могилев, 27–28 апреля 2011 г. / Могилевский гос. ун-т продовольствия ; редкол. : А. В. Акулич (отв. ред.) [и др.]. – Могилев : МГУП, 2011. – С. 80.

68. Королева, Л. М. Интенсификация процесса получения засевных дрожжей в спиртовом производстве / Л. М. Королева, Е. А. Цед, С. В. Волкова, Е. Н. Писаренко, Н. И. Титенкова // Техника и технология пищевых производств : материалы VIII Междун. науч.-техн. конф., Могилев, 27–28 апреля 2011 г. / Могилевский гос. ун-т продовольствия ; редкол. : А. В. Акулич (отв. ред.) [и др.]. – Могилев : МГУП, 2011. – С. 83.

69. Цед, Е. А. Разработка технологии получения нового биостимулятора для спиртового производства / Е. А. Цед, Л. М. Королева, С. В. Волкова, А. Н. Мыслицкая, Е. Н. Писаренко // Техника и технология пищевых производств : материалы VIII Междун. науч.-техн. конф., Могилев, 27–28 апреля 2011 г. / Могилевский гос. ун-т продовольствия ; редкол. : А. В. Акулич (отв. ред.) [и др.]. – Могилев : МГУП, 2011. – С. 84.

70. Цед, Е. А. Разработка новой технологии кваса брожения с повышенной стойкостью / Е. А. Цед, Л. М. Королева, С. В. Волкова, Т. В. Хрипачева, А. П. Титенкова // Техника и технология пищевых производств : материалы VIII Междун. науч.-техн. конф., Могилев,

27–28 апреля 2011 г. / Могилевский гос. ун-т продовольствия ; редкол. : А. В. Акулич (отв. ред.) [и др.]. – Могилев : МГУП, 2011. – С. 85.

71. Волчек, Л. А. Органические жирные кислоты как метаболиты рисового гриба / Л. А. Волчек, Е. А. Цед, Л. М. Королева // Техника и технология пищевых производств : тез. докл. VIII Междунар. науч. конф. студентов и аспирантов, Могилев, 26–27 апреля 2012 г. : в 2 ч. / Могилевский гос. ун-т продовольствия ; редкол. : А. В. Акулич (отв. ред.) [и др.]. – Могилев : МГУП, 2012. – С. 57.

72. Мыслицкая, А. Н. Исследование возможности использования в спиртовом производстве биоорганической добавки / А. Н. Мыслицкая, Е. А. Цед // Техника и технология пищевых производств : тез. докл. VIII Междунар. науч. конф. студентов и аспирантов, Могилев, 26–27 апреля 2012 г. : в 2 ч. / Могилевский гос. ун-т продовольствия ; редкол. : А. В. Акулич (отв. ред.) [и др.]. – Могилев : МГУП, 2012. – С. 42.

73. Цед, Е. А. Метаболизат рисового гриба как источник гидролитических ферментов / Е. А. Цед, Л. М. Королева, С. В. Волкова, О. В. Яковлева // Техника и технология пищевых производств : тез. докл. IX Междунар. науч. конф., Могилев, 25–26 апреля 2013 г. / Могилевский гос. ун-т продовольствия ; редкол. : А. В. Акулич (отв. ред.) [и др.]. – Могилев : МГУП, 2013. – С. 33.

74. Королева, Л. М. Рисовый гриб как антагонист патогенной микрофлоры / Л. М. Королева, Е. А. Цед, Н. И. Титенкова, С. В. Волкова // Техника и технология пищевых производств : тез. докл. IX Междунар. науч. конф., Могилев, 25–26 апреля 2013 г. / Могилевский гос. ун-т продовольствия ; редкол. : А. В. Акулич (отв. ред.) [и др.]. – Могилев : МГУП, 2013. – С. 34.

75. Цед, Е. А. Новые дрожжи для спиртового производства / Е. А. Цед, Л. М. Королева, С. В. Волкова, Н. И. Титенкова // Техника и технология пищевых производств : тез. докл. VIII Междун. науч.-технич. конф., Могилев, 25–26 апреля 2013 г. / Могилевский гос. ун-т продовольствия ; редкол. : А. В. Акулич (отв. ред.) [и др.]. – Могилев : МГУП, 2013. – С. 77.

76. Цед, Е. А. Исследование процессов, протекающих при сбраживании медового сусла различными сбраживающими компонентами / Е. А. Цед, С. В. Волкова, Ю. В. Ивчина // Техника и технология пищевых производств : тез. докл. X Междунар. науч. конф., Могилев, 23–24 апреля 2015 г. / Могилевский гос. ун-т продовольствия ; редкол. : А. В. Акулич (отв. ред.) [и др.]. – Могилев : МГУП, 2015. – С. 25.

77. Паспорт на естественную полисимбиотическую ассоциацию микроорганизмов – *Oryzomyces indicis* РГЦ / Е.А. Цед, Л.М. Королева. – Выдан институтом микробиологии НАН Б 28.12.2005. – регистрационный номер БИМ: γВ-220Д.

78. Паспорт на чистую культуру дрожжей – *Zygosaccharomyces fermentati Naganishi* CD / Е. А. Цед, Л. М. Королева. – Выдан институтом микробиологии НАН Б 28.12.2011. – регистрационный номер БИМ: γВ-194Д.

79. Паспорт на чистую культуру молочнокислых бактерий – *Lactobacillus paracasei subsp. paracasei* СК. / Е. А. Цед, Л. М. Королева. – Выдан институтом микробиологии НАН Б 28.12.2011. – регистрационный номер БИМ: γВ-195Д.

Патенты

80. Штамм дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*, используемый для сбраживания квасного суслу при производстве кваса : пат. ВУ № 3074 Респ. Беларусь, МКИ 5 С1 С 12N 1/18, С 12R 1:865 / В. Л. Прибыльский, Г. И. Косминский, Е. А. Цед, Л. М. Якиревич (Королева); заявитель МТИ. – № 970150 ; заявл. 19.03.1997 ; опубл. 30.12.1999 // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці.– 1999. – № 4 (23). – С. 135.

81. Способ производства сброженного безалкогольного напитка: пат. ВУ № 8026 Респ. Беларусь, МПК 7 С1 А 23L 2/38 / Е. А. Цед, Л. М. Королева, В. Л. Прибыльский, О. В. Веранкова ; заявитель УО МГУП. – № а 20031077 ; заявл. 21.11.2003 ; опубл. 30.06.2004 // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. – 2006. – № 2. – С. 37.

82. Способ получения этилового спирта из зерна: пат. ВУ № 14872 Респ. Беларусь, МПК С12 Р 7/06 (2006.01) / Е. А. Цед, А. А. Миронцева, С. В. Волкова, Л. М. Королева ; заявитель УО «Могилевский гос. ун-т продовольствия». – № а 20091340 ; заявл. 17.09.2009 ; опубл. 30.04.2010 // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. – 2011. – № 5. – С. 134.

РЕЗЮМЕ

Цед Елена Алексеевна

Научные основы создания новых биотехнологий продуктов брожения с использованием микроорганизмов природного консорциума рисового гриба *ORYZAMYCES INDICI* РГЦ

Ключевые слова: рисовый гриб, закономерности, функции, основы регуляции, биотехнология натуральных ферментированных безалкогольных напитков, антибиотическая активность, кислоты, витамины, аминокислоты, ферменты, доклиническая оценка, дрожжи, молочнокислые бактерии, хлебный квас, пищевой этиловый спирт, метаболитат, эффективность.

Цель работы: создание научных основ использования микроорганизмов природного консорциума – рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ в бродильных производствах и разработка на их основе новых эффективных биотехнологий безопасных безалкогольных и алкогольных продуктов брожения.

Методы исследований: микробиологические, физико-химические, биохимические, биологические, молекулярно-генетические, в том числе цитометрии, газовая и жидкостная хроматография, спектрофотометрия, фотоколориметрия, методы математической статистики.

Полученные результаты и их новизна: впервые проведены комплексные исследования по изучению природного консорциума микроорганизмов – рисового гриба *Oryzomyces indicis* РГЦ и выделенных из его состава микроорганизмов-ассоциантов, являющихся новыми сбраживающими компонентами с высокими функциональными свойствами; идентифицирован видовой состав рисового гриба, определены биохимические свойства и закономерности его жизнедеятельности, биосинтетические, ферментативные, метаболические функции и факторы, влияющие на его активность; установлена способность рисового гриба синтезировать антибиотические, низко- и высокомолекулярные кислоты, витамины, аминокислоты, ароматообразующие летучие вещества; определены закономерности процесса ферментации на основе рисового гриба, кинетика ферментации, разработаны комплексная модель и научные положения инновационной биотехнологии натуральных ферментированных безалкогольных напитков серии «Рисовит» с функциональными, стимулирующими и профилактическими свойствами; показана эффективность применения дрожжей-ассоциантов и молочнокислых бактерий-ассоциантов в квасном и спиртовом производствах; установлены закономерности и разработана физико-математическая модель формирования биологической активности метаболитата рисового гриба и разработаны способы его применения в спиртовом производстве.

Рекомендации по использованию: результаты исследований использованы при организации производства по выпуску натуральных ферментированных безалкогольных напитков; при производстве хлебного кваса и пищевого этилового спирта; в образовательном процессе.

Область применения: безалкогольная и спиртовая отрасли пищевой промышленности.

РЭЗІЮМЭ

Цэд Алена Аляксееўна

Навуковыя асновы стварэння новых біятэхналогіяў прадуктаў браджэння з выкарыстаннем мікраарганізмаў прыроднага кансорцыума рысавага грыба *ORYZAMYCES INDICI* РГЦ

Ключавыя словы: рысавы грыб, заканамернасці, функцыі, асновы рэгуляцыі, біятэхналогія натуральных ферментаваных безалкагольных напояў, антыбіятычная актыўнасць, кіслоты, вітаміны, амінакіслоты, ферменты, даклінічная ацэнка, дрожджы, малочнакіслыя бактэрыі, хлебны квас, харчовы этылавы спірт, метабалізат, эфектыўнасць.

Мэта работы: стварэнне навуковых асноў выкарыстання мікраарганізмаў прыроднага кансорцыума – рысавага грыба *Oryzomyces indicі* РГЦ ў брадзільных вытворчасцях і распрацоўка на іх аснове новых эфектыўных біятэхналогіяў бяспечных безалкагольных і алкагольных прадуктаў браджэння.

Метады даследаванняў: мікрабіялагічныя, фізіка-хімічныя, біяхімічныя, біялагічныя, малекулярна-генетычныя, у тым ліку цытаметрыі, газавая і вадкасная храматаграфія, спектрафатометрыя, фотакаларыметрыя, метады матэматычнай статыстыкі.

Атрыманыя вынікі і іх навізна: упершыню праведзены комплексныя даследаванні па вывучэнні прыроднага кансорцыума мікраарганізмаў – рысавага грыба *Oryzomyces indicі* РГЦ і вылучаных з яго складу мікраарганізмаў-асацыянтаў, якія з'яўляюцца новымі зброджваючымі кампанентамі з высокімі функцыянальнымі ўласцівасцямі; ідэнтыфікаваны відавы склад рысавага грыба, вызначаны біяхімічныя ўласцівасці і заканамернасці яго жыццядзейнасці, біясінтэтычныя, ферментатыўныя, метабалічныя функцыі і фактары, якія ўплываюць на яго актыўнасць; ўстаноўлена здольнасць рысавага грыба сінтэзаваць антыбіятычныя, нізка- і высокамалекулярныя кіслоты, вітаміны, амінакіслоты, духмянаўтвараючыя лятучыя рэчывы; вызначаны заканамернасці працэсу ферментацыі на аснове рысавага грыба, кінетыка ферментацыі, распрацаваны комплексная мадэль і навуковыя палажэнні інавацыйнай біятэхналогіі натуральных ферментаваных безалкагольных напояў серыі «Рысавіт» з функцыянальнымі, стымулюючымі і прафілактычнымі ўласцівасцямі; паказана эфектыўнасць прымянення дражджэй-асацыянтаў і малочнакіслых бактэрыяў-асацыянтаў ў квасной і спіртавой вытворчасцях; вызначаны заканамернасці і распрацавана фізіка-матэматычная мадэль фарміравання біялагічнай актыўнасці метабалізата рысавага грыба і распрацаваны спосабы яго прымянення ў спіртавой вытворчасці.

Рэкамендацыі па выкарыстанні: вынікі даследаванняў выкарыстаны пры арганізацыі вытворчасці па выпуску натуральных ферментаваных безалкагольных напояў; пры вытворчасці хлебнага квасу і харчовага этылавага спірту; ў адукацыйным працэсе.

Вобласць ужывання: безалкагольная і спіртавая галіны харчовай прамысловасці.

SUMMARY

Tsed Elena Alekseevna

Scientific bases for the development of new biotechnologies for fermentation products with the use of natural consortium microorganisms of rice fungus *ORYZAMYCESINDICI* PFI

Key words: rice fungus, regularities, functions, fundamentals of regulation, biotechnology of natural fermented non-alcoholic beverages, antibiotic activity, acids, vitamins, amino acids, enzymes, pre-clinical assessment, yeasts, lactic acid bacteria, bread kvass, food ethyl alcohol, metabolizate, efficiency

The purpose of the work is to develop scientific bases for the use of microorganisms of the natural consortium - rice mushroom *Oryzomyces indici* PFI at fermentation plants and to work out new effective biotechnologies for safe non-alcoholic and alcoholic fermentation products on their basis.

Methods of research: microbiological, physico-chemical, biochemical, biological, molecular-genetic, including cytometry, gas and liquid chromatography, spectrophotometry, photolorimetry, methods of mathematical statistics.

The results obtained and their novelty: comprehensive studies of the natural consortium of microorganisms – rice fungus *Oryzomycesindici* PFI and microorganisms isolated from its associative culture which are new fermenting components with high functional properties were carried out for the first time, species composition of the rice fungus was identified, biochemical properties and regularities of the rice fungus vital activity as well as biosynthetic, enzymatic, metabolic functions and factors affecting its activity were determined; ability of the rice fungus to synthesize antibiotic, low and high molecular acids, vitamins, amino acids, aroma-forming volatile substances was revealed; regularities of the fermentation process based on the rice fungus and the kinetics of fermentation were assessed, comprehensive model and scientific bases of innovative biotechnology for “Risovit” natural fermented beverages with functional, stimulating and prophylactic properties were worked out; efficiency of the use of yeasts isolated from associative culture and lactic acid bacteria isolated from associative culture in kvass and alcohol produce was shown; regularities of biological activity in rice fungus metabolizate were established and physico-mathematical model was worked out as well as methods for its application in alcohol production were developed.

Recommendations for use: the results obtained were used in the organization of the production of natural fermented beverages; bread kvass and Lux grade food ethyl alcohol as well as for educational purposes at educational institutions.

Area of application: nonalcoholic and alcoholic branches of food industry.

Подписано в печать 04.05.2018. Формат 60×84 1/16.
Бумага офсетная. Гарнитура Times New Roman.
Уч.-изд. л. 3,2. Усл. печ. л. 3,0.
Тираж 70 экз. Заказ 73.

Учреждение образования
«Могилевский государственный университет продовольствия».
Свидетельство о государственной регистрации издателя, изготовителя,
распространителя печатных изданий № 1/272 от 04.04.2014.
Пр-т Шмидта, 3, 212027, Могилев.

Отпечатано в учреждении образования
«Могилевский государственный университет продовольствия».
Пр-т Шмидта, 3, 212027, Могилев.