УДК 663.11

# ПОДБОР ПАРАМЕТРОВ СТАБИЛИЗАЦИИ (ЗАМОРАЖИВАНИЕ И СУШКА) СИМБИОТИЧЕСКОГО КОНСОРЦИУМА С ЦЕЛЬЮ ПОЛУЧЕНИЯ ЗАКВАСКИ ПРЯМОГО ВНЕСЕНИЯ

**В.Ю. Крумликов*, Л.А. Остроумов, С.А. Сухих, О.В. Кригер**

*ФГБОУ ВО «Кемеровский технологический институт пищевой промышленности (университет)», 650056, Россия, г. Кемерово, б-р Строителей, 47*

**e-mail: v_krumlikov@mail.ru*

*Дата поступления в редакцию: 10.06.2016*
*Дата принятия в печать: 30.07.2016*

Важной составляющей производства заквасок для пищевой и биотехнологической промышленности является возможность их хранения в течение длительного периода времени без потери их свойств. Длительное хранение биопрепаратов с сохранением ценных свойств и жизнеспособности может быть обеспечено только методами консервирования, способными тормозить процессы метаболизма, не нарушая целостность биоматериала. В статье описываются методы глубокого замораживания биоматериалов, лиофилизации и L-высушивания, в частности их достоинства и недостатки, а также более конкретно описывается метод лиофилизации. Целью работы являлся выбор метода сушки и подбор оптимальных параметров стабилизации для получения закваски прямого внесения. Для этого в качестве метода сушки использовался метод лиофилизации (метод замораживание-высушивание), с помощью которого можно полностью сохранить первичную структуру клетки. В результате данного метода объект сушки получает независимость от внешних воздействий и способен сохранять свои полезные свойства в течение длительного промежутка времени. Сам процесс сушки осуществлялся с помощью отечественной сублимационной установки «ИНЕЙ-6М». Для подготовки объекта сушки к процессу лиофилизации бактериальные клетки суспендировали с 20%-м снятым молоком, 12%-м раствором сахарозы, сывороткой крови животных, сорбитом, раствором альбумина, раствором желатина, пептоном, глутаматом натрия и его солями, поливинилпирролидоном. Далее экспериментально производили выбор оптимальных режимов технологического процесса, таких как температура замораживания, температура сублимационной сушки и толщина слоя сушки. Затем проводили анализ хранимоспособности заквасок, полученных с помощью метода, описанного выше. По итогам эксперимента были подобраны оптимальные параметры сублимационной сушки, в частности: температура замораживания минус 25 °С; температура нагрева 25 °С; продолжительность сушки 240 мин; толщина слоя сушки 3,0 мм.

Сублимационная сушка, лиофилизация, здоровое питание, комбинированная закваска

**Введение**

Важной задачей при производстве бактериальных препаратов, в том числе заквасок для пищевой и биотехнологической промышленности, медицины, является сохранение жизнеспособности живого организма и его нативных свойств довольно длительное время [1].

Длительное хранение биопрепаратов с сохранением ценных свойств и жизнеспособности может быть обеспечено только методами консервирования, способными тормозить процессы метаболизма, не нарушая целостность биоматериала [2]. Различают три метода консервирования длительного хранения биоматериалов: глубокое замораживание биоматериалов, высушивание из замороженного состояния (лиофилизация) и высушивание из жидкого состояния (L-высушивание). Достоинством перечисленных методов является то, что бактериологические клетки (биоматериал) лишаются свободной воды в условиях субнулевых (криогенных) температур и переходят в анабиозное состояние [3, 4].

Большинство бактериальных клеток способны длительное время сохранять свою жизнеспособность и в неизменном виде полезные свойства в замороженном состоянии при криогенных температурах (при температуре меньше минус 155 °С). Такой температурный минимум достигают за счет использования сжиженных газов и сосудов Дьюара или специальных хранилищ с теплоизоляцией. Так, например, сжиженный воздух имеет температуру минус 193 °С, азот – минус 196 °С, водород – минус 256 °С и гелий – 269 °С. Метод криоконсервации широко используется для длительного хранения различных биоматериалов (бактерий, дрожжей, вирусов растений и животных, клеток животных и т.д.). Недостатком данного метода является использование дорогостоящих жидких газов для длительного хранения микроорганизмов. Кроме этого, для его осуществления необходимы специальные криохранилища, программные замораживатели и другой комплект аксессуаров.

Метод долгосрочного сохранения микроорганизмов L-высушиванием представляет собой вакуумную сушку биологического материала, находящегося в жидком агрегатном состоянии. Метод очень сложный в исполнении и включает в себя множество стадий: стадию по подготовке микробиологических клеток, стадию по подготовке стабилизатора-носителя, заполнения ампул, высушивание. Кроме этого, для реализации L-высушивания

необходимо дорогостоящее специализированное оборудование, способное воспроизводить ключевые параметры для щадящего обезвоживания бактериальных клеток.

Наиболее распространенным методом высушивания микроорганизмов является метод лиофилизации (сублимационная сушка или метод замораживание-высушивание). Метод позволяет полностью сохранить первичную структуру бактериальной клетки. Многие виды бактерий, бактериофагов, животных и растительных тканей, продуктов питания, консервируемые данным методом, способны сохранять свою жизнеспособность и ценные свойства до 30 лет и более. Для этого высушенные микроорганизмы должны храниться в недоступном для влаги, света и кислорода месте.

Сущность метода замораживание-высушивание заключается в высушивании пищевых продуктов и биологических объектов в замороженном состоянии, при котором жидкость испаряется под вакуумом без оттаивания льда, что позволяет сохранить первичную структуру бактериальной клетки. В объекте сушки резко замедляются или прекращаются метаболические процессы, и он переходит в состояние анабиоза. В результате этого объект сушки становится устойчивым к внешним воздействиям и сохраняет полезные свойства длительное время.

Биологические объекты, консервируемые данным методом, обладают хорошей растворимостью при добавлении к ним физиологического раствора или воды, легко переходят в исходное состояние и восстанавливают свои ценные свойства. Но качество готового продукта напрямую зависит от качества и количества исходного биологического объекта, от того, в каких условиях и на каких питательных средах они росли, и от их жизнеспособности. Поэтому рекомендуется для более качественного получения готового высушенного продукта использовать микробиологические клетки, собранные в период максимальной стабильности в последней экспоненциальной фазе роста.

Лиофилизированные закваски прямого внесения, как и любые закваски, необходимо хранить в специальных условиях, оборудованиях, находящихся непосредственно в производственных помещениях. И извлекаться должны закваски непосредственно перед их использованием [5].

Целью работы является подбор оптимальных параметров стабилизации симбиотического консорциума для получения закваски прямого внесения, а также анализ хранимоспособности закваски, полученной с помощью метода лиофилизации.

**Объекты и методы исследования**

Для подготовки объекта сушки к лиофилизации и сохранению стабильности и жизнеспособности бактериальных клеток их суспендируют в среде с различными защитными стабилизаторами. В качестве стабилизаторов-криопротекторов используют 20%-е снятое молоко, 12%-й раствор сахарозы, сыворотку крови животных, сорбит, раствор альбумина, раствор желатина, пептон, глутамат натрия и его соли, поливинилпирролидон.

Лучше всех лиофилизации подвергаются следующие микроорганизмы: *Streptococcus, Staphylococcus, Brevibacterium, Salmonella, Lactobacillus, Bacillus, Brevibacterium*, их способность восстанавливать свою активность и ценные свойства после лиофилизации составляет 100 %. У микроорганизмов *Brucella, Pseudomonas, Seratia, Salmonella* выживаемость и сохранение ценных свойств составляет 70 %, а микроорганизмы *Methylobacter, Spirochete, Methylococcus* являются чувствительными к лиофилизации и их рекомендуется консервировать более щадящим методом [6, 7].

Процесс лиофилизации протекает в несколько взаимосвязанных этапов. На первом этапе процесса сушки происходит замораживание объекта при температурах ниже эвтектических значений. На этой стадии объект теряет до 10–15 % влаги за счет испарения. На втором этапе происходит первичное высушивание. Химизм данного этапа связан с тем, что свободная влага, превратившаяся в лед, сублимизируется под действием движущих сил с более интенсивным подводом тепла.

На последнем, третьем, этапе происходит довысушивание (вторичное высушивание). При этом удаляется связанная влага также под воздействием движущих сил вакуума и тепловой энергии. Температура объекта постепенно увеличивается до температуры окружающей среды.

Анализируя вышесказанное, приходим к выводу, что для дальнейших исследований в качестве метода стабилизации симбиотического консорциума с целью получения закваски прямого внесения выбираем метод лиофилизации. Основным моментом данного метода при получении качественного готового продукта являются параметры процесса замораживание-высушивание. Выбор оптимальных режимов технологического процесса является ключевым моментом при сушке бактериальных клеток в связи с тем, что микроорганизмы под действием низких температур могут претерпевать внутриклеточные и внеклеточные изменения. В этой связи в работе подбирали оптимальные технологические параметры консервирования симбиотического консорциума. В качестве технологических параметров исследовали температуру замораживания, температуру сублимационной сушки и толщину слоя сушки.

Сушка осуществлялась с помощью сублимационной установки «ИНЕЙ-6М» (Россия), которая имеет технический паспорт, акт проведения поверки метрологических органов согласно Закону № 102-ФЗ «Об обеспечении единства измерений» у органов.

Произведен анализ хранимоспособности закваски прямого внесения. Хранимоспособность оценивали по выживаемости бактериальных клеток в процессе хранения в условиях темноты при температуре окружающей среды минус 18 °С в течение 12 месяцев. Анализ жизнеспособности бактериальных клеток закваски прямого внесения оценивали каждые 3 месяца. Отметим, что показатель выживаемости коррелирует со значениями массовой до-

ли влаги сухого концентрата. Коэффициент корреляции составляет 0,98.

**Результаты и их обсуждение**

Микроорганизмы, подвергаемые консервации методом сублимационной сушки, имеют различные исходные параметры (массовая доля влаги, консистенция, концентрация сухих веществ), которые влияют на скорость замораживания и точку эвтектики. В этой связи экспериментально подбирали скорость и температуру замораживания объектов сушки. Определение оптимальной температуры замораживания симбиотического консорциума осуществляли до температуры минус 25 °С. Результаты исследований представлены на рис. 1.

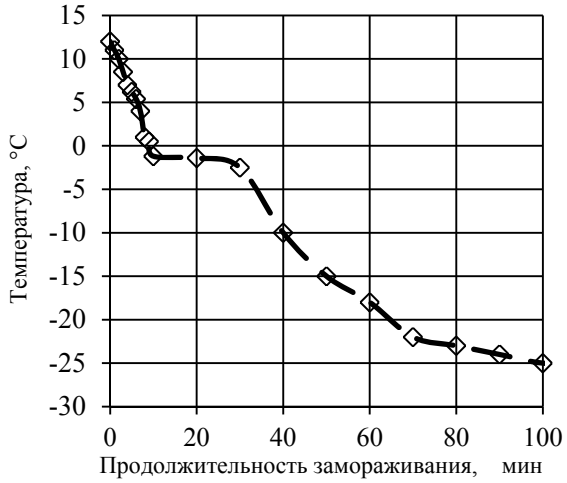


Рис. 1. Результаты исследований по выбору оптимальной температуры замораживания симбиотического консорциума микроорганизмов

Анализ результатов исследований по выбору оптимальной температуры замораживания симбиотического консорциума микроорганизмов (рис. 1) свидетельствует о том, что процесс замораживания имеет три участка, продолжительность которых различна. Первый участок замораживания симбиотического консорциума характеризуется равномерным снижением температуры с плюс 12 °С до минус 2 °С в течение 10 мин. Второй участок процесса замораживания характеризует кристаллизацию влаги в объекте сушки. Температура на этом этапе составляет минус 2 °С, продолжительность от 10 до 30 мин. Третий участок на рис. 1 характеризуется быстрым снижением температуры симбиотического консорциума микроорганизмов с последующим уравновешиванием температурного минимума минус 25 °С. Также результаты исследований свидетельствуют о том, что продолжительность замораживания составляет 90 мин, а температура замораживания минус 25 °С.

Исследование оптимальной температуры сублимационной сушки и продолжительности процесса лиофилизации симбиотического консорциума осуществляли при толщине слоя 3,0 мм и разных температурах сушки: 20 °С, 25 °С, 30 °С и 35 °С. Результаты исследований по выбору оптимальной температуры сублимационной сушки симбиотического консорциума микроорганизмов представлены на рис. 2.

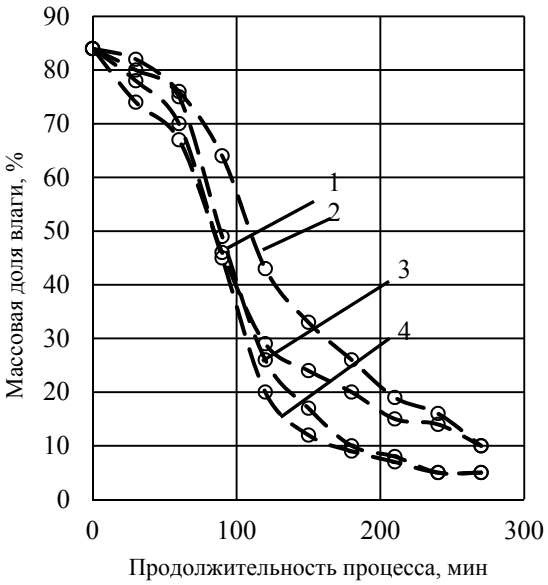


Рис. 2. Результаты исследований по выбору оптимальной температуры сублимационной сушки симбиотического консорциума микроорганизмов: 1 – 15 °С; 2 – 20 °С; 3 – 25 °С; 4 – 30 °С

Анализ результатов исследования (рис. 2) показал, что с увеличением температуры продолжительность процесса сублимационной сушки снижается, массовая доля влаги также стремится к минимуму. При температурах 15 °С, 20 °С продолжительность лиофилизации составляет 260 мин, массовая доля влаги в конечном продукте равна 10,0 %. Вместе с тем продолжительность сушки при температуре нагрева 25 и 30 °С составляет 240 мин, содержание влаги в лиофилизированном продукте – 5,0 %. В связи с тем, что при температуре сушки 25 и 30 °С массовая доля в готовом продукте одинакова и составляет всего 5 % и продолжительность процесса при этом также составляет 240 мин, для дальнейших исследований в качестве оптимальной температуры нагрева симбиотического консорциума микроорганизмов выбираем 25 °С и продолжительность лиофилизации 240 мин.

На качество высушенного продукта влияет такой параметр, как толщина слоя исходного продукта. Поэтому далее изучали оптимальную толщину слоя сушки симбиотического консорциума микроорганизмов. Процесс сушки вели при температуре 30 °С, продолжительности процесса 240 мин при различной толщине слоя исходного продукта: 2 мм, 3 мм, 4 мм и 5 мм. Результаты представлены на рис. 3.

На основании рис. 3 можно сделать вывод о том, что увеличение толщины слоя сушки симбиотического консорциума микроорганизмов приводит к увеличению продолжительности сушки и массовой доли влаги в конечном продукте.

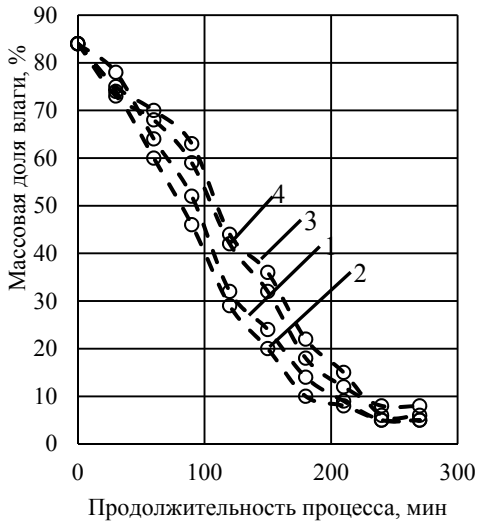


Рис. 3. Результаты исследований по выбору оптимальной толщины слоя сублимационной сушки симбиотического консорциума микроорганизмов: 1 – 2,0 мм; 2 – 3,0 мм; 3 – 4,0 мм; 4 – 5,0 мм

Так, при толщине слоя 4,0 и 5,0 мм продолжительность лиофилизации составляет 240 мин, а содержание влаги – 6,0 и 8,0 % соответственно. При толщине слоя исходного продукта 2,0 и 3,0 мм продолжительность лиофилизации составила 240 мин, а содержание влаги – 5 %. В этой связи выбрали оптимальную толщину слоя сублимационной сушки симбиотического консорциума микроорганизмов 3,0 мм.

Рис. 4. Результаты анализа выживаемости бактериальных клеток закваски прямого внесения в процессе хранения

Анализ результатов исследования хранимоспособности бактериальных клеток закваски прямого внесения, представленных на рис. 4, свидетельствует о хорошей выживаемости клеток закваски прямого внесения в процессе всего срока хранения. Так, при хранении закваски прямого внесения в течение 3 месяцев выживаемость клеток составляет 95 %, а при хранении закваски при тех же равных условиях в течение 6 месяцев выживаемость клеток составляет 88 % при влажности 5,7 %. При хранении закваски в течение 12 месяцев наблюдается повышение массовой доли влаги до 7,2 %, а выживаемость клеток падает до 75 %. Закваски хранились во флаконах по 2 мл со стерильными пробками с металлическими колпачками.

Анализ физико-химических показателей лиофилизированной закваски прямого внесения в течение всего срока хранения представлен в табл. 1.

Таблица 1

Физико-химические показатели лиофилизированной закваски прямого внесения в течение всего срока хранения

| Наименование показателя | Значение | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | 0 мес. | 3 мес. | 6 мес. | 9 мес. | 12 мес. |
| Активность сквашивания, ч | 12 | 12 | 12 | 10 | 9 |
| Предельное значение pH | 5,0 | 5,0 | 5,0 | 5,0 | 5,0 |
| Массовая доля влаги, % | 5,0 | 5,4 | 5,7 | 6,4 | 7,2 |
| Количество бактерий на конец срока годности, КОЕ/г.106 | 28,4 | 27,0 | 25,0 | 22,4 | 21,3 |

Результаты, представленные в табл. 1, свидетельствуют о том, что лиофилизированная закваска прямого внесения сохраняет жизнеспособность бактериальных клеток и физико-химические показатели качества на всем периоде хранения в условиях температуры минус 18 °С.

Таким образом, установлены параметры сублимационной сушки симбиотического консорциума микроорганизмов: температура замораживания минус 25 °С; температура нагрева 25 °С; продолжительность сушки 240 мин; толщина слоя сушки 3,0 мм.

## Список литературы

1. Просеков, А.Ю. Научные основы производства продуктов питания: учеб. пособие для студентов вузов: в 2 ч. / А.Ю. Просеков; Кемеровский технологический институт пищевой промышленности. – Кемерово, 2005. – 234 с.

2. Харитонова, И. Изучение качественных характеристик концентратов лактобактерий в процессе криозамораживания и сублимационной сушки / И. Харитонова, А.Ю. Просеков, М.И. Шрамко // Вестник Северо-Кавказского федерального университета. – 2015. – № 2(47). – С. 87–90.

3. Бабич, О.О. Оптимизация лиофилизации L-фенилаланин-аммоний-лиазы / О.О. Бабич, А.Ю. Просеков // Биомедицинская химия. – 2013. – Т. 59. – № 6. – С. 682–692.

4. Особенности сублимационной сушки гидролизатов отходов птицеперерабатывающей промышленности / О.В. Кригер, А.В. Изгарышев, И.С. Милентьева, П.В. Митрохин // Низкотемпературные и пищевые технологии в XXI веке: материалы VII Междунар. науч.-техн. конф. – СПб., 2015. – С. 119–121.

5. Effect of lyophilization conditions of recombinant L-phenylalanine ammonia-lyase on enzyme properties – Babich O., Dyshlyuk L., Prosekov A. – Middle East Journal of Scientific Research. 2013. 15 (10), pp. 1455–1459.

6. The proteolytic activity research of the lactic acid microorganisms of different taxonomic groups – Prosekov, A., Babich, O., Asukhikh, S., Noskova, S., Dushlyuk, L. – World Applied Sciences Journal. 2013. 23 (10), pp. 1284–1290.

7. Identification and studying of the biochemical properties of lactobacillus strains – Zimina M.I., Prosekov A.J., Babich O.O., Sukhih S.A. – Life Science Journal. 2014. 11 (11), pp. 338–341.

# CHOICE OF STABILIZATION PARAMETERS (FREEZING AND DRYING) OF SYMBIOTIC CONSORTIUM TO OBTAIN A STARTER OF DIRECT INOCULATION

**V.Yu. Krumlikov*, L.A. Ostroumov, S.A. Sukhikh, O.V. Kriger**

*Kemerovo Institute of Food Science and Technology (University), 47, Boulevard Stroiteley, Kemerovo, 650056, Russia*

**e-mail: v_krumlikov@mail.ru*

*Received: 10.06.2016*
*Accepted: 30.07.2016*

An important component in the production of starters for food and biotechnology industries is the ability to store them over a long period without losing their properties. Long-term storage of biological products with the conservation of valuable properties and viability can only be ensured by methods of preservation which are able to inhibit metabolic processes without disturbance to biomaterial integrity. The article describes methods of deep-freezing of biomaterials, freeze-drying, L-drying, in particular their advantages and disadvantages, and gives more concrete description of the lyophilization method. The aim of this research was to choose a method of drying and optimum stabilization parameters for obtaining a starter of direct inoculation. To do this, freeze-drying method allowing the primary cell structure to be fully preserved was used. The experiment indicated that this method makes the object of drying independent from external influences and is able to retain its useful properties over a long period of time. The drying process itself was carried out using domestic freeze-drier INEY-6M". To prepare the drying object for lyophilization bacterial cells were suspended with 20% skimmed milk, 12% solution of sucrose, the serum of animal blood, sorbitol, albumin solution, gelatin solution, peptone, monosodium glutamate and its salts, polyvinylpyrrolidone. The choice of optimum modes of technological process such as freeze temperature, freeze-drying temperature and drying layer thickness was also carried out experimentally. According to the results of the experiment, optimum parameters for freeze-drying were chosen, in particular: freezing temperature of minus 25°C; heating temperature of 25°C; drying time of 240 min; the drying layer thickness of 3.0 mm.

Freeze drying, lyophilisation, healthy food, combo starter

## References

1. Prosekov A.Yu. *Nauchnyie osnovi proizvodstva produktov pitaniya* [Scientific foundations of food production]. Kemerovo, KemIFST Publ., 2005. 234 p.

2. Kharitonova I., Prosekov A.Yu., Shramko M.I. Izuchenie kachestvennykh kharakteristik kontsentratov laktobakteriy v protsesse kriozamorazhivaniya i sublimatsionnoy sushki [Investigation into quality features in lactobacilli concentrate through cryo-freezing and sublimation dryin]. *Vestnik Severo-Kavkazskogo federal'nogo universiteta* [Newsleter of North-Caucasus State Technical University], 2015, no. 2(47), pp. 87–90.

3. Babich O.O., Prosekov A.Yu. Optimizatsiya liofilizatsii L-fenilalanin-ammoniy-liazy [Optimization of lyophilization L-phenylalanine-ammonium-lyase]. *Biomeditsinskaya khimiya* [Biomedical chemistry], 2013, t. 59, no. 6, pp. 682–692.

4. Kriger O.V., Izgaryshev A.V., Milent'eva I.S., Mitrokhin P.V. Osobennosti sublimatsionnoy sushki gidrolizatov otkhodov ptitsepererabatyvayushchey promyshlennosti [Features freeze-dried hydrolysates of waste prinepriyatneyshy industry]. *Materialy VII mezhdunarodnoy nauchno-tehnicheskoy konferentsii «Nizkotemperaturnye i pishchevye tekhnologii v XXI veke»* [Proc. of the VII Intern. Sci. Conf. "Low-temperature and food technologies in XXI century"], 2015, pp. 119–121.

5. Babich O., Dyshlyuk L., Prosekov A. Effect of lyophilization conditions of recombinant L-phenylalanine ammonia-lyase on enzyme properties. *Middle East Journal of Scientific Research*, 2013, no. 15 (10), pp. 1455–1459.

6. Prosekov A., Babich O., Asukhikh S., Noskova S., Dushlyuk L. The proteolytic activity research of the lactic acid microorganisms of different taxonomic groups. *World Applied Sciences Journal*, 2013, no. 23 (10), pp. 1284–1290.

7. Zimina M.I., Prosekov A.Yu., Babich O.O., Sukhih S.A. Identification and studying of the biochemical properties of lactobacillus strains. *Life Science Journal*, 2014, no. 11 (11), pp. 338–341.

## Дополнительная информация / Additional Information

Подбор параметров стабилизации (замораживание и сушка) симбиотического консорциума с целью получения закваски прямого внесения / В.Ю. Крумликов, Л.А. Остроумов, С.А. Сухих, О.В. Кригер // Техника и технология пищевых производств. – 2016. – Т. 42. – № 3. – С. 25–30.

Krumlikov V.Yu., Ostroumov L.A., Sukhikh S.A., Kriger O.V. Choice of stabilization parameters (freezing and drying) of symbiotic consortium to obtain a starter of direct inoculation. *Food Processing: Techniques and Technology,* 2016, vol. 42, no. 3, pp. 25–30. (in Russ.).

**Крумликов Владислав Юрьевич**
аспирант кафедры бионанотехнологии, ФГБОУ ВО «Кемеровский технологический институт пищевой промышленности (университет)», 650056, Россия, г. Кемерово, б-р Строителей, 47, e-mail: v_krumlikov@mail.ru

**Остроумов Лев Александрович**
д-р техн. наук, профессор, профессор-консультант Научно-образовательного центра, ФГБОУ ВО «Кемеровский технологический институт пищевой промышленности (университет)», 650056, Россия, г. Кемерово, б-р Строителей, 47

**Сухих Станислав Алексеевич**
канд. техн. наук, директор НИИ биотехнологии, ФГБОУ ВО «Кемеровский технологический институт пищевой промышленности (университет)», 650056, Россия, г. Кемерово, б-р Строителей, 47, тел.: +7 (3842) 68-06-83, e-mail: stas-asp@mail.ru

**Кригер Ольга Владимировна**
канд. техн. наук, доцент, профессор кафедры бионанотехнологии, ФГБОУ ВО «Кемеровский технологический институт пищевой промышленности (университет)», 650056, Россия, г. Кемерово, б-р Строителей, 47, тел.: +7 (3842) 39-68-74, e-mail: olgakriger58@mail.ru

**Vladislav Yu. Krumlikov**
Postgraduate Student of the Department of Bionanotechnology, Kemerovo Institute of Food Science and Technology (University), 47, Boulevard Stroiteley, Kemerovo, 650056, Russia, e-mail: v_krumlikov@mail.ru

**Lev A. Ostroumov**
Dr.Sci.(Tech.), Professor, Professor and Consultant of the Center of Research and Education, Kemerovo Institute of Food Science and Technology (University), 47, Boulevard Stroiteley, Kemerovo, 650056, Russia

**Stanislav A. Sukhikh**
Cand.Sci.(Eng.), Director of the Research Institute of Biotechnology, Kemerovo Institute of Food Science and Technology (University), 47, Boulevard Stroiteley, Kemerovo, 650056, Russia, phone: +7 (3842) 68-06-83, e-mail: stas-asp@mail.ru

**Olga V. Kriger**
Cand.Sci.(Eng.), Associate Professor, Professor of the Department of Bionanotechnology, Kemerovo Institute of Food Science and Technology (University), 47, Boulevard Stroiteley, Kemerovo, 650056, Russia, phone: +7 (3842) 39-68-74, e-mail: olgakriger58@mail.ru