

**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
образования «Кемеровский государственный университет»

На правах рукописи

СТЕПАНОВА АННА АЛЕКСАНДРОВНА

**БИОТЕХНОЛОГИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО НАПИТКА НА ОСНОВЕ
MEDUSOMYCES GISEVII С ДОБАВЛЕНИЕМ ЭКСТРАКТОВ
РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ**

4.3.3. Пищевые системы

4.3.5. Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени кандидата технических наук

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ:

Доктор технических наук, доцент

Асякина Людмила Константиновна

Доктор технических наук, доцент

Иванова Светлана Анатольевна

Кемерово 2026

СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ.....	4
ВВЕДЕНИЕ.....	5
ГЛАВА 1 АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР.....	12
1.1 Ферментированные напитки: общая характеристика.....	12
1.2 Биотехнология напитка на основе чайного гриба.....	20
1.2.1 Чайный гриб: основные положения и параметры ферментации.....	20
1.2.2 Микроорганизмы, участвующие в производстве чайного гриба.....	23
1.2.3 Химический состав чайного гриба.....	25
1.2.4 Биологическая активность (функциональные свойства) чайного гриба...	29
1.3 Растительное сырье в пищевой промышленности.....	31
1.4 Нормирование суточного потребления биологически активных веществ в составе функциональных пищевых систем	34
1.5 Патентный анализ методов получения растительных экстрактов для производства безалкогольных напитков.....	36
1.6 Мировой и российский рынок напитка на основе чайного гриба.....	38
1.7 Вывод по литературному обзору.....	45
ГЛАВА 2 ОРГАНИЗАЦИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	47
2.1 Организационная схема исследования.....	47
2.2 Объекты исследования.....	50
2.3 Методы исследования.....	52
ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	63
3.1 Скрининг растительного сырья и идентификация компонентного состава приоритетных экстрактов для обогащения напитка на основе <i>Medusomyces gisevii</i>	63

3.2 Комплексная оценка метаболической активности, биохимического профиля и органолептических характеристик контрольных образцов.....	71
3.2.1 Обоснование продолжительности культивирования на основе оценки биохимического профиля и динамики физико-химических показателей <i>Medusomyces gisevii</i>	71
3.2.2 Анализ органолептического профиля контрольных образцов.....	83
3.3 Разработка рецептур и комплексная оценка показателей качества образцов функциональных напитков на основе <i>Medusomyces gisevii</i> и фитокомпозиций.....	86
3.3.1 Разработка и скрининг рецептурных питательных сред.....	86
3.3.2 Направленное культивирование и исследование физико-химических свойств опытных образцов.....	89
3.3.3 Изучение биохимических свойств опытных образцов.....	91
3.3.4 Оценка синергетического эффекта компонентов разработанных напитков.....	93
3.3.5 Исследование аминокислотного состава и витаминного профиля приоритетных образцов.....	96
3.3.6 Сенсорная оценка и анализ показателей безопасности функциональных напитков.....	101
ГЛАВА 4 ПРАКТИЧЕСКАЯ ПРИМЕНИМОСТЬ.....	106
4.1 Разработка технологической схемы производства функционального напитка на основе <i>Medusomyces gisevii</i> и растительных экстрактов.....	106
4.2 Роль разработанных функциональных напитков в обеспечении суточной потребности в витаминах и аминокислотах.....	110
4.3 Расчет экономической эффективности производства напитка.....	114
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	127
СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	129
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	148

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

pH – активная кислотность;

SCOBY (symbiotic culture of bacteria and yeast) – симбиотическая культура бактерий и дрожжей;

АМК – аминокислоты;

АОА – антиоксидантная активность;

БАВ – биологически активные вещества;

БАД – биологически активные добавки;

БГКП – бактерии группы кишечной палочки;

ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография;

КЖ – культуральная жидкость;

КИП – контрольно-измерительные приборы;

КМАФАнМ – количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов;

МКБ – молочнокислые бактерии;

М/О – микроорганизмы;

УКБ – уксуснокислые бактерии;

ФОТ – фонд оплаты труда;

ЦКТ – цилиндро-конический танк;

ЧГ – чайный гриб.

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. В настоящее время потребление функциональных ферментированных продуктов и напитков стало повседневной нормой, поскольку потребители проявляют большой интерес к продуктам с функциональными свойствами для ведения здорового образа жизни и профилактики здоровья [109]. Среди огромного разнообразия ферментированных продуктов категория напитков представляет собой растущий сектор пищевой промышленности, поскольку современные потребители, заботящиеся о своем здоровье, признают их полезными, с пробиотическим эффектом продуктами, которые могут улучшить самочувствие и снизить риск хронических и дегенеративных заболеваний [129].

Ферментированные напитки традиционно получают из молока, злаков, фруктов, овощей и/или листьев чая, ферментированных различными микроорганизмами (молочнокислыми бактериями, дрожжами, уксуснокислыми бактериями) [1]. Именно таким напитком является комбуча, которую получают путем ферментации заваренного чая с сахаром симбиотической культурой бактерий и дрожжей (чайный гриб, *Medusomyces gisevii*). Закваски, состоящие из разнообразных живых микроорганизмов, играют решающую роль в производстве чайного гриба (ЧГ). Они превращают простые ингредиенты в ценные источники органических кислот, аминокислот (АМК), полифенолов, антибиотических веществ, витаминов и ферментов [148].

Для обеспечения дополнительной оздоровительной ценности напитков на основе *Medusomyces gisevii* целесообразно обогащать физиологически важными ингредиентами, к которым относятся растворимые пищевые волокна, пребиотики полисахаридной природы и витамины. В качестве компонентов, содержащих в себе биологически активные вещества (БАВ), могут выступать и растительные экстракты.

Среди основных функций растительных экстрактов – влияние на органолептические характеристики продуктов, такие как цвет, вкус, консистенция и запах [8]. Более того, они могут влиять на состояние здоровья,

так метаболитам растений свойственны антиоксидантные, антиканцерогенные, противовоспалительные и антимикробные свойства. Многие растительные метаболиты также способны снижать уровень холестерина у людей и сбалансировать рацион [73]. Введение растительных экстрактов в состав напитка может существенно изменить характеристики продукта и повысить его функциональные свойства.

Таким образом, актуальность темы исследования обусловлена ростом потребительского спроса на функциональные пробиотические напитки, способствующие профилактике заболеваний и укреплению здоровья, а также необходимостью научно-практического обоснования возможности усиления функциональных свойств напитков на основе *Medusomyces gisevii* растительными экстрактами.

Государственное регулирование и совершенствование законодательной базы являются ключевыми факторами укрепления общественного здоровья. Согласно указу президента РФ от 28.02.2024 г. № 145 создание безопасных и качественных, в том числе функциональных, продуктов питания является одним из направлений, соответствующих приоритету научно-технологического развития Российской Федерации до 2030 г. [46].

Степень разработанности. Исследованием культуры *Medusomyces gisevii* занимался российский ученый Владимир Хачатрян. Результаты его работы легли в основу ряда патентов на изобретения, а также книги, посвященной особенностям чайного гриба. Труды R. Jayabalan, R. Malbasa, E. S. Loncar, K. G. Kanuric, M. Djuric, P. A. Bron, P. Van Baarlen, M. Kleerebezem, H. Kitwetcharoen, L. T. Phung, P. Klanrit, J. Kim, I. De Oliveira и др. раскрывают способы выращивания *Medusomyces gisevii* и получения напитков на его основе, химический состав и функциональные свойства микробного сообщества.

Отдельные этапы работы выполнены в рамках (приложение А):

– государственного задания по теме «Полифенолы растений СФО: оценка молекулярной и пространственной структуры веществ, характеристика

биофункциональных свойств и токсикологических показателей безопасности на модельных системах *in vivo*» (шифр FZSR-2023-0002);

– государственного задания по теме «Разработка биологически активных добавок, состоящих из метаболитов растительных объектов *in vitro*, для защиты населения от преждевременного старения» (шифр FZSR-2024-0008).

Цель и задачи исследований. Цель работы – разработка биотехнологии напитка на основе *Medusomyces gisevii*, обогащенного растительными экстрактами, и оценка его функциональных свойств.

Задачи исследования:

1. Провести скрининг растительного сырья, идентифицировать и количественно оценить содержание основных БАВ в отобранных экстрактах для возможности обогащения функционального напитка на основе *Medusomyces gisevii*.

2. Провести комплексную оценку метаболической активности симбиотической культуры *Medusomyces gisevii* в контрольных образцах и осуществить скрининг контрольных образцов, изучив динамику значений физико-химических и биохимических показателей и органолептический профиль контрольных образцов.

3. Осуществить разработку и провести скрининг рецептурных питательных сред.

4. Исследовать биотехнологический потенциал отобранных питательных сред в процессе направленного культивирования, установив наличие влияния растительных экстрактов на значения физико-химических и биохимических показателей опытных образцов функциональных напитков.

5. Оценить проявление синергетического эффекта при сочетании компонентов *Medusomyces gisevii* и образцов растительных экстрактов по показателю массовой доли флавоноидов опытных образцов. Осуществить скрининг приоритетных образцов на основании результатов биохимической оценки и синергетического эффекта.

6. Изучить аминокислотный состав и витаминный профиль приоритетных образцов функциональных напитков в процессе ферментации.

7. Оценить органолептические показатели готовых продуктов и подтвердить их соответствие требованиям безопасности ТР ТС 021/2011 для обоснования возможности их практической реализации.

8. Разработать технологическую схему производства образцов функциональных напитков, оценить экономическую эффективность промышленного освоения технологии в ходе ее опытно-промышленной апробации, оценить роль разработанных функциональных напитков в обеспечении суточной потребности в витаминах и аминокислотах.

Научная новизна диссертационной работы заключается в установлении новых данных о химическом составе образцов функциональных напитков, обусловленных сложным биохимическим взаимодействием пробиотической культуры *Medusomyces gisevii* и растительных экстрактов *Panax ginseng*, *Thymus vulgaris*, *Achillea millefolium*:

1. Установлены биотехнологические закономерности направленного культивирования *Medusomyces gisevii* на питательных средах (черный чай, зеленый чай, иван-чай), обогащенных образцами бинарных фитокомпозиций из экстрактов *Panax ginseng*, *Thymus vulgaris*, *Achillea millefolium*. Доказано влияние природы субстрата на метаболический профиль напитка: установлено, что использование черного чая в качестве основы способствовало интенсивному накоплению комплекса незаменимых аминокислот при ферментации в условиях повышенной массовой доли растительных экстрактов (5,0–7,5 %), в то время как использование иван-чая (при доле экстракта 2,5 %) способствовало интенсификации микробиологического синтеза витаминов группы В (соответствие паспорту: 4.3.5 (п. 5, 25)).

2. Выявлен и подтвержден синергетический эффект накопления флавоноидных соединений в многокомпонентных питательных средах. Доказано, что в процессе метаболизма *Medusomyces gisevii* совместное присутствие растительных экстрактов и чайной основы обеспечивало превышение экспериментальных значений показателей флавоноидных соединений над расчетными значениями, что подтвердило взаимную активацию компонентов

биосистемы и обеспечило достижение высокого (до 66 %) антиоксидантного потенциала (соответствие паспортам: 4.3.5 (п. 6) и 4.3.3 (п. 15)).

3. Экспериментально доказано наличие «порога рецептурной устойчивости» для различных чайных основ. Установлено, что состав черного чая позволял вводить повышенные концентрации экстрактов (5,0–7,5 %) без подавления метаболизма культуры *Medusomyces gisevii* и ухудшения вкуса, в то время как для зеленого чая и иван-чая данный предел ограничивался 2,5 % (соответствие паспорту: 4.3.3 (п.11, 13)).

Теоретическая и практическая значимость работы заключается в научном обосновании биотехнологического потенциала как самой культуры *Medusomyces gisevii* при культивировании на различных питательных средах (черном, зеленом и иван-чае), так и в сочетании с растительными экстрактами. Установлены закономерности биотрансформации компонентов питательной среды, обеспечивающие формирование специфического аминокислотного и витаминного профиля образцов полученных напитков. Раскрыта природа синергетического взаимодействия чайных основ и растительных экстрактов под действием культуры *Medusomyces gisevii*, проявляющаяся в активации флавоноидных соединений и росте антиоксидантной активности систем. Определена зависимость между типом чайного субстрата и его рецептурной устойчивостью, что расширяет представления об адаптации микробиологического сообщества к повышенным концентрациям растительных экстрактов.

Практическая значимость работы заключается в разработке комплексной технологии производства функциональных напитков на основе различных питательных сред, бинарных растительных композиций и пробиотической культуры *Medusomyces gisevii*. Разработаны и научно обоснованы рецептуры трех видов функциональных напитков с использованием черного чая, зеленого чая и иван-чая, обогащенных комбинациями экстрактов женьшеня, тимьяна и тысячелистника. Установлены регламентируемые показатели качества и безопасности готовой продукции, подтверждающие соответствие разработанных напитков требованиям ТР ТС 021/2011. Рассчитана степень удовлетворения

суточной потребности организма в витаминах и аминокислотах при употреблении разработанных напитков.

Техническая новизна разработанных технологических решений подтверждена патентом на изобретение РФ № 2857775 «Способ производства напитка» (приложение Б). Разработаны и утверждены технические условия ТУ 10.89.19-295-02068309-2024 и технологическая инструкция ТИ 10.89.19-295-02068309-2024 по производству функционального напитка на основе *Medusomyces gisevii* с добавлением образцов растительных экстрактов (приложение В). Разработанная рецептура и технология функционального напитка апробированы в городе Кемерово, Россия, на промышленном предприятии ООО «Барс» (приложение Д).

Методология и методы исследований. Исследование представлено тремя основными этапами – теоретическим, экспериментальным и практическим. Для реализации поставленных задач применялись классические и специальные методы исследования: органолептического анализа сырья и образцов конечного продукта; физико-химические методы определения качественного и количественного состава, в том числе спектрофотометрические и хроматографические методы; микробиологические и физико-химические методы оценки качества и безопасности исходного сырья и конечного продукта; методы статистического анализа.

Положения, выносимые на защиту:

- критерии скрининга растительного сырья, основанные на сравнительной оценке массовой доли флавоноидов, и результаты идентификации компонентного состава БАВ отобранных объектов;
- биотехнологические закономерности культивирования *Medusomyces gisevii*, обосновывающие выбор рекомендуемой продолжительности ферментации на основе комплексного мониторинга в динамике физико-химических и биохимических показателей контрольных образцов;
- рецептурные композиции питательных сред на чайных основах (черный, зеленый, иван-чай), учитывающие установленные пороги рецептурной устойчивости культуры *Medusomyces gisevii* к вводимым растительным экстрактам;

- эффект синергизма;
- биотехнология производства образцов функциональных напитков.

Степень достоверности и апробации работы. Достоверность результатов подтверждается применением современного оборудования; общепризнанных, стандартных методов исследования, отвечающих поставленным в диссертационной работе цели и задачам; воспроизводимостью полученных результатов (3-5 кратная повторность). Основные положения и результаты проведенных исследований были представлены на конференциях: «Экспериментальные и теоретические исследования в современной науке» (Новосибирск, 2025); «Российская наука в современном мире» (Москва, 2025); «Пищевые технологии» (Кемерово, 2024); «Пищевые здоровьесберегающие технологии» (Кемерово, 2023); «Кузбасс: образование, наука, инновации» (Кемерово 2023).

Публикации. Основные положения и результаты диссертационной работы опубликованы в 12 научных работах, в том числе 2 в журналах, индексируемых в базах Scopus и Web of Science: «Foods and raw materials» (Q3); в 4 статьях в журналах ВАК: «Техника и технология пищевых производств» (K1), «Пищевые системы» (K1), «АПК России» (K2), «Социально-экономический и гуманитарный журнал» (K2); в 5 сборниках материалов конференций; в 1 патенте на изобретение.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности. Научные исследования соответствуют п. 11, 13, 15 паспорта научной специальности ВАК РФ 4.3.3 «Пищевые системы»; п. 5, 6, 25 паспорта научной специальности ВАК РФ 4.3.5 «Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ».

Структура и объем диссертации. В структуру диссертационной работы входят разделы: введение, аналитический обзор, методы и результаты исследования, практическая применимость, заключение, список используемой литературы и приложения. Диссертация изложена на 161 странице, включает 50 таблиц, 22 рисунка, 10 формул. Список используемых источников содержит 153 наименования.

ГЛАВА 1 АНАЛИТИЧЕСКИЙ ОБЗОР

В главе раскрывается общая характеристика ферментированных напитков, в частности напитка на основе чайного гриба. Рассматривается растительное сырье в пищевой промышленности: приводится характеристика биологического потенциала различных видов растительного сырья. Приводится патентный анализ методов получения растительных экстрактов для производства безалкогольных напитков. Осуществляется анализ мирового и отечественного рынков комбучи.

1.1 Ферментированные напитки: общая характеристика

Ферментация — один из старейших биотехнологических методов, используемых человечеством. Ферментация повышает органолептические и питательные качества продуктов за счет накопления витаминов, фенольных соединений, антиоксидантов и антибиотиков. Метаболиты, образующиеся в процессе ферментации, создают характерные вкусы и снижают pH среды, подавляя рост патогенных бактерий, увеличивая срок хранения [6, 129].

Ферментацию можно описать как процесс окисления углеводов с получением различных веществ, таких как органические кислоты, спирт и углекислый газ, путем биохимических реакций, проводимых микроорганизмами в определенных условиях, которые либо присутствуют в естественной среде обитания, либо добавляются извне. Конечные метаболиты ферментации могут обладать антимикробной активностью, усиливать системный иммунитет, снижать уровень холестерина и артериального давления. Кроме того, участие микроорганизмов во время ферментации приводит к значительным изменениям вкуса, аромата и текстуры, которые определяют уникальные характеристики ферментированных пищевых продуктов. В процессе ферментации могут участвовать различные

микроорганизмы, такие как молочнокислые бактерии, дрожжи, уксуснокислые бактерии и грибы [111, 135].

Ферментированные продукты, такие как кефир, комбуча, закваска, кимчи, квашеная капуста, темпех, натто, мисо и другие, включая одни из самых популярных продуктов – уксус, пиво, вина и сыры, используются в нашей повседневной жизни и представляют собой самые древние из известных продуктов биотехнологии [95, 145].

Что касается общественного здоровья и культуры питания, ферментированные продукты обеспечивают микробиологическую безопасность и составляют около трети мирового рациона. Известно, что существует риск заражения продуктов животного и растительного происхождения вирусами, грибками и бактериями, это создает вспышки заболеваний, передающихся через обычные пищевые продукты, что является значительной проблемой общественного здравоохранения во всем мире. Ферментированные продукты в основном благодаря высокой концентрации органических кислот и низкому pH, а также таким важным соединениям, как бактериоцины, препятствующим росту патогенных бактерий (*Helicobacter pylori*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimurium* и *Campylobacter jejuni*), представляют собой безопасный и актуальный выбор питания в различных обстоятельствах. Помимо содержания антимикробных компонентов, ферментированные продукты играют важную роль в улучшении социального благополучия людей, живущих в маргинализированных и уязвимых обществах, обеспечивая «безопасный и защищенный» статус [88].

Систематизация напитков брожения в российском законодательстве заложена в Федеральном законе № 171-ФЗ и основана на объемной доле этилового спирта и типе используемого сырья. Вся продукция разделена на три большие группы, каждая из которых регулируется своим перечнем государственных стандартов [45].

1. Безалкогольные напитки брожения. К этой категории относятся напитки, полученные путем ферментации, в которых содержание спирта не превышает 0,5 % об. (в некоторых случаях – до 1,2 % об. для кваса):

- ГОСТ 31494-2012. «Квасы. Общие технические условия» [14];
- ГОСТ 28188-2014. «Напитки безалкогольные. Общие технические условия» [13].

2. Слабоалкогольные напитки брожения. Продукция с содержанием спирта от 1,2 % до 9,0 % об.:

- ГОСТ Р 52700-2018 «Напитки слабоалкогольные. Общие технические условия» [21];
- ГОСТ 31820-2015. «Сидры. Общие технические условия» [16];
- ГОСТ 31711-2012. «Пиво. Общие технические условия» [15].

3. Алкогольные напитки брожения. Включают продукцию с содержанием этилового спирта более 9,0 % об.:

- ГОСТ 33336-2015 «Вина игристые. Общие технические условия» [17];
- ГОСТ Р 56368-2022 «Напитки спиртные русские традиционные на натуральном сырье. Общие технические условия» [24].

По типу брожения ферментированные напитки подразделяются на:

- напитки спиртового брожения: осуществляется дрожжами (пиво, сидр, пуаре, медовуха).
- напитки молочнокислого брожения: осуществляется молочнокислыми бактериями (некоторые виды бездрожжевых квасов).
- напитки смешанного брожения: совмещает спиртовое и молочнокислое/уксуснокислое брожение (квас и комбуча).

Согласно зарубежным источникам ферментированные напитки по объемной доле спирта (% об.) классифицируются на [146]:

- алкогольные напитки брожения с крепостью $> 1,2$ %;
- слабоалкогольные напитки брожения с крепостью $\leq 1,2$ %;
- безалкогольные напитки брожения с крепостью $< 0,5$ %.

Получение алкогольных напитков базируется на интенсивных метаболических процессах дрожжевых культур *Saccharomyces cerevisiae* на различные субстраты, так как именно дрожжи являются основным

микроорганизмом, отвечающим за спиртовое брожение [152]. Одним из наиболее часто потребляемых алкогольных напитков является пиво. Классическая технология производства включает стадию затирания солода для экстракции ферментируемых сахаров, получение пивного сусла и его последующую ферментацию штаммами *Saccharomyces cerevisiae* в течение 7–14 суток. Ячмень является наиболее популярным сырьем в технологии пивоварения. Для производства различных видов пива используются различные злаки, такие как рис, кукуруза, сорго, просо и др., чтобы удовлетворить текущий спрос потребителей на безглютеновые продукты [15].

Вино традиционно производится путем сбраживания виноградного сусла с помощью различных видов и штаммов дрожжей (чаще *S. cerevisiae*), которые взаимодействуют между собой; в итоге получают вина с различными качественными характеристиками. В настоящее время для изготовления фруктовых вин используются различные фрукты, такие как абрикос, слива, вишня и др. [150].

Сидр – алкогольный напиток, получаемый путем брожения свежавыжатого или разбавленного концентрированного яблочного сока [77]. Родственный продукт – пуаре (также известный как грушевый сидр), производится путем ферментации грушевого сока. Для производства сидра чаще всего используют особые сорта яблок с характерным горьким, острым и кисловатым вкусом [144]. Процесс производства сидра обычно происходит в результате ферментации, осуществляемой выбранными штаммами дрожжей, а также последующей спонтанной ферментации, которая предлагает большое разнообразие микроорганизмов. Ферментация включает спиртовое брожение, в результате которого штаммы дрожжей сбраживают сахара в этанол, и яблочно-молочное брожение, которое осуществляется молочнокислыми бактериями во время созревания с образованием молочной кислоты и углекислого газа [16].

Основными дрожжами, обнаруженными в сидре, являются дрожжи *Saccharomyces*. Во время яблочно-молочного брожения присутствуют штаммы бактерий *Lactobacillus brevis* и *Oenococcus oeni*.

Медовуха – традиционный алкогольный напиток, полученный путем ферментации разбавленного меда в присутствии соответствующих дрожжей. Оптимальным вариантом дрожжей для производства медовухи являются штаммы *Saccharomyces cerevisiae* [99]. Содержание этанола в медовухе составляет от 8 % до 18 %. Существует множество вариантов приготовления напитка. Наиболее распространенными являются метеглин (медовуха, приготовленная с добавлением трав и пряностей), меломель (медовуха с добавлением фруктовых соков), гипокрас (алкогольный напиток из вина, сильно подслащённого мёдом или сахаром и приправленного благородными пряностями – корицей, имбирём, гвоздикой) и мешковая медовуха (производимая с повышенной концентрацией меда) [32].

Традиционный мексиканский алкогольный напиток под названием «Пульке» получают с помощью ферментации свежего сока агавы дрожжевой культурой [133]. Наиболее преобладающими видами являются *Kluyveromyces marxianus*, *Torulaspora delbrueckii*, *Pichia fermentans* и *Candida diversa*. Среди них *T. delbrueckii* показал пробиотические характеристики.

Макколли – традиционный корейский алкогольный напиток. Это игристое рисовое вино, мутное на вид и сладкое на вкус. Варят напиток из риса и нурука, который используется в качестве закваски для брожения. Алкогольный напиток богат клетчаткой, витаминами В и С, отличается низким содержанием холестерина. Идентифицированы штаммы МКБ *Pediococcus acidilactici*, *P. pentosaceus*, *Lactobacillus curvatus* и *L. curstorum* [134].

Хонкаку сётю – крепкий спиртной напиток однократной дистилляции родом из Японии, в котором используются кодзи (субстрат, на поверхности которого растет колония плесневого грибка *Aspergillus oryzae*) и дрожжи с определенными ингредиентами. Он производится с использованием местных сельскохозяйственных культур и имеет несколько видов: сётю из ячменя, сётю из сладкого картофеля, сётю из риса и сётю из японской гречихи (соба). В случае с хонкаку сётю черный гриб кодзи (*Aspergillus luchuensis*) и белый гриб кодзи (*Aspergillus luchuensis* mut. *kawachii*) используются для осахаривания крахмала, содержащегося в исходном сырье;

получения лимонной кислоты для предотвращения микробной порчи продукта; придания напитку уникального вкуса [146].

Примеры традиционных слабоалкогольных и безалкогольных ферментированных напитков приведены ниже [153].

1. Традиционные ферментированные безалкогольные и слабоалкогольные напитки на зерновой основе.

Напитки на основе злаков содержат пребиотики благодаря наличию неперевариваемых волокон. Зерновые, такие как овес, пшеница, кукуруза, рожь, просо, сорго, ячмень или рис, используются для производства ферментированных напитков на зерновой основе. Овес является источником β -глюканов, которые могут снизить уровень «плохого холестерина» (липопротеинов низкой плотности). β -глюканы считаются пребиотиками, повышая количество бифидобактерий в кишечнике. Ферментация зернового сырья может способствовать разработке зернового напитка с высоким содержанием бета-глюканов [6].

Боза – ферментированный напиток на основе злаков, являющийся разновидностью просового пива. Напиток изготавливается из пшеничной, рисовой, манной крупы или из комбинации ржаной, овсяной, ячменной и просовой муки. Брага – аналогичный напиток, потребляемый в странах Восточной Европы [80]. Боза является источником белков, углеводов, клетчатки и витаминов, в том числе тиамина, рибофлавина, пиридоксина и ниацина. Содержание этилового спирта в бозе составляет до 1,5 % об. Боза считается богатым источником пробиотических бактерий, таких как *Lb. plantarum*, *Lb. paracasei*, *Lb. rhamnosus* и *Lb. pentosus* [39].

Квас – это безалкогольный напиток с объемной долей этилового спирта не более 1,2 %, изготовленный в результате незавершенного спиртового или смешанного (спиртового и молочнокислого) брожения квасного сусла [14]. Содержит углеводы (главным образом мальтозу, мальтотриозу, глюкозу и фруктозу), белки и аминокислоты, молочную и уксусную кислоты, этанол, минеральные вещества и витамины [31, 42, 55].

Ферментация злаков в Африке и Азии включает главным образом переработку кукурузы, риса, сорго и проса. Например, в Западной Африке

производится ферментированная смесь из сорго под названием Оги-баба [131]. В Замбии и Конго производится Мункойо – безалкогольный напиток на зерновой основе, полученный в результате спонтанного брожения [110]. В Танзании существует напиток Тогва, произведенный на основе ферментированных злаков с сорго, кукурузой и просом [128].

2. Традиционные ферментированные безалкогольные и слабоалкогольные напитки на фруктовой основе.

Хардалие – это безалкогольный ферментированный напиток на фруктовой основе. Он сделан из сока красного винограда и измельченных семян черной горчицы, также можно использовать и другие ингредиенты, например вишневые листья и выжимку [104]. Хардалие в основном готовят в домашних условиях по традиционному методу. Ингредиенты прессуют и оставляют бродить на 5–10 дней при комнатной температуре. Микробная популяция напитка состоит из лактобацилл и неизвестных видов грибов.

Сок гилабуру – это традиционный европейский безалкогольный напиток. Основными ингредиентами для ферментации являются кустовая клюква европейская *Viburnum opulus L.* и вода [101]. Для приготовления напитка плоды оставляют в воде в темном месте и при комнатной температуре примерно на 3–4 месяца для брожения. В микробиоте напитка было идентифицировано несколько видов молочнокислых бактерий, в основном лактобациллы и лейконостоки.

3. Традиционные ферментированные безалкогольные и слабоалкогольные напитки на растительной основе.

Сок квашеной капусты или *сок краута* – это сок, полученный при брожении белокочанной капусты. Сок краута производится из капусты и соли таким же способом, как квашеная капуста. Согласно общепринятому способу производства, капуста ферментируется, а затем отжимается сок. Как правило, конечный продукт содержит много соли. Наиболее предпочтительным вариантом считается сок квашеной капусты, сброженный с 0,5 % минеральной соли. Естественная ферментирующая микробиота напитка включает в основном молочнокислые бактерии *Ln. mesenteroides*, *Lb. brevis*, *Lb. sakei* и *Lb. plantarum* [115].

Сок шалгам (салагам) является безалкогольным напитком, приготовленным из черной или фиолетовой моркови (*Daucus carota*), репы (*Brassica rapa*), булгура (пшеничной муки), закваски, соли и воды [106]. В Индии аналогичный продукт, *кандзи*, производится путем естественной ферментации моркови с добавлением соли, перца чили и толченой горчицы. Напиток богат минералами Ca, K и Fe, витаминами группы A, C и B, а также содержит полифенолы. Микробиота напитка в основном представлена молочнокислыми бактериями и дрожжами *S. cerevisiae*, способствующими процессу брожения [138].

4. Традиционные ферментированные безалкогольные и слабоалкогольные травяные, пряно-ароматические напитки на растительной основе.

Чайный гриб (комбуча) – один из самых популярных слабоалкогольных напитков в мире. Для его производства используется черный чай и белый сахар, но можно использовать и зеленый чай. Напиток изначально был популярен в Китае, но в настоящее время его употребляют во всем мире, показывая, таким образом, растущую популярность. Комбуча имеет сладко-кислый вкус, напоминающий игристый яблочный сидр. Для приготовления чайные листья добавляют в кипящую воду и настаивают в течение 10 мин. Затем в горячий чай кладут небольшое количество сахара и оставляют охлаждаться. В смесь добавляют чайный гриб, который выступает в качестве закваски, и оставляют для брожения на 1–8 недель [108]. Микробиота чайного гриба представлена молочнокислыми бактериями и дрожжами, однако некоторые ученые сообщают, что в процессе брожения также принимают участие уксуснокислые бактерии [10, 29].

Имбирное пиво, также известное как *имбирный эль* – это ферментированный напиток, изготовленный путем сбраживания подготовленного водного экстракта имбиря и лимона с добавлением сахаросодержащих веществ дрожжами *Saccharomyces cerevisiae*. Может производиться как безалкогольным, так и слабоалкогольным, его классифицируют по смежным группам напитков в зависимости от технологии производства [21, 67].

5. Традиционные ферментированные безалкогольные и слабоалкогольные напитки на основе сахарозы.

Сима – это слабоалкогольный напиток на основе сахарозы, основными ингредиентами которого являются вода, лимон, изюм, белый или коричневый сахар и сушеный эль или хлебные дрожжи. Имеет мутный вид и сладкий вкус [146].

Водный кефир, также известный как *сахарный кефир* или *тибикос*, является слабоалкогольным кислым напитком на основе сахарозы, кефирных зерен (симбиоз МКБ, УКБ и дрожжей, содержащихся в зернах), сухофруктов (чаще всего инжир) и лимона. Внешний вид напитка мутный, слабогазированный, соломенно-желтого цвета. Ферментация водяного кефира длится 1–2 дня при комнатной температуре [78].

Слабоалкогольные и безалкогольные напитки являются важными составляющими рациона человека во всем мире. Применяя процесс ферментации, можно изменить питательную ценность субстратов ферментации: молока, фруктов, злаков и овощей за счет биологического обогащения незаменимыми аминокислотами, витаминами и биоактивными соединениями [40].

1.2 Биотехнология напитка на основе чайного гриба

1.2.1 Чайный гриб: основные положения и параметры ферментации

Чайный гриб или комбуча представляет собой освежающий напиток, слегка сладкий и немного кислый на вкус, употребляемый холодным, который газифицируется за счет различной интенсивности образования пузырьков [70].

Комбуча является результатом ферментации подслащенного черного или зеленого чая *Camellia sinensis* под действием симбиотического сообщества дрожжей и бактерий, организованных в целлюлозную биопленку (SCOBY) [123]. Комбуча приобрела большую популярность среди ферментированных продуктов и напитков, причем в последнее десятилетие ее популярность значительно

возросла как среди потребителей, так и в научном сообществе. Это объясняется особыми функциональными и микробными характеристиками напитка – антиоксидантный и противомикробный потенциал, стабильные микробные сообщества, широкий диапазон времени ферментации и температуры, а также возможность использования других источников углерода, помимо сахарозы [124].

Во время ферментации под действием дрожжей сахароза превращается во фруктозу и глюкозу, в результате процесса их ферментации образуется этанол. Этиловый спирт окисляется бактериями в присутствии кислорода, за счет этого выделяется уксусная кислота.

Различные исследования процесса производства чайного гриба и напитков на его основе направлены на повышение функциональных свойств конечного продукта за счет [52, 59]:

1. Выбора оптимальных параметров производства (температура, доступ кислорода, продолжительность ферментации, соотношение SCOBY и чайного субстрата, а также размер и форма ферментационного резервуара) [86].
2. Основного ингредиентного состава (источники азота, источники углеводов и микробиологический состав SCOBY) [98].
3. Введения дополнительных вкусовых и функциональных ингредиентов.

Из основных параметров ферментации можно выделить: ферментационную колонию, источники углерода, чай или сырье его заменяемое, количество SCOBY и жидкого инокулята (стартер), температуру, время ферментации и pH среды [63].

Ферментационная колония. Вариации ферментационных колоний микроорганизмов оказывают значительное влияние на химический состав чайного гриба при сравнении кинетики продукции на наличие первичных метаболитов в течение длительного периода ферментации. Ученые выявили высокую зависимость состава микробиома чайного гриба от кинетики ферментации. Основной микробный состав чайного гриба приходится на дрожжи, уксуснокислые и молочнокислые бактерии [30].

Источники углерода. Из существующих источников углерода (сахаров) наиболее распространенным считается сахароза и в основном преобладает при

производстве чайного гриба. По традиционной технологии приготовления сахар требуется в количестве 50 г/ дм³. Однако в некоторых исследованиях оцениваются и другие источники углерода, например патока, с получением более низкой концентрации уксусной кислоты и более высокой – молочной. Некоторые авторы оценивают ферментацию чайного гриба с использованием вишневого, виноградного, гранатового соков, соевого молока и растительных экстрактов [126].

Чай. Чаще в производстве чайного гриба используется черный чай, однако использование зеленого чая занимает все больше места в коммерческом производстве. Количество используемого сырья варьирует в пределах 5 г/дм³ в зависимости от конкретных рецептов. Касаясь кинетики ферментации черного чая и химического состава, обнаружены значительные различия в значениях pH, общей кислотности, общего количества растворимых сухих веществ и содержания органических кислот по сравнению с ферментацией зеленого чая и чая улун. Это связано с высоким образованием кислот в результате микробного метаболизма под действием специфического химического состава черного чая [103].

Количество SCOBY и жидкого инокулята (стартер). Обычная практика производства чайного гриба включает добавление SCOBY и некоторого количества культуральной жидкости, полученной в предыдущей ферментации, в подслащенный чай. Обычно бактериальную целлюлозу вносят в количестве 5–10% от объема жидкости. Поскольку уксуснокислые бактерии производят целлюлозу, бактерии и другие микроорганизмы частично иммобилизуются в структуре биопленки. Таким образом, большее количество биопленки предполагает более значительный вклад микроорганизмов. Однако использование большого количества жидкого инокулята может привести к чрезмерной кислотности новой партии продукции, нанося вред конечному продукту [149].

Температура. Учитывая разнообразный микробиологический состав ЧГ, каждый микроорганизм проявляет особую реакцию на изменение температуры, таким образом, проведение ферментации ЧГ при разных температурах может привести к значительным изменениям в химическом составе конечного продукта. При изготовлении напитка температура ферментации составляет 20–30 °С.

Оптимальная температура для роста дрожжей – 25–30 °С [96], для УКБ – 25–30 °С [127], для МКБ – 20–40 °С [139]. Одним из начальных этапов процесса ферментации ЧГ является гидролиз сахарозы на глюкозу и фруктозу, которые будут метаболизироваться микроорганизмами. Эта реакция катализируется в основном ферментами, присутствующими в дрожжах, и чувствительна к температуре среды. Еще одним важным фактором, связанным с влиянием температуры на ферментацию, является возможность качественного изменения микробиологического состава и ожидаемое количественное изменение. Микробное сообщество может благотворно влиять на выработку некоторых представляющих интерес метаболитов, как в случае с глюкуроновой кислотой, путем изменения количества видов УКБ [118].

Время ферментации чайного гриба в целом колеблется от 10 до 14 дней. Поскольку во время ферментации чайного гриба может наблюдаться как положительная, так и отрицательная вариация метаболитов, выбор времени зависит от желаемого состава, органолептического профиля и ограничений в отношении безопасности потребления [84]. Обычно при брожении чайного гриба устанавливается буферная система за счет присутствия слабых органических кислот. Значение общей кислотности может служить маркером для определения окончания процесса ферментации, поскольку именно общая кислотность увеличивается во времени (даже без заметных изменений pH) [100].

pH – еще один параметр, влияющий на ферментацию ЧГ. Образование органических кислот во время ферментации ЧГ приводит к снижению pH, поэтому минимально допустимое значение pH готовых продуктов не должно быть ниже 3,0. Общая кислотность чайного гриба должна находиться в пределах 4,0–5,0 [93].

1.2.2 Микроорганизмы, участвующие в производстве чайного гриба

Как правило, микробиологический состав SCOBY меняется в зависимости от географических регионов, среды культивирования и условий ферментации. В

целом SCOBY состоит в основном из уксуснокислых бактерий, осмофильных дрожжей и молочнокислых бактерий. Наиболее часто встречающиеся микроорганизмы SCOBY представлены в таблице 1.2.1 [83, 119].

Представленные микроорганизмы играют жизненно важную роль в создании полезных метаболитов, улучшающих качество напитка из ЧГ. Например, УКБ дополнительно используют этанол, а также оставшиеся глюкозу и фруктозу для создания различных органических кислот, таких как уксусная, глюконовая, глюкуроновая, аскорбиновая, янтарная и других ценных веществ, тем самым снижая содержание этанола и сахара в ЧГ. Этанол и уксусная кислота могут предотвращать рост патогенных бактерий, тем самым защищая ЧГ от нежелательных микробов [92].

Таблица 1.2.1 – Виды микроорганизмов, встречающиеся в SCOBY

М/О	Виды М/О
Дрожжи	<i>Arxula adenivorans</i>
	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> , <i>Saccharomyces bisporus</i>
	<i>Saccharomycodes ludwigii</i>
	<i>Schizosaccharomyces pombe</i>
	<i>Starmerella davenportii</i>
	<i>Zygosaccharomyces bisporus</i> , <i>Z. rouxii</i> , <i>Z. bailii</i> , <i>Z. parabailii</i> , <i>Z. kombuchaensis</i>
	<i>Brettanomyces intermedius</i> , <i>Br. bruxellensis</i> , <i>Br. anomalus</i> , <i>Br. claussenii</i> , <i>Brettanomyces / Dekkera</i> sp.
	<i>Candida arabinofementans</i> , <i>Candida guilliermondii</i> , <i>Candida colleculosa</i> , <i>Candida kefir</i> , <i>Candida krusei</i> , <i>Candida stellata</i>
	<i>Hanseniaspora valbyensis</i> , <i>Hanseniaspora vineae</i>
	<i>Kloeckera apiculata</i>
	<i>Kluyveromyces africanus</i>
	<i>Pichia membranefaciens</i>
УКБ	<i>Acetobacter xylinum</i> , <i>A. aceti</i> , <i>A. pausterianus</i> , <i>A. intermedius</i> , <i>A. peroxydans</i> , <i>A. pomorum</i> , <i>A. malorum</i> , <i>A. tropicalis</i> , <i>A. senegalensis</i> , <i>A. nitrogenifigens</i>
	<i>Gluconobacter oxydans</i> , <i>Gluconacetobacter entanii</i>
	<i>Komagataeibacter europaeus</i> , <i>K. kombuchae</i> , <i>K. medellinensis</i> , <i>K. nataicola</i> , <i>K. rhaeticus</i> , <i>K. saccharivorans</i> , <i>K. xylinus</i>

Продолжение таблицы 1.2.1

М/О	Виды М/О
МКБ	<i>Bifidobacterium</i> sp.
	<i>Lactobacillus kefiranofaciens</i> , <i>Lactobacillus mali</i>
	<i>Lactiplantibacillus plantarum</i>
	<i>Lactococcus</i> sp.
	<i>Leuconostoc</i> sp.
	<i>Liquorilactobacillus nagelii</i> , <i>Liquorilactobacillus satsumensis</i>
	<i>Limosilactobacillus fermentum</i>
	<i>Oenococcus oeni</i>

1.2.3 Химический состав чайного гриба

В ходе ферментации происходят существенные изменения в химических свойствах ЧГ. Химический состав ЧГ включает не только полифенолы, которые содержатся в чайных листьях, но и другие полезные метаболиты, образующиеся в результате жизнедеятельности SCOBY в процессе ферментации – органические кислоты, витамины, аминокислоты, минералы и другие вещества [97]. Основные химические вещества, содержащиеся в чайном грибе, описаны в таблице 1.2.2 [119], а их количественный состав представлен в таблице 1.2.3 [136].

Таблица 1.2.2 – Общий химический состав чайного гриба

Классы соединений	Химический состав
Органические кислоты	Уксусная кислота, молочная кислота, лимонная кислота, глюконовая кислота, глюкуроновая кислота, яблочная кислота, винная кислота, янтарная кислота, пировиноградная кислота, щавелевая кислота, масляная кислота
Полифенолы	Катехины (α -эпикатехин, α -эпикатехин-3-галлат, α -эпигаллокатехин, α -эпигаллокатехин-3-галлат, α -галлокатехин, β -катехин), кофеин, теафлавин, теарубигины, галлотанины

Продолжение таблицы 1.2.2

Классы соединений	Химический состав
Витамины	Витамин В ₁ , В ₂ , В ₆ , В ₉ , В ₁₂ , С
Аминокислоты	Изолейцин, лейцин, лизин, метионин, триптофан фенилаланин, треонин, валин, аланин, аргинин, аспарагиновая кислота, цистеин, глутаминовая кислота, глицин, гистидин, пролин, серин, тирозин
Минералы / анионы	Марганец, железо, никель, медь, цинк, кобальт, нитрат, фосфат, сульфат, бромид, хлорид, йодид, фторид
Спирты	Этанол
Белки / органический азот / гидролитические ферменты	Пептиды, биогенные амины (этиламин, холин, аденин, гистамин, тирамин, путресцин, кадаверин, β -фенилэтиламин, триптамин, спермидин, спермин), протеиназа, пептидаза, каталаза
Другие вещества	Флавоноиды (кверцетин, кемпферол, мирицетин, рутин), алкалоиды, пурины, липиды, D-сахарная кислота-1,4-лактон, диоксид углерода

Черный чай – известный напиток благодаря своим полезным для здоровья свойствам; чаще всего используется в качестве сырья для производства чайного гриба. Черный чай в период ферментации выделяет различные биологически активные вещества: теафлавины, теарубигины, летучие соединения и алкалоиды, а также поддерживает высокий уровень полифенолов, таких как катехины и флавоноиды [90].

Другие чаи, особенно зеленый чай и чай улун, также являются потенциальным сырьем для производства чайного гриба. Благотворное воздействие зеленого чая обусловлено главным образом фенольными и флавоноидными соединениями, такими как α -эпикатехин, α -эпикатехин-3-галлат, α -эпигаллокатехин, α -эпигаллокатехин-3-галлат, α -галлокатехин и галлат катехина. Улун – полуперментированный чай, который также считается перспективным сырьем для производства чайного гриба, поскольку он прекрасно сочетает в себе свежесть зеленого чая и аромат черного чая. Чай ройбуш (*Asplathus Linearis*) хорошо известен своими мощными антиоксидантными, противовоспалительными и биологическими свойствами благодаря обилию фенольных и флавоноидных компонентов, а также высокому содержанию дигидрохалконов аспалатина и нотофагина [84, 114].

Таблица 1.2.3 – Количественный химический состав чайного гриба [91]

Химический состав		Содержание, мг/дм ³	Время ферментации, сут
Витамины	Витамин В1	740	15
	Витамин В2	800	10
	Витамин В6	520	15
	Витамин В12	840	15
	Витамин С	25	10
Минералы	Cu, Fe, Mn, Ni, Zn	0,1–0,4	15
Аминокислоты	Глицин	27	22
	Аланин	22	
	Серин	23	
	Треонин	54	
	Валин	14	
	Лейцин	12	
	Изолейцин	9	
	Метионин	6	
	Аспарагиновая кислота	245	
	Глутаминовая кислота	126	
	Лизин	30	
	Аргинин	32	
	Фенилаланин	20	
	Тирозин	25	
	Гистидин	26	
	Сумма свободных аминокислот	671	
Общие компоненты	Этанол	5000	20
	Белки	3000	12
	Полифенолы	7,8 ммоль GAE*/л	15
Органические кислоты	Уксусная кислота	5600	15
	Глюконовая кислота	39000	60
	Глюкуроновая кислота	16	21
	Молочная кислота	180	18

*GAE – эквивалент галловой кислоты

Исходная концентрация биоактивных веществ в сырье (листьях чая) может изменяться в связи с метаболической активностью микробного сообщества SCOBY в процессе ферментации чайного гриба. Например, содержание полифенолов и флавоноидов в черном чае за время ферментации в течение 21 дня при 28 °C увеличилось по сравнению с обычным неферментированным черным чаем. Это означает, что под действием микробного сообщества SCOBY происходит разложение комплексных соединений на более мелкие биоактивные вещества.

Многие аминокислоты, обнаруженные в чайном грибе, выделяются в напиток из чайных листьев, а также образуются во время ферментации под действием микробного сообщества. Основная часть аминокислот приходится на лизин, лейцин и изолейцин, остальные – аланин, аспарагиновая кислота, глутаминовая кислота, метионин, фенилаланин, пролин, треонин, триптофан и валин присутствуют в небольших количествах.

Наиболее широко используемые методы для определения БАВ в продуктах из чайного гриба приведены в таблице 1.2.4 [102].

Таблица 1.2.4 – Методы определения БАВ в продуктах из чайного гриба

Химические вещества	Методы
Органические кислоты	Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), оснащенная колонкой Agilent ZORBAX SB-C18 и УФ-детектором или колонкой C18 и УФ-детектором
Полифенолы (катехины), кофеин	ВЭЖХ, оснащенная колонкой Waters Symmetry C18 и УФ-детектором или ВЭЖХ в сочетании с фотодиодным матричным детектором и колонкой Agilent Zorbax Eclipse XDB-C18
Сахара (сахароза, глюкоза, фруктоза)	ВЭЖХ, оснащенная колонкой Waters XBridge Amdie и испарительным детектором светорассеяния
Пигменты (антоцианы)	ВЭЖХ, оснащенная колонкой Agilent ZORBAX SB-C18 и УФ-детектором
Этиловый спирт	Эбулиометр, спиртометр, ультраэффективная жидкостная хроматография
Летучие соединения	Газовая хроматография-масс-спектрометрия

1.2.4 Биологическая активность (функциональные свойства) чайного гриба

Функциональные свойства напитка из чайного гриба напрямую связаны с его химическим составом, который был подробно разобран в предыдущем пункте.

Антиоксидантная активность определяется, как способность соединений ингибировать окисление, химическую реакцию, в результате которой могут образовываться свободные радикалы. Полифенолы, являясь мощными антиоксидантами, защищают клетки от окислительного стресса путем нейтрализации свободных радикалов и активных форм кислорода [119].

Чайный гриб содержит высокий уровень соединений с антиоксидантными свойствами, таких как полифенолы и аскорбиновая кислота. Чем дольше проходит ферментация ЧГ, тем выше количество образующихся полифенолов [1].

Добавление других ингредиентов во время ферментации также повышает содержание фенольных соединений в чайном грибе и его биодоступность, то есть количество соединений, перевариваемых в желудочно-кишечном тракте и доступных для всасывания [117]. Например, добавление листьев оливы и меда увеличивает биодоступность веществ фенольной природы при употреблении чайного гриба [62, 151].

Кроме того, различные органические кислоты, образующиеся при брожении, обладают антиоксидантными, противовоспалительными и антибактериальными свойствами. Содержание уксусной кислоты в чайном грибе приводит к высокой антиоксидантной активности.

Однако чайный гриб обладает прооксидантным потенциалом, который может запустить каскад окислительных реакций, приводящих к повреждению клеток. Избыток антиоксидантов и конкретной молекулы или иона может проявить прооксидантный эффект. Например, катехины, токоферол и некоторые органические кислоты могут вызывать синергический прооксидантный эффект [113].

Антимикробная активность. Чайный гриб проявляет сильную антимикробную активность против широкого спектра грамположительных и

грамотрицательных микроорганизмов. Антимикробные свойства чайного гриба коррелируют с различными компонентами, содержащимися в чайном грибе, включая полифенолы, органические кислоты и другие соединения. Чайный гриб на основе черного, зеленого чая, улун и других сортов проявляет антибактериальную активность в отношении патогенных кишечных бактерий, таких как *Escherichia coli*, *Shigella dysenteriae*, *Salmonella typhi*, и *Vibrio cholera*. Также отмечено, что антибактериальные компоненты чайного гриба термостабильны при 100 °С в течение 20 минут.

Противомикробная активность ЧГ обусловлена, прежде всего, наличием различных органических кислот (особенно уксусной кислоты) и высоким уровнем фенольных соединений, образующихся во время ферментации. Кроме того, содержащиеся в чайном грибе антибиотики обуславливают наличие противомикробных свойств напитка [85].

Противовоспалительная и противораковая активность. Воспаление – важнейший процесс защиты организма человека от инфекций. Воспаление также связано со многими заболеваниями, которые сопровождаются тяжелыми расстройствами, такими как артрит, астма, сердечно-сосудистые заболевания и др.

В последние годы учеными было описано, что чайный гриб обладает противовоспалительной и противораковой активностью, приписываемой многим полифенолам и другим важным метаболитам, образующимся в результате цепочки метаболических реакций во время ферментации. Проведенные учеными исследования в отношении чайного гриба с добавлением сушеных листьев мелиссы выявили проявление антигенотоксичности в отношении линий опухолевых клеток человека с высокой антипролиферативной активностью в отношении клеток рака шейки матки, клеток рака молочной железы и клеток рака толстой кишки. Некоторые потенциальные компоненты, такие как витамин С, глюкуроновая кислота, полифенолы и молочная кислота также способствуют снижению распространения рака желудка. Чайный гриб на основе черного чая обладает потенциальной противораковой способностью в отношении карциномы легких человека, остеосаркомы человека и карциномы почек человека [140].

Другие свойства. Присутствие органических кислот в продуктах из чайного гриба обеспечивает детоксикацию организма, поддержание гормонального баланса и улучшение биодоступности фенольных соединений. Молочная кислота положительно влияет на здоровье человека, улучшая кровообращение и предотвращая образование тромбов. Чайный гриб оказывает гепатопротекторное действие на различные загрязнения печени.

Чайный гриб, содержащий микробное сообщество SCOBY, раскрывает возможный функциональный и пробиотический потенциал, поскольку SCOBY считаются пробиотиками [122]. Большинство пробиотических бактерий принадлежат к родам *Lactobacillus* или *Bifidobacterium*. Известно, что молочнокислые бактерии способны оказывать иммуностимулирующее действие на хозяина. Микроцеллюлоза, присутствующая в чайном грибе, также способствует развитию полезных микроорганизмов в кишечнике [87].

1.3 Растительное сырье в пищевой промышленности

Растения производят фитохимические вещества для защиты от бактерий и грибов [142]. Использование этих веществ в пищевой промышленности защищает продукты от порчи, и, таким образом, биоактивные соединения выступают в качестве натуральных консервантов и дополнительного источника природных микронутриентов. В последние годы интерес сосредоточен именно на натуральности во всех отраслях промышленности [64, 112].

Известно около 1340 растений как потенциальных источников антиоксидантных и противомикробных компонентов, а более 250000 видов растений содержат широкий спектр БАВ [11, 44]. Растительные экстракты использовались на протяжении сотен лет для улучшения органолептических свойств пищевых продуктов [82, 116]. Наряду с антимикробной и антиоксидантной активностью

натуральные экстракты имеют и другие свойства – противовоспалительное, иммуномодулирующее, спазмолитическое и седативное [125].

В пищевой промышленности актуальной задачей является создание функциональных продуктов на основе растительного сырья, обладающего высокой биологической ценностью. В ходе исследования в качестве перспективных источников БАВ рассматривались 7 видов растительного сырья: корни лопуха и женьшеня, а также листья и стебли медуницы, клевера, тимьяна, тысячелистника и люцерны.

Сравнительная характеристика биохимического потенциала выбранных видов растительного сырья (таблица 1.3.1) послужила теоретической базой для последующего экспериментального отбора наиболее эффективных объектов.

Таблица 1.3.1 – Биохимический потенциал и функциональная направленность выбранных видов растительного сырья

Вид растительного сырья	Основные группы БАВ	Функциональное значение в пищевых системах	Источник
Лопух войлочный (<i>Arctium tomentosum</i>), корни	Инулин (до 45%), арктиин, полифенолы	Пребиотическое действие, сорбция токсинов	[36, 81]
Женьшень настоящий (<i>Panax ginseng</i>), корни	Гинзенозиды, панаксан, эфирные масла	Адаптогенное, общетонизирующее действие	[50, 58]
Медуница лекарственная (<i>Pulmonaria officinalis</i>), трава	Полифенолы, слизи, комплекс Mn, Cu	Антиоксидантное, противовоспалительное	[2, 4]
Клевер луговой (<i>Trifolium pratense</i>), трава	Изофлавоны (биоханин А), кумарины	Гормонорегулирующее, защитное действие	[35, 137]
Тимьян обыкновенный (<i>Thymus vulgaris</i>), трава	Тимол, карвакрол, лютеолин	Антисептическое, улучшение органолептических показателей	[3, 107, 130]

Продолжение таблицы 1.3.1

Вид растительного сырья	Основные группы БАВ	Функциональное значение в пищевых системах	Источник
Тысячелистник обыкновенный (<i>Achillea millefolium</i>), трава	Ахиллеин, хамазулен, флавоноиды	Желчегонное, стимуляция метаболизма	[5, 76]
Люцерна посевная (<i>Medicago sativa</i>), трава	Сапонины, витамины К и С, флавоны	Гипохолестеринемическое действие	[33, 61]

Выбор данных объектов обусловлен их богатым химическим составом, включающим полисахариды, витамины и микроэлементы. Особое внимание уделялось содержанию фенольных соединений и флавоноидов, которые определяют антиоксидантный потенциал готовых напитков и их способность к биотрансформации в процессе ферментации [105].

1.4 Нормирование суточного потребления биологически активных веществ в составе функциональных пищевых систем

Для обоснования функциональной направленности разрабатываемых напитков на основе растительного сырья и пробиотической культуры чайного гриба необходимо соотнести содержание биологически активных соединений с установленными нормами их физиологической потребности. Согласно методическим рекомендациям МР 2.3.1.0253-21, для взрослого населения установлены следующие уровни адекватного суточного потребления некоторых пищевых веществ и БАВ в составе продуктов лечебного и профилактического питания и биологически активных добавок (БАД) к пище (таблица 1.4.1) [43].

Таблица 1.4.1 – Рекомендуемые суточные дозы потребления некоторых БАВ в составе функциональных продуктов

Биологически активные соединения пищи	Адекватный уровень потребления (ед. измерения)
Аминокислоты	
Незаменимые:	
Валин	2,5 г
Лейцин	4,6 г
Изолейцин	2,0 г
Лизин	4,1 г
Метионин + цистин	1,8 г
Треонин	2,4 г
Фенилаланин + тирозин	4,4 г
Заменимые:	
Аланин	6,6 г
Аргинин	6,1 г
Аспарагиновая кислота	12,2 г
Гистидин	2,1 г
Глицин	3,5 г
Глутаминовая кислота	13,6 г
Пролин	4,5 г
Серин	8,3 г
Полиненасыщенные жирные кислоты	
Семейство ω -3 (α -линоленовая, эйкозапентаеновая, докозагексаеновая)	1 г
Семейство ω -6 (линолевая, γ -линоленовая, конъюгат линоленовой кислоты)	10 г
Органические кислоты	
Ангеликовая, винная, гликолевая, глиоксалевая, изолимонная, коричная, п-кумаровая, лимонная, фумаровая, яблочная)	500 мг
Валериановая кислота	2 мг
Полимерные фенольные соединения	
Танины	200 мг

Продолжение таблицы 1.4.1

Биологически активные соединения пищи	Адекватный уровень потребления (ед. измерения)
Полифенольные соединения	
Флавонолы и их гликозиды (кверцетин, кемферол, мирицетин, изорамнетин, рутин)	30 мг (в пересчете на рутин)
Флавоны (лютеолин, апигенин, акацетин, диосметин) или флавоногликозиды (витексин, изовитексин, ориентин, изоориентин)	5 мг
Флаваноны (нарингенин, гесперитин, эриодиктиол или флаванон-гликозиды (нарингин, геспередин)	100 мг (в пересчете на геспередин / нарингин)
Флаван-3-олы (катехины) (катехин, эпикатехин, галлокатехин, эпигаллокатехин)	50 мг
Дигидрофлавонолы (дигидрокверцетин, дигидрокемпферол)	25 мг
Проантоцианидины	50 мг
Антоцианы	50 мг
Фенольные кислоты	
Гидроксикоричные кислоты (цикориевая, кафтаровая, хлорогеновая, феруловая, кофейная)	10 мг
Галловая, п-оксибензойная	100 мг
Витамины	
Витамин С (аскорбиновая кислота, ее соли и эфиры, дегидроаскорбиновая кислота)	70,0 мг
Витамин В ₁ (тиамин)	1,7 мг
Витамин В ₂ (рибофлавин, флавиномононуклеотид)	2,0 мг
Витамин В ₆	2,0 мг
Витамин В ₁₂ (цианкобаламин, метилкобаламин)	3,0 мкг
Витамин РР	20,0 мг
Пантотеновая кислота (и ее соли)	5,0 мкг
Биотин	50,0 мкг
Фолиевая кислота	400,0 мкг
Витамин А	1,0 мг

Таким образом, представленные данные о рекомендуемых уровнях суточного потребления нутриентов задают направление исследований для

разработки рецептур функциональных напитков. Установленные нормы позволяют количественно оценить адекватность содержания биологически активных веществ в разрабатываемых продуктах.

1.5 Патентный анализ методов получения растительных экстрактов для производства безалкогольных напитков

На выбор метода экстрагирования растительного сырья влияет в первую очередь содержание БАВ в конечном экстракте, сложность проведения процедуры и продолжительность выполнения методики. От данных характеристик зависит выбор оптимального метода экстрагирования растительного сырья.

Основные методы получения экстрактов из растительного сырья для производства безалкогольной продукции приведены в таблице 1.5.1.

Таблица 1.5.1 – Перечень изобретений, публикаций, описывающих методы получения экстрактов из растительного сырья

№ п/п	Публикации, изобретения по методам экстракции растительного сырья	Источник
1	Способ получения растительных экстрактов, в котором происходит экстрагирование ферментным препаратом «ВискоСтар»	[56]
2	Определение оптимальных параметров экстракции биологически активных веществ при получении водно-спиртовых настоев лекарственных растений	[38]
3	Анализ способов очистки экстрактов из дикорастущего сырья Сибирского федерального округа	[2]
4	Способ получения растительного экстракта с повышенным содержанием селена, в котором осуществляется водно-ферментативное экстрагирование смеси сырья	[53]
5	Функциональные напитки на основе растительного сырья Красноярского края получали водным экстрагированием путем трехкратного настаивания	[79]

Продолжение таблицы 1.5.1

№ п/п	Публикации, изобретения по методам экстракции растительного сырья	Источник
6	Способ получения молочно-растительного экстракта топинамбура характеризуется использованием в качестве экстрагента ультрафильтрат творожной сыворотки с добавлением фермента	[54]
8	Исследование процесса получения экстрактов из растительного сырья и их использование в производстве сыров	[74]
9	Способ производства экстракта для безалкогольного напитка описывает применение в качестве экстрагента водный раствор сахарозы концентраций 40–60 %	[60]
10	Способ производства экстрактов для концентрированных основ и напитков предполагает проведение экстракции с помощью водно-спиртового ферментного раствора	[51]
11	Сироп из растительного сырья и способ его получения включает приготовление водного экстракта из растительного сырья при температуре 60–95 °С в течение 1,5–3,0 часов с одновременным перемешиванием и измельчением и с дальнейшим отжимом и фильтрацией	[58]

Поиск публикаций осуществлялся по выборке «способы получения растительных экстрактов для безалкогольных напитков». Для научного эксперимента были выбраны водно-этанольные экстрагенты. Выбор водно-спиртовых растворов в качестве экстрагентов обусловлен их универсальной растворяющей способностью: присутствие этанола позволяет максимально полно извлечь гидрофобные флавоноиды и антиоксиданты, в то время как водная фаза обеспечивает выход водорастворимых сахаров и витаминов [37].

Данный тип экстрагента является технологически безопасным для пищевых производств и обеспечивает микробиологическую чистоту экстрактов. Использование бинарных смесей (вода-спирт) позволяет варьировать селективность процесса, обеспечивая высокий выход целевых компонентов.

1.6 Мировой и российский рынок напитка на основе чайного гриба

Мировой рынок чайного гриба. За последнее десятилетие рынок чайного гриба набирает стремительный рост популярности на развитых рынках [147].

Мировой рынок чайного гриба оценивался в 3,4 млрд долл. США в 2023 г. и, по прогнозам, достигнет 17,1 млрд долл. США к 2033 г. при среднегодовом темпе роста 17,4 % с 2023 по 2033. Стабильное увеличение потребительского спроса привело к качественному изменению рыночного предложения и проведению сегментации рынка по типам используемого сырья и технологий [141].

Сегментация рынка чайного гриба:

1. По вкусу. Данный сегмент рынка делится на ароматизированные и натуральные напитки из чайного гриба. Ароматизированный сегмент занимает большую долю на рынке из-за растущей склонности потребителей к новым вкусам (рисунок 1.6.1 (а)). К вкусовым добавкам относят травы и специи, цитрусовые, ягоды, яблоки, кокос и манго, цветы и др., их доля представлена на рисунке 1.6.1 (b). В период с 2023 по 2033 год на рынке чайного гриба может наблюдаться регулярный рост вкусовых предпочтений при среднегодовом темпе роста 16,3 %. Поскольку все больше людей готовы пробовать что-то новое, чайный гриб становится чрезвычайно популярным, его продажи резко возросли. Ожидается, что в ближайшие годы дополнительное обогащение чайного гриба травами и ягодами, будет пользоваться большим спросом, поскольку ведущие производители чайного гриба концентрируются на создании необычных вкусов, сочетая его с травами и специями. Еще одной заметной категорией в сегментации рынка напитков из чайного гриба являются цитрусовые, спрос на которые, как ожидается, значительно увеличится [141].

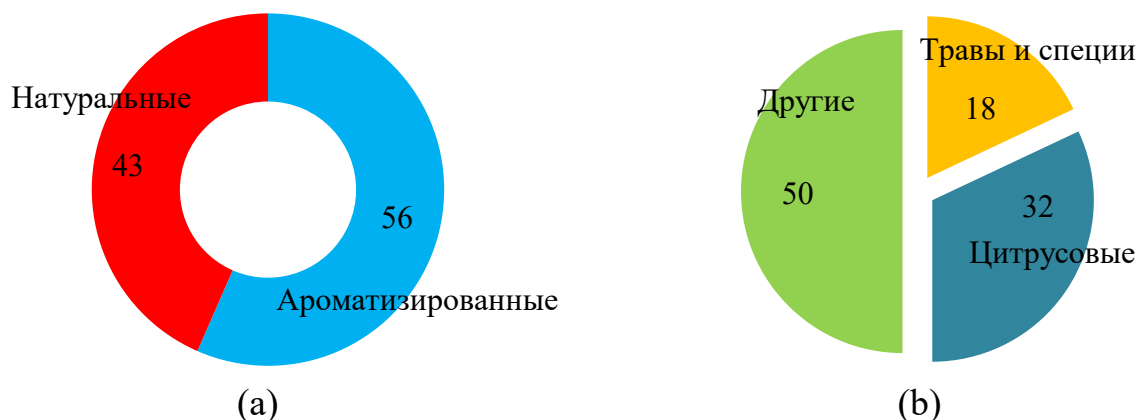


Рисунок 1.6.1 – Сегментация рынка напитков из ЧГ: (a) по вкусу;
(b) ароматизированных напитков из ЧГ за 2023 г., %

2. По каналам сбыта. Напиток распространяют по супермаркетам, различным магазинам здорового питания, интернет-магазинам и др. Массовые предприятия торговли, такие как супермаркеты и гипермаркеты, стремятся предоставить потребителям широкий выбор пробиотических и функциональных напитков. В 2023 г. значительная доля продаж пришлась на сегмент гипермаркетов/супермаркетов. Основными причинами увеличения продаж через супермаркеты являются свободный выбор, разумные цены и разнообразие напитков на прилавках. Онлайн-сегмент – самый быстрорастущий канал продаж. Это связано с тем, что товар может быть отправлен напрямую от продавца, без дополнительных затрат на хранение [141].

3. По регионам. Северная Америка обеспечила наибольшую долю мирового дохода в данном сегменте за 2023 год. Изменения в образе жизни людей, предпочтений в еде и напитках, а также рост численности населения, которое заботится о своем здоровье – все это способствует росту североамериканского рынка. В Европе на рынке чайного гриба в течение прогнозируемого периода 2023–2033 гг. будет наблюдаться значительный рост доходов благодаря таким факторам, как доступность и вкус. Лидерами европейского рынка чайного гриба являются Великобритания, Франция и Испания. Ожидается, что в течение прогнозируемого периода Россия достигнет самого большого роста рынка чайного гриба, поскольку для некоторых жителей страны он является домашней альтернативой

безалкогольным напиткам. Рынок Азиатско-Тихоокеанского региона неуклонно растет благодаря таким факторам, как повышение осведомленности о здоровом питании и растущее присутствие в социальных сетях. Поскольку чайный гриб зародился в Японии и Китае, в настоящее время реализуется несколько национальных и региональных проектов по восстановлению утраченного наследия. Региональный прогноз представлен в таблице 1.6.1 [120].

Таблица 1.6.1 – Региональный прогноз мирового рынка чайного гриба

Показатели сравнения	США	Германия	Великобритания	Франция	Китай
Размер рынка к концу прогнозируемого периода (2033 г.), млрд долл. США	4,60	2,80	1,40	0,77	0,74
Абсолютный рост рынка, млрд долл. США	3,60	2,40	1,10	0,59	0,59
Среднегодовой темп роста с 2017 по 2022 г., %	14,3	19,3	17,0	14,6	14,7
Среднегодовой темп роста с 2023 по 2033 г., %	16,3	22,1	18,0	15,4	16,8

Ключевыми игроками на мировом рынке чайного гриба являются: «Макана Бевериджиз», «Вандер дринк», «КеВита», «Хумм Комбуча», «Ридс», «Кэрпи дием», «НессАлла», «Лайв Сода», «Космик», «Бучи Комбуча», «Джитис ливинг фудс», «Хайн Целестейл групп», «Гудзон ривер фудс», «Моджо Бевериджиз», «Ремеди Комбуча», «Ривив Комбуча», «Рок Комбуча», «Тоника».

Рост мирового рынка комбучи, обусловленный глобальным трендом на функциональное питание, создает предпосылки для аналогичной трансформации потребительских предпочтений в России. Однако, в отличие от мировых лидеров по производству комбучи с их сформировавшейся структурой, отечественный сегмент комбучи находится в стадии активного становления.

Рынок безалкогольных напитков и комбучи в России и Кузбассе. В настоящее время на российском рынке безалкогольных напитков наблюдается

устойчивая тенденция замены синтетических компонентов натуральными ингредиентами, что позволяет повысить биологическую ценность готовой продукции [68, 69].

Российское производство безалкогольных напитков в 2022 г. составило 19,8 млрд л, что на 7,3 % ниже, чем в предыдущем году. До 2021 г. включительно наблюдалась положительная динамика производства безалкогольных напитков (рисунок 1.6.2 (а)). Динамика рынка сладких газированных напитков представлена на рисунке 1.6.2 (б). Так, в 2021 г. объем потребления показывал рост на 2,9 % по сравнению с 2020 г. В 2022 г. наблюдалось сокращение потребления сладких напитков [69].

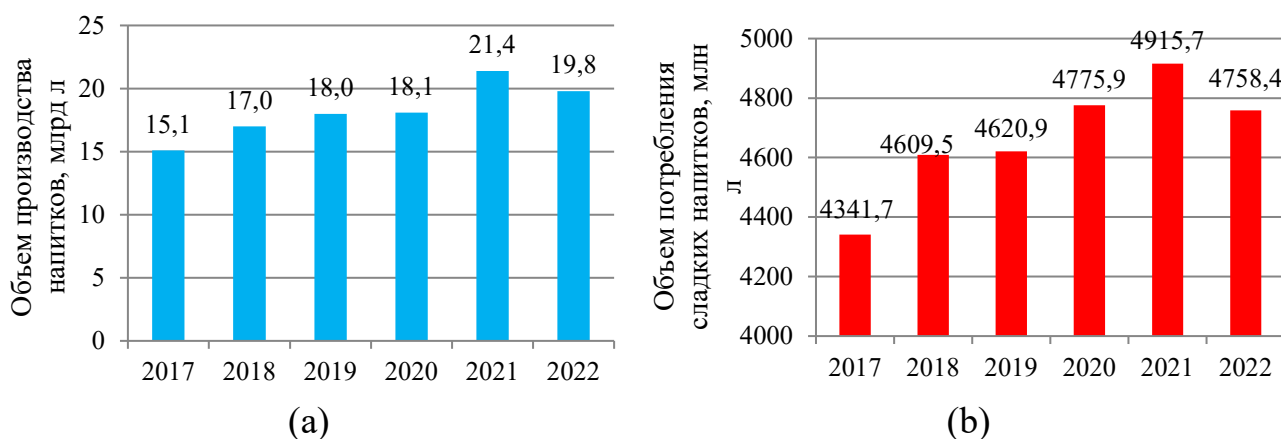


Рисунок 1.6.2 – Динамика значений: (а) объема производства безалкогольных напитков в России; (б) потребления сладких газированных напитков в России

Снижение потребления сладких газированных напитков отвечает стратегическим приоритетам, направленным на сохранение здоровья населения. В настоящее время в России действует указ президента Российской Федерации от 28.02.2024 г. № 145 «О Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации» до 2030 г. Согласно указу приоритетами научно-технологического развития следует считать направления, позволяющие получить значимые научные и научно-технические результаты, создать отечественные наукоемкие технологии. В частности, направление, обеспечивающее создание безопасных и качественных, в том числе функциональных, продуктов питания.

Цель настоящей работы – создание биотехнологии функционального напитка на основе *Medusomyces gisevii*, обогащенного растительными экстрактами, соответствует приоритету научно-технологического развития: создание безопасных и качественных, в том числе функциональных, продуктов питания, что говорит об актуальности и значимости исследования.

Отечественный рынок комбучи в настоящее время находится в стадии активного формирования, демонстрируя среднегодовые темпы роста на уровне 16–19 %. Ожидается, что рынок сохранит устойчивую положительную динамику со среднегодовыми показателями роста в пределах 15–20 % на протяжении 2025–2030 гг. [65].

На отечественном рынке выделяются три группы производителей:

1. Федеральные лидеры: компании «Комбуча Хилл» (Санкт-Петербург), «Комбуча Лаб» (Москва) и «Биофудлаб» (Москва), обладающие мощной производственной базой и широкой географией дистрибуции.

2. Собственные торговые марки: крупные ритейлеры («ВкусВилл», «Азбука Вкуса»). ВкусВилл – лидер по реализации комбучи под собственным брендом. Темпы роста продаж в 2025 году в этой сети составили 16 %.

3. Специализированные и крафтовые бренды: локальные производители («Доза», «Комбути», «Моя Комбуча», «Симбиотика», «Равиш», «Лайв Брю»).

Характерной особенностью современного этапа развития рынка является локализация сырьевой базы. В то время как классические рецептуры базируются на черном (28 %) и зеленом (24 %) чае, около 13 % новых продуктов выпускается с использованием растительных экстрактов (иван-чай, корень лопуха, чабрец).

В Кемеровской области производство комбучи характеризуется низкой степенью освоения рынка: основная часть продукции в кемеровских магазинах является привозной. Промышленное производство комбучи в Кузбассе в крупных объемах на 2025 год официально не зафиксировано. Однако наличие 16-ти профильных предприятий открывает широкие перспективы для внедрения разработанной технологии. Наиболее крупные представители в данном сегменте:

ООО «ТД Золотая сова», ООО «Талинка», ООО «Хрустальное», ООО «Квас-Кузбасс», ООО «Альштайнер» – частная пивоварня, ООО «Мануфактура» [27].

Эффективность функционирования указанных предприятий и востребованность их продукции тесно связаны с демографическими показателями региона. Данные о динамике численности населения Кузбасса, определяющей объем целевой потребительской аудитории, приведены на рисунке 1.6.3. Из графика следует, что с каждым годом численность населения Кузбасса сокращается, что связано с естественной миграцией, а также с высокой смертностью в результате заболеваний, ведения нездорового образа жизни, высокого уровня загрязнений окружающей среды и других причин. Употребление нездоровых продуктов ведет к появлению серьезных болезней – ожирение, и как следствие проблемы сердечного характера, диабет и множество других опасных заболеваний. Сокращение употребления вредной пищи и замена ее на здоровую может повлиять на общее самочувствие населения и изменить демографию в Кузбассе в лучшую сторону [9].

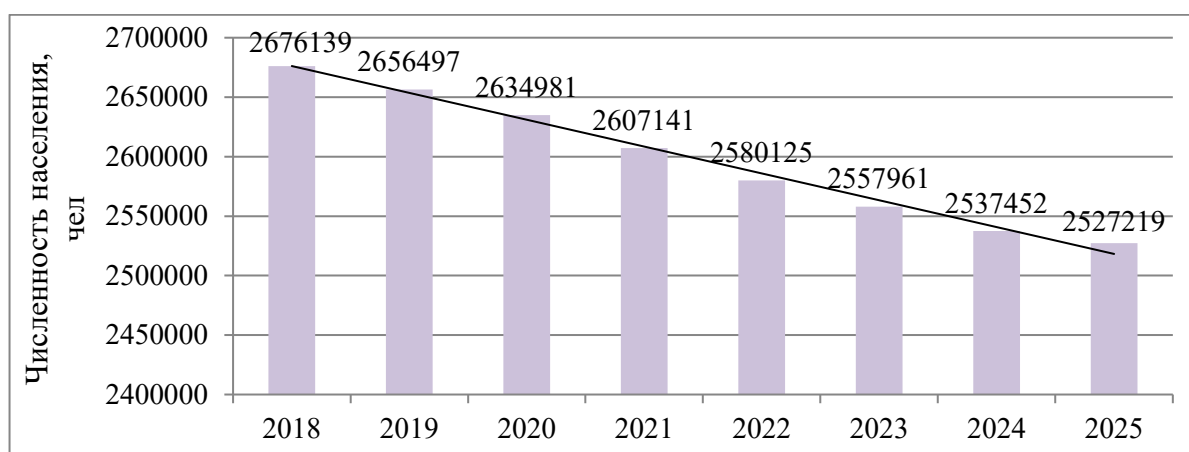


Рисунок 1.6.3 – Динамика численности постоянного населения в Кузбассе в среднем за год

В 2023 г. показатель общей смертности в Кузбассе составил 35634 человек (1393,1 на 100 тыс.). Прирост показателей смертности среди наиболее часто регистрируемых причин смерти за 2019–2023 гг. отмечен по болезням органов дыхания (на 22,0 %), болезням органов пищеварения (на 6,4 %), внешним причинам

смерти (на 18,8 %), в том числе всем видам транспортных несчастных случаев (на 14,9 %) (таблица 1.6.2) [26].

Таблица 1.6.2 – Динамика смертности населения Кузбасса от наиболее распространенных причин смерти, на 100 тыс. населения

Причины смерти	2019	2020	2021	2022	2023
Все причины	1426,0	1629,8	1825,3	1486,9	1393,1
Инфекционные и паразитарные болезни	76,4	71,0	67,7	59,8	52,2
Новообразования	244,0	247,0	240,6	234,1	239,1
Болезни системы кровообращения	659,8	805,7	900,9	654,5	533,9
Болезни органов дыхания	62,6	82,2	102,5	77,0	76,4
Болезни органов пищеварения	81,0	93,7	94,5	92,5	86,2

Как видно из таблицы 1.6.2, смертность по причинам заболеваний органов пищеварения постепенно увеличивается, что связано с экологической обстановкой в Кузбассе и неправильным питанием.

В связи с высокой заболеваемостью и смертностью в Кузбассе была утверждена региональная программа «Укрепление здоровья и формирование здоровьесберегающей среды на 2025–2030 годы», целью которой является увеличение к 2030 году доли граждан, ведущих здоровый образ жизни, в 1,5 раза за счет формирования здоровьесберегающей среды и повышения мотивирования граждан к ведению здорового образа жизни [47].

Для осуществления работы программы разработан план мероприятий [47]. Отражены несколько важных позиций, затрагивающих актуальность настоящего исследования:

1. Увеличение доли граждан, прошедших углубленное профилактическое консультирование в центрах здоровья, которым рекомендованы индивидуальные программы здорового питания, до 95 %.

2. Снижение потребления алкогольной продукции на душу населения (в литрах этанола) до 9,17.

3. Увеличение доли граждан, ведущих здоровый образ жизни, до 10,5 %.

1.7 Вывод по литературному обзору

В литературном обзоре были проанализированы отечественные и зарубежные источники на предмет изучения чайного гриба: его химического состава, биологических свойств, параметров культивирования и микробного состава.

В обзоре также затронуты другие напитки с функциональными свойствами, которые могут применяться для профилактики различных заболеваний человека.

Приводится характеристика биологического потенциала различных видов растительного сырья. Известно, что растительные экстракты содержат в своем составе большое количество химических компонентов, которые могут оказывать положительное действие на организм человека.

Патентный поиск позволил проанализировать существующие методики получения растительных экстрактов для использования их в отрасли безалкогольных напитков.

Изучен мировой и отечественный рынок комбучи. Отмечена устойчивая динамика роста российского рынка комбучи (15–20 % ежегодно), что в сочетании с государственными приоритетами в области создания безопасных функциональных пищевых продуктов определяет актуальность разработки новых рецептурных композиций.

Основные заключения по литературному обзору:

1. Процессы, протекающие в ферментированных напитках, повышают органолептические и питательные качества продуктов за счет образования БАВ, что положительным образом сказывается на общем состоянии организма.

2. На основании анализа научно-технической литературы охарактеризован биологический потенциал 7-ми видов растительного сырья для их последующего экспериментального отбора. Систематизация научной информации позволила принять в качестве базисных параметры культивирования чайного гриба (температура культивирования 28 °С с постоянной подачей воздуха в объеме 0,5 м³/мин×1 м³; состав питательной среды на 1 дм³ воды: чай (черный / зеленый / иван-

чай) 2 г., сахар 100 г., жидкий инокулят 75 см³); и выбрать параметры проведения процесса водно-спиртовой экстракции. Данный технологический подход ориентирован на извлечение флавоноидов при одновременном упрощении производственного цикла.

3. Создание безопасных и качественных, в том числе функциональных, продуктов питания является одним из направлений, соответствующих приоритету научно-технологического развития Российской Федерации до 2030 г.

4. Создание функционального напитка позволяет следовать программе, принятой в Кемеровской области, «Укрепление здоровья и формирование здоровьесберегающей среды на 2025–2030 годы», направленной на формирование у граждан мотивации к ведению здорового образа жизни – правильного питания, здоровых привычек и т.д.

ГЛАВА 2 ОРГАНИЗАЦИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА, МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В главе раскрываются проблемы, связанные с организацией эксперимента, методами и объектами исследований.

2.1 Организационная схема исследования

Научная работа выполнена на кафедре бионанотехнологии Технологического института пищевой промышленности ФГБОУ ВО «КемГУ». Общая организационная схема исследования по разработке функционального напитка представлена на рисунке 2.1.1.

Диссертационная работа проводилась в три последовательных этапа: на первом этапе осуществлялись теоретические исследования, второй этап состоял из экспериментальной части, на третьем этапе все полученные результаты исследований переводили в практическую реализацию.

Теоретическая часть состояла из анализа литературных источников российских и зарубежных работ по тематике исследования. Были рассмотрены ферментированные напитки, и акцентировано внимание на напитке из чайного гриба: описаны основные параметры ферментации; отражены функциональные свойства напитка и польза для здоровья. Охарактеризован биологический потенциал растительного сырья для последующего экспериментального отбора. Проведен анализ существующих методов получения растительных экстрактов для использования в безалкогольной отрасли. Рассмотрен мировой и отечественный рынок комбучи, позволяющий оценить текущую ситуацию в данном сегменте.

Экспериментальная часть исследования проходила в несколько этапов. На первом этапе осуществлялся поиск и первичный отбор растительного сырья.

Проведен сравнительный скрининг 7 видов растительного сырья. Экстрагирование БАВ проводилось методом мацерации, при этом объемная доля этанола в водно-этанольном экстрагенте подбиралась экспериментально для достижения максимального выхода БАВ. На основании данных по массовой доле флавоноидов были выявлены три растительных образца (тимьян, тысячелистник, женьшень), отобранные для дальнейшего использования. Для образцов экстрактов был идентифицирован качественный и количественный состав БАВ. Параллельно проводилась оценка безопасности сырья по показателям содержания тяжелых металлов, радионуклидов и микробиологической чистоты согласно ТР ТС 021/2011.

На втором этапе осуществлялось формирование контрольных образцов на трех типах субстратов (черный чай, зеленый чай и иван-чай) без внесения растительных экстрактов. Проведено обоснование рекомендуемой продолжительности культивирования на основе скрининга биохимического профиля и динамики физико-химических показателей в заданные интервалы ферментации (3-и, 5-е и 7-е сутки). На основании полученных данных был научно обоснован выбор 5-х суток как рациональной продолжительности ферментации, обеспечивающей максимальную биологическую ценность и целевые технологические характеристики продукта.

На третьем этапе осуществляли разработку рецептурных параметров питательных сред. Была сформирована схема вариативных составов, включающая 27 комбинаций, различающихся типом чайной основы (черный, зеленый, иван-чай), составом бинарных фитокомпозиций («женьшень + тысячелистник», «женьшень + тимьян», «тимьян + тысячелистник») и их концентрацией (2,5 %, 5,0 %, 7,5 %). После приготовления питательных сред проводилась органолептическая оценка, по результатам которой было отобрано 9 рецептурных составов для дальнейшего исследования.

БИОТЕХНОЛОГИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО НАПИТКА НА ОСНОВЕ *MEDUSOMYCES GISEVII* С ДОБАВЛЕНИЕМ ЭКСТРАКТОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

1. Теоретические исследования

Анализ зарубежной и отечественной литературы

- обзор литературы по теме исследования;
- постановка цели исследования;
- формулировка задач исследования.

2. Экспериментальные исследования

Скрининг растительного сырья и идентификация компонентного состава приоритетных экстрактов

- отбор и обоснование выбора растительного сырья по результатам определения массовой доли флавоноидов;
- количественный анализ компонентного состава БАВ в экстрактах;
- исследование показателей безопасности растительного сырья.

Комплексная оценка метаболической активности, биохимического профиля и органолептических характеристик контрольных образцов

- обоснование продолжительности культивирования на основе оценки биохимического профиля и динамики физико-химических показателей *Medusomyces gisevii*;
- анализ органолептического профиля контрольных образцов.

Разработка рецептур и комплексная оценка показателей качества образцов функциональных напитков на основе *Medusomyces gisevii* и фитокомпозиций

- разработка и скрининг рецептурных питательных сред;
- направленное культивирование и исследование физико-химических свойств опытных образцов;
- изучение биохимических свойств опытных образцов;
- оценка синергетического эффекта компонентов;
- исследование аминокислотного состава и витаминного профиля приоритетных образцов;
- сенсорная оценка и анализ показателей безопасности функциональных напитков.

3. Практическая реализация результатов исследования

Разработка технологической схемы производства функционального напитка

Расчет экономической эффективности производства напитка

Разработка технической документации

Промышленная апробация предлагаемой технологии

Роль разработанных функциональных напитков в обеспечении суточной потребности в витаминах и аминокислотах

Рисунок 2.1.1 – Общая организационная схема исследования

На четвертом этапе проводилась ферментация симбиотической культуры *Medusomyces gisevii* в течение 5-и суток на отобранных 9-ти питательных средах, по завершении которой осуществлялась биохимическая оценка образцов (массовая доля флавоноидов и антиоксидантная активность) и рассчитывался коэффициент синергизма для каждого вида полученных образцов напитка. По совокупному критерию максимальных значений показателя антиоксидантной активности и коэффициента синергизма были отобраны 3 вида приоритетных образцов (по одному для каждой чайной основы). Для отобранных образцов проведено расширенное исследование аминокислотного и витаминного составов, а также дана комплексная оценка качества и безопасности образцов готового функционального напитка.

На заключительном этапе работы осуществлялась разработка технологической схемы производства образцов напитка, составление рекомендаций по его употреблению и расчет экономической эффективности производства.

2.2 Объекты исследования

Объектами научного исследования являлись:

1. Симбиотическая культура чайного гриба *Medusomyces gisevii*.
2. Растительное сырье: тимьян (листья и стебли), тысячелистник (листья и стебли), люцерна (листья и стебли), лопух (корни), женьшень (корни), медуница (листья и стебли), клевер (листья и стебли).
3. Растительные экстракты: спиртовые извлечения (40 %, 55 %, 60 %, 70 % и 75 % этанол) из трех видов сырья – тимьян обыкновенный *Thymus vulgaris* и тысячелистник обыкновенный *Achillea millefolium*, отобранных по критерию максимального содержания флавоноидов, и женьшень настоящий *Panax ginseng* в качестве адаптогена.
4. Питательные среды, включающие тип питательного субстрата (черный чай, зеленый чай и иван-чай) и бинарные фитокомпозиции в соотношении 1:1

(комбинации экстрактов женьшеня, тимьяна и тысячелистника) с дозировкой внесения в среду 2,5 %, 5,0 % и 7,5 % от объема субстрата.

5. Образцы функциональных напитков на основе культуры *Medusomyces gisevii*:

- контроль: культуральная жидкость, полученная путем ферментации в течение 3-х, 5-ти и 7-ми суток черного чая, зеленого чая и иван-чая, без экстрактов;
- опытные образцы: культуральная жидкость, полученная путем ферментации в течение 5-ти суток черного чая, зеленого чая и иван-чая, с предварительно внесенными фитокомпозициями.

На различных этапах эксперимента применялись следующие расходные материалы и сырье:

- сахар белый свекловичный кристаллический, ГОСТ 33222-2015;
- чай черный «Richard. Royal English Breakfast» (ООО «Май», Россия);
- чай зеленый «Greenfield. Flying Dragon» (ООО «Орими», Россия);
- иван-чай «Столкушино» (ИП Озеров Виталий Алексеевич, Россия);
- вода питьевая, СанПиН 1.2.3685-21;
- вода дистиллированная, ГОСТ Р 58144-2018;
- этиловый спирт, ГОСТ 5962-2013;

6. сухое сырье растений *Thymus vulgaris*, *Achillea millefolium*, *Panax ginseng* (ООО «Русские корни», Россия).

Исследование проводилось на современном аналитическом оборудовании:

- рефрактометр HI 96801 («Hanna Instruments», Германия);
- электрическая плита HS-201 («SUPRA», КНР);
- термостат Shaking incubator LSI-3016R («Labtech», Корея);
- аналитические весы BM 313M-II (ООО «ОКБ Веста», Россия);
- pH-метр S220-Kit («MettlerToledo», Германия);
- спектрофотометр UV 1800 («Shimadzu», Япония);
- жидкостный хроматограф LC-20 («Shimadzu», Япония);
- биореактор BIOSTAT A («Sartorius Stedim Biotech GmbH», Германия).

В работе применялись отечественные и импортные химические реактивы, имеющие степень чистоты не ниже оценки «химически чистый», лабораторные приборы и посуда, лабораторные расходные материалы.

2.3 Методы исследования

В работе применялись классические и современные методы исследования.

1. Методология экстрагирования, скрининга и идентификации БАВ отобранного сырья.

На начальном этапе проводился сравнительный скрининг 7-ми видов растительного сырья. Экстрагирование [2, 38, 51, 79] осуществляли методом однократной мацерации измельченного сырья при гидромодуле 1:20 (тимьян, клевер, медуница, лопух, люцерна) и 1:50 (женьшень, тысячелистник), температуре 20 ± 1 °С в течение 72 часов с периодическим перемешиванием (3 раза в сутки). В качестве экстрагента использовали водно-этанольные растворы. Объемные доли этанола у экстрагента подбирались экспериментально.

Готовили образцы экстрактов исследуемого растительного сырья. Брали навески изучаемых растительных объектов массой 1 г, взвешивали в конической колбе и добавляли к навескам 50 см³ этанола (соотношение сырья к экстрагенту 1:50 для тысячелистника или женьшеня) или 20 см³ этанола (соотношение сырья к экстрагенту 1:20 для тимьяна, клевера, медуницы, лопуха, люцерны). Использовали различную концентрацию этилового спирта 40 %, 55 %, 60 %, 70 %, 75 % для определения наилучшего выхода флавоноидов для всех исследуемых образцов. Полученные образцы экстрактов фильтровали через фильтр «желтая лента» [143].

Выбор приоритетных растительных образцов для создания рецептурных композиций осуществлялся по результатам сравнительного анализа, где ключевым критерием служил максимальный показатель массовой доли флавоноидов в экстрактах.

Для углубленного изучения компонентного состава отобранные образцы растительных экстрактов подвергались анализу методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Данный этап позволил установить точное количественное содержание биологически активных веществ.

2. Изучение показателей безопасности растительного сырья.

Определение содержания тяжелых металлов и радионуклидов выполняли по ОФС.1.5.3.0001.15 «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» [48]. Количество тяжелых металлов определяли согласно ОФС.1.5.3.0009.15 «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах» [49].

Определение микробиологической чистоты проходило по ОФС.1.2.4.0002.15 «Микробиологическая чистота» [41].

3. Формирование контрольных образцов и изучение динамики физико-химических и биохимических показателей культуральной жидкости *Medusomyces gisevii*.

В качестве контрольных образцов использовалась культуральная жидкость на основе трех типов субстратов (черный чай, зеленый чай, иван-чай) без добавления растительных экстрактов. Для установления рекомендуемой продолжительности ферментации и идентификации пика биологической активности, проводился мониторинг физико-химических и биохимических показателей в динамике на 3, 5 и 7 сутки культивирования.

На данном этапе работы, согласно изученным источникам литературы и результатам предыдущих собственных исследований [52, 70, 71, 72], были выбраны состав питательной среды и рекомендуемые параметры культивирования микробного сообщества *Medusomyces gisevii* для получения образцов культуральной жидкости чайного гриба с высоким содержанием биологически активных веществ.

Вся лабораторная посуда и инструменты были стерилизованы в течение 60 минут в сушильном шкафу при 180 °С.

Приготовление питательной среды проходило следующим образом [70]: черный чай, зеленый чай или иван-чай брали в количестве 0,2 % от 1 дм³ воды, заваривали в течение 30 минут вскипяченной до 99±1 °С водой (таблица 2.3.1). Сахар, в количестве 10 % от объема воды, вводили в заваренный чай и тщательно перемешивали до полного растворения. Приготовленные образцы питательной среды остужали до комнатной температуры и вносили биомассу *Medusomyces gisevii* и жидкий инокулят в количестве 7,5 %.

Таблица 2.3.1 – Состав питательной среды для получения культуральной жидкости чайного гриба

Компонентный состав питательной среды	Количество на 1 дм ³ воды
Чай (черный, зеленый или иван-чай), г	2
Сахар, г	100
Жидкий инокулят, см ³	75

Культивирование чайного гриба осуществляли при рациональных значениях технологических параметров: температура культивирования 28±1 °С, постоянная аэрация в объеме 0,5 м³/(мин×1м³), рН≥3, продолжительность культивирования 3, 5, и 7 суток [52, 59, 73].

В установленные интервалы времени (3, 5, 7 суток) контрольные образцы подвергались комплексному анализу по следующим параметрам:

- органолептические показатели;
- динамика активной (рН) и титруемой кислотности: для фиксации скорости метаболизма *Medusomyces gisevii* и накопления комплекса органических кислот;
- динамика массовой доли сухих веществ: для контроля глубины конверсии углеводов в процессе жизнедеятельности *Medusomyces gisevii*;
- накопление флавоноидных соединений и антиоксидантная активность: для обоснования рекомендуемой продолжительности ферментации, обеспечивающей максимальную биологическую ценность продукта;

– биотрансформация аминокислотного профиля: для обоснования рекомендуемой продолжительности ферментации и оценки динамики синтеза и распада свободных аминокислот.

4. Формирование и разработка состава питательных сред, и направленное культивирование *Medusomyces gisevii* (опытные образцы).

Процесс создания функциональных напитков реализовывался в три последовательных этапа.

Разработка рецептурных питательных сред (до ферментации). Для установления рациональных значений параметров обогащения была сформирована схема вариативных составов, включающая 27 комбинаций. Разработка осуществлялась на основе трех варьируемых параметров:

- тип субстрата: черный чай, зеленый чай и иван-чай;
- качественный состав фитокомпозиций: бинарные смеси экстрактов в соотношении 1:1 «женьшень + тысячелистник», «женьшень + тимьян», «тимьян + тысячелистник»;
- количественная дозировка: внесение композиций в концентрациях 2,5 %, 5,0 % и 7,5 % от объема питательной среды.

Термическая деалкоголизация, сенсорный скрининг и подготовка к инокуляции. Для реализации гипотезы о синергизме и исключения ингибирующего влияния водно-этанольных экстрактов на культуру, фитокомпозиции вносились до начала ферментации в чайную основу, температура которой составляла 79 ± 1 °С. Данный режим обеспечивал удаление этанольной фракции (деалкоголизацию) при сохранении термостабильных БАВ [55].

Отбор наиболее перспективных образцов проводился методом органолептического анализа непосредственно после внесения экстрактов в чайный субстрат и охлаждения до 12 ± 2 °С. Из 27-ми первичных комбинаций было отобрано 9 видов образцов, характеризующихся гармоничным сенсорным профилем и отсутствием избыточной горечи.

Исследование биотехнологического потенциала и направленное культивирование отобранных сред. Отобранные 9 видов образцов подвергались

инокуляции симбиотической культурой *Medusomyces gisevii* по схеме контроля. Культивирование проводили в течение 5-ти суток. По завершении процесса полученные образцы напитков подвергались органолептическому, физико-химическому (содержание сухих веществ, титруемая кислотность, pH) и биохимическому (массовая доля флавоноидов и антиоксидантная активность) анализам для выявления 3-х приоритетных видов образцов (по одному на каждом чайном субстрате) с выраженным синергетическим эффектом и максимальным биологическим потенциалом.

5. Оценка аминокислотного состава и витаминного профиля приоритетных образцов.

На завершающем этапе исследования 3 вида приоритетных образцов, отобранные по результатам биохимического анализа и расчетного коэффициента синергизма, были подвергнуты углубленному биохимическому анализу. Целью данного этапа являлось определение аминокислотного состава и витаминного профиля полученных напитков. Данные показатели позволили количественно оценить накопление биологически активных веществ в процессе ферментации и подтвердить функциональную ценность разработанных систем.

6. Оценка соответствия приоритетных образцов показателям безопасности.

На заключительном этапе 3 вида приоритетных образцов были подвергнуты комплексной проверке на соответствие нормативным требованиям безопасности. Анализ проводился согласно ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции» [75]. Исследования включали определение содержания тяжелых металлов и микробиологических показателей.

7. Органолептический, физико-химические и биохимические методы анализа.

Органолептическая оценка проводилась по ГОСТ 6687.5-86 «Продукция безалкогольной промышленности. Методы определения органолептических показателей и объема продукции» [19] методом закрытой дегустации комиссией в составе 5-ти научных сотрудников кафедры бионанотехнологии. Образцы шифровались случайными трехзначными кодами и подавались сотрудникам при

температуре 12 ± 2 °С. Органолептические показатели оценивались по стандартной для безалкогольных напитков 25-балльной шкале (таблица 2.3.2). Результаты индивидуальных дегустационных листов обрабатывались методом расчета среднего арифметического значения с последующей проверкой согласованности мнений экспертов (таблица 2.3.3).

Таблица 2.3.2 – Критерии 25-балльной шкалы органолептической оценки образцов безалкогольных напитков

Показатель	Характеристика	Баллы	Оценка
Внешний вид, прозрачность, цвет	Соответствует наименованию, характерному для напитка, цвет с блеском	7	отлично
	Соответствуют наименованию, характерному для напитка, цвет без блеска	5	хорошо
	Слабая опалесценция	4	удовлетворительно
	Сильная опалесценция или осадок, снимается с дегустации	1	неудовлетворительно
Вкус и аромат	Характерные для напитка	12	отлично
	Хорошие	10	хорошо
	Слегка невыраженные	8	удовлетворительно
	Посторонние привкусы, несвойственный аромат	6	Неудовлетворительно
Насыщенность диоксидом углерода (CO ₂)	Сильное и длительное выделение пузырьков	6	отлично
	Сильное, слегка длительное выделение пузырьков	5	хорошо
	Непродолжительное выделение пузырьков, слабый вкус	4	удовлетворительно
	Выделение пузырьков газа, не ощущается покалываний на языке	2	Неудовлетворительно

Таблица 2.3.3 – Общая балльная оценка

Оценка	Баллы	Условия для получения оценки	Допуск в реализацию
отлично	23–25	Все показатели получили оценку «отлично»	допускается
хорошо	19–22	Показатели получили оценки «хорошо» и «отлично»	допускается
удовлетворительно	15–18	Показатели получили оценки «удовлетворительно», «хорошо», «отлично»	допускается
неудовлетворительно	14 и ниже	Хотя бы один показатель получил оценку «неудовлетворительно»	не допускается

Определение активной кислотности (показателя pH) осуществляли потенциометрическим методом по ГОСТ 26188-2016 «Продукты переработки плодов и овощей, консервы мясные и мясорастительные. Метод определения pH» [12].

Определение содержания сухих веществ проводили рефрактометрическим методом по ГОСТ 6687.2-90 «Продукция безалкогольной промышленности. Методы определения сухих веществ» [18].

Определение титруемой кислотности осуществляли методом титрования в присутствии цветного индикатора по ГОСТ ИСО 750-2013 «Продукты переработки фруктов и овощей. Определение титруемой кислотности» [20].

Определение суммы флавоноидных соединений осуществляли спектрофотометрическим методом по ГОСТ Р 55312-2012 «Прополис. Метод определения флавоноидных соединений» [23].

Определение антиоксидантной активности (АОА) проводили по методике A. Parsa and S.A. Salout [132]. Для приготовления 7 мМ раствора ABTS в мерную колбу на 50 см³ добавляли 0,18011 г ABTS. Приготовленный раствор в количестве 3 см³ смешивали с 30 мкл исследуемого образца чайного гриба и настаивали в течение 30 мин в темном месте. Раствор сравнения готовили аналогичным образом без добавления исследуемого образца (раствор ABTS).

Оптическую плотность определяли на спектрофотометре при длине волны 734 нм. Антиоксидантную активность, в %, находили по формуле [132]:

$$AOA = \frac{A(abts) - A(x)}{A(abts)} \times 100, \quad (2.3.1)$$

где A_{abts} – оптическая плотность рабочего раствора ABTS;

A_x – оптическая плотность исследуемого образца.

Определение содержания БАВ в экстрактах растительного сырья. Для анализа количественного состава БАВ в отобранных растительных образцах тимьяна обыкновенного *Thymus vulgaris* и тысячелистника обыкновенного *Achilleae millefolii* осуществляли разделение на стеклянной хроматографической колонке, методом ВЭЖХ с применением хроматографа Shimadzu LC-20AD, стальной колонки высокого давления с размером сорбента 2,5 мкм, диаметром 2,5 мм и длиной 250 мм. Условия элюирования: скорость потока 1 см³/мин, элюент вода: метанол, 0,1 % трифторуксусная кислота, с линейным градиентом от 40 % до 90 % метанола за 20 минут. Детектирование при длине волны 254 нм. Сбор индивидуальных веществ проходил автоматически с использованием коллектора фракций [143].

Для определения количественного содержания БАВ в образцах женьшеня настоящего *Panax ginseng* разделение осуществляли с использованием хроматографической колонки с сорбентом, модифицированным октадецильными и эндкипированную аминофенольными группами, и при применении в качестве элюента смеси вода : ацетонитрил, 0,1 % трибутиламиноном 85 : 15 и проведении элюирования в изократическом режиме, при скорости потока 1 см³/мин, времени элюирования 55 мин. Детектирование проводили с помощью флуоресцентного детектора, длина волны возбуждения 350 нм, длина волны детектирования 415 нм. Сбор индивидуальных веществ проходил автоматически с использованием коллектора фракций [143].

Определение содержания аминокислот и витаминов выполняли на хроматографе Shimadzu LC-20 Prominence с диодно-матричным детектором Shimadzu SPD20MA, длина волны 254 нм, колонкой Kromasil C-18 250,0×4,6 мм. Анализ осуществляли в градиентном режиме, скорость расхода элюента 1 см³/мин, температура колонки 40 °С, подвижная фаза: буферный раствор дигидрофосфата калия pH=3,4 (компонент А), 1 % раствор изопропилового спирта в ацетонитриле (компонент В). Для построения градуированной зависимости использовали стандартные концентрированные образцы аминокислот / витаминов (Sigma, Германия). Предподготовку образцов выполняли гидролизом в растворе 6М соляной кислоты при температуре 110 °С в течение 18 ч с последующей модификацией аминокислот с фенилизитиоционатом [143].

8. Оценка синергетического эффекта компонентов разработанных напитков.

Важнейшим этапом разработки биотехнологии функционального напитка являлось изучение взаимодействия вносимых образцов растительных экстрактов с метаболитами симбиотической культуры *Medusomyces gisevii*.

В рамках данного исследования осуществлялось выявление синергетического эффекта, при котором совокупное действие компонентов превышало простую сумму их индивидуальных свойств. Предполагали, что в процессе совместной ферментации происходит не только механическое смешивание нутриентов, а их биотрансформация. Ферментативный комплекс *Medusomyces gisevii* способен инициировать высвобождение связанных форм флавоноидов из экстрактов, переводя их в более активное и биодоступное состояние.

Для оценки степени взаимодействия компонентов использован расчетно-балансовый метод, основанный на сопоставлении теоретического содержания массовой доли флавоноидов ($C_{теор}$) с их фактическим выходом в готовом продукте ($A_{факт}$). Степень выраженности синергизма оценивали по коэффициенту синергизма (K_{syn}), представляющему собой отношение фактической массовой доли флавоноидов к расчетному значению [86].

Расчет теоретических значений массовой доли флавоноидов проводился с учетом рецептурных соотношений компонентов (контроля и экстрактов) по формуле [86]:

$$C_{теор} = (C_{контр} \times V_{контр}) + (C_{экстр1} \times V_{экстр1}) + (C_{экстр2} \times V_{экстр2}), \quad (2.3.2)$$

где: $C_{контр}$ – содержание флавоноидов в контрольном образце (культуральная жидкость на 5-е сутки), %;

$V_{контр}$ – объемная доля контроля в готовом напитке (выраженная в долях единицы);

$C_{экстр1}, C_{экстр2}$ – содержание флавоноидов в исходных растительных экстрактах, %;

$V_{экстр1}, V_{экстр2}$ – объемные доли соответствующих экстрактов в рецептуре (выраженные в долях единицы).

Для количественной оценки степени синергетического взаимодействия симбиотической культуры *Medusomyces gisevii* с фитокомпозициями использовали значения коэффициента синергизма (K_{syn}), рассчитываемые по формуле [86]:

$$K_{syn} = \frac{A_{факт}}{C_{теор}}, \quad (2.3.3)$$

где: $A_{факт}$ – фактическая массовая доля флавоноидов в опытном образце после 5 суток ферментации, %;

- если $K_{syn} > 1$, наблюдается эффект синергизма (взаимного усиления);
- если $K_{syn} = 1$, наблюдается простая аддитивность (смешивание);
- если $K_{syn} < 1$, наблюдается антагонизм (подавление свойств).

9. Статистический анализ проводили с использованием программ Microsoft Office Excel 2007 (Microsoft Corporation, USA), Statistica 10.0 (StatSoftInc., USA). Каждый эксперимент повторялся не менее трех раз, экспериментальные данные выражали как среднее значение $\pm$ стандартная ошибка. Дисперсионный анализ

(Тьюки критерий) использовали для выявления наличия значимого влияния концентрации экстрагента на содержание флавоноидов в растительных образцах и их водно-этанольных экстрактах, а также технологических параметров процесса (время ферментации, титруемая кислотность, значения pH раствора, состава среды культивирования, концентрации растительного экстракта) на качественные и количественные характеристики образцов комбучи на разных средах без и с добавлением выбранных растительных экстрактов. Вероятность 0,05 была выбрана в качестве значимого уровня при анализе всех изучаемых показателей как контрольных образцов культуральной жидкости *Medusomyces gisevii*, так и опытных образцов функциональных напитков, полученных в процессе исследования.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

В главе представлены результаты по разработке напитков на основе *Medusomyces gisevii* с добавлением растительных экстрактов. На первом этапе на основании сравнительного скрининга 7-ми видов сырья по содержанию флавоноидов и биологическим свойствам выбраны приоритетные виды растительного сырья (тимьян, тысячелистник, женьшень), для которых идентифицирован качественный состав БАВ. Изучение динамики значений физико-химических и биохимических показателей в контрольных образцах (на 3-и, 5-ые и 7-ые сутки) позволило аргументировать выбор 5-х суток, как рекомендуемой продолжительности ферментации, обеспечивающей пик биологической ценности образцов. Из 27 комбинаций, составленных на основе комбинаторного подбора рецептурных компонентов органолептическим анализом показателей, осуществлен отбор 9-ти питательных сред, обогащенных образцами растительных экстрактов, с гармоничным сенсорным профилем. В результате при направленном культивировании отобранных сред (опытные образцы) экспериментально подтвержден синергетический эффект взаимодействия метаболитов *Medusomyces gisevii* и образцов растительных экстрактов. С помощью расчета коэффициента синергизма и оценки АООА выбраны 3 вида приоритетных образцов, характеризующихся глубокой биотрансформацией компонентов. Завершает главу анализ аминокислотного и витаминного составов, и оценка соответствия установленным требованиям качества готовых продуктов.

3.1 Скрининг растительного сырья и идентификация компонентного состава приоритетных экстрактов для обогащения напитка на основе *Medusomyces gisevii*

Скрининг растительных объектов. Для обогащения функционального напитка на основе чайного гриба дополнительными источниками БАВ

осуществили отбор растительного сырья, обладающего наибольшим антиоксидантным потенциалом. Первичным критерием отбора стала массовая доля флавоноидов – ключевой показатель, определяющий биологическую ценность полученных спиртовых экстрактов [143].

Процесс извлечения БАВ напрямую зависит от природы экстрагента [143]. В ходе исследования был проведен сравнительный анализ эффективности использования этанола различной концентрации (40–75 %) для получения 7 видов растительного сырья, включая как традиционное, так и адаптогенное сырье.

Экспериментальные данные значений массовой доли флавоноидов, полученные в ходе спектрофотометрического анализа (таблица 3.1.1), позволили проследить динамику выхода флавоноидов и выявить максимумы для каждого вида сырья, а также осуществить выбор концентрации экстрагента.

Таблица 3.1.1 – Общее содержание флавоноидных соединений (%) в образцах растительных экстрактов

Растительное сырье	Концентрация экстрагента, %				
	40	55	60	70	75
	Содержание флавоноидов, %				
Тимьян (листья и стебли)	0,798±0,024 ^a	1,124±0,034 ^b	0,836±0,025 ^a	0,930±0,028 ^c	0,782±0,023 ^a
Тысячелистник (листья и стебли)	0,295±0,009 ^a	0,401±0,012 ^b	0,383±0,011 ^b	0,621±0,019 ^c	0,939±0,028 ^d
Люцерна (листья и стебли)	0,654±0,020 ^a	0,803±0,024 ^b	0,526±0,016 ^c	0,930±0,028 ^d	0,640±0,019 ^a
Лопух (корни)	0,098±0,003 ^a	0,086±0,003 ^b	0,089±0,003 ^{ab}	0,094±0,003 ^a	0,102±0,003 ^a
Женьшень (корни)	0,050±0,002 ^a	0,066±0,002 ^b	0,056±0,002 ^c	0,054±0,002 ^{ac}	0,060±0,002 ^d
Медуница (листья и стебли)	0,610±0,018 ^a	0,664±0,020 ^b	0,493±0,015 ^c	0,515±0,015 ^c	0,309±0,009 ^d
Клевер (листья и стебли)	0,239±0,007 ^a	0,337±0,010 ^b	0,221±0,007 ^a	0,425±0,013 ^c	0,339±0,010 ^b

Данные представлены в виде среднего значения с учетом стандартного отклонения (n = 3).

Значения в строках представлены для каждого растительного экстракта, обозначенные разными буквами a, b, c или d, значимо отличаются друг от друга концентрацией используемого экстрагента, согласно критерию Тьюки ($p < 0,05$)

На основании сравнительного анализа образцов 7-ми видов растительного сырья был осуществлен выбор приоритетных объектов для дальнейшей разработки функциональных напитков. Критерием отбора служил максимальный выход флавоноидных соединений при варьировании концентрации экстрагента (этанола) и природа сырья.

1. Тимьян обыкновенный (*Thymus vulgaris*). Выбор обусловлен наиболее высокими показателями содержания флавоноидов среди всех исследуемых образцов. Максимальное значение (1,124%) зафиксировано при использовании 55 % этанола, что свидетельствует о преобладании в сырье водно-растворимых форм полифенолов.

2. Тысячелистник обыкновенный (*Achillea millefolium*). Данный образец показал выраженную динамику: с ростом концентрации экстрагента (до 75 %) содержание флавоноидов увеличилось более чем в 3 раза (с 0,295 % до 0,939 %). Это указывает на высокую концентрацию труднорастворимых гидрофобных соединений, обладающих выраженным антисептическим действием, что делает его ценным компонентом для синергетических смесей.

3. Женьшень настоящий (*Panax ginseng*). Несмотря на невысокие значения флавоноидов (макс. 0,066 %), выбор данного объекта обоснован его ролью как мощного адаптогена и уникальным составом БАВ (гинзенозидов). Введение женьшеня в рецептуру направлено на усиление тонизирующих свойств.

На основании проведенных исследований для получения водно-этанольных экстрактов из тимьяна обыкновенного и женьшеня настоящего в качестве растворителя выбран этанол 55 %-ной концентрации. Экстракт тысячелистника обыкновенного получали с использованием этанола, концентрацией 75 %.

Идентификация и количественный анализ компонентного состава БАВ в экстрактах Thymus vulgaris, Achillea millefolium, Panax ginseng. Выбор

растительного сырья базировался на достижении наибольшего значения массовой доли флавоноидов. Однако количественные данные массовой доли флавоноидов не дают полного представления о качественном составе действующих веществ. В связи с этим, выбранные образцы детально изучали методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (рисунки 3.1.1–3.1.3, таблицы 3.1.2–3.1.4). Это позволило идентифицировать конкретные фенольные соединения и подтвердить высокий биохимический потенциал выбранных экстрактов.

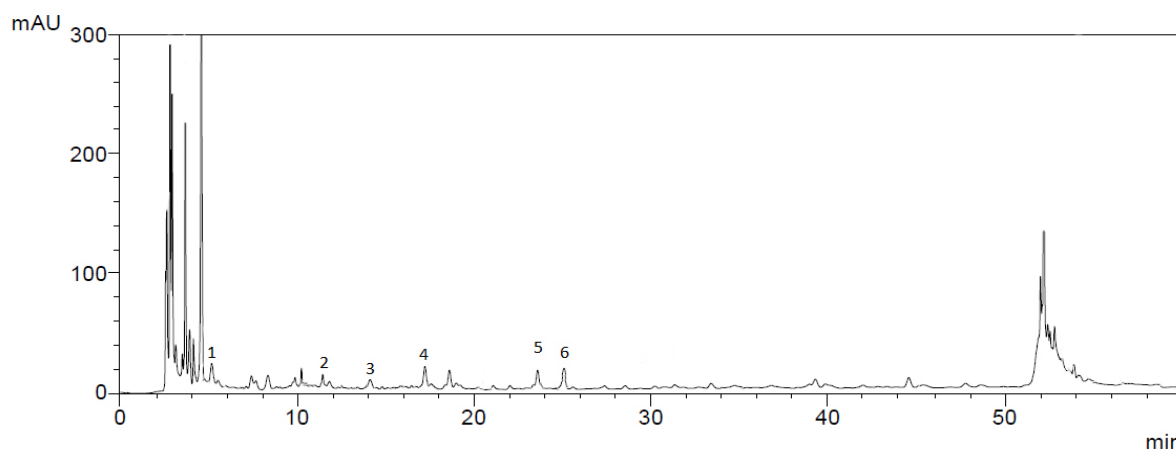


Рисунок 3.1.1 – Хроматограмма БАВ образца водно-этанольного экстракта тимьяна обыкновенного *Thymus vulgaris* в концентрации 55 %

Таблица 3.1.2 – Содержание БАВ в рассматриваемых образцах экстракта тимьяна обыкновенного

Номер пика	БАВ	Время удерживания, мин	Содержание, мг/г
1	Кверцетин	5,1800	1,6000 ± 0,0480
2	Галловая кислота	11,3400	1,0900 ± 0,0327
3	Кофейная кислота	14,0700	0,3600 ± 0,0108
4	Апигенин	17,0100	2,0700 ± 0,0621
5	Геспердин	23,6500	1,5600 ± 0,0468
6	Тимол	25,1300	1,8300 ± 0,0549

Образцы экстракта тимьяна (рисунок 3.1.1, таблица 3.1.2) характеризовались высоким содержанием апигенина (2,07 мг/г) и тимола (1,83

мг/г). Это определило сильные антисептические и антиоксидантные свойства полученного экстракта. Сочетание кверцетина (1,60 мг/г) и галловой кислоты (1,09 мг/г) обеспечило высокий полифенольный потенциал образцов экстракта.

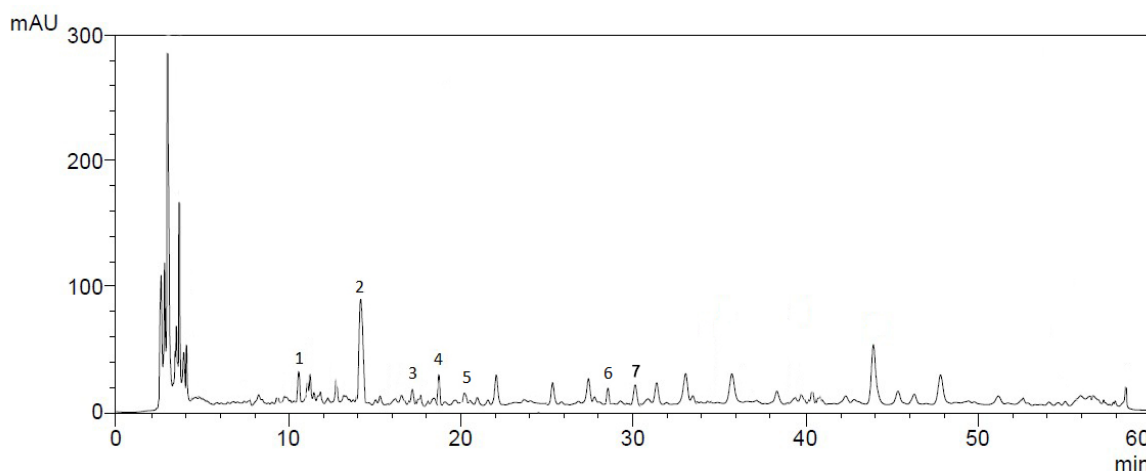


Рисунок 3.1.2 – Хроматограмма БАВ образца водно-этанольного экстракта тысячелистника обыкновенного *Achilleae millefolii* в концентрации 75 %

Таблица 3.1.3 – Содержание БАВ в рассматриваемых образцах экстракта тысячелистника обыкновенного

Номер пика	БАВ	Время удерживания, мин	Содержание, мг/г
1	Хлорогеновая кислота	10,2100	1,0300 ± 0,0309
2	Кофейная кислота	14,0700	5,2900 ± 0,1587
3	Апигенин	17,0400	0,3900 ± 0,0117
4	Виценин-2	18,6900	1,0200 ± 0,0306
5	Лютеолин	20,3400	0,2400 ± 0,0072
6	Рутин	28,6100	0,4600 ± 0,0138
7	Геспередин	30,0900	0,7000 ± 0,0210

Основная доля БАВ образцов (рисунок 3.1.2, таблица 3.1.3) приходилась на кофейную кислоту (5,29 мг/г), содержание которой значительно превышало концентрацию других компонентов. Наличие хлорогеновой кислоты (1,03 мг/г) и виценина-2 (1,02 мг/г) дополняло полифенольный состав образцов экстракта, обеспечивая его высокие антиоксидантные и противовоспалительные свойства.

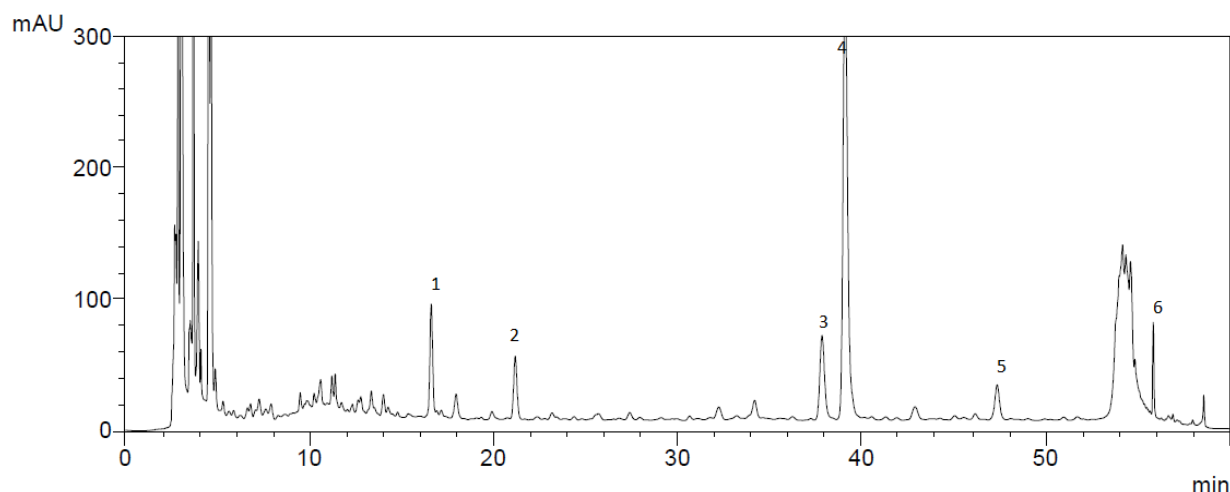


Рисунок 3.1.3 – Хроматограмма БАВ образца водно-этанольного экстракта женьшеня обыкновенного *Panax ginseng* в концентрации 55 %

Таблица 3.1.4 – Содержание БАВ в рассматриваемых образцах экстракта женьшеня обыкновенного

Номер пика	БАВ	Время удерживания, мин	Содержание, мг/г
1	Сиреневая кислота	16,3400	0,9500 ± 0,0285
2	Гинзенозид LC ₁	21,1800	0,5400 ± 0,0162
3	Панаксен	37,9500	0,7100 ± 0,0213
4	Гинзенозид RB ₁	39,1300	2,9100 ± 0,0873
5	Панаксозид	47,1800	0,3400 ± 0,0102
6	Гомизин А	55,9700	0,8300 ± 0,0249

Доминирующим компонентом в рассматриваемых образцах экстракта женьшеня по результатам хроматографии (рисунок 3.1.3, таблица 3.1.4) являлся гинзенозид RB₁ (2,91 мг/г) – важнейший сапонин, отвечающий за адаптогенные свойства. Наличие сиреневой кислоты (0,95 мг/г) и панаксозида (0,34 мг/г) подтвердило высокую биологическую активность корня.

Таким образом, полученные образцы растительных экстрактов содержали в своем составе ценные флавоноидные соединения, а значит, являлись перспективными для использования в качестве биологической добавки при производстве безалкогольных напитков функционального назначения. Тимьян отобран как богатый источник апигенина (2,07 мг/г) и тимола (1,83 мг/г),

обеспечивающих антисептические свойства. В тысячелистнике зафиксировано наиболее высокое содержание кофейной кислоты (5,29 мг/г), что гарантировало мощную антиоксидантную защиту. Женьшень включен в состав благодаря наличию специфических гинзенозидов (в сумме более 3,4 мг/г), обладающих адаптогенным действием.

Исследование показателей безопасности растительного сырья на соответствие требованиям ТР ТС 021/2011. В качестве показателей безопасности растительного сырья были определены тяжелые металлы (таблица 3.1.5), радионуклиды (таблица 3.1.6), микробиологическая чистота (таблица 3.1.7).

Таблица 3.1.5 – Результаты определения содержания тяжелых металлов

Образцы	Содержание примесей тяжелых металлов, мг/кг							
	Pb		Hg		Cd		As	
	I	II	I	II	I	II	I	II
1		0,891±0,045		0,076±0,004		0,060±0,003		0,598±0,030
2	≤1,0	0,951±0,048	≤0,1	0,083±0,004	≤0,2	0,079±0,004	≤1,0	0,701±0,035
3		0,899±0,045		0,091±0,005		0,070±0,004		0,742±0,037

1 – тимьян обыкновенный (*Thymus vulgaris*), 2 – тысячелистник обыкновенный (*Achilleae millefolii*), 3 – женьшень настоящий (*Panax ginseng*);

I – норма, II – значение.

Полученные результаты свидетельствуют о том, что растительное сырье содержит ряд тяжелых металлов в допустимом количестве, в соответствии с требованиями ОФС.1.5.3.0009.15 «Определение содержания тяжелых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах». Следовательно, данные растительные объекты безопасно использовать в дальнейших исследованиях.

Таблица 3.1.6 – Результаты определения содержания радионуклидов

Образцы	Радионуклиды, Бк/кг			
	Cs-137		Sr-90	
	I	II	I	II
1	≤400	0,022±0,003	≤200	0,031±0,005
2		0,138±0,021		0,121±0,018
3		0,027±0,004		0,013±0,002

1 – тимьян обыкновенный (*Thymus vulgaris*), 2 – тысячелистник обыкновенный (*Achilleae millefolii*), 3 – женьшень настоящий (*Panax ginseng*);

I – допустимая активность, II – результаты.

Таблица 3.1.7 – Микробиологическая чистота растительных объектов

Образцы	Микробиологические показатели									
	Общее число аэробных микроорганизмов		Общее число дрожжевых и плесневых грибов		Энтеробактерии, устойчивые к желчи		<i>E.coli</i>		Бактерии рода <i>Salmonella</i>	
	I	II	I	II	I	II	I	II	I	II
1	≤10 ⁵ КОЕ/г	1,5·10 ³	≤10 ⁴ КОЕ/г	6,5·10 ³	≤10 ² КОЕ/г	н/о	0/1 г	н/о	0/25 г	н/о
2		1,7·10 ³		6,7·10 ³		н/о		н/о		н/о
3		2,0·10 ⁴		7,0·10 ³		н/о		н/о		н/о

1 – тимьян обыкновенный (*Thymus vulgaris*), 2 – тысячелистник обыкновенный (*Achilleae millefolii*), 3 – женьшень настоящий (*Panax ginseng*);

н/о – не обнаружено;

I – норма, II – значение.

Полученные данные (таблицы 3.1.5–3.1.6) свидетельствуют о том, что все растения, рассмотренные в данной научной работе, соответствовали радиационному контролю растительного сырья в соответствии с ОФС.1.5.3.0001.15 «Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратов». Результаты оценки микробиологической чистоты растений (таблица 3.1.7) показали, что все образцы соответствовали установленным в ОФС.1.2.4.0002.15 требованиям.

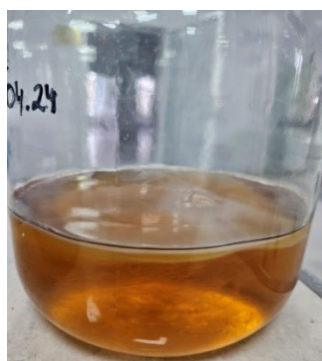
Следовательно, их дальнейшее использование в качестве источника БАВ для обогащения функционального напитка безопасно.

3.2 Комплексная оценка метаболической активности, биохимического профиля и органолептических характеристик контрольных образцов

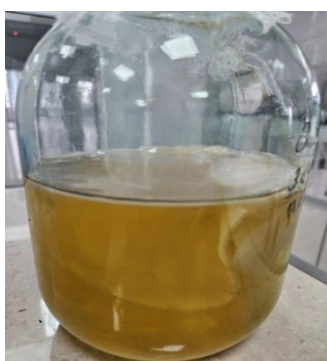
3.2.1 Обоснование продолжительности культивирования на основе оценки биохимического профиля и динамики физико-химических показателей

Medusomyces gisevii

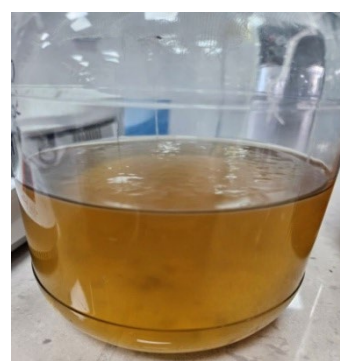
В процессе культивирования *Medusomyces gisevii* на трех питательных средах (черный чай, зеленый чай и иван-чай, без добавления экстрактов) за счет активного развития микробного сообщества дрожжей и уксуснокислых бактерий на поверхности субстратов образовывалась тонкая пленка из биоцеллюлозы, которая с увеличением продолжительности культивирования постепенно набирала массу (рисунки 3.2.1, 3.2.2 и 3.2.3).



(A)



(B)



(C)

Рисунок 3.2.1 – Чайный гриб *Medusomyces gisevii* на 3 сутки культивирования на разных средах: (A) черный чай, (B) зеленый чай, (C) иван-чай

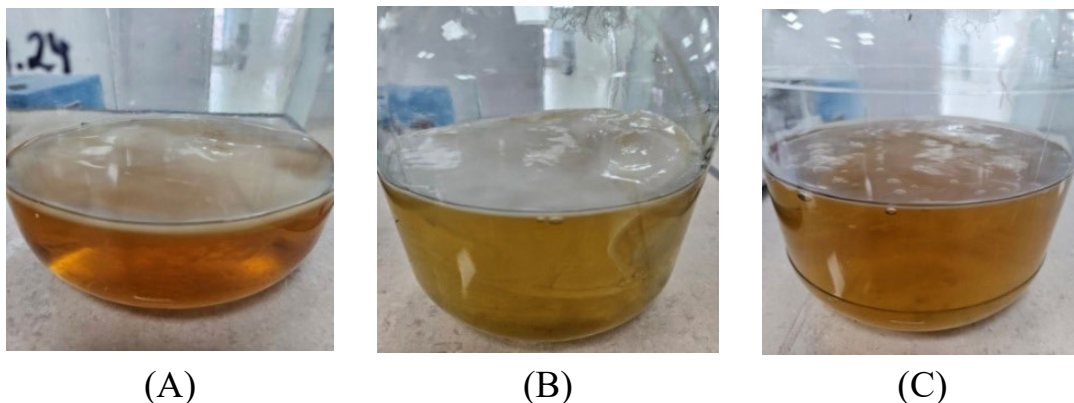


Рисунок 3.2.2 – Чайный гриб *Medusomyces gisevii* на 5 сутки культивирования на разных средах: (А) черный чай, (В) зеленый чай, (С) иван-чай

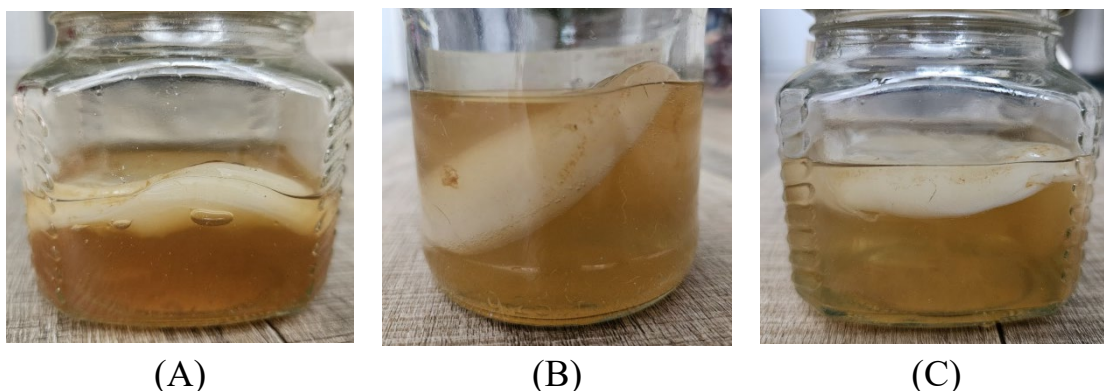


Рисунок 3.2.3 – Чайный гриб *Medusomyces gisevii* на 7 сутки культивирования на разных средах: (А) черный чай, (В) зеленый чай, (С) иван-чай

Визуальный анализ позволил установить, что наиболее интенсивное накопление биомассы симбиотической культуры *Medusomyces gisevii* и формирование плотной целлюлозной пленки происходило на средах из черного и зеленого чая. Это обусловлено наличием специфических азотистых оснований и экстрактивных веществ, стимулирующих метаболическую активность уксуснокислых бактерий [63].

Наращение биомассы бактериальной целлюлозы на поверхности питательных сред является внешним индикатором интенсивности метаболических процессов [63]. Однако для полной характеристики функционального потенциала разрабатываемых образцов напитков необходимо установление наличия корреляционной связи между видимым наращением бактериальной целлюлозы и

динамикой накопления биологически активных веществ в питательной среде. В рамках данного этапа проведена оценка физико-химических показателей и биохимических свойств 3-х контрольных сред: черный чай (А), зеленый чай (В), иван-чай (С) в интервале 3-х, 5-и, 7-и суток (таблица 3.2.1).

Таблица 3.2.1 – Результаты определения физико-химических и функциональных свойств контрольных образцов

Пробы ЧГ	Срок ферментации, ч	АОА, %	Сумма флавоноидов, %	Титруемая кислотность, ммоль/100 мл	рН, ед.	Сухие вещества, %
А	3	22,11±0,66 ^a	0,26±0,01 ^a	0,92±0,03 ^a	3,62±0,10 ^a	10,3±0,2 ^a
	5	23,29±0,70 ^a	0,85±0,03 ^a	2,48±0,07 ^b	2,92±0,10 ^b	10,2±0,2 ^a
	7	24,08±0,72 ^a	0,49±0,01 ^a	6,60±0,20 ^c	2,63±0,10 ^b	10,2±0,2 ^a
В	3	9,61±0,29 ^a	0,21±0,01 ^a	1,24±0,04 ^a	3,55±0,10 ^a	10,1±0,2 ^a
	5	11,32±0,34 ^b	0,17±0,01 ^a	1,96±0,06 ^a	3,12±0,10 ^b	10,1±0,2 ^a
	7	15,79±0,47 ^c	0,12±0,01 ^a	3,20±0,10 ^b	2,86±0,10 ^b	10,0±0,2 ^a
С	3	16,45±0,49 ^a	2,44±0,07 ^a	2,32±0,07 ^a	3,02±0,10 ^a	10,4±0,2 ^a
	5	20,53±0,62 ^b	1,53±0,05 ^b	3,48±0,10 ^b	2,88±0,10 ^{ab}	10,4±0,2 ^a
	7	28,16±0,84 ^c	0,90±0,03 ^b	7,24±0,22 ^c	2,63±0,10 ^b	10,0±0,2 ^a

А – черный чай, В – зеленый чай, С – иван-чай;

Данные представлены в виде среднего значения с учетом стандартного отклонения (n = 3).

Значения в столбце для отдельной среды, обозначенные разными буквами а, b, или с, значительно отличаются друг от друга в процессе ферментации, согласно критерию Тьюки (p < 0,05).

Анализ полученных данных (таблица 3.2.1) выявил специфические закономерности для каждого вида контрольных сред. Установлено, что у образцов А и В визуально наблюдаемый активный рост пленки сопровождался динамичным снижением рН до значений 2,63–2,86 ед. к 7-м суткам, что указывает на высокую активность уксуснокислых бактерий. При этом показатель сухих

веществ оставался стабильным (10,0–10,2 %), что свидетельствовало о сбалансированном потреблении питательной среды симбиотической культурой.

Питательная среда на основе иван-чая (образец С), обладая наименее активным ростом пленки, обеспечивала формирование напитка с наиболее высоким антиоксидантным потенциалом и кислотным профилем. К 7-м суткам зафиксирован пик титруемой кислотности (7,24 ммоль/100 мл), что значительно превышало показатели черного (6,60 ммоль/100 мл) и зеленого (3,20 ммоль/100 мл) чая.

В пробах С наблюдался наиболее интенсивный рост антиоксидантной активности – с 16,44 % на 3-и сутки до 28,15 % на 7-е сутки. Характерно, что снижение массовой доли флавоноидов (с 2,44 % до 0,90 %) во всех образцах к концу цикла ферментации сопровождалось синхронным ростом антиоксидантной активности. Это позволяет сделать предположение о наличии процессов биотрансформации фенольных соединений ферментами культуры *Medusomyces gisevii* в более активные антиоксидантные формы.

Биохимическая трансформация флавоноидного комплекса и формирование антиоксидантного потенциала. При анализе наличия взаимосвязи между массовой долей флавоноидов и антиоксидантной активностью во всех исследуемых средах выявлены две последовательные фазы метаболизма.

1. Фаза накопления и высвобождения (3–5 сутки). В интервале до 5 суток ферментации наблюдалась положительная динамика обоих показателей. Рост концентрации флавоноидов (особенно выраженный в черном чае – в 3,2 раза) обусловлен интенсивной экстракцией полифенольных соединений из растительного сырья под воздействием ферментов симбиотической культуры *Medusomyces gisevii*. На данном этапе флавоноиды служили основным источником антиоксидантных свойств, формируя базовую ценность продукта. Наблюдалась прямая зависимость массовой доли флавоноидов и антиоксидантной активности (содержание флавоноидных соединений росло, как и антиоксидантная активность).

2. Фаза биотрансформации и конверсии (5–7 сутки). После 5-х суток ферментации характер зависимости менялся на обратный: содержание флавоноидов резко снижалось (в иван-чае – на 41 %, в черном чае – на 42 %

относительно 5-х суток), в то время как общая антиоксидантная активность продолжала расти или стабилизировалась на высоком уровне. Снижение концентрации флавоноидов свидетельствовало об их биотрансформации культурой *Medusomyces gisevii* [113]. Сложные полифенольные структуры расщеплялись до более простых фенольных кислот (галловой, протокатеховой и др.) и органических кислот (глюкуроновой, уксусной). Дальнейшее повышение антиоксидантной активности на 7-е сутки обеспечивалось уже не первичными флавоноидами чая, а вторичными метаболитами микробиологического синтеза.

Выбор 5-х суток продолжительности ферментации обусловлен тем, что они являлись моментом максимального синергизма. При такой продолжительности в системе сохранялась высокая концентрация нативных флавоноидов растительного происхождения, и одновременно с этим уже был сформирован значительный комплекс вторичных антиоксидантов (органических кислот и ферментов).

Продление ферментации до 7 суток вело к «обеднению» качественного состава: высокая антиоксидантная активность сохранялась, но достигалась она за счет практически полного разрушения флавоноидов исходного сырья. Таким образом, ферментация в течение 5-ти суток позволяла получить образцы продукта с наиболее разнообразным составом антиоксидантов.

Результаты определения аминокислотного состава представлены на хроматограммах рисунков 3.2.4–3.2.11 и в таблицах 3.2.2–3.2.4 с указанием номеров пиков, которым соответствуют определенные аминокислоты.

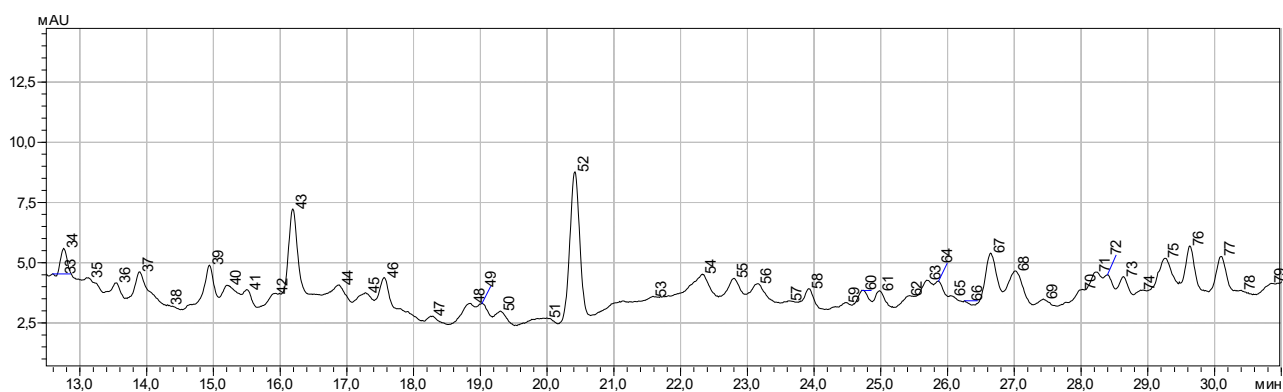


Рисунок 3.2.4 – Хроматограмма аминокислотного состава образца чайного гриба на черном чае 3 суток ферментации

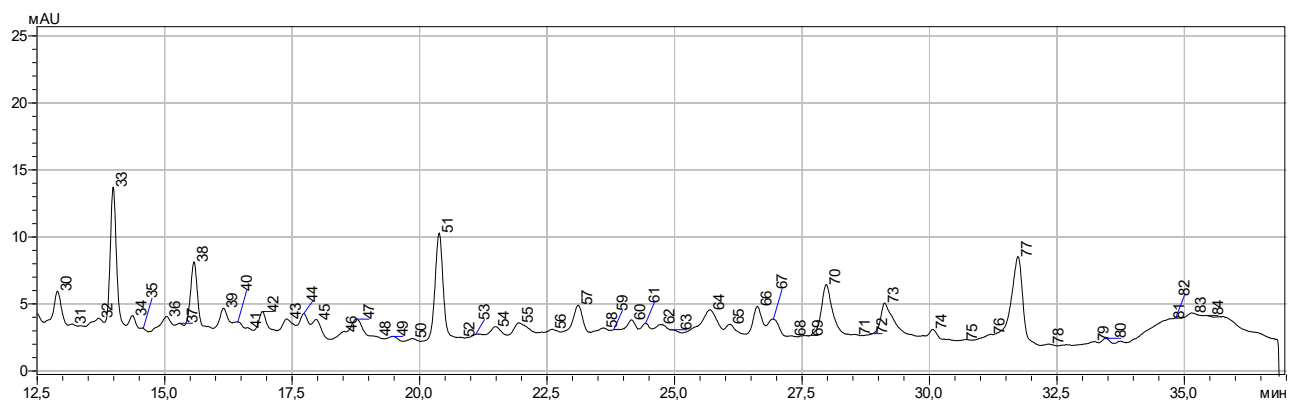


Рисунок 3.2.5 – Хроматограмма аминокислотного состава образца чайного гриба на черном чае 5 суток ферментации

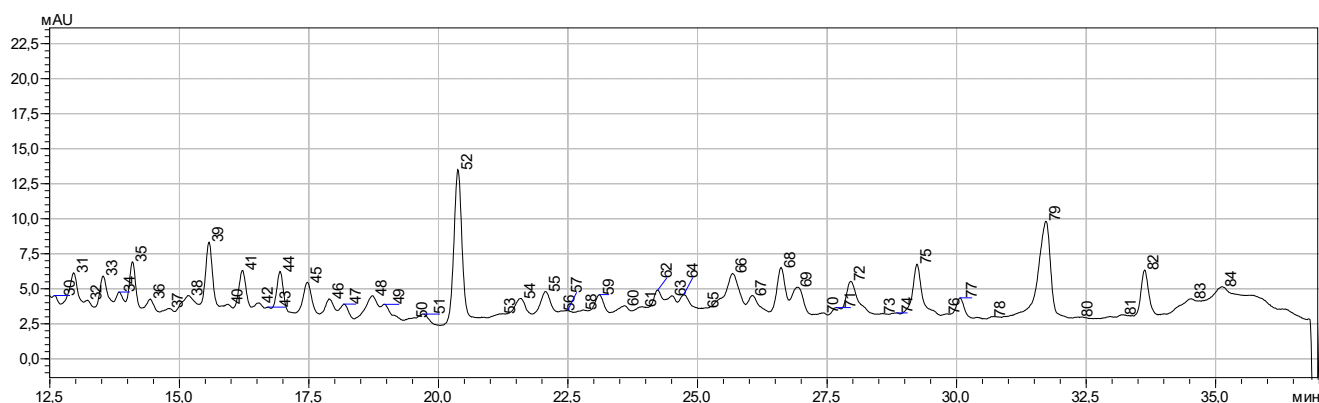


Рисунок 3.2.6 – Хроматограмма аминокислотного состава образца чайного гриба на черном чае 7 суток ферментации

Таблица 3.2.2 – Аминокислотный состав образцов чайного гриба на черном чае 3, 5, 7 суток ферментации

Аминокислоты	Содержание, мкг/г		
	3 сутки	5 сутки	7 сутки
Триптофан	276,5±8,3 ^a	971,2±29,1 ^b	1021,2±30,6 ^b
Глутаминовая кислота	181,2±5,4 ^a	1448,3±43,4 ^b	1438,6±43,2 ^b
Серин	244,2±7,3 ^a	1119,2±33,6 ^b	1012,3±30,4 ^b
Глицин	76,8±2,3 ^a	604,6±18,1 ^b	962,6±28,9 ^c
Гистидин	67,6±2,0 ^a	474,9±14,2 ^b	742,4±22,3 ^c
Глутамин	429,3±12,9 ^a	1134,2±34,0 ^b	1898,5±57,0 ^c
Аргинин	171,3±5,1 ^a	291,6±8,7 ^b	373,0±11,2 ^c
Лизин	98,3±2,9 ^a	433,1±13,0 ^b	477,7±14,3 ^b

Продолжение таблицы 3.2.2

Аминокислоты	Содержание, мкг/г		
	3 сутки	5 сутки	7 сутки
Треонин	73,7±2,2 ^a	558,5±16,8 ^b	380,1±11,4 ^c
Аланин	49,2±1,5 ^a	232,6±7,0 ^b	484,8±14,5 ^c
Пролин	50,7±1,5 ^a	276,6±8,3 ^b	470,6±14,1 ^c
Аспарагиновая кислота	198,1±5,9 ^a	670,0±20,1 ^b	1241,4±37,2 ^c
Аспарагин	116,7±3,5 ^a	352,7±10,6 ^b	729,9±21,9 ^c
Тирозин	79,9±2,4 ^a	246,6±7,4 ^b	586,1±17,6 ^c
Цистеин	205,8±6,2 ^a	688,2±20,6 ^b	779,7±23,4 ^c
Метионин	178,2±5,3 ^a	476,0±14,3 ^b	930,6±27,9 ^c
Валин	131,3±3,9 ^a	52,5±1,6 ^b	266,4±8,0 ^c
Цистин	1077,5±32,3 ^a	1111,7±33,4 ^a	1999,8±60,0 ^b
Изолейцин	1004,5±30,1 ^a	275,5±8,3 ^b	547,0±16,4 ^c
Лейцин	732,7±22,0 ^a	151,2±4,5 ^b	225,6±6,8 ^c
Фенилаланин	2400±72,0 ^a	32,2±1,0 ^b	369,4±11,1 ^c

Данные представлены в виде среднего значения с учетом стандартного отклонения (n = 3).

Значения, обозначенные разными буквами а, b или с, значительно отличаются друг от друга для отдельной аминокислоты, согласно критерию Тьюки ($p < 0,05$).

Проведенный анализ содержания аминокислот в напитках на черном чае (таблица 3.2.2) демонстрирует следующие результаты. Незаменимые аминокислоты валин, лейцин, изолейцин и фенилаланин в большем количестве содержались в образцах напитка, ферментируемых в течение 3-х суток, тогда как на 5-ые сутки ферментации их количество резко снижалось и начинало немного повышаться к 7-ым суткам. Максимальное содержание треонина зафиксировано на 5-ые сутки ферментации. Концентрации лизина и триптофана на 5-е и 7-е сутки оставались сопоставимыми, превышая показатели 3-х суток ферментации в 4 и 3 раза, соответственно. Значения других незаменимых аминокислот гистидина и метионина постепенно увеличивались на протяжении всех сроков ферментации. Аланин и аргинин считаются почти незаменимыми у взрослых и их поступление в организм

важно обеспечивать [43]. Образцы напитка на черном чае, ферментируемые в течение 7-ми суток, показывали самые высокие результаты по их содержанию.

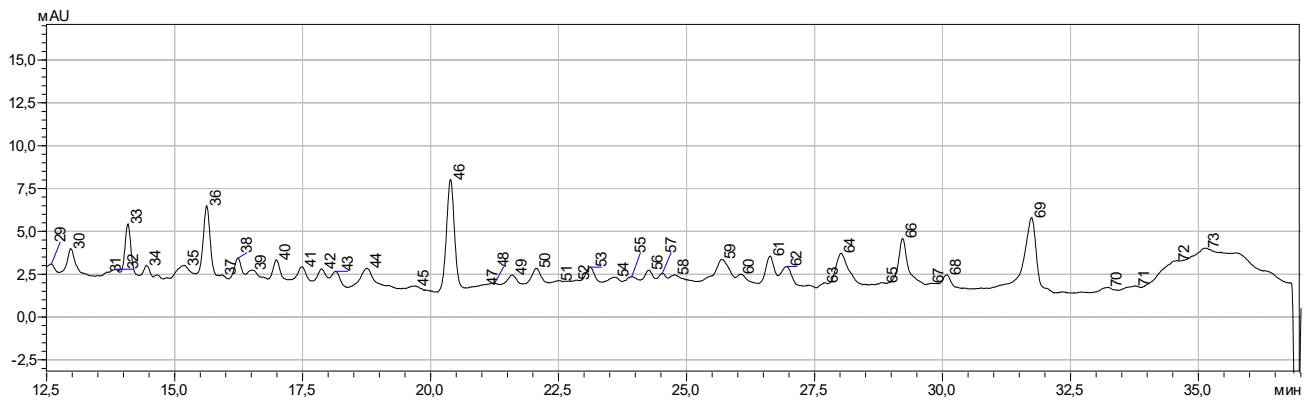


Рисунок 3.2.7 – Хроматограмма аминокислотного состава образца чайного гриба на зеленом чае 3 суток ферментации

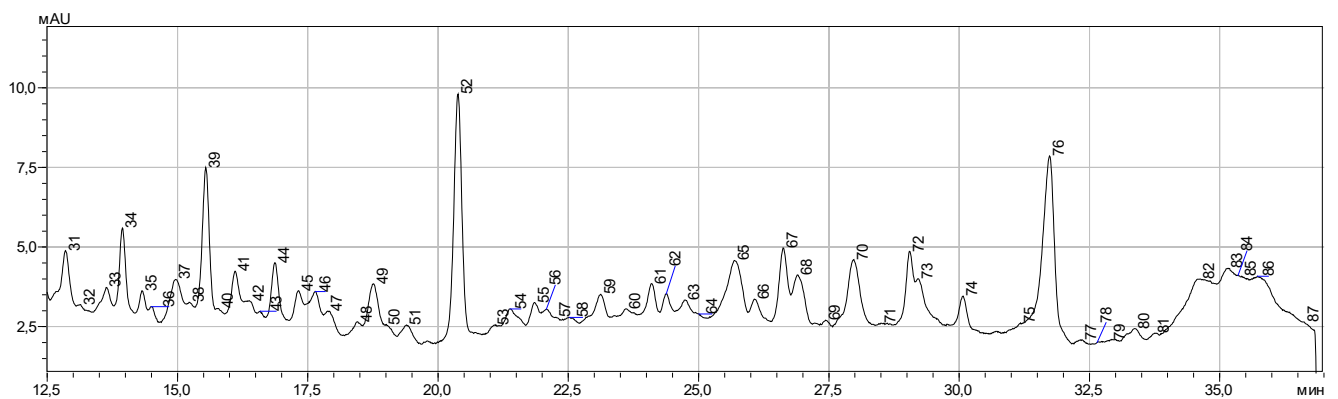


Рисунок 3.2.8 – Хроматограмма аминокислотного состава образца чайного гриба на зеленом чае 5 суток ферментации

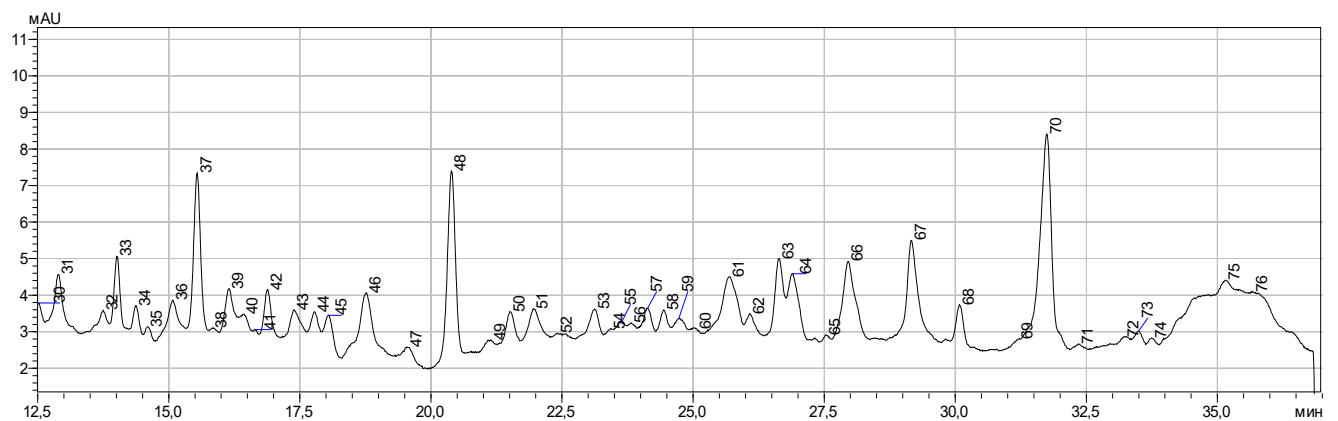


Рисунок 3.2.9 – Хроматограмма аминокислотного состава образца чайного гриба на зеленом чае 7 суток ферментации

Таблица 3.2.3 – Аминокислотный состав образцов чайного гриба на зеленом чае 3, 5, 7 суток ферментации

Аминокислоты	Содержание, мкг/г		
	3 сутки	5 сутки	7 сутки
Триптофан	187,7±5,6 ^a	660,8±19,8 ^b	292,1±8,8 ^c
Глутаминовая кислота	214,2±6,4 ^a	507,5±15,2 ^b	204,3±6,1 ^a
Серин	348,1±10,4 ^a	656,8±19,7 ^b	564,5±16,9 ^c
Глицин	66,2±2,0 ^a	388,4±11,7 ^b	239,2±7,2 ^c
Гистидин	175,9±5,3 ^a	272,3±8,2 ^b	463,2±13,9 ^c
Глутамин	567,5±17,0 ^a	694,9±20,8 ^b	631,7±19,0 ^b
Аргинин	78,0±2,3 ^a	102,5±3,1 ^b	180,1±5,4 ^c
Лизин	128,1±3,8 ^a	76,1±2,3 ^b	258,0±7,7 ^c
Треонин	132,5±4,0 ^a	88,8±2,7 ^b	236,5±7,1 ^c
Аланин	75,8±2,3 ^a	98,6±3,0 ^b	180,1±5,4 ^c
Пролин	99,4±3,0 ^a	61,5±1,8 ^b	153,2±4,6 ^c
Аспарагиновая кислота	298,8±9,0 ^a	323,1±9,7 ^a	537,6±16,1 ^b
Аспарагин	170,0±5,1 ^a	221,6±6,6 ^b	336,0±10,1 ^c
Тирозин	134,0±4,0 ^a	184,5±5,5 ^b	309,1±9,3 ^c
Цистеин	276,7±8,3 ^a	304,5±9,1 ^a	422,0±12,7 ^b
Метионин	327,5±9,8 ^a	205,9±6,2 ^b	473,1±14,2 ^c
Валин	69,2±2,1 ^a	82,0±2,5 ^b	126,3±3,8 ^c
Цистин	629,3±18,9 ^a	847,2±25,4 ^b	1112,8±33,4 ^c
Изолейцин	170,0±5,1 ^a	3336,0±100,1 ^b	0,0
Лейцин	128,1±3,8 ^a	1917,8±57,5 ^b	45,7±1,4 ^c
Фенилаланин	0,0	5778,9±173,4 ^b	292,1±8,8 ^c

Данные представлены в виде среднего значения с учетом стандартного отклонения (n = 3).

Значения, обозначенные разными буквами а, b или с, значительно отличаются друг от друга для отдельной аминокислоты, согласно критерию Тьюки (p < 0,05).

Результаты определения аминокислотного состава образцов напитка на зеленом чае (таблица 3.2.3) отличны от аналогичных показателей образцов на черном чае. Максимальное количество незаменимых аминокислот изолейцина, лейцина, триптофана и фенилаланина было обнаружено в образцах напитка на 5-ые

сутки ферментации, а также были зафиксированы максимальные концентрации глицина, глутамина, глутаминовой кислоты и серина.

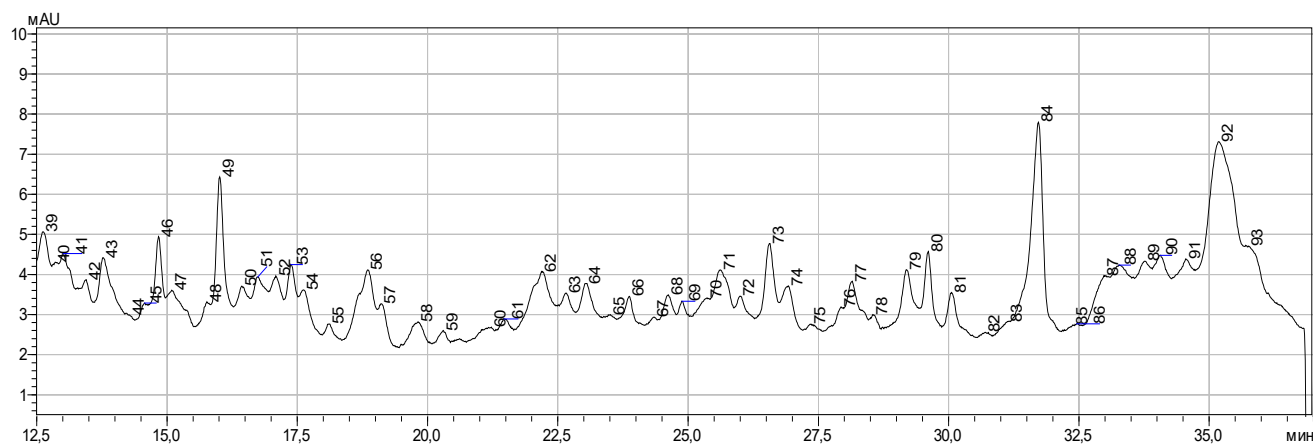


Рисунок 3.2.10 – Хроматограмма аминокислотного состава образца чайного гриба на иван-чае 5 суток ферментации

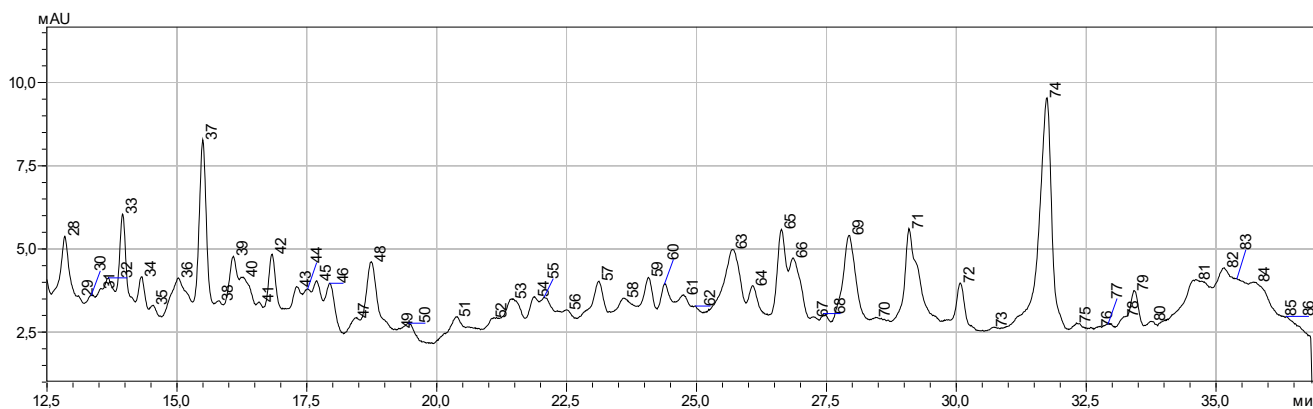


Рисунок 3.2.11 – Хроматограмма аминокислотного состава образца чайного гриба на иван-чае 7 суток ферментации

Таблица 3.2.4 – Аминокислотный состав образцов чайного гриба на иван-чае 3, 5, 7 суток ферментации

Аминокислоты	Содержание, мкг/г		
	3 сутки	5 сутки	7 сутки
Триптофан	161,8±4,9 ^a	566,3±17,0 ^b	637,2±19,1 ^b
Глутаминовая кислота	98,7±3,0 ^a	295,7±8,9 ^b	707,7±21,2 ^c
Серин	215,3±6,5 ^a	429,2±12,9 ^b	896,2±26,9 ^c

Продолжение таблицы 3.2.4

Аминокислоты	Содержание, мкг/г		
	3 сутки	5 сутки	7 сутки
Глицин	62,4±1,9 ^a	193,5±5,8 ^b	471,8±14,2 ^c
Гистидин	103,4±3,1 ^a	288,5±8,7 ^b	510,7±15,3 ^c
Глутамин	11,7±0,4 ^a	17,9±0,5 ^b	75,4±2,3 ^c
Аргинин	97,5±2,9 ^a	432,8±13,0 ^b	192,1±5,8 ^c
Лизин	111,8±3,4 ^a	384,4±11,5 ^b	130,1±3,9 ^c
Треонин	143,9±4,3 ^a	433,7±13,0 ^b	283,3±8,5 ^c
Аланин	121,6±3,6 ^a	365,6±11,0 ^b	233,5±7,0 ^c
Пролин	97,2±2,9 ^a	316,3±9,5 ^b	189,7±5,7 ^c
Аспарагиновая кислота	203,9±6,1 ^a	649,6±19,5 ^b	622,6±18,7 ^b
Аспарагин	156,5±4,7 ^a	749,1±22,5 ^b	373,3±11,2 ^c
Тирозин	219,8±6,6 ^a	684,5±20,5 ^b	322,2±9,7 ^c
Цистеин	265,6±8,0 ^a	855,7±25,7 ^b	486,4±14,6 ^c
Метионин	287,0±8,6 ^a	922,9±27,7 ^b	531,4±15,9 ^c
Валин	74,7±2,2 ^a	1351,2±40,5 ^b	128,9±3,9 ^c
Цистин	483,4±14,5 ^a	2731,0±81,9 ^b	1289,0±38,7 ^c
Изолейцин	545,0±16,4 ^a	1519,6±45,6 ^b	4057,8±121,7 ^c
Лейцин	756,9±22,7 ^a	1276,8±38,3 ^b	2485,5±74,6 ^c
Фенилаланин	1916,1±57,5 ^a	3871,6±116,1 ^b	4259,6±127,8 ^b

Данные представлены в виде среднего значения с учетом стандартного отклонения (n = 3).

Значения, обозначенные разными буквами а, b или с, значимо отличаются друг от друга для отдельной аминокислоты, согласно критерию Тьюки ($p < 0,05$).

В образцах напитка на иван-чае (таблица 3.2.4) незаменимые аминокислоты валин, метионин, лизин и треонин обнаружены в большем количестве на 5-ые сутки, чем на 7-ые. Содержание остальных незаменимых аминокислот больше на 7-ые сутки.

На основании комплексного исследования динамики биохимических показателей (аминокислотного профиля, антиоксидантной активности и содержания флавоноидов, таблицы 3.2.1–3.2.4) в образцах напитка на трех типах питательных средах (черный чай, зеленый чай, иван-чай) рекомендуемым сроком ферментации

являлись 5 суток. Выбор данного срока обоснован следующими научно-практическими положениями:

1. Достижение пиковой концентрации функционально значимых аминокислот. Установлено, что к 5-м суткам зафиксирован пик биосинтеза важных аминокислот в образцах напитка на всех средах. В черном чае достигался максимум содержания глутаминовой кислоты (1448,3 мкг/г), в зеленом – фенилаланина (5778,9 мкг/г) и изолейцина (3336,0 мкг/г), в иван-чае – метионина (922,9 мкг/г) и цистина (2731,0 мкг/г). Продолжение процесса ферментации до 7 суток вело к активному расходу аминокислот симбиотической культурой, снижая биологическую ценность продукта.

2. Сохранение антиоксидантного потенциала. Установлено, что 5-е сутки ферментации являлись «точкой равновесия» для флавоноидного комплекса. В образцах напитка на черном чае содержание флавоноидов достигало максимума (0,85 %), в то время как к 7-м суткам во всех образцах наблюдается их резкая деградация (в черном чае – в 1,7 раза, в зеленом чае – 1,8, в иван-чае – в 2,7). При этом рост антиоксидантной активности образцов напитка после 5-ти суток ферментации замедлялся или становился незначительным, что делало дальнейшую ферментацию нецелесообразной.

3. Обеспечение биологической ценности и органолептического баланса. Сравнительный анализ показал, что к 5-м суткам ферментации образцы достигали пика своей биологической ценности. Продление срока до 7 суток ферментации, несмотря на рост отдельных компонентов (например, изолейцина в иван-чае), вело к разрушению большинства ранее синтезированных нутриентов (аспарагина, тирозина, цистеина), что снижало общую биологическую ценность напитка.

4. Стандартизация процесса. Похожая динамика изменений аминокислотного состава во всех трех видах образцов позволяло рекомендовать единый срок ферментации – 5 суток. Это гарантирует получение стабильно высокого качества напитка и упрощает организацию производственного цикла. Пятидневный регламент обеспечивал получение продукта с заданными органолептическими свойствами, исключая риск избыточного накопления уксусной кислоты.

5. Технологическая и экономическая эффективность. Сокращение цикла ферментации с 7 до 5 суток позволяет увеличить количество производственных циклов в месяц, что ведет к росту производительности мощностей без дополнительных капитальных вложений. Также установлено, что к 5-м суткам ферментации достигался максимальный выход целевых метаболитов (аминокислот), и дальнейшая ферментация до 7 суток не приводила к пропорциональному росту биологической ценности, а в ряде случаев (зеленый чай, иван-чай) вызывало разрушение ценных нутриентов, что делает дополнительные энергозатраты на поддержание условий ферментации экономически нецелесообразными.

3.2.2 Анализ органолептического профиля контрольных образцов

Наряду с физико-химическим анализом, для оценки потребительских свойств полученных контрольных образцов комбучи (ЧГ) был проведен органолептический анализ. Дегустационная оценка контрольных образцов (А, В, С) на 3-и, 5-ые и 7-е сутки ферментации осуществлялась комиссией в составе 5-ти сотрудников кафедры методом закрытой дегустации по 25-балльной шкале. Органолептическая характеристика контрольных образцов на черном чае, зеленом чае и иван-чае представлена в таблицах 3.2.5, 3.2.6 и 3.2.7, соответственно.

Таблица 3.2.5 – Органолептическая характеристика образцов комбучи на черном чае

Показатели	А_3	А_5	А_7
Внешний вид, прозрачность, цвет	Прозрачная жидкость янтарного цвета		
Вкус и запах	Специфический сладко-кислый вкус, усиливающийся при увеличении продолжительности ферментации, с нотами черного чая; запах выраженный с явным уксусным ароматом, усиливающимся при увеличении сроков культивирования		
Насыщенность CO ₂	Слабогазированный		

Таблица 3.2.6 – Органолептическая характеристика образцов комбучи на зеленом чае

Показатели	В_3	В_5	В_7
Внешний вид, прозрачность, цвет	Прозрачная жидкость соломенного цвета		
Вкус и запах	Специфический сладко-кислый вкус, усиливающийся при увеличении продолжительности ферментации, с нотами зеленого чая; запах выраженный с уксусным ароматом		
Насыщенность CO ₂	Слабогазированный		

Таблица 3.2.7 – Органолептическая характеристика образцов комбучи на иван-чае

Показатели	С_3	С_5	С_7
Внешний вид, прозрачность, цвет	Прозрачная жидкость светло-янтарного цвета		
Вкус и запах	Специфический сладко-кислый вкус, усиливающийся при увеличении продолжительности ферментации, с травянистыми нотами; запах выраженный с явным уксусным ароматом, усиливающимся при увеличении сроков культивирования		
Насыщенность CO ₂	Слабогазированный		

А – черный чай, В – зеленый чай, С – иван-чай;

Продолжительность культивирования: 3 – трое суток; 5 – пять суток; 7 – семь суток.

Баллы по каждому показателю и суммарный балл контрольных образцов комбучи на 3, 5, 7 сутки сведены в таблицу 3.2.8.

Таблица 3.2.8 – Органолептическая оценка образцов комбучи на 3, 5, 7 сутки

Образцы	Показатели			Суммарный балл
	Вкус и запах	Насыщенность CO ₂	Внешний вид, прозрачность, цвет	
А_3	8,00	2,67	5,67	16,34
А_5	10,67	5,33	6,33	22,33
А_7	9,33	5,67	6,33	21,33
В_3	7,67	2,33	5,00	15,00
В_5	10,00	4,67	5,67	20,34
В_7	8,67	5,00	5,67	19,34
С_3	8,67	3,33	6,33	18,33
С_5	12,00	5,67	7,00	24,67
С_7	10,67	6,00	7,00	23,67

Анализ динамики органолептических показателей выявил, что максимальный уровень потребительских свойств всех исследуемых контрольных образцов комбучи достигался на 5-е сутки ферментации.

В образцах А (черный чай) к 5-м суткам ферментации зафиксированы высокие органолептические показатели по шкале «Вкус и запах» (10,67 балла). Данный образец характеризовался выраженной полнотой вкуса за счет характерной терпкости чайной основы с гармоничным сочетанием накопленных продуктов метаболизма. Однако увеличение продолжительности ферментации до 7 суток приводило к деградации вкуса до 9,33 балла вследствие нарастания титруемой кислотности, что в совокупности с дубильными веществами черного чая придавало напитку избыточный кислотный привкус.

Максимальная органолептическая оценка по показателю «вкус и запах» (10,00 баллов) для образцов В (зеленый чай) зафиксирована на 5-е сутки ферментации. Экспертами отмечена легкость и свежесть вкуса, а также тонкий растительный аромат, свойственный данной чайной основе. Относительно низкий балл на 3-и сутки (7,67 баллов) обусловлен слабой выраженностью специфического вкуса и аромата ферментированного напитка. Переход к 7-м суткам ферментации сопровождался снижением оценки до 8,67 балла, что объяснялось разбалансировкой вкуса: легкая горчинка зеленого чая на фоне интенсивного накопления органических кислот приобретала резкий оттенок, снижая общую гармоничность комбучи на зеленом чае.

Установлено, что в образцах С (иван-чай) к 5-ым суткам ферментации формировался наиболее гармоничный вкусо-ароматический профиль, оцененный экспертами в 12,00 баллов (максимальное значение). Высокий балл обусловлен оптимальным балансом между накопленными титруемыми кислотами (3,48 ммоль/100 мл) и остаточным содержанием сухих веществ, что обеспечивало полноту вкуса и приятную освежающую кислотность. Дальнейшее увеличение продолжительности ферментации до 7 суток, несмотря на рост антиоксидантной активности, приводило к снижению органолептических оценок по шкале «Вкус и аромат». Это связано с интенсивным накоплением органических кислот (до 7,24

ммоль в образце С), что придало напитку избыточную резкость и «уксусный» оттенок, снижая его потребительские свойства.

3.3 Разработка рецептур и комплексная оценка показателей качества образцов функциональных напитков на основе *Medusomyces gisevii* и фитокомпозиций

3.3.1 Разработка и скрининг рецептурных питательных сред

На основе установленных закономерностей развития симбиотической культуры чайного гриба *Medusomyces gisevii* на контрольных средах, следующим этапом исследований стала разработка рецептурных питательных сред, обладающих повышенной биологической ценностью и направленным адаптогенным действием.

Разработка питательных сред осуществлялась комбинаторным подбором типа питательного субстрата (черный чай, зеленый чай и иван-чай), качественного состава бинарных фитокомпозиций в соотношении 1:1 (комбинации экстрактов женьшеня, тимьяна и тысячелистника) и количественной дозировки их внесения в среду (2,5 %, 5,0 % и 7,5 % от объема субстрата).

Разработка рецептурных питательных сред происходила путем внесения бинарных растительных композиций в соотношении 1:1 до начала ферментации в чайную основу (черный чай, зеленый чай, иван-чай), температура которой составляла 79 ± 1 °С. Данный режим обеспечивал удаление этанольной фракции при сохранении термостабильных БАВ.

На начальном этапе из 27-ми разработанных питательных сред методом органолептического анализа были отобраны среды с наиболее гармоничным сенсорным профилем. Приоритетность данного критерия была обусловлена

необходимостью обеспечения высокой потребительской привлекательности функционального напитка. Перед проведением оценки образцы питательных сред доводили до температуры 12 ± 2 °С.

Ниже представлена полная таблица 3.3.1 результатов предварительного скрининга методом сенсорной оценки образцов питательных сред по 25-балльной системе оценивания. Для отобранных образцов были введены условные обозначения.

Таблица 3.3.1 – Результаты сенсорной оценки образцов питательных сред, обогащенных фитокомпозициями до ферментации

№	Образцы	Основа	Растительное сырье	Массовая доля экстракта, %	Суммарный балл (макс. 25)
1	A2_2.5	Черный чай	Женьшень и тысячелистник	2,5	22,33
2	A2_5.0			5,0	18,67
3	A2_7.5			7,5	14,00
4	A1_2.5		Женьшень и тимьян	2,5	21,67
5	A1_5.0			5,0	19,33
6	A1_7.5			7,5	22,67
7	A3_2.5		Тимьян и тысячелистник	2,5	21,00
8	A3_5.0			5,0	21,33
9	A3_7.5			7,5	16,33
10	B2_2.5	Зеленый чай	Женьшень и тысячелистник	2,5	21,33
11	B2_5.0			5,0	17,67
12	B2_7.5			7,5	13,00
13	B3_2.5		Тимьян и тысячелистник	2,5	22,00
14	B3_5.0			5,0	18,33
15	B3_7.5			7,5	14,67
16	B1_2.5		Женьшень и тимьян	2,5	20,67
17	B1_5.0			5,0	21,67
18	B1_7.5			7,5	15,33

Продолжение таблицы 3.3.1

№	Образцы	Основа	Растительное сырье	Массовая доля экстракта, %	Суммарный балл (макс. 25)
19	C2_2.5	Иван-чай	Женьшень и тысячелистник	2,5	24,00
20	C2_5.0			5,0	18,67
21	C2_7.5			7,5	14,33
22	C1_2.5		Женьшень и тимьян	2,5	24,67
23	C1_5.0			5,0	19,33
24	C1_7.5			7,5	15,67
25	C3_2.5		Тимьян и тысячелистник	2,5	23,67
26	C3_5.0			5,0	17,00
27	C3_7.5			7,5	13,67

А – черный чай, В – зеленый чай, С – иван-чай;

Комбинации растений: 1 – женьшень и тимьян, 2 – женьшень и тысячелистник, 3 – тимьян и тысячелистник.

Анализ данных таблицы 3.3.1 позволил выявить технологическую совместимость некоторых растительных экстрактов с различными чайными основами. Установлено, что черный чай (А) обладал высокой маскирующей способностью, эффективно сглаживая специфический привкус и горечь растительных экстрактов. Это позволило использовать в рецептурах на его основе повышенные дозировки (5,0 % или 7,5 %), что в перспективе обеспечило более выраженный оздоровительный эффект готового продукта.

Субстраты на основе зеленого чая (В) и иван-чая (С) оказались более чувствительными: для них пределом гармоничного вкуса стала дозировка 2,5 %. Превышение этой нормы приводило к появлению избыточной горечи, за исключением образца В1_5.0, который остался сбалансированным при дозировке 5,0 %.

Для проведения этапа направленного культивирования и последующей оценки органолептических, физико-химических и биохимических показателей образцов комбучи были отобраны 9 типов питательных сред, продемонстрировавших наилучший сенсорный профиль:

- среда А (черный чай): образцы А1_7.5, А2_2.5, А3_5.0;
- среда В (зеленый чай): образцы В1_5.0, В2_2.5, В3_2.5;
- среда С (иван-чай): образцы С1_2.5, С2_2.5, С3_2.5.

3.3.2 Направленное культивирование и исследование физико-химических свойств опытных образцов

На следующем этапе исследований отобранные по результатам органолептического скрининга 9 типов питательных сред были подвергнуты направленному культивированию симбиотической культурой *Medusomyces gisevii*.

Целью данного этапа являлось установление влияния внесенных фитокомпозиций на биотехнологический потенциал культуры *Medusomyces gisevii* и закономерности формирования физико-химического профиля напитков на 5-е сутки ферментации.

Результаты определения физико-химических свойств на 5-е сутки направленного культивирования (таблица 3.3.2) свидетельствовали о существенной интенсификации процессов ферментации в опытных образцах по сравнению с контрольными (А, В, С без фитокомпозиций).

Таблица 3.3.2 – Результаты физико-химического анализа опытных образцов комбучи в сравнении с контролем

Образцы	Комбинация растений	Массовая доля экстракта, %	Титруемая кислотность, ммоль/100 см ³	рН	Содержание сухих веществ, %
А (контроль)	-	0,0	2,48±0,07 ^a	2,92±0,10 ^a	10,2±0,2 ^a
А1_7.5	1	7,5	4,84±0,15 ^b	2,60±0,10 ^a	11,2±0,2 ^a
А2_2.5	2	2,5	5,60±0,15 ^{bc}	2,50±0,10 ^a	11,0±0,2 ^a
А3_5.0	3	5,0	6,36±0,19 ^c	2,50±0,10 ^a	10,9±0,2 ^a

Продолжение таблицы 3.3.2

Образцы	Комбинация растений	Массовая доля экстракта, %	Титруемая кислотность, ммоль/100 см ³	pH	Содержание сухих веществ, %
В (контроль)	-	0,0	1,96±0,06 ^a	3,12±0,10 ^a	10,1±0,2 ^a
B1_5.0	1	5,0	6,92±0,21 ^b	2,56±0,10 ^b	10,7±0,2 ^a
B2_2.5	2	2,5	7,28±0,22 ^b	2,51±0,10 ^b	10,6±0,2 ^a
B3_2.5	3	2,5	7,92±0,24 ^c	2,48±0,10 ^b	10,7±0,2 ^a
С (контроль)	-	0,0	3,48±0,10 ^a	2,88±0,10 ^a	10,4±0,2 ^a
C1_2.5	1	2,5	5,16±0,15 ^b	2,76±0,10 ^a	11,0±0,2 ^a
C2_2.5	2	2,5	5,48±0,16 ^b	2,76±0,10 ^a	11,1±0,2 ^a
C3_2.5	3	2,5	6,32±0,19 ^c	2,78±0,10 ^a	11,1±0,2 ^a

А – черный чай, В – зеленый чай, С – иван-чай;

Комбинации растений: 1 – женьшень и тимьян, 2 – женьшень и тысячелистник, 3 – тимьян и тысячелистник;

Данные представлены в виде среднего значения с учетом стандартного отклонения (n = 3).

Значения, обозначенные разными буквами а, b, или с, значительно отличались от значений образца без добавления смеси растительных экстрактов, согласно критерию Тьюки (p < 0,05).

Установлено, что внесение образцов растительных экстрактов во всех случаях приводило к статистически значимому (p < 0,05) росту титруемой кислотности. Наиболее выраженный эффект зафиксирован в группе образцов В (зеленый чай), где в образцах В3_2.5 показатель достиг 7,92 ммоль/100 см³, что более чем в 4 раза превышало показатели контроля (1,96 ммоль/100 см³). Это позволило сделать вывод о наличии синергетического эффекта между компонентами зеленого чая и комбинацией «тимьян–тысячелистник», стимулирующей синтетическую активность уксуснокислых бактерий.

В опытных образцах комбучи зафиксировано более глубокое снижение уровня pH (до 2,48–2,78 ед.) относительно контроля.

Рост содержания сухих веществ в опытных образцах комбучи до 10,6–11,2 % (при контроле 10,1–10,4 %) обусловлен вкладом экстрактивных веществ вносимого растительного сырья. Стабильность значений в процессе

ферментации указывало на гармоничное потребление компонентов симбиотической культурой *Medusomyces gisevii*.

3.3.3 Изучение биохимических свойств опытных образцов

Наряду с мониторингом физико-химических показателей, определяющее значение для подтверждения функциональной направленности разработанных образцов напитков имело изучение их биохимического профиля. Учитывая использование растительных экстрактов, богатых фенольными соединениями, критически важным представлялся анализ динамики накопления флавоноидов и оценка их вклада в формирование общего антиоксидантного потенциала систем.

В таблице 3.3.3 представлены результаты определения биохимических показателей образцов напитков, обогащенных растительными экстрактами (опытные образцы).

Таблица 3.3.3 – Результаты биохимического анализа опытных образцов комбучи в сравнении с контролем

Образцы	Комбинация растений	Массовая доля экстракта, %	Массовая доля флавоноидов, %	АОА, %
А (контроль)	—	0,0	0,85±0,03 ^a	23,29±0,70 ^a
A1_7.5	1	7,5	1,94±0,06 ^b	39,87±1,20 ^b
A2_2.5	2	2,5	1,35±0,04 ^b	41,18±1,24 ^b
A3_5.0	3	5,0	2,08±0,06 ^b	40,66±1,22 ^b
В (контроль)	—	0,0	0,17±0,01 ^a	11,32±0,34 ^a
B1_5.0	1	5,0	0,17±0,01 ^a	17,11±0,51 ^b
B2_2.5	2	2,5	0,17±0,01 ^a	18,95±0,57 ^b
B3_2.5	3	2,5	0,40±0,01 ^b	13,68±0,41 ^a

Продолжение таблицы 3.3.3

Образцы	Комбинация растений	Массовая доля экстракта, %	Массовая доля флавоноидов, %	АОА, %
С (контроль)	—	0,0	1,53±0,05 ^a	20,53±0,62 ^a
С1_2.5	1	2,5	3,13±0,09 ^b	65,53±1,97 ^b
С2_2.5	2	2,5	4,26±0,13 ^c	66,32±1,99 ^b
С3_2.5	3	2,5	2,53±0,08 ^b	66,05±1,98 ^b

Данные представлены в виде среднего значения с учетом стандартного отклонения (n = 3).

Значения, обозначенные разными буквами a, b, или c, значительно отличались от значений образца без добавления смеси растительных экстрактов, согласно критерию Тьюки ($p < 0,05$).

Наиболее ощутимый рост АОА (таблица 3.3.3) зафиксирован у образцов на основе иван-чая: показатели достигали значений 65,5–66,3 %, что более чем в 3 раза превышало показатели контроля (20,5 %). Столь выраженный эффект объяснялся эффективной биотрансформацией в процессе направленного культивирования [91], что привело к синергетическому усилению антиоксидантного потенциала опытных образцов среды С (иван-чай).

Максимальное накопление флавоноидов установлено в образцах комбучи С2_2.5 (4,26 %). Примечательно, что в образцах на среде В (зеленый чай) содержание флавоноидов практически не изменялось относительно контроля (0,17 %), за исключением образцов В3_2.5. Однако даже при стабильном уровне флавоноидов наблюдался рост АОА, что свидетельствовало о переходе сложных полифенолов в более активные низкомолекулярные формы [91].

Анализ данных таблицы 3.3.3 позволил установить прямую зависимость между массовой долей флавоноидных соединений и показателем антиоксидантной активности в опытных образцах.

Наиболее выраженный синергизм зафиксирован в опытных образцах комбучи на среде С (иван-чай). В образцах С2_2.5 (женьшень и тысячелистник) зафиксирован абсолютный максимум содержания флавоноидов (4,26 %), что сопровождалось пиковым значением АОА (66,32 %). Это свидетельствовало о

том, что иван-чай выступал наиболее эффективной основой для качественного извлечения и сохранения флавоноидов в образцах готового напитка.

Интересная закономерность наблюдалась в опытных образцах напитка на черном и зеленом чае. Несмотря на то, что в образцах комбучи АЗ_5.0 содержание флавоноидов (2,08 %) в два раза ниже, чем у образцов С2_2.5, показатель АОА оставался на высоком уровне (40,66 %). В опытных образцах В2_2.5 при минимальном содержании флавоноидов (0,17 %) зафиксирован рост АОА до 18,95 %. Это свидетельствовало о том, что антиоксидантный эффект, по-видимому, обусловлен не только количественным содержанием исходных флавоноидов, но и их качественной трансформацией [113]. Ферменты *Medusomyces gisevii* переводили сложные растительные полифенолы в свободные формы (агликоны), которые обладают значительно более высокой антиоксидантной активностью при меньшей массовой доле.

3.3.4 Оценка синергетического эффекта компонентов разработанных напитков

Установленный в предыдущих разделах значительный рост массовой доли флавоноидов в опытных образцах напитков позволил предположить наличие выраженного синергетического эффекта между метаболитами симбиотической культуры и БАВ образцов вносимых фитокомпозиций.

Для научного обоснования рецептурных решений был проведен сравнительный анализ фактических показателей массовой доли флавоноидов с теоретически ожидаемыми значениями, определенными по принципу расчетно-балансового метода [86]. Проведенная оценка взаимодействия компонентов позволила количественно определить степень взаимного усиления антиоксидантных свойств и выделить наиболее эффективные комбинации «субстрат–экстракт», обеспечивающие максимальный функциональный отклик в готовом продукте.

Расчет теоретических значений массовой доли флавоноидов (таблица 3.3.4) проводился с учетом рецептурных соотношений компонентов (контроля и экстрактов) по формуле (2.3.2).

Таблица 3.3.4– Данные для расчета теоретической массовой доли флавоноидов

Образцы	№ комб.	$C_{\text{контр}}$	$C_{\text{экстр1}}$	$C_{\text{экстр2}}$	$V_{\text{контр}}$	$V_{\text{экстр1}}$	$V_{\text{экстр2}}$	$C_{\text{теор}}$
А	1	0,85	1,124	0,066	0,925	0,0375	0,0375	0,831
	2		0,939	0,066	0,975	0,0125	0,0125	0,841
	3		1,124	0,939	0,950	0,0250	0,0250	0,859
В	1	0,17	1,124	0,066	0,950	0,0250	0,0250	0,191
	2		0,939	0,066	0,975	0,0125	0,0125	0,178
	3		1,124	0,939	0,975	0,0125	0,0125	0,192
С	1	1,53	1,124	0,066	0,975	0,0125	0,0125	1,510
	2		0,939	0,066	0,975	0,0125	0,0125	1,500
	3		1,124	0,939	0,975	0,0125	0,0125	1,520

А – черный чай, В – зеленый чай, С – иван-чай;

Комбинации растений: 1 – женьшень и тимьян, 2 – женьшень и тысячелистник, 3 – тимьян и тысячелистник;

$C_{\text{контр}}$ – массовая доля флавоноидов в контрольном образце (культуральная жидкость на 5-е сутки);

$V_{\text{контр}}$ – объемная доля контроля в готовом напитке; $C_{\text{экстр1}}$, $C_{\text{экстр2}}$ – массовая доля флавоноидов в растительных экстрактах; $V_{\text{экстр1}}$, $V_{\text{экстр2}}$ – объемные доли соответствующих экстрактов в рецептуре;

$C_{\text{теор}}$ – теоретическая массовая доля флавоноидов (в пересчете на рутин).

Для количественной оценки степени синергетического взаимодействия симбиотической культуры *Medusomyces gisevii* с фитокомпозициями был рассчитан коэффициент синергизма (K_{syn}) по формуле (2.3.3), представленный в таблице 3.3.5.

Таблица 3.3.5 – Результаты определения коэффициента синергизма опытных образцов

Образцы	Комбинация растений	$C_{\text{теор}}$, %	$A_{\text{факт}}$, %	K_{syn}
А	1	0,831	1,94±0,06	2,33
	2	0,841	1,35±0,04	1,61
	3	0,859	2,08±0,06	2,42

Продолжение таблицы 3.3.5

Образцы	Комбинация растений	$C_{теор}, \%$	$A_{факт}, \%$	K_{syn}
В	1	0,191	$0,17 \pm 0,01$	0,89
	2	0,178	$0,17 \pm 0,01$	0,95
	3	0,192	$0,40 \pm 0,01$	2,08
С	1	1,510	$3,13 \pm 0,09$	2,07
	2	1,500	$4,26 \pm 0,13$	2,83
	3	1,520	$2,53 \pm 0,08$	1,66

А – черный чай, В – зеленый чай, С – иван-чай;

Комбинации растений: 1 – женьшень и тимьян, 2 – женьшень и тысячелистник, 3 – тимьян и тысячелистник;

$A_{факт}$ – фактическая массовая доля флавоноидов (в пересчете на рутин).

Анализ данных таблицы 3.3.5 подтвердил наличие выраженного синергетического эффекта для всех исследуемых комбинаций образцов напитков на средах А и С. Образцы А3_5.0 (комбинация 3, тимьян и тысячелистник в концентрации 5 %) продемонстрировали максимальный коэффициент синергизма из образцов на среде А – 2,42, что свидетельствовало о наиболее глубокой деструкции растительных комплексов и интенсификации выхода БАВ. Превышение фактического содержания флавоноидов над расчетным составило более чем в 2,4 раза. Образцы С2_2.5 (комбинация 2, женьшень и тысячелистник в концентрации 2,5 %) показали максимальный коэффициент синергизма из образцов на среде С – 2,83, что означало превышение фактического содержания флавоноидов почти в 3 раза над теоретически возможным. В образцах В1_5.0 и В2_2.5 фактические значения оказались чуть ниже или на уровне расчетных, что можно объяснить связыванием компонентов или их использованием микробиологическим сообществом в процессе ферментации. Только в образцах В3_2.5 наблюдался выраженный синергетический эффект.

Обоснование выбора приоритетных образцов разработанных напитков на основе комплексной оценки содержания флавоноидов и антиоксидантной активности. На основании сопоставления расчетных данных синергетического эффекта и экспериментальных показателей антиоксидантной активности, для

дальнейшей реализации биотехнологического потенциала были отобраны образцы A3_5.0, B2_2.5 и C2_2.5. Выбор данных композиций обусловлен следующим:

1. Образцы A3_5.0. Выбор обусловлен достижением высокого уровня функциональности (АОА = 40,66 %), что в 1,75 раза превышало контроль. Сочетание максимального коэффициента синергизма по флавоноидам ($K_{syn} = 2,42$) и стабильных показателей АОА подтвердило эффективность данной рецептуры как надежного источника антиоксидантов при промышленном культивировании.

2. Образцы B2_2.5. Данные образцы признаны оптимальными в своей серии, так как продемонстрировали наивысший прирост АОА (18,95 %) при минимальной дозировке ввода фитокомпозиции (2,5 %). Превосходство над образцами B1_5.0 (с вводом фитокомпозиции 5 %) доказывает, что именно комбинация женьшеня и тысячелистника в низкой концентрации инициировала наиболее качественную биотрансформацию субстрата, обеспечивая рост активности в 1,67 раза относительно контроля.

3. Образцы C2_2.5 являлись наиболее перспективными объектами исследования. Сочетание максимального коэффициента синергизма ($K_{syn} = 2,83$) и значения АОА (66,32 %) свидетельствовало о глубоком синергетическом взаимодействии. Рост антиоксидантного потенциала в 3,23 раза относительно контроля (20,53 %) при введении 2,5 % фитокомпозиции подтвердил предельно выраженную биологическую ценность данной биотехнологической системы.

Представленные 3 вида образцов были исследованы на наличие витаминов и аминокислот, а также проверены по показателям безопасности.

3.3.5 Исследование аминокислотного состава и витаминного профиля приоритетных образцов

На заключительном этапе биохимического скрининга три приоритетные группы образцов (A3_5.0, B2_2.5 и C2_2.5), отобранные по результатам оценки

антиоксидантного потенциала и коэффициентов синергизма, были исследованы на содержание аминокислот и витаминов группы В и С.

Изучение аминокислотного состава и витаминного профиля позволило количественно оценить вклад продуктов метаболизма *Medusomyces gisevii* и экстрактивных веществ фитокомпозиций в формирование биологической ценности образцов напитков. Данный этап работы направлен на подтверждение функциональных свойств разработанных рецептур напитков.

Аминокислотный состав приоритетных образцов комбучи изображен на хроматограммах (рисунки 3.3.1–3.3.3) и приведен в таблице 3.3.6.

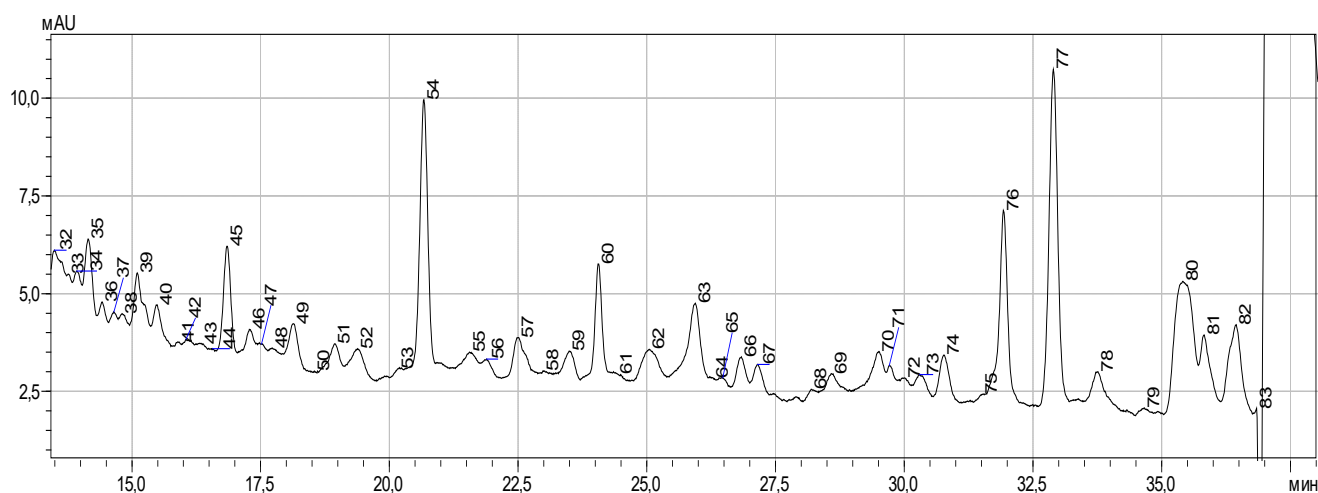


Рисунок 3.3.1 – Хроматограмма аминокислотного состава образца АЗ_5.0

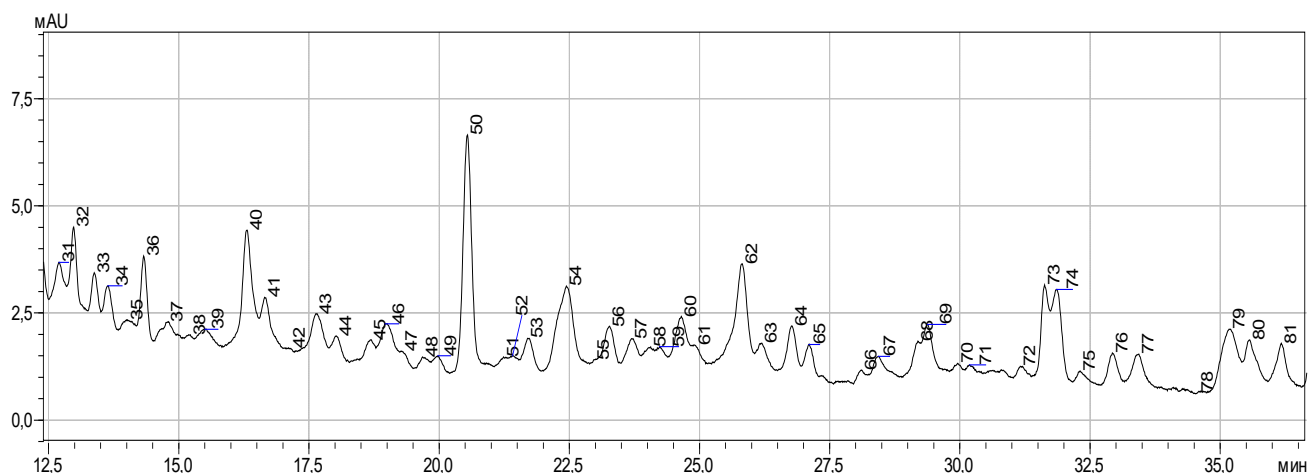


Рисунок 3.3.2 – Хроматограмма аминокислотного состава образца В2_2.5

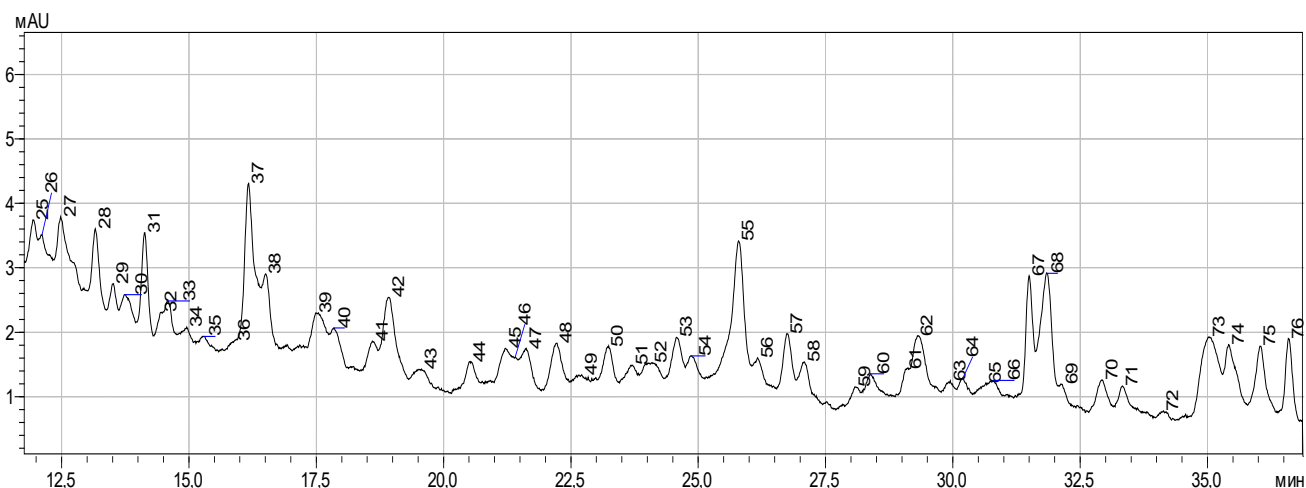


Рисунок 3.3.3 – Хроматограмма аминокислотного состава образца C2_2.5

Таблица 3.3.6 – Аминокислотный состав образцов A3_5.0, B2_2.5, C2_2.5 в сравнении с контролем А, В и С

Аминокислоты	Содержание аминокислот в образцах, мкг/г					
	на черном чае		на зеленом чае		на иван-чае	
	А (контроль)	A3_5.0	В (контроль)	B2_2.5	С (контроль)	C2_2.5
Триптофан	971,2±29,1	879,4±26,4*	660,8±19,8	3051,4±91,5*	566,3±17,0	488,16±14,64*
Глутаминовая кислота	1448,3±43,4	952,3±28,6*	507,5±15,2	1753,4±52,6*	295,7±8,9	265,44±7,96
Серин	1119,2±33,6	828,2±24,8*	656,8±19,7	2654,1±79,6*	429,2±12,9	408,96±12,27
Глицин	604,6±18,1	481,3±14,4*	388,4±11,7	958,9±28,8*	193,5±5,8	118,08±3,54*
Гистидин	474,9±14,2	320,0±9,6*	272,3±8,2	351,5±10,5*	288,5±8,7	226,56±6,80*
Глутамин	1134,2±34,0	1038,1±31,1*	694,9±20,8	1210,6±36,3*	17,9±0,5	52,32±1,57*
Аргинин	291,6±8,7	249,6±7,5	102,5±3,1	189,3±5,7*	432,8±13,0	92,64±2,78*
Лизин	433,1±13,0	144,6±4,3*	76,1±2,3	879,8±26,4*	384,4±11,5	117,12±3,51*
Треонин	558,5±16,8	423,7±12,7*	88,8±2,7	330,7±9,9*	433,7±13,0	93,12±2,79*
Аланин	232,6±7,0	261,1±7,8	98,6±3,0	459,7±13,8*	365,6±11,0	95,52±2,87*
Пролин	276,6±8,3	563,2±16,9*	61,5±1,8	187,2±5,6*	316,3±9,5	48,96±1,47*
Аспарагиновая кислота	670,0±20,1	138,2±4,1*	323,1±9,7	1060,8±31,8*	649,6±19,5	400,32±12,01*
Аспарагин	352,7±10,6	414,7±12,4*	221,6±6,6	307,8±9,2*	749,1±22,5	118,08±3,54*

Продолжение таблицы 3.3.6

Аминокислоты	Содержание аминокислот в образцах, мкг/г					
	на черном чае		на зеленом чае		на иван-чае	
	А (контроль)	A3_5.0	В (контроль)	B2_2.5	С (контроль)	C2_2.5
Тирозин	246,6±7,4	0,0	184,5±5,5	160,2±4,8	684,5±20,5	83,52±2,51*
Цистеин	688,2±20,6	167,7±5,0*	304,5±9,1	222,6±6,7*	855,7±25,7	68,16±2,04*
Метионин	476,0±14,3	236,8±7,1*	205,9±6,2	372,3±11,2*	922,9±27,7	172,8±5,18*
Валин	52,5±1,6	819,2±24,6*	82,0±2,5	41,6±1,2*	1351,2±40,5	31,2±0,94*
Цистин	1111,7±33,4	1427,2±42,8*	847,2±25,4	1017,1±30,5*	2731,0±81,9	526,56±15,80*
Изолейцин	275,5±8,3	2202,9±66,1*	3336,0±100,1	195,5±5,9*	1519,6±45,6	79,68±2,39*
Лейцин	151,2±4,5	2110,7±63,3*	1917,8±57,5	243,4±7,3*	1276,8±38,3	62,88±1,89*
Фенилаланин	32,2±1,0	4920,3±147,6*	5778,9±173,4	2895,4±86,9*	3871,6±116,1	324,48±9,73*

Данные представлены в виде среднего значения с учетом стандартного отклонения (n = 3).

Значения, обозначенные символом "*", значимо отличается от образца без добавления растительного экстракта, согласно критерию Тьюки ($p < 0,05$).

Сравнительный анализ аминокислотного профиля (таблица 3.3.6) выявил фундаментальные различия в метаболизме *Medusomyces gisevii* в зависимости от типа используемой фитокомпозиции и субстрата.

1. Образцы A3_5.0 (черный чай + тимьян + тысячелистник). В данной системе зафиксирован высокий рост концентрации незаменимых аминокислот, участвующих в энергетическом обмене. Содержание фенилаланина увеличилось более чем в 150 раз (с 32,2 до 4920,3 мкг/г), лейцина – в 14 раз, изолейцина – в 8 раз. Также отмечен значительный прирост валина (в 15 раз). Это прямое доказательство того, что комбинация «тимьян + тысячелистник» на основе черного чая активировала биосинтетические пути культуры *Medusomyces gisevii*, превращая напиток в мощный источник аминокислот.

2. Образцы B2_2.5 (зеленый чай + женьшень + тысячелистник). Наблюдалась иная метаболическая стратегия – существенное накопление триптофана (рост в 4,6 раза до 3051,4 мкг/г) и серина (рост в 4 раза). Триптофан является предшественником серотонина, что в сочетании с адаптогенными свойствами

женьшеня позволяет позиционировать данный вид образцов как средство для повышения психоэмоциональной устойчивости. При этом значительное снижение концентрации фенилаланина, лейцина и изолейцина в этих образцах указывает на их активное потребление дрожжами в процессе ферментации.

3. Образцы C2_2.5 (иван-чай + женьшень + тысячелистник). В данной системе зафиксировано общее снижение концентрации большинства аминокислот относительно контроля С. Это свидетельствовало о том, что в данной питательной среде компоненты тысячелистника и женьшеня в сочетании с иван-чаем, по-видимому, выступали мощными катализаторами метаболизма. В результате аминокислоты расходовались культурой как основной строительный материал для биосинтеза вторичных метаболитов и ферментов, что подтверждалось выявленным ранее пиком антиоксидантной активности в этой системе.

Таким образом, наибольшим потенциалом в качестве энергетического и восстановительного средства обладали образцы A3_5.0, продемонстрировавшие рекордное накопление критически важных аминокислот (фенилаланина, лейцина, валина). Образцы B2_2.5 представляют интерес как источник триптофана. А образцы C2_2.5 – как система с максимальной метаболической глубиной переработки сырья, обеспечивающей формирование высокого антиоксидантного статуса готового продукта. Полученные данные доказывают, что направленное внесение растительных экстрактов позволяет моделировать аминокислотный профиль комбучи, адаптируя его под конкретные функциональные задачи.

Содержание витаминов группы В и С, найденных в результате хроматографического анализа в приоритетных образцах напитков, представлено в таблице 3.3.7. Максимальное содержание витамина С зафиксировано в образцах A3_5.0 (18,945 мкг/см³). Это обусловлено использованием 5 % концентрации фитокомпозиции в сочетании с основой черного чая, где экстрактивные вещества тысячелистника и тимьяна обеспечили максимальное содержание нутриента.

Таблица 3.3.7 – Содержание витаминов в приоритетных образцах напитков

Образцы	Витамин С, мкг/ см ³	Витамин В6, мкг/ см ³	Витамин В1, мкг/ см ³	Витамин В2, мкг/ см ³
A3_5.0	18,945±0,568	6,125±0,184	0,684±0,021	0,135±0,004
B2_2.5	12,441±0,373	3,111±0,093	0,497±0,015	0,156±0,005
C2_2.5	8,496±0,255	6,700±0,201	1,192±0,036	0,137±0,004

Данные представлены в виде среднего значения с учетом стандартного отклонения (n = 3).

Установлено, что образцы C2_2.5 характеризовались пиковыми значениями витаминов группы В: концентрации В6 (6,700 мкг/см³) и В1 (1,192 мкг/см³) в данной системе являются максимальными среди всех исследуемых объектов (таблица 3.3.7). Выявленная закономерность согласуется с данными аминокислотного анализа: в образцах C2_2.5, где наблюдалось максимальное потребление аминокислот, зафиксирован и самый интенсивный микробиологический синтез витаминов группы В. Это свидетельствовало о том, что среда на основе иван-чая в сочетании с используемыми фитокомпозициями максимально стимулировала метаболическую активность *Medusomyces gisevii*, направляя ресурсы системы на биосинтез витаминного комплекса и антиоксидантных метаболитов.

Образцы A3_5.0, лидирующие по содержанию витамина С и аминокислот (валин, лейцин, изолейцин), позиционируются как восстановительный комплекс, в то время как C2_2.5 с высоким содержанием тиамин и пиридоксин обладают выраженным нейропротекторным и энергетическим потенциалом.

3.3.6 Сенсорная оценка и анализ показателей безопасности функциональных напитков

Следующим этапом определения качества приоритетных образцов стала сенсорная оценка готовых образцов напитков на 5-е сутки ферментации. Целью

данного этапа являлось установление влияния жизнедеятельности *Medusomyces gisevii* на формирование окончательного органолептического профиля систем.

В отличие от исходных рецептурных сред (п. 3.3.1), готовые образцы напитков характеризовались наличием продуктов брожения (органических кислот и диоксида углерода), что существенно меняло восприятие вкуса и аромата. Оценка проводилась экспертной комиссией по 25-балльной шкале, принятой для безалкогольных напитков (согласно методике главы 2). Результаты представлены в таблице 3.3.8.

Таблица 3.3.8 – Результаты сенсорной оценки приоритетных образцов комбучи, обогащенных фитокомпозициями и полученных на 5-е сутки ферментации

Показатели	Образцы		
	Образец А3_5.0	Образец В2_2.5	Образец С2_2.5
Внешний вид, прозрачность, цвет (7)	6,33	6,00	7,00
Вкус и запах (12)	10,67	10,33	11,67
Насыщенность CO ₂ (6)	5,33	5,00	5,67
Итоговый балл (25)	22,33	21,33	24,34

А – черный чай, В – зеленый чай, С – иван-чай;

Комбинации растений: 1 – женьшень и тимьян, 2 – женьшень и тысячелистник, 3 – тимьян и тысячелистник.

Высокий суммарный балл образцов А3_5.0 (22,33 балла) обусловлен выраженными потребительскими свойствами – полнотой вкуса и приятной терпкостью, гармонирующей с пряно-травянистыми нотами вводимой фитокомпозиции. Несмотря на повышенную дозировку фитокомпозиции (5,0 %), образцы сохранили чистоту вкусового профиля без избыточной горечи, что позволило присвоить им оценку «хорошо», граничащую с отличной.

Образцы на основе зеленого чая В2_2.5 получили суммарную оценку 21,33 балла. Сенсорный профиль данных образцов напитка характеризовался легкостью и освежающим эффектом, при этом сочетание женьшеня и тысячелистника придало

вкусу едва уловимый специфический оттенок, свойственный адаптогенному сырью. По совокупности показателей напиток получил уверенную оценку «хорошо».

Образцы С2_2.5 получили наивысший балл (24,34). Экспертами отмечено появление гармоничного кисло-сладкого послевкусия. Все приоритетные образцы напитка получили высокие оценки за насыщенность диоксидом углерода (5,00–5,67 балла). Напитки на основе черного чая и зеленого чая получили оценки «хорошо», на основе иван-чая – «отлично».

Таким образом, ферментация в течение 5-ти суток позволила получить продукты с высокими органолептическими показателями. Готовые напитки обладали выраженным функциональным составом и гармоничным вкусом, что подтвердило правильность выбранных рецептурных решений и технологических режимов.

Согласно ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции» получаемый продукт относится к безалкогольным напиткам, напиткам брожения, к которым предъявляются определенные требования безопасности и производится оценка показателей качества [75].

Согласно Приложению 7 к техническому регламенту, выбранное для производства напитка растительное сырье не запрещено для использования в составе биологически активных добавок к пище, это такие растения, как женьшень настоящий *Panax ginseng* (подлежит включению в состав только двухкомпонентных и более биологически активных добавок к пище), тимьян обыкновенный *Thymus vulgaris*, тысячелистник обыкновенный *Achillea millefolium*. Растительные объекты, проверенные на показатели безопасности, полностью соответствуют ОФС.1.5.1.0001.15 «Лекарственное растительное сырье».

Образцы готовых продуктов на черном чае с добавлением 5 % экстракта тимьяна и тысячелистника (А3_5.0), на зеленом чае с добавлением 2,5 % экстракта женьшеня и тысячелистника (В2_2.5) и на иван-чае с добавлением 2,5 % экстракта женьшеня и тысячелистника (С2_2.5) подвергались проверке по показателям безопасности. В таблице 3.3.9 представлены результаты определения тяжелых металлов в готовых образцах.

Таблица 3.3.9 – Содержание тяжелых металлов в готовых образцах напитков

Образцы	Содержание примесей тяжелых металлов, мг/кг							
	Pb		Hg		Cd		As	
	I	II	I	II	I	II	I	II
A3_5.0	≤0,300	0,0030±0,0007	≤0,005	н/о	≤0,100	н/о	≤0,030	н/о
B2_2.5		0,0036±0,0009		н/о		н/о		н/о
C2_2.5		0,0028±0,0007		н/о		н/о		н/о

н/о – не обнаружено;

I – норма, II – значение.

Полученные результаты свидетельствовали о том, что в образцах готовых напитков отсутствовал или содержался в допустимом количестве ряд тяжелых металлов, в соответствии с требованиями ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции». Следовательно, полученные образцы функциональных напитков безопасно употреблять в пищу.

Готовый продукт проходил микробиологический контроль, результаты которого соответствовали показателям безопасности ТР ТС 021/2011 (таблица 3.3.10).

Таблица 3.3.10 – Микробиологические нормативы безопасности (патогенные)

Группа продуктов	Показатель	Допустимые уровни	Результат
Напитки безалкогольные, напитки брожения, пиво и напитки на основе пива	Патогенные микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы, не допускаются в 25 см ³	н/д	н/о
	КМАФАнМ, КОЕ/см ³	н/н	10 ⁶
	БГКП, не допускаются в 1 см ³	н/д	н/о
	БГКП (колиформы), не допускаются в 1 см ³	н/д	н/о
	Плесени, КОЕ/см ³ , не более	50–100	н/о
	Дрожжи, КОЕ/см ³	н/н	10 ⁵

н/д – не допускается, н/о – не обнаружены, н/н – не нормируется.

В соответствии с требованиями ТР ТС 021/2011, для напитков брожения, включающих живые культуры микроорганизмов, показатели содержания

дрожжей и КМАФАнМ не лимитируются. Установленное в ходе исследования количество дрожжевых клеток классифицировалось как детерминированная технологическая микрофлора симбиотической культуры *Medusomyces gisevii*, обеспечивающая функциональные свойства и созревание напитка.

Таким образом, функциональный напиток на основе чайного гриба с добавлением растительных экстрактов полностью соответствовал требованиям по показателям безопасности, предъявляемым ТР ТС 021/2011.

ГЛАВА 4 ПРАКТИЧЕСКАЯ ПРИМЕНИМОСТЬ

В главе описаны технологические этапы производства функциональных напитков на основе чайного гриба и растительных экстрактов. Составлены рекомендации по употреблению готового продукта. Произведен расчет экономической эффективности производства образцов функционального напитка.

4.1 Разработка технологической схемы производства функционального напитка на основе *Medusomyces gisevii* и растительных экстрактов

Основные этапы производства функционального напитка на основе чайного гриба с добавлением растительных экстрактов представлены на процессуальной схеме (рисунок 4.1.1).

Технология производства напитка функционального назначения разделена на несколько этапов.

1. Подготовка основного и вспомогательного сырья. Биомасса чайного гриба промывается проточной водой перед ферментацией, водопроводная вода нагревается до 99 ± 1 °C в водонагревателе. Этиловый спирт нужных концентраций 55 % и 75 % готовится из 96 % этанола.

2. Получение и подготовка бесспиртовых растительных экстрактов.

Экстракция растительного сырья (перколяция). Осуществляется подготовка растительного материала к экстракции: загружается сырье тимьяна, тысячелистника или женьшеня в перколяторы-экстракторы, где в течение 3 суток при температуре окружающей среды 21–23 °C происходит процесс экстракции тимьяна и женьшеня этиловым спиртом 55 % и тысячелистника этиловым спиртом 75 %. Соотношение тысячелистника и женьшеня к растворителю составляет 1:50, тимьяна – 1:20. Перколяторы-экстракторы оборудованы ложным дном, на которое помещают

фильтрующий материал. В результате получают первичные спиртовые извлечения. Ложная сетка перколятора удерживает основной шрот [51].

Грубая очистка и декантация. Спиртовой экстракт направляется в емкость-отстойник для удаления мелкодисперсной взвеси и «пылевидной» фракции шрота, которая прошла через сетку перколятора.

Тонкая фильтрация растительных экстрактов. Фильтрация растительных экстрактов проводится через пресс-фильтр с диаметром пор 0,5–1,5 мкм с целью получения абсолютно прозрачного раствора без взвесей [51].

Вакуум-выпаривание. Очищенный экстракт поступает в вакуум-выпарную установку для полной отгонки этанола в щадящем режиме, чтобы сохранить термолабильные флавоноиды. Выпаривание происходит в режиме глубокого вакуума 0,09–0,1 МПа с работой мешалки на средних оборотах при температуре 38–42 °С. Бесспиртовой концентрат охлаждается до 20–25 °С и проверяется на содержание сухих веществ. При необходимости добавляется расчетное количество подготовленной воды для достижения нужной рабочей концентрации перед внесением в питательную среду. Определение остаточного содержания спирта осуществляется в соответствии с требованиями ОФС.1.2.1.0016.15 «Определение спирта этилового в лекарственных средствах».

3. Подготовка функциональной питательной среды и купажирование.

Приготовление заваренного чая. Чайный лист черного чая, зеленого чая и иван-чая (отдельно) в рассчитанном количестве по рецептуре загружается в перколятор-экстрактор, куда подается подготовленная вода, нагретая в водонагревателе до 99 ± 1 °С. На данном этапе происходит процесс экстракции чайного листа в течение 30 минут.

Фильтрация проводят для исключения из раствора частиц чайного листа и посторонних веществ, занесенных из внешней среды. Среда проходит через фильтр-пресс с диаметром пор 50–100 мкм, содержащий 6 фильтровальных пластин картона.

Внесение сахара. Заваренный чай подается в емкость с мешалкой, куда загружается сахар и происходит перемешивание компонентов питательной среды. Сладкий чай охлаждается до температуры 25–28 °С.

Купажирование. В охлажденную чайную основу дозировано вводятся из вакуум-выпарной установки и перемешиваются подготовленные бесспиртовые экстракты в следующих пропорциях:

- основа на черном чае: комбинация тимьян 2,5 % + тысячелистник 2,5 %;
- основа на зеленом чае: комбинация женьшень 1,25 % + тысячелистник 1,25 %;
- основа на иван-чае: комбинация женьшень 1,25 % + тысячелистник 1,25 %.

4. Инокуляция и ферментация. В чаны закрытого типа с клапанами для подачи кислорода вносятся питательная среда (купаж чайной основы и растительных экстрактов) и рассчитанное количество посевного материала. Процесс ферментации длится 5 суток при температуре 28 °С. Осуществляется мониторинг активной кислотности (до достижения рН 3,0), титруемой кислотности (до 5,0–7,9 ммоль/100 мл) и содержания сухих веществ ($10,5 \pm 0,5$ %).

5. Фильтрование функционального напитка.

Отделение бактериальной целлюлозы. По завершении ферментации биомасса извлекается и направляется на промывку и повторное использование.

Первичное фильтрование (грубая очистка). Напиток пропускается через сетчатые фильтры (размер ячеек 50–100 мкм) для удаления крупных включений.

Холодное обеспложивающее фильтрование. Осуществляется на фильтр-прессе с использованием стерильных фильтр-пластин с размером пор 0,2–0,6 мкм. Процесс позволяет полностью удалить клетки симбиотической культуры и постороннюю микрофлору без термического воздействия на продукт. Это обеспечивает сохранность антиоксидантного потенциала и витаминного профиля при одновременном достижении микробиологической чистоты согласно ТР ТС 021/2011. Определение остаточного содержания спирта осуществляется в соответствии с требованиями ГОСТ 28188-2014. «Напитки безалкогольные. Общие технические условия» [13].

9. Розлив, укупорка и складское хранение. Отфильтрованный напиток поступает в стерильную изотермическую емкость, где охлаждается до температуры 4 ± 2 °С. Розлив напитка осуществляется в стеклянные бутылки объемом 0,5 дм³ в условиях, исключающих контакт с внешней средой. Затем происходит маркировка и этикетирование продукта. Объем выпускаемой

продукции составляет 75 тыс. дм³/год или 150 тыс. бут./год. Групповая упаковка по 20 бутылок проводится в полиэтиленовую термоусадочную пленку толщиной 60 микрон. Хранение готовой продукции осуществляется на складе, где поддерживается температурный режим 0...+6 °С.

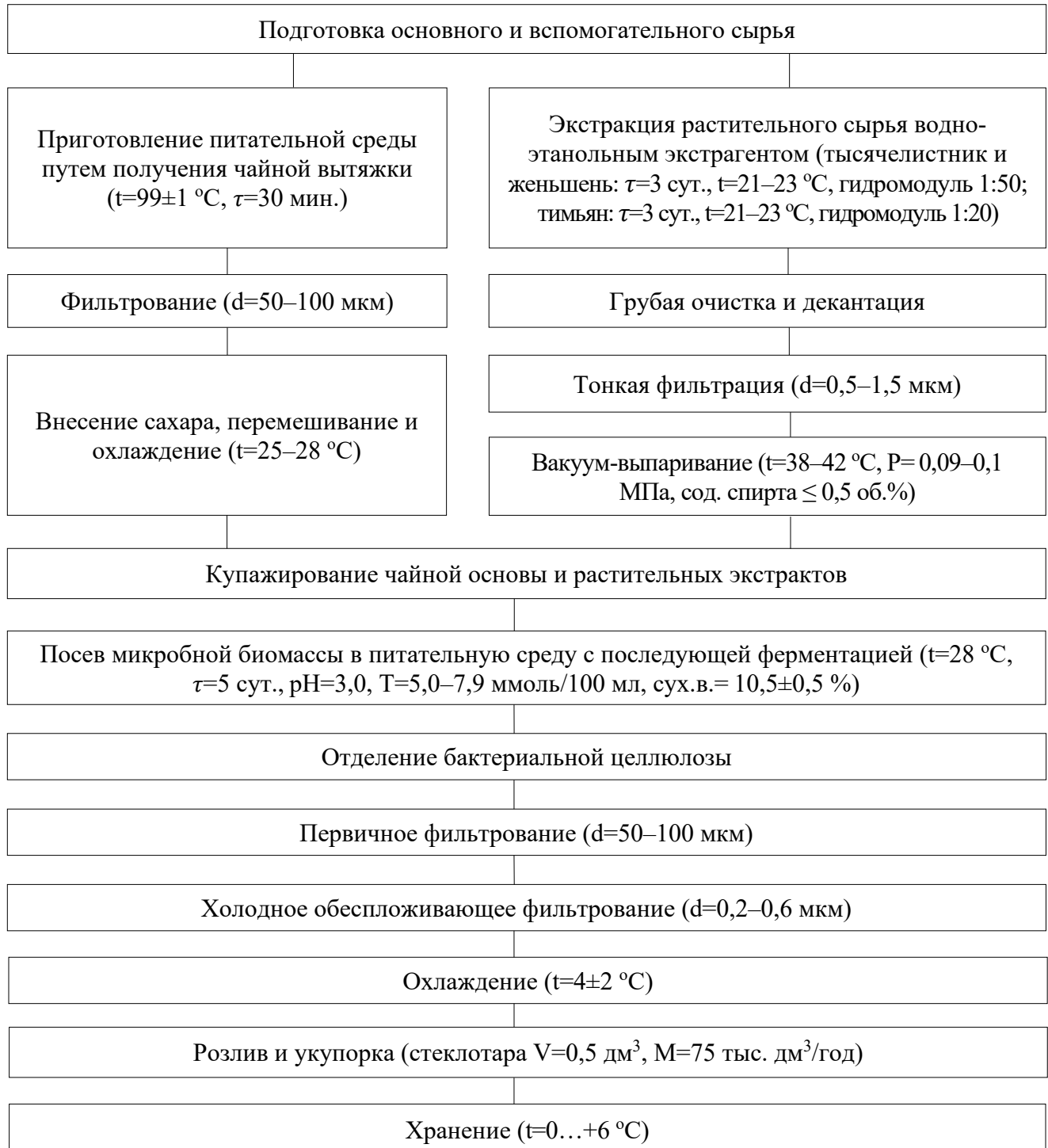


Рисунок 4.1.1 – Схема производства функционального напитка с добавлением растительных экстрактов

4.2 Роль разработанных функциональных напитков в обеспечении суточной потребности в витаминах и аминокислотах

Согласно МР 2.3.1.0253-21 определены рекомендуемые величины суточного потребления пищевых и биологически активных веществ для взрослых в составе продуктов диетического (лечебного и профилактического) питания и БАД к пище, в т.ч. витамины и аминокислоты [43].

Существуют разные рекомендации по употреблению напитков на основе чайного гриба. Некоторые авторы утверждают, что напиток рекомендуется употреблять не больше 120 см³ в сутки, другие – 200–500 см³. Прием рекомендуется начинать с малых порций, постепенно увеличивая до необходимого объема [34, 89, 121].

Одним из вариантов употребления для здоровых людей является 3 раза в день по 100 см³. Таким образом, будем считать, что суточная рекомендация по употреблению напитка на основе чайного гриба, обогащенного растительными экстрактами, составляет 300 см³.

Одним из результатов настоящей работы стало определение аминокислотного и витаминного составов функциональных напитков на основе чайного гриба с добавлением комбинаций растительных экстрактов.

В таблице 4.2.1 представлено сравнение показателей рекомендуемого уровня суточного потребления аминокислот с показателями, полученными в ходе исследования, с перерасчетом на суточную норму потребления напитка.

В таблице 4.2.2 представлено сравнение показателей рекомендуемого уровня суточного потребления витаминов с показателями, полученными в ходе исследования, с перерасчетом на суточную норму потребления напитка.

Таблица 4.2.1 – Сравнение показателей АМК состава, полученных в ходе исследования, с учетом перерасчета на 300 см³, с суточной нормой потребления

Аминокислоты	Рекомендуемый уровень потребления, г	Содержание в образце, мг/300 см ³		
		A3_5.0	B2_2.5	C2_2.5
Валин	2,5	0,27	0,01	0,01
Лейцин	4,6	0,70	0,08	0,02
Изолейцин	2,0	0,73	0,07	0,03
Лизин	4,1	0,05	0,30	0,04
Метионин+цистин	1,8	0,55	0,46	0,23
Треонин	2,4	0,14	0,11	0,03
Фенилаланин+тирозин	4,4	1,64	1,02	0,14
Аланин	6,6	0,09	0,15	0,03
Аргинин	6,1	0,08	0,06	0,03
Аспарагиновая кислота	12,2	0,05	0,35	0,13
Гистидин	2,1	0,11	0,12	0,08
Глицин	3,5	0,16	0,32	0,04
Глутаминовая кислота	13,6	0,32	0,58	0,09
Пролин	4,5	0,19	0,06	0,02
Серин	8,3	0,28	0,88	0,14
L-глутамин	0,5	0,35	0,40	0,02

Таблица 4.2.2 – Сравнение показателей содержания витаминов, полученных в ходе исследования, с учетом перерасчета на 300 см³, с суточной нормой потребления

Витамины	Рекомендуемый уровень потребления, мг	Содержание в образце, мг/300 см ³		
		A3_5.0	B2_2.5	C2_2.5
Витамин С	70,0	5,70	3,72	2,55
Витамин В6	2,0	1,80	0,93	2,01
Витамин В1	1,7	0,21	0,15	0,36
Витамин В2	2,0	0,04	0,05	0,04

В соответствии с ГОСТ Р 56543-2015 «Напитки функциональные. Общие технические условия» [25] содержание функционального пищевого ингредиента в суточной порции напитка должно составлять от 15 до 50 % от уровня

рекомендуемого суточного потребления функционального ингредиента. В связи с требованием был проведен расчет процентного содержания аминокислот и витаминов, относящихся к функциональным пищевым ингредиентам. Данные процентного расчета по содержанию аминокислот и витаминов в суточной порции напитка приведены в таблицах 4.2.3 и 4.2.4 соответственно.

В соответствии с ГОСТ Р 54059-2010 «Продукты пищевые функциональные. Ингредиенты пищевые функциональные. Классификация и общие требования» [22] обнаруженные в составе напитка витамины относятся к функциональным пищевым ингредиентам. А также государственным стандартом установлено допущение использования функциональных пищевых ингредиентов, не определенных ГОСТ Р 54059-2010 (указано в ГОСТ Р 56543-2015). В таком случае эффективность напитка должна быть подтверждена экспериментальными данными. В настоящей работе устанавливали содержание аминокислот. Их роль в организме человека неоспорима, т.к. аминокислоты задействованы во множестве жизненно важных процессах и реакциях. Они необходимы для роста и восстановления тканей, выработки ферментов и гормонов, поддержания иммунитета и деятельности мозга и нервной системы [25].

Таблица 4.2.3 – Процентное содержание АМК в суточной порции напитка

Аминокислоты	Требование по содержанию пищевого ингредиента в суточной порции, % от уровня рекомендуемого суточного потребления	Содержание АМК в суточной порции, % от уровня рекомендуемого суточного потребления		
		A3_5.0	B2_2.5	C2_2.5
Валин	15–50	10,8	0,4	0,4
Лейцин		15,2	1,7	0,4
Изолейцин		36,5	3,5	1,5
Лизин		1,2	7,3	1,0
Метионин+ цистин		30,6	25,6	12,8
Треонин		5,8	4,6	1,3
Аланин		1,4	2,3	0,5

Продолжение таблицы 4.2.3

Аминокислоты	Требование по содержанию пищевого ингредиента в суточной порции, % от уровня рекомендуемого суточного потребления	Содержание АМК в суточной порции, % от уровня рекомендуемого суточного потребления		
		A3_5.0	B2_2.5	C2_2.5
Фенилаланин+тирозин	15–50	37,3	23,2	3,2
Аргинин		1,3	1,0	0,5
Аспарагиновая кислота		0,4	2,9	1,1
Гистидин		5,2	5,7	3,8
Глицин		4,6	9,1	1,1
Глутаминовая кислота		2,4	4,3	0,7
Пролин		4,2	1,3	0,4
Серин		3,4	10,6	1,7
L-глутамин		70	80	4,0

Таблица 4.2.4 – Процентное содержание витаминов в суточной порции напитка

Витамины	Требование по содержанию пищевого ингредиента в суточной порции, % от уровня рекомендуемого суточного потребления	Содержание витаминов в суточной порции, % от уровня рекомендуемого суточного потребления		
		A3_5.0	B2_2.5	C2_2.5
Витамин С	15–50	8,1	5,3	3,6
Витамин В6		90,0	46,5	100,5
Витамин В1		12,4	8,8	21,2
Витамин В2		2,0	2,5	2,0

Готовый продукт может покрыть суточную потребность в следующих АМК: 70–80 % – L-глутамин, 36,5 % – изолейцин, 25–30 % – комплекс метионин+цистин, 23–37 % – комплекс фенилаланин+тирозин, 15 % – лейцин (таблица 4.2.3).

Потребление суточной нормы напитка, в количестве 300 см³, способно покрыть рекомендуемый уровень потребления витамина В6 до 100,0 %, витамина В1 – до 21,2 % (таблица 4.2.4).

Таким образом, присутствующие в готовом продукте функциональные пищевые ингредиенты, такие как незаменимые и заменимые аминокислоты, а также витамины группы В и С, обеспечивают функциональные свойства напитка, поскольку соблюдено требование ГОСТ Р 56543-2015 [25] по содержанию функциональных ингредиентов в суточной порции в диапазоне 15–50 % от уровня рекомендуемого суточного потребления.

4.3 Расчет экономической эффективности производства напитка

Расчет фонда оплаты труда (ФОТ). На первых этапах работы предприятия производство продукта будет осуществляться в малых масштабах с постепенным увеличением объемов. Поэтому для открытия производства понадобится 7 человек со следующим графиком работы: 5 сотрудников с графиком 5/2 с продолжительностью рабочего дня 8 ч и 2 сотрудника с графиком 2/2 – смена 12 ч.

Для расчета планового фонда рабочего времени был составлен баланс рабочего времени одного среднесписочного сотрудника за год в днях с учетом разных графиков работы (таблицы 4.3.1 и 4.3.2) [7].

Таблица 4.3.1 – Баланс рабочего времени одного сотрудника при графике 5/2

№ п/п	Перечень учитываемых параметров	Количество дней
1	Календарный фонд	365
2	Выходные и праздничные дни	118

Продолжение таблицы 4.3.1

№ п/п	Перечень учитываемых параметров	Количество дней
3	Планируемые невыходы на работу:	
	в том числе очередной и дополнительный отпуск	28
	отпуск в связи с обучением	7
	невыходы по болезни	10
4	Итого эффективный фонд работы, дней	202 дн. / 1616 ч

Таблица 4.3.2 – Баланс рабочего времени одного сотрудника при графике 2/2

№ п/п	Перечень учитываемых параметров	Количество дней
1	Календарный фонд	183
2	Выходные и праздничные дни	—
3	Планируемые невыходы на работу:	
	в том числе очередной и дополнительный отпуск	28
	отпуск в связи с обучением	7
	невыходы по болезни	10
4	Итого эффективный фонд работы, дней	138 дн. / 1656 ч

Расчет затрат по заработной плате. В таблице 4.3.3 представлен ФОТ персонала основного производства. Для учета режима работы предприятия вводится коэффициент 1,13, влияющий на списочную численность персонала. Учитывается путем перемножения с назначенной численностью сотрудников [7].

Плановый фонд рабочего времени в год на одного работника при графике работы 5/2 составляет 1616 ч, при графике 2/2 – 1656 ч, следовательно, в месяц трудящиеся затрачивают 134,7 ч и 138,0 ч соответственно.

Заработные платы сотрудников в рублях составляют:

1. Директор – 55000;
2. Бухгалтер – 45000;
3. Главный технолог – 50000;
4. Лаборант – 40000;
5. Техник-электрик-наладчик оборудования – 40000;

6. Уборщик – 30000.

Часовая тарифная ставка рассчитывается по данным месячной заработной платы сотрудников и месячного планового фонда рабочего времени сотрудников. ФОТ по тарифным ставкам составляет произведение трех значений – списочной численности, планового фонда рабочего времени и часовой тарифной ставки. Выплата премий и надбавок закладывается в размере 10 % от тарифного заработка. Районный коэффициент по городу Кемерово назначен 1,3.

Таблица 4.3.3 – Расчет ФОТ персонала предприятия

Наименование профессии работника	Численность, чел.		Плановый фонд рабочего времени 1 рабочего, час	Часовая тарифная ставка, руб.	Фонд оплаты труда, тыс. руб.				
	в сутки	списочная			по тарифным ставкам	премия	за работу в праздничные дни	общий ФОТ	ФОТ с учетом районного коэффициента
Директор	1	1,13	1616	408,3	745,6	74,6	74,6	894,8	1163,2
Бухгалтер	1	1,13	1616	334,1	610,1	61,0	61,0	732,1	951,7
Главный технолог	1	1,13	1616	371,2	677,9	67,8	67,8	813,5	1057,6
Лаборант	2	2,26	1656	289,9	1085,0	108,5	108,5	1302,0	1692,6
Техник- электрик- наладчик оборудования	1	1,13	1616	297,0	542,4	54,2	54,2	650,8	846,0
Уборщик	1	1,13	1616	222,7	406,7	40,7	40,7	488,1	634,5
Итого:									6345,6

Таким образом, штат сотрудников на предприятии по производству напитка функциональной направленности состоит из 7 человек: директора, бухгалтера,

главного технолога, 2-х лаборантов, техника-электрика-наладчика оборудования и уборщика. Каждому работнику составлен график работы по схемам 5/2 и 2/2. Фонд оплаты труда сотрудников представляет сумму из тарифного заработка, премий и надбавок с перемножением на районный коэффициент. С учетом вышеизложенного ФОТ составляет 6345,6 тыс. руб./год.

Расчет себестоимости продукции. Для расчета себестоимости функционального напитка из чайного гриба с растительными экстрактами была составлена проектная калькуляция себестоимости товарной продукции [7].

На первом этапе рассчитываются затраты на сырье и основные материалы для получения напитка функционального назначения. Проектную мощность предприятия принимаем равной 75 тыс. $\text{дм}^3/\text{год}$. В планах выпускать продукцию в стеклотаре объемом 0,5 дм^3 , что соответствует объему 150 тыс. бут./год. Разработано 3 вида функционального напитка:

- комбуча на черном чае с добавлением экстрактов тимьяна и тысячелистника в объеме 5 % от объема напитка;
- комбуча на зеленом чае с добавлением экстрактов женьшеня и тысячелистника в объеме 2,5 % от объема напитка;
- комбуча на иван-чае с добавлением экстрактов женьшеня и тысячелистника в объеме 2,5 % от объема напитка.

Исходя из проектной мощности предприятия, объем производства по каждому виду напитка составит 25 тыс. $\text{дм}^3/\text{год}$ или 50 тыс. бут./год.

В таблице 4.3.4 представлено необходимое количество компонентов для производства 1000 дм^3 готовой продукции.

Таблица 4.3.4 – Количественный состав компонентов для производства напитков

Компонентный состав напитка	Количество на 1000 дм^3 воды
Культура чайного гриба	75 дм^3
Чай (черный, зеленый, иван-чай)	2 кг
Сахар	100 кг
Экстракт тысячелистника 75 %	50 дм^3

Продолжение таблицы 4.3.4

Компонентный состав напитка	Количество на 1000 дм ³ воды
Экстракт тимьяна 55 %	25 дм ³
Экстракт женьшеня 55 %	25 дм ³
Вода	остальное

Для приготовления экстрактов растительное сырье использовали в соотношении, представленном в таблице 4.3.5.

Таблица 4.3.5 – Соотношение растительного сырья к экстрагенту для приготовления экстрактов

Растительное сырье	Соотношение сырья к экстрагенту
Тимьян обыкновенный (листья и стебли)	1:20
Тысячелистник обыкновенный (листья и стебли)	1:50
Женьшень настоящий (корни)	1:50

Т.к. комбинация экстрактов бралась в следующей концентрации:

- основа на черном чае: комбинация тимьян 2,5 % + тысячелистник 2,5 %;
- основа на зеленом чае: комбинация женьшень 1,25 % + тысячелистник 1,25 %;
- основа на иван-чае: комбинация женьшень 1,25 % + тысячелистник 1,25 %.

Отсюда следует, что необходим следующий объем экстрактов, % от объема на 1000 дм³ продукта:

- экстракт тимьяна – 2,5 % (25 дм³);
- экстракт тысячелистника – 5 % (50 дм³);
- экстракт женьшеня – 2,5 % (25 дм³).

Исходя из найденного объема растительных экстрактов, и, зная соотношение компонентов, находили нужную массу растительного сырья для приготовления экстрактов:

- трава тысячелистника – 1,0 кг;
- трава тимьяна – 1,25 кг;

– корень женьшеня – 0,5 кг.

Таким образом, для приготовления экстрактов сырье брали в следующем соотношении:

- трава тысячелистника : спирт этиловый 75 % (1,0 кг : 50 дм³);
- трава тимьяна : спирт этиловый 55 % (1,25 кг : 25 дм³);
- корень женьшеня : спирт этиловый 55 % (0,5 кг : 25 дм³).

Чтобы получить спирт в нужной концентрации, необходимо приготовить этот раствор из спирта этилового 96 %, разбавленного дистиллированной водой. Расчет массы этилового спирта, концентрацией 55 %, г, вели по формуле [65]:

$$m_{55\% \text{ этанола}} = \frac{55\% \times \rho_{55\% \text{ этанола}} \times V_{p-ра}}{100\%}, \quad (4.1)$$

где 55 % – необходимая концентрация спирта этилового, %;

$\rho_{55\% \text{ этанола}}$ – плотность этилового спирта, концентрацией 55 %, г/ дм³;

$V_{p-ра}$ – объем спирта этилового, который необходимо получить, дм³.

$$m_{55\% \text{ этанола}} = \frac{55\% \times 496,4 \times 50}{100\%} = 13651 \text{ г}$$

Массу этилового спирта, концентрацией 96 %, г, рассчитывали по формуле [65]:

$$m_{96\% \text{ этанола}} = \frac{m_{55\% \text{ этанола}} \times 100\%}{96\%}, \quad (4.2)$$

где 96 % – концентрация этилового спирта, %.

$$m_{96\% \text{ этанола}} = \frac{13651 \times 100\%}{96\%} = 14219,8 \text{ г}$$

Зная массу этилового спирта 96 %, вычисляли необходимый объем этанола 96 %, дм³, по формуле [65]:

$$V_{96\% \text{ этанола}} = \frac{m_{96\% \text{ этанола}}}{\rho_{96\% \text{ этанола}}}, \quad (4.3)$$

где $\rho_{96\% \text{ этанола}}$ – плотность этилового спирта, концентрацией 96 %, г/ дм³.

$$V_{96\% \text{ этанола}} = \frac{14219,8}{769,3} = 18,5 \text{ дм}^3$$

Таким образом, для приготовления 50 дм³ этилового спирта, концентрацией 55 %, необходимо смешать 18,5 дм³ спирта этилового 96 % и 31,5 дм³ дистиллированной воды.

Аналогично рассчитывали объем этилового спирта 96 %, требуемый для приготовления спирта этилового 75 %.

$$m_{75\% \text{ этанола}} = \frac{75\% \times 641,7 \times 50}{100\%} = 24063,75 \text{ г}$$

$$m_{96\% \text{ этанола}} = \frac{24063,75 \times 100\%}{96\%} = 25066,4 \text{ г}$$

$$V_{96\% \text{ этанола}} = \frac{25066,4}{769,3} = 32,6 \text{ дм}^3$$

Таким образом, для приготовления 50 дм³ этилового спирта, концентрацией 75 %, необходимо смешать 32,6 дм³ спирта этилового 96 % и 17,4 дм³ дистиллированной воды.

Для получения спиртовых экстрактов тимьяна, тысячелистника и женьшеня понадобилось:

- трава тысячелистника – 1,0 кг;
- трава тимьяна – 1,25 кг;
- корень женьшеня – 0,5 кг;
- спирт этиловый 96 % – 51,1 дм³;
- вода – 48,9 дм³.

Расчеты под заданную мощность предприятия по производству функционального напитка приведены в таблице 4.3.6.

Таблица 4.3.6 – Расчет затрат на сырье и основные материалы

Наименование продукции	Сырье и основные материалы		Расход сырья и основных материалов	
	Наименование	Цена, руб./ед.	Количество	Стоимость, руб.
Напиток из ЧГ на черном, зеленом и иван-чае с добавлением экстрактов тимьяна, тысячелистника и женьшеня, 75000 л/год	Крупнолистовой чай черный	200 руб./кг	50 кг	10000
	Крупнолистовой чай зеленый	295 руб./кг	50 кг	14750
	Иван-чай ферментированный	780 руб./кг	50 кг	39000
	Сахар	49 руб./кг	7500 кг	367500
	Трава тысячелистника	109 руб./кг	75 кг	8175
	Трава тимьяна	219 руб./кг	93,75 кг	20531,25
	Корень женьшеня	4584 руб./кг	37,5 кг	171900
	Спирт этиловый 96 %	300 руб./ дм ³	3832,5 дм ³	287437,5
Общая сумма:				919294

Также в себестоимость продукции входили затраты по следующим статьям [7]:

- вспомогательные материалы – 4 % от стоимости сырья и основных материалов;
- тара и упаковка – 5 % от стоимости основного сырья;
- транспортные расходы – 10 % от стоимости сырья;
- топливо и энергия на технологические цели – 7 % от стоимости сырья;
- содержание и эксплуатация технологического оборудования – 10 % от стоимости сырья и основных материалов;
- подготовка и освоение производства – 10 % от стоимости сырья и основных материалов;
- затраты на зарплату персонала рассчитаны и приведены в таблице 4.3.3;
- страховые нужды – 30,2 % от ФОТ персонала;
- цеховые расходы – 50 % от ФОТ рабочих основного производства;

- общепроизводственные расходы – 30 % от суммы затрат на сырье и основной заработной платы;
- производственная себестоимость – сумма всех предыдущих статей калькуляции (все затраты на производство продукции);
- внепроизводственные (коммерческие) расходы – 1 % от производственной себестоимости.

Проектная калькуляция себестоимости товара приведена в таблице 4.3.7.

Таблица 4.3.7 – Калькуляция себестоимости готовых напитков, объемом 75 тыс. дм³/год

Статьи калькуляции	Общие затраты, тыс. руб.
Затраты на сырье и основные материалы	919,294
Затраты на вспомогательные материалы	36,772
Транспортные расходы	91,930
Затраты на тару и упаковку	45,965
Затраты на топливо и энергию	64,351
Расходы на эксплуатацию оборудования	91,930
Затраты на зарплату производственных рабочих	6345,600
Затраты на страховые взносы	1916,371
Расходы на подготовку и освоение производства	91,930
Цеховые расходы	3172,800
Общепроизводственные расходы	2179,468
Производственная себестоимость	14956,411
Внепроизводственные (коммерческие) расходы	149,564
Полная себестоимость	15105,975

С учетом всех затрат на производство полная себестоимость функциональных напитков, объемом 75 тыс. дм³/год, обошлась в 15105975 руб.

Расчет прибыли предприятия, оптовой цены, товарной продукции. Прибыль предприятия П, тыс. руб./год, выпускающего функциональные напитки, рассчитывалась по формуле [7]:

$$\Pi = \frac{C \times R}{100}, \quad (4.4)$$

где R – уровень рентабельности продукции, %;
 C – себестоимость продукции, тыс. руб./год.

На этапах открытия производства задали среднюю рентабельность, равную 15 %.

$$\Pi = \frac{15105,975 \times 15}{100} = 2265,9 \text{ тыс. руб./год}$$

Таким образом, на первых этапах открытия предприятия прибыль составила 2265900 руб.

Расчет оптовой цены Π_{opt} , тыс. руб., провели по формуле [7]:

$$\Pi_{opt} = C + \Pi, \quad (4.5)$$

$$\Pi_{opt} = 15105,975 + 2265,9 = 17371,875 \text{ тыс. руб.}$$

Оптовая цена в год за выпуск 75000 дм³ составила 17371875 руб. Для перевода оптовой цены на единицу продукции делим полученную цифру на годовой объем. Получили величину оптовой цены за единицу продукции – 232 руб./дм³. Так как фасовка будет осуществляться в тару объемом 0,5 дм³, то оптовая цена за бутылку составит 116 рублей.

Предполагаем, что предприятие будет функционировать по упрощенной системе налогообложения. Налог H , тыс. руб./год, при такой системе равен 15 %, и чистую прибыль $ЧП$, тыс. руб./год, рассчитывали по формуле [7]:

$$ЧП = \Pi - H_{15\%}, \quad (4.6)$$

$$ЧП = 2265,9 - 339,9 = 1926 \text{ тыс. руб./год}$$

Зная величину чистой прибыли $ЧП$, тыс. руб./год, и сумму вложенных средств K_0 , тыс. руб., вычисляли срок окупаемости проекта по формуле [7]:

$$PP = \frac{K_0}{ЧП}, \quad (4.7)$$

Сумма вложенных средств включала в себя затраты на оборудование, аренду производственного помещения, покупку сырьевых материалов и зарплату производственных рабочих.

Капитальные затраты по оборудованию и монтажу производственного помещения включали следующие статьи, посчитанные в таблице 4.3.8:

- доставка и монтаж оборудования – 10 % от стоимости единицы оборудования;
- стоимость КИП, футеровки, технологических трубопроводов – 10 % от стоимости единицы оборудования;
- транспортные средства 35 % от общей стоимости оборудования;
- неучтенное оборудование 10 % от общей стоимости оборудования;
- инструменты и производственный инвентарь 2 % от общей стоимости технологического оборудования.

Таблица 4.3.8 – Капитальные затраты на оборудование

№ п/п	Наименование оборудования	Количество, шт.	Суммарная стоимость, тыс. руб.
1	ЦКТ (ферментер для пива) 100 дм ³ , Sansone, Италия	15	636,2
2	Бидон (фляга) из нержавеющей стали 30 дм ³ , Sansone, Италия	3	47,1
3	Бидон (фляга) из нержавеющей стали 75 дм ³ , Sansone, Италия	1	17,2
4	Водонагреватель PHILIPS AWH1603/51(100DA)	1	21,5

Продолжение таблицы 4.3.8

№ п/п	Наименование оборудования	Количество, шт.	Суммарная стоимость, тыс. руб.
5	Перколятор AIRHOT WBDD-35D	2	32,2
6	Перколятор Remta R 17	3	82,5
7	Фильтр-пресс COLOMBO 6	1	36,0
8	Вакуум выпарная установка BBU 100	1	650,0
9	Насос G20 для перекачки пищевых невязких жидкостей	8	102,4
10	Полуавтомат для розлива жидкостей по уровню Fillermatic Gravity	1	155,0
11	Устройство для укупорки бутылок кроненпробками 26-29 мм Standart	2	3,0
12	Полуавтоматическая этикетировочная машина со смотчиком подложки «Bottle Matic»	1	110,0
13	Термоупаковочная машина ручная МТУ Элемент	1	141,5
Итого:			2034,6
14	Доставка и монтаж оборудования	10 %	203,5
15	Стоимость КИП, футеровки, тех. трубопроводов	10 %	203,5
16	Транспортные средства	35 %	712,1
17	Неучтенное оборудование	10 %	203,5
18	Инструменты и производственный инвентарь	2 %	40,7
Итого:			3397,9

Финансовые средства, необходимые для открытия собственного производства напитка в первый год, предполагали следующие статьи (таблица 4.3.9).

Таблица 4.3.9 – Затраты на начальное производство

Первоначальные затраты за первый год	Денежные средства, тыс. руб.
Плата за аренду производственного помещения	$70 \times 12 = 840,0$
Покупка оборудования	3397,9
Покупка материальных ресурсов	$919,294 + 36,772 + 45,965 + 64,351 + 91,93 = 1158,4$
Затраты на заработную плату и начисления	6345,6
Итого:	11741,9

$$PP = \frac{11741,9}{1926,0} = 6 \text{ лет}$$

Таким образом, срок окупаемости проекта при создании собственного производства по приготовлению линейки функционального напитка на основе чайного гриба, обогащенного растительными экстрактами, составит 6 лет.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании полученных результатов исследований, направленных на разработку биотехнологии напитка на основе *Medusomyces gisevii*, обогащенного растительными экстрактами, и оценку его функциональных свойств, были сделаны следующие выводы:

1. Проведен скрининг и обоснован выбор растительного сырья для обогащения функциональных напитков. На основании высокого содержания флавоноидов (как маркеров антиоксидантной активности) в качестве приоритетных объектов выбраны *Thymus vulgaris* и *Achillea millefolium*. Включение в состав *Panax ginseng* обосновано его уникальными адаптогенными свойствами. Количественный анализ БАВ подтвердил содержание биологически активных веществ в отобранных экстрактах, обеспечивающих заданную функциональную направленность готовых продуктов.

2. На основании комплексной оценки биотехнологического потенциала *Medusomyces gisevii* в динамике ферментации (3-и, 5-е и 7-е сутки) проведено обоснование рекомендуемой продолжительности процесса и осуществлен скрининг контрольных образцов. Установлено, что 5-е сутки являются приоритетными для всех контрольных образцов, так как обеспечивают рациональное сочетание физико-химических и биохимических показателей при сохранении высоких органолептических характеристик.

3. На основе комбинаторного подбора разработано 27 рецептурных сред (до ферментации), включающих вариации различных типов чайного сырья (черный чай, зеленый чай и иван-чай), композиции бинарных растительных экстрактов в соотношении 1:1 (*Panax ginseng* + *Thymus vulgaris*, *Achillea millefolium* + *Thymus vulgaris*, *Achillea millefolium* + *Panax ginseng*) и различные уровни их внесения (2,5 %; 5,0 %; 7,5 %). На основании результатов скрининга, проведенного по органолептическим критериям, было отобрано 9 питательных сред.

4. Установлен высокий биотехнологический потенциал отобранных питательных сред в процессе направленного культивирования. На основании

сравнительного анализа контрольных и опытных образцов доказано стимулирующее влияние растительных экстрактов на метаболическую активность культуры *Medusomyces gisevii*. Выявлено, что введение бинарных фитокомпозиций интенсифицирует трансформацию сложного состава среды культурой *Medusomyces gisevii*, обеспечивая достижение более высоких значений физико-химических и биохимических показателей по сравнению с соответствующими контрольными образцами.

5. Установлено проявление синергетического эффекта метаболитов *Medusomyces gisevii* и растительных экстрактов по показателю массовой доли флавоноидов. В опытных образцах фактическое содержание БАВ существенно превышало расчетные теоретические значения, полученные по принципу расчетно-балансового метода. На основании совокупного анализа биохимических показателей и коэффициентов синергизма осуществлен окончательный выбор трех видов приоритетных образцов (A3_5.0, B2_2.5, C2_2.5).

6. Изучен аминокислотный и витаминный состав приоритетных образцов в процессе ферментации. Выявлено высокое накопление незаменимых аминокислот в образцах на черном чае (A3_5.0): зафиксирован рост фенилаланина, лейцина, валина и изолейцина в сравнении с контрольными образцами. В образцах на основе иван-чая (C2_2.5) установлен наиболее интенсивный микробиологический биосинтез витаминов группы В (тиамина и пиридоксина).

7. Подтверждены высокие потребительские свойства на основании сенсорной оценки характеристик разработанных функциональных напитков, и полное соответствие требованиям ТР ТС 021/2011.

8. Разработана технологическая схема производства функциональных напитков мощностью 75 тыс. дм³/год. На основании технико-экономических расчетов установлена себестоимость единицы продукции (0,5 дм³) на уровне 116 руб. Расчет биологической ценности показал, что употребление суточной нормы напитка (300 см³) может обеспечить покрытие физиологической потребности организма в некоторых незаменимых аминокислотах и витаминах, что подтверждает высокую биологическую ценность.

СПИСОК ИСПОЛЬЗУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Алексаночкин, Д. И. Изучение накопления биологически активных веществ и антиоксидантной активности в культуральной жидкости *Medusomyces gisevi* (чайный гриб) / Д. И. Алексаночкин // Молодой ученый. – 2023. – № 10 (457). – С. 39–46.

2. Анализ способов очистки экстрактов из дикорастущего сырья Сибирского федерального округа / Л. С. Дышлюк, Е. В. Каширских, С. Ю. Носкова [и др.] // Техника и технология пищевых производств. – 2016. – Т. 43. – № 4. – С. 12–21.

3. Анищенко, И. Е. Тимьян – ценная пряно-ароматическая культура и её применение / И. Е. Анищенко, С. В. Кучерова, О. Ю. Жигунов // Известия ОГАУ. – 2016. – № 4 (60).

4. Антимикробные свойства экстрактов *Pulmonaria officinalis*, *Heracleum sibiricum*, *Syringa vulgaris*, произрастающих в Сибири / В. А. Люц, С. Ю. Харлов, Н. С. Величкович [и др.] // Техника и технология пищевых производств. – 2025. – № 3.

5. Ахметьянов, Р. Т. Тысячелистник обыкновенный (*Achillea millefolium* L.) в качестве основы для продуктов функционального назначения / Р. Т. Ахметьянов, З. М. Хасанова, Л. А. Хасанова // Вестник Башкирского государственного педагогического университета им. М. Акмуллы. – 2019. – № 1 (49).

6. Белокурова, Е. С. Овощные ферментированные напитки / Е. С. Белокурова, Л. М. Борисова, И. А. Панкина // Научный журнал НИУ ИТМО. Серия «Процессы и аппараты пищевых производств». – 2015. – № 1.

7. Брезе, О.Э. Выполнение экономической части дипломного проекта / О. Э. Брезе, О.В. Коркачаева. – Кемерово: КемТИПП, 2008. – 23 с.

8. Витаминная обеспеченность взрослого населения Российской Федерации: 1987–2017 гг. / В. М. Коденцова, О. А. Вржесинская, Д. Б. Никитюк [и др.] // Вопросы питания. – 2018. – Т. 87. – № 4. – С. 62–68. DOI:10.24411/0042-8833-2018-10043.

9. Витрина статистических данных. Численность постоянного населения в среднем за год [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://showdata.gks.ru/report/278930> (дата обращения 11.11.2023).

10. Волкова, Л. В., Антиоксидантная активность напитка на основе чайного гриба с ферментированной биомассой листьев *Arctium lappa* / Л. В. Волкова, В. П. Вигуляр // Вестник ПНИПУ. Химическая технология и биотехнология. – 2025. – № 2.

11. Гореликова, Г. А. Влияние растительных экстрактов на качество и функциональные свойства сокосодержащих напитков / Г. А. Гореликова, Л. А. Маюрникова, О. А. Степанова // Пиво и напитки. – 2008. – № 4. – С. 40–41.

12. ГОСТ 26188-2016 «Продукты переработки плодов и овощей, консервы мясные и мясорастительные. Метод определения pH». – М.: Стандартинформ, 2017.

13. ГОСТ 28188-2014. Напитки безалкогольные. Общие технические условия. – М.: Стандартинформ, 2015.

14. ГОСТ 31494-2012. Квасы. Общие технические условия. – М.: Стандартинформ, 2013.

15. ГОСТ 31711-2012. Пиво. Общие технические условия. – М.: Стандартинформ, 2013.

16. ГОСТ 31820-2015. Сидры. Общие технические условия. – М.: Стандартинформ, 2016.

17. ГОСТ 33336-2015. Вина игристые. Общие технические условия. – М.: Стандартинформ, 2016.

18. ГОСТ 6687.2-90 «Продукция безалкогольной промышленности. Методы определения сухих веществ». – М.: Издательство стандартов, 1990.

19. ГОСТ 6687.5-86 «Продукция безалкогольной промышленности. Методы определения органолептических показателей и объема продукции». – М.: Издательство стандартов, 1987.

20. ГОСТ ИСО 750-2013 «Продукты переработки фруктов и овощей. Определение титруемой кислотности». – М.: Стандартинформ, 2014.

21. ГОСТ Р 52700-2018. Напитки слабоалкогольные. Общие технические условия. – М.: Стандартиформ, 2018.

22. ГОСТ Р 54059-2010. Продукты пищевые функциональные. Ингредиенты пищевые функциональные. Классификация и общие требования. – М.: Стандартиформ, 2010.

23. ГОСТ Р 55312-2012 «Прополис. Метод определения флавоноидных соединений». – М.: Стандартиформ, 2013.

24. ГОСТ Р 56368-2022. Напитки спиртные русские традиционные на натуральном сырье. Общие технические условия. – М.: Российский институт стандартизации, 2022.

25. ГОСТ Р 56543-2015. Напитки функциональные. Общие технические условия. – М.: Стандартиформ, 2015.

26. Государственный доклад «О состоянии санитарно-эпидемиологического благополучия населения в Кемеровской области – Кузбассе в 2024 году» [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://42.rospotrebnadzor.ru/upload/iblock/883/bphe5qhr1k2ursl169mda62hqcvgx11u.pdf> (дата обращения 10.02.2026).

27. Доклад о состоянии и развитии конкурентной среды на рынках товаров, работ, услуг города Кемерово за 2021 год [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <file:///C:/Users/%D0%90%D0%BD%D0%BD%D0%B0/Downloads/Doklad-o-sostoyanii-i-razvitii-konkurentnoy-sredy-na-rynkakh-tovarov-i-uslug-goroda-Kemerovo-za-2021-god.PDF> (дата обращения 11.11.2023).

28. Дышлюк, Л. С. Исследование показателей безопасности экстрактов каллусных культур *Pulmonaria officinalis* и их фитохимического состава на наличие биологически активных веществ с потенциальными геропротекторными свойствами / Л. С. Дышлюк, М. Ю. Дроздова, А. И. Лосева // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2021. – № 2 (37).

29. Елисеева, С. А. Разработка фитонапитка на основе субстрата *Medusomyces gisevi* / С. А. Елисеева, Т. Нгуен, О. Б. Иванченко // МНИЖ. – 2024. – № 6 (144).

30. Жумабекова, К. А. Получение высокоактивной ассоциации «чайного гриба» из природных штаммов микроорганизмов / К. А. Жумабекова, Б. К. Жумабекова // Фундаментальные исследования. – 2015. – № 2-11. – С. 2374–2376.

31. Интенсификация биотехнологии кваса с применением нетрадиционных видов сырья / Е. А. Коротких, И. В. Новикова, Г. В. Агафонов [и др.] // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. – 2020. – Т. 82, № 3(85). – С. 123-130. – DOI 10.20914/2310-1202-2020-3-123-130.

32. Исмаилов, М.Т. Влияние процессов ферментации на биоактивный профиль и оздоровительные свойства перги, медовухи и медового уксуса / М. Т. Исмаилов, С. Г. Махмудов, С. С. Садыхова. – Текст : электронный // Вестник науки. – 2025. – Т. 2, № 4 (85).

33. Использование люцерны изменчивой для получения компонентов специализированных пищевых продуктов / Н. Г. Ли, Е. П. Иванова, А. Н. Емельянов [и др.] // Ползуновский вестник. – 2025. – № 2. – С. 137–142. DOI: 10.25712/ASTU.2072-8921.2025.02.021.

34. К вопросу о побочных эффектах и токсических осложнениях при употреблении культуральной жидкости чайного гриба, выращенного в домашних условиях (обзор литературы) / Е. В. Алиева, К. М. Болтачева, Л. Д. Тимченко [и др.] // Вестник новых медицинских технологий. Электронное издание. – 2019. – Т. 13. – № 1. – С. 134–138.

35. Касаткина, Н. И. Биохимическая характеристика сортов *Trifolium pratense* L. в условиях Удмуртской Республики / Н. И. Касаткина, Ж. С. Нелюбина // Химия растительного сырья. – 2022. – № 1.

36. Крючкова, В. В. Использование корня лопуха в производстве кисло-молочного биопродукта с пребиотическими свойствами / В. В. Крючкова, А. В. Богомазов, Н. М. Кувичкин // Сельскохозяйственный журнал. – 2012. – № 1 (1).

37. Куркин, В. А. Флавоноиды как биологически активные соединения лекарственных растений / В. А. Куркин, А. В. Куркина, Е. В. Авдеева // Фундаментальные исследования. – 2013. – № 11 (9). – С. 1897–1901.

38. Ловкис, З. В. Определение оптимальных параметров экстракции биологически активных веществ при получении водно-спиртовых настоев лекарственных растений / З. В. Ловкис, О. В. Колоскова // Пищевая промышленность: наука и технологии. – № 2 (16). – 2012. – С. 3–9.

39. Маремшаова, И. И. Старинные традиционные хлебно-зерновые напитки балкарцев и карачаевцев / И. И. Маремшаова, М. А. Абдуллаева // Известия вузов. Северо-Кавказский регион. Серия: Общественные науки. – 2014. – № 5 (183).

40. Меренкова, С. П. Исследование структуры и микробиологических показателей ферментированных растительных напитков / С. П. Меренкова, О. В. Зинина // Ползуновский вестник. – 2023. – № 1. – С. 59–66. DOI: 10.25712/ASTU.2072-8921.2023.01.008.

41. Микробиологическая чистота: общая фармакопейная статья (ОФС.1.2.4.0002.18) / Министерство здравоохранения Российской Федерации // Государственная фармакопея Российской Федерации.

42. Миллер, Ю. Ю. Использование сухих микроорганизмов в производстве кваса / Ю. Ю. Миллер, Т. Ф. Киселева, В. А. Помозова // Вестник ВГУИТ. – 2024. – № 1.

43. МР 2.3.1.0253-21 «Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации» / Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России. – Москва, 2021.

44. Нетрадиционное растительное сырье в пищевых системах функционального назначения / К. В. Завидовская, Д. А. Алиева, Л. П. Лазурина [и др.] // Известия Юго-Западного государственного университета. Серия: Управление, вычислительная техника, информатика. Медицинское приборостроение. – 2022. – № 12 (4). – С. 86–101.

45. О государственном регулировании производства и оборота этилового спирта, алкогольной и спиртосодержащей продукции и об ограничении потребления (распития) алкогольной продукции: Федеральный закон от 22.11.1995 № 171-ФЗ. – Текст: электронный // Официальный интернет-портал правовой информации: [сайт]. – URL: pravo.gov.ru (дата обращения: 19.03.2024).

46. О Стратегии научно-технологического развития Российской Федерации: Указ Президента Российской Федерации от 28.02.2024 № 145. – Текст: электронный // Официальное опубликование правовых актов: [сайт]. – URL: publication.pravo.gov.ru (дата обращения: 19.03.2024).

47. Об утверждении региональной программы «Укрепление здоровья и формирование здоровьесберегающей среды на 2025–2030 годы» [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://publication.pravo.gov.ru/document/4200202512260016> (дата обращения 11.11.2023).

48. Определение содержания радионуклидов в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах: общая фармакопейная статья (ОФС.1.5.3.0001.15) / Министерство здравоохранения Российской Федерации // Государственная фармакопея Российской Федерации. – XV изд.

49. Определение содержания тяжёлых металлов и мышьяка в лекарственном растительном сырье и лекарственных растительных препаратах: общая фармакопейная статья (ОФС.1.5.3.0009.15) / Министерство здравоохранения Российской Федерации // Государственная фармакопея Российской Федерации. – XV изд.

50. Оценка цитолитического эффекта тонизирующего напитка с экстрактом женьшеня / Т. В. Котова, А. Н. Солопова, А. С. Сухих [и др.] // Вопросы питания. – 2017. – № 1.

51. Патент № 2117437 РФ, МПК A23L 2/00, C12G 3/06. Способ производства экстрактов для концентрированных основ и напитков / Г. Л. Филонова, Г. В. Фараджев, П. М. Яшнова [и др.]; патентообладатель ЗАО «КУБК-АГ», ВНИИ пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности. – № 97110373/13; заявл. 17.06.1997; опубл. 20.08.1998.

52. Патент № 2153816 РФ, МПК A23L 2/00, A23L 2/38, A23F 3/14. Напиток, способ производства культуральной жидкости чайного гриба и способ производства напитка / В. Х. Хачатрян, В. С. Исаева, Т. В. Иванова; патентообладатель Хачатрян Владимир Хачатурович. – № 99121173/13; заявл. 06.10.1999; опубл. 10.08.2000.

53. Патент № 2391875 РФ, МПК A23L 1/30, A23L 1/304. Способ получения растительного экстракта с повышенным содержанием селена / Л. А. Маюрникова, Г. А. Гореликова, Е. В. Шигина [и др.]; патентообладатель ГОУ ВПО «Кемеровский технологический институт пищевой промышленности». – № 2008123627/13; заявл. 10.06.2008; опубл. 20.06.2010.

54. Патент № 2409966 РФ, МПК A23C 23/00, A23L 1/30. Способ получения молочно-растительного экстракта топинамбура / Е. И. Мельникова, С. И. Нифталиев, М. О. Фисенко; патентообладатель ГОУ ВПО «Воронежская государственная технологическая академия». – № 2009119781/10; заявл. 25.05.2009; опубл. 27.01.2011.

55. Патент № 2447141 РФ, МПК C12G 3/02. Способ производства концентрированной сброженной основы для кваса, не содержащего этанола, и напитков на зерновой основе / Т. А. Тихонова, В. Б. Тихонов, К. В. Кобелев; патентообладатель Т. А. Тихонова, В. Б. Тихонов, К. В. Кобелев. – № 2010150501/10; заявл. 10.12.2010; опубл. 10.04.2012.

56. Патент № 2466554 РФ, МПК A23L 1/00. Способ получения растительных экстрактов / Н. Т. Пехтерева, В. В. Амельченко, Е. И. Кононова; патентообладатель АНО ВПО «Белгородский университет кооперации, экономики и права». – № 2011112587/13; заявл. 01.04.2011; опубл. 20.11.2012.

57. Патент № 2473356 РФ, МПК A61K 36/00, B01D 11/02. Способ получения водных экстрактов из растительного сырья с повышенным содержанием извлекаемых активных веществ / Б. В. Саргин, Г. В. Бобков, С. А. Павлов; патентообладатель ООО «Компания Клевер». – № 2011149734/15; заявл. 07.12.2011; опубл. 27.01.2013.

58. Патент № 2487646 РФ, МПК A23L 2/38. Сироп из растительного сырья и способ его получения / А. В. Пантюхин, С. В. Райкова, В. Ф. Репин [и др.]; патентообладатель ГБОУ ВПО «Саратовский государственный медицинский университет имени В.И. Разумовского». – № 2012115441/13; заявл. 18.04.2012; опубл. 20.07.2013.

59. Патент № 2500299 РФ, МПК A23L 2/00, A23L 2/395, A23F 3/16. Способ получения биологически активного напитка, напитков, полученный данным способом, способ получения концентрата биологически активного напитка и концентрат, полученный данным способом / В. Х. Хачатрян; патентообладатель Хачатрян Владимир Хачатурович. – № 2012135670/13; заявл. 21.08.2012; опубл. 10.12.2013.

60. Патент № 2692643 РФ, МПК A23L 2/385, A23L 2/52, A23L 2/00. Способ производства экстракта для безалкогольного напитка / Н. Ю. Качаева, Л. И. Стрибижева, П. В. Гусев; патентообладатель ФГБОУ ВО «КубГТУ». – № 2018134692; заявл. 01.10.2018; опубл. 25.06.2019.

61. Перспективы применения семян люцерны в производстве пищевой продукции специального назначения / Т. В. Алексеева, Ю. О. Калгина, В. С. Евлакова [и др.] // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. – 2017. – Т. 79. – № 3 (73). – С. 93–96.

62. Петрова, А. А. Экстракт Melissa как компонент, влияющий на антиоксидантную активность напитка на основе гриба *Medusomyces Gisevii* / А. А. Петрова, Н. В. Изгарышева, О. В. Беляева // XI Всероссийская (национальная) научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Пищевые инновации и биотехнологии». – Кемерово: Кемеровский государственный университет, 2023. – С. 431–432.

63. Подбор параметров культивирования для наибольшего накопления биомассы и БАВ в напитке из чайного гриба / А. Д. Веснина, В. П. Емельяненко, Л. К. Асякина [и др.] // Вестник Южно-Уральского государственного университета. Серия: Пищевые и биотехнологии. – 2021. – Т. 9. – № 4. – С. 5–12. DOI:10.14529food210401.

64. Применение экстрактов растительного сырья при производстве пищевых продуктов / Н. П. Оботурова, Н. В. Судакова, В. С. Кокоева [и др.] // Пищевая промышленность. – 2013. – № 6. – С. 48–50.

65. Продажи комбучи выросли почти на треть [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://busyspace.ru/news/prodazhi-kombuchi-vyrosli-pochti-na-tret/> (дата обращения 11.11.2023).

66. Разработка и исследование тонизирующего напитка на основе растительных экстрактов / А. В. Пантюхин, А.В. Крикова, Т.К. Бычкова [и др.] // Международный научно-исследовательский журнал. – 2021. – №9 (111). DOI: 10.23670/IRJ.2021.9.111.051.

67. Родионова, Н. С. Исследование антиоксидантных свойств экстрактов корня имбиря и цветков календулы / Н. С. Родионова, Е. В. Белокурова, Е. Н. Мишина, Е. С. Попов // Пищевая промышленность. – 2018. – № 8.

68. Российский рынок функциональных продуктов питания для здорового образа жизни человека / Л. К. Асякина, А. А. Степанова, Т. В. Тамарзина [и др.] // Социально-экономический и гуманитарный журнал. – 2022. – № 3 (25). – С. 29–41. DOI:10.36718/2500-1825-2022-3-29-41.

69. Сладкие газированные напитки [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://aemcx.ru/reviews/obzor-ved-sladkie-gazirovannye-napit-2/> (дата обращения 04.10.2023).

70. Степанова, А. А. Выбор основы функционального напитка, параметров его производства / А. А. Степанова // II Международный Симпозиум «Пищевые здоровьесберегающие технологии». – Кемерово: Кемеровский государственный университет, 2023. – С. 139–141.

71. Степанова, А. А. Органолептический анализ напитков с пробиотическим потенциалом / А. А. Степанова, С. А. Иванова, Л. К. Асякина // Российская наука в современном мире: Сборник статей LXXIII международной научно-практической конференции. – Москва: НИЦ «Актуальность.РФ», 2025. – С. 24–25.

72. Степанова, А. А. Получение напитка из *Medusomyces Gisevi* с высокой антиоксидантной активностью / А. А. Степанова, Л. К. Асякина, С. А. Иванова // Экспериментальные и теоретические исследования в современной науке: сборник статей по материалам CXVII международной научно-практической конференции. – Новосибирск: ООО «Сибирская академическая книга», 2025.

73. Степанова, А. А. Способ улучшения органолептических свойств напитка на основе культуры *Medusomyces Gisevii* путем добавления отвара сосновых шишек / А. А. Степанова, Л. К. Асякина, Л. А. Проскурякова //

I Международная конференция «Новейшие достижения в области медицины, здравоохранения и здоровьесберегающих технологий». – Кемерово: Кемеровский государственный университет, 2022. – С. 422–425.

74. Сучкова, Е. П. Исследование процесса получения экстрактов из растительного сырья и их использование в производстве сыров / Е. П. Сучкова, Руба Хуссайне // Новые технологии. – 2021. – Т. 17. – № 4. – С. 72–83. DOI:10.47370/2072-0920-2021-17-4-72-83.

75. Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции»: утверждён Решением Комиссии Таможенного союза от 9 декабря 2011 года № 880.

76. Федорович, А. Н. Влияние способа переработки тысячелистника на количество и качество извлекаемых веществ / А. Н. Федорович, Н. Н. Федорович // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. – 2000. – № 4. – С. 60–63.

77. Ферментированные напитки: источники их получения и видовой состав микробных сообществ (обзор) / А. А. Степанова, Л. К. Асякина, Т. А. Ларичев [и др.] // АПК России. – 2023. – Т. 30. – № 5. – С. 703–711. DOI:10.55934/2587-8824-2023-30-5-703-711.

78. Фролова, Н. А. Использование консорциума микроорганизмов гранул водного кефира для получения напитка / Н. А. Фролова // Вестник КамчатГТУ. – 2024. – № 67.

79. Функциональные напитки на основе растительного сырья Красноярского края в качестве средства адаптации организма к негативным условиям окружающей среды / Г. Г. Первышина, М. В. Лунев, Д. Носов [и др.] // Conference Item. – Красноярск: Сибирский федеральный университет, 2008. – С. 1–5.

80. Хоконова, М. Б. Качественные показатели продуктов брожения в спиртовом производстве / М. Б. Хоконова, О. К. Цагоева // Известия Кабардино-Балкарского государственного аграрного университета им. В. М. Кокова. – 2019. – № 1 (23).

81. Чеснокова, Н. Ю. Использование корня лопуха в производстве функциональных напитков / Н. Ю. Чеснокова, А. А. Кузнецова, Л. В. Левочкина // Евразийский Союз Учёных. – 2014. – № 6 (3).

82. Юферова, А. А. Технология ферментированного напитка на основе экстракта одуванчика лекарственного / А. А. Юферова, О. Хён Бом, Я. В. Дубняк // Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности. АПК-продукты здорового питания. – 2021. – № 2. – С. 89–97. DOI:10.24412/2311-6447-2021-2-89-97.

83. A review on kombucha tea–microbiology, composition, fermentation, beneficial effects, toxicity, and tea fungus / R. Jayabalan, R. V. Malbasa, E. S. Loncar [et al.] // Compr. Rev. Food Sci. – 2014. – Vol. 13. – P. 538–550. DOI:10.1111/1541-4337.12073.

84. Acid contents and the effect of fermentation condition of Kombucha tea beverages on physicochemical, microbiological and sensory properties / K. Neffe-Skocinska, B. Sionek, I. Scibisz [et al.] // CYTA: Journal of Food. – 2017. – Vol. 15. – P. 601–607. DOI:10.1080/19476337.2017.1321588.

85. Antiproliferative and antimicrobial activities of kombucha tea / M. Deghrigue, J. Chriaa, H. Battikh [et al.] // Afr. J. Microbiol. Res. – 2013. – Vol. 7. – P. 3466–3470. DOI:10.5897/AJMR12.1230.

86. Applegate, K. B. Analysis of kombucha to teach biochemical concepts and techniques to undergraduate students / K. B. Applegate, P. R. Cheek, J. K. Inlow // Biochem. Mol. Biol. Educ. – 2019. – Vol. 47. – P. 459–467. DOI:10.1002/bmb.21240.

87. Application of the “SCOBY” and Kombucha tea for the production of fermented milk drinks / M. Kruk, M. Trzaskowska, I. Ścibisz [et al.] // Microorganisms. – 2021. – Vol. 9 (1). – P. 123. DOI:10.3390/microorganisms9010123.

88. Benefaction of probiotics for human health: A review / R. G. Kerry, J. K. Patra, S. Gouda [et al.] // Food Drug Anal. – 2018. – Vol. 26. – P. 927–939. DOI:10.1016/j.jfda.2018.01.002.

89. Benefits of Kombucha Consumption: A Systematic Review of Clinical Trials Focused on Microbiota and Metabolic Health / G. M. Raiz, D. B. Bonifácio,

R. S. de Paulo [и др.] // Fermentation. – 2025. – Vol. 11. – P. 353. DOI: 10.3390/fermentation11060353.

90. Bioactive components of tea / G. Sen, N. Sarkar, M. Nath [et al.] // Archive of Food and Nutritional Science. – 2020. – Vol. 4 (1). – P. 1–9. DOI:10.29328/journal.afns.1001020.

91. Bortolomedi, B. M. Bioactive compounds in kombucha: A review of substrate effect and fermentation conditions / B. M. Bortolomedi, C. S. Paglarin, F. C. Brod // Food Chemistry. – 2022. – Vol. 385. – P. 132719. DOI:10.1016/j.foodchem.2022.132719.

92. Brettanomyces bruxellensis yeasts: Impact on wine and winemaking / M. Agnolucci, A. Tirelli, L. Cocolin [et al.] // World J. Microbiol. Biotechnol. – 2017. – Vol. 33. – P. 180. DOI:10.1007/s11274-017-2345-z.

93. Bron, P. A. Emerging molecular insights into the interaction between probiotics and the host intestinal mucosa / P. A. Bron, P. Van Baarlen, M. Kleerebezem // Nat. Rev. Microbiol. – 2012. – Vol. 10. – P. 66–78. DOI:10.1038/nrmicro2690.

94. Caplice, E. Food fermentations: Role of microorganisms in food production and preservation / E. Caplice // Int. J. Food Microbiol. – 1999. – Vol. 50. – P. 131–149. DOI:10.1016/S0168-1605(99)00082-3.

95. Cereal-based fermented foods and beverages. / A. Blandino, M. E. Al-Aseeri, S. S. Pandiella [et al.] // Food Res. Int. – 2003. – Vol. 36. – P. 527–543. DOI:10.1016/S0963-9969(03)00009-7.

96. Characterization of the growth of Lactobacillus plantarum in milk in dependence on temperature / Z. Matejcekova, D. Liptakova, S. Spodniakova [et al.] // Acta Chim. Slovaca. – 2016. – Vol. 9. – P. 104–108. DOI:10.1515/acs-2016-0018.

97. Chemical composition of kombucha / P. Bishop, E. R. Pitts, D. Budner [et al.] // Beverages. – 2022. – Vol. 8. – P. 1–17. DOI:10.3390/beverages8030045.

98. Chemical Profile and Antioxidant Activity of the Kombucha Beverage Derived from White, Green, Black and Red Tea / K. Jakubczyk, J. Kaldunska, J. Kochman [et al.] // Antioxidants. – 2020. – Vol. 9 (5). – P. 447. DOI:10.3390/antiox9050447.

99. Developments in the fermentation process and quality improvement strategies for mead production / A. Iglesias, A. Pascoal, A. B. Choupina [et al.] // *Molecules*. – 2014. – Vol. 19 (8). – P. 12577–12590. DOI:10.3390/molecules190812577.

100. Different temperatures select distinctive acetic acid bacteria species and promotes organic acids production during Kombucha tea fermentation / F. De Filippis, A. D. Troise, P. Vitaglione [et al.] // *Food Microbiol.* – 2018. – Vol. 73. – P. 11–16. DOI:10.1016/j.fm.2018.01.008.

101. Diversity and probiotic potentials of lactic acid bacteria isolated from gilaburu, a traditional Turkish fermented European cranberrybush (*Viburnum opulus* L.) fruit drink / O. Sagdic, I. Ozturk, N. Yapar [et al.] // *Food Res Int.* – 2014. – Vol. 64. – P. 537–545. DOI:10.1016/j.foodres.2014.07.045.

102. Dutta, H. Kombucha Drink: production, quality, and safety aspects / H. Dutta, S. Paul // *Production and Management of Beverages*. – 2019. – Vol. 1. – P. 259–288. DOI:10.1016/b978-0-12-815260-7.00008-0.

103. Effect of sucrose concentration on the products of Kombucha fermentation on molasses / R. Malbasa, E. Loncar, M. Djuric [et al.] // *Food Chem.* – 2008. – Vol. 108. – P. 926–932. DOI:10.1016/j.foodchem.2007.11.069.

104. Effects of a traditional fermented grape-based drink “hardaliye” on antioxidant status of healthy adults: A randomized controlled clinical trial / B. Amoutzopoulos, G. B. Löker, G. Samur // *J. Sci. Food Agric.* – 2013. – Vol. 93. – P. 3604–3610. DOI:10.1002/jsfa.6158.

105. Elshafie, H. S. A Comprehensive Review on the Biological, Agricultural and Pharmaceutical Properties of Secondary Metabolites Based-Plant Origin / H. S. Elshafie, I. Camele, A. A. Mohamed // *Int. J. Mol. Sci.* – 2023. – Vol. 24. – P. 3266. DOI:10.3390/ijms24043266.

106. Erten, H. A traditional Turkish lactic acid fermented beverage: shalgam (salgam) / H. Erten, H. Tanguer, A. Canbaş // *Food Rev Int.* – 2008. – Vol. 24. – P. 352–359. DOI:10.1080/87559120802089324.

107. Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum*

majorana L.) extracts / M. H. H. Roby, M. A. Sarhan, K. A. H. Selim [et al.] // Ind. Crop. Prod. – 2013. – Vol. 48. – P. 43–48. DOI:10.1016/j.indcrop.2013.04.004.

108. Fermented Beverage benefits: A comprehensive review and comparison of kombucha and kefir microbiome / A. Q. Chong, S. W. Lau, N. L. Chin [et al.] // Microorganisms. – 2023. – Vol. 11 (5). – P. 1344. DOI:10.3390/microorganisms11051344.

109. Fermented beverages with health-promoting potential: Past and future perspectives / A. J. Marsh, C. Hill, R. P. Ross [et al.] // Trends Food Sci. Technol. – 2014. – Vol. 38. – P. 113–124. DOI:10.1016/j.tifs.2014.05.002.

110. Fermented cereal-based Munkoyo beverage: Processing practices, microbial diversity and aroma compounds / S. Phiri, S. E. Schoustra, J. van den Heuvel [et al.] // PLoS ONE. – 2019. – Vol. 14. – P. 0223501. DOI:10.1371/journal.pone.0223501.

111. Fermented foods as a dietary source of live organisms / S. D. Rezac, C. R. Kok, M. Heermann [et al.] // Frontiers in Microbiology. – 2018. – Vol. 9. – P. 1–29. DOI:10.3389/fmicb.2018.01785.

112. Flavonoids as antioxidants in plants: location and functional significance / G. Agati, E. Azzarello, S. Pollastri [et al.] // Plant Science. – 2012. – Vol. 196. – P. 67–76. DOI:10.1016/j.plantsci.2012.07.014.

113. Green tea and kombucha characterization: Phenolic composition, antioxidant capacity and enzymatic inhibition potential / J. T. Oliveira, F. M. da Costa, T. G. da Silva [et al.] // Food Chem. – 2023. – Vol. 408. – P. 135206. DOI:10.1016/j.foodchem.2022.135206.

114. Health Benefits of Kombucha Tea Enriched with Olive Leaf and Honey / N. Degirmencioglu, E. Yıldız, M. Guldaz [et al.] // Journal of Obesity and Chronic Diseases. – 2020. – Vol. 4 (1). – P. 1–5. DOI:10.17756/jocd.2020-031.

115. Karovičová, J. Lactic acid fermented vegetable juices / J. Karovičová, Z. Kohajdová // Horti Sci. – 2003. – Vol. 30. – P. 152–158. DOI:10.17221/3878-HORTSCI.

116. Kaur, S. A Review on the nutritional aspects of wild edible plants / S. Kaur, A. Roy // Current Traditional Medicine. – 2021. – Vol. 7. – № 4. – P. 552–563. DOI:10.2174/2215083806999201123201150.

117. Kim, J. Current trends in Kombucha: marketing perspectives and the need for improved sensory research / J. Kim, K. Adhikari // *Beverages*. – 2020. – Vol. 6 (1). – P. 15. DOI:10.3390/beverages6010015.

118. Kinetics of saccharose fermentation by Kombucha / E. S. Loncar, K. G. Kanuric, R. V. Malbasa [et al.] // *Chem. Ind. Chem. Eng. Q.* – 2014. – Vol. 20. – P. 345–352. DOI:10.2298/CICEQ121113016L.

119. Kombucha Healthy Drink–Recent advances in production, chemical composition and health benefits / H. Kitwetcharoen, L. T. Phung, P. Klanrit [et al.] // *Fermentation*. – 2023. – Vol. 9 (1). – P. 48. DOI:10.3390/fermentation9010048.

120. Kombucha Market Outlook [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.futuremarketinsights.com/reports/kombucha-market> (дата обращения 06.10.2023).

121. Kombucha: Perceptions and Future Prospects / P. Batista, M. R. Penas, M. Pintado [и др.] // *Foods*. – 2022. – Vol. 11. – № 13. – P. 1977. DOI: 10.3390/foods11131977.

122. Kombucha: Production and Microbiological research / B. Wang, K. Rutherford-Markwick, X. Zhang [et al.] // *Foods*. – 2022. – Vol. 11 (21). – P. 3456. DOI:10.3390/foods11213456.

123. Kombucha: Review / R. M. Coelho, A. L. Almeida, R. Q. Amaral [et al.] // *International Journal of Gastronomy and Food Science*. – 2020. – Vol. 22. – P. 100272. DOI:10.1016/j.ijgfs.2020.100272.

124. Laureys, D. Kombucha Tea Fermentation: A Review / D. Laureys, S. J. Britton, J. D. Clippeleer // *J. Am. Soc. Brew. Chem.* – 2020. – Vol. 78. – P. 165–174. DOI:10.1080/03610470.2020.1734150.

125. Low-Calorie Beverages Made from Medicinal Plants, Flowers and Fruits: Characteristics and Liking of a Population with Overweight and Obesity / E. Contreras-López, J. Ramírez-Godínez, M. M. García-Martínez [et al.] // *Applied Sciences*. – 2021. – Vol. 11 (9). – P. 3766. DOI:10.3390/app11093766.

126. Malbasa, R. Comparison of the products of Kombucha fermentation on sucrose and molasses / R. Malbasa, E. Loncar, M. Djuric // Food Chem. – 2008. – Vol. 106. – P. 1039–1045. DOI:10.1016/j.foodchem.2007.07.020.
127. Mamlouk, D. Acetic acid bacteria: Physiology and carbon sources oxidation / D. Mamlouk, M. Gullo // Indian J. Microbiol. – 2013. – Vol. 53. – P. 377–384. DOI:10.1007/s12088-013-0414-z.
128. Microbiological and fermentation characteristics of togwa, a Tanzanian fermented food / J. K. Mugula, S. A. M. Nnko, J. A. Narvhus [et al.] // Int. J. Food Microbiol. – 2003. – Vol. 80. – P. 187–199. DOI:10.1016/S0168-1605(02)00141-1.
129. Morales-de la Peña, M. Recent Trends in Fermented Beverages Processing: The Use of Emerging Technologies / M. Morales-de la Peña, G. A. Miranda-Mejía, O. Martín-Belloso // Beverages. – 2023. – Vol. 9. – P. 51. DOI:10.3390/beverages9020051.
130. Nieto, G. A Review on Applications and Uses of *Thymus* in the Food Industry / G. Nieto // Plants. – 2020. – T. 9. – № 8. – C. 961. DOI: 10.3390/plants9080961.
131. Odunfa, S. A. Microbiological Changes during the Traditional Production of ogi-baba, a West African Fermented Sorghum Gruel / S. A. Odunfa, S. Adeyele // J. Cereal Sci. – 1985. – Vol. 3. – P. 173–180. DOI:10.1016/S0733-5210(85)80027-8.
132. Parsa, A. Investigation of the antioxidant activity of electrosynthesized polyaniline/reduced graphene oxide nanocomposite in a binary electrolyte system on ABTS and DPPH free radicals / A. Parsa, S. A. Salout // Journal of Electroanalytical Chemistry. – 2016. – Vol. 760. – P. 113–118. DOI:10.1016/j.jelechem.2015.11.021.
133. Potential Probiotic Yeasts Sourced from Natural Environmental and Spontaneous Processed Foods / A. Agarbati, L. Canonico, E. Marini [et al.] // Foods. – 2020. – Vol. 9. – P. 287. DOI:10.3390/foods9030287.
134. Probiotic properties of lactic acid bacteria isolated from Korean rice wine makgeolli / Y. U. Park, M. D. Kim, D. H. Jung [et al.] // Food Sci. Biotechnol. – 2015. – Vol. 24. – P. 1761–1766. DOI:10.1007/s10068-015-0229-2.

135. Raman, M. Probiotics, prebiotics, and fibers in nutritive and functional beverages / M. Raman, P. Ambalam, M. Doble // *Nutrients in Beverage*. – 2019. – Vol. 12. – P. 315–367. DOI:10.1016/b978-0-12-816842-4.00009-5.

136. Recent progress in chemical composition, production, and pharmaceutical effects of kombucha beverage: a complementary and alternative medicine / S. M. Mousavi, S. A. Hashemi, M. Zarei [et al.] // *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. – 2020. – Vol. 2020. – P. 1–14. DOI:10.1155/2020/4397543.

137. Red Clover (*Trifolium pratense*) as a Source of Phytoestrogens in Beer / K. Habschied, M. Kovačević Babić, D. Horvat [и др.] // *Fermentation*. – 2024. – Vol. 10 – № 8. – P. 423. DOI: 10.3390/fermentation10080423.

138. Tanguler, H. Occurrence and growth of lactic acid bacteria species during the fermentation of shalgam (salgam), a traditional Turkish fermented beverage / H. Tanguler, H. Erten // *LWT Food Sci Technol*. – 2012. – Vol. 46. – P. 36–41. DOI:10.1016/j.lwt.2011.10.026.

139. Temperature adaptation markedly determines evolution within the genus *Saccharomyces* / Z. Salvado, F. N. Arroyo-Lopez, J. M. Guillamon [et al.] // *Appl. Environ. Microbiol*. – 2011. – Vol. 77. – P. 2292–2302. DOI:10.1128/AEM.01861-10.

140. The evaluation of chemical, antioxidant, antimicrobial and sensory properties of kombucha tea beverage / E. Ivanisova, K. Menhartova, M. Terentjeva [et al.] // *Journal of Food Science and Technology*. – 2019. – Vol. 57 (5). – P. 1840–1846. DOI:10.1007/s13197-019-04217-3.

141. The global kombucha market size stood at USD 1.84 billion in 2019 and is projected to reach USD 10.45 billion by 2027, exhibiting a CAGR of 23.2% during the forecast period [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.fortunebusinessinsights.com/industry-reports/kombucha-market-100230> (дата обращения 06.10.2023).

142. The medicinal and aromatic plants as ingredients in functional beverage production / I. Maleš, S. Pedisić, Z. Zorić [et al.] // *Journal of Functional Foods*. – 2022. – Vol. 96. – P. 1–20. DOI:10.1016/j.jff.2022.105210.

143. The phytochemical composition of Kuzbass medicinal plants studied by spectrophotometry and chromatography / N. S. Velichkovich, N. I. Dunchenko, A. Stepanova [et al.] // *Foods and Raw Materials*. – 2025. – Vol. 13 (2). – P. 219–232. DOI:10.21603/2308-4057-2025-2-649.

144. The Quality of Ciders Depends on the Must Supplementation with Mineral Salts / T. Tarko, M. Januszek, A. Pater [et al.] // *Molecules*. – 2020. – Vol. 25 (16). – P. 3640. DOI:10.3390/molecules25163640.

145. The technological perspectives of Kombucha and its implications for production / I. De Oliveira, V. A. De Oliveira Rolim, R. P. Gaspar [et al.] // *Fermentation*. – 2022. – Vol. 8 (4). – P. 185. DOI:10.3390/fermentation8040185.

146. Traditional low-alcoholic and non-alcoholic fermented beverages consumed in European countries: A neglected food group. / A. Baschali, E. Tsakalidou, A. Kyriacou [et al.] // *Nutrition Research Reviews*. – 2017. – Vol. 30 (1). – P. 1–24. DOI:10.1017/S0954422416000202.

147. Trends in functional beverages: Functional ingredients, processing technologies, stability, health benefits, and consumer perspective / A. Gupta, N. Sanwal, M. A. Bareen [et al.] // *Food Research International*. – 2023. – Vol. 170. – P. 113046. DOI:10.1016/j.foodres.2023.113046.

148. Tufarelli, V. An overview on the functional food concept: Prospectives and applied researches in probiotics, prebiotics and synbiotics / V. Tufarelli, V. Laudadio // *J. Exp. Biol. Agric. Sci.* – 2016. – Vol. 4. – P. 273–278. DOI:10.18006/2016.4(3S).273.278.

149. Understanding kombucha tea fermentation: A review / S. A. Villarreal-Soto, S. Beaufort, J. Bouajila [et al.] // *J. Food Sci.* – 2018. – Vol. 83. – P. 580–588. DOI:10.1111/1750-3841.14068.

150. Use of native yeast strains for in-bottle fermentation to face the uniformity in sparkling wine production / I. Vigentini, S. Cardenas, F. Valdetara [et al.] // *Front. Microbiol.* – 2017. – Vol. 8. – P. 1225. DOI:10.3389/fmicb.2017.01225.

151. Velicanski, A. Characteristics of Kombucha fermentation on medicinal herbs from Lamiaceae family / A. Velicanski, D. Cvetkovic, S. Markov // *Romanian Biotechnological Letters*. – 2013. – Vol. 18 (1). – P. 8034–8042.

152. Vilela, A. The Importance of Yeasts on Fermentation Quality and Human Health-Promoting Compounds / A. Vilela // Fermentation. – 2019. – Vol. 5. – P. 46. DOI:10.3390/fermentation5020046.

153. Zero- and Low-Alcohol Fermented Beverages: A Perspective for Non-Conventional Healthy and Sustainable Production from Red Fruits / M. Brugnoli, E. Cantadori, M. P. Arena [et al.] // Fermentation. – 2023. – Vol. 9 (5). – P. 457. DOI:10.3390/fermentation9050457.

ПРИЛОЖЕНИЯ

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего
образования «Кемеровский государственный университет»

УДК 577.117.3, 577.127.3, 547.97
№ гос.регистрации 123032700014-9
Инвентарный № 05.01-02-13/2023

УТВЕРЖДАЮ

Ректор КемГУ



А.Ю. Просеков

20 23 г.

ОТЧЕТ

по заданию на выполнение государственных работ в сфере научной деятельности
№ FZSR-2023-0002 по теме «Полифенолы растений СФО: оценка молекулярной и
пространственной структуры веществ, характеристика биофункциональных свойств и
токсикологических показателей безопасности на модельных системах *in vivo*»

(заключительный)

Книга 1

Научный руководитель проекта
Д-р техн. наук, доцент

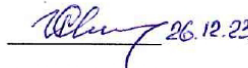
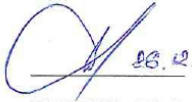
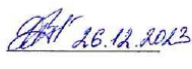
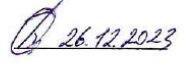
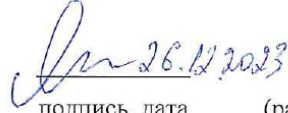
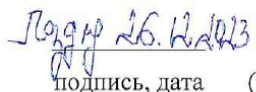
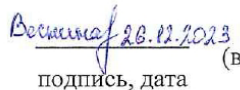
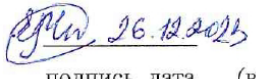
И.С. Милентьева

«26» 12 2023 г.

Кемерово 2023 г.

Продолжение приложения А

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Руководитель проекта, зав. лаборатории биотестирования природных нутрицевтиков, д.т.н.	 подпись, дата	Милентьева И.С. (реферат, разделы 3.1, 3.3, 3.4, заключение)
Старший научный сотрудник лаборатории, д.т.н.	 подпись, дата	Иванова С.А. (раздел 3.4)
Старший научный сотрудник лаборатории, к.т.н.	 подпись, дата	Долганюк В.Ф. (разделы 3.1, 3.2)
Старший научный сотрудник лаборатории, к.т.н.	 подпись, дата	Величкович Н.С. (разделы 3.1, 3.2)
Научный сотрудник лаборатории, к.т.н.	 подпись, дата	Белашова О.В. (раздел 3.3)
Научный сотрудник лаборатории, к.т.н.	 подпись, дата	Митриева А.И. (раздел 3.3)
Научный сотрудник лаборатории, к.х.н.	 подпись, дата	Ле В.М. (раздел 1.2, 3.1)
Научный сотрудник лаборатории, к.т.н.	 подпись, дата	Лосева А.И. (раздел 3.3)
Научный сотрудник лаборатории, к.т.н.	 подпись, дата	Позднякова А.В. (реферат, раздел 3.3)
Младший научный сотрудник, к.б.н.	 подпись, дата	Веснина А.Д. (введение, разделы 3.1, 3.2, заключение)
Младший научный сотрудник, к.т.н.	 подпись, дата	Миллер Е.С. (введение, раздел 3.4)

Продолжение приложения А

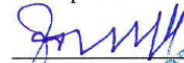
Младший научный сотрудник	<u>А. Серг</u> 26.12.2023 подпись, дата	Степанова А.А. (разделы 2.1, 2.2, 2.3)
Младший научный сотрудник, к.б.н.	<u>Ф. Фед</u> 26.12.2023 подпись, дата	Федорова А.М. (разделы 2.1, 2.2, 2.3)
Лаборант-исследователь	<u>М. Лей</u> 26.12.2023 подпись, дата	Лейтан М.А. (Список используемых источников, реферат)
Лаборант-исследователь	<u>Ф. Фо</u> 26.12.2023 подпись, дата	Фокина А.Д. (Аналитический обзор)
Лаборант-исследователь	<u>Е. Ра</u> 25.12.2023 подпись, дата	Радева Е.К. (Содержание, список используемых источников)
Лаборант-исследователь	<u>Д. Че</u> 26.12.2023 подпись, дата	Чекушкина Д.Ю. (Приложения)
Лаборант-исследователь	<u>В. Хр</u> 26.12.23 подпись, дата	Хренов В.А. (Определения, перечень сокращений, список нормативных ссылок)

Продолжение приложения А

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИФедеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования
«Кемеровский государственный университет»УДК 602.6:58
№ гос. регистрации 124032800021-5
Инвентарный 05.01-02-03/2024

УТВЕРЖДАЮ

Ректор КемГУ

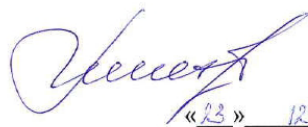

А.Ю. Просеков
«26» 12 2024 г. М.П.

ОТЧЕТ

по заданию на выполнение государственных работ в сфере научной деятельности
№ FZSR-2024-0008 по теме «Разработка биологически активных добавок, состоящих из метаболитов растительных объектов *in vitro*, для защиты населения от преждевременного старения»

(промежуточный отчет)

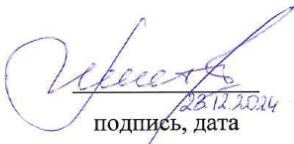
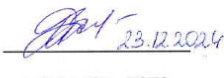
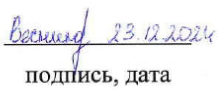
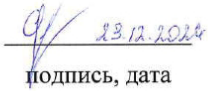
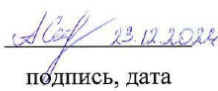
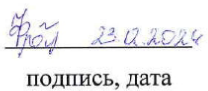
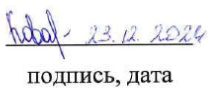
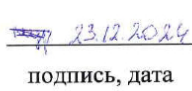
Книга 1

Научный руководитель проекта
Д.т.н., доцент
И. С. Милентьева
«23» 12 2024 г.

Кемерово 2024

Продолжение приложения А

СПИСОК ИСПОЛНИТЕЛЕЙ

Руководитель проекта, заведующий лабораторией, д.т.н.	 подпись, дата 23.12.2024	Милентьева И.С. (введение, раздел 2, заключение)
Старший научный сотрудник, к.т.н.	 подпись, дата 23.12.2024	Долганюк В.Ф. (раздел 3.4, 3.5)
Старший научный сотрудник, к.т.н.	 подпись, дата 23.12.2024	Величкович Н.С. (раздел 2, 3.5)
Научный сотрудник, к.х.н.	 подпись, дата 23.12.2024	Ле В.М. (введение, раздел 3)
Младший научный сотрудник, к.б.н.	 подпись, дата 23.12.2024	Веснина А.Д. (раздел 1, 2, 3, заключение)
Младший научный сотрудник, к.б.н.	 подпись, дата 23.12.2024	Федорова А.М. (раздел 1, 2, 3)
Младший научный сотрудник	 подпись, дата 23.12.2024	Степанова А.А. (раздел 1, 3)
Младший научный сотрудник	 подпись, дата 23.12.2024	Фролова А.С. (раздел 1, 2, 3.1–3.3, приложения)
Лаборант-исследователь	 подпись, дата 23.12.2024	Коваленко С.В. (раздел 1, список использованных источников)
Лаборант-исследователь	 подпись, дата 23.12.2024	Муругова С.С. (раздел 2, приложения)

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ



ПАТЕНТ

НА ИЗОБРЕТЕНИЕ

№ 2857775

СПОСОБ ПРОИЗВОДСТВА НАПИТКА

Патентообладатель: **Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Кемеровский государственный университет" (RU)**

Авторы: **Степанова Анна Александровна (RU), Плешивцев Иван Игоревич (RU), Асякина Людмила Константиновна (RU), Миленьева Ирина Сергеевна (RU), Просеков Александр Юрьевич (RU)**

Заявка № 2024137323

Приоритет изобретения **12 декабря 2024 г.**

Дата государственной регистрации

в Государственном реестре изобретений

Российской Федерации **06 марта 2026 г.**

Срок действия исключительного права

на изобретение истекает **12 декабря 2044 г.**



Руководитель Федеральной службы
по интеллектуальной собственности

документ подписан электронной подписью
Сертификат 00a570e4f7a0d8d531b4b8818e75f29506
Владелец **Зубов Юрий Сергеевич**
Действителен с 04.09.2025 по 28.11.2026

Ю.С. Зубов

ПРИЛОЖЕНИЕ В

Министерство науки и высшего образования РФ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Кемеровский государственный университет»
(ФГБОУ ВО «КемГУ»)

ОКПД2 10.89.19.210

ОКС 01.040.67

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по НИР, д.э.н.



Е.А. Жидкова

«__» _____ 2024 г.

БИОТЕХНОЛОГИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО НАПИТКА НА ОСНОВЕ ЧАЙНОГО
ГРИБА С ДОБАВЛЕНИЕМ ЭКСТРАКТОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Технические условия
ТУ 10.89.19-295-02068309-2024

Дата введения в действие – «__» _____ 2024 г.

РАЗРАБОТАНО

Профессор кафедры бионанотехнологии,
доктор технических наук ФГБОУ ВО «КемГУ»



Л.К. Асякина

личная подпись

Младший научный сотрудник лаборатории
биотестирования природных нутрицевтиков
ФГБОУ ВО «КемГУ»



А.А. Степанова

личная подпись

Кемерово 2024

Продолжение приложения В

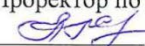
Министерство науки и высшего образования РФ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
«Кемеровский государственный университет»
(ФГБОУ ВО «КемГУ»)

ОКПД2 10.89.19.210

ОКС 01.040.67

УТВЕРЖДАЮ

Проректор по НИР, д.э.н.

 Е.А. Жидкова

«__» _____ 2024 г.

БИОТЕХНОЛОГИЯ ФУНКЦИОНАЛЬНОГО НАПИТКА НА ОСНОВЕ ЧАЙНОГО
ГРИБА С ДОБАВЛЕНИЕМ ЭКСТРАКТОВ РАСТИТЕЛЬНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ

Технологическая инструкция
ТИ 10.89.19-295-02068309-2024

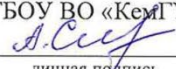
Дата введения в действие – «__» _____ 2024 г.

РАЗРАБОТАНО:

Профессор кафедры бионанотехнологии,
доктор технических наук ФГБОУ ВО «КемГУ»

 Л.К. Асякина
личная подпись

Младший научный сотрудник лаборатории
биотестирования природных нутрицевтиков
ФГБОУ ВО «КемГУ»

 А.А. Степанова
личная подпись

Кемерово 2024



**МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
(МИНОБРНАУКИ РОССИИ)**

ПРИКАЗ

3 июля 2024 г.

Москва

№ 428

**О назначении стипендий Президента Российской Федерации
для аспирантов и адъюнктов, обучающихся по очной форме
обучения в российских организациях, осуществляющих
образовательную деятельность, и проводящих научные
исследования в рамках реализации приоритетов научно-
технологического развития Российской Федерации,
определенных в стратегии научно-технологического развития
Российской Федерации**

В соответствии с Правилами назначения и выплаты стипендии Президента Российской Федерации для аспирантов и адъюнктов, обучающихся по очной форме обучения в российских организациях, осуществляющих образовательную деятельность, и проводящих научные исследования в рамках реализации приоритетов научно-технологического развития Российской Федерации, определенных в стратегии научно-технологического развития Российской Федерации, утвержденными постановлением Правительства Российской Федерации от 5 февраля 2024 г. № 119 «О назначении и выплате стипендии Президента Российской Федерации для аспирантов и адъюнктов, проводящих научные исследования в рамках реализации приоритетов научно-технологического развития Российской Федерации», пунктом 2 приказа Министерства науки и высшего образования Российской Федерации от 27 февраля 2024 г. № 148 «О проведении в 2024 году конкурсного отбора на назначение стипендии Президента Российской Федерации для аспирантов и адъюнктов, обучающихся по очной форме обучения в российских организациях, осуществляющих образовательную деятельность, и проводящих научные

Продолжение приложения Г

Приложение
к приказу Министерства науки
и высшего образования
Российской Федерации
от «3» июля 2024 г. № 428

СПИСОК

победителей конкурсного отбора на назначение стипендии Президента Российской Федерации для аспирантов и адъюнктов, обучающихся по очной форме обучения в российских организациях, осуществляющих образовательную деятельность, и проводящих научные исследования в рамках реализации приоритетов научно-технологического развития Российской Федерации, определенных в стратегии научно-технологического развития Российской Федерации

I. Министерство науки и высшего образования Российской Федерации

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Балтийский федеральный университет имени Иммануила Канта»

- | | | | |
|----|------------------------------------|----------|---|
| 1. | Букина Татьяна Викторовна | аспирант | с 1 апреля 2024 г.
по 31 августа 2025 г. |
| 2. | Демишкевич Елизавета Александровна | аспирант | с 1 апреля 2024 г.
по 31 августа 2027 г. |
| 3. | Колесникова Валерия Григорьевна | аспирант | с 1 апреля 2024 г.
по 31 августа 2025 г. |

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Белгородский государственный национальный исследовательский университет»

- | | | | |
|----|----------------------------------|----------|---|
| 1. | Астахов Илья Иванович | аспирант | с 1 апреля 2024 г.
по 31 августа 2027 г. |
| 2. | Борисов Сергей Игоревич | аспирант | с 1 апреля 2024 г.
по 31 августа 2026 г. |
| 3. | Патраханов Евгений Александрович | аспирант | с 1 апреля 2024 г.
по 31 августа 2026 г. |
| 4. | Пономаренко Марина Сергеевна | аспирант | с 1 апреля 2024 г.
по 31 августа 2026 г. |
| 5. | Решетникова Юлия Николаевна | аспирант | с 1 апреля 2024 г.
по 31 августа 2026 г. |

Федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Дальневосточный федеральный университет»

- | | | | |
|----|---------------------------|----------|--|
| 1. | Базров Михаил Андреевич | аспирант | с 1 апреля 2024 г.
по 18 сентября 2026 г. |
| 2. | Рогачев Кирилл Алексеевич | аспирант | с 1 апреля 2024 г.
по 18 сентября 2026 г. |

Продолжение приложения Г

15

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский государственный архитектурно-строительный университет»

- | | | | |
|----|---------------------------|----------|--|
| 1. | Бикаева Юлия Вячеславовна | аспирант | с 1 апреля 2024 г.
по 30 сентября 2025 г. |
|----|---------------------------|----------|--|

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский национальный исследовательский технический университет им. А.Н. Туполева-КАИ»

- | | | | |
|----|----------------------------|----------|--|
| 1. | Зимин Константин Сергеевич | аспирант | с 1 апреля 2024 г.
по 30 сентября 2026 г. |
| 2. | Мельников Антон Сергеевич | аспирант | с 1 апреля 2024 г.
по 30 сентября 2025 г. |
| 3. | Рубля Ратмир Сергеевич | аспирант | с 1 апреля 2024 г.
по 30 сентября 2025 г. |

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет»

- | | | | |
|----|-----------------------------|----------|--|
| 1. | Тарасов Максим Вадимович | аспирант | с 1 апреля 2024 г.
по 30 сентября 2026 г. |
| 2. | Харитоновна Ольга Сергеевна | аспирант | с 1 апреля 2024 г.
по 30 сентября 2027 г. |

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кемеровский государственный университет»

- | | | | |
|----|-------------------------------|----------|---|
| 1. | Горлышкин Никита Евгеньевич | аспирант | с 1 апреля 2024 г.
по 31 августа 2025 г. |
| 2. | Мельникова Виктория Сергеевна | аспирант | с 1 апреля 2024 г.
по 31 августа 2026 г. |
| 3. | Степанова Анна Александровна | аспирант | с 1 апреля 2024 г.
по 31 августа 2025 г. |
| 4. | Фотина Наталья Вячеславовна | аспирант | с 1 апреля 2024 г.
по 31 августа 2025 г. |

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный технологический университет»

- | | | | |
|----|---------------------------|----------|---|
| 1. | Мунассар Емад Хуссеин Али | аспирант | с 1 апреля 2024 г.
по 31 августа 2027 г. |
|----|---------------------------|----------|---|

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Кубанский государственный университет»

- | | | | |
|----|--------------------------------|----------|---|
| 1. | Кутенко Наталья Анатольевна | аспирант | с 1 апреля 2024 г.
по 31 августа 2025 г. |
| 2. | Солонченко Ксения Владимировна | аспирант | с 1 апреля 2024 г.
по 31 августа 2026 г. |

ПРИЛОЖЕНИЕ Д

УТВЕРЖАЮ
 Директор ООО «БАРС»
 Д.А. Лобачев
 «08» сентября 2025 г.

АКТ



наработки опытных образцов функционального напитка на основе чайного гриба с добавлением экстрактов растительного происхождения от «08» сентября 2025 г.

Комиссия в составе:

Председатель	Главный технолог ООО «БАРС»	Белобородова Е.Ю.
Члены комиссии	Профессор кафедры бионанотехнологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет»	Асякина Л.К.
	Младший научный сотрудник лаборатории биотестирования природных нутрицевтиков НИУ ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет»	Степанова А.А.

в период с «01» сентября 2025 г. по «07» сентября 2025 г. проверила факт наработки опытных образцов объектов испытаний.

1. Комиссии предъявлены:

1.1. Объекты испытания: образцы функциональных напитков на основе чайного гриба, культивируемого на черном, зеленом и иван-чае, обогащенного растительными экстрактами тимьяна обыкновенного (*Thymus vulgaris*), женьшеня настоящего (*Panax ginseng*) и тысячелистника обыкновенного (*Achilleae millefolii*) в количестве 1000 м³.

1.2. Техническая документация: технические условия (ТУ 10.89.19-295-02068309-2024) и технические инструкции (ТИ 10.89.19-295-02068309-2024) по производству функционального напитка на основе чайного гриба, обогащенного растительными экстрактами *Thymus vulgaris*, *Panax ginseng* и *Achilleae millefolii*.

1.3 Программа и методики исследовательских испытаний опытных образцов.

2. В результате проверки установлено:

Объекты испытаний наработаны ООО «БАРС» в соответствии с Техническими условиями и Техническими инструкциями по производству функционального напитка на основе чайного гриба, обогащенного растительными экстрактами *Thymus vulgaris*, *Panax ginseng*, *Achilleae millefolii*.

3. Вывод:

Объекты испытаний проявляют заявленные функциональные свойства, соответствуют требованиям качества и безопасности, что позволяет рекомендовать их к внедрению в производство.

Председатель		Белобородова Е.Ю.
Члены комиссии		Асякина Л.К. Степанова А.А.

Продолжение приложения Д

УТВЕРЖДАЮ
Директор ООО «БАРС»
Д.А. Добачев
«08» сентября 2025 г.



АКТ

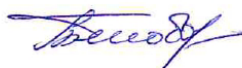
выработки опытно-промышленной партии функционального напитка на основе чайного гриба с добавлением экстрактов растительного происхождения

Мы, нижеподписавшиеся, главный технолог ООО «БАРС» Белобородова Е.Ю., профессор кафедры бионанотехнологии ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет» Асякина Л.К., младший научный сотрудник лаборатории биотестирования природных нутрицевтиков НИУ ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет» Степанова А.А., составили настоящий акт о том, что в сентябре 2025 г. в производственных условиях ООО «БАРС» выработана опытно-промышленная партия функционального напитка на основе чайного гриба с добавлением экстрактов растительного происхождения для использования в пищевой промышленности в соответствии с ТУ 10.89.19-295-02068309-2024. Выработка осуществлялась по технологии, разработанной младшим научным сотрудником Степановой А.А. Проведена оценка качественных показателей готовой продукции.

На ООО «БАРС» проведены промышленные испытания технологии производства функционального напитка на основе чайного гриба, культивируемого на черном, зеленом и иван-чае, обогащенного растительными экстрактами тимьяна обыкновенного (*Thymus vulgaris*), женьшеня настоящего (*Panax ginseng*) и тысячелистника обыкновенного (*Achillea millefolium*) с целью выявления причин возможных отклонений и доработки технологии.

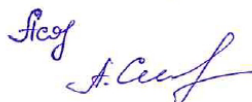
Установлено, что параметры технологического процесса, обеспечивающие качество и выход готового продукта, подобраны верно, согласно всем правилам и нормам. Опытнo-промышленная партия функционального напитка на основе чайного гриба с добавлением экстрактов растительного происхождения по показателям качества, безопасности и функциональным свойствам соответствует требованиям ТУ 10.89.19-295-02068309-2024. и рекомендуется к внедрению в производство.

Председатель



Белобородова Е.Ю.

Члены комиссии



Асякина Л.К.

Степанова А.А.