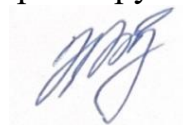


ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
«Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства,  
виноградарства, виноделия»

На правах рукописи



Тарасова Мария Владимировна

ТЕХНОЛОГИЯ ПОЛУЧЕНИЯ БЕЗАЛКОГОЛЬНОГО НАПИТКА  
НА ОСНОВЕ ЭКСТРАКТА ВИНОГРАДНЫХ ВЫЖИМОК  
И СИМБИОТИЧЕСКОГО КОНСОРЦИУМА

4.3.3 Пищевые системы

Диссертация на соискание ученой степени  
кандидата технических наук

Научный руководитель:  
доктор технических наук, доцент  
Першакова Татьяна Викторовна

Краснодар – 2024

## СОДЕРЖАНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
1. СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРОИЗВОДСТВА БЕЗАЛКОГОЛЬНЫХ НАПИТКОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВТОРИЧ- НЫХ РЕСУРСОВ ПЕРЕРАБОТКИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ .....	12
1.1 Актуальность производства напитков из растительного сырья.....	12
1.2 Современное состояние рынка безалкогольных напитков в России и тенденции развития рынка .....	21
1.3 Современные научно-технические исследования и разработки по изучаемой проблеме .....	28
1.4 Выводы, цель работы и задачи исследований.....	34
2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ.....	37
2.1 Объекты исследований.....	37
2.2 Методы исследований.....	38
3. ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ И ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ. ....	48
3.1 Выделение, изучение, выбор параметров стабилизации консор- циума бактерий и дрожжей .....	48
3.2 Изучение зависимости физико-химических показателей экстрак- тов выжимок виноградных сушеных сладких от технологических режи- мов экстракции.....	66
3.3 Изучение зависимости технологических режимов культивирова- ния симбиотического консорциума и показателей качества полученного продукта.....	74
3.4 Разработка рецептуры, обоснование технологии производства напитка, оценка потребительских свойств и безопасности .....	93
3.5. Обоснование структурно-функциональной схемы производства напитка .....	99
3.6 Выводы к третьей главе.....	110
4. АПРОБАЦИЯ И ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДСТВА	

НАПИТКА.. .....	114
4.1 Опытная апробация.....	114
4.2 Определение показателей экономической эффективности.....	114
4.3 Выводы к четвертой главе .....	123
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	124
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ.....	127
ПРИЛОЖЕНИЕ А – Анкета для опроса потребителей .....	147
ПРИЛОЖЕНИЕ Б – Технические условия.....	148
ПРИЛОЖЕНИЕ В – Технологические инструкции.....	150
ПРИЛОЖЕНИЕ Г – Патент.....	152
ПРИЛОЖЕНИЕ Д – Программа для ЭВМ.....	153
ПРИЛОЖЕНИЕ Е – Денежный поток по шагам.....	154
ПРИЛОЖЕНИЕ Ж – Расходы и доходы по шагам.....	155
ПРИЛОЖЕНИЕ З – Акт внедрения.....	156

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность темы.** Потребление напитков, содержащих биологически активные вещества, способствует улучшению адаптивных способностей организма и общего физиологического состояния человека. Особенно интересными в этом контексте являются безалкогольные напитки, полученные в результате процессов ферментации растительного сырья, так как они отличаются безопасностью и экономичностью благодаря естественному характеру процессов и мягким технологическим режимам их производства.

Каждый год в агропромышленных отраслях, занимающихся переработкой сельскохозяйственного сырья, образуется большое количество вторичных ресурсов, богатых биологически активными веществами, которые используются минимально. Одними из особо ценных вторичных ресурсов являются виноградные выжимки, образующиеся в процессе производства вина и соков. В связи с этим, разработка технологий безалкогольных напитков на основе ферментации экстрактов, полученных из виноградных выжимок, позволит увеличить экономическую эффективность агропромышленных предприятий, расширить ассортимент продукции и обеспечить население безалкогольными напитками, содержащими комплекс биологически активных веществ.

На сегодняшний день механизмы ферментации виноградных выжимок с использованием ассоциативных консорциумов бактерий и дрожжей еще не изучены в полной мере. Поэтому создание технологии для производства напитков брожения на основе виноградных выжимок и симбиотического консорциума дрожжей и бактерий является актуальной задачей.

**Актуальность диссертационной работы** подтверждается включением ее в комплексную рабочую программу на 2022-2026 гг. по выполнению темы государственного задания № 0498-2022-0009 «Разработка многокритериальной модели управления качеством, функциональностью, пищевой и экологической безопасностью при хранении и переработке плодово-ягодного и овощного сырья на всех этапах жизненного цикла с использованием современных инженерно-

технологических, биотехнологических и физико-химических методов» Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Северо-кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия» (ФГБНУ СКФНЦСВВ) и Гранта Кубанского Научного Фонда в рамках Конкурса научно-инновационных проектов, ориентированных на коммерциализацию № НИП 20.1/9 (2020-2022 гг.) по теме «Разработка биотехнологических процессов комплексной конверсии плодово-ягодного сырья и вторичных сырьевых ресурсов с применением симбиотического консорциума бактерий и дрожжей для производства функционального напитка и фруктово-ягодных кондитерских изделий».

**Степень разработанности темы.** При разработке рецептур и технологии производства напитка необходим учет особенностей пищевого статуса и потребительских предпочтений населения Краснодарского края.

Преимуществом процессов ферментации является возможность повышения ценности неиспользуемых вторичных растительных ресурсов. Эти процессы безопасны, так как происходят естественным образом и не требуют использования опасных препаратов, а также являются экономически эффективными. Ферментация может происходить с помощью специальных консорциумов дрожжей и бактерий. В результате этих процессов образуется разнообразный комплекс компонентов, включая органические кислоты, клетчатку, аминокислоты, витамин С, витамины группы В и углекислый газ.

Многие исследования показывают, что можно расширить спектр используемых субстратов для приготовления безалкогольных напитков, включая такие необычные ингредиенты, как виноградный сок, молоко, кокосовую воду, а также различные выжимки и экстракты. Определяющей особенностью вторичных ресурсов, образующихся при переработке плодово-ягодного сырья, является высокое содержание в их составе биологически ценных веществ, в связи с этим, их вовлечение в технологический процесс позволит повысить эффективность основного производства и создать новые продукты.

Значительный вклад в развитие данного направления внесли ведущие Российские и зарубежные ученые: А.П. Бирюков, О.М. Блинникова, Л.Г. Влащик,

Л.В. Донченко, С.П. Запорожская, В.А. Зубцов, М.В. Обрезкова, Т.Г. Причко, Ю.М. Сергеева, А.А. Сапарбекова, Г.Г. Соколенко, К. И. Родионова, А.И. Ферзаули, Е.В. Щербак L. Ayed, F.G. Carvalhes, M. Coton, C.I. Gamboa-Gomez, M.V. Gernet, S. Chakravorty, M. Leal, J.M. Kapp, R. Mabasa, U. Römling, M.J. Santos, S.A. Villarreal-Soto, L. Wang, M.I. Watawana и другие.

При этом, несмотря на значительное количество исследований, остаются не раскрытыми вопросы, связанные с изучением механизмов процессов ферментации виноградных выжимок с участием консорциумов микроорганизмов, обладающих свойствами симбиотических комплексов, специфичных для регионов юга России, позволяющими обеспечить максимальное обогащение готового продукта биологически ценными веществами. Существующие исследования, в основном, фокусируются на изучении отдельных штаммов микроорганизмов, а не на их взаимодействии в консорциумах. Разработка технологии получения напитков с использованием виноградных выжимок и симбиотического консорциума бактерий и дрожжей за счет оптимизации процессов ферментации для получения напитков с максимальной концентрацией биологически активных веществ – актуальное направление исследований.

**Проблемная ситуация заключается в том,** что при потребности населения в безалкогольных напитках, обогащенных биологически активными веществами, и наличии значительного количества вторичных ресурсов (виноградных выжимок) в производственных масштабах отсутствуют технологии их производства с применением процессов ферментации.

**Научная гипотеза** – одним из способов производства продуктов, обогащенных комплексом биологически активных веществ, может быть разработка технологии получения безалкогольного напитка на основе экстракта виноградных выжимок, ферментированного с участием микроорганизмов, обладающих свойствами симбиотических комплексов.

**Цель исследования** – разработка технологии получения безалкогольного напитка обогащенного биологически активными веществами на основе экстракта виноградных выжимок и симбиотического консорциума дрожжей и бактерий.

**Задачи исследований:**

- выделить и классифицировать штаммы дрожжей *Zygosaccharomyces kombuchaensis* и бактерий *Gluconacetobacter xylinus*, перспективные для получения симбиотического консорциума, обосновать параметры их культивирования и стабилизации;

- разработать математические модели взаимосвязи технологических режимов экстракции сушеных виноградных выжимок и физико-химических показателей экстрактов; технологических режимов ферментации экстрактов виноградных выжимок с применением симбиотического консорциума и показателей качества готового продукта;

- разработать рецептуру и технологию производства безалкогольного напитка на основе экстракта виноградных выжимок и симбиотического консорциума и оценить потребительские свойства готового продукта;

- обосновать структурно-функциональные схемы производства безалкогольного напитка, провести опытную апробацию разработанных технологических и технических решений, оценить экономическую эффективность реализации разработанных технологических решений.

**Объект исследования:** технологический процесс производства безалкогольного напитка.

**Предмет исследования.** Зависимости характеризующие процессы в составе общей технологии получения безалкогольных напитков: культивирование симбиотического консорциума, экстрагирование виноградных выжимок, ферментация экстрактов.

**Методы исследования.** Теоретические исследования проводились с учетом основных положений микробиологии, биохимии, биофизики, теории пищевых систем и автоматизации технических пищевых систем. Экспериментальные исследования проводились с использованием стандартных и специализированных методик исследования; методов планирования однофакторного и многофакторного эксперимента, математического моделирования. Обработка полученных данных осуществлена с использованием методов математической статистики.

**Научная новизна:**

- обоснована и доказана возможность и эффективность использования микроорганизмов симбиотического консорциума бактерий *Gluconacetobacter xylinus* и дрожжей *Zygosaccharomyces kombuchaensis* для сбраживания экстракта, полученного из выжимок, виноградных сушеных сладких для создания безалкогольного напитка;

- обоснован состав микробальной композиции целевого назначения, обеспечивающий эффективное брожение экстрактов виноградных выжимок, для производства безалкогольного напитка;

- установлены зависимости влияния: технологических режимов экстрагирования виноградных выжимок на органолептические показатели и содержание биологически активных веществ в экстракте выжимок виноградных сушеных сладких; времени культивирования консорциума, температуры, концентрации экстракта, содержания редуцирующих веществ, количества консорциума в экстракте - на pH среды культивирования в процессе сбраживания экстракта с применением симбиотического консорциума бактерий *Gluconacetobacter xylinus* и дрожжей *Zygosaccharomyces kombuchaensis*;

- обоснован способ приготовления напитка, обладающего биологической активностью, предусматривающий ферментацию экстракта выжимок виноградных сушеных сладких с применением симбиотического консорциума бактерий *Gluconacetobacter xylinus* и дрожжей *Zygosaccharomyces kombuchaensis* и позволяющий увеличить содержание витамина С в 1,49 раза, витамина В<sub>2</sub> – в 1,12 раз, витамина В<sub>6</sub> – в 1,4 раза, содержание железа в 1,2 раза.

**Теоретическая и практическая значимость работы:**

- математические модели, позволяющие определять технологические режимы экстракции выжимок виноградных сушеных сладких и культивирования симбиотического консорциума, обеспечивающие минимальные сроки процессов экстракции и ферментации, высокие показатели качества и пищевой ценности, могут быть использованы для разработки напитков с применением различных видов растительного сырья;



- технологические режимы процессов экстракции выжимок виноградных сушеных сладких и ферментации полученных экстрактов консорциумом бактерий *Gluconacetobacter xylinus* и дрожжей *Zygosaccharomyces kombuchaensis* могут быть использованы для разработки новых продуктов, обогащённых биологически активными веществами;

- техническая новизна подтверждена патентом на изобретение № RU 2788431 С1 МПК А23L2/38 «Способ приготовления напитка, обладающего биологической активностью» М.В. Бабакина, Т. В. Першакова, М.В. Самойленко (опубл. 14.11.2022 г., Бюл. № 32); и зарегистрированной программой для ЭВМ № 2021663373 от 25.08.2021 г. «Автоматизированный расчет скорости сбраживания субстрата консорциумом дрожжей и бактерий в зависимости от изменения pH среды и содержания редуцирующих сахаров» М.В. Бабакина, М.В. Самойленко, А.В. Свердличенко. (опубликовано 14.10.2021);

- обоснована структурно-технологическая схема процесса производства напитка, необходимая для создания новых технологических решений при производстве напитков на основе растительного сырья;

- разработаны технические условия ТУ 11.07.19-073-17021101-2022 «Напиток «Тамали-Джаз» и технологическая инструкция по производству напитка; технические условия ТУ 10.89.19 – 074 – 17021101 – 2022 Пищевая добавка «Выжимки виноградные сушеные» и технологическая инструкция по производству пищевой добавки «Выжимки виноградные сушеные».

**Сепень достоверности полученных результатов.** Достоверность диссертационного исследования подтверждается результатами обработки экспериментальных данных математическими методами с помощью ПО STATISTICA и использованием современного лабораторного оборудования, а также апробацией в ООО «АНПРИС» (акт внедрения от 14.10.2022 года).

**Апробация работы.** Основные положения диссертационной работы заслушаны и одобрены на ежегодных отчетных конференциях грантодержателей Кубанского научного фонда (2021-2022 гг.); на ежегодных научных конференциях ФГБНУ СКФНЦСВВ (2020-2024 гг.); заседаниях методического и ученого сове-

тов ФГБНУ СКФНЦСВВ в 2020-2024 гг., а также представлены на международных, научно-практических конференциях и семинарах: на Международной научной онлайн конференции «Наука, питание и здоровье» (Минск, 17 июня 2021 г.); 2-й Международной научно-практической конференции «Научное обеспечение технологического развития и повышения конкурентоспособности в пищевой и перерабатывающей промышленности» (01-02 декабря 2022 г.); на Международной научной онлайн конференции «Biologization of the Intensification Processes in Horticulture and Viticulture» (2021 г.); на Международной научной онлайн конференции «Directed Transformation of Alimentary Raw Materials in the Production of Foodstuffs, Food and Biologically Active Additives, Ensuring Quality Control and Safety» (2022 г.); на научной онлайн конференции «Цифровые технологии и биотехнологии в АПК» (г. Краснодар, 26 января 2022 г.); на Международном саммите молодых ученых по направлению AgroTech и FoodDesign (FoodTech) (Сириус, 9-11 ноября 2022 г.); на I Всероссийской научно-практической конференции обучающихся, преподавателей, практических работников «Образование – Наука – Практика» (5-25 апреля 2024, Краснодар 2024).

**Соответствие диссертации паспорту научной специальности.** Диссертация, соответствует паспорту специальности 4.3.3. Пищевые системы, а именно: п.4. Технология обработки, хранения и переработки злаковых, бобовых культур, крупяных продуктов, плодоовощной продукции и виноградарства, п. 12. Новые виды ресурсов и их применение в пищевых системах, п 22. Физико-химические основы, механизмы, закономерности процессов пищевых производств, п 30. Продовольственное обеспечение населения, новые подходы и стратегические решения.

**Положения, выносимые на защиту:**

- состав микробиальных композиций, обеспечивающих повышение эффективности процессов биоконверсии виноградных выжимок для производства безалкогольного напитка;

- выявленные зависимости влияния технологических режимов экстрагирования выжимок виноградных сушеных сладких на органолептические и физико-

химические показатели экстрактов и влияния кислотности, температуры и содержания редуцирующих веществ в процессе сбраживания экстракта с применением симбиотического консорциума бактерий *Gluconacetobacter xylinus* и дрожжей *Zygosaccharomyces kombuchaensis* на скорость роста и содержание биологически активных веществ;

- математические модели взаимосвязи технологических режимов экстракции сушеных виноградных выжимок и физико-химических показателей экстрактов; технологических режимов ферментации экстрактов виноградных выжимок с применением симбиотического консорциума и показателей качества готового продукта и построенная структурно-функциональная схема процесса производства;

- алгоритм технологического процесса производства и рецептура напитка на основе экстракта выжимок виноградных сушеных сладких и симбиотического консорциума, обеспечивающие потребительские свойства продукта, соответствующие нормативным критериям, установленным для безалкогольных напитков на растительном сырье;

- оценка экономической эффективности разработанных технологических решений при их внедрении.

**Публикации.** По теме диссертации опубликовано 16 научных трудов, в том числе 4 публикации, в журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, 2 публикации Web of Conferences, 1 патент на изобретение, 1 программа ЭВМ.

**Объем и структура работы.** Диссертация изложена на 146 страницах, содержит 30 таблиц, 35 рисунков, состоит из введения, 4 глав, заключения, рекомендаций производству, списка использованной литературы и 8 приложений.

Список литературы включает 151 наименование, в том числе 52 на иностранном языке.

# 1 СОВРЕМЕННОЕ СОСТОЯНИЕ И ПЕРСПЕКТИВЫ ПРОИЗВОДСТВА БЕЗАЛКОГОЛЬНЫХ НАПИТКОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ВТОРИЧНЫХ РЕСУРСОВ ПЕРЕРАБОТКИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

## 1.1 Актуальность производства напитков из растительного сырья

За последние десятилетия социально активные группы населения значительно пересмотрели свое отношение к собственному здоровью. Увлечение здоровым образом жизни ведет к росту спроса на продукты с натуральными компонентами и создает интерес потребителей к выбору правильного и сбалансированного питания.

Уровень потребления основных продуктов питания по сравнению с рациональными нормами потребления представлен в таблице 1 [1].

Таблица 1 – Динамика потребления основных продуктов питания в РФ по отношению к рациональным нормам потребления, в %\*

Группа товаров	2007	2008	2010	2012	2014	2016	2018	2020	2021	2022
Хлеб и хлебобулочные продукты	126,0	125,0	125,0	122,9	122,9	121,9	120,8	120,8	118,8	100,0
Мясо и мясные продукты	84,9	90,4	94,5	100,0	101,4	101,4	102,7	104,1	106,8	101,3
Молоко и молочные продукты	74,2	74,8	76,0	71,7	73,5	71,1	70,5	73,8	74,2	100,8
Сахар	162,5	166,7	162,5	162,5	166,6	162,5	162,5	162,5	162,5	102,6
Овощи и продовольственные бахчевые	66,4	71,4	72,1	72,9	72,9	72,9	76,4	76,4	74,3	101,0
Фрукты и ягоды	51,0	54,0	58,0	60	63	60	61	61	63,0	100,0

Приведенные данные свидетельствуют о том, что несмотря на рост потребления основных продуктов питания за исследуемый период, выявляется несбалансированность рациона населения России.

Сохраняется высокий уровень потребления крахмалосодержащих продуктов – хлеба и хлебобулочных изделий, картофеля. В то же время, потребление молока и молочных продуктов за исследуемый период составляло 70-75 %, овощей – 70-76 %, фруктов и ягод – 54-61 % от рациональных норм потребления.

Нарушение режима дня и высокая рабочая нагрузка создают дефицит времени, что не всегда позволяет людям уделять необходимое внимание своему физическому состоянию, здоровью и правильному питанию. Нерегулярное поступление питательных веществ в организм приводит к энергетическому и функциональному дисбалансу из-за качественных и количественных нарушений в рационе.

Современные потребители стремятся поддерживать и улучшать свое здоровье, снижать риски заболеваний и повышать жизненный тонус. Это, в свою очередь, формирует новый подход к выбору продуктов питания, сбалансированных по содержанию белков, жиров, углеводов, микро- и макроэлементов.

Безалкогольные напитки представляют собой полноценный источник питания, который можно использовать для пополнения организма биологическими активными компонентами.

Ассортимент безалкогольных напитков весьма разнообразен, включая традиционные варианты с фруктово-ягодными вкусами, такими как сладкие и терпкие ароматы клюквы, вишни, яблок, винограда и лимонов. Также наблюдается рост популярности напитков на основе кокосовой воды, экстрактов и настоев. Не меньшей популярностью пользуются альтернативные добавки: зеленый чай, гуарана, матча, женьшень и т.д. (рис. 1) [2].

Присутствие различных красителей (как синтетических, так и идентичных натуральным), ароматизаторов и консервантов в продуктах питания побуждает потребителей обращать внимание на натуральную и экологически безопасную продукцию. К таким продуктам относятся безалкогольные функциональные напитки и напитки брожения, изготовленные из натуральных фруктов и ягод. Их основные преимущества – возможность легкого контроля и изменения состава,

высокая востребованность среди всех групп населения и реальная польза для здоровья [3-8].

Безалкогольные напитки потребляют люди всех возрастов. Нормативов по рациональному потреблению этих напитков не существует. В обычных условиях человек в течение дня потребляет 2,5-3,0 литра жидкости, причем около 0,5 литра приходится на чай, кофе, компот, соки и минеральную воду. Рекомендуемые нормы потребления безалкогольных напитков, включающих натуральные компоненты, в зависимости от времени года – от 0,5 до 1,5 л в день [1, 2, 9].

В 2023 году розничные продажи безалкогольных напитков с растительными компонентами превысили \$1,1 млрд, сообщает Beverage Industry со ссылкой на данные компании Beverage Marketing Corporation [10]. В прошлом году объемы продаж таких напитков выросли на 12 % в стоимости и на 9 % в объеме.

В отчете компании Research And Markets прогнозируется, что мировой рынок напитков с растительными ингредиентами вырастет на \$1,27 млрд в течение 2023-2028 годов при среднегодовом темпе роста почти 20 %.

Согласно отчету, основные причины роста рынка – запуск новых видов продукции и активный маркетинг, продвигающий такие напитки как здоровую и экологичную альтернативу традиционным. Авторы отчета также отмечают их растущую популярность в секторе общественного питания.

По прогнозу, мировой рынок «растительных» напитков достигнет \$10 млрд в 2031 году, а среднегодовой темп роста составит 10,8 % в течение 2024-2031 годов [10].

Последнее время качество и ассортимент безалкогольных напитков претерпели значительные изменения.

Значительно уменьшилась доля производства напитков, основанных на натуральных плодово-ягодных соках, а также сократился выпуск напитков, которые имеют в своем составе искусственные красители и ароматизаторы (на пищевых добавках) [2, 9].

Структура потребления безалкогольных напитков по группам продукции в России приведена на рисунке 1.

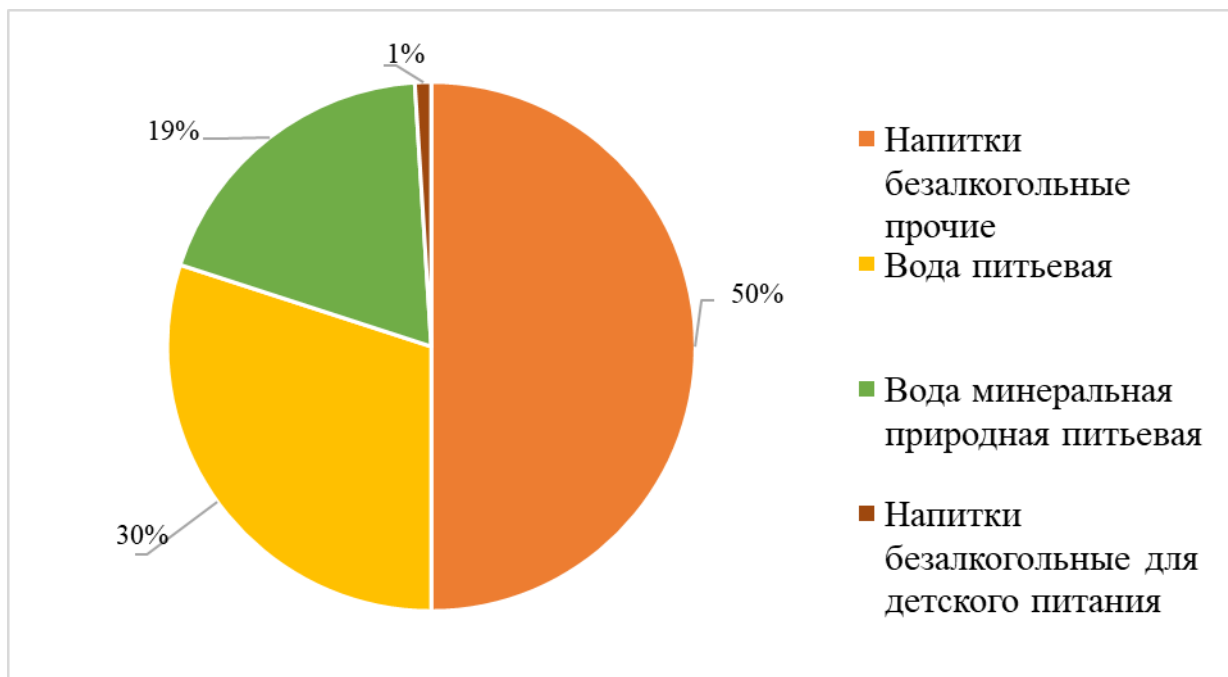


Рисунок 1 – Диаграмма потребления безалкогольных напитков по группам продукции в России, % [2]

Почти каждый год на рынке появляются новые виды продукции: спортивные напитки, безалкогольные коктейли и напитки для здоровья. Спрос на безалкогольную продукцию растет, что связано с увеличением доходов населения. В условиях постоянно изменяющихся предпочтений и потребностей потребителей, а также изменений в структуре покупок и образе жизни, мировой рынок безалкогольных напитков развивается и растет быстрыми темпами. Новые продукты выпускаются довольно часто, что приводит к появлению уникальных категорий безалкогольных напитков [2].

Создание новых технологий, отвечающих требованиям экологии и позволяющих рационально использовать природные ресурсы, в настоящее время представляет большой научный интерес [2, 10, 11]. В современных реалиях производители всех видов продукции стремятся максимально эффективно использовать доступное сырье и минимизировать объем перерабатываемых отходов [12, 13].

Безалкогольные напитки на основе растительного сырья изготавливаются с преобладанием в рецептуре концентратов, настоев, экстрактов и смешанных со-

ставов растительного происхождения (таких как фрукты, ягоды и семена), а также высококонцентрированных базовых смесей подобного типа. Использование широкого спектра экстрактов, полученных из растительного сырья и вторичных ресурсов переработки фруктов и винограда, позволяет повысить натуральность и качество множества безалкогольных напитков, а также способствует разработке новых рецептур.

Основная доля объемов виноградных выжимок приходится на винодельческую отрасль. Объем производства винодельческой продукции в России в 2023 году составил более 520 млн л. Российская винодельческая отрасль развивается, государство предпринимает шаги для обеспечения потребностей рынка и стимулирования спроса. В 2022 году было произведено 60,7 млн дал вина, что на 13 % больше показателя предыдущего года. За шесть лет выпуск увеличился почти вдвое. По прогнозам экспертов, в ближайшие годы в России продолжают появляться новые винодельческие регионы – Астраханская область, Саратовская область, а также дальневосточные регионы, а доля России в структуре мирового производства вина продолжит расти и к 2030 году превысит 3 %.

Одним из наиболее популярных направлений является переработка виноградных выжимок для производства различных биологически активных добавок, кондитерских изделий и напитков, богатых антиоксидантами и другими ценными веществами. В этой связи актуально проводить исследования по разработке технологии напитков брожения с повышенным содержанием биологически активных соединений из вторичного сырья винодельческого производства. Виноградные выжимки, в которых биологически активные компоненты сосредоточены в кожце и в основном находятся в связанном состоянии, подвергаются экстракционным процессам для выделения биологически-активных веществ, антоциановых концентратов или отдельных химических веществ [14-17].

В основном виноградные выжимки применяются для производства винного дистиллята, значительно реже – для получения других продуктов. Основные причины этого заключаются в ограниченном сроке хранения виноградных выжимок и их восприимчивости к микробиологической порче [18]. При этом сушка выжимок



требует дополнительных энергозатрат и производственных площадей для хранения. Выжимки винограда всех сортов содержат значительное количество полифенолов, красящих и различных биологически активных веществ [16]. Большинство этих компонентов находятся в виноградном сырье в связанных формах, что является причиной использования гидролитических процессов [19, 20].

Разработка и производство натуральных пищевых продуктов с улучшенными свойствами, безусловно, представляют собой одно из перспективных направлений в науке. Это особенно актуально для технологических процессов экстракции, применяемых к натуральному растительному сырью [21, 22].

В настоящее время одной из ключевых задач для повышения эффективности перерабатывающих отраслей является использование вторичных ресурсов. Основным фактором здесь является стремление снизить воздействие на окружающую среду и одновременно получить новые виды продукции. Эта тенденция особенно важна в отраслях, связанных с переработкой сельскохозяйственного сырья, поскольку вторичные ресурсы в данном случае имеют биологическое происхождение и могут служить исходным материалом для производства кормов и, в некоторых случаях, пищевых продуктов. В производстве винодельческой продукции основными отходами являются сладкие и ферментированные виноградные выжимки, дрожжевые и клеевые осадки, виноградные семена и другие. С учетом того, что в Российской Федерации ежегодно производится 400-500 тысяч тонн винограда, в процессе его переработки каждый винодельческий сезон образуется более 80 тысяч тонн виноградной выжимки и значительное количество дрожжевых и клеевых осадков.

Вторичные ресурсы, образующиеся в процессе промышленной переработки винограда на заводах первичного виноделия, включает в себя следующие основные категории:

- виноградные выжимки, получаемые при прессовании свежей или ферментированной мезги – от 10 до 14 кг на каждые 100 кг переработанного винограда;
- гребни, отделяющиеся от винограда в дробилках-гребнеотделителях – от 1,5 до 6,3 кг на 100 кг переработанного винограда;

- дрожжевые осадки, оседающие на дне резервуаров после брожения сусла или спиртования виноматериалов – от 2,5 до 6 дал на 100 дал виноматериала;
- винный камень, кристаллизующийся на стенках и дне резервуаров в процессе сбраживания сусла и хранения виноматериалов – от 0,5 до 2 кг на 100 дал виноматериалов;
- коньячная барда, образующаяся как кубовый остаток при перегонке коньячных виноматериалов на спирт-сырец – около 2/3 объема перегоняемого материала;
- осадки, возникающие на дне резервуаров при осветлении сусла или виноматериалов методом отстаивания – до 3 дал на 100 дал сусла или виноматериала;
- клеевые осадки, которые оседают на дно резервуаров при осветлении виноматериалов с использованием различных клеящих веществ – до 0,9 дал на 1 дал 20 %-ной водной суспензии бентонита, применяемой для оклейки;
- осадок берлинской лазури, который формируется при обработке виноматериалов желтой кровяной солью – 0,7-1,2 % от объема обрабатываемого виноматериала [23].

Существует два типа вторичного сырья: первое получается непосредственно в сезон переработки винограда при подготовке сусла, а второе – в течение всего года в процессе изготовления вина. Виноградные выжимки состоят из твердой и жидкой фаз. Твердая фаза включает 66 % кожицы винограда и 34 % семян. Нормативная влажность выжимок при отжиме на шнековых прессах составляет не более 56 %. Исследования, касающиеся методов переработки виноградных выжимок, являются актуальными и востребованными. Деревенко В.В. был предложен способ конвекционной сушки красных и белых виноградных выжимок [24, 25].

Изучена возможность применения СВЧ-аппаратов для экстракции гликозидов флавоноидов из виноградных выжимок. Результаты исследований показывают, что использование СВЧ позволяет сократить время экстракции виноградных выжимок [26].

В состав виноградных выжимок входят пираноантоцианины. В экстракте из этих выжимок были выделены и идентифицированы такие соединения, как люпелол, олеаноловая кислота, кверцетин и глюкозид ситостерола [27].

Экстракция виноградных выжимок, полученных ферментативным способом в процессе виноделия, была проанализирована с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии и тандемной масс-спектрометрии с ионизацией электрораспылением. В исследуемых образцах были обнаружены токоферол, катехин, кверцетин, процианидины В<sub>1</sub> и В<sub>2</sub>, а также следы ресвератрола, галлокатехина и антоцианидинов. Исследования показали, что антиоксидантные свойства этих веществ способствуют предотвращению образования радикал-иона О<sup>-</sup>. На основе полученных данных была отмечена эффективность использования виноградных выжимок как источника функциональных пищевых ингредиентов [28].

Виноградные выжимки можно рассматривать как перспективный источник пектиносодержащего сырья. Исследования показали, что в выжимках из винограда содержится значительное количество пищевых волокон [29], а также пектин.

Содержание пектиновых веществ в различных сортах винограда варьируется от 1,05 до 3,25 %. Менее сочные ягоды имеют более высокое содержание пектина, а при прессовании значительная часть нерастворимого пектина остается в выжимках.

Одним из продуктов, получаемых из виноградных выжимок, является спирт-сырец. Для его производства используют сладкую выжимку с содержанием сахаров не менее 7 % и сброженную или спиртованную выжимку с содержанием этилового спирта не менее 4 %. Крепость виноградного спирта-сырца может значительно варьироваться. Разработана технология получения спирта-сырца из сброженных виноградных выжимок, основанная на экстракции с использованием двуокиси углерода при докритических условиях в экстракторе с пористой перегородкой [30, 31].

Одним из натуральных источников винной кислоты является виннокислая известь, получаемая из виноградных выжимок. Винная кислота находит широкое

применение в пищевой, полиграфической, электронной и электротехнической отраслях [32].

Одной из наиболее перспективных областей переработки виноградных выжимок является производство пектинового экстракта. Л.В. Донченко [33] разработала основную технологическую схему комплексной переработки виноградных выжимок с получением как винной кислоты, так и пектинового экстракта.

Также интересное направление связано с извлечением красителей. Растительное сырье, содержащее антоцианы, служит источником красных красителей. Наиболее известным из этой группы является энораситель, получаемый из выжимок темных сортов винограда. Энораситель представляет собой интенсивно красную жидкость, состоящую из смеси соединений, включая антоцианы и катехины. Для экстракции используется 2 % раствор сернистого ангидрида или 1 % раствор химически чистой соляной кислоты [32].

Виноградные выжимки содержат более 14 % белков, 10 % жиров, а также микроэлементы, витамины и другие ценные химические соединения. Поэтому их применяют в качестве сырья для производства кормовой муки или гранулированного корма [32].

Виноградные выжимки, пройдя технологическую обработку (измельчение, пастеризацию и охлаждение), могут служить субстратом для промышленного производства мицелия и товарных грибов, таких как вешенка обыкновенная и шиитакэ. Технология выращивания съедобных грибов с применением в качестве субстрата виноградных выжимок разработана в ИВиВ «Магарач» [34].

В последнее время появились предложения по использованию экстрактов из виноградных выжимок, гребней и семян в производстве крепких вин [35, 36, 37]. После сбора и переработки винограда образуется большое количество вторичных ресурсов, среди которых около 20-30 % составляют виноградные выжимки, которые следует задействовать в дальнейшем производственном процессе. Виноградные выжимки в основном состоят из кожицы, семян, гребней и оставшейся мякоти [38, 39], и их переработка может решить, как экологические, так и экономиче-

ские вопросы, связанные с интеграцией данных отходов в технологический процесс создания новых продуктов [40-43].

Разработка комплексных технологий, направленных на конверсию растительного сырья и вторичных ресурсов, образующихся в процессе его переработки в целевые продукты, такие как напитки брожения, может увеличить экономическую эффективность пищевых производств, а также расширить их ассортимент, обеспечивая потребителей продуктами, обогащенными биологическими активными веществами [44].

Таким образом, представляет интерес разработка технологий популярных в настоящее время у населения России безалкогольных напитков с использованием вторичных ресурсов переработки винограда, содержащих значительное количество натуральных биологически активных веществ.

## **1.2 Современное состояние рынка безалкогольных напитков в России и тенденции развития рынка**

Рынок безалкогольных напитков в России является значительным сегментом продовольственного рынка и занимает важное место по объему производства. С 2017 по 2023 год наблюдается тенденция к увеличению общего среднегодового темпа роста производства безалкогольных напитков на уровне 9,0 % (рис. 2) [45]. Рекордные объемы производства были достигнуты в 2021 году, составив 21,4 миллиарда литров, что на 18,0 % больше, чем в 2020 году, и на 29,4 % выше, чем в 2017 году. В структуре производства лидирует группа безалкогольных напитков, включая сладкие газированные напитки. В 2022 году объем производства этой товарной категории составил 8,7 миллиарда литров, что на 27,6 % превышает уровень 2017 года, хотя и на 3,2 % ниже показателя 2021 года.

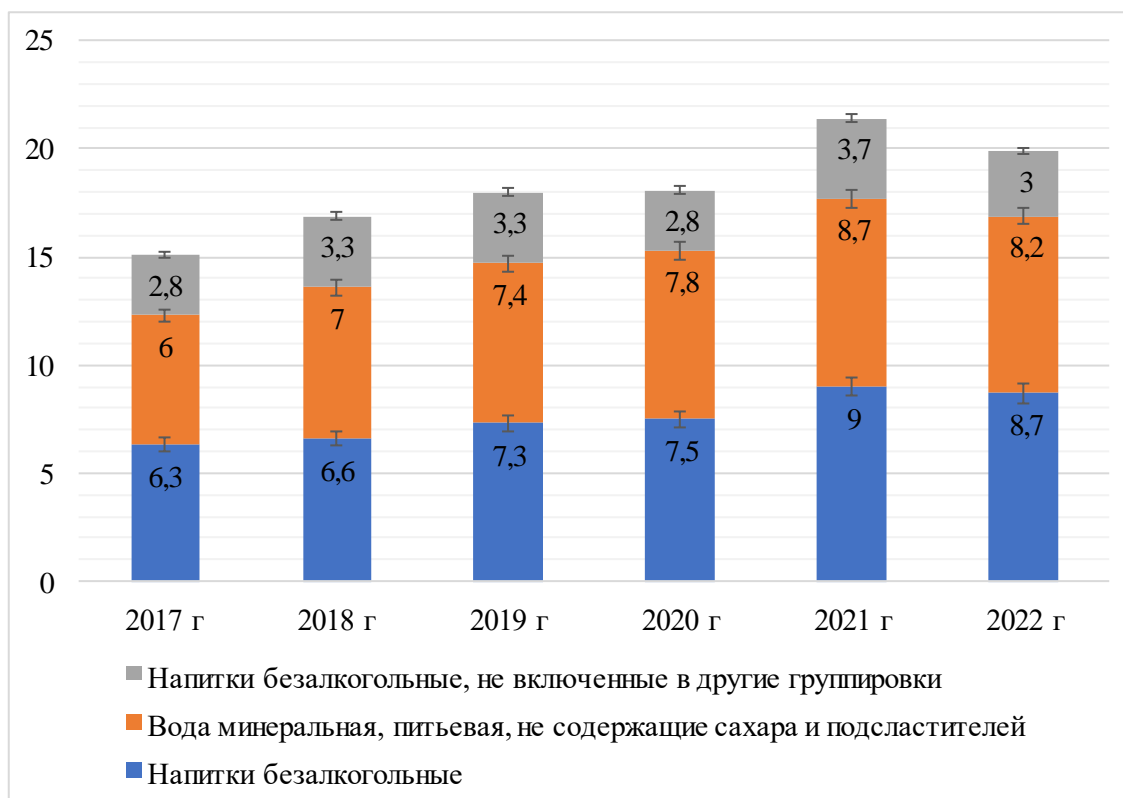


Рисунок 2 – Диаграмма производство безалкогольных напитков в России, 2017-2022 гг., млрд литров [45]

Снижение производства в 2022 году связано с уходом иностранных компаний, которые занимали значительную долю на российском рынке безалкогольных напитков.

В связи с освобождением значительного объема рынка от иностранных компаний-производителей безалкогольных напитков, Российским производителям необходимо занимать рынок товаров импортного производства собственным производством.

Ключевыми факторами, которые обуславливают необходимость импортозамещения, являются повышение темпов роста российской экономики и приведение производства товаров в соответствие с мировыми стандартами, внимание к защите и развитию отечественных производителей, а также обеспечение экономической безопасности страны.

Динамика рынка безалкогольных напитков отражает общие тенденции в этой отрасли. В 2021 году объем потребления составил 4915,7 миллиона литров,

что на 2,9 % больше, чем в 2020 году, когда он составлял 4775,9 миллиона литров, что также на 3,4 % выше уровня 2019 года. Увеличение внутреннего потребления в этот период было обусловлено ограничениями, введенными в связи с пандемией COVID-19. В 2022 году потребление сократилось на 3,2 %, составив 4758,4 миллиона литров. В структуре продаж сладких газированных напитков в России основную долю занимает розничная торговля: согласно оценкам, 95,1 % рынка составляет реализация безалкогольных напитков через розничные каналы, тогда как доля продаж в секторе общественного питания в 2017-2022 годах не превышала 6,0 %.

Также наблюдается значительный рост экспорта российских безалкогольных напитков. В 2021 году было экспортировано 305,3 миллиона литров продукции на сумму 253,1 миллиона долларов США, что на 11,8 % в натуральном выражении и 72,4 % в стоимостном превышает показатели 2020 года. Среднегодовой темп роста (CAGR) за этот период составил 24,5 % в натуральном и 41,5 % в стоимостном выражении. По сравнению с 2017 годом экспорт увеличился в 2,5 и 4 раза соответственно (рис. 3) [46].

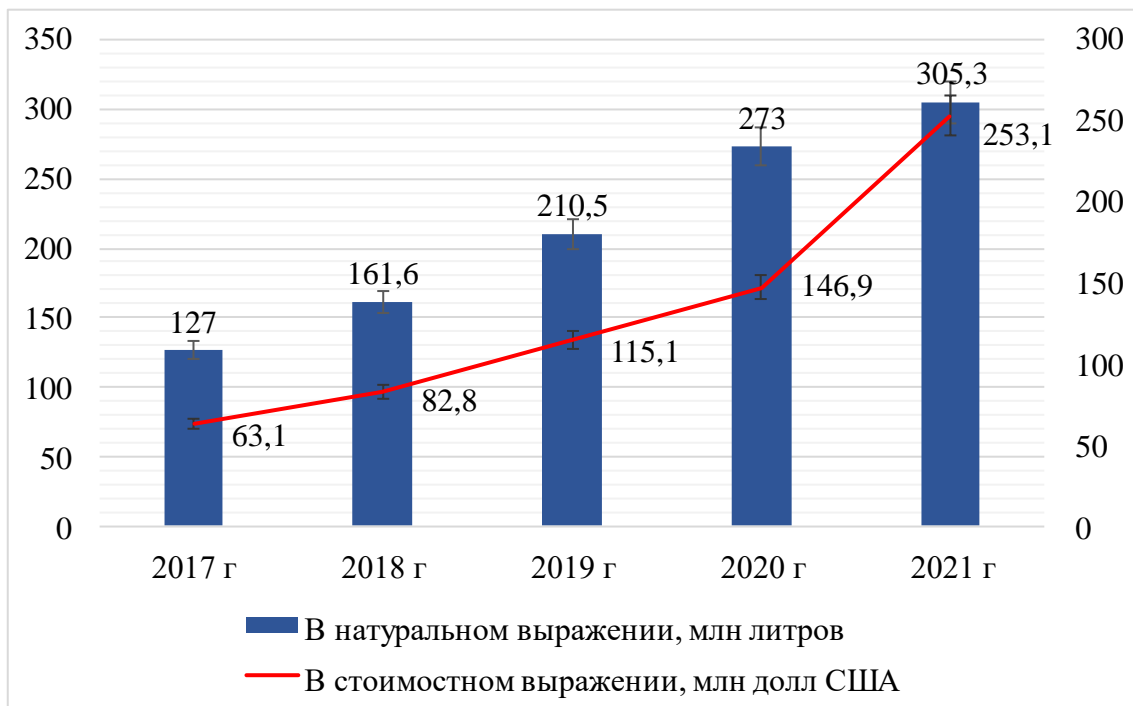


Рисунок 3 – Диаграмма экспорта безалкогольных напитков России, 2017-2021 гг. [46]

Большая часть этого типа продукции поступает на рынок Казахстана. В 2021 году экспорт составил 100,5 миллиона литров на сумму 131,0 миллиона долларов США. Таким образом, доля Казахстана в российском экспорте сладких газированных напитков составила 32,9 % в натуральном выражении и 51,8 % в стоимостном. В тройку лидеров также вошли Узбекистан и Украина, на долю которых пришлось 13,7 % и 15,1 % в натуральном выражении, а в стоимостном — 11,8 % и 7,6 % соответственно. Все страны, входящие в десятку крупнейших импортеров российских безалкогольных напитков, продемонстрировали значительный рост поставок начиная с 2017 года (рис. 4).

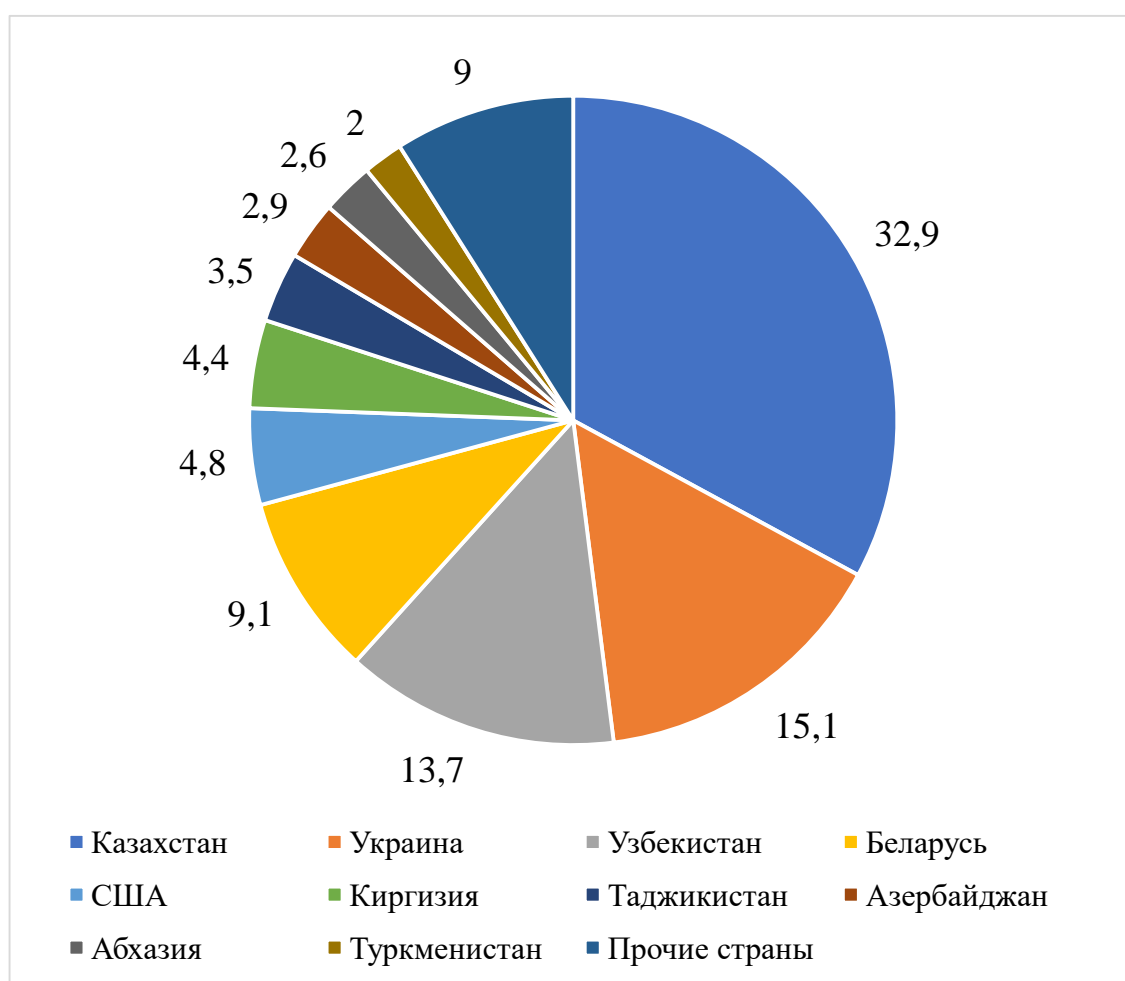


Рисунок 4 – Диаграмма доли стран в экспорте безалкогольных напитков России в натуральном выражении, 2021 г., % [46]

В последние годы российский экспорт безалкогольных напитков демонстрирует положительную динамику. По итогам 2022 года Россия экспортировала



напитки общей стоимостью 278 миллионов долларов США, в то время как в 2017 году этот показатель составлял 63,1 миллиона долларов США. Если текущие положительные тенденции сохранятся, в будущем российский экспорт сладких газированных напитков может превысить 400-450 миллионов долларов США. Основными направлениями российского экспорта безалкогольных напитков остаются страны СНГ, на которые традиционно приходится значительная доля поставок (в первую очередь, Казахстан и Узбекистан). Перспективными рынками для российских напитков также являются страны Азии, такие как Китай, Вьетнам, Камбоджа и Сингапур. Кроме того, страны Ближнего Востока (Саудовская Аравия, ОАЭ, Турция) становятся важными стратегическими направлениями для развития российского экспорта в целом и имеют высокие экспортные перспективы.

В 2022-2023 годах продажи безалкогольных напитков в России показывают умеренный рост, в среднем на 1,8-3 %. Рост объемов продаж обусловлен как увеличением потребительского спроса, так и расширением ассортимента продукции от российских производителей [46, 47].

Вместе с тем доля зарубежных товарных марок в суммарном товарообороте безалкогольных напитков в России неуклонно сокращается (в среднем на 5 % ежегодно), уступая постепенно рынку отечественных производителей. В России наибольшие объемы производства приходятся на: Приволжский ФО; Центральный ФО; Сибирский ФО. Рынок безалкогольных напитков характеризуется высоким уровнем конкуренции. При этом более 60 % потребителей предпочитают локальные бренды [48, 49]. За последние шесть лет объем инновационной продукции в России увеличился на 77 % и продолжает расти, составив 420 миллиардов рублей, что соответствует 5,1 % от общего объема реализованной продукции.

При этом, наибольшее увеличение наблюдается в производстве искусственно минерализованных вод и безалкогольных напитков, содержащих соки, морсы, настои, экстракты и ароматизаторы, а также на основе минеральной воды [48].

Темпы производства безалкогольных напитков по группам продукции в России за 2018-2022 гг. представлены на рисунке 5.

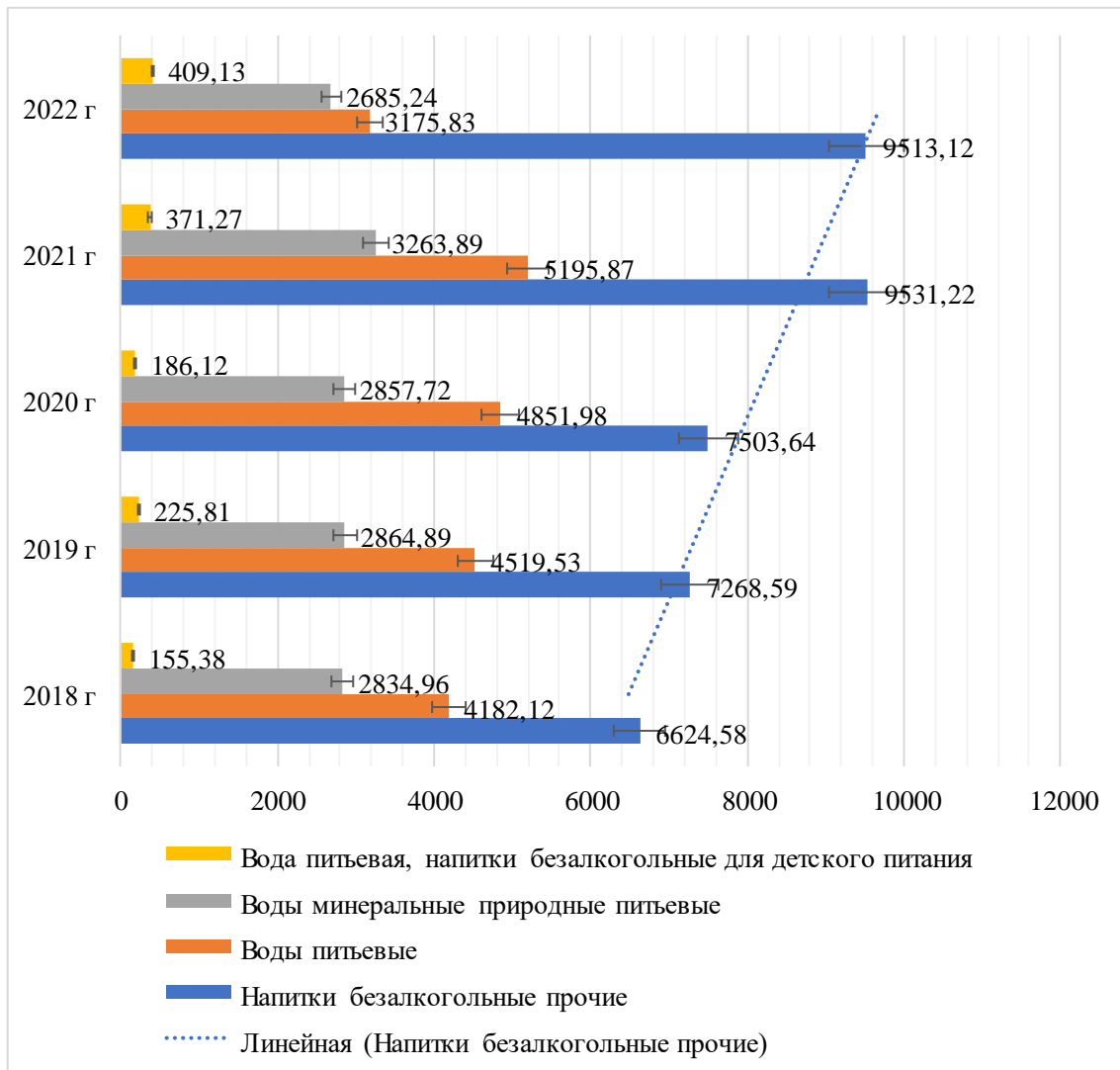


Рисунок 5 – Диаграмма производства безалкогольных напитков по группам продукции, млн л

Изучению рынка безалкогольных напитков российские ученые и специалисты стали уделять внимание еще с 2000-х годов: Д. В. Коновалов [49], А. Н. Становов [50], Д. О. Ямпольская, Ю. Н [51], Клещевский [52], и др.

Основная цель потребления безалкогольных напитков – удовлетворение потребности организма в жидкости. Различные виды этих напитков, такие как морсы, фруктово-ягодные тонизирующие напитки, нектары, сокодержащие напитки, напитки брожения и квасы, обеспечивают потребность организма в минеральных веществах, витаминах С и Р, а некоторые из них также содержат витамины группы В, полифенолы, красители и пектиновые вещества (основа которых – фруктово-ягодное сырье).

Однако концентрация сухих веществ в безалкогольных напитках невелика (от 1 до 15 %), что ограничивает их способность удовлетворять потребность в основных биологически активных веществах (БАВ).

В рационе россиян все чаще натуральные плодово-ягодные соки замещаются сокодержателями напитками, которые имеют более низкую цену и по своей биологической ценности приближаются к натуральным сокам.

Таким образом, исследование состояния рынка безалкогольных напитков и его перспектив развития становится все более актуальным, поскольку популярность данной продукции продолжает расти, особенно в летний период.

При этом нельзя утверждать, что российский рынок безалкогольных напитков близок к насыщению, так как регулярно появляются новые линейки как газированных, так и негазированных напитков, включая продукты без сахара, витаминизированные и функциональные напитки, а также напитки брожения.

В рамках этих тенденций особую важность приобретает развитие производства разнообразных безалкогольных напитков на основе экстрактов и концентратов. Это направление имеет практическое значение для разработки безалкогольных напитков с различной функциональной направленностью, что может быть полезно для коррекции питания различных групп населения, таких как дети, беременные и кормящие женщины, спортсмены и рабочие на промышленных предприятиях.

На рынке безалкогольных напитков в 2023 г. наблюдается несколько актуальных трендов, среди которых: здоровый образ жизни (ЗОЖ) (в том числе рост популярности функциональных напитков), ферментированные напитки (в том числе новые вкусовые сочетания и натуральное сырье), порционность, развитие собственных торговых марок (СТМ). В 2023 г. совокупные продажи товаров под СТМ увеличились на 33-35 %. Ожидается, что в ближайшие 2-3 года доля СТМ в оборотах крупнейших сетей составит 20-25 % [53].

Среди ключевых потребительских запросов в 2023 г. наблюдаются: поиск идеального соотношения цена-качество, брендозамещение и импортозамещение, удобство покупки (развитие онлайн-сегмента).

В рамках рассматриваемых тенденций особую актуальность представляет развитие производства различных натуральных безалкогольных напитков на основе экстрактов и концентратов.

В настоящее время производители безалкогольных напитков уделяют большое внимание овощебахчевым, пряно-вкусовым, зерновым, кормовым, техническим фруктовым и ягодным культурам – как источнику биологически-активных веществ.

На основе изучения современного состояния рынка безалкогольных напитков в России и тенденций его развития можно сделать вывод о стабильном росте, и потребности в расширении ассортимента продукции обогащенной биологически активными веществами.

### **1.3 Современные научно-технические исследования и разработки по изучаемой проблеме**

В настоящее время растет интерес к напиткам брожения и ферментированным продуктам в целом. Ферментированные продукты помогают снизить риск или тяжесть заболеваний, связанных с малоподвижным образом жизни и рационом, богатым углеводами, насыщенными жирами и животными белками [54-57].

Известна технология производства ферментированного напитка на основе подсырной сыворотки, ферментированной ржаной мукой в течение 12 ч, с лимонным соком и имбирем [58].

Известен способ приготовления медового напитка функциональной направленности с высокими органолептическими характеристиками. Напиток включает водный раствор цветочного меда и содержит комплекс биологически активных веществ пчелиной перги, пчелиного прополиса и цветочной пчелиной пыльцы (обножки). При этом процесс брожения цветочная пчелиная пыльца запускает при

помещении полученного напитка в темное помещение с температурой 20-30 °С [59].

Разработаны рецептуры напитка на основе брожения чайного гриба, с внесением сине-зеленой водоросли спирулины *Spirulina platensis* в виде водного экстракта. Параметры процесса брожения напитка позволяют рекомендовать его для введения в рацион в качестве источника белка и потенциального источника водорастворимых витаминов [60].

Разработана технология функционального напитка на комбинированной закваске дрожжей и молочнокислых бактерий с питательной средой на основе зеленого чая, ячменного солодового сусле и аминокислотно-витаминным активатором [61].

Известен способ приготовления напитка на молочной сыворотке и водном экстракте амаранта *Amaranthus paniculatus* L, с хлебопекарными дрожжами *Saccharomyces cerevisiae* в качестве закваски. Полученный напиток обладает высокими вкусовыми качествами и биологической ценностью [62].

Известны исследования Обрезковой М.В. по разработке рецептуры кваса натурального брожения повышенной пищевой ценности на основе концентрата свекольного сока. Авторами показано, что использование в рецептуре 10 % свекольного концентрата и применением в составе комбинированной закваски хлебопекарных дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* и винных дрожжей *Saccharomyces oviformis* позволяет интенсифицировать процесс брожения и получить напиток, обладающий ярким и нестандартным для кваса цветом и слаженным вкусом [63].

М.Н. Колесниченко, Е.С. Дикаловой, М.А. Скачковой и другими авторами предложена технология безалкогольного напитка на основе ферментированного сока рябины черноплодной, сахара, воды питьевой, сока лимона, лимонной кислоты и винных дрожжей. Полученный напиток с высоким качеством и потребительскими свойствами может быть рекомендован для производства функциональных безалкогольных напитков [64].

Сапарбековой А.А. разработана технологическая схема приготовления ферментированного напитка на основе соков из арбуза и граната. Анализ содержания

аминокислот показал общее повышение с 3,25 до 5,74% в ферментированном напитке в сравнении с соком на основе арбуза и граната [65].

А.А. Сапарбековой, А.А. Омирзак, А.И. Ли, А.С. Латиф разработана технологическая схема производства ферментированного напитка на основе яблочного сока и поликультуры *Oryzomyces indicii*. Исследования авторов показали, что использование яблочного сока в качестве основы для субстрата при культивировании *Oryzomyces indicii* способствует сокращению процесса ферментации на 1-2 дня. При этом кислотность готового напитка возрастает до 7,4 г/л, что придает ему освежающий вкус [66].

Известны исследования Г.А. Ермолаевой, Н.С. Скоморохова и К.О. Кольцовой по разработке рецептур медовых напитков брожения с использованием нетрадиционного для национальных напитков субтропического сырья, обладающего антиоксидантными свойствами (маракуйя, ананас, лайм, киви). Авторами установлено, что наиболее высокая антиоксидантная активность отмечена у напитка с киви, рН всех напитков с субтропическим сырьем составлял 2,7-2,9 (в контроле 3,1). Исследование влияния разновидности дрожжей на скорость сбраживания медового суслу показало, что наиболее гармоничные органолептические свойства у напитка, суслу для которого было сброжено дрожжами для медовухи, а более высокая скорость сбраживания – при использовании дрожжей для эля. Внесение субтропического плодового сырья ускоряло процесс брожения напитка на 24 часа. В напитках отмечено высокое содержание витаминов В<sub>5</sub> (1,11 мг/100 г), РР (0,43) и С (0,18 мг/100 г) [67].

Существует способ производства безалкогольных напитков из сублимированного плодово-ягодного сырья, которые характеризуются натуральным вкусом и ароматом [68].

Известны исследования Коростылевой Л.А. и Парфеновой Т.В. по разработке рецептур купажных сиропов (на 100 дм<sup>3</sup>) для напитков на основе настоев выжимки облепихи, брусники, моркови и кожуры мандарина. Анализ химического состава напитков в исследованиях показал, что массовая доля сахаров в напитках находилась в диапазоне 8-9,35 %, что соответствовало потребительским предпо-

чтениям в отношении безалкогольных напитков большинства категорий населения [69].

Известен способ производства безалкогольного напитка, характеризующийся тем, что предусматривает получение полуфабриката с кислотностью 4,8-5,9 единиц рН, с массовой долей сухих веществ 66-68 %, при этом в качестве основы полуфабриката используют биологически ценные экстракты из выжимки белых сортов винограда и папоротника Орляка [70].

Авторы Е.Ю. Егорова и Ю.В. Мороженко предложили использовать жидкий экстракт, полученный из «сладких» виноградных выжимок, в технологии производства квасов. Экстракт добавляли на этапе приготовления основного сусла и после брожения (в процессе купаживания готового кваса). Исследования показали, что добавление экстракта в квасное сусло способствует более глубокому сбраживанию сухих веществ, увеличивает содержание полифенолов в конечном напитке и улучшает его коллоидную стабильность [71].

Существуют исследования Gamboa-Gomez C.I., Lobo R.O., Sknepnek A. и других авторов, посвященные технологии ферментации сахарозы, чайных листьев, а также другого сырья, включая злаки, листья растений, фруктовые выжимки, соки и кокосовую воду, а также продукты животного происхождения, такие как молоко и сыворотка [72-74].

Процесс ферментации осуществляется особым консорциумом дрожжей и бактерий, известным как SCOBY (симбиотическая культура бактерий и дрожжей) [75, 76].

Дрожжи в этом консорциуме сбраживают сахара с образованием этанола, в то время как бактерии преобразуют спирт в кислоты. Уксусные бактерии в данном консорциуме остаются на поверхности, используя продукты метаболизма дрожжей *Saccharomyces*, которые находятся на дне пленки и ведут анаэробное брожение.

Микробиологический состав консорциума может изменяться в зависимости от таких факторов, как климат, географическое положение и среда, в которой происходит ферментация [77, 78].

Наиболее многочисленные и активно размножающиеся бактерии в данной симбиотической культуре относятся к родам *Acetobacter* и *Gluconobacter* [79].

Среди уксусных бактерий, входящих в консорциум, особое внимание стоит уделить *Acetobacter xylinum*, поскольку именно он синтезирует целлюлозу, из которой состоит SCOBY [79, 80]. Деятельность *A. xylinum* начинается с окисления глюкозы до глюконовой кислоты. В результате другого специфического метаболического процесса происходит микробный синтез целлюлозы, создающей биопленку, которая оседает на поверхности жидкости. Этот процесс включает синтез уридиндифосфат-глюкозы (UDPGlc), предшествующего целлюлозе, что позволяет каждой клетке *Acetobacter* полимеризовать до 200000 остатков глюкозы в секунду, образуя цепи  $\beta$ -1,4-глюкана. Преимуществом данной формы производства целлюлозы является то, что бактерии размножаются в контролируемых условиях и способны производить целлюлозу из различных углеродных источников, таких как глюкоза, этанол, сахароза и глицерин [76].

Несколько исследовательских работ указывают на большое разнообразие видов дрожжей, выделенных из чайного гриба, включая роды *Brettanomyces / Dekkera*, *Candida*, *Koleckera*, *Mycotorula*, *Mycoderma*, *Pichia*, *Saccharomyces*, *Schizosaccharomyces*, *Torulospora* и *Zygosaccharomyces*. О дрожжах рода *Saccharomyces* также сообщалось в нескольких исследованиях, включая *S. cerevisiae*, *S. bisporus*. В роду *Sacchromyces* были обнаружены *Sacchromyces ludwigii* и *Sacchromyces pombe*, тогда как для рода *Zygosaccharomyces* были обнаружены *Zygosaccharomyces rouxii*, *Zygosaccharomyces bailii* и *Zygosaccharomyces kombuchaensis sp.* [76-78].

Органические остатки, применяемые в процессе ферментации, способствуют снижению pH субстрата, что, в свою очередь, приводит к дефициту кислорода из-за увеличения кислотности. Это подавляет рост патогенных бактерий, обеспечивая безопасность конечного продукта [81, 82].

В процессе ферментации формируется коктейль из различных химических компонентов, включая сахара, полифенолы, органические кислоты, волокна целлюлозы, аминокислоты, такие как лизин, основные микроэлементы (Cu, Fe, Mn,



Ni и Zn), водорастворимые витамины, такие как витамин С и некоторые витамины группы В, углекислый газ, антибиотики и гидролитические ферменты.

Ayed и Hamdi использовали сок кактусовой груши в качестве субстрата для получения свежего напитка с улучшенными питательными свойствами [83].

Перспективы биотехнологической переработки плодово-ягодного сырья, в том числе для экологически безопасного и недорогого производства бактериальной целлюлозы, достаточно высоки [84-88].

Из пленки SCOBY, образующейся после ферментации, получают продукты с различными характеристиками. Например, Malbaša и его коллеги создавали напитки, подобные йогурту, путем ферментации полужирного молока с использованием симбиотической культуры бактерий и дрожжей, включая черный и зеленый чай, а также экстракт топинамбура [89].

Наличие органических кислот, полифенолов и других биомолекул, возникающих в результате ферментации, наряду с пробиотическими микроорганизмами, активно участвующими в этом процессе, способствует возникновению функциональных свойств продукта [90].

Многочисленные исследования также показывают, что можно разнообразить рецептуры, используя экзотические субстраты, такие как виноградный сок, молоко, кокосовую воду и различные выжимки, которые можно ферментировать с помощью симбиотической культуры бактерий и дрожжей, что ведет к созданию инновационных функциональных напитков.

В результате проведенного анализа выявлена проблема: при потребности населения в безалкогольных напитках, обогащенных биологически активными веществами, и наличии значительного количества вторичных ресурсов (виноградных выжимок) в производственных масштабах отсутствуют научные исследования в сфере разработок технологии их производства с применением процессов ферментации.

## 1.4 Выводы, цель работы и задачи исследований

На основании изучения тенденций и перспектив развития рынка безалкогольных напитков в России и проведенного обзора научно-технических источников установлено что актуальными являются работы по исследованию ферментации различных растительных субстратов с использованием микробиологических композиций и консорциумов микроорганизмов.

Существуют исследования, посвященные процессу ферментации с использованием вторичных сырьевых ресурсов, таких как виноградные выжимки, папоротники, выжимки облепихи, брусники, моркови и кожуры мандаринов, а также сублимированного плодово-ягодного сырья, арбузного и гранатового соков, свекольного сока и других растительных материалов.

В то же время существуют **проблемы** в отрасли производства безалкогольных напитков:

- существующие исследования не объединяют использование вторичных сырьевых ресурсов и технологию ферментации;
- большинство настоев и концентратов, используемых в технологии производства безалкогольных напитков, готовятся с использованием CO<sub>2</sub> или водно-спиртовой экстракции;
- в настоящее время в России практически не проводятся исследования, направленные на разработку технологий производства безалкогольных напитков на основе брожения с использованием консорциумов бактерий и дрожжей, а также вторичных ресурсов переработки винограда, таких как виноградные выжимки.

Одной из ключевых характеристик вторичных отходов, образующихся при переработке плодово-ягодного сырья, является их высокая биологическая ценность. Включение этих отходов в технологический процесс может повысить эффективность основного производства и способствовать созданию новых продуктов. Разработка ферментированных продуктов на базе биотехнологических процессов комплексной переработки плодово-ягодного сырья и вторичных ресурсов с

использованием симбиотических сочетаний бактерий и дрожжей, приводит к образованию в них органических кислот, водорастворимых витаминов и микроэлементов, что поможет обеспечить население безопасным и полноценным питанием.

Эта задача актуальна и соответствует основным направлениям научных исследований, изложенным в Доктрине продовольственной безопасности Российской Федерации, Стратегии развития пищевой и перерабатывающей промышленности Российской Федерации, а также в Прогнозе научно-технологического развития России до 2030 года [91].

Проведённый аналитический обзор литературы, позволил сформулировать **гипотезу**: одним из способов производства продуктов, обогащенных комплексом биологически активных веществ, может быть разработка технологии получения безалкогольного напитка на основе экстракта виноградных выжимок, ферментированного с участием микроорганизмов, обладающих свойствами симбиотических комплексов.

**Цель исследования** – разработка технологии получения безалкогольного напитка, обогащенного биологически активными веществами, на основе экстракта виноградных выжимок и симбиотического консорциума дрожжей и бактерий.

**Задачи исследований:**

- выделить и классифицировать штаммы дрожжей *Zygosaccharomyces kombuchaensis* и бактерий *Gluconacetobacter xylinus*, перспективные для получения симбиотического консорциума, обосновать параметры их культивирования и стабилизации;

- разработать математические модели взаимосвязи технологических режимов экстракции сушеных виноградных выжимок и физико-химических показателей экстрактов; технологических режимов ферментации экстрактов виноградных выжимок с применением симбиотического консорциума и показателей качества готового продукта;

- разработать рецептуру и технологию производства безалкогольного напитка на основе экстракта виноградных выжимок и симбиотического консорциума и оценить потребительские свойства готового продукта;

- обосновать структурно-функциональные схемы производства безалкогольного напитка, провести опытную апробацию разработанных технологических и технических решений, оценить экономическую эффективность реализации разработанных технологических решений.

## 2. ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

### 2.1 Объекты исследований

1. Чистые культуры дрожжей и бактерий, составляющие симбиотическую культуру SCOBY в природной среде, выделенные в лаборатории в ходе проведения экспериментальных исследований:

- дрожжи *Zygosaccharomyces kombuchaensis*;
- бактерии *Gluconacetobacter xylinus*.

2. Симбиотический консорциум дрожжей *Zygosaccharomyces kombuchaensis* и бактерий *Gluconacetobacter xylinus* в соотношении концентрации клеток 1:1, полученный в лаборатории в ходе проведения экспериментальных исследований.

3. Несброженные выжимки из сортосмеси белых сортов винограда, (Ркацители, Рислинг рейнский, Алиготе, Пино Блан, Шардоне, Совиньон блан), собранных в 2020-2021 г. в Черноморской агроэкологической зоне виноградарства и Анапской опытной станции, полученные после отделения сока (сусла) при переработке винограда с отделением гребней;

4. Выжимки выжимок виноградные сушеные сладкие, из сортосмеси белых сортов винограда, изготовленные в соответствии с по ТУ 10.89.19 – 074 – 17021101 – 2022.

5. Экстракты выжимок виноградных сушеных сладких: раствор в соотношении 1:6 (100 г сухой виноградной выжимки к 600 мл дистиллированной воды).

6. Полуфабрикаты напитков на основе экстракта виноградных выжимок и консорциума дрожжей и бактерий SCOBY.

7. Напиток, упакованный в стеклянные бутылки типа X, XI по ГОСТ 32131-2021 [92].

## 2.2 Методы исследований

Для достижения цели и задач исследования были подобраны стандартные и модифицированные методики исследования чистых культур и консорциума дрожжей и бактерий; несброженных выжимок из сортосмеси белых сортов винограда; экстрактов из выжимок, виноградных сушеных сладких, полуфабрикатов напитков брожения; образцов безалкогольных напитков брожения.

Стандартные методики исследований, применявшиеся в работе:

1. Для проведения основных испытаний с микроорганизмами на всех этапах исследований использовались стандартные методики: ГОСТ ISO 7218-2015, ГОСТ 31904-2012, ГОСТ 10444.12-2013, ГОСТ 10444.15-94, ГОСТ 26669-85, ГОСТ 26670-91 [93-98].

2. В полуфабрикатах и готовых образцах безалкогольных напитков брожения определяли патогенные бактерии, в т.ч. сальмонеллы – по ГОСТ 31659-2012 [99], бактерии группы чешечных палочек – по ГОСТ 31747-2012 [100], производили подсчет пробиотических микроорганизмов – по ГОСТ 56139-2014 [101].

3. На всех этапах работы с несброженными выжимками, экстрактами из сухих выжимок, полуфабрикатами напитков и готовыми образцами напитков брожения определяли:

- кислотность – по ГОСТ 6687.4-86 [102];
- массу сухих веществ – рефрактометрическим методом по ГОСТ ISO 2173-2013 [103], ГОСТ 6687.2-90 [104];
- содержание полифенольных веществ – колориметрическим методом с использованием реактива Фолина-Чокальтеу;
- содержание витамина С – йодометрическим методом;
- содержание витамина В<sub>2</sub> – по ГОСТ EN 14152-2013 [105], ГОСТ 32042-2012 [106];

- содержание кислот (уксусная, винная, янтарная, и т.д.) – с использованием Методического и аналитического обеспечения исследований по садоводству / СКЗНИИСиВ; редкол: Е.А. Егоров [и др.] [107].

4. В полуфабрикатах и готовых образцах напитков брожения определяли:

- содержание пищевых волокон – ферментативно-гравиметрическим методом;

- органолептические показатели (цвет, вкус, запах и т.д.) – по ГОСТ 6687.5-86 [108];

- массовую долю этилового спирта – по ГОСТ 6687.7-88 [109];

- содержание витамина В<sub>1</sub> – по ГОСТ 32042-2012 [110];

- содержание витамина В<sub>6</sub> – по ГОСТ EN 14164-2014 [111];

- содержание железа – по ГОСТ 26928-86 [112];

- содержание свинца, мышьяка, кадмия, ртути – по ГОСТ 30538-97 [113], ГОСТ 26927-86 [114], ГОСТ 26929-94 [115].

Определение токсичных элементов производили с помощью сторонней организации – Филиал ФГБУ «Россельхозцентр» по Краснодарскому краю.

Специальные методики исследований, применявшиеся в работе, описаны далее поэтапно.

#### **Выделение и идентификация микроорганизмов.**

Для идентификации выделенных дрожжей и бактерий по физиологическим признакам, использовались следующие методики:

1) Для дрожжей:

1. Способность дрожжей к ферментации определенных сахаров оценивалась с помощью метода трубок Дунбара.

Для этого сахарозу, глюкозу и фруктозу растворяли в дрожжевом автолизате в соотношении 1:10. Затем полученные растворы распределяли по трубкам Дунбара и автоклавировали в течение 15 минут при температуре 112 °С. Перед засевом, осторожно наклоняя трубку, удаляли пузырьки воздуха. Посев производили 0,1-0,2 см<sup>3</sup> суспензией клеток исследуемых дрожжей на жидкой среде Сабу-

ро. Исследуемые образцы устанавливали в термостат при  $t = +(30 \pm 1)^\circ\text{C}$  на 1-2 суток.

О способности к сбраживанию определенного сахара свидетельствовало образование газа в закрытом колене трубки [116].

2. Для изучения процесса спиртового брожения готовили суспензию дрожжей. Для этого в колбу на  $250\text{ см}^3$  вносили  $20\text{ см}^3$  10 % раствора сахарозы и 2 мл суспензии дрожжей ( $10^8$  КОЕ/г). Колбу закрывали ватно-марлевой пробкой и выдерживали 1 час в термостате при  $t = +(30 \pm 1)^\circ\text{C}$ . Далее к  $10\text{ см}^3$  исследуемой суспензии в пробирку добавляли 1-2 мл раствора 10 % щелочи и подогревали на спиртовке, не доводя до кипения. После этого в пробирку вносили несколько кристалликов йода и снова нагревали над пламенем горелки. В присутствии спирта выпадал желтый осадок с характерным запахом [117].

3. Рост при  $t = +(35 \pm 1)^\circ\text{C}$  фиксировался при термостатировании суспензии дрожжей с изначальной концентрацией  $10^2$  КОЕ/г на жидкой среде Сабуро с добавлением пептона. Наличие роста клеток соответствовало помутнению пробирки со средой через 24 часа.

4. Проверка отсутствия роста клеток на среде с содержанием консерванта осуществлялась при помощи выращивания суспензии дрожжей в концентрации  $10^8$  КОЕ/г на жидкой среде Сабуро с добавлением 0,1 % сорбиновой кислоты. Дополнительно проводился контроль отсутствия роста с помощью методов микроскопирования с помощью микроскопа Axioimager Z2.

2) Для бактерий:

1. Подтверждение наличия целлюлозной массы производили после 42 часов выращивания суспензии бактериальных клеток с изначальной концентрацией  $10^8$  КОЕ/г, при температуре  $+(30 \pm 1)^\circ\text{C}$  на стандартной жидкой среде мясопептонный бульон (МПБ). Наличие/отсутствие образования целлюлозной массы оценивалось визуально и с помощью микроскопа Axioimager Z2.

Для изучения морфологических характеристик были подготовлены фиксированные микроскопические препараты, окрашенные метиленовым синим. Мазки наносили на заранее обезжиренные и высушенные предметные стекла. После это-



го препараты сушили на воздухе, фиксировали над пламенем спиртовки и окрашивали красителем в течение 1-2 минут. Затем излишки красителя смывали водой и оставляли препараты сушиться на воздухе. Микроскопирование препаратов осуществляли с помощью микроскопа Axioimager Z2.

2. Контроль отсутствия коричневого пигмента производили стандартными микробиологическими методами, культивируя суспензию бактерий (1 мл, концентрация клеток  $10^{-1}$  КОЕ/г) на чашке Петри с агаром на основе пептона с глюкозой и дрожжевым экстрактом.

3. Для исследования процесса уксуснокислого брожения была приготовлена суспензия бактерий.

В колбу объемом  $250 \text{ см}^3$  добавили  $20 \text{ см}^3$  10 % раствора сахарозы и 2 мл суспензии бактерий с концентрацией  $10^8$  КОЕ/г. Колбу закрывали ватно-марлевой пробкой и выдерживали 1 час в термостате при  $t = +(30 \pm 1) \text{ }^\circ\text{C}$ . В пробирку к 2-3 мл исследуемой суспензии вносили кристаллик  $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$  и добавляли 2-3 капли конц.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ . Смесь нагревали над пламенем спиртовки. Вследствие восстановления хрома, происходило изменение цвета с оранжевого на зеленый. Выделяющийся уксусный альдегид ощутим по запаху [117].

4. Для изучения жизнедеятельности бактерий и их устойчивости к накоплению уксусной кислоты была подготовлена суспензия бактерий. Исходным материалом для посева служила культура, выращенная на агаризованной среде со следующим составом, г/л: глюкоза – 10,0; дрожжевой экстракт – 10,0; пептон – 7,0; агар – 15,0; лимонная кислота – 0,2; уксусная кислота – 0,1. Значение pH составляло 5,0-6,0. Процесс стерилизации проводился при температуре  $121 \text{ }^\circ\text{C}$  в течение 15 минут.

Для проверки наличия роста клеток при концентрации уксусной кислоты в среде, равной 0,35 %, готовили агаризованную среду следующего состава: глюкоза – 10,0; дрожжевой экстракт – 10,0; пептон – 7,0; агар – 15,0; лимонная кислота – 0,2; уксусная кислота – 0,35; этанол – 10. Режим стерилизации:  $121 \text{ }^\circ\text{C}$  в течение 15 мин без этанола.

С помощью серии разведений добивались концентрации посевного материала из скошенной агаризованной среды в количестве  $10^8$  КОЕ/г и производили глубинный посев в чашки Петри на испытательную среду с повышенной концентрацией уксусной кислоты. Далее инкубировали бактерии при  $t = +(30 \pm 1) ^\circ\text{C}$  в течение 24 часов и производили подсчет выросших колоний.

Положительным результатом служило количество колоний на чашке не менее, чем 100 штук.

### **Получение симбиотического консорциума.**

1. Оценка устойчивости микроорганизмов к высоким и низким значениям pH проводилась по стандартной методике с модификацией [93-98]. Культуры, предварительно выращенные до стационарной фазы роста, центрифугировались (5000 об/мин, 10 минут,  $25 ^\circ\text{C}$ ) для осаждения, затем ресуспендировались в жидкой питательной среде с конечной концентрацией клеток  $10^8$  КОЕ/мл. После этого клетки снова осаждали центрифугированием (5000 об/мин, 10 минут,  $25 ^\circ\text{C}$ ) и ресуспендировали в мясopептонном бульоне с pH 3,5, 6,5 и 9,5. Кислотность стандартной среды (ГРМ-агар) доводили до необходимой 0,1М HCl и 0,1М NaOH. Анализ роста исследуемых микроорганизмов проводился при температуре  $+(27 \pm 1) ^\circ\text{C}$ .

2. Для определения температуры оптимального роста исследуемых микроорганизмов их выращивали на чашках Петри на среде ГРМ-агар для бактерий, и среде Сабуро для дрожжей. Анализ роста исследуемых микроорганизмов проводился при температурных режимах:  $+(10 \pm 1) ^\circ\text{C}$ ,  $+(15 \pm 1) ^\circ\text{C}$ ,  $+(20 \pm 1) ^\circ\text{C}$ ,  $+(25 \pm 1) ^\circ\text{C}$ ,  $+(30 \pm 1) ^\circ\text{C}$ ,  $+(35 \pm 1) ^\circ\text{C}$  и  $+(40 \pm 1) ^\circ\text{C}$ ,  $+(45 \pm 1) ^\circ\text{C}$ ,  $+(50 \pm 1) ^\circ\text{C}$ ,  $+(55 \pm 1) ^\circ\text{C}$ . Первый контроль роста проводили через 2 суток, второй – через следующие 4 суток.

3. Оценку устойчивости микроорганизмов к различным концентрациям редуцирующих веществ проводили по стандартной методике с модификацией. Предварительно выращенные до стационарной фазы роста культуры осаждали центрифугированием (5000 об/мин, 10 минут,  $25 ^\circ\text{C}$ ), затем ресуспендировали в жидкой питательной среде с получением конечной концентрации клеток  $10^8$  КОЕ/мл. Затем повторно осаждали клетки центрифугированием (5000 об/мин, 10

минут, 25 °С) и ресуспендировали в жидкой питательной среде (мясопептонный бульон) с концентрацией редуцирующих веществ (глюкоза и фруктоза в соотношении 1:1) 10 %, 20 %, 30 % [93-98].

Пробы отбирали с момента внесения культуры в среду, затем через 6, 12, 24 часа. Для определения числа клеток в среде использовали метод посева на плотные питательные среды (метод Коха).

4. Исследования биосовместимости культур *in vitro* осуществляли методом агаровых блоков. Суспензию с культурой вносили в стандартную расплавленную и охлажденную до +40 °С питательную среду и полученную смесь разливали в чашки Петри. После застывания среды на ее поверхность помещали агаровые блоки, вырезанные стерильным пробочным сверлом из газона другого исследуемого микроорганизма.

Газон выращивали предварительно. Агаровые блоки размещали ростом (газоном) вверх, плотно прижимая к агаровой пластинке. Чашки инкубировали в условиях, оптимальных для основной культуры и по окончании 2 суток контролировали зоны роста.

5. Для изучения выживаемости на различных средах выделенные и отобранные микроорганизмы культивировались на следующих вариантах жидких сред:

- среда Сабуро;
- МПБ (мясопептонный бульон);
- сусло жидкое;
- экстракт виноградной выжимки с добавлением 5 % глюкозы и 5 % фруктозы.

Культивировались чистые культуры *Zygosaccharomyces kombuchaensis* и *Gluconacetobacter xylinus* и их консорциум в соотношении 1:1. Исходная концентрация составляла  $10^2$  КОЕ/мл. Образцы культивировались в течение 2 суток в термостате при температуре  $+(26\pm 1)$  °С.

6. Для исследования влияния температуры на скорость роста консорциума бактерий и дрожжей выбраны температуры:  $+(15\pm 1)$  °С;  $+(25\pm 1)$  °С;  $+(35\pm 1)$  °С;

$+(45\pm 1)$  °С. Начальная концентрация клеток консорциума задавалась в количестве  $10^2$  КОЕ/г.

Маркером окончания культивирования служило достижение среды рН 3,5, так как последующее культивирование и снижение кислотности способствует угнетению развития исследуемых культур. Измерения проводились через 24, 36, 48, 72, 96, 108 и 120 ч.

### **Подбор рациональных параметров экстрагирования и ферментации.**

Чтобы установить, как параметры экстрагирования влияют на физико-химические показатели экстрактов, готовили экстракт из выжимок, виноградных сушеных сладких (ТУ 10.89.19–074–17021101–2022) и воды в соотношении 1:6 и производили экстракцию при разных температурах.

Для подтверждения достоверности результатов были использованы статистические методы, а именно метод аппроксимации функции нескольких независимых переменных (множественная регрессия).

1. Исследовали влияние температуры и времени культивирования на скорость размножения бактерий *Gluconacetobacter xylinus* и дрожжей *Zygosaccharomyces kombuchaensis* и, соответственно, рН среды при выращивании на экстракте виноградных выжимок. Устанавливался уровень рН 6,5 (с использованием 0,1 М НСl и 0,1 М NaOH). Начальная концентрация клеток составляла  $10^2$  КОЕ/г. Маркером завершения культивирования служило достижение рН среды 3,5. Измерения проводились через 24, 36, 48, 72, 96, 108 и 120 ч. Для исследования влияния температуры на скорость роста консорциума бактерий и дрожжей были выбраны температуры:  $+(15\pm 1)$  °С;  $+(25\pm 1)$  °С;  $+(35\pm 1)$  °С;  $+(45\pm 1)$  °С.

2. Для исследования скорости сбраживания субстрата в зависимости от концентрации экстракта были подготовлены три варианта экстракта виноградных выжимок в соотношениях выжимки/вода, равных 1:3, 1:6 и 1:9.

В полученный отфильтрованный экстракт добавляли 5 % глюкозы и 5 % фруктозы и доводили кислотность до 6,5 помощью 0,1М НСl и 0,1М NaOH.

Исследуемые микроорганизмы в составе консорциума в соотношении 1:1 и концентрации  $10^8$  КОЕ/г добавляли в исследуемые варианты экстрактов и выра-

щивали при ранее определенной наиболее оптимальной температуре  $+(25\pm 1)$  °С в течение 24, 36, 48, 72, 96, 108 и 120 часов. По истечении заданного времени культивирования определяли кислотность среды.

3. Для подбора содержания редуцирующих веществ в экстракте были подготовлены три варианта экстракта виноградных выжимок с соотношением выжимки и воды 1:6, при этом добавляли различное количество редуцирующих веществ в виде смеси глюкозы и фруктозы в равных количествах (в пределах от 10 до 30 % от общего объема сброживаемого экстракта). Кислотность полученного экстракта регулировалась до 6,5 с помощью 0,1М HCl и 0,1М NaOH.

Исследуемые микроорганизмы, входящие в состав консорциума в соотношении 1:1 и с концентрацией  $10^8$  КОЕ/г, добавляли в исследуемые экстракты и выращивали при оптимальной температуре  $+(25\pm 1)$  °С в течение времени, варьирующего от 24 до 120 часов.

После завершения, заданного периода культивирования измерялась кислотность среды, а маркером завершения процесса служило достижение рН 3,5.

4. Для определения оптимального количества вносимого консорциума бактерий и дрожжей, в экстракт вносили исследуемый консорциум с произведенной бактериальной целлюлозой в различном процентном соотношении от объема экстракта, варьирующимся в диапазоне от 5 до 15 % и культивировали при ранее определенной температуре  $+(25\pm 1)$  °С в течение количества часов, изменяющегося от 24 до 120. Маркером окончания культивирования служило достижение средней рН 3,5.

Все исследования проводились в трехкратной повторности; отклонение между параллельными определениями допускалось не более 5 %.

Для математической обработки экспериментальных данных использовались программы Microsoft Excel и Statistica, в частности, инструменты «3М XYZ Графики» и «Множественная регрессия».

Для проведения исследований использовали сырье, соответствующее нормативным документам: вода питьевая (СанПин 2.1.3684-21); выжимки виноградные (ТУ 10.89.19-074-17021101-2022); сахар белый (ГОСТ 33222-2015).

Расчет пищевой ценности напитка проводили в соответствии с ТР ТС 022/2011 п. 4.9 [118].

### **Обоснование выбора упаковочных материалов.**

Метод исследования – анкетирование. Опрошено 120 потребителей безалкогольных напитков в возрастной группе от 18 до 64 лет. Респондентам задавали вопросы о предпочтительных напитках и их упаковке. Используемая анкета представлена в Приложении А.

Для оценки органолептических показателей полученного напитка, на базе института КНИИХП – филиала ФГБНУ СКФНЦСВВ была создана комиссия из независимых экспертов, которая оценивала органолептические показатели исследуемых образцов напитка по балльной шкале.

Экспертиза качества безалкогольных напитков осуществляется по органолептическим показателям по балльной системе.

В основу оценки положена 5-балльная система: каждый показатель имеет пять степеней качества, соответствующих оценке «отлично» (5), «хорошо» (4), «удовлетворительно» (3), «плохо» (2) и «очень плохо» (1).

В ходе органолептической оценки определяли следующие показатели:

- внешний вид (прозрачность, цвет);
- аромат (чистота, интенсивность, типичность);
- вкус (чистота, интенсивность, стойкость, типичность).

Прозрачность и цвет определяли в цилиндрическом бокале вместимостью 200 см<sup>3</sup> и диаметром 70 мм в проходящем дневном свете. Вкус и аромат напитков оценивали при температуре 12 °С.

Хранение напитков производили в течение 180 суток при температуре +25 °С, относительная влажность воздуха – не более 75 %.

В ходе исследования определяли органолептические показатели (внешний вид, цвет, вкус, аромат).

Структурная схема проведения исследований, представлена на рисунке 6.



Рисунок 6 – Структурная схема исследований

### 3. ПРОВЕДЕНИЕ ИССЛЕДОВАНИЙ И ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ

#### 3.1 Выделение, изучение, выбор параметров стабилизации консорциума бактерий и дрожжей

На первом этапе исследований решалась задача выделения, классификации и изучения морфолого-культуральных свойств штаммов дрожжей и бактерий, перспективных для получения симбиотического консорциума, способного обеспечить эффективную биоконверсию виноградных выжимок.

Поскольку микробиологический состав консорциума бактерий и дрожжей может изменяться в зависимости от таких факторов, как климат, географическое положение и среда, используемая для ферментации [78, 79], для лабораторных исследований было выбрано 4 вида консорциума SCOBY, характерных для Краснодарского края.

Необходимо было выделить и получить чистые культуры дрожжей и бактерий, входящих в состав консорциума SCOBY.

На рисунке 7 показан типичный рост микроорганизмов, входящих в консорциумы, *in vitro*. При методе глубинного посева (рисунок 7, А) виден сплошной «газонный» рост мелких колоний правильной круглой формы. При методе поверхностного посева (рисунок 7, В) наблюдается скопление неразделенных сплошных округлых гладких колоний, распределенных на поверхности питательной среды по ходу движения микробиологической петли.

Далее получали разделенные колонии микроорганизмов, методом истощающего посева для постепенного снижения концентрации микроорганизмов и отделения колоний дрожжей от бактерий.

На рисунке 8 представлены изображения отделенных колонии бактерий и дрожжей, полученные с использованием микроскопа Axioimager Z2 и увеличения 100х.



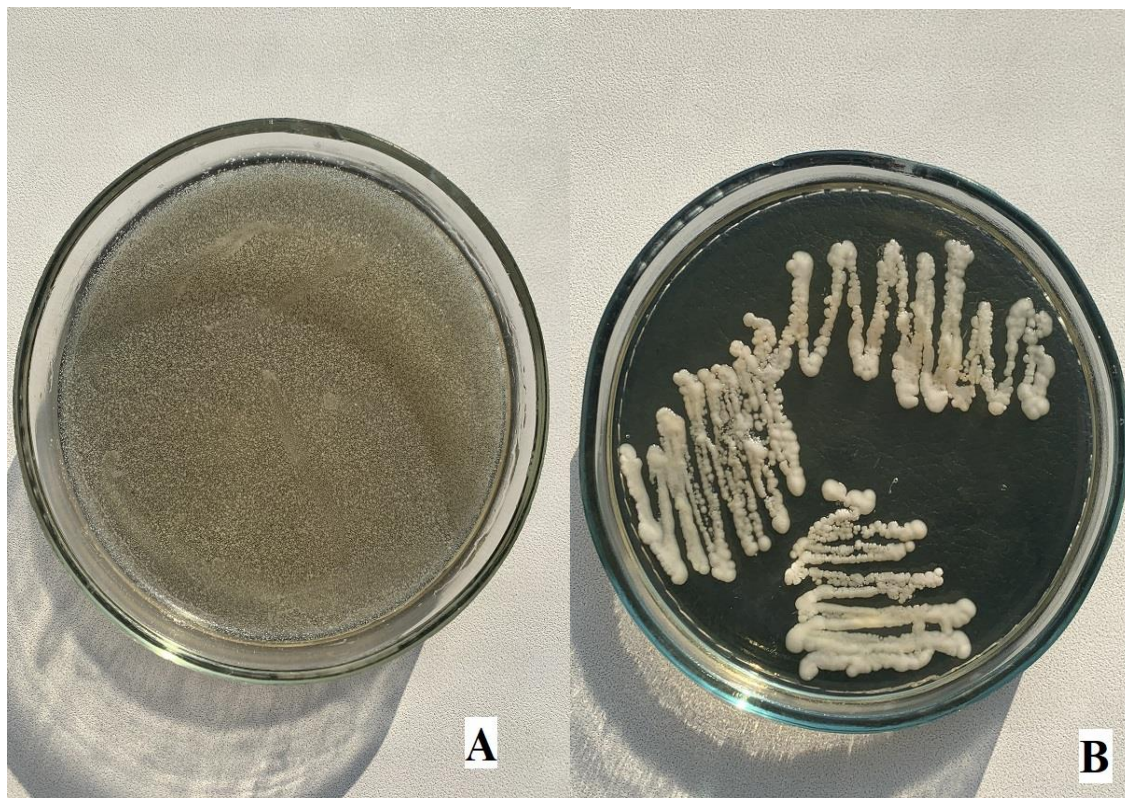


Рисунок 7 – Различные варианты посева микроорганизмов, входящих в консорциумы SCOBY:

А – глубинный посев, В – поверхностный посев с помощью микробиологической петли

Отдельный рост колоний бактерий и дрожжей, выделенных из консорциумов, фиксировали и сохраняли для дальнейших исследований с помощью скошенных посевов в пробирках с культуральными твердыми средами (мясо-пептонный агар и среда Сабуро). Дрожжи выращивались и хранились при температуре  $+(25\pm 1)$  °С, бактерии – при температуре  $+(27\pm 1)$  °С.

На следующем этапе проводили определение видов выделенных микроорганизмов, оценивая морфологические и физиологические признаки.

В рамках микроморфологии анализировались признаки, отражающие особенности отдельных вегетативных клеток (их форма и размеры), а также методы вегетативного и бесполого размножения и структуры, которые при этом образуются. В процессе макроморфологии исследовались культуральные признаки, свя-

занные с ростом культуры на плотных средах (представленных в виде штрихов или гигантских колоний) – таких как среда Сабуро, мясопептонный агар, сусло и картофельно-глюкозный агар. Идентификация культур проводилась с помощью стандартных определителей и вспомогательной литературы [119-126].

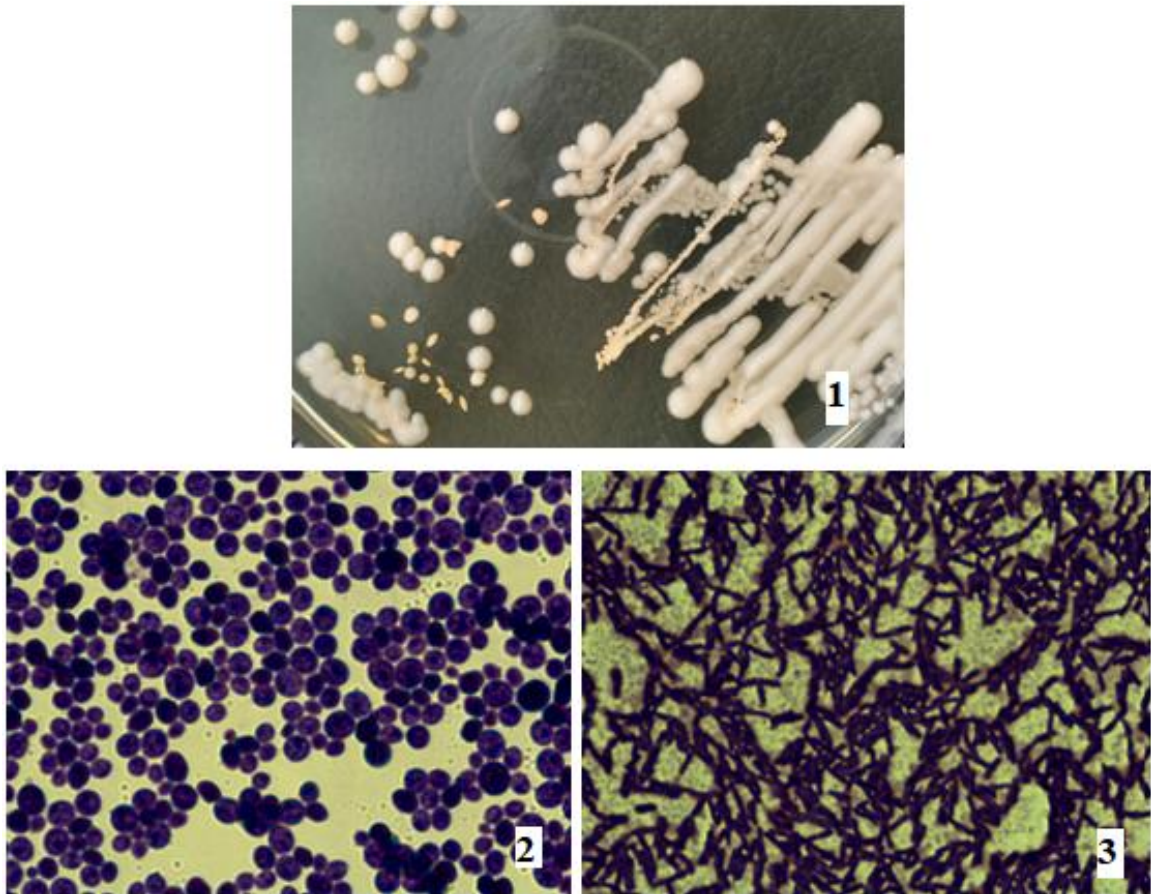


Рисунок 8 – Колонии бактерий и дрожжей *in vitro* и при увеличении 100:

1 – разделенные колонии *in vitro*; 2 – дрожжи; 3 – бактерии

В ходе исследования были выявлены следующие признаки дрожжевых клеток:

- а) под микроскопом клетки имеют большие размеры, яйцевидную или удлиненную форму, иногда образуют псевдогифы;
- б) размножение происходит путем многостороннего почкования;
- в) макроскопический вид представляет собой гладкие, круглые, выпуклые и кремовые колонии, в жидкой среде образуют белый мягкий осадок и кольцо на поверхности.

По всем признакам выявленные нами в ходе ранее проведенных исследований дрожжевые клетки относятся к роду *Zygosaccharomyces*, семейству *Saccharomycetaceae* и тесно связаны с родом *Saccharomyces* [127].

Несмотря на то, что дрожжи *Zygosaccharomyces* более известны как агенты порчи пищевых продуктов, они участвуют в образовании консорциума SCOBY и получении ферментированного напитка на основе чая, в котором *Z. kombuchaensis* играет ключевую роль в производстве этанола, который бактерии *Gluconacetobacter* превращают в уксусную кислоту [128-133].

В процессе исследования бактериальных клеток были обнаружены следующие характеристики:

а) под микроскопом клетки являются неподвижными и имеют размер от 0,5 до  $0,8 \times 1,0-3,0$  мкм; они имеют длинную овальную или вытянутую палочковидную форму;

б) размножение осуществляется либо путем поперечного, либо продольного почкования;

в) макроскопически колонии выглядят гладкими, удлинёнными, плоскими и могут быть кремового, желтоватого или белого цвета, принимая форму «лодочки». В жидкой среде они образуют белую мутную взвесь и пленку на поверхности.

По всем признакам выявленные нами в ходе ранее проведенных исследований бактериальные клетки относятся к роду *Gluconacetobacter*, принадлежащий к типу *Proteobacteria*.

Выявленный нами вид бактерий *Gluconacetobacter* – это вид бактерий, наиболее известных своей способностью вырабатывать целлюлозу [129-133]. Бактериальная целлюлоза (также иногда называемая наноцеллюлозой) участвует в образовании биопленок [131-133].

Бактерии *Gluconacetobacter* синтезируют внеклеточный полимер –  $\beta$ -глюкан (связи 1 $\rightarrow$ 4), идентичный целлюлозе растений. Они образуют целлюлозу из различных моносахаридов, сахарокарбоновых кислот, этилового спирта и уксусной кислоты.

На рисунке 9 представлена структура бактериальной целлюлозы с включениями клеток, которую производят бактерии *Gluconacetobacter* (увеличение 100х).

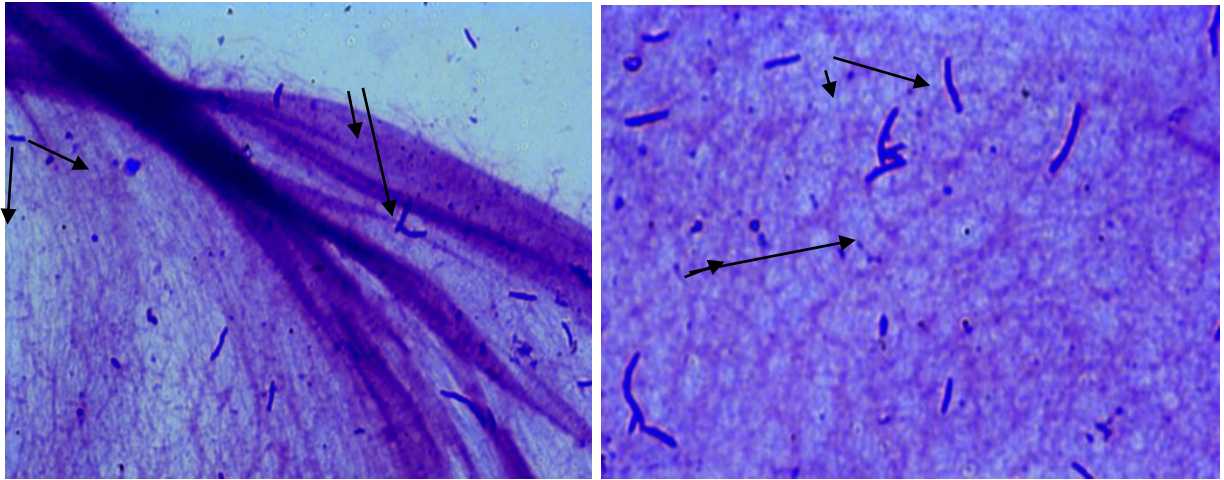


Рисунок 9 – Структура бактериальной целлюлозы бактерий *Gluconacetobacter* при увеличении 100х:

а – фибриллы бактериальной целлюлозы, б – клетки бактерий

В результате биохимических процессов, которые происходят в процессе жизнедеятельности бактерий образуется гель-пленка бактериальной целлюлозы, которая всплывает на поверхность раствора.

Мембрана, образуемая на поверхности жидкости, состоит из микрофибрилл, создающих целлюлозную матрицу [76]. На рисунке 10 представлена схематическая структура молекулы бактериальной целлюлозы.

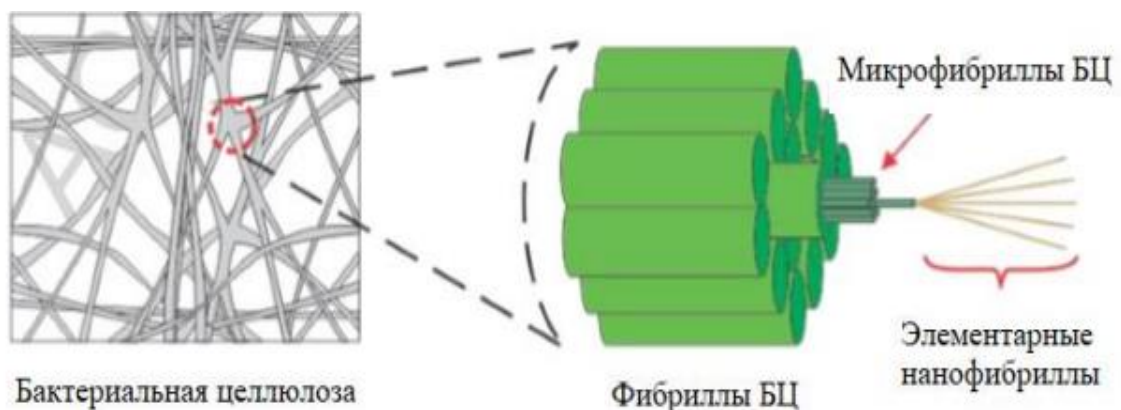


Рисунок 10 – Трехмерная структура молекулы бактериальной целлюлозы [134]

Бактериальная целлюлоза (БЦ) не содержит в себе примесей лигнина и гемицеллюлозы, то есть это более химически чистый материал, чем растительная целлюлоза [135].

Биологические характеристики уксуснокислых бактерий, их способность к множественным окислительным превращениям и синтезу целлюлозы и других полисахаридов указывают на широкий потенциал применения бактерий *Gluconacetobacter* в различных практических сферах.

В ходе проведения микробиологических исследований нами было подтверждено, что бактерии *Gluconacetobacter* производят бактериальную целлюлозу.

Таким образом, в процессе изучения микро- и макро- морфологии выделенных колоний клеток, мы убедились в том, что исследуемые виды микроорганизмов относятся к родам *Zygosaccharomyces* и *Gluconacetobacter*.

Далее идентифицировали выделенные дрожжи и бактерии по физиологическим признакам.

Так как в дальнейших исследованиях и в производстве планируется использование растительного экстракта с достаточно высоким содержанием сахаров, значимым критерием при выборе критерием брожения исследуемых дрожжей нами является способность сбраживать сахарозу, глюкозу и фруктозу. Большинство дрожжей способны сбраживать моносахариды, а из дисахаридов – преимущественно сахарозу и мальтозу [136].

Низкую толерантность дрожжей *Zygosaccharomyces kombuchaensis* к консервантам проверяли с помощью стандартной агаризованной среды Сабуро-агар с добавлением от 0,03 до 0,2 % сорбиновой кислоты, так как она менее токсична, чем бензойная и сернистая, и на длительное время задерживает рост мицелиальных грибов, дрожжей и некоторых бактерий (группы кишечных палочек, сальмонелл); при этом она безвредна для людей, не придает продукту посторонних привкусов и запахов. При этом сорбиновая кислота в указанных концентрациях не оказывает заметного действия на рост уксуснокислых бактерий, что позволит использовать ее при дальнейшем совершенствовании производства в качестве

средства консервации и остановки дрожжевого брожения, и соответственно, замедления жизнедеятельности уксуснокислых бактерий консорциума [136, 137].

Предпочтительные характеристики дрожжевых штаммов, относящихся к биологическому виду *Zygosaccharomyces kombuchaensis*, можно сформулировать следующим образом: сбраживают сахарозу, глюкозу и фруктозу, ассимилируют этанол, развиваются при температуре +35 °С, не растут на средах с содержанием консерванта от 0,03 до 0,2 %, ингибируются в присутствии дубильных веществ.

Бактерии, производящие уксусную кислоту, выделяют ее из этилового спирта в процессе дыхания. Они устойчивы к кислотам, и некоторые из них могут развиваться при рН среды около 2,0-3,0, в то время как оптимальное значение рН составляет 5,4-6,3. Бактерии, которые образуют кислоту в ходе своей жизнедеятельности, обладают большей устойчивостью к понижению рН.

К переокислению (окислению ацетата из имеющейся в среде уксусной кислоты в CO<sub>2</sub>) способны представители только одного рода – *Acetobacter* [138, 139]. Важно подтвердить, что исследуемые бактерии действительно принадлежат к изучаемому виду, поэтому питательную среду слегка подкислили уксусной кислотой (не менее 0,35 %).

Бактерии, не относящиеся к роду *Acetobacter*, будут замедлять свою активность даже в условиях небольших концентраций уксусной кислоты. Также нужно удостовериться, что при наличии других факторов (этанол, сахара) и в условиях длительного брожения, когда в среде накапливается уксусная кислота, бактерии не ухудшают свою жизнедеятельность. Уксуснокислые бактерии отличаются по размеру клеток, стойкости к спирту, способности накапливать определенное количество уксусной кислоты и другим характеристикам.

Например, *A. aceti* накапливает в среде до 6 % уксусной кислоты, *A. aceti subsp. orleanensis* – до 9,5 %, *A. aceti subs. xylinum (Gluconacetobacter xylinus)* – до 4,5 %. *A. aceti* выдерживают довольно высокую концентрацию спирта – до 9-11 %, а *A. aceti subs. xylinum (Gluconacetobacter xylinus)* – лишь 5-7 %. Уксуснокислые бактерии способны расти в температурном диапазоне от 5 до 40 °С, оптимальная температура для их роста составляет 25-30 °С. Эти бактерии часто образуют

длинные нити и могут создавать пленки на поверхности субстрата. Например, *A. pasteurianus* образует сухую морщинистую пленку, тогда как *A. aceti subs. xylinum* (*Gluconacetobacter xylinus*) формирует плотную хрящевидную пленку, содержащую целлюлозу [140, 141].

Признаки бактериальных штаммов, относящихся к виду *Gluconacetobacter xylinus*, можно выделить следующим образом: образуют целлюлозу, не производят коричневый пигмент на среде с глюкозой и дрожжевым экстрактом, производят уксусную кислоту, способны расти в среде с уксусной кислотой (не менее 0,35 %).

Для дальнейших исследований было интересно определить микроорганизмы, обладающие всеми перечисленными признаками.

Для этого из четырех культур SCOBY были дифференцированы составляющие их бактерии и дрожжи. Каждая культура была пронумерована исходя из того, из какого консорциума была выделена.

Учет результатов проводился через 3, 7, 21 сутки.

Результаты представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Идентификация изучаемых штаммов по основным физиологическим признакам

Культура	Изучаемые признаки									
	Сбраживают сахарозу	Сбраживают глюкозу	Сбраживают фруктозу	Ассимилируют этанол	Рост при +35 °C	Рост на среде с консервантом	Образуют целлюлозную массу	Образование коричневого пигмента	Производят уксусную кислоту	Рост в присутствии 0,35 % уксусной кислоты
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<i>Zygosaccharomyces kombuchaensis</i> № 1	+	+	+	+	+	-	-	-	-	-
<i>Zygosaccharomyces kombuchaensis</i> № 2	±	±	±	±	±	-				

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
<i>Zygosaccharomyces kombuchaensis</i> № 3	±	-	±	±	с	-	-			
<i>Zygosaccharomyces kombuchaensis</i> № 4	±	-	±	±	с	с				
<i>Gluconacetobacter xylinus</i> № 1	-						±	-	+	±
<i>Gluconacetobacter xylinus</i> № 2							±	±	±	-
<i>Gluconacetobacter xylinus</i> № 3							+	-	+	+
<i>Gluconacetobacter xylinus</i> № 4							±	-	±	с

**Примечание:** «+» – активный рост; «±» – менее активный рост; «с» – рост только на 5-6 сутки; «-» – рост полностью отсутствует.

Как видно из таблицы 2, наилучшими характеристиками из дрожжей обладает *Zygosaccharomyces kombuchaensis* № 1, так как остальные культуры недостаточно быстро сбраживают сахара, № 2 и № 3 не сбраживают глюкозу, № 3 и № 4 показали замедленный рост при температуре + 35 °С, № 4 показал наличие роста на среде с консервантом, что является недопустимым.

*Zygosaccharomyces kombuchaensis* № 1 активно сбраживают сахарозу, глюкозу и фруктозу, при этом ассимилируют этанол, растут при +35 °С и не растут на среде с 0,1 % антибиотиком.

Выделенные дрожжевые клетки *Zygosaccharomyces kombuchaensis* № 1 способны активно сбраживать сахара, особенно фруктозы. Поскольку метаболизм фруктозы подвержен глюкозной репрессии, на поздних стадиях брожения относительное содержание фруктозы может быть значительным. Способность дрожжевых штаммов к эффективному сбраживанию фруктозы критически важна для поддержания высокой скорости брожения на поздних стадиях [142].

Наилучшие характеристики среди бактерий демонстрирует *Gluconacetobacter xylinus* № 3, поскольку остальные культуры показали недостаточную активность в производстве целлюлозной массы. Штамм № 2 продемонстрировал образование коричневого пигмента и отсутствие роста в среде с 0,35 % уксусной кислоты, а № 1 и № 4 проявили слишком медленный и незначительный



рост в аналогичных условиях. Это указывает на то, что в процессе брожения дрожжей эти культуры не смогут эффективно превращать этанол в уксусную кислоту в нужных объемах, что является неприемлемым.

*Gluconacetobacter xylinus* № 3, в свою очередь, активно производит целлюлозную массу и уксусную кислоту, демонстрируя рост в условиях 0,35 % уксусной кислоты и не образуя коричневый пигмент на среде с глюкозой и дрожжевым экстрактом. Таким образом, на основе результатов тестов можно заключить, что *Zygosaccharomyces kombuchaensis* № 1 и *Gluconacetobacter xylinus* № 3 являются наиболее подходящими культурами для дальнейшего исследования и создания консорциума.

В дальнейших исследованиях производилось изучение свойств выделенных микроорганизмов, их скорости роста и устойчивости в различных условиях культивирования. Для этого изменялись такие параметры, как рН среды и содержание редуцирующих веществ. Также оценивалась биосовместимость исследуемых дрожжей и бактерий, их жизнеспособность на различных средах и влияние температуры на скорость роста консорциума.

При росте на натуральном плодово-ягодном субстрате микроорганизмы активно изменяют его рН, перерабатывая субстрат и производя продукты своей жизнедеятельности. Так же на рН субстрата влияет время культивирования, так как различные микроорганизмы развиваются с разной скоростью, тем самым подавляя рост и развитие других. Потому была проведена оценка адаптационных свойств выделенных и отобранных культур в средах с различными рН.

Результаты представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Количество клеток исследуемых микроорганизмов, КОЕ/г

Культура	рН	Время инкубации, ч			
		0	6	12	24
<i>Zygosaccharomyces kombuchaensis</i>	3,5	$6 \times 10^8$	$4 \times 10^8$	$6 \times 10^8$	$7 \times 10^8$
	6,5	$8 \times 10^8$	$15 \times 10^8$	$44 \times 10^8$	$97 \times 10^8$
	9,5	$6 \times 10^8$	$7 \times 10^8$	$11 \times 10^8$	$17 \times 10^8$
<i>Gluconacetobacter xylinus</i>	3,5	$7 \times 10^8$	$5 \times 10^8$	$7 \times 10^8$	$7 \times 10^8$
	6,5	$7 \times 10^8$	$11 \times 10^8$	$32 \times 10^8$	$65 \times 10^8$
	9,5	$6 \times 10^8$	$8 \times 10^8$	$9 \times 10^8$	$19 \times 10^8$

На основе полученных данных можно предположить, что для культур *Zygosaccharomyces kombuchaensis* и *Gluconacetobacter xylinus* среда с рН 3,5 является ограничивающим фактором для роста. Возможно, дальнейшее снижение рН приведет либо к инаktivации жизнедеятельности исследуемых микроорганизмов, либо к их гибели. Таким образом, рН 3,5 будет служить маркером завершения культивирования в последующих экспериментах.

Количество дрожжей *Zygosaccharomyces kombuchaensis* за 24 часа культивирования в жидкой питательной среде с рН 3,5 увеличилось от изначального на 16 %, в среде с рН 6,5 – на 1112 %, в среде с рН 9,5 – на 183 %.

Количество бактерий *Gluconacetobacter xylinus* за 24 часа культивирования в жидкой питательной среде с рН 3,5 не изменилось, в среде с рН 6,5 – увеличилось на 983 %, в среде с рН 9,5 – на 171 %.

Среда с рН 3,5 после 6 часов инкубации - количество клеток обеих культур резко снижалось, что предположительно было связано с шоковым состоянием клеток. Через 12 и 24 часа количество клеток обеих культур постепенно вернулось к начальному,  $7 \times 10^8$  КОЕ/г, однако роста количества клеток не произошло. Можно утверждать, что среда с рН 3,5 замедляет рост исследуемых микроорганизмов.

Среда с рН 6,5 – в первые 12 часов инкубации количество клеток *Zygosaccharomyces kombuchaensis* увеличилось в 5,5 раз от изначального, а количество клеток *Gluconacetobacter xylinus* – в 4,5 раза. Через 24 часа инкубации количество клеток *Zygosaccharomyces kombuchaensis* увеличилось в 12 раз от изначального, а количество клеток *Gluconacetobacter xylinus* – в 9,2 раза.

Можно утверждать, что среда с рН 6,5 активно стимулирует рост обеих исследуемых культур, следовательно, является оптимальной из всех выбранных вариантов сред.

Среда с рН 9,5 – в первые 12 часов инкубации количество клеток *Zygosaccharomyces kombuchaensis* увеличилось в 1,8 раза от изначального, а количество клеток *Gluconacetobacter xylinus* – в 1,5 раза. Через 24 часа инкубации ко-

личество клеток *Zygosaccharomyces kombuchaensis* увеличилось в 2,8 раз от начального, а количество клеток *Gluconacetobacter xylinus* – в 3,1 раза.

Можно утверждать, что среда с pH 9,5 не стимулирует рост обеих исследуемых культур так же активно, как среда с pH 6,5, однако они развиваются с похожей экспоненциальностью.

Известно, что каждый микроорганизм растет в определенном диапазоне температур. За исключением нескольких холодолюбивых видов, среди дрожжей и бактерий не наблюдается явных экстремофилов, то есть видов, предпочитающих крайне высокие или низкие температуры, pH, осмотическое давление, влажность среды и другие параметры.

Для большинства микроорганизмов минимальная температура роста составляет приблизительно 0...+5 °С, а максимальная – +30...+40 °С. Практически все микроорганизмы могут развиваться при комнатной температуре +20...+30 °С.

Чтобы определить оптимальную температуру роста исследуемых микроорганизмов, их культивировали на чашках Петри с использованием сред МПА для бактерий и Сабуро для дрожжей.

Выращивание проводилось при различных температурах от + (10±1) °С до + (55±1) °С. Первый контроль роста осуществлялся через 2 суток, второй – через 4 суток.

Данные о влиянии температуры на рост исследуемых микроорганизмов представлены в таблице 4.

Таблица 4 – Влияние температуры на рост исследуемых микроорганизмов

Культура	Температура культивирования, °С									
	+10	+15	+20	+25	+30	+35	+40	+45	+50	+55
<i>Zygosaccharomyces kombuchaensis</i>	-	-	с	+	+	+	±	с	-	-
<i>Gluconacetobacter xylinus</i>	-	с	±	+	+	+	±	с	-	-

**Примечание:** «+» – активный рост; «±» – менее активный рост; «с» – рост только на 5-6 сутки; «-» – рост полностью отсутствует.

По данным приведенным в таблице 4, оба исследуемых микроорганизма активно растут при температуре от  $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$  до  $(35 \pm 1)^\circ\text{C}$ .

Минимальные и максимальные температуры для роста определяются как температура, находящаяся между самой низкой/высокой, при которой рост не наблюдается на протяжении 6 дней, и предыдущей более низкой/высокой температурой.

Для *Zygosaccharomyces kombuchaensis* минимальная температура составляет от  $+15$  до  $+20^\circ\text{C}$ , а максимальная – от  $+45$  до  $+50^\circ\text{C}$ . Для *Gluconacetobacter xylinus* минимальная температура роста находится в диапазоне  $+10 \dots +25^\circ\text{C}$ , в то время как максимальная также составляют от  $+45$  до  $+50^\circ\text{C}$ .

Учитывая, что наименьшая скорость роста наблюдалась у микроорганизмов, выращенных при температуре  $(10 \pm 1)^\circ\text{C}$  и  $(50 \pm 1)^\circ\text{C}$ , можно сделать вывод, что использование этих температур в дальнейшем будет нецелесообразным для технологии, связанной с накоплением клеточной биомассы.

На натуральном субстрате из плодово-ягодного сырья наблюдается повышенное содержание редуцирующих веществ (глюкозы и фруктозы), являющихся питательными веществами для микроорганизмов, поэтому дальнейшие испытания проводили с повышенным содержанием редуцирующих веществ *in vitro* для выявления скорости и активности роста выделенных и отобранных микроорганизмов.

Оценку устойчивости микроорганизмов к различным концентрациям редуцирующих веществ проводили так же по методике с осаждением, с модификацией в жидкой питательной среде (мясопептонный бульон).

Результаты представлены в таблице 5.

Таблица 5 – Выживаемость исследуемых культур при различном содержании редуцирующих веществ, КОЕ/г

Культура	Концентрация редуц. веществ, %	Время инкубации, ч			
		0	6	12	24
1	2	3	4	5	6
<i>Zygosaccharomyces kombuchaensis</i>	10	$6 \times 10^8$	$17 \times 10^8$	$56 \times 10^8$	$130 \times 10^8$
	20	$7 \times 10^8$	$11 \times 10^8$	$33 \times 10^8$	$56 \times 10^8$

1	2	3	4	5	6
	30	$5 \times 10^8$	$6 \times 10^8$	$10 \times 10^8$	$13 \times 10^8$
<i>Gluconacetobacter xylinus</i>	10	$5 \times 10^8$	$10 \times 10^8$	$38 \times 10^8$	$77 \times 10^8$
	20	$6 \times 10^8$	$9 \times 10^8$	$22 \times 10^8$	$35 \times 10^8$
	30	$6 \times 10^8$	$5 \times 10^8$	$8 \times 10^8$	$11 \times 10^8$

Исходя из полученных данных можно предположить, что для культур *Zygosaccharomyces kombuchaensis* и *Gluconacetobacter xylinus* среда с содержанием редуцирующих веществ в концентрации 30 % является сдерживающим фактором роста.

Количество дрожжей *Zygosaccharomyces kombuchaensis* за 24 часа культивирования в жидкой питательной среде с редуцирующими веществами в концентрации 10% увеличилось от начального на 2066 %, в среде с редуцирующими веществами в концентрации 20 % – на 700 %, в среде с редуцирующими веществами в концентрации 30 % – на 160 %.

Наиболее благоприятная концентрация сахара в среде для большинства дрожжей от 10 до 15 %. При повышении концентрации сахара интенсивность брожения снижается, а при 30-35 % брожение практически прекращается, хотя в природе встречаются дрожжи, способные вызывать медленное брожение сахара даже при концентрации его 60 % и выше [136].

Количество бактерий *Gluconacetobacter xylinus* за 24 часа культивирования в жидкой питательной среде с редуцирующими веществами в концентрации 10 % увеличилось от начального на 1440 %, в среде с редуцирующими веществами в концентрации 20 % – на 483 %, в среде с редуцирующими веществами в концентрации 30 % – на 83 %

В среде с содержанием редуцирующих веществ в концентрации 10 % происходит бурный рост *Zygosaccharomyces kombuchaensis* и активный рост *Gluconacetobacter xylinus*. Через 12 часов инкубации количество *Zygosaccharomyces kombuchaensis* увеличилось в 19,3 раз от начального, а количество клеток *Gluconacetobacter xylinus* – в 7,6 раз. Через 24 часа инкубации количе-

ство клеток *Zygosaccharomyces kombuchaensis* увеличилось в 21,6 раз от изначального, а количество клеток *Gluconacetobacter xylinus* – в 15,4 раз.

Среда с содержанием редуцирующих веществ в концентрации 20 % стимулирует рост культур *Zygosaccharomyces kombuchaensis* и *Gluconacetobacter xylinus*, однако активность их роста существенно уступает активности в среде с содержанием редуцирующих веществ 10 %. Через 12 часов инкубации количество *Zygosaccharomyces kombuchaensis* увеличилось в 4,7 раз от начального, а количество клеток *Gluconacetobacter xylinus* – в 3,6 раз. Через 24 часа инкубации количество клеток *Zygosaccharomyces kombuchaensis* увеличилось в 8 раз от начального, а количество клеток *Gluconacetobacter xylinus* – в 5,8 раз.

Скорость роста обеих исследуемых культур в среде с содержанием редуцирующих веществ в концентрации 20 % меньше скорости роста культур в среде с 10 % редуцирующих веществ в 2,6 раза.

Среда с содержанием редуцирующих веществ в концентрации 30 % не стимулирует рост культур *Zygosaccharomyces kombuchaensis* и *Gluconacetobacter xylinus*. Через первые 6 часов инкубации произошло снижение количества клеток *Gluconacetobacter xylinus*, что объясняется их низкой толерантностью к повышенному содержанию сахаров в среде и изначальной частичной гибелью клеток. Через 12 часов инкубации количество *Zygosaccharomyces kombuchaensis* увеличилось в 2 раза от начального, а количество клеток *Gluconacetobacter xylinus* – в 1,3 раза. Через 24 часа инкубации количество клеток *Zygosaccharomyces kombuchaensis* увеличилось в 2,6 раза от начального, а количество клеток *Gluconacetobacter xylinus* – в 1,8 раза.

Активность роста обеих культур в 3 раза ниже по сравнению с активностью в среде с содержанием редуцирующих веществ 20 %.

На основе собранных данных можно сделать вывод, что содержание редуцирующих веществ в среде для роста *Zygosaccharomyces kombuchaensis* и *Gluconacetobacter xylinus* должно составлять от 10% до 15%, поскольку дальнейшее увеличение количества редуцирующих сахаров замедляет рост обеих культур.

Биосовместимость выделенных и изученных штаммов проверяли методом агаровых блоков на твердой питательной среде ГРМ-агар.

На рисунке 11 представлены посевы исследуемых культур с помощью метода агаровых блоков в двух вариантах:

1 – основная культура *Zygosaccharomyces kombuchaensis*, добавочная *Gluconacetobacter xylinus*;

2 – основная культура *Gluconacetobacter xylinus*, добавочная *Zygosaccharomyces kombuchaensis*.

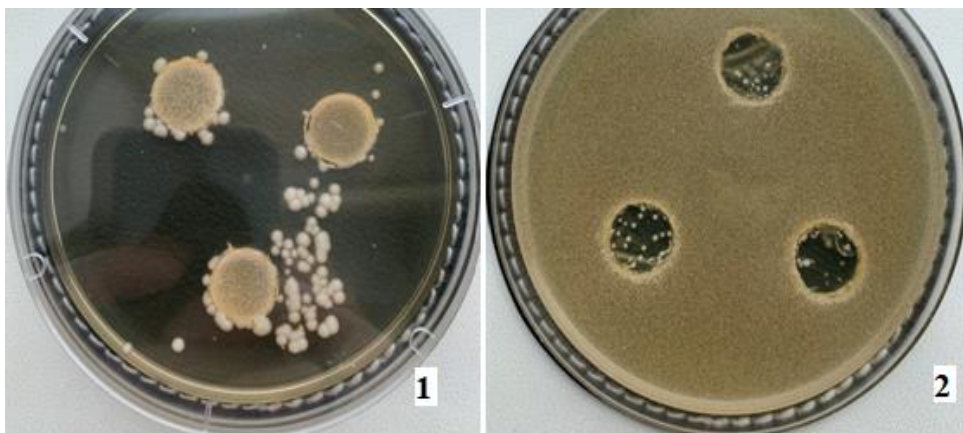


Рисунок 11 – Посевы методом агаровых блоков:

1 – основная культура *Zygosaccharomyces kombuchaensis*, добавочная *Gluconacetobacter xylinus*;

2 – основная культура *Gluconacetobacter xylinus*, добавочная *Zygosaccharomyces kombuchaensis*

На рисунке 11 видно, что в первом варианте посева колонии *Zygosaccharomyces kombuchaensis* преимущественно расположены вблизи с добавочной культурой *Gluconacetobacter xylinus*, без антагонистического кольца. Во втором варианте посева основная культура *Gluconacetobacter xylinus* так же распространяется вокруг добавочной культуры *Zygosaccharomyces kombuchaensis* без антагонистического кольца.

Так как в обоих вариантах антагонистического взаимодействия между исследуемыми культурами не наблюдается, можно заключить, что культуры

*Zygosaccharomyces kombuchaensis*, выделенные из SCOBY № 1, и *Gluconacetobacter xylinus*, полученные из SCOBY № 3, являются биосовместимыми. Это означает, что их можно использовать для создания симбиотического консорциума.

Для обоснования целесообразности применения консорциума *Zygosaccharomyces kombuchaensis* и *Gluconacetobacter xylinus* для ферментации экстракта, полученного из виноградных выжимок, была исследована выживаемость этих культур на виноградных экстрактах из выжимок белых и красных сортов по сравнению с выживаемостью в стандартных жидких средах.

Культивировались чистые культуры *Zygosaccharomyces kombuchaensis* и *Gluconacetobacter xylinus* и их консорциум в соотношении 1:1. Чистые культуры были выделены в исследованиях, проведенных ранее.

Численность клеток *Zygosaccharomyces kombuchaensis* и *Gluconacetobacter xylinus* и их консорциума после культивирования на различных средах приведен на рисунке 12.

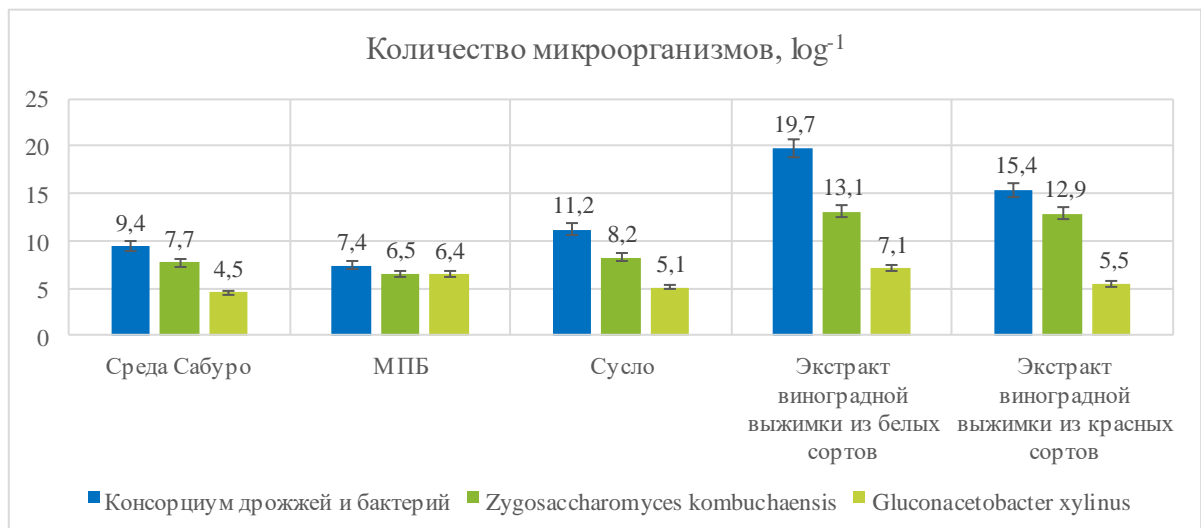


Рисунок 12 – Количество клеток *Zygosaccharomyces kombuchaensis* и *Gluconacetobacter xylinus* и их консорциума в различных средах через 2 суток

Данные, представленные на рисунке 12, показывают, что *Zygosaccharomyces kombuchaensis* демонстрирует более активный рост на экстрактах виноградных



выжимок по сравнению с традиционными средами. Наблюдается более активный рост культуры на экстракте из виноградных выжимок белых сортов.

Также наблюдается заметная активация роста клеток *Gluconacetobacter xylinus* на экстракте из виноградных выжимок белых сортов по сравнению с классическими культурами и экстрактом из виноградных выжимок красных сортов.

Консорциум *Zygosaccharomyces kombuchaensis* и *Gluconacetobacter xylinus* проявил наиболее выраженный рост на экстракте из виноградных выжимок белых сортов, что можно объяснить высоким содержанием различных микроэлементов, фенольных соединений и антоцианов. На экстракте виноградной выжимки из красных сортов винограда консорциум так же показал активный рост.

Однако рост на экстракте из выжимок красных сортов оказался значительно ниже, чем на выжимках из белых сортов, что связано с более высокой концентрацией дубильных веществ, переходящих в водную фазу экстракта из красных сортов винограда. Дубильные вещества (дубильные кислоты) в больших концентрациях способны замедлять рост и развитие микроорганизмов, так как обладают высокой молекулярной массой и связываются в прочные комплексы с белками клеточных стенок микроорганизмов, тем самым останавливая жизнедеятельность клеток.

По сравнению с обычными средами, экстракт виноградной выжимки оказывается более предпочтительным для развития данного консорциума.

В связи с этим, можно сделать вывод о перспективности использования несброженных белых виноградных выжимок при разработке технологии безалкогольного напитка брожения.

К тому же, этим экспериментом получено доказательство симбиотических отношений между дрожжами *Zygosaccharomyces kombuchaensis* и бактериями *Gluconacetobacter xylinus*, так как их совместное культивирование на всех использованных питательных средах дает более активный рост, чем одиночное культивирование. Бактерии, выделяя в процессе жизнедеятельности различные кислоты, создают оптимальные значения pH для развития дрожжей, а дрожжи обогащают среду обитания витаминами [143].

Анализ полученных данных показал, что использование *Zygosaccharomyces kombuchaensis* совместно с *Gluconacetobacter xylinus* на экстракте виноградной выжимки с добавлением 5 % глюкозы и 5 % фруктозы является целесообразным, так как в консорциуме данные микроорганизмы показали наилучший потенциал скорости роста на исследуемой среде.

На основании проведенных исследований была разработана структурная схема производства консорциума, представленная на рисунке 13.

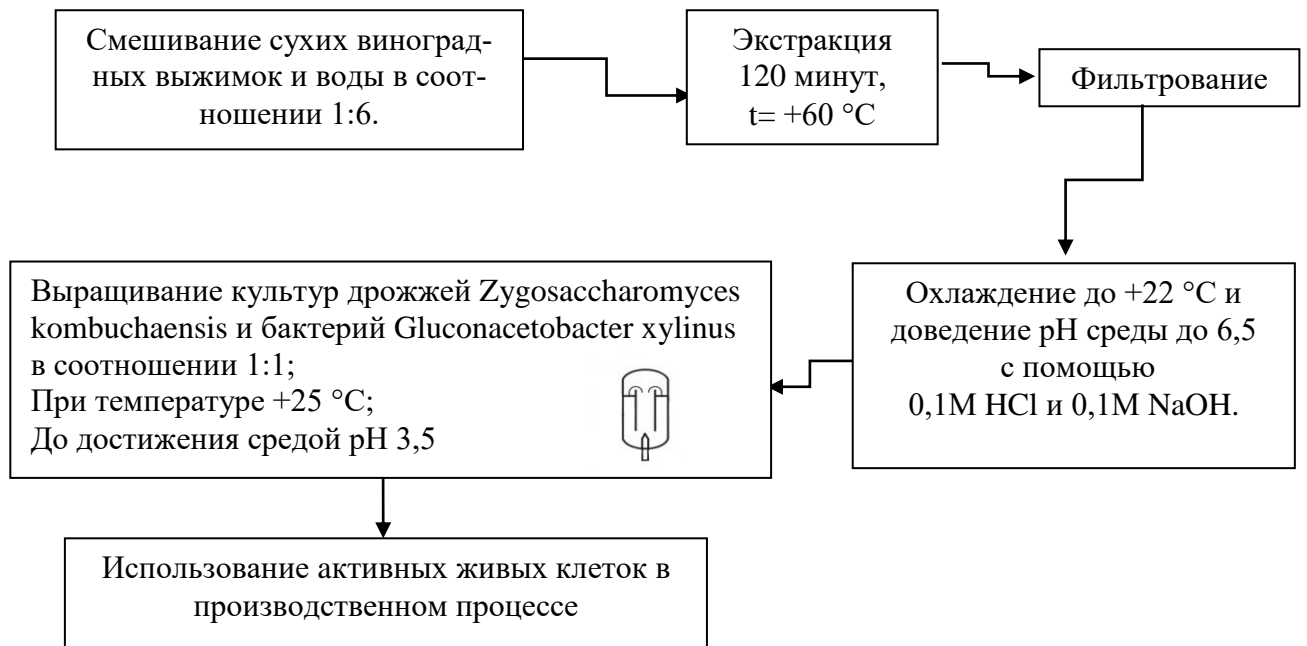


Рисунок 13 – Структурная схема процесса производства консорциума

### 3.2 Изучение зависимости физико-химических показателей экстрактов выжимок виноградных сушеных складских от технологических режимов экстракции

На следующем этапе исследования устанавливали, как параметры экстрагирования влияют на физико-химические показатели экстрактов, в том числе и на содержание биологически активных веществ.

Определяли зависимость между содержанием сухих веществ в экстракте и временем, а также температурой экстрагирования, с целью создания продукта высокого качества.

Для этого готовили экстракт из сухих несброженных (сладких) виноградных выжимок по ТУ 10.89.19–074–17021101–2022 «Пищевая добавка. Выжимки виноградные сушеные» Выжимки виноградные – вторичное сырье, получаемое после производства красных и белых вин. Сладкая выжимка виноградная – выжимка, полученная непосредственно после прессования винограда при производстве вина, не подвергшаяся процессу брожения.

Для изготовления продукта применяют вторичные ресурсы виноделия, образующиеся при производстве красных и белых вин по действующей нормативной или технической документации. Не допускается использование выжимок виноградных, образующихся в процессе производства вина: обработанных ферментными препаратами; с признаками плесневения. Сырье, используемое для изготовления продукта, должно соответствовать гигиеническим требованиям к качеству и безопасности продовольственного сырья и пищевых продуктов ТР ТС 021/2011.

Технология производства продукта включает следующие стадии: прием сырья; инспекция; СВЧ – обработка; сушка; охлаждение; просеивание; фасовка; упаковка; маркировка; хранение.

Продукт равномерным потоком подается в СВЧ камеру для термообработки под действием СВЧ-энергии при температуре 90 °С в течение 135 секунд, мощность 800 Вт, удельная работа 540 Вт/г·с. После СВЧ-обработки продукт сушат на инфракрасной сушильной установке, где масса распределяется слоем толщиной не более 3 мм, при температуре 60 °С в течение 4-6 часов в зависимости от исходной влажности. Массовая доля влаги в высушенном продукте не более 8,0 %. По окончании процесса сушки, высушенный продукт, с целью его охлаждения ( $t=22 \pm 2$  оС), выгружают из сушильной установки на лотки, а затем просеивают на ситовых сепараторах с диаметром сит, мм: - подситок – 12-14; - верхнее сито – 8-10; - нижнее сито – 4-5. Просеянный продукт фасуют по 5, 10 кг в тканые мешки по

ГОСТ 30090, мешки из бумаги или из комбинированных материалов по ГОСТ 2226.

По ТУ 10.89.19–074–17021101–2022 допускаются следующие основные показатели качества сухих выжимок:

- цвет – от светло-желтого до темно-красного с различными оттенками;
- вкус и запах – свойственный сушеному винограду, без постороннего вкуса и запаха;
- массовая доля влаги, %, не более – 8,0;
- минеральные, растительные и посторонние примеси – не допускаются;
- по микробиологическим показателям и по содержанию токсичных элементов и пестицидов продукт должен соответствовать требованиям ТР ТС 021/2011.

На основе опыта предыдущих исследований установлено, что временные границы проведения экстракции может составить от 1 до 5 часов, а диапазон температуры – от 40 до 80 °С, при соотношении выжимок и воды - 1:6.

Именно эти граничные значения и были использованы при планировании эксперимента.

По окончании времени экстракции определяли массовую долю сухих веществ в полученном экстракте и проводили органолептическую оценку полученного экстракта.

В качестве независимых переменных для проведения эксперимента были приняты следующие параметры:

- $x_1$  – температура экстракции, °С (5 уровней – 40, 50, 60, 70, 80);
- $x_2$  – время экстракции, ч (5 уровней – 1, 2, 3, 4, 5).

В качестве выходных переменных рассматривались массовая доля сухих веществ в полученном экстракте, определяемая по окончании времени экстракции, а также бальная оценка органолептических показателей:

- $y_m$  – массовая доля растворимых сухих веществ, %;
- $y_1$  – вкус;
- $y_2$  – цвет;
- $y_3$  – запах;
- $y$  – итоговый показатель органолептической оценки.

Значения экспериментальных данных представлены в таблице 6.

Таблица 6 – Экспериментальные данные влияния температуры и времени экстракции на содержание сухих веществ и органолептические показатели экстракта

№ опыта	Температура экстракции, °С	Время экстракции, ч	Содержание сухих в-в, %	Вкус	Цвет	Запах	ИТОГО
	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	Y <sub>m</sub>	Y <sub>1</sub>	Y <sub>2</sub>	Y <sub>3</sub>	Y
1	40	1	1,8	3,5	3,5	4	11
2	40	2	2,6	3,5	3,5	4	11
3	40	3	3,4	4	4	5	13
4	40	4	4,6	4	5	5	14
5	40	<b>5</b>	<b>5,3</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>15</b>
6	50	1	2,1	3,5	4	5	12,5
7	50	2	3,5	3,5	4	5	12,5
8	50	3	4,2	4	4	5	13
9	50	4	4,8	4	4,5	5	13,5
10	50	5	5,5	4,5	5	5	14,5
11	60	1	2,8	4	4	5	13
12	<b>60</b>	<b>2</b>	<b>4,5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>5</b>	<b>15</b>
13	60	3	4,9	4,5	5	5	14,5
14	60	4	5,1	4,5	5	5	14,5
15	60	5	5,6	4,5	5	4,5	14
16	70	1	3,4	4	5	5	14
17	70	2	5,1	4,5	5	5	14,5
18	70	3	5,2	4,5	5	5	14,5
19	70	4	5,5	4,5	5	5	14,5
20	70	5	5,9	4,5	5	4	13,5
21	80	1	4,6	4	4,5	5	13,5
22	80	2	5,1	4	4,5	5	13,5
23	80	3	5,6	4,5	4,5	5	14
24	80	4	6,1	3,5	3	4,5	11
25	80	5	6,2	3	3	4,5	10,5

На рисунке 14 приведена 3D диаграмма содержания сухих веществ в экстракте свежих несброженных виноградных выжимок в зависимости от времени и температуры экстрагирования.

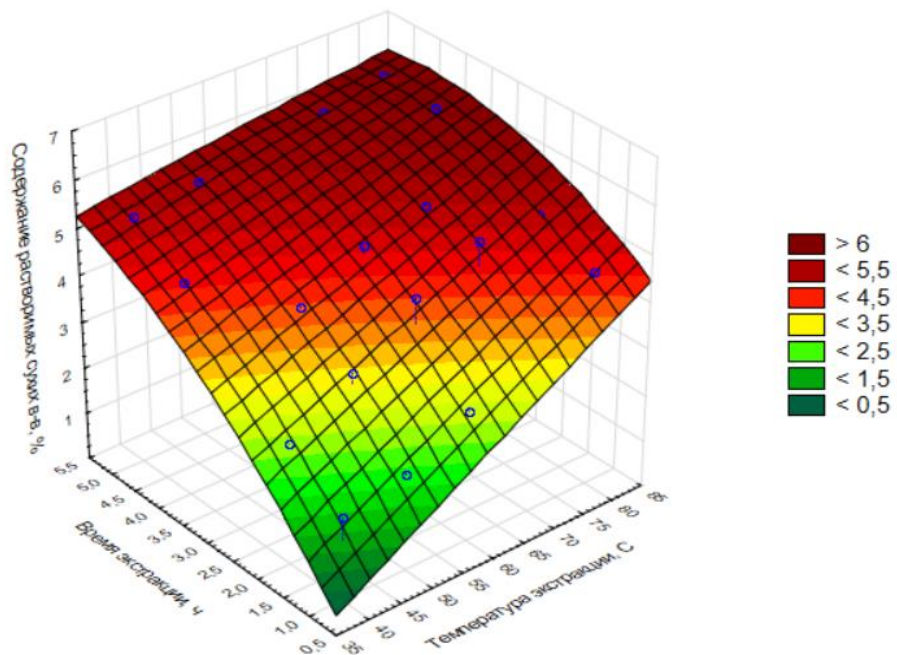


Рисунок 14 – График поверхности, описывающей зависимость содержания сухих веществ от температуры и времени экстракции

Рисунки 15-18 отражают зависимости значений органолептических показателей от тех же исходных данных.

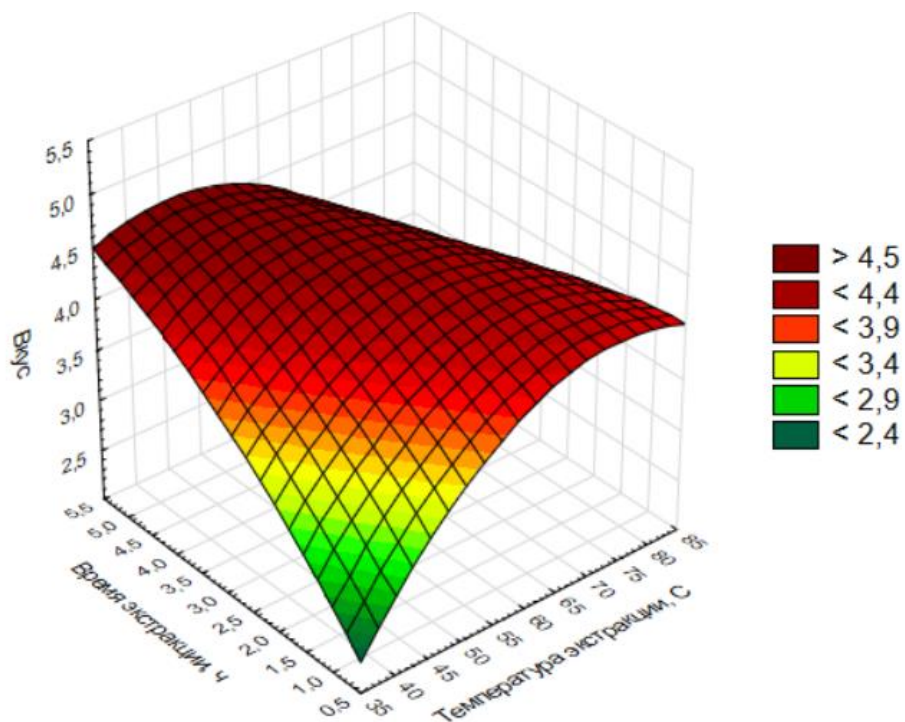


Рисунок 15 – График поверхности, описывающей зависимость балльной оценки вкуса от температуры и времени экстракции

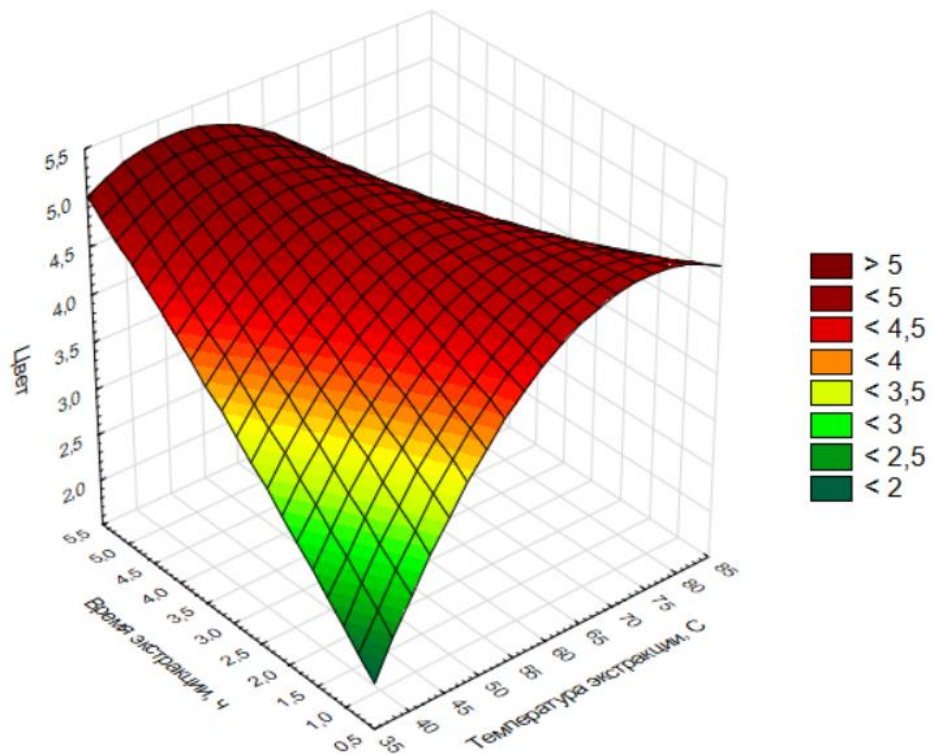


Рисунок 16 – График поверхности, описывающей зависимость балльной оценки цвета от температуры и времени экстракции

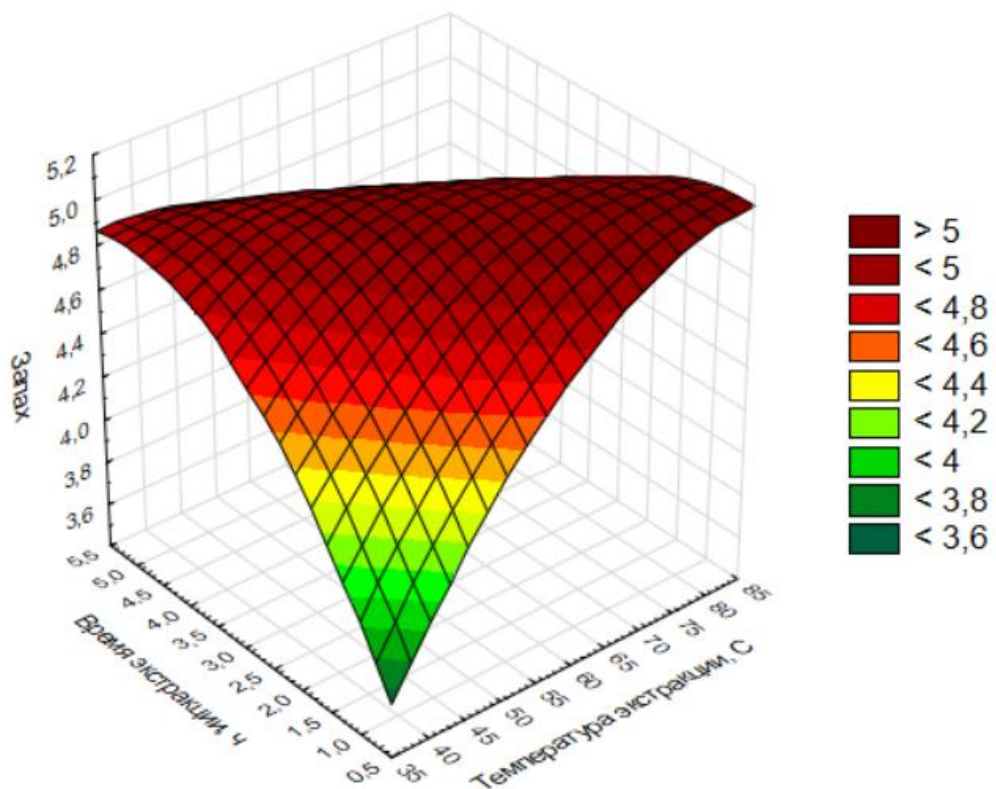


Рисунок 17 – График поверхности, описывающей зависимость балльной оценки запаха от температуры и времени экстракции

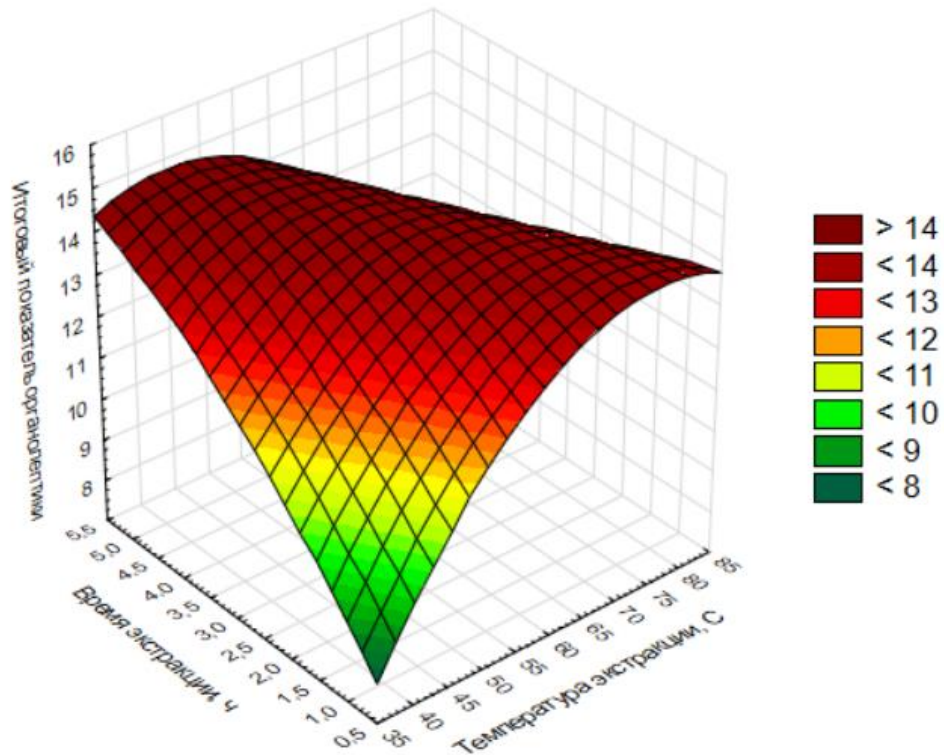


Рисунок 18 – График поверхности, описывающей зависимость итогового показателя органолептической оценки от температуры и времени экстракции

Анализ результатов свидетельствует о том, что содержание сухих веществ прямо пропорционально времени экстракции.

При этом, в раствор преимущественно переходят красящие вещества виноградных выжимок, кислоты и сахара.

Матрица эксперимента состоит из 25 опытов, каждому из которых соответствует уникальная совокупность факторов и зависимых переменных. Для подтверждения достоверности результатов были использованы статистические методы, а именно метод аппроксимации функции нескольких независимых переменных (множественная регрессия). Расчеты проводились с помощью инструментального средства Statistica, а, в частности, его сервисов «3М XYZ Графики» и «Множественная регрессия».

Для каждого выходного показателя  $y_i$  получено уравнение зависимостей:

$$y_m(x_1, x_2) = -3,5323 + 0,0934x_1 + 2,0046x_2 - 0,00006x_1^2 - 0,0123x_1x_2 - 0,1014x_2^2 \quad (1)$$

$$y_1(x_1, x_2) = -3,0986 + 0,1872x_1 + 1,1671x_2 - 0,0012x_1^2 - 0,0135x_1x_2 - 0,0429x_2^2 \quad (2)$$

$$y_2(x_1, x_2) = -6,2871 + 0,2939x_1 + 1,4486x_2 - 0,0019x_1^2 - 0,0205x_1x_2 - 0,0214x_2^2 \quad (3)$$



$$y_3(x_1, x_2) = 0,4171 + 0,1036x_1 + 1,0157x_2 - 0,0006x_1^2 - 0,011x_1x_2 - 0,0643x_2^2 \quad (4)$$

$$y(x_1, x_2) = -8,9686 + 0,5847x_1 + 3,6314x_2 - 0,0037x_1^2 - 0,045x_1x_2 - 0,1286x_2^2 \quad (5)$$

Для определения того, насколько полученные модели регрессии соответствуют данным, на которых они построены, т.е. насколько достоверны приведенные уравнения, для каждого из них был рассчитан коэффициент детерминации  $r^2$  (таблица 7).

Таблица 7 – Значения коэффициентов детерминации

Показатель	Коэффициент детерминации $r^2$
Содержание сухих веществ	0,96098399
вкус	0,76811308
цвет	0,77094505
запах	0,70981535
Итоговый показатель органолептической оценки	0,77868121

Из данной таблицы видно, что значения коэффициента детерминации по всем показателям находятся в диапазоне от 0,71 до 0,96. Это свидетельствует о том, что модели работают хорошо (имеют вполне приемлемую значимость). При этом среди показателей органолептической оценки самый высокий коэффициент детерминации наблюдается для итогового показателя, что говорит также о правильности его вычисления как суммы баллов прочих оценок.

Показатели качества экстракта, полученного из выжимок виноградных сушеных сладких, представлены в таблице 8.

Таблица 8 – Показатели пищевой ценности экстракта, полученного из выжимок виноградных сушеных сладких

Образец	Показатели, мг/100 г				
	витамин В <sub>2</sub>	витамин С	полифеноль- ные вещества	уксусная кислота	винная кислота
Экстракт из сухих несброженных виноградных выжимок	5,00 ± 0,025	8,92 ± 0,037	251,02 ± 8,902	87,24 ± 7,478	351,8 ± 3,22

Результаты исследований подтвердили целесообразность выбора параметров экстракции – температура 60 °С и время экстрагирования 2 часа.

### 3.3 Изучение зависимости технологических режимов культивирования симбиотического консорциума и показателей качества полученного продукта

Исследовали влияние температуры и времени культивирования на скорость размножения бактерий *Gluconacetobacter xylinus* и дрожжей *Zygosaccharomyces kombuchaensis* и, соответственно, рН среды при выращивании на экстракте виноградных выжимок.

Учитывая, что в прошлых исследованиях среда с рН 3,5 служила сдерживающим фактором, а среда с рН 6,5 обеспечивала наилучший рост исследуемых культур, в этом эксперименте устанавливался уровень рН 6,5 (с использованием 0,1 М НСl и 0,1 М NaOH). Начальная концентрация клеток составляла  $10^2$  КОЕ/г.

Маркером завершения культивирования служило достижение рН среды 3,5, так как дальнейшее культивирование при таком значении и снижение кислотности мешают росту исследуемых культур. Ранее проведенные исследования показали, что достижение такого уровня рН возможно при изменении температуры в диапазоне от 15 до 45 °С и времени культивирования от 24 до 120 часов. Эти диапазоны были выбраны для проведения эксперимента. Измерения проводились через 24, 36, 48, 72, 96, 108 и 120 ч. Для исследования влияния температуры на скорость роста консорциума бактерий и дрожжей были выбраны температуры:  $+(15\pm 1)$  °С;  $+(25\pm 1)$  °С;  $+(35\pm 1)$  °С;  $+(45\pm 1)$  °С.

Таким образом, в качестве исходных данных были приняты следующие независимые переменные:

- $x_1$  – температура, °С (4 уровня – 15, 25, 35, 45);
- $x_2$  – время культивирования, ч (7 уровней – 24, 36, 48, 72, 96, 108, 120).

В качестве выходной переменной рассматривалось:

- $y_1$  – концентрация клеток, КОЕ/г;
- $y_2$  – конечная величина рН среды.

Полученные результаты представлены в таблице 9. Поскольку уровень рН среды непосредственно зависит от концентрации клеток, целесообразно отразить значения этого показателя в таблице экспериментальных данных.

Таблица 9 – Экспериментальные данные влияния температуры и времени культивирования на конечную рН среды

№ опыта	температура культивирования, °С	время культивирования, ч	концентрация клеток, КОЕ/Г	конечная рН среды
	$x_1$	$x_2$	$y_1$	$y_2$
1	15	24	$1 \times 10^3$	6,2
2	15	36	$5 \times 10^3$	5,7
3	15	48	$6,9 \times 10^3$	5,1
4	15	72	$8 \times 10^3$	4,6
5	15	96	$9,5 \times 10^3$	4,2
6	15	108	$12 \times 10^3$	3,9
7	15	120	$15 \times 10^3$	3,5
8	<b>25</b>	<b>24</b>	<b><math>2 \times 10^8</math></b>	<b>3,5</b>
9	25	36	$8 \times 10^8$	3,1
10	25	48	$1 \times 10^9$	2,8
11	25	72	$3 \times 10^9$	2,7
12	25	96	$4,4 \times 10^9$	2,2
13	25	108	$6 \times 10^9$	2,1
14	25	120	$6,8 \times 10^9$	2,0
15	35	24	$2 \times 10^9$	3,0
16	35	36	$5,2 \times 10^9$	2,8
17	35	48	$11,7 \times 10^9$	2,4
18	35	72	$12 \times 10^9$	2,3
19	35	96	$9,4 \times 10^9$	2,0
20	35	108	$7,2 \times 10^9$	2,0
21	35	120	$4,2 \times 10^9$	2,0
22	45	24	$1 \times 10^4$	6,0
23	45	36	$4 \times 10^4$	5,4
24	45	48	$7,2 \times 10^4$	5,0
25	45	72	$10,5 \times 10^4$	4,8
26	45	96	$13 \times 10^4$	4,5
27	45	108	$21 \times 10^4$	4,1
28	45	120	$27 \times 10^4$	3,9

Для оцениваемого выходного параметра было получено следующее уравнение зависимости, аппроксимирующее исходные данные.

$$y(x_1, x_2) = 14,694 - 0,704x_1 - 0,0391x_2 + 0,0114x_1^2 + 0,0002x_1x_2 + 0,0001x_2^2 \quad (6)$$

Значение коэффициента детерминации  $r^2$  полученного уравнения составило 0,96332797, что подтверждает адекватность результатов эксперимента.

На рисунке 19 показана 3D диаграмма зависимости рН среды от температуры и времени культивирования, а на рисунке 20 – соответствующая контурная поверхность.

Полученные данные позволяют заключить, что температура  $+ (25 \pm 1) ^\circ\text{C}$  и время культивирования 24 часа являются наиболее оптимальными для быстрого достижения рН среды 3,5 и прекращения культивирования.

При этой температуре активно работают дрожжи *Zygosaccharomyces kombuchaensis*, которые производят этанол, что в свою очередь способствует активному сбраживанию этанола бактериями *Gluconacetobacter xylinus* и образованию органических кислот.

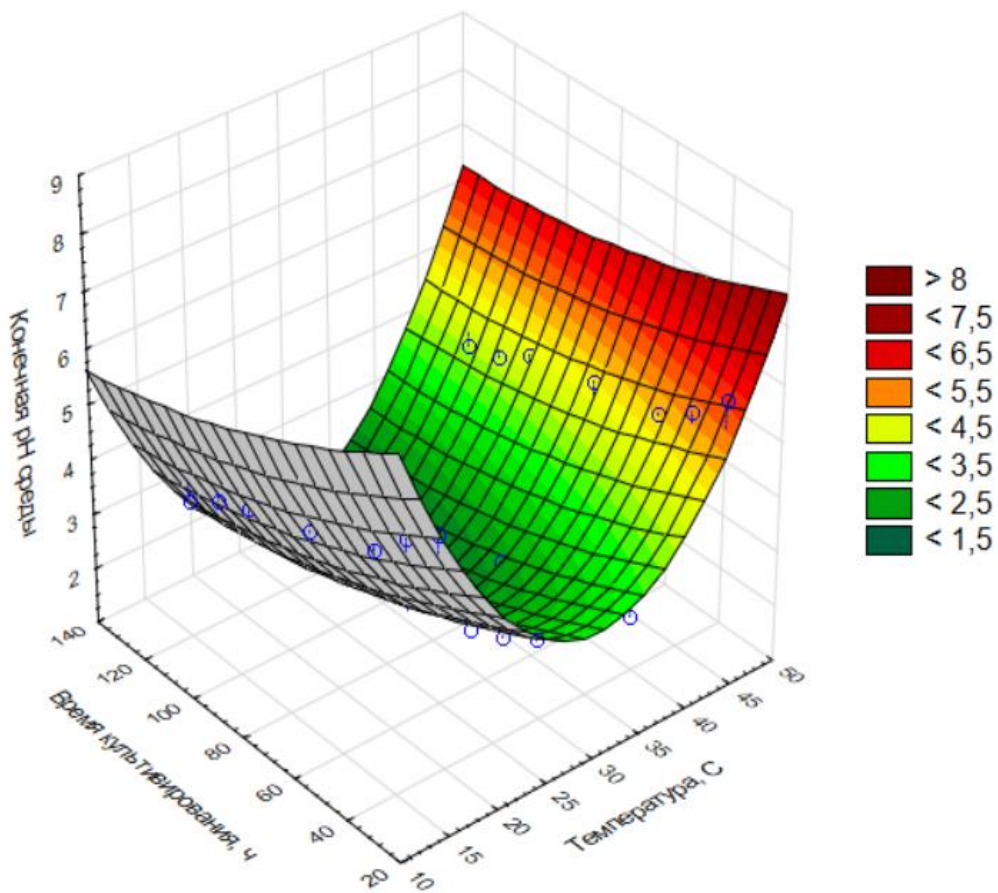


Рисунок 19 – График поверхности, описывающей зависимость рН среды от температуры и времени культивирования консорциума

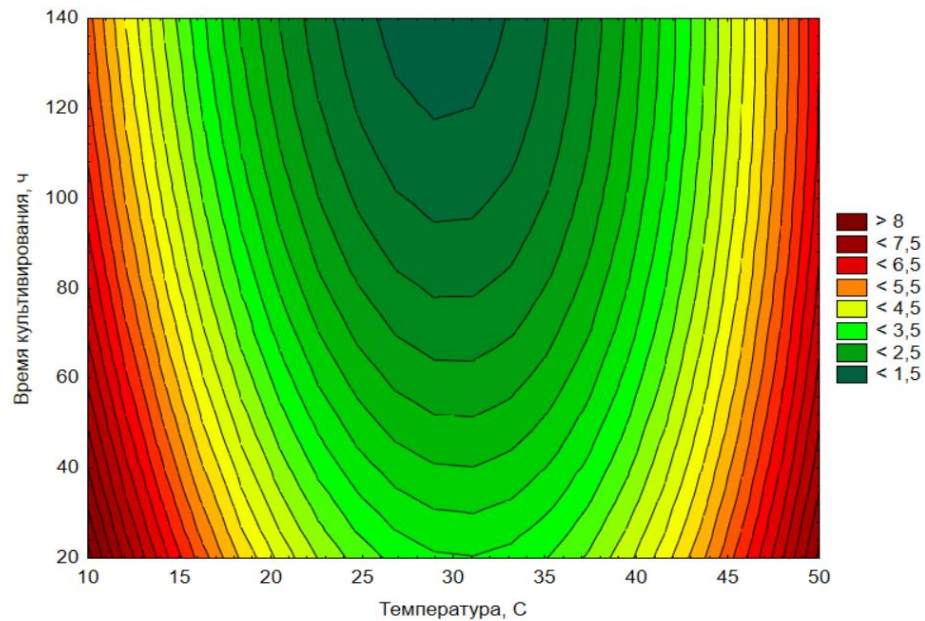


Рисунок 20 – Сечение поверхности зависимости рН среды от температуры и времени культивирования консорциума

Это приводит к снижению рН среды, при этом содержание этанола в среде в конце культивирования остается в пределах допустимых норм (менее 0,5 %).

Температура  $+(35\pm 1)$  °С также дает быстрый результат, однако скорость роста при данной температуре слишком высока и после 96 часов культивирования снижается количество жизнеспособных клеток в среде, за счет сниженного рН, активной переработки клетками питательных веществ среды и снижения общей активности жизнеспособных клеток. Ограничивающим фактором использования температуры культивирования  $+(35\pm 1)$  °С и выше является повышенное производство клетками дрожжей *Zygosaccharomyces kombuchaensis* этанола (в среднем  $\pm 2,0$  %, что является недопустимым).

Температуры среды выше  $+35$  °С тормозят развитие клеток *Gluconacetobacter xylinus*. Из-за активного размножения *Zygosaccharomyces kombuchaensis* среда насыщается этанолом, который бактерии не успевают переработать. На конец культивирования содержание этанола составляет  $\pm 2,0$  %, что является недопустимым показателем.

При температуре  $+(15\pm 1)$  °С рН среды достигло 3,5 за 120 часов, что подтверждает неэффективность роста консорциума при данной температуре для максимально быстрого преобразования субстрата (среды).

Для исследования скорости сбраживания субстрата в зависимости от концентрации экстракта были подготовлены три варианта экстракта виноградных выжимок в соотношениях выжимки/вода, равных 1:3, 1:6 и 1:9.

В полученный отфильтрованный экстракт добавляли 5 % глюкозы и 5 % фруктозы и доводили кислотность до 6,5 помощью 0,1М HCl и 0,1М NaOH.

Исследуемые микроорганизмы в составе консорциума в соотношении 1:1 и концентрации  $10^8$  КОЕ/г добавляли в исследуемые варианты экстрактов и выращивали при ранее определенной наиболее оптимальной температуре  $+(25\pm 1)$  °С в течение 24, 36, 48, 72, 96, 108 и 120 часов. То есть интервал значения этого показателя при проведении эксперимента составил от 24 до 120 часов.

По истечении заданного времени культивирования определяли кислотность среды.

Таким образом, для проведения эксперимента были использованы следующие входные независимые переменные:

- $x_1$  – соотношение выжимки/ вода (3 уровня – 1:3, 1:6, 1:9);
- $x_2$  – время культивирования, ч (7 уровней – 24, 36, 48, 72, 96, 108, 120).

Выходная переменная:  $y$  – конечная рН среды.

Полученные результаты эксперимента представлены в таблице 10.

Таблица 10 – Экспериментальные данные влияния соотношения выжимки/ вода и времени культивирования на конечную рН среды

№ опыта	соотношение выжимки/ вода	время культивирования, ч	конечная рН среды
	$x_1$	$x_2$	$y$
1	2	3	4
1	1:3	24	5,8
2	1:3	36	5,5
3	1:3	48	5,1
4	1:3	72	4,7
5	1:3	96	4,4
6	1:3	108	3,9
7	1:3	120	3,7

1	2	3	4
<b>8</b>	<b>1:6</b>	<b>24</b>	<b>3,5</b>
9	1:6	36	3,2
10	1:6	48	2,9
11	1:6	72	2,7
12	1:6	96	2,4
13	1:6	108	2,2
14	1:6	120	2,1
15	1:9	24	5,1
16	1:9	36	4,9
17	1:9	48	4,5
18	1:9	72	4,4
19	1:9	96	4,1
20	1:9	108	4,0
21	1:9	120	4,0

Соответствующее уравнение зависимости значения рН среды от соотношения выжимки/вода и времени культивирования имеет вид:

$$y(x_1, x_2) = 12,0949 - 81,021x_1 - 0,0148x_2 + 192,5518x_1^2 - 0,0433x_1x_2 + 0,0001x_2^2 \quad (7)$$

Значение коэффициента детерминации этого уравнения  $r^2$  также довольно велико и составляет 0,99430371.

На рисунках 21 и 22 показаны 3D диаграмма и контурная поверхность зависимости рН среды от концентрации экстракта виноградных выжимок (соотношение выжимки/вода) и времени культивирования.

Из таблицы 10 видно, что наиболее оптимальное соотношение выжимки/вода – 1:6, так как при соотношении 1:3 конечная кислотность раствора достигла значения 3,7 за 120 часов культивирования.

При соотношении 1:9 конечная кислотность сброживаемого экстракта не опустилась ниже 4,0 за все время исследования, что указывает на недостаточно активный рост клеток консорциума при соотношении экстракта 1:9.

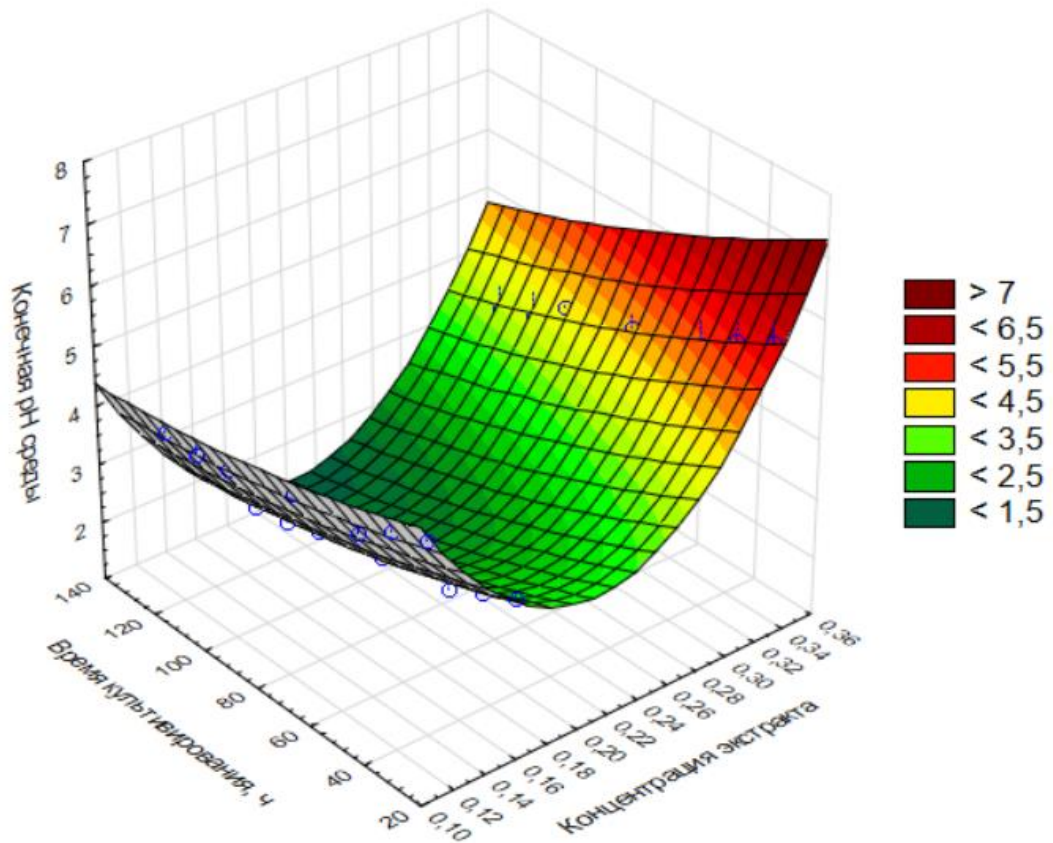


Рисунок 21 – Поверхность, отклика рН среды от концентрации экстракта и времени культивирования консорциума

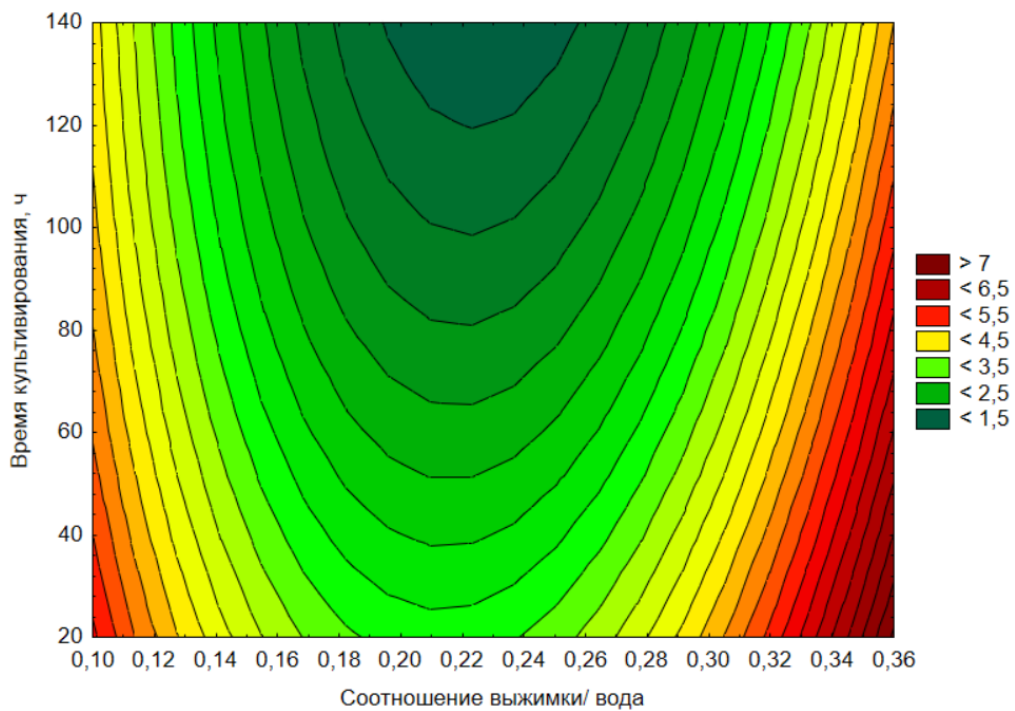


Рисунок 22 – Сечение поверхности зависимости рН среды от концентрации экстракта и времени культивирования консорциума



Таким образом, количественный выход клеток исследуемого консорциума выше и быстрее всего, если для наращивания биомассы используется экстракт виноградных выжимок, приготовленный с водой в соотношении выжимки-вода 1:6.

На основании полученных результатов можно заключить, что наилучшими параметрами для приготовления экстракта и последующего культивирования являются условия, рассмотренные в варианте 8, поскольку при использовании этих параметров время достижения рН 3,5 и, соответственно, время завершения культивирования были минимальными.

Для подбора содержания редуцирующих веществ в экстракте, обеспечивающего наиболее эффективное сбраживание субстрата, были подготовлены три варианта экстракта виноградных выжимок с соотношением выжимки и воды 1:6, при этом добавляли различное количество редуцирующих веществ в виде смеси глюкозы и фруктозы в равных количествах (в пределах от 10 до 30% от общего объема сбраживаемого экстракта).

Кислотность полученного экстракта регулировалась до 6,5 с помощью 0,1М HCl и 0,1М NaOH.

Исследуемые микроорганизмы, входящие в состав консорциума в соотношении 1:1 и с концентрацией  $10^8$  КОЕ/г, добавляли в исследуемые экстракты и выращивали при оптимальной температуре  $+(25 \pm 1)$  °С в течение времени, варьирующего от 24 до 120 часов.

После завершения, заданного периода культивирования измерялась кислотность среды, а маркером завершения процесса служило достижение рН 3,5.

Входными независимыми переменными при проведении эксперимента являются:

- $x_1$  – содержание редуцирующих веществ, % (3 уровня – 10, 20, 30);
- $x_2$  – время культивирования, ч (7 уровней – 24, 36, 48, 72, 96, 108, 120).

Выходная переменная:  $y$  – конечная рН среды.

Полученные результаты эксперимента представлены в таблице 11.

Таблица 11 – Экспериментальные данные влияния содержания редуцирующих веществ и времени культивирования на конечную рН среды, при температуре  $+(25\pm 1)^\circ\text{C}$

№ опыта	содержание редуцирующих веществ, %	время культивирования, ч	конечная рН среды
	$x_1$	$x_2$	$y$
1	<b>10</b>	<b>24</b>	<b>3,5</b>
2	10	36	3,1
3	10	48	2,9
4	10	72	2,7
5	10	96	2,5
6	10	108	2,2
7	10	120	2,1
8	20	24	4,9
9	20	36	4,5
10	20	48	3,9
11	20	72	3,5
12	20	96	3,0
13	20	108	2,7
14	20	120	2,4
15	30	24	6,1
16	30	36	5,8
17	30	48	5,5
18	30	72	5,1
19	30	96	4,8
20	30	108	4,4
21	30	120	4,0

Уравнение зависимости значения рН среды от концентрации редуцирующих веществ и времени культивирования имеет вид:

$$y(x_1, x_2) = 3,5163 + 0,0103x_1 - 0,0162x_2 + 0,0034x_1^2 - 0,0004x_1x_2 + 0,00003x_2^2 \quad (8)$$

Адекватность полученного уравнения подтверждена высоким значением коэффициента детерминации  $r^2$ , равным 0,9754460.

На рисунке 23 показана 3D диаграмма зависимости рН среды от концентрации редуцирующих веществ и времени культивирования, а на рисунке 24 – соответствующая контурная поверхность.

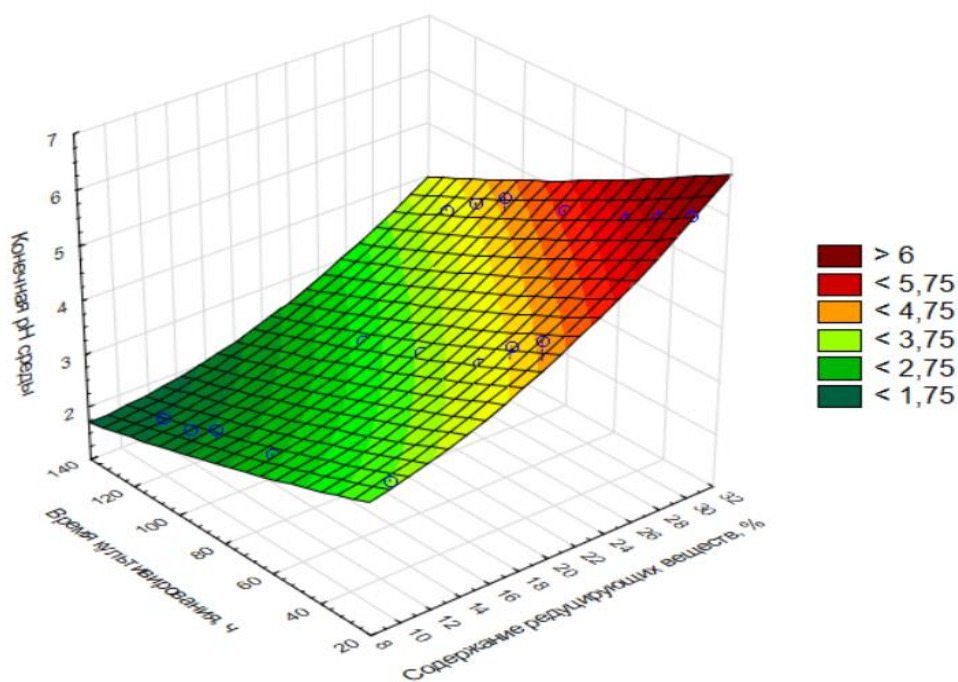


Рисунок 23 – График поверхности, описывающий зависимости рН среды от концентрации редуцирующих веществ и времени культивирования

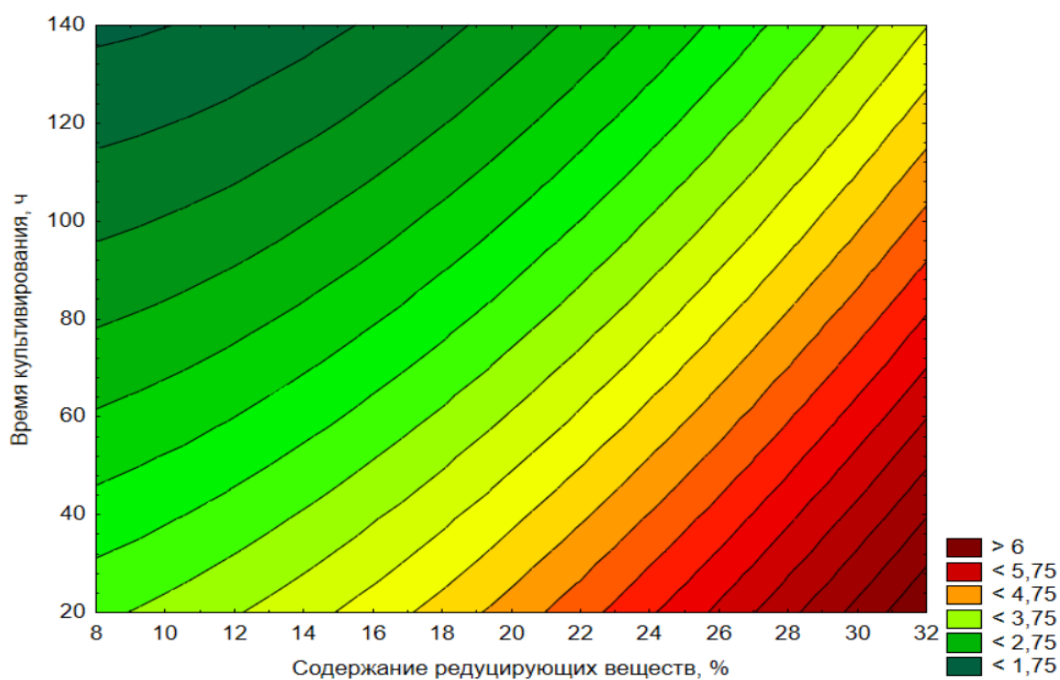


Рисунок 24 – Диаграмма зависимости рН среды от концентрации редуцирующих веществ и времени культивирования

Результаты эксперимента показывают, что оптимальное содержание редуцирующих веществ в экстракте составляет 10 %, поскольку уже через 24 часа

сбраживания с использованием консорциума рН снизилось до необходимого минимального значения 3,5.

При 20 % содержании редуцирующих веществ рН 3,5 достигалось лишь спустя 72 часа, что в три раза дольше по сравнению с концентрацией 10 %. Это указывает на то, что для экономической оптимизации производства и сокращения времени сбраживания целесообразно использовать уровень редуцирующих веществ в 10 % от общего объема экстракта.

При концентрации 30 % рН экстракта на протяжении всего эксперимента не опускалась ниже 4,0, поскольку избыточное количество редуцирующих веществ в растворе замедляет размножение и жизнедеятельность клеток консорциума.

На следующем этапе исследования определяли количество вносимого в экстракт консорциума для наиболее быстрого сбраживания при прочих установленных параметрах с целью создания напитка высокого качества.

На рисунке 25 представлена структура бактериальной целлюлозы с включениями клеток, которую производит исследуемый консорциум дрожжей *Zygosaccharomyces kombuchaensis* и бактерий *Gluconacetobacter xylinus*.

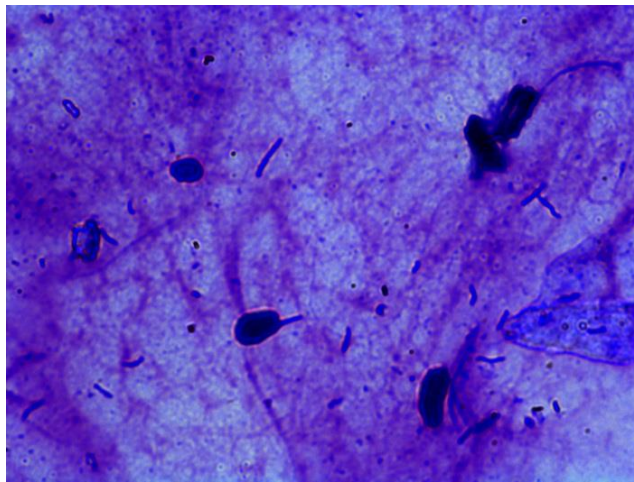


Рисунок 25 – Бактериальная целлюлоза консорциума дрожжей *Zygosaccharomyces kombuchaensis* и бактерий *Gluconacetobacter xylinus*

Из-за высокой кислотности среды (рН 2,5-3,5) и ее состава, оптимального для уксуснокислых бактерий, патогенные микроорганизмы не могут развиваться. Бактерии *Gluconacetobacter xylinus* синтезируют внеклеточный полимер –  $\beta$ -

глюкан (связи 1→4), который идентичен растительной целлюлозе. Эти бактерии способны образовывать целлюлозу из различных моносахаридов, сахарокарбонных кислот, этанола и уксусной кислоты.

Биологические характеристики уксуснокислых бактерий, их способность к множественным окислительным превращениям, а также к синтезу целлюлозы и других полисахаридов подчеркивают широкий потенциал применения бактерий *Glucanacetobacter xylinus* в различных областях.

В экстракт вносили исследуемый консорциум бактерий и дрожжей с произведенной бактериальной целлюлозой в различном процентном соотношении от объема экстракта, варьирующимся в диапазоне от 5 до 15 % и культивировался при ранее определенной температуре  $+(25\pm 1)$  °С в течение количества часов, изменяющимся от 24 до 120.

По истечении заданного времени культивирования определялась кислотность среды. Маркером окончания культивирования служило достижение средой рН 3,5. Исходя из этого, можно выявить входные независимые переменные для проведения эксперимента. Ими являются:

–  $x_1$  – количество консорциума в экстракте, % от объема экстракта (3 уровня – 5, 7, 10);

–  $x_2$  – время культивирования, ч (7 уровней – 24, 36, 48, 72, 96, 108, 120).

Выходная переменная остается неизменной:  $y$  – конечная рН среды.

В таблице 12 приведены полученные результаты.

Таблица 12 – Данные эксперимента о воздействии количества консорциума в экстракте и времени культивирования на конечное значение рН среды

№ опыта	количество консорциума в экстракте, % от объема экстракта	время культивирования, ч	конечная рН среды
	$x_1$	$x_2$	$y$
1	2	3	4
1	5	24	6,2
2	5	36	5,9
3	5	48	5,6
4	5	72	5,2
5	5	96	4,9

1	2	3	4
6	5	108	4,5
7	5	120	4,1
8	7	24	5,2
9	7	36	4,8
10	7	48	4,5
11	7	72	4,2
12	7	96	3,9
13	7	108	3,7
<b>14</b>	<b>7</b>	<b>120</b>	<b>3,5</b>
<b>15</b>	<b>10</b>	<b>24</b>	<b>3,5</b>
16	10	36	3,2
17	10	48	3,0
18	10	72	2,8
19	10	96	2,5
20	10	108	2,2
21	10	120	2,0

Соответствующее уравнение зависимости значения рН среды от количества консорциума в экстракте и времени культивирования имеет следующий вид:

$$y(x_1, x_2) = 9,1547 - 0,4712x_1 - 0,0261x_2 - 0,0067x_1^2 + 0,0011x_1x_2 + 0,000007x_2^2 \quad (9)$$

Значение коэффициента детерминации  $r^2$  в данном случае получилось очень высоким (0,99252998), что свидетельствует о достоверности полученных результатов эксперимента.

На рисунке 26 показана 3D диаграмма зависимости рН среды от количества консорциума в экстракте и времени культивирования, а на рисунке 27 – контурная поверхность той же зависимости.

Полученные данные позволяют заключить, что при содержании консорциума в 5 % от общего объема экстракта уровень рН сброживаемого экстракта не опускается ниже 4,1 на протяжении всего исследования, что указывает на необходимость увеличения доли консорциума для ускоренного сброживания свыше 5 %.

При добавлении консорциума в объеме 7 % к массе экстракта, рН экстракта достигает требуемого значения только через 120 часов культивирования, что значительно увеличивает время процесса.

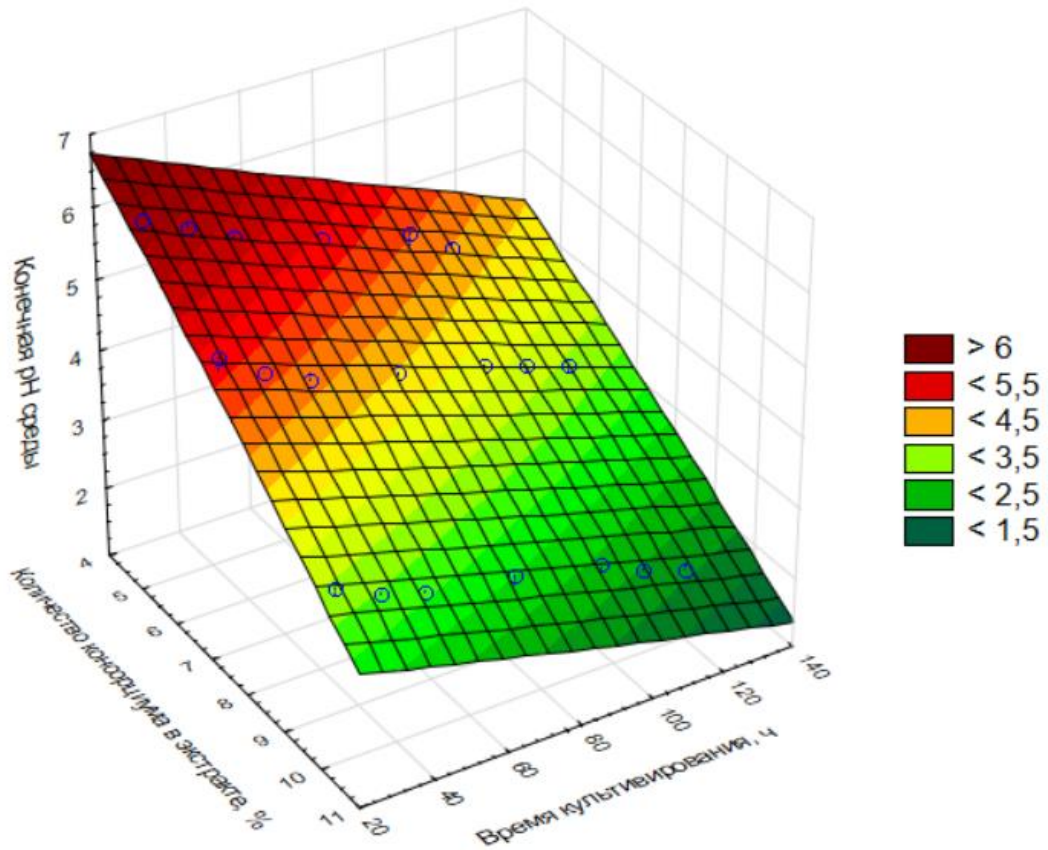


Рисунок 26 – График поверхности, описывающий, зависимости рН среды от количества консорциума в экстракте и времени культивирования

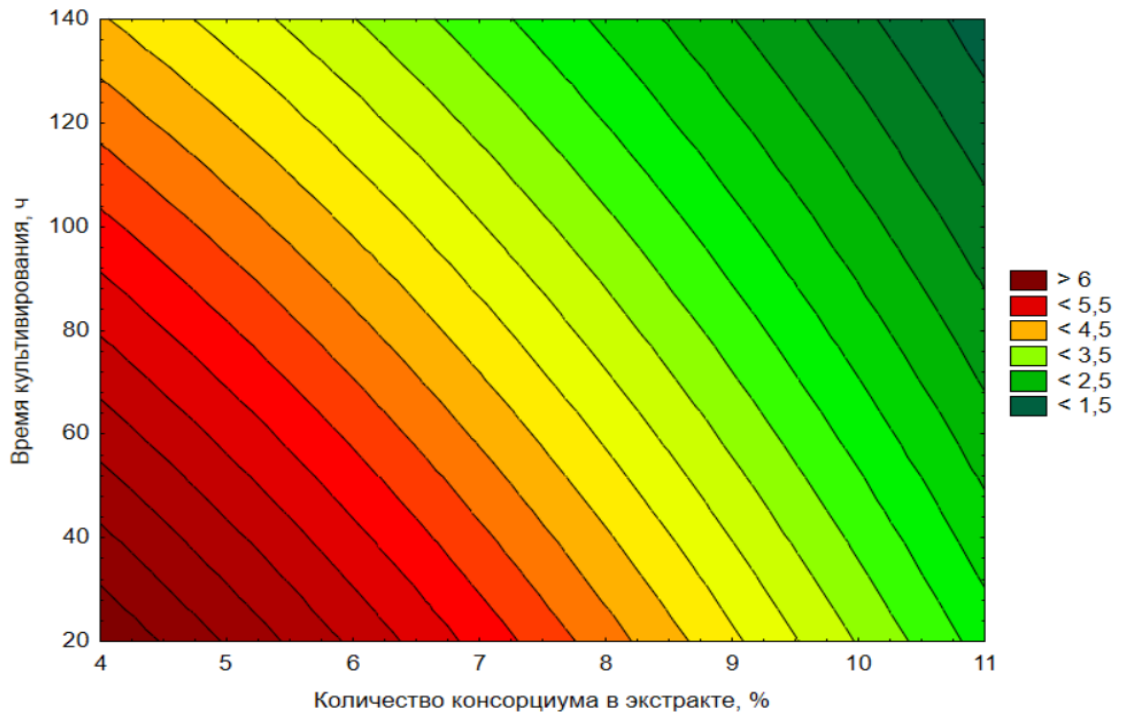


Рисунок 27 – Диаграмма зависимости рН среды от количества консорциума в экстракте и времени культивирования

Оптимальная доля вносимого консорциума составляет 10 % от общего объема экстракта, так как при таком соотношении рН экстракта достигает 3,5 за 24 часа сбраживания.

Повышение доли консорциума выше 10 % не приводит к сокращению времени ферментации.

На основе полученных результатов эксперимента было установлено, что оптимальное количество консорциума для наиболее быстрого и эффективного сбраживания экстракта составляет 10 % от общего объема.

Таки образом, на основании проведенных исследований и разработанных математических моделей были выбраны и установлены оптимальные режимы приготовления экстрактов и напитков брожения:

- оптимальные время и температура экстрагирования для получения высоких органолептических показателей готового продукта – 2 часа при 60 °С.

- оптимальная температура культивирования симбиотического консорциума –  $+(25\pm 1)$  °С в течение 24 часов;

- оптимальное соотношение выжимки-вода для максимальной скорости сбраживания без снижения органолептических показателей напитка – 1:6;

- оптимальное содержание редуцирующих веществ в экстракте – 10 %;

- оптимальное количество вносимого симбиотического консорциума для наиболее быстрого сбраживания экстракта – 10 % от общего количества экстракта.

Далее представляло интерес изучить биохимические показатели получаемого напитка до и после ферментации экстракта в течение 24 часов при  $t=+(25\pm 1)$  °С.

Ферментация с помощью консорциума SCOBY происходила в течение 24 часов при температуре  $+(25\pm 1)$  °С.

Результаты сравнения основных показателей экстракта до и после ферментации в течение 24 часов при температуре  $+(25\pm 1)$  °С представлены в таблице 13.



Таблица 13 – Сравнение физико-химических показателей экстракта до и после ферментации в течение 24 часов при температуре + (25±1) °С с помощью консорциума SCOBY

Образец	Показатели в 100 мл образца, мг/%, $x \pm m$				
	редуц. сахара	общ. сахара	сухие в-ва	pH	полифенольные в-ва
Экстракт до ферментации	2,9 ± 0,013	9,88 ± 0,067	10,54 ± 0,153	3,76 ± 0,00013	291,02 ± 1,102
Экстракт после ферментации	2,78 ± 0,017	9,3 ± 0,025	10,06 ± 0,023	3,64 ± 0,0104	78,34 ± 1,293

На рисунке 28 представлена сравнительная диаграмма физико-химических показателей экстракта до и после ферментации с помощью консорциума SCOBY.

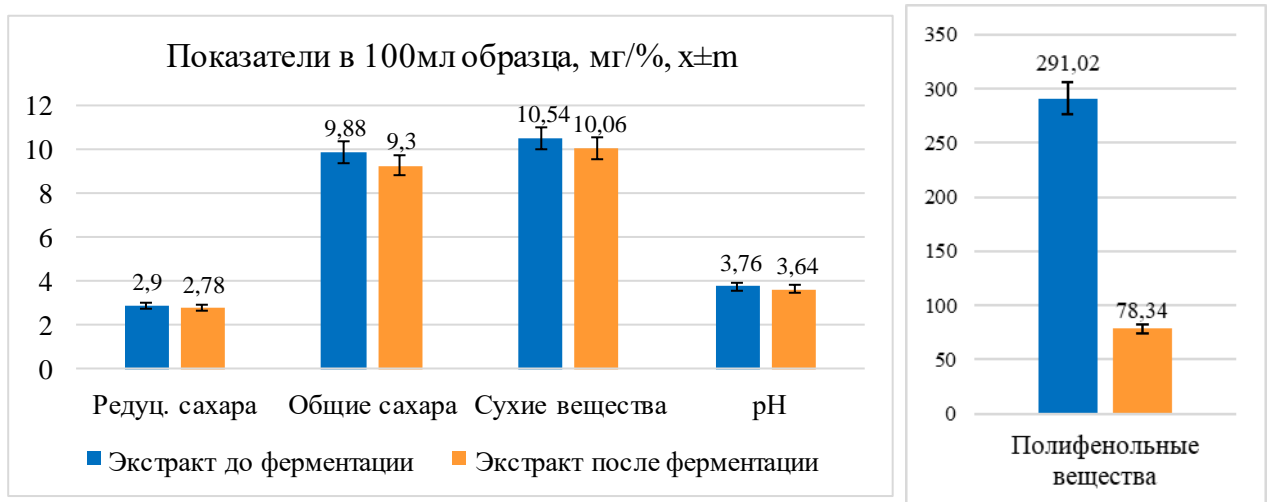


Рисунок 28 – Сравнение основных показателей экстракта до и после ферментации в течение 24 часов при  $t = + (25 \pm 1) ^\circ\text{C}$  с помощью консорциума SCOBY

Как видно из таблицы 13, количество редуцирующих и общих сахаров, количество сухих веществ и значение pH после ферментации с помощью консорциума SCOBY снижаются незначительно. Однако количество полифенольных веществ снижается в 3,7 раза, что объясняется высоким метаболизмом консорциума и активным потреблением им полифенольных веществ по мере развития клеток и ферментации среды.

Так как полифенольные вещества считаются пребиотиками, их высокое содержание в экстракте обуславливает быстрый рост полезных микроорганизмов консорциума, которые в свою очередь предотвращают размножение негативной патогенной микрофлоры в напитке.

Далее представляло интерес исследовать содержание витаминов и микроэлементов в экстракте до и после ферментации с помощью консорциума SCOBY.

Результаты до и после ферментации в течение 24 часов при температуре  $+ (25 \pm 1) ^\circ\text{C}$  представлены в таблице 14.

Таблица 14 – Содержание витаминов и микроэлементов в экстракте до и после ферментации в течение 24 часов при температуре  $+ (25 \pm 1) ^\circ\text{C}$  с помощью консорциума SCOBY

Образец	Показатели в 100мл образца, мг/%, $x \pm m$			
	витамин С	витамин В <sub>2</sub>	витамин В <sub>6</sub>	железо
Экстракт ферментации до	$10,46 \pm 0,043$	$6,12 \pm 0,037$	$0,134 \pm 0,00038$	$1,708 \pm 0,0111$
Экстракт ферментации после	$15,62 \pm 0,097$	$6,9 \pm 0,035$	$0,192 \pm 0,00017$	$2,124 \pm 0,00013$

Из данных таблицы 14 видно, что содержание витамина С после ферментации экстракта увеличилось в 1,49 раза, витамина В<sub>2</sub> – в 1,12 раз, витамина В<sub>6</sub> – в 1,4 раза. Содержание железа в 100 мл экстракта после ферментации так же увеличилось в 1,2 раза, на 0,416 мг/% в 100 мл образца.

Исходя из представленных данных, можно предположить, что изначально при приготовлении экстракта, в жидкую фазу из выжимок перешли остаточные сахара и полифенольные вещества, необходимые микроорганизмам для роста и развития. Соответственно, расходуя сахара и полифенольные вещества, как основной источник питания, консорциум SCOBY в процессе жизнедеятельности производит витамины: дрожжевые клетки производят витамины группы В, бактериальные клетки – витамин С.

Присутствующая выработка железа в процессе ферментации экстракта объясняется тем, что бактерии консорциума способны окислять двухвалентное желе-

зо, выделившееся в процессе экстрагирования из выжимок, до трехвалентного и использовать освобождающуюся при этом энергию на усвоение углерода.

Большое значение для оценки качества разрабатываемых напитков играет содержание органических кислот.

В процессе исследования определялось содержание уксусной, винной, янтарной, лимонной и яблочных кислот. Выбор этих кислот для оценки был обусловлен следующими факторами.

Уксусная кислота образуется в процессе углеводного обмена и представляет собой результат брожения спиртовых и углеводных компонентов. Суточные нормы потребления уксусной кислоты не установлены. Винная кислота находит широкое применение в пищевой промышленности в качестве регулятора кислотности и антиоксиданта, чьи антиокислительные свойства помогают продлить срок хранения продуктов. Янтарная кислота уменьшает выработку свободных радикалов, способствует утилизации жирных кислот и глюкозы, предотвращает активацию перекисного окисления липидов, нормализует газовый состав крови и кислотно-щелочное равновесие, а также оказывает положительное влияние на внутриклеточные аэробные процессы [144].

Лимонная кислота и ее соли широко используется в качестве вкусовой добавки, регулятора кислотности и консерванта в пищевой промышленности (пищевые добавки E330-E333) [145]. Суточная норма потребления лимонной кислоты не должна превышать 120 миллиграммов на килограмм массы тела.

Яблочная кислота используется в качестве пищевой добавки (E 296) натурального происхождения в производстве охлаждающих напитков и кондитерских изделий, выполняя функции регулятора кислотности и консерванта, который предотвращает размножение патогенных микроорганизмов, таким образом продлевая срок хранения продуктов. В небольших концентрациях она оказывает благоприятное влияние на организм: повышает аппетит, улучшает кровообращение, стимулирует метаболизм и способствует синтезу собственного коллагена.

Целью дальнейших исследований было изучение содержания различных кислот в экстракте до и после ферментации в течение 24 часов при температуре  $(25 \pm 1)$  °C. Содержание кислот определяли с помощью системы капиллярного

электрофореза «Капель – 105 М» в соответствии с Методическим и аналитическим обеспечением исследований по садоводству [107].

Содержание кислот в экстракте до и после ферментации в течение 24 часов при температуре + (25±1) °С представлены в таблице 15.

Таблица 15 – Сравнение содержания кислот в экстракте до и после ферментации в течение 24 часов при температуре + (25±1) °С с помощью консорциума SCOBY

Образец, №	Показатели в 100мл образца, мг/%, $x \pm m$				
	уксусная кислота	винная кислота	янтарная кислота	лимонная кислота	яблочная кислота
Экстракт № 1 до ферментации	93,04 ± 0,248	300,0 ± 1,57	2,34 ± 0,013	9,38 ± 0,032	59,74 ± 0,443
Экстракт № 1 после ферментации	100,4 ± 5,3	261,2 ± 7,7	7,36 ± 0,098	10,16 ± 0,033	51,4 ± 1,435

Как видно из таблицы 15, в экстракте до и после ферментации произошло повышение содержания уксусной, янтарной и лимонной кислот, и снижение содержания винной и яблочной кислоты. Содержание уксусной и лимонной кислот увеличилось в сброженном экстракте незначительно, на 6,9 и 7,6 % соответственно. Содержание янтарной кислоты увеличилось значительно, на 68 %, или в 3,1 раза.

Содержание винной кислоты снизилось в 1,14 раз (на 12,9 %), а содержание яблочной – в 1,16 раза (на 13,9 %).

На основе представленных данных можно заключить, что уксусная кислота оказывает значительное влияние на жизнеспособность симбиотического консорциума и на конечные вкусовые характеристики напитка. Содержание лимонной кислоты после ферментации экстракта остается в пределах нормы и выполняет функцию естественного консерванта для напитка.

Содержание органических кислот существенно влияет на жизнеспособность симбиотического консорциума и на окончательное качество вкуса напитка.

На следующем этапе производили подбор рецептурных компонентов, технологии и технологической линии производства напитков брожения и оценку потребительских свойств и безопасности. Так же осуществляли подбор упаковочных материалов для разработанных напитков брожения.

### 3.4 Разработка рецептуры, обоснование технологии производства напитка, оценка потребительских свойств и безопасности

На данном этапе исследований составлялись рецептурные смеси безалкогольных напитков брожения на основе консорциума дрожжей и бактерий SCOBY и экстракта из виноградных выжимок (таблица 16).

Таблица 16 – Подбор рецептурных компонентов для приготовления напитков

Наименование рецептурного компонента, единица измерения	Номер варианта, дозировка на 10 л напитка							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Экстракт из виноградных выжимок, л	10,5	10,	9,5	9,0	8,5	8,5	8,0	8,0
Консорциум SCOBY, кг	1	1	1	1	1	1	1	1
Сахар, кг	0,3	0,5	0,7	1,0	1,3	1,5	1,8	2,0
Вода, л	до 10 л							

В таблице 17 приведены результаты бальной оценки проведения дегустации исследуемых напитков.

Таблица 17 – Результаты дегустационной оценки образцов напитков

Показатель качества	Номер варианта, оценка (балл)							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Прозрачность	5	5	5	5	4	4	5	5
Цвет	4	5	5	5	5	5	4	5
Вкус	4	5	5	5	4	5	4	4
Аромат	4	4	4	5	5	5	5	4
Результаты дегустации, общий балл	17	19	19	20	18	19	18	18

Результаты дегустационной оценки показали, что наибольшее количество баллов набрал образец, приготовленные по варианту № 4.

Данный образцы имеет приятный желтый цвет, обусловленный применением виноградных выжимок. Во вкусе преобладает кисловато-сладкий вкус, в котором четко ощущается виноградный привкус. Аромат напитков приятный с виноградными нотами.

Напитки брожения по физико-химическим показателям должны соответствовать ГОСТ 28188 – 2014 «Напитки безалкогольные. Общие технические условия» [146].

Физико-химические показатели напитков приведены в таблице 18.

Таблица 18 – Физико-химические показатели напитка

Наименование показателя	Значение показателя	Требования ГОСТ 28188-2014
	«Тамали-Джаз»	
Кислотность, см <sup>3</sup> 1,0 моль/1000 см раствора NaOH, пошедшего на титрование 100 см <sup>3</sup> напитка	0,6±0,3	в соответствии с рецептурами
Объемная доля спирта, %	0,44	не более 0,5
Массовая доля сухих веществ, %	14,0±0,1	в соответствии с рецептурами

Микробиологические показатели безопасности и санитарно-гигиенические нормы приведены в таблице 19.

Таблица 19 – Санитарно-гигиенические и микробиологические показатели безопасности разработанного напитка

Наименование показателя, ед. измерения	Допустимые уровни, в соответствии ТР ТС 021/2011	Результат испытания
1	2	3
Свинец, мг/кг, не более	0,3	0,07
Мышьяк, мг/кг, не более	0,1	менее 0,001
Кадмий, мг/кг, не более	0,03	0,01±0,003
Ртуть, мг/кг, не более	0,005	менее 0,001
Патогенные микроорганизмы, в т.ч. сальмонеллы, не допускаются в массе продукта, г	25	не обнаружено

1	2	3
Количество мезофильных аэробных микроорганизмов, КОЕ/100 см <sup>3</sup> , не более	10,0	2,0
Бактерии группы кишечных палочек (БГКП), не допускаются в массе напитка (г/см <sup>3</sup> )	10,0	не обнаружено
Дрожжи и плесени (в сумме), КОЕ/г (см <sup>3</sup> ), не более	100,0	30,0

По результатам испытаний на микробиологические показатели безопасности и содержание токсичных элементов разработанный напиток полностью соответствует требованиям ТР ТС 021/2011.

Значения пищевой ценности в 100 мл напитков приведены в таблице 20.

Таблица 20 – Пищевая ценность 100 мл напитка

Наименование напитка	Содержание, г					Энергетическая ценность, ккал/кДж
	белки,	жиры,	сахара	орг. кислоты	пищевые волокна	
«Тамали-Джаз»	1,0	1,0	13,0	1,0	2,0	64,0

При хранении напитка, в нем меняются показатели качества. В связи с этим, были установлены рекомендуемые режимы и сроки хранения: хранить готовый продукт необходимо при температуре от +0 °С до +25 °С. Срок годности – не более 180 суток со дня изготовления.

На базе опытного образца разработана и утверждена рецептура и нормы расхода сырья на 100 дал готового напитка «Тамали-Джаз», (таблица 21).

Таблица 21 – Рецептура и нормы расхода сырья на 100 дал готового напитка «Тамали-Джаз»

Наименование сырья	Содержание сырья в готовом напитке		Содержание сухих веществ в сырье	
	единица измерения	количество	% мас	кг
1	2	3	4	5
Экстракт из выжимок виноградных	л	900,0	4,5	40,50

1	2	3	4	5
Симбиотический консорциум SCOBY	кг	100,0	-	-
Сахар	кг	100,0	99,85	99,85
Итого:	-	1000,0	-	140,35

Расчет рецептуры напитка брожения введется с учетом прироста сухих веществ за счет жизнедеятельности консорциума SCOBY и потерь (10 %) при удалении симбиотического консорциума.

Содержание сухих веществ теоретическое и фактическое определялось с учетом плотности готового напитка (1,023 г/см<sup>3</sup>) [147].

На основании комплекса проведенных исследований была разработана технологическая документация, представлена в Приложениях Б, В, включающая Технические условия «Напиток брожения «Тамали-Джаз»». ТУ 11.07.19 – 073 – 17021101 – 2022», Технологическую инструкцию по производству напитка брожения «Тамали-Джаз»». ТИ 11.07.19.129 – 073 – 17021101 – 2022 (Приложение Б, Приложение В).

Обеспечение суточной потребности в компонентах рациона трудоспособного населения (взрослые мужчины и женщины от 18 до 64 лет) при потреблении 500 мл напитка в соответствии с Методическими рекомендациями МР 2.3.1.0253-21 [148] приведено в таблице 22.

Таблица 22 – Обеспечение суточной потребности в компонентах рациона взрослого трудоспособного населения при потреблении 500 мл напитков брожения

Компоненты рациона, ед.изм.	Суточная потребность (средние значения)	Обеспечение суточной потребности			
		«Тамали-Джаз»		Традиционный напиток	
		Ед.изм.	%	Ед.изм.	%
1	2	3	4	5	6
Углеводы, г	365,0	65,0	17,8	57,2	15,7
Пищевые волокна, г	30,0	10,0	33,3	8,7	29,0
Витамины, мг в т.ч.					



1	2	3	4	5	6
С (аскорбиновая кислота)	60,0	10,6	17,7	9,95	16,6
В <sub>1</sub> (тиамин)	1,4	0,1	7,1	0,1	7,1
В <sub>2</sub> (рибофлавин)	1,6	0,9	≥60	0,8	55,6
В <sub>6</sub> (пиридоксин)	2,0	0,2	10,0	0,2	10,0
Энергетическая ценность, ккал	1800,0	320,0	17,78	274,4	15,22

На основании данных, указанных в таблице 22, можно сделать вывод, что при употреблении 500 мл напитка «Тамали-Джаз», удовлетворяется 6,6 % суточной потребности в белке, 6,0 % – в жирах, 17,8 % – в углеводах, 33,3 % – в пищевых волокнах, обеспечивается более 15 % от суточной нормы витаминов В<sub>2</sub>, С, пищевыми волокнами. Таким образом, данный напиток может быть отнесен к функциональным продуктам питания [149].

К факторам, способствующим сохранению качества напитков, относится также выбор упаковки. Обычно для упаковывания безалкогольных напитков используют стеклянные бутылки или упаковку из полиэтилентерефталата. Выбор упаковки основывается на нескольких критериях: составе упаковываемого продукта; условиях его хранения; характеристиках упаковочного материала (физико-механические характеристики, барьерные свойства, санитарно-гигиенические показатели, технологические параметры, устойчивость к старению материала и другие); динамике изменения качества самого продукта и упаковки.

Для выбора упаковочных материалов были проведены социологические исследования, направленные на изучение предпочтений потребителей безалкогольных напитков относительно различных видов упаковки (Приложение А).

Результаты исследования представлены на рисунке 29.

Установлено, что потребители предпочитают разные виды упаковки в зависимости от типа напитка.

Далее изучали, влияния вида упаковки на качество напитков в процессе хранения. Разработанный напиток был пастеризован при температуре +75...80 °С в течение 20 минут с последующим медленным охлаждением и упакованы в два

типа тар: стеклянные бутылки объемом 500 мл и ПЭТ-бутылки объемом 500 мл. Бутылки были тщательно укупорены винтовыми крышками для стеклянной тары и полимерными крышками для ПЭТ-упаковки. Хранение проводилось в течение 180 дней при температуре от +20 °С до +25 °С и относительной влажности воздуха не более 75 %. В ходе исследования были оценены органолептические характеристики (внешний вид, цвет, вкус, аромат) напитков.

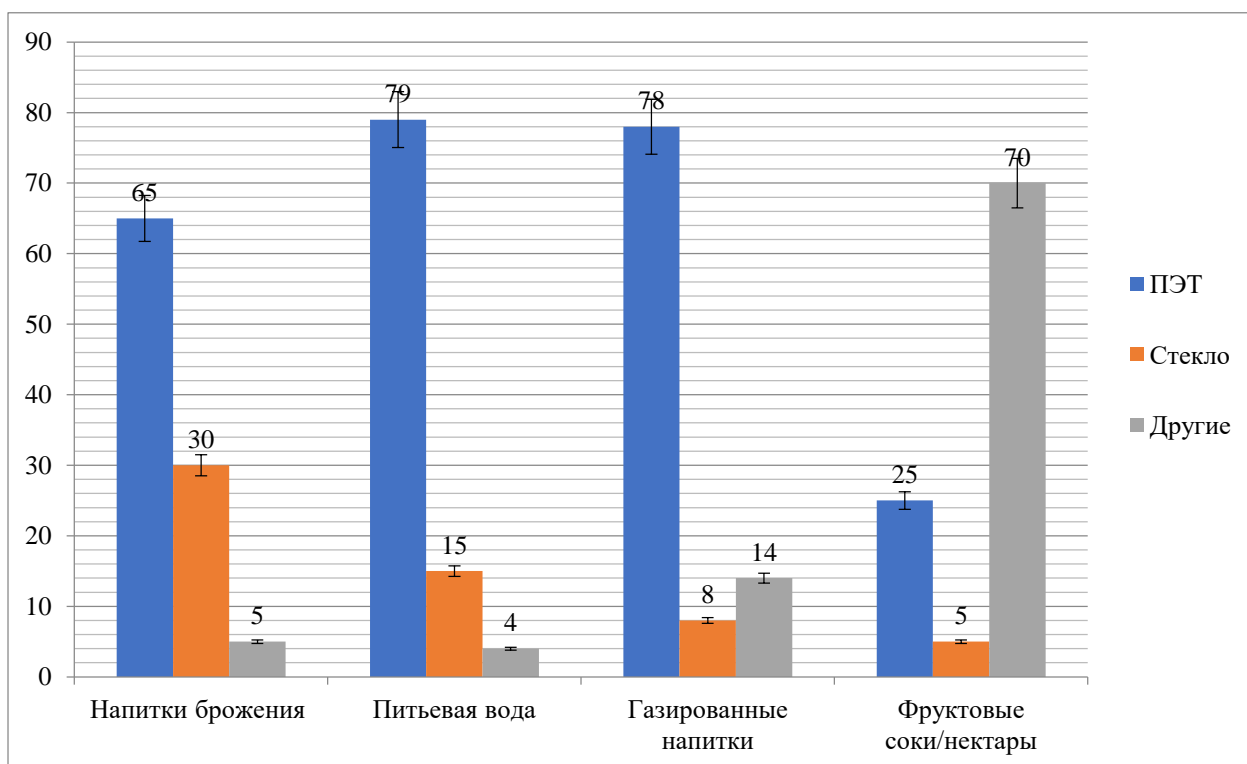


Рисунок 29 – Предпочтения потребителей безалкогольных напитков по видам упаковки, %

Разработанный напиток по внешнему виду относится к замутненным напиткам, так как симбиотический консорциум в ходе своей жизнедеятельности продуцирует осадок.

После хранения в течение 180 суток в стеклянных бутылках типа X, XI напиток:

- «Тамали-Джаз» обладает ярко-желтым цветом с небольшим осадком (4,0 балла). Поскольку осадок в данном напитке является допустимым и в процессе хранения оседает на дно упаковки, можно сказать, что напиток прозрачный (5,0

баллов). В аромате преобладают виноградные ноты, аромат достаточно гармоничный, и имеет высокую интенсивность (5,0 баллов). Вкус кисло-сладкий, соответствующий используемым компонентам, без постороннего привкуса с кисло-сладким послевкусием (5,0 баллов);

После хранения в течение 180 суток в бутылках из полиэтилентерефталата напиток «Тамали-Джаз» отличается от аналогичного напитка, хранившегося в стеклянных бутылках, только менее ярко-выраженными вкусовыми качествами (4,0 балла). Остальные органолептические показатели соответствуют высшим баллам.

Проведенная органолептическая оценка упакованных напитков показала, что стеклянная упаковка имеет ряд преимуществ.

В качестве потребительской упаковки для «Тамали-Джаз» были выбраны стеклянные бутылки типов X и XI объемом 500 мл.

Установлено что целесообразно хранить готовый продукт при температуре от 0 °С до +25 °С и относительной влажности воздуха не более 75 %;

- срок годности – не более 180 суток со дня изготовления;
- после вскрытия упаковки продукт не подлежит хранению.

### **3.5 Обоснование структурно-функциональной схемы производства напитка**

Структурная схема производства напитка представлена на рисунке 30 и включает следующие стадии: приемка сырья; подготовка сырья; подготовка воды; подготовка упаковки; приготовление экстракта из виноградных выжимок; приготовление сахарного сиропа; приготовление купажа из сахарного сиропа, экстракта из виноградных выжимок и воды; брожение купажа в присутствии консорциума SCOBY; фильтрация; розлив и укупорка; пастеризация; бракераж; маркировка; хранение и транспортирование готовой продукции.

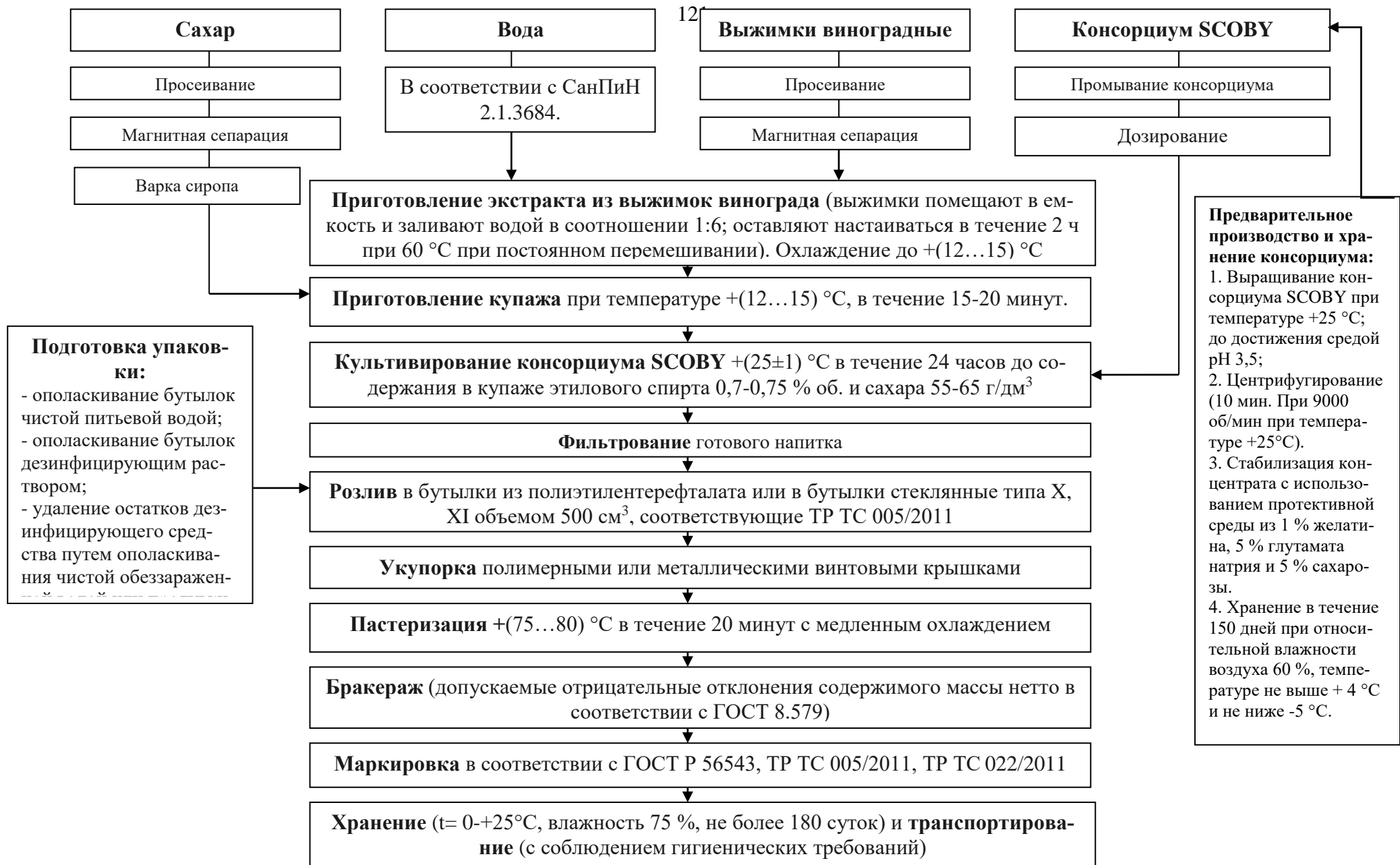


Рисунок 35 – Структурно-функциональная схема производства напитка брожения

Технологическое оборудование подбирается на основе производительности и в соответствии с результатами продуктового расчета количества сырья для производства напитка (таблица 23).

Таблица 23 – Расчет потребности и стоимости сырья

Наименование сырья, ед. измерения	Цена за 1 кг/л, за цикл, руб.	Норма расхода сырья на 100 дал готового напитка «Тамали-Джаз»	
		в натуре	стоимость, руб.
Выжимки виноградные, кг	50,0	126,8	6800,70
Сахар-песок, кг	60,0	100,00	6000,00
Симбиотический консорциум SCOBY, кг	150,0	100,00	15000,00
Экстракт стевии	600,0	-	-
Вода, л	0,02	900,00	18,00
Итого:			27818,7

Производственная мощность линии определяется исходя из максимальной производительности бродильного аппарата рассчитывается по следующей формуле:

$$W_V = (V_1 \times n_1 K_1 b_1 + \dots + V_n \times n_n K_n b_n) / K_{\text{пер}}, \quad (11)$$

где:

$W_V$  – мощность бродильных аппаратов, декалитров в год;

$V_n$  – вместимость бродильного аппарата, декалитров;

$n_n$  – количество бродильных аппаратов, штук;

$K_n$  – коэффициент заполнения бродильного аппарата;

$b_n$  – количество технологических циклов;

$K_{\text{пер}}$  – коэффициент пересчета полуфабриката в готовую продукцию.

$$W_V = 100 \times 1 \times 0.9 \times 242 = 21780 \text{ декалитров в год.}$$

За цикл 90 декалитров (в 1 день из 242 дн.).

На рисунке 31 приведена аппаратная схема производства напитка.

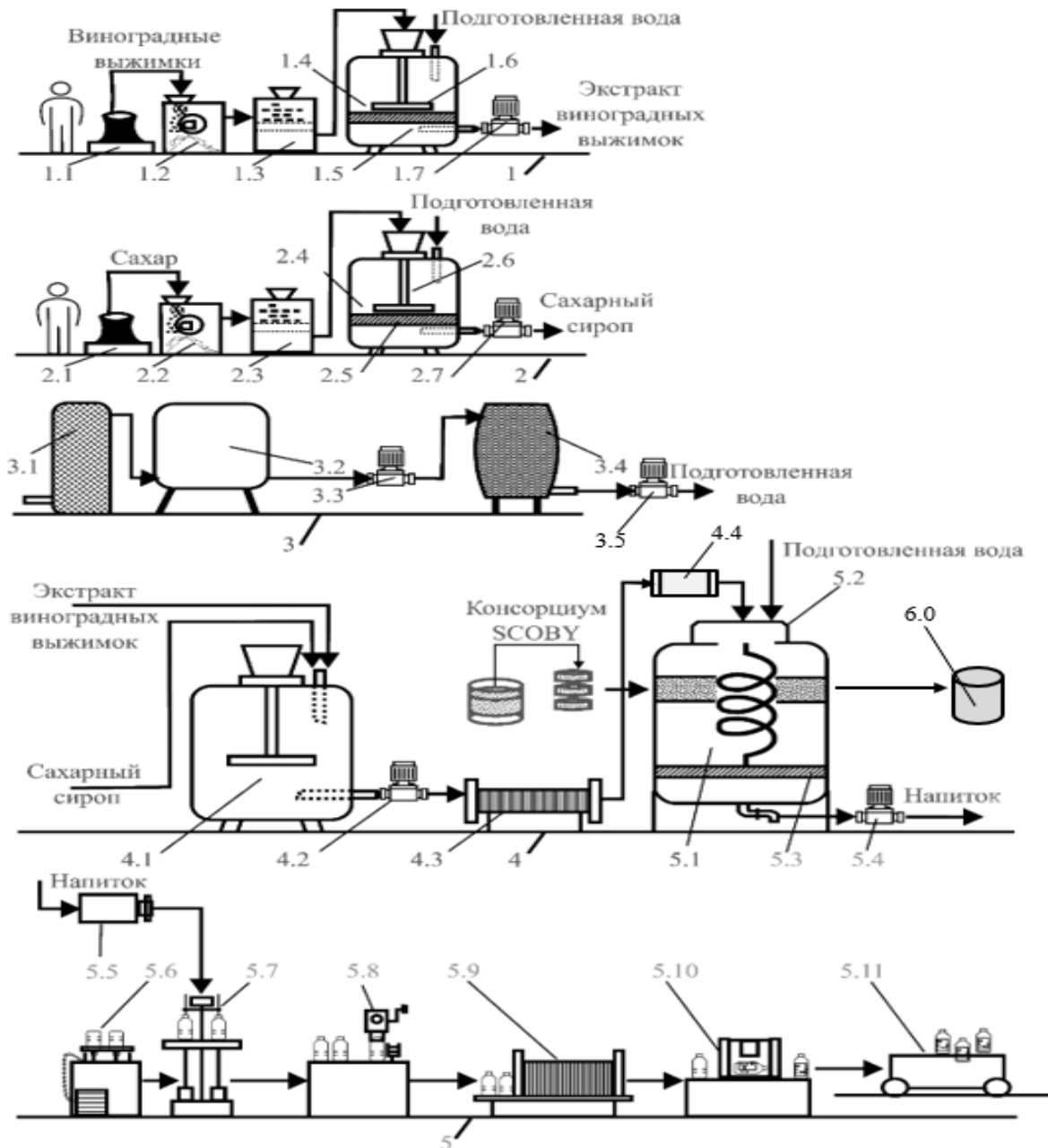


Рисунок 31 – Аппаратурно-технологическая схема производства

напитка брожения:

1.1, 2.1 – весы; 1.2, 2.2 – магнитный сепаратор; 1.3, 2.3 – вибрационный просеиватель; 1.4 – экстрактор, отстаивания и фильтрации экстракта; 1.5 – фильтр; 1.6 – мешалка; 1.7 – насос; 2.4 – варочный котел; 2.5 – фильтр; 2.6 – мешалка; 2.7 – насос; 3.1 – ионно-обменный фильтр; 3.2 – сборник для умягченной воды; 3.3 – насос; 3.4 – емкость с ультрафильтрационными мембранами; 3.5 – насос; 4.1 – купажный аппарат; 4.2 – насос; 4.3 – фильтр-пресс; 4.4 – теплообменник; 5.1 – бродильная емкость; 5.2 – змеевик; 5.3 – фильтр; 5.4 – насос; 5.5 – сборник-мерник; 5.6 – аппарат мойки и дезинфекции упаковки; 5.7 – станция розлива; 5.8 – аппарат укупорки крышками; 5.9 – тоннельный пастеризатор; 5.10 – этикетировочный аппарат; 5.11 – сборник отбракованной продукции; 6.0 – сборник для отработанного консорциума микроорганизмов.

Подготовка сырья. Виноградные выжимки взвешивают на весах (1.1), пропускают через магнитный сепаратор (1.2) для удаления металломагнитных примесей, просеивают через просеиватель (1.3) и загружают в экстрактор (1.4).

Сахар из мешков, доставляемых на поддонах, взвешиваются на весах (2.1), пропускают через магнитный сепаратор (2.2) для удаления металломагнитных примесей, просеивают через просеиватель (2.3) и подают в варочный котел для приготовления сахарного сиропа (2.4) с фильтром (2.5) и мешалкой (2.6).

Консорциум микроорганизмов промывают проточной водой и дозируют мерником в бродильную емкость (5.1).

Водоподготовка. Вода подвергается умягчению в ионно-обменном фильтре (3.1) и собирается в сборнике емкостью на 1000 л (3.2) для умягченной воды; умягченная вода из сборника насосом № 1 (3.3) подается в емкость с ультрафильтрационными мембранами с 8-ю фильтрами (3.4), далее насосом № 2 (3.5) подается в производство. Подготовку воды осуществляют в соответствии с требованием «Сборника основных правил, технологических инструкций и нормативных материалов по производству безалкогольной продукции», позволяющем получить воду, отвечающую требованиям, указанным в СанПиН 2.1.3684 [150].

Приготовление экстракта и купажа. Для приготовления экстракта виноградные выжимки помещают в экстрактор (1.4) заливают подготовленной водой при соотношении выжимки: вода - 1:6 и экстрагируют в течение 2 часов при 60 °С при постоянном перемешивании до содержания сухих веществ - 4,5 %. Готовый экстракт насосом № 3 (1.7) подается в купажный аппарат с рамной мешалкой (4.1). В купажный аппарат (4.1) так же дозируется сахарный сироп насосом № 3.1 (2.7). Купаж перемешивают в течение 30 мин при температуре 65 °С и насосом № 4 (4.2) перекачивают на фильтр-пресс (4.3) для фильтрования. Отфильтрованный купаж поступает в теплообменник (4.4)

и затем в бродильную емкость (5.1) со змеевиком (5.2) для брожения.

Брожение. Брожение напитка осуществляют при температуре  $+(25\pm 1)^\circ\text{C}$  в течение 24 часов до содержания этилового спирта – 0,7-0,75 % об. и массовой доли сахара – 55-65 г/дм<sup>3</sup>. По окончании брожения напиток фильтруют для удаления клеток консорциума через фильтры (ловушки) с диаметром пор 0,5 мм (5.3). Отфильтрованный напиток затем насосом № 5 (5.4) подается в сборник-мерник (5.5), а затем подается на розлив в бутылки в автомат розлива (5.7). Отработанный консорциум микроорганизмов периодически выгружается из бродильной емкости в специальный сборник (6.0) и отправляется на переработку.

Розлив и пастеризация. Подготовку упаковки осуществляют на одностадийном аппарате мойки и дезинфекции (5.6).

Готовый напиток разливают на автомате для розлива напитков (5.7) и герметично укупоривают крышками на укупорочном автомате (5.8). Укупоренные бутылки поступают в тоннельный пастеризатор (5.9) и пастеризуются путем медленного повышения температуры до  $+75\dots+80^\circ\text{C}$  и выдерживания в течение 20 минут и затем медленного охлаждения, далее бутылки подаются на этикерочный аппарат с термодатером (5.10).

Отбракованная при просмотре пастеризованных бутылок продукция учитывается, собирается в сборник из полипропилена 600×400×310 мм (5.11) и возвращается как внутриводской брак для соответствующей переработки.

Далее напиток передают на склад готовой продукции, где осуществляют хранение и отпуск готовой продукции в точки продаж.

Напиток следует хранить в чистых, сухих, хорошо вентилируемых складах. Рекомендуемые температура хранения – ( $0^\circ\text{C}$  до  $+20^\circ\text{C}$ ), относительная влажность воздуха – не более 75 %. Напиток не должен подвергаться воздействию прямого солнечного света. Сроки годности не более 180 суток с момента изготовления. После вскрытия упаковки продукт не подлежит хранению.

Технические характеристики оборудования представлены в таблице 24.



Таблица 24 – Перечень и характеристики основного оборудования

Позиция оборудования на схеме	Наименование оборудования/характеристика	Производительность (емкость), кг (литров)/час	Мощность, кВт	Количество ед.	Вид и количество перерабатываемого сырья (полуфабрикатов) за производственный цикл	Время работы, час в производственном цикле	Суммарная потребляемая энергия в производственном цикле, кВт·час	Примечание
1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>Подготовка сырья</b>								
1.1 2.1	Весы товарные BLES-300 Максимальная нагрузка, кг. 300, точность измерения, г: 100	-	-	1	сахар 100 кг выжимки 126,8 кг	-	-	Взвешивание виноградных выжимок, сахара
1.2 2.2	Магнитный сепаратор СМП-35М-100	-	-	1	сахар 100 кг выжимки 126,8 кг	0,2	-	Удаление магнитных примесей извиноградных выжимок, сахара
1.3 2.3	Вибрационный просеиватель МР-150, кг/час	150	0,18	1	сахар 100 кг выжимки 126,8 кг	1,5	0,27	Просеивание виноградных выжимок, сахара
2.5	Варочный котел, 200 л	200	24	1	сахар 100 кг вода 100 л	1,0	24,0	Варка сиропа
	Итого			4		-	24,27	
<b>Водоподготовка</b>								
3.1	Ионно-обменный фильтр: умягчитель для котлов RFS 1415/84TSE	3800	0,25	1	вода 900 л	0,24	0,06	Водоподготовка
3.2	Сборник для умягченной воды СТЕРХ (1000 л)	-	-	1	вода 900 л	-	-	Водоподготовка
3.3	Пищевой центробежный насос ОНЦ 0,5/15 К-5-ФК, литров/час Насос №1	1500	0,55	1	вода 900 л	0,60	0,33	Перекачка воды в ультрафильтрационную установку
3.4	Установка с ультрафильтрационными мембранами Система Аруан RO-1200, литров/час	400	-	1	вода 900 л	0,75	-	Водоподготовка
3.5	Насос №2	1500	0,55	1	вода 504 л вода 400 л	0,33 0,27	0,18 0,14	Перекачка воды в: - экстрактор; - бродильную емкость
	Итого			4		-	0,71	

## Продолжение таблицы 24

1	2	3	4	5	6	7	8	9
<b>Приготовление экстракта и купажа</b>								
1.5	Экстрактор периодического действия с мешалкой. V= 650	300	5,0	1	выжимки 126,8 кг вода 504 л	2,00	10,00	Приготовление экстракта
1.7	Насос №3	1500	0,5 5	1	экстракт 400 л	0,27	0,15	Перекачка экстракта в купажную емкость
2.7	Насос №3.1	1500	0,5 5	1	Сахарный сироп 200 л	0,15	0,08	Перекачка сахарного сиропа в купажную емкость
4.1	Емкость купажная типа КН-500 (650) с рамной мешалкой	650	0,3	1	купаж 500 л	1,0	0,30	Приготовление купажа
4.2	Насос №4	1500	0,5 5	1	купаж 500 л	0,33	0,18	Перекачка купажа в пресс-фильтр и бродильную емкость
4.3	Фильтр-пресс Solombo 18 (20x20), литров/час	550-800	0,3 4	1	купаж 500 л	0,63	0,21	Фильтрация купажа перед брожением
4.4	Теплообменник	500-800	-	1	купаж 500 л	-	-	Охлаждение купажа перед брожением
	Итого			7		-	10,92	
<b>Брожение</b>								
5.1	Бродильная емкость (ЦКТ) 1000/1200 л	-	1,0	1	напиток 900 л	24,0	24,0	Брожение напитка
5.4	Насос №5	1500	0,5 5	1	напиток 900 л	0,60	0,33	Подача готового напитка на розлив
5.5	Сборник-мерник	500	-	1	напиток 900 л	-	-	Накапливание готового напитка
6.0	Сборник для отработанного консорциума микроорганизмов	200	-	1	отработанный консорциум	-	-	Сбор отработанного консорциума
	Итого			4		-	24,33	
<b>Розлив, упаковывание и пастеризация</b>								
5.6	Аппарат мойки и дезинфекции Rinsermatic, шт/час	1000	0,5	1	бутылки 1800	1,8	0,9	Мойка бутылок

## Продолжение таблицы 24

1	2	3	4	5	6	7	8	9
5.7	Полуавтомат для розлива напитков Fillermatic Gravity, литров/час	500	0,5	1	бутылки 1800 шт	3,6	1,8	Розлив напитков
5.8	Устройство укупорки бутылок алюминиевыми колпачками МОДЕЛЬ УУ-3, шт./час	800	0,37	1	бутылки 1800 шт	2,25	0,83	Укупорка бутылок
5.9	Туннельный пастеризатор «ORANGEMECH» (Китай), бутылок/час	500	18	1	бутылки 1800 шт	3,6	64,8	Пастеризация бутылок
5.10	Этикетировочный аппарат с термодатером Labelmatic-PRO с возможностью проставления даты, шт/час	500	0,15	1	бутылки 1800 шт	3,6	0,54	Наклейка этикеток
5.11	Сборник для отбракованной продукции		-	-		-	-	Сбор бракованной продукции
	Итого					-	68,87	
	Всего:	-	-	-	-	-	126,13	

Структурная схема технологической линии производства напитка брожения представлена на рисунке 32.

Цикл производства напитка брожения составляет 24 часа.

При этом постоянно работающим оборудованием является бродильная емкость. На участке брожения расход энергии составляет 24,33 кВт·час

Этап водоподготовки продолжается 2,19 часа, расход энергии составляет 0,69 кВт·час. Время подготовки сырья виноградной выжимок и сахара, варка сахарного сиропа составляет 2,8 часа, расход энергии 24,36 кВт·час

Приготовление экстракта и купажа продолжается 4,23 часа, суммарный расход энергии при работе экстрактора периодического действия, купажной емкости, фильтр-пресса и всех насосов на этом участке – 10,68 кВт·час

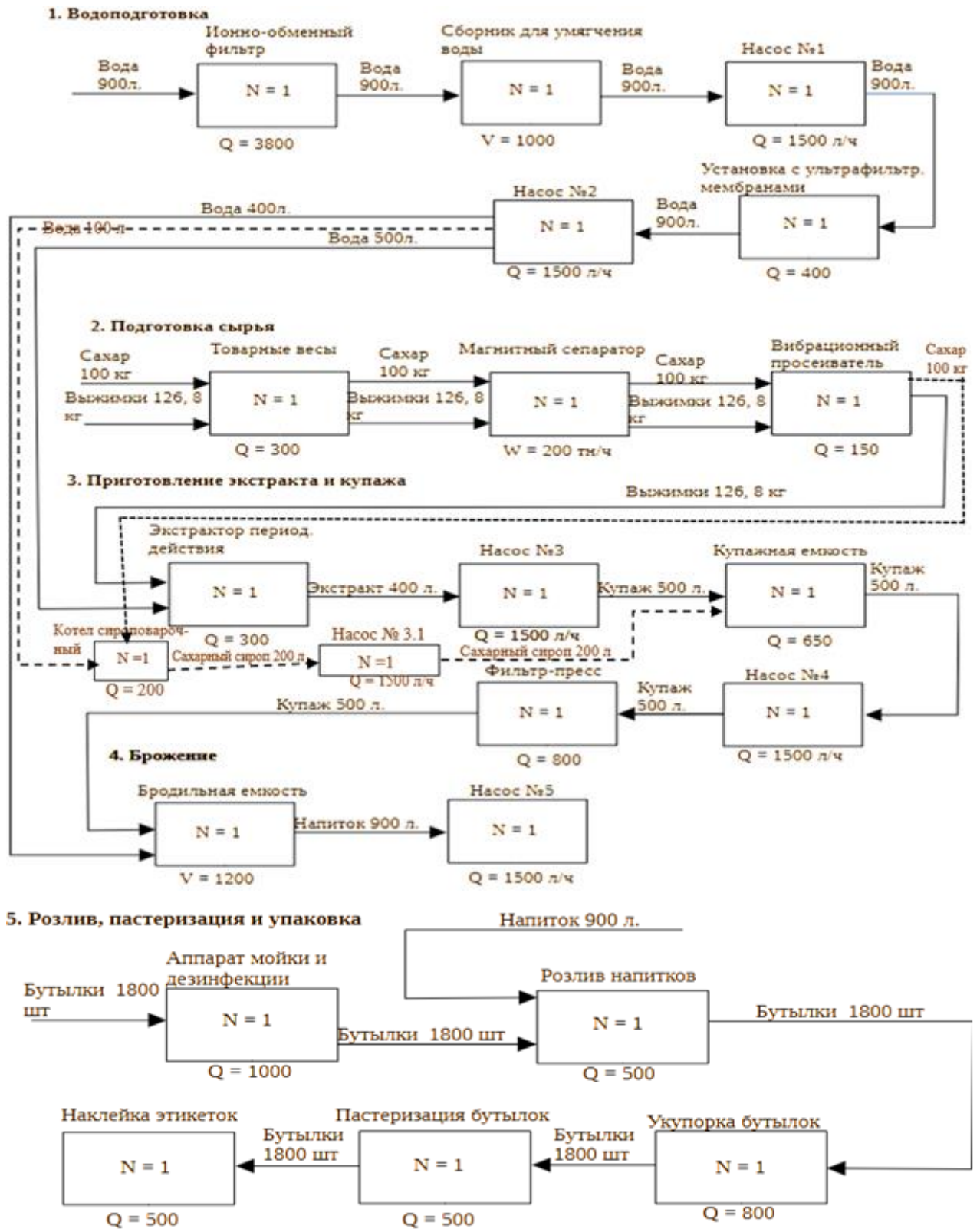


Рисунок 32 – Структурно-функциональная схема производства напитка брожения

Общее время работы оборудования на участке розлива-упаковки составляет 14,85 часов. Суммарный расход энергии для работы оборудования на этом участке – аппарата мойки и дезинфекции, полуавтомата для розлива напитков, устройства укупорки бутылок, туннельного пастеризатора, этикетировочного аппарата – составляет 68,87 кВт·час

График электрических нагрузок процесса изготовления напитка с учетом мощностей выбранного оборудования представлен на рисунке 33.

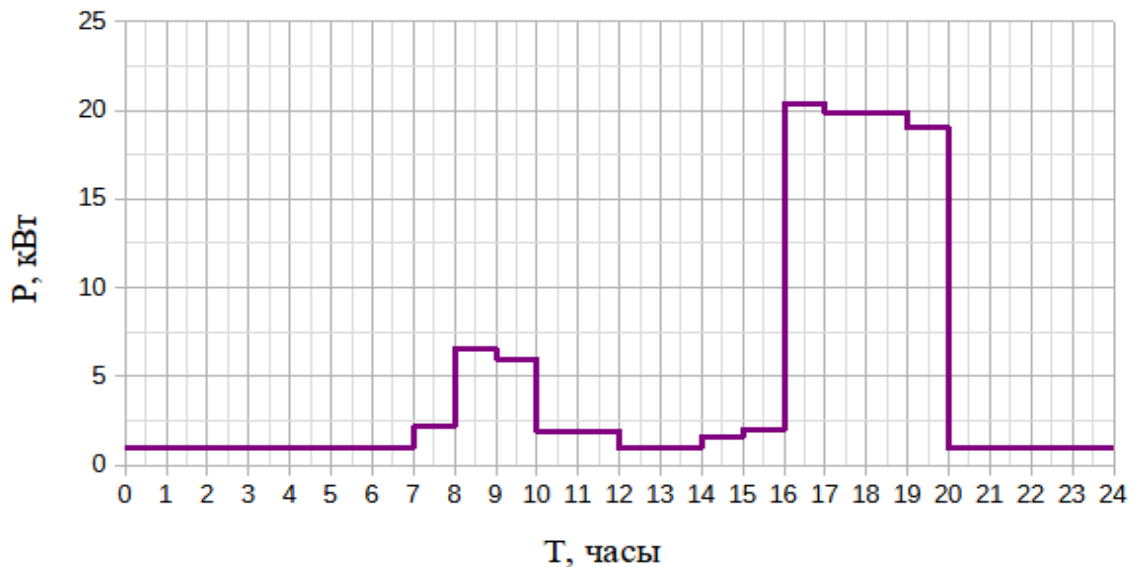


Рисунок 33 – График электрических нагрузок процесса изготовления напитка с учетом мощностей выбранного оборудования

Определение потребляемой электрической энергии за 1 производственный цикл при производстве напитков брожения осуществляем по формуле:

$$A = \sum P_i \cdot t_i \quad (12)$$

где:  $P_i$  – мощность нагрузки в  $i$ -е время суток, кВт;

$t_i$  – продолжительность  $i$ -ой ступени суточного графика, ч.

Согласно представленному на рисунке 33 графику работы электрооборудования и данным приведенным в таблице 24 суммарная потребленная энергия оборудования 126,13 кВт.

Энергоемкость производства приготовления 100 декалитров напитков брожения:

$$W = A * 100 / m_{\text{п}} \quad (13)$$

где:  $m_{\text{п}}$  – количество выпускаемой продукции за производственный цикл, 90 декалитров.

$$W = 126,13 \times 100 / 90 = 140,14 \text{ кВт} \cdot \text{час} / 100 \text{ дал}$$

Стоимость электроэнергии для производства 100 дал, учётом тарифа для Краснодарского края – 9,74 руб  $\times$  140,14 = 1364,9 руб.

По микробиологическим показателям напиток должен соответствовать требованиям ТР ТС 021/2011 «О безопасности пищевой продукции» (Приложение 1, приложение 2, глава 1.7), по содержанию токсичных элементов должен (приложение 3, глава 8), указанным в таблице 27.

### 3.6 Выводы к третьей главе

1. Изучены морфолого-культуральные свойства штаммов дрожжей и бактерий, перспективных для получения симбиотического консорциума.

Получены экспериментальные данные, позволяющие определить по ряду физиологических признаков исследуемые дрожжи к виду *Zygosaccharomyces kombuchaensis*, исследуемые бактерии к виду *Gluconacetobacter xylinus*.

2. При изучении свойств выделенных и отобранных видов микроорганизмов, их скорости роста и устойчивости в различных условиях культивирования, выявлены следующие закономерности:

- на жидкой питательной среде с рН 3,5 в первые 6 часов культивирования количество клеток обеих культур резко снижалось из-за шокового состояния клеток, однако к концу культивирования через 24 часа количество клеток обеих культур возвращается к изначальному;

- для культур *Zygosaccharomyces kombuchaensis* и *Gluconacetobacter xylinus* среда с рН 3,5 является сдерживающим фактором роста;

- среда с рН 6,5 активно стимулирует рост обеих исследуемых культур, следовательно, является оптимальной из всех выбранных вариантов сред;

- для *Zygosaccharomyces kombuchaensis* минимальная температура роста на питательных средах –  $t = +15...+20$  °С, максимальная –  $t = +45...+50$  °С;

- для *Gluconacetobacter xylinus* минимальная температура роста на питательных средах –  $t = +10...+25$  °С, максимальная –  $t = +45...+50$  °С;

- оптимальное содержание редуцирующих веществ в среде для роста *Zygosaccharomyces kombuchaensis* и *Gluconacetobacter xylinus* составляет 10 %.

3. Выделенные и отобранные чистые культуры дрожжей *Zygosaccharomyces kombuchaensis* из SCOBY № 1 и бактерий *Gluconacetobacter xylinus* из SCOBY № 3 являются биосовместимыми, не образуют антагонистического кольца, следовательно, могут использоваться в приготовлении симбиотического консорциума.

4. В ходе сравнительного культивирования отобранных микроорганизмов на стандартных жидких средах и экстракте виноградной выжимки было установлено, что сочетание *Zygosaccharomyces kombuchaensis* с *Gluconacetobacter xylinus* на экстракте виноградной выжимки с добавлением 5 % глюкозы и 5 % фруктозы является оправданным. В этом консорциуме микроорганизмы продемонстрировали наилучший потенциал для скорости роста на исследуемой среде. Следует отметить, что на экстракте виноградной выжимки дрожжи *Zygosaccharomyces kombuchaensis* развивались в два раза активнее, чем на традиционных средах.

5. Разработаны математические модели зависимостей показателей качества экстрактов и полуфабрикатов брожения от режимов экстракции и культивирования симбиотического консорциума.

В процессе изучения зависимости физико-химических показателей экстрактов из виноградных выжимок от режимов экстрагирования выявлены следующие зависимости:

- содержание растворимых сухих веществ в готовом экстракте прямо пропорционально времени экстракции, при этом в раствор преимущественно переходят красящие вещества виноградных выжимок, кислоты и сахара;

- температура  $(25 \pm 1)^\circ\text{C}$  и время культивирования 24 часа являются оптимальными для быстрого достижения средой рН 3,5 и прекращения культивирования;

- наиболее подходящий вариант приготовления экстракта для последующего сбраживания с помощью консорциума – соотношение выжимки-вода 1:6;

- оптимальное содержание редуцирующих веществ в экстракте  $(10 \pm 2)\%$ , так как уже после 24 часов сбраживания с помощью консорциума кислотность экстракта опустилась до требуемого минимального значения 3,5;

- оптимальное количество консорциума по отношению к общему количеству сбраживаемого экстракта  $(10 \pm 2)\%$ , – при данном соотношении требуемая кислотность экстракта достигается 3,5 за 24 часа сбраживания.

6. Разработана рецептура безалкогольных напитков брожения на основе консорциума дрожжей и бактерий SCOVY и выжимок виноградных сушеных сладких.

На основе данных рецептур и имеющихся аналогичных производств была разработана общая технология производства напитков, которая включает в себя подготовку сырья, водоподготовку, приготовление экстракта, купажа, брожение, розлив, упаковку, пастеризацию.

По результатам проведенных исследований был получен Патент на изобретение № RU 2788431 C1 (опубл. 14.11.2022 г., Бюл. № 32) (Приложе-



ние Г) и разработана программа ЭВМ № 2021663373 от 25.08.2021 г. «Автоматизированный расчет скорости сбраживания субстрата консорциумом дрожжей и бактерий в зависимости от изменения рН среды и содержания редуцирующих сахаров» (Приложение Д).

7. Исследованы потребительские свойства разработанных напитков: органолептические, физико-химические свойства, санитарно-гигиенические показатели безопасности (токсины, афлотоксины), микробиологические показатели безопасности, пищевая ценность, включая, сохраняемость в процессе хранения. По микробиологическим показателям, содержанию токсичных элементов – разработанный напиток соответствует требованиям ТР ТС 021/2011.

Произведены расчеты покрытия суточной потребности в компонентах рациона трудоспособного населения (взрослые мужчины и женщины от 18 до 64 лет) при потреблении 500 мл напитка в соответствии с Методическими рекомендациями МР 2.3.1.0253-21.

Разработанный напиток содержит высокое количество пищевых волокон, витамина В<sub>2</sub> и витамина С – по данным показателям наблюдается покрытие суточной нормы при потреблении более 500 мл.

8. Произведена оценка влияния различных видов упаковки на показатели качества напитков вовремя хранения. В качестве потребительской упаковки выбрана упаковка: стеклянные бутылки типа X, XI объемом 500 мл.

9. Разработан технологический процесс получения напитков брожения, подобрано необходимое оборудование, при этом энергоемкость производства приготовления 100 декалитров напитков брожения – 140,14 кВт·час /100 дал.

10. Определены режимы хранения и сроки годности разработанного напитка брожения: хранить готовый продукт необходимо при температуре от +0 °С до +25 °С и относительной влажности воздуха не более 75 %; срок годности – не более 180 суток со дня изготовления.

На основании разработанной рецептуры и технологии была разработана нормативная документация.

## 4. АПРОБАЦИЯ И ОЦЕНКА ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОИЗВОДСТВА НАПИТКОВ

### 4.1 Опытная апробация

Разработанные рецептуры и технологии производства напитка «Тамали-джаз» были апробированы в производственных условиях на предприятии ООО «АНПРИС» (г. Краснодар, Краснодарский край).

Апробацию разработанных рецептур и технологий проводили в соответствии с утвержденными нормативными документами: Напиток брожения «Тамали-Джаз» согласно ТУ 11.07.19 – 073 – 17021101 – 2022 и ТИ 11.07.19.129 – 073 – 17021101– 2022 (ПРИЛОЖЕНИЕ Б, ПРИЛОЖЕНИЕ В).

По итогам внедренных результатов доказана возможность использования микроорганизмов симбиотического консорциума бактерий *Gluconacetobacter xylinus* и дрожжей *Zygosaccharomyces kombuchaensis* для сбраживания экстракта белых несброженных виноградных выжимок для создания напитка, обогащенного биологически активными веществами. Объем внедрения результатов исследований составил 100 дал.

Научно-технический эффект внедренной технологии производства напитка брожения: улучшение свойств и пищевой ценности напитков за счет увеличения содержания биологически активных веществ на 10-12 %.

Акт внедрения представлен в ПРИЛОЖЕНИИ 3.

### 4.2 Определение показателей экономической эффективности

Учитывая стоимость затрат на сырье (таблица 26), для расчета операционных затрат на производство принимаем стоимость сырья для производства 100 дал. напитка – 27739 руб.

На основе проведенного анализа рынка планируется выпуск напитков в стеклянных бутылках емкостью 0,5 литра.

С учетом среднерыночной стоимости рассчитаем стоимость тары на 100 дал. напитка.

Стоимость упаковки =  $1000/0,5 \times 40 = 80\,000$  руб. на 100 дал.

Для расчета производственной мощности был произведен подбор оборудования и расчет его стоимости. Стоимость технологического оборудования исчисляется среднерыночными ценам.

При этом:

- транспортно-заготовительные расходы принимаются в размере 17 % от стоимости оборудования;
- стоимость монтажа оборудования принимается в размере 15 %, трубопроводов, воздухопроводов, арматуры, КИП и их монтаж в размере – 15 % от стоимости оборудования;
- стоимость спецработ (изоляция, сооружение фундаментов под оборудование, антикоррозийные работы) принимаются в размере 3 % от стоимости оборудования;
- стоимость внутризаводского транспорта принимается в размере 30 % от предшествующих статей.

Расчет сметной стоимости оборудования производится в таблице 25.

Таблица 25 – Расчет сметной стоимости оборудования

Наименование оборудования	Количество единиц	Цена за единицу, тыс. руб.	Общая стоимость оборудования, тыс. руб.
1	2	3	4
Весы товарные BLES-300 (беспроводные)	1	8,0	8,0
Магнитный сепаратор СМП-35М-100	1	58,0	58,0
Вибрационный просеиватель МР-150	1	32,0	32,0
Варочный котел с мешалкой (500 л)	1	346,0	346,0
Ионно-обменный фильтр: умягчитель для котлов RFS 1415/84TSE	1	75,0	75,0
Сборник для умягченной воды СТЕРХ (1600 л)	1	18,0	18,0

1	2	3	4
Насос центробежный LEO 2ACm75	5	20,0	100,0
Варочный котел, 200 л	1	170,0	170,0
Установка с ультрафильтрационными мембранами Система Аруан RO-1200	1	130,0	130,0
Емкость купажная типа КН-1500 (1500 л)	1	386,0	386,0
Фильтр-пресс Colombo 18 (20×20)	1	54,0	54,0
Бродильная емкость ЦИЛИНДРО-КОНИЧЕСКИЙ ТАНК (ЦКТ) 1000/1200 л	1	260,0	260,0
Аппарат мойки и дезинфекции Rinsermatic на 12 бутылок	1	108,0	108,0
Полуавтомат для розлива напитков Fillermatic Gravity	1	140,0	140,0
Устройство укупорки бутылок алюминиевыми колпачками «ПОД ВИНТ» МОДЕЛЬ УУ-3 НА	1	110,0	110,0
Устройство укупорки бутылок алюминиевыми колпачками «ПОД ВИНТ» МОДЕЛЬ УУ-3 НА.П	1	110,0	110,0
Туннельный пастеризатор «ORANGEMECH» (Китай) с производительностью 500 бутылок/час	1	500,0	500,0
Этикетировочный аппарат с термодатером Labelmatic-PRO с возможностью проставления даты	1	37,01	37,0
ИТОГО			2642,0
Транспортно-заготовительные расходы (17 %)			449,1
Монтаж оборудования (15 %)			396,3
Трубопроводы и арматура, КИП и их монтаж (15 %)			396,3
Спецработы (3 %)			79,3
ВСЕГО			3963,1

Стоимость инструмента и хозяйственного инвентаря принимается в размере 4,5 % стоимости оборудования.

С учетом того, что планируется розлив напитков в пластиковые и стеклянные бутылки емкостью 0,5 литров, годовой выпуск продукции в количестве бутылок будет – 435 600 шт.

Фонд оплаты труда основных производственных рабочих определяется исходя из их численности и среднемесячной заработной платы основных рабочих.

Фонд оплаты труда вспомогательных рабочих определяется исходя из их численности, рассчитанной по нормативу среднемесячной заработной платы вспомогательных рабочих.

Фонд оплаты труда служащих определяется исходя из их численности, рассчитанной по нормативу и среднемесячной заработной платы служащих.

Результаты расчетов приведены в таблице 26.

Таблица 26 – Общая численность и годовой фонд оплаты труда работников предприятия

Категория работников	Кол-во	Фонд заработной платы, тыс. руб.	
		месячный	годовой
Основные производственные рабочие	3	180	2160
Вспомогательные рабочие	2	100	1200
Служащие	2	100	1200
ИТОГО		380	4560

Далее расчета себестоимости производства безалкогольных напитков определяем укрупнено объем затрат по статьям в процентах от стоимости сырья и материалов (тары)

- вспомогательные материалы – 20 %;
- топливо и энергия на технологические цели – 40 %;
- транспортно-заготовительные расходы – 3 %;
- общепроизводственные расходы – 20 %;
- общехозяйственные расходы – 50 %.

Отчисления на социальные нужды принимаются в размере 39 % от суммы расходов на оплату труда производственных рабочих.

Коммерческие расходы принимаются в размере 1 % от производственной себестоимости продукции.

Анализ рынка и рассчитанная себестоимость дает основание определить цену реализации 150 руб. за бутылку.

В результате произведенных расчетов на 100 декалитров и годового выпуска продукции приведен в таблице 27.

Таблица 27 – Себестоимость продукции по калькуляционным статьям затрат, тыс. руб.

Наименование статьи затрат	Сумма		
	на 100 де-калитров, руб.	на годовой выпуск, тыс. руб., 21780 дек.	на квартал тыс. руб., 5445 дек.
Статьи затрат			
Сырье и материалы (тара)	76 960	16762	4 190
Вспомогательные материалы	13 535	29 479	7 369
Топливо и энергия на технологические цели	1364,9	297	74
Транспортно-заготовительные расходы	2030	442	111
Расходы на оплату труда производственных рабочих	9964	2170	543
Отчисления на социальные нужды	3886	846	212
Общепроизводственные расходы	15 391	3352	838
Общехозяйственные расходы	38479	8 381	2 095
Итого производственная себестоимость:	146219	53348	13 337
Коммерческие расходы	1462	533	133
Полная себестоимость	147681	53881	13 470
Выручка от реализации	459 136	100000	20000

Для оценки эффективности проекта определяли чистый дисконтированный доход (NPV), индекс рентабельности (PI), внутренняя норма доходности (IRR), дисконтированный период окупаемости (DPP).

Для расчета чистого дисконтированного дохода суммируем все положительные и отрицательные дисконтированные денежные потоки проекта по формуле:

$$NPV = \sum_{t=1}^n \frac{CF_t}{(1+r)^t} - \sum_{t=1}^n \frac{I_t}{(1+r)^t}, \quad (14)$$

где:

CF – денежный поток от операционной деятельности в t-ом периоде;

$I$  – денежный поток от инвестиционной деятельности в  $t$ -ом периоде;

$r$  – ставка дисконтирования;

$n$  – количество периодов.

Для того, чтобы определить чистый дисконтированный доход:

- определили сумму инвестиционных вложений в проект;
- произвели расчет текущей стоимости денежных поступлений от проекта (доходы за каждый период приводятся к текущему моменту времени, то есть дисконтируются);
- вычли из текущей стоимости доходов дисконтированные инвестиционные затраты по проекту.

Разница – величина чистого дисконтированного дохода. Для того чтобы проект оказался эффективным, то есть принес доходность, заложенную в ставку дисконтирования, необходимо, чтобы сумма дисконтированных под эту ставку доходов превысила сумму дисконтированных инвестиций. Для оценки эффективности проекта необходимо учесть источники инвестиций.

Общая сумма привлеченных средств на закупку оборудования, оборотных средств на закупку сырья и материалов, аренду помещений и т.д. принимаем в размере 12 000 000.

Для организации производства предусматриваем привлечение средств инвестора под 25 % годовых в размере 2000 000 руб. и кредитных средств под 20 % в размере 10 000 000 руб.

В таблице 28 приведены мероприятия 1 и 2 периода (квартал) реализации проекта.

Таблица 28 – Мероприятия по реализации проекта

Мероприятие	Реализация проекта, неделя											
	1-2	3-4	4-5	6-7	8-9	10-12	13-14	15-16	17-18	19-20	21-22	23-24
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Подготовка помещения	+	+	+	+								
Приобретение основного и дополнительного оборудования	+	+	+	+	+							

1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
Установка оборудования					+	+	+					
Набор и обучение персонала				+	+	+	+					
Закупка сырья и вспомогательных материалов						+	+	+				
Запуск производства							+	+	+			
Продвижение на рынок										+	+	+

Выход на максимальный уровень продаж планируется с 5 периода. Доходы и расходы проект и денежные потоки рассчитаны с использованием таблиц Excel по методике В.В.Прохорова [151].

Расчет средневзвешенной стоимости капитала приведен в таблице 29.

Таблица 29 – Средневзвешенная стоимость капитала

Источник средств	Сумма	Стоимость, % годовых	Налоговый щит 1-есть, 0-нет	Доля от общей суммы инвестиций	Взвешенная стоимость, % годовых	Взвешенная стоимость с учетом налогового щита, %
Кредитные средства	10 000 000,00	20,0	1	83,33	16,67	13,33
Инвестор	2 000 000,00	25,0	0	16,67	4,17	4,17
	12 000 000,00			100	20,83	17,5

На рисунках 34 и 35 представлены график денежного потока по шагам и нарастающим итогом.

Основными факторами, влияющими на финансовый результат деятельности предприятия, выступают объем продаж и затраты на производство. Спрогнозированный объем продаж рассматривался с точки зрения объема спроса и производственных возможностей предприятия.

Интервал планирования равен одному кварталу, период – четыре года, то есть шестнадцать кварталов, что позволяет осветить наращивание объемов производства и мощности предприятия. При расчете чистой прибыли ставка налога на прибыль составляет 20 %.



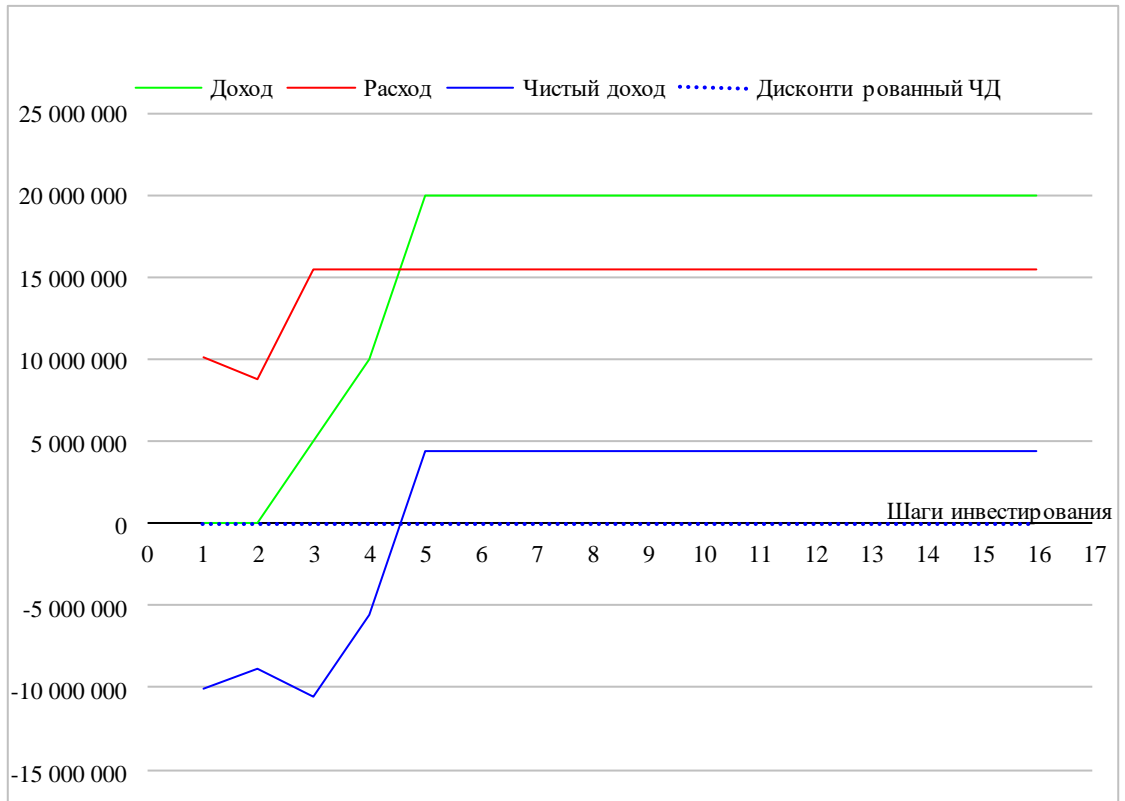


Рисунок 34 – Денежный поток по шагам

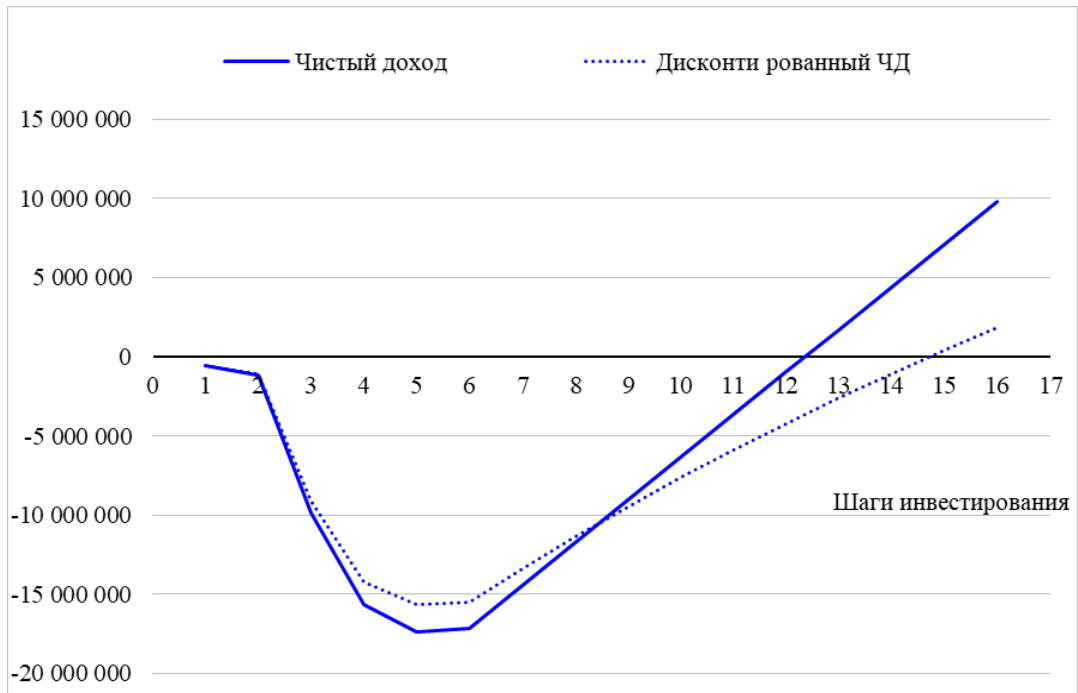


Рисунок 35 – Денежный поток проекта производства безалкогольных напитков (нарастающим итогом)

Расчет денежного потока по шагам подробно (шаг – 1 квартал) приведен в Приложении Е.

Расчет денежного потока по шагам нарастающим итогом приведен в Приложении Ж.

Показатели окупаемости проекта приведены в таблице 30.

Таблица 30 – Показатели окупаемости проекта

Показатель	Условное обозначение	Единица измерения	Величина
Ставка реинвестирования в годовом исчислении для расчётов MIRR	D	%	17,50
Ставка дисконтирования в пересчете на шаг	-	%	4,38
Ставка реинвестирования в годовом исчислении для расчётов MIRR	-	%	19,00
Суммарные инвестиции	Inv	руб.	12 000 000,00
Минимальные суммарные инвестиции, рассчитанные по потоку платежей	InvMin	руб.	34 992 656,91
Максимальные суммарные инвестиции, рассчитанные по потоку платежей	InvMax	руб.	50 527 951,86
Чистый доход	ЧД	руб.	18 583 803,69
Чистый дисконтированный доход	NPV	руб.	2 969 516,17
Внутренняя норма доходности в годовом исчислении	IRR	%	23,66
Внутренняя норма доходности в пересчете на шаг	IRRш	%	5,55
Модифицированная внутренняя норма доходности в годовом исчислении	MIRR	%	12,42
$ROI = (\text{Чистый доход})/Inv$	ROI	%	154,87
$PI = NPV/Inv$ Индекс рентабельность	PI	%	24,75
Срок окупаемости	PBP	год	2,96
Срок окупаемости	PBPш	шаг	11,84
Дисконтированный срок окупаемости (лет)	DPBP	год	3,69
Дисконтированный срок окупаемости	DPBPш	шаг	14,75

Так как величина NPV оказалась положительной, мы можем сделать вывод о том, что рассматриваемый проект эффективен, то есть принесет как минимум доходность, заложенную в ставке дисконтирования (17,50 %). То есть внутренняя норма доходности инвестиционного проекта превышает требуемый уровень доходности в 17,5 %. При расчете дисконтированного пери-

ода окупаемости (DPP) ориентируются «дисконтированный суммарный денежный поток нарастающим итогом». Так, показатель дисконтированного периода окупаемости составил 3,69 лет.

### **4.3 Выводы к четвертой главе**

Проведена апробация результатов исследований на предприятии ООО «АНПРИС». Объем внедрения результатов исследований составил 100 дал. Экономический результат от внедрения разработанной технологии производства составил 48664,80 рублей за 100 дал.

Оценена экономическая эффективность организации нового производства напитка брожения. стоимость сырья для производства 100 дал. напитка – 27739 руб. Полная себестоимость производства 100 дал напитка составляет 147681 рублей.

Для организации производства предусматриваем привлечение средств инвестора под 25 % годовых в размере 2000 000 руб. и кредитных средств под 20 % в размере 10000000 руб. Проведена оценка эффективности проекта – определен чистый дисконтированный доход. Определен дисконтированный срок окупаемости – 3,69 года.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Выделены и классифицированы штаммы культур *Z. kombuchaensis* и *G. xylinus*, перспективные для получения симбиотического консорциума, обоснован способ культивирования. Установлено, что для культур *Z. kombuchaensis* и *G. xylinus* среда с pH 3,5 является сдерживающим фактором роста; среда с pH 6,5 активно стимулирует рост обеих исследуемых культур; для *Z. kombuchaensis* минимальная температура роста на питательных средах –  $t = +15...+20$  °C, максимальная –  $t = +45...+50$  °C; для *G. xylinus* минимальная температура роста на питательных средах –  $t = +10...+25$  °C, максимальная –  $t = +45...+50$  °C; оптимальное содержание редуцирующих веществ в среде для роста *Z. kombuchaensis* и *G. xylinus* – 10-12 %. Установлено, что выделенные чистые культуры являются биосовместимыми.

2. Разработаны математические модели процессов экстракции и ферментирования. На основании установленной взаимосвязи технологических режимов экстракции сушеных виноградных выжимок и физико-химических показателей экстрактов определены оптимальные параметры экстрагирования, обеспечивающие максимальное содержание полифенольных веществ, витаминов B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, C – 2 ч, при температуре  $+ (60 \pm 3)$  °C. На основании установленной взаимосвязи технологических режимов ферментации экстрактов виноградных выжимок с применением симбиотического консорциума и показателей качества готового продукта определены оптимальные режимы культивирования консорциума – температура –  $(25 \pm 1)$  °C, время – 24 часа; соотношение виноградные выжимки-вода – 1:6; содержание редуцирующих веществ –  $(10 \pm 2)$  %; количество консорциума по отношению к общему количеству сброживаемого экстракта –  $(10 \pm 2)$  %.

4. Разработаны рецептура и технология напитка брожения на основе консорциума дрожжей и бактерий SCOBY. Разработана технологическая документация: технические условия «Напиток брожения «Тамали-Джаз»». ТУ 11.07.19 – 073 – 17021101 – 2022»; технологическая инструкция по производ-

ству напитка брожения «Тамали-Джаз», ТИ 11.07.19.129 – 073 – 17021101 – 2022, технические условия ТУ 10.89.19 – 074 – 17021101 – 2022 Пищевая добавка «Выжимки виноградные сушеные» и технологическая инструкция по

Установлено, что обеспечение суточной потребности в компонентах рациона взрослого трудоспособного населения при потреблении 500 мл напитка «Тамали-Джаз» составляет более 33,3 % от суточной потребности – в пищевых волокнах, более 15 % от суточной нормы витаминов В<sub>2</sub>, С. Установлено что потребительские свойства напитка «Тамали-Джаз» соответствуют нормативным критериям, установленным для безалкогольных напитков на растительном сырье.

4 Обоснована структурно-функциональная схема производства, энергоёмкость производства приготовления напитков брожения – 140,14 кВт·ч/100 дал. Проведена опытная апробация технологических и технических решений, оценка экономической эффективности от внедрения и реализации разработанного напитка. Определен дисконтированный срок окупаемости от внедрения проекта – 3,69 года. Результат от внедрения разработанной технологии производства напитка на предприятии ООО «АНПРИС» составил 48664,80 рублей за 100 дал.

### **Рекомендации производству**

Результаты исследований могут быть использованы на предприятиях, занимающихся производством традиционных безалкогольных напитков, для расширения ассортимента напитков, обогащенных биологически активными веществами.

Консорциум бактерий может быть использован предприятиями, занимающимися выпуском безалкогольных напитков, как стартер для процессов брожения различных растительных экстрактов (яблочный и свекольный

жмых, морковная ботва, выжимки из слив, груш и т.д.) с целью расширения линейки продукции и обогащения производимых напитков натуральными биологически активными веществами.

Предприятия, занимающиеся переработкой винограда и имеющие выход вторичной продукции в виде несброженных виноградных выжимок, могут использовать данную продукцию как сырье для сбыта на производства, занимающиеся выпуском напитков брожения на основе экстрактов из натурального сырья.

### **Перспективы дальнейшей разработки темы**

Полученные теоретические и экспериментальные результаты позволяют разрабатывать новые технологии производства и рецептуры безалкогольных напитков брожения на основе консорциума бактерий *Gluconacetobacter xylinus* и дрожжей *Zygosaccharomyces kombuchaensis*.

Разработанные компьютерные модели можно применить при моделировании рецептур различного состава (кислотность, состав экстракта, содержание редуцирующих веществ).

**СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ**

1. Приказ Министерства здравоохранения РФ от 19 августа № 614 «Об утверждении Рекомендаций по рациональным нормам потребления пищевых продуктов, отвечающих современным требованиям здорового питания». [Электронный ресурс] // «Гарант». – Режим доступа: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71385784/> (Дата обращения: 12.10.2023).

2. Тренды 2020-2021: рынок безалкогольных напитков. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://ssnab.ru/news/trendy-2020-2021-rynok-bezalkogolnykh-napitkov/> (Дата обращения: 10.12.2023).

3. Биотехнологические, экологические и экономические аспекты создания безопасных продуктов питания специализированного назначения. Материалы международной научно-практической конференции 22 мая 2020 года. Секция «Биотехнологические аспекты переработки сельскохозяйственного сырья» / Краснодар: КубГТУ, 2020. – 522 с.

4. Использование нетрадиционных видов сырья и биологически активных добавок для формирования технологических и потребительских свойств функциональных и обогащенных пищевых продуктов / Л.Н. Шубина, Е.Е. Иванова, О.В. Косенко // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. – 2019. – № 2-3 (368-369). – С. 9-12.

5. Особенности изготовления комбинированных продуктов для специализированного питания / С.П. Запорожская, О.В. Косенко, В.Г. Назаретян, В.Д. Падалко // В сборнике: Современные достижения биотехнологии. Техника, технологии и упаковка для реализации инновационных проектов на предприятиях пищевой и биотехнологической промышленности. Материалы VII Международной научно-практической конференции. – 2020. – С. 124-127.

6. Шубина, Л.Н. Химический состав паштетов с усиленными антиоксидантными свойствами / Л.Н. Шубина, О.В. Косенко, Г.И. Касьянов // *Modern Science*. – 2021. – № 1-2. – С. 507-514.

7. Сергеева, Ю.М. Использование нетрадиционного растительного сырья для продукции функционального назначения / Ю.М. Сергеева, О.Е. Бакуменко // *Кондитерское и хлебопекарное производство*. – 2021. – № 1-2 (191). – С. 21-24.

8. Зубцов, В.А. Полисахаридно-белковые комплексы – новые биологически активные компоненты для пищевой промышленности / В.А. Зубцов, И.М. Жаркова // *Электронный сетевой политематический журнал «Научные труды КубГТУ»*. – 2019. – № S9. – С. 70-82.

9. Глобальный рынок безалкогольных напитков – *Nutraceuticals World*. [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://www.nutraceuticalsworld.com/issues/2011-03/view\\_marketresearch/global-soft-drinks-market](https://www.nutraceuticalsworld.com/issues/2011-03/view_marketresearch/global-soft-drinks-market) (Дата обращения: 01.12.2023).

10. Beverage Marketing Corporation. BEVERAGES 2024: WHAT'S IN STORE. 2024. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://www.beveragemarketing.com/shop/beverages-whats-in-store-focus-report.aspx> (Дата обращения: 01.12.2023).

11. Бахмет, М.П. Экологические и технологические проблемы рационального использования вторичных ресурсов для переработки винограда / М.П. Бахмет, Е.Е. Иванова, Г.И. Касьянов, О.В. Косенко, Н.В. Магзумова, М.Д. Назарко, З.А. Яралиева // *KnE Life Sciences*. – 2019. – № 4(14). С. 1-10. – DOI: 10.18502/cls.v4i14.5571.

12. Назарько, М.Д. Отходы виноделия – перспективное сырье для получения биологически активных веществ / М.Д. Назарько, М.В. Степура, В.Н. Алешин, В.Г. Щербаков // *Известия высших учебных заведений. Пищевая технология*. – 2011. – № 1 (319). – С. 7-9.

13. Вершинина, О.Л. Использование вторичных ресурсов переработки винограда для обогащения пищевых продуктов / О.Л. Вершинина, М.Д.



Назарько, Г.И. Касьянов, П.Р. Тагирова, В.Т. Христюк // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. – 2015. – № 1 (343). – С. 55-58.

14. Melo, P.S. Winery by-products: Extraction optimization, phenolic composition and cytotoxic evaluation to acts as a new source of scavenging of reactive oxygen species / P.S. Melo, A.P. Massarioli, C. Denny, L.F. Santos, M. Franchin, G.E. Pereira et al. // Food Chemistry. – 2015. – Vol. 181. – P. 160-169.

15. Zhao, X. Effect of superfine grinding on the physicochemical properties and antioxidant activity of red grape pomace powders / X. Zhao, H. Zhu, G. Zhang, W. Tang // Powder Technology. – 2015. – Vol. 286. – P. 838-844.

16. Тутельян, В.А. Биологически активные вещества растительного происхождения. Флавонолы и флавоны: распространенность, пищевые источники, потребление // Вопросы питания. – 2013. – Том 82. – № 1. – С. 4-22.

17. Вершинина, О.Л. Использование вторичных ресурсов переработки винограда для обогащения пищевых продуктов / О.Л. Вершинина, М.Д. Назарько, Г.И. Касьянов, П.Р. Тагирова, В.Т. Христюк // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. – 2015. – №1 (343). – С. 55-58.

18. Tagirova, P.R. Food and ecological safety of grape by-products / P.R. Tagirova, M.S. Khasikhanov, G.I. Kasyanov, S.S. Saidulaev, L.M. Masaeva, R.S. Erzharova, M.D. Malaev, A.A. Dzhankhotov // Advances in Engineering Research. – 2018. – P. 941-945.

19. Ферзаули, А.И. Использование экстрактов растительного сырья и вторичных ресурсов виноделия в технологии безалкогольных напитков / А.И. Ферзаули // Пиво и напитки. – 2018. – № 3. – С. 82-85.

20. Ферзаули, А.И. Выбор условий экстракции вторичных продуктов виноделия / А.И. Ферзаули, Я.В. Ушакова, А.А. Хохлова, Ю.Ф. Якуба // Сборник научных трудов «Русский виноград». – Новочеркасск, 2018. – Том. 7. – С. 221-227.

21. Тагирова, П.Р. Эффективная переработка виноградных выжимок и семян. / П.Р. Тагирова, Г.И. Касьянов // В сборнике: Современные достиже-

ния в исследовании натуральных пищевых добавок. Сборник материалов международной научно-технической конференции. – 2014. – С. 221-225.

22. Якуба, Ю.Ф. Модифицированные ингредиенты для безалкогольных напитков / Ю.Ф. Якуба, А.И. Ферзаули, Я.В. Ушакова, А.А. Хохлова // Материалы Международной научно-практической конференции «Научный форум: медицина, биология, химия». – Москва, 2018. – № 5 (13). – С. 12-18.

23. Свиридов, Д.А. Разработка технологии использования вторичных ресурсов виноградарско-винодельческой отрасли с целью повышения физиологической ценности пищевых продуктов: специальность 05.18.01. – «Технология обработки, хранения и переработки злаковых, бобовых культур, крупяных продуктов, плодоовощной продукции и виноградарства»: диссертация на соискание ученой степени кандидата наук / Свиридов Дмитрий Александрович – 2017. – 179 с.

24. Деревенко, В.В. Основные технологические параметры конвективной сушки выжимки винограда сорта Каберне / В.В. Деревенко, А.В. Сидоренко, В.А. Ковалев, Н.Г. Володько // Известия вузов. Пищевая технология. – 2011. – № 5-6. – С. 103-105.

25. Деревенко, В.В. Закономерности конвективной сушки выжимки белого винограда / В.В. Деревенко, А.В. Сидоренко, В.А. Ковалев, Н.Г. Володько // Известия вузов. Пищевая технология. – 2011. – №4. – С. 88-89.

26. Кондратьев, Л.В. Способы получения экстракта виноградных выжимок и возможности его использования в пищевой промышленности / Л.В. Кондратьев, Н.Г. Щеглов // Известия вузов. Пищевая технология. – 2009. – № 1. – С. 62-65.

27. Amico, V. Constituents of grape pomace from the Sicilian cultivar 'Nerello Mascalese' / V. Amico, E. M. Napoli, A. Renda, G. Ruberto, C. Spatafora, C. Tringali // Food Chemistry. – 2004. – Vol. 88, № 4. – P. 599-607.

28. Rodriguez-Rodriguez, R. Endothelium-dependent vasodilator and antioxidant properties of a novel enzymatic extract of grape pomace from wine industrial waste / R. Rodriguez-Rodriguez, M.L. Justo, C.M. Claro, E. Vila, J. Parrado,

M.D. Herrera, M. Alvarez de Sotomayor // *Food Chemistry*. – 2012. – Vol. 135, № 3. – P. 1044-1051.

29. Gonzalez-Centeno, M. R. Physico-chemical properties of cell wall materials obtained from ten grape varieties and their byproducts: grape pomaces and stems / M. R. Gonzalez-Centeno, C. Rossello, S. Simal, M. C. Garau, F. Lopez, A. Femenia // *LWT-Food Science and Technology*. – 2010. – Vol. 43, № 10. – P. 1580-1586.

30. Сухина, М.И. Перспективы рационального использования вторичного сырья винодельческой и консервной промышленности / М.И. Сухина, А.В. Гукасян, В.С. Рубин // *Материалы 2ой Всероссийской научно-технической конференции «Наука, техника и технология в XXI веке (НТТ-2005)»*. – г. Нальчик, 29-30 сент., 2005. – Ч. 1. – Нальчик: Изд-во Кабардино-Балкарского государственного университета, 2005. – С. 213-214.

31. Сухина, М.И. Перспективные методы для рациональной переработки вторичного сырья винодельческой и консервной промышленности / М.И. Сухина, А.В. Гукасян // *Всероссийская научно-практическая конференция с международным участием «Пищевая промышленность: интеграция науки, образования и производства»* // Краснодар: Изд-во КубГТУ, 2005. – С. 181-183.

32. Косюра, В.Т. Основы виноделия / В.Т. Косюра, Л.В. Донченко, В.Д. Надыкта. – Москва: ДеЛи принт, 2004. – 439 с.

33. Донченко, Л.В. Технология пектина и пектинопродуктов / Л.В. Донченко. – Москва: ДеЛи, 2000. – 255 с.

34. Справочник по виноделию / под ред. Г. Г. Валуйко, В. Т. Косюры. – 2-е изд., перераб. и доп.– Симферополь: Таврида, 2005. – 588 с.

35. Нетреба, Л.В. Совершенствование технологических приемов приготовления крепких вин и безалкогольных напитков: автореферат диссертации кандидата техн. наук / Л.В. Нетреба. – Ялта, 1991. – 27 с.

36. Лоза, В.М. Фенольный состав семян и гребней винограда / В.М. Лоза, В.А. Толмачев // Известия ВУЗов. Пищевая технология. – 1971. – № 4. – С. 29-31.

37. Стуруа, З.Щ. Фенольный состав винограда и продуктов его переработки / З.Щ. Стуруа и др. // Пищевая промышленность. – 1988. – № 7. – С. 53-54.

38. Тихонова, А.Н. Виноградные выжимки как сырье для производства пищевых волокон / А.Н. Тихонова, Н.М. Агеева // Перспективы инновационного развития аутентичного виноградарства и виноделия: матер. международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых учёных Том XLVIII. Виноградарство и виноделие: Сб. науч. Тр. ФГБУН «ВНИИВиВ «Магарач» РАН». – Ялта, 2019. – С. 52-53.

39. Peixoto, C.M. Grape pomace as source of phenolic compounds and diverse bioactive properties / C.M. Peixoto [et al.] // Food Chemistry. – 2018. – № 253. – P. 132-138.

40. Dwyer, K. The market potential of grape waste alternatives / K. Dwyer, F. Hosseinian, M. Rod // Journal of Food Research. – 2014. – № 3. – P. 91-106.

41. Fontana, A.R. Grape pomace as a sustainable source of bioactive compounds: Extraction, characterization, and biotechnological applications of phenolics / A.R. Fontana, A. Antonioli, R. Bottini // Journal of Agricultural and Food Chemistry. – 2013. – № 61. – P. 8987-9003.

42. Ferrari, V. Chemical evaluation of by-products of the grape industry as potential agricultural fertilizers / V. Ferrari [et al.] // J. Clean. Prod. – 2019. – № 208. – P. 297-306.

43. Martinez, G.A. Towards multipurpose biorefinery platforms for the valorisation of red grape pomace: production of polyphenols, volatile fatty acids, polyhydroxyalkanoates and biogas / G.A. Martinez [et al.] // Green Chem. – 2016. – № 18. – P. 261-270.

44. Reshetnik, E.I. Processing of agricultural products / E.I. Reshetnik, T.V. Sharikova, V.A. Maximyuk // Technologies of production and processing of agri-

cultural products: collection of scientific papers. – Blagoveshchensk, 2016. – № 15. – 102 pp.

45. Минэкономразвития России. Федеральная служба государственной статистики (РОССТАТ). Социально-экономическое положение России. Январь-октябрь 2023 года. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/osn-12-2023.pdf> (Дата обращения: 21.02.2024).

46. Агрэкспорт. Сладкие газированные напитки. [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://aemcx.ru/wp-content/uploads/2023/02/%D0%9E%D0%B1%D0%B7%D0%BE%D1%80-%D0%92%D0%AD%D0%94\\_%D0%A1%D0%BB%D0%B0%D0%B4%D0%BA%D0%B8%D0%B5-%D0%B3%D0%B0%D0%B7%D0%B8%D1%80%D0%BE%D0%B2%D0%B0%D0%BD%D0%BD%D1%8B%D0%B5-%D0%BD%D0%B0%D0%BF%D0%B8%D1%82%D0%BA%D0%B8.pdf](https://aemcx.ru/wp-content/uploads/2023/02/%D0%9E%D0%B1%D0%B7%D0%BE%D1%80-%D0%92%D0%AD%D0%94_%D0%A1%D0%BB%D0%B0%D0%B4%D0%BA%D0%B8%D0%B5-%D0%B3%D0%B0%D0%B7%D0%B8%D1%80%D0%BE%D0%B2%D0%B0%D0%BD%D0%BD%D1%8B%D0%B5-%D0%BD%D0%B0%D0%BF%D0%B8%D1%82%D0%BA%D0%B8.pdf) (Дата обращения: 07.09.2023).

47. Сергеев, В.Н. Продовольственная безопасность страны на плечах тружеников села и совести перерабатывающей промышленности / В.Н. Сергеев, М.В. Центроев, А.И. Ферзаули, Э.С. Насарова // В сборнике: Инновационное развитие аграрно-пищевых технологий. Материалы Международной научно-практической конференции. – 2020. – С. 393-396.

48. Экспресс-обзор российского рынка безалкогольных напитков по итогам 2020 года. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://3dpro.info/site/reviews/russian-market-of-non-alcoholic-beverages/> (Дата обращения: 28.01.2023).

49. Коновалов, Д.В. Влияние конкурентной среды на рынке безалкогольных напитков на стратегическое развитие предприятий / Д.В. Коновалов // Вестник Саратовского государственного социально-экономического университета. – 2013. – № 3. – С. 173-176.

50. Становов, А.Н. Регулирование деятельности транснациональных корпораций на российском рынке безалкогольных напитков: специальность 08.00.05. – «Экономика и управление народным хозяйством»: диссертация на соискание ученой степени кандидата экономических наук / Становов Алексей Николаевич. – 2006. – 181 с.

51. Ямпольская, Д.О. Анализ конкурентной ситуации на российском рынке безалкогольных прохладительных напитков / Д.О. Ямпольская, В.Ю. Чернов // Гуманитарные, социально-экономические и общественные науки. – 2014. – № 12-3. – С. 132-151.

52. Клещевский, Ю.Н. Рынок безалкогольных напитков: состояние и перспективы развития / Ю.Н. Клещевский, Л.В. Карташова, М.А. Николаева, О.А. Рязанова // Вестник Кемеровского государственного университета. Серия: Политические, социологические и экономические науки. – 2018. – № 4 (10). – С. 86-94.

53. WorldFood Moscow 2024. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://world-food.ru/ru/media/news/2023/november/10/bezalkogolnye-napitki> (Дата обращения: 03.03.2024).

54. Бурак, Л.Ч. Ферментированные продукты питания с использованием плодов облепихи. Обзор / Л.Ч. Бурак, А.Н. Сапач // Кронос: естественные и технические науки. – 2021. – № 4 (37). – С. 32-46.

55. Soto-Méndez, M.J. Role of functional fortified dairy products in cardiometabolic health: a systematic review and meta-analyses of randomized clinical trials / M.J. Soto-Méndez [et al.] // Advances in Nutrition. – 2019. – Vol. 10. – P. 251-271. – DOI: 10.1093/advances/nmz001.

56. Baschali, A. Traditional low-alcoholic and non-alcoholic fermented beverages consumed in European countries: a neglected food group / A. Baschali, E. Tsakalidou, A. Kyriacou, N. Karavasiloglou // Nutrition Research Reviews. – 2017. – Vol. 30 (1). – P. 1-24. – DOI: 10.1017/S0954422416000202.

57. Саубенова, М.Г. Биологическая ценность ферментированных продуктов / М.Г. Саубенова, Е.А. Олейникова, А.А. Амангелды // Международ-

ный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2019. – № 8 – С. 124-129.

58. Родионова, К.И. Сывороточный напиток естественного брожения / К.И. Родионова, А.А. Короткова // Перспективные аграрные и пищевые инновации: Материалы Международной научно-практической конференции, Волгоград, 06–07 июня 2019 года / Под общей редакцией И.Ф. Горлова. Том 2. – Волгоград: Общество с ограниченной ответственностью «СФЕРА», 2019. – С. 282-284.

59. Патент № 2735266 С1 Российская Федерация, МПК А23L 2/38, А23L 21/20. Медовый напиток брожения: № 2019123004: заявл. 22.07.2019 : опубл. 29.10.2020 / Х.Х. Хайруллин. – 9 с.

60. Табакаева, О.В. Разработка рецептуры безалкогольного напитка «Чайный квас со спирулиной» / О.В. Табакаева, Ю.М. Серебрякова, А.В. Табакаев // Инновационные технологии в пищевой промышленности и общественном питании: Материалы VII Международной научно-практической конференции, Екатеринбург, 12 октября 2020 года. – Екатеринбург: Уральский государственный экономический университет, 2020. – С. 160-165.

61. Gernet, M.V. Biotechnological aspects of fermented drinks production on vegetable raw materials / M.V. Gernet, I.N. Gribkova, K.V. Kobelev [et al.] // Известия Национальной академии наук Республики Казахстан. Серия геологии и технических наук. – 2019. – Vol. 1, No. 433. – P. 223-230. – DOI 10.32014/2019.2518-170X.27.

62. Патент № 2451452 С2 Российская Федерация, МПК А23С 21/00, А23С 21/02, А23С 21/08. Напиток на основе молочной сыворотки с экстрактом амаранта: № 2010138024/10: заявл. 13.09.2010: опубл. 27.05.2012 / Г.Г. Соколенко, Т.В. Вострикова, К.К. Полянский; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Воронежский государственный аграрный университет имени императора Петра I» (ФГБОУ ВПО Воронежский ГАУ).

63. Обрезкова, М.В. Разработка рецептуры кваса брожения с использованием концентрата свекольного сока / М.В. Обрезкова, Е.П. Каменская, В.А. Вагнер // Вестник КрасГАУ. – 2019. – № 9(150). – С. 158-165.

64. Патент № 2779422 С1 Российская Федерация, МПК А23L 2/00, А23L 2/02. Безалкогольный напиток на основе ферментированного сока рябины черноплодной: № 2021133556: заявл. 17.11.2021: опубл. 06.09.2022 / М. Н. Колесниченко, Е. С. Дикалова, М. А. Скачкова [и др.]; заявитель федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова».

65. Сапарбекова, А.А. Разработка технологии ферментированного напитка на основе арбузного и гранатового сока / А.А. Сапарбекова, А.А. Омирзак, З.К. Конарбаева // Вестник Алматинского технологического университета. – 2016. – № 1. – С. 49-54.

66. Сапарбекова, А.А. Технология ферментированного напитка на основе яблочного сока с использованием культуры рисового гриба *Oryzomyces indicī* / А.А. Сапарбекова, А.А. Омирзак, А.И. Ли, А.С. Латиф // Вестник Алматинского технологического университета. – 2017. – № 4. – С. 37-44.

67. Ермолаева, Г.А. Медовый напиток с использованием нетрадиционного сырья / Г.А. Ермолаева, Н.С. Скоморохов, К.О. Кольцова // Пиво и напитки. – 2021. – № 1. – С. 10-15. – DOI 10.24412/2072-9650-2021-1-0001.

68. Патент РФ № 2741343, МПК А23L2/00. Способ получения безалкогольных напитков из сублимированного плодово-ягодного сырья: № 2018141165 заявл.: 22.11.2018, опубл. 25.01.2021. / Петков И.И., Семенов Г.В., Краснова И.С., Касьянов Г.И.

69. Коростылева, Л.А. Использование вторичного сырья при производстве безалкогольных напитков / Л.А. Коростылева, Т.В. Парфенова // Пиво и напитки. – 2007. – № 4. [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://cyberleninka.ru/article/n/ispolzovanie-vtorichnogo-syrya-pri-proizvodstve-bezalkogolnyh-napitkov> (Дата обращения: 07.11.2023).



70. Патент № 2711782 С1 Российская Федерация, МПК А23L 2/00, А23L 2/38. Способ производства безалкогольного напитка : № 2019116576 : заявл. 29.05.2019: опубл. 22.01.2020 / Ю. Ф. Якуба, А. И. Ферзаули, М. В. Центроев [и др.]; заявитель Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия».

71. Егорова, Е.Ю. Использование вторичных сырьевых ресурсов винодельческой отрасли в биотехнологии напитков брожения / Е.Ю. Егорова, Ю.В. Мороженко // Health, Food & Biotechnology. – 2021. – № 3(2). – DOI: 10.36107/hfb.2021.i2.s103.

72. Gamboa-Gomez, C.I. In vitro and in vivo assessment of anti-hyperglycemic and antioxidant effects of Oak leaves (*Quercus convallata* and *Quercus arizonica*) infusions and fermented beverages / C.I. Gamboa-Gomez, L.E. Simental-Mendia, R.F. Gonzalez-Laredo [et al.] // Food Research International. – 2017. – № 102. – P. 690-699.

73. Lobo, R.O. Bio-tea prevents membrane destabilization during isoproterenol-induced myocardial injury / R.O. Lobo, B.K.C. Sagar, C.K. Shenoy // Journal of Microscopy and Ultrastructure. – 2017. – № 5. – P. 146-154.

74. Sknepnek, A. Novel kombucha beverage from lingzhi or reishi medicinal mushroom, *Ganoderma lucidum*, with antibacterial and antioxidant effects / A. Sknepnek, M. Pantic, D. Matijasevic [et al.] // International Journal of Medicinal Mushrooms. – 2018. – № 20 – P. 243-258.

75. Kapp, J.M. Kombucha: A systematic review of the empirical evidence of human health benefit / J.M. Kapp, W. Summer // Annals of Epidemiology. – 2019. – № 30.– P. 66-70.

76. Villarreal-Soto, S.A. Understanding kombucha tea fermentation: A review / S.A. Villarreal-Soto, S. Beaufort, J. Bouajila, J.P. Souchard, P. Taillandier // Journal of Food Science. – 2018. – № 83. – P. 580-588.

77. Chakravorty, S. Kombucha tea fermentation: microbial and biochemical dynamics / S. Chakravorty, S. Bhattacharya, A. Chatzinotas [et al.] // *Int. J. Food Microbiol.* – 2016. – № 220. – P. 63-72.

78. Coton, M. Unraveling microbial ecology of industrial-scale Kombucha fermentations by metabarcoding and culture-based methods / M. Coton, A. Pawtowski, B. Taminiou [et al.] // *FEMS Microbiol. Ecol.* – 2017. – № 93 (5). – P. 1-16.

79. Jayabalan, R. A Review on Kombucha Tea-Microbiology, Composition, Fermentation, Beneficial Effects, Toxicity, and Tea Fungus. / R. Jayabalan, R.V. Malbaša, E.S. Lončar, J.S. Vitas, M. Sathishkumar // *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety.* – 2014. – № 13 (4). – P. 538-550. – DOI: 10.1111/1541-4337.12073.

80. Leal, M. A review on health benefits of kombucha nutritional compounds and metabolites / M. Leal, V. Suárez, R. Jayabalan, H. Oros, A. Escarlante-aburto // *CyTA – J. Food.* – 2018. – № 16 (1). – P. 390-399.

81. Carvalhes, F.G. Fermentação a Brasileira. / F.G. Carvalhes, L.A. De Andrade // *Melhoramentos, Brasil.* – 2020. – 320 p.

82. Watawana, M.I. Enhancement of the functional properties of coffee through fermentation by «tea fungus» (kombucha) / M.I. Watawana, N. Jayawardena, V.Y. Waisundara // *J. Food Process. Preserv.* – 2015. – № 39 (6). – P. 2596-2603.

83. Ayed, L. Manufacture of a beverage from cactus pear juice using «tea fungus» fermentation / L. Ayed, M. Hamdi // *Ann. Microbiol.* – 2015. – № 65. – P. 2293-2299. – DOI: 10.1007/s13213-015-1071-8.

84. Revin, V. Cost-effective production of bacterial cellulose using acidic food industry by-products / V. Revin, E. Liyaskina, M. Nazarkina, A. Bogatyreva, M. Shchankin // *Biotechnology and Industrial Microbiology.* – 2018. – № 49 (1). – P. 151-159.

85. Tsouko, E. Bacterial cellulose production from industrial waste and by-product streams / E. Tsouko, C. Kourmentza, D. Ladakis [et al.] // *International Journal of Molecular Sciences*. – 2015. – № 16 (7). – P. 14832-14849.

86. Waleed, A.-K. Characterization and physico-mechanical properties of bacterial cellulose from industrial wastes / A.-K. Waleed, K. Taous, U.-I. Mazhar, W. Fa // *Journal of Polymers and the Environment*. – 2015. – № 23. – P. 45-53.

87. Wang, L. Production of nano bacterial cellulose from waste water of candied jujube processing industry using *Acetobacter xylinum* / L. Wang, Z. Li, J. Hua, S. Jia, J. Zhang // *Carbohydrate Polymers*. – 2015. – № 120. – P. 115-119.

88. Борисова, А.В. Функциональные продукты питания: связь между теорией, производством и потребителем / А.В. Борисова, М.В. Шаярова, Н.Ю. Шишкина // *Новые технологии*. 2021. – № 17 (1). С. 21-32. – DOI:10.47370/2072-0920-2021-17-1-21-32.

89. Mabasa, R. Milk-based beverages obtained by Kombucha application / R. Mabasa, S. Milanovic, E. Loncar [et al.] // *Food Chemistry* – 2009. – № 112 (1). – P. 178-184.

90. Costa, A. Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter hanseii* using corn steep liquor as nutrient sources / A. Costa, F. Almeida, G. Vinhas, L. Sarubbo // *Front. Microbiol.* – 2017. – № 8. – P. 1-12. – DOI: 10.3389/fmicb.2017.02027.

91. Прогноз научно-технологического развития Российской Федерации на период до 2030 года. Минобрнауки России. – Москва, 2013. – 72 с.

92. ГОСТ 32131-2021. Упаковка стеклянная. Бутылки для алкогольной и безалкогольной пищевой продукции. Общие технические условия. – Введ. 01.03.2023. – М.: Стандартинформ, 2021. – 14 с.

93. ГОСТ ISO 7218-2015. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Общие требования и рекомендации по микробиологическим исследованиям. – Введ. 01.07.2016. – М.: Стандартинформ, 2016. – 76 с.

94. ГОСТ 31904-2012. Продукты пищевые. Методы отбора проб для микробиологических испытаний. – Введ. 01.07.2013. – М.: Стандартиформ, 2014. – 8 с.

95. ГОСТ 10444.12-2013. Микробиология пищевых продуктов и кормов для животных. Методы выявления и подсчета количества дрожжей и плесневых грибов. – Введ. 01.07.2015. – М.: Стандартиформ, 2014. – 12 с.

96. ГОСТ 10444.15-94. Продукты пищевые. Методы определения количества мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов. – Введ. 01.01.1996. – М.: Стандартиформ, 2010. – 7 с.

97. ГОСТ 26669-85. Продукты пищевые и вкусовые. Подготовка проб для микробиологических анализов. – Введ. 01.07.1986. – М.: Изд-во стандартов, 1986. – 9 с.

98. ГОСТ 26670-91. Продукты пищевые. Методы культивирования микроорганизмов. – Введ. 01.01.93. – М.: Издательство стандартов, 1992. – 8 с.

99. ГОСТ 31659-2012. Продукты пищевые. Метод выявления бактерий рода *Salmonella*. – Введ. 01.07.2013. – М.: Стандартиформ, 2014. – 22 с.

100. ГОСТ 31747-2012. Продукты пищевые. Методы выявления и определения количества бактерий группы кишечных палочек (колиформных бактерий). – Введ. 01.07.2013. – М.: Стандартиформ, 2013. – 13 с.

101. ГОСТ 56139-2014. Продукты пищевые функциональные. Методы определения и подсчета пробиотических микроорганизмов. – Введ. 01.01.2016. – М.: Стандартиформ, 2015. – 21 с.

102. ГОСТ 6687.4-86. Напитки безалкогольные, квасы и сиропы. Методы определения кислотности. – Введ. 01.07.1987. – М.: Государственный комитет СССР по стандартам, 1987. – 7 с.

103. ГОСТ ISO 2173-2013. Продукты переработки фруктов и овощей. Рефрактометрический метод определения растворимых сухих веществ. – Введ. 01.07.2015. – М.: Стандартиформ, 2019. – 8 с.

104. ГОСТ 6687.2-90. Продукция безалкогольной промышленности. Методы определения сухих веществ. – Введ. 01.07.1991. – М.: ИПК Издательство стандартов, 2002. – 10 с.

105. ГОСТ EN 14152-2013. Продукты пищевые. Определение витамина В2 с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. – Введ. 01.07.2015. – М.: Стандартиформ, 2014. – 11 с.

106. ГОСТ 32042-2012. Премиксы. Методы определения витаминов группы В. – Введ. 01.07.2014. – М.: Стандартиформ, 2020. – 22 с.

107. Методическое и аналитическое обеспечение исследований по садоводству / СКЗНИИСиВ; редкол: Е.А. Егоров [и др.] – Краснодар, 2010. – 310 с.

108. ГОСТ 6687.5-86. Продукция безалкогольной промышленности. Методы определения органолептических показателей и объема продукции. – Введ. 01.07.1987. – М.: Издательство стандартов, 1987. – 7 с.

109. ГОСТ 6687.7-88. Напитки безалкогольные и квасы. Метод определения спирта. – Введ. 01.07.1989. – М.: Государственный комитет СССР по стандартам, 1988. – 7 с.

110. ГОСТ EN 14122-2013. – Продукты пищевые. Определение витамина В1 с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. – Введ. 01.07.2015. – М.: Стандартиформ, 2014. – 18 с.

111. ГОСТ EN 14164-2014. Продукты пищевые. Определение витамина В6 с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. – Введ. 01.07.2017. – М.: Стандартиформ, 2016. – 13 с.

112. ГОСТ 26928-86. – Продукты пищевые. Метод определения железа. Введ. 01.07.1988. – М.: Стандартиформ, 2010. – 4 с.

113. ГОСТ 30538-97. Продукты пищевые. Методика определения токсичных элементов атомно-эмиссионным методом. – Введ. 01.05.2001. – М.: Стандартиформ, 2010. – 27 с.

114. ГОСТ 26927-86. Сырье и продукты пищевые. Методы определения ртути. – Введ. 01.12.1986. – М.: Стандартиформ, 2010. – 12 с.

115. ГОСТ 26929-94. Сырье и продукты пищевые. Подготовка проб. Минерализация для определения содержания токсичных элементов. – Введ. 01.01.1996. – М.: Стандартинформ, 2010. – 9 с.

116. Савчик, А.В. Фенотипическая и молекулярногенетическая идентификация дрожжевых грибов из фонда Белорусской коллекции непатогенных микроорганизмов / А. В. Савчик, А. В. Кантерова, С. И. Леонович [и др.] // Молодежь в науке – 2020: Тезисы докладов XVII Международной научной конференции, Минск, 25 сентября 2020 года / Редколлегия: В.Г. Гусаков (гл. ред.) [и др.]. – Минск: Республиканское унитарное предприятие «Издательский дом «Белорусская наука», 2020. – С. 235-237.

117. Асташкина, А.П. Типы брожения. Качественные реакции спиртового, молочнокислого, маслянокислого брожения: методические указания к выполнению лабораторной работы по дисциплинам «Микробиология», «Фармакология, биохимия, микробиология» и «Биотехнология» для студентов ИПР, ИФВТ дневной формы обучения / сост. А.П. Асташкина; Томский политехнический университет. – Томск: Изд-во Томского политехнического университета, 2015. – 18 с.

118. ТР ТС 021/2011 Технический регламент Таможенного союза «О безопасности пищевой продукции» (с изменениями на 14 июля 2021 года) / утв. решением Комиссии Таможенного союза от 9 декабря 2011 года N 880. – 173 с.

119. De Vos, P. Bergey's manual of systematic bacteriology. Second edition. The Firmicutes. / P. De Vos, G.M. Garrity, D. Jones [et al.] // Springer. – 2009. – Vol. 3. – pp. 1450.

120. Krieg, N.R. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. Second Edition. Volume Four. The Bacteroidetes, Spirochaetes, Tenericutes (Mollicutes), Acidobacteria, Fibrobacteres, Fusobacteria, Dictyoglomi, Gemmatimonadetes, Lentisphaerae, Verrucomicrobia, Chlamydiae and Planctomycetes / N.R. Krieg, J.T. Staley, D.R. Brown [et al.] // Springer. – 2010. – Vol. 4. – pp. 976.

121. Srivastava S. *Understanding Bacteria* / Springer Netherlands. – 2014. – pp. 469.
122. Ившина, И.Б. Биоразнообразие и систематика микроорганизмов: учеб. пособие / И.Б. Ившина, А.В. Криворучко, М.С. Куюкина // Перм. гос. нац. исслед. ун-т. – Пермь, 2019. – 304 с.
123. Da Costa, M.S. The identification of fatty acids in bacteria / M.S. Da Costa, L. Albuquerque, M.F. Nobre, R. Wait // *Methods in Microbiology*. – 2011. – Vol. 38. – P. 183-196.
124. Yarza, P. The all-species living tree project: a 16S rRNA-based phylogenetic tree of all sequenced type strains / P. Yarza, M. Richter, J. Peplies [et al.] // *Systematic and Applied Microbiology*. – 2008. – Vol. 31. – P. 241-250.
125. Заварзин Г.А. Фенотипическая систематика бактерий: Пространство логических возможностей. – М.: ЛЕНАНД. – 2018. – 152 с.
126. Обобщенная база данных микробных геномов Объединенного института генома (The Joint Genome Institute's Integrated Microbial Genomes database). [Электронный ресурс] // Режим доступа: <https://img.jgi.doe.gov/cgi-bin/m/main.cgi> (Дата обращения: 01.03.2023).
127. Sá-Correia, I. *Zygosaccharomyces* / I. Sá-Correia, J.F. Guerreiro, M.C. Loureiro-Dias, C. Leão, M. Côrte-Real // *Encyclopedia of Food Microbiology*. – 2014. – P. 849-855. – DOI: 10.1016/b978-0-12-384730-0.00364-5.
128. Jagannath, A. The effect of pH, sucrose and ammonium sulphate concentrations on the production of bacterial cellulose (Nata-de-coco) by *Acetobacter xylinum* / A. Jagannath, A. Kalaiselvan, S.S. Manjunatha, P.S. Raju, A.S. Bawa // *World J. Microbiol. Biotechnol.* – 2018. – № 24. – P. 2593-2599. – DOI: 10.1007/s11274-008-9781-8.
129. Campano, C. Enhancement of the fermentation process and properties of bacterial cellulose: a review / C. Campano, A. Balea, A. Blanco, C. Negro // *Cellulose*. – № 23 (1). – 2016. – P. 57-91.
130. Yamada, Y. Subdivision of the genus *Gluconacetobacter* Yamada, Hoshino and Ishikawa 1998: the proposal of *Komagatabacter* gen. nov., for strains

accommodated to the *Gluconacetobacter xylinus* group in the  $\alpha$ -Proteobacteria / Y. Yamada, P. Yukphan, H.T.L. Vu, Y. Muramatsu, D. Ochaikul, Y. Nakagawa // *Annals of Microbiology*. – 2011. – № 62 (2). – P. 849-859. – DOI: 10.1007/s13213-011-0288-4.

131. Römling, U. Bacterial cellulose biosynthesis: diversity of operons, subunits, products, and functions / U. Römling, M.Y. Galperin // *Trends in Microbiology*. – 2015. – № 23(9). – P. 545-557. – DOI: 10.1016/j.tim.2015.05.005.

132. Yamada, Y. Description of *Komagataeibacter* gen. nov., with proposals of new combinations (Acetobacteraceae) / Y. Yamada, P. Yukphan, H.T. Lan Vu [et al.] // *The Journal of General and Applied Microbiology*. – 2012. – № 58(5). – P. 397-404. – DOI: 10.2323/jgam.58.397.

133. Dutta, D. Nitrogen-fixing and cellulose-producing *Gluconacetobacter kombuchae* sp. nov., isolated from Kombucha tea / D. Dutta, R. Gachhui // *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* – 2007. – № 57. – P. 353-357.

134. Torres, F.G. Bacterial cellulose nanocomposites: An all-nano type of material / F.G. Torres, J.J. Arroyo, O.P. Troncoso // *Materials Science & Engineering* – 2019. – № 98. – P. 1277-1293.

135. Рассказова, П.М. Бактериальная целлюлоза: характеристика и производство / П. М. Рассказова // *Наука сегодня: проблемы и перспективы развития: Материалы международной научно-практической конференции, Вологда, 27 ноября 2019 года.* – Вологда: Общество с ограниченной ответственностью «Маркер», 2019. – С. 12-13.

136. Мудрецова-Висс, К.А. Основы микробиологии: учебник / К.А. Мудрецова-Висс, В.П. Дедюхина, Е.В. Масленникова // *Владивостокский университет экономики и сервиса.* – 5-е изд., исправленное, пересмотренное и дополненное. – М.: ИНФРА-М, 2014. – 354 с.

137. Меледина, Т.В. Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*. Морфология, химический состав, метаболизм: Учеб. пособие. / Т.В. Меледина, С.Г. Давыденко // *СПб.: Университет ИТМО, 2015.* – 88 с.



138. Du Toit, W.J. The occurrence, control and esoteric effect of acetic acid bacteria in winemaking / W.J. Du Toit, I.S. Pretorius // *Annals of Microbiol.* – 2002. – Vol. 52. – № 2. – P. 155-179.

139. Raspor, P. Biotechnological Applications of Acetic Acid Bacteria. / P. Raspor, D. Goranovič // *Critical Reviews in Biotechnology.* – 2008. – № 28(2). – P. 101-124. – DOI:10.1080/07388550802046749.

140. Du, R. Production and characterization of bacterial cellulose produced by *Gluconacetobacter xylinus* isolated from Chinese persimmon vinegar / R. Du, F. Zhao, Q. Peng, Z. Zhou // *Carbohydrate Polymers.* – 2018. – Vol. 194. – P. 200-207.

141. Назарова, Н.Б. Оптимизация условий культивирования выделенных штаммов *Komagataeibacter hansenii* и *Komagataeibacter (Gluconacetobacter) surcofermentans* для получения бактериальной целлюлозы и новых функциональных материалов на ее основе: специальность 1.5.6. «Биотехнология»: диссертация на соискание ученой степени кандидата биологических наук / Назарова Наталья Борисовна. – 2022. – 162 с.

142. Эльдаров М.А. Геномика и биохимия винных штаммов дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* / М.А. Эльдаров, С.А. Кишковская, Т.Н. Танащук, А.В. Марданов // *Успехи биологической химии.* – 2016. – Т. 56. – С. 155-196.

143. Клещев Н.Ф. Общая промышленная биотехнология: Технология броидильных производств: Учеб. пособие / Н.Ф. Клещев, М.П. Бенько // Харьков: НТУ «ХПИ». – 2007. – 200 с.

144. Куркина, Н.В. Янтарная кислота Е363 / Н.В. Куркина // *Пищевые добавки. Энциклопедия* – 2-е изд. – СПб.: ГИОРД, 2004. – С. 724. – 808 с.

145. Verhoff, F.H. Citric Acid / F.H. Verhoff, H. Bauweleers// *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry.* – Wiley-VCH, Weinheim, 2014. – DOI:10.1002/14356007.a07\_103.pub3.

146. ГОСТ 28188 – 2014. Напитки безалкогольные. Общие технические условия. – Введ. 01.01.2016. – М.: Стандартинформ, 2019. – 6 с.

147. Бабакина, М.В. Технология конверсии плодово-ягодного вторичного сырья для производства функционального напитка / М.В. Бабакина, Т.В. Першакова, М.В. Самойленко, Е.С. Семиряжко // Передовые исследования Кубани: Сборник материалов Ежегодной отчетной конференции грантодержателей Кубанского научного фонда. – 2022. – С. 88-94.

148. Методические рекомендации МР 2.3.1.0253-21 «Нормы физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации» (утв. Федеральной службой по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека 22 июля 2021 г.). – Москва, 2021. – 72 с.

149. Dea'k T. Handbook of food spoilage yeasts / 2nd ed. Boca Raton, FL: CRC Press, Taylor and Francis Group, 2008. – 325 p.

150. СанПиН 2.1.3684-21 «Санитарно-эпидемиологические требования к содержанию территорий городских и сельских поселений, к водным объектам, питьевой воде и питьевому водоснабжению, атмосферному воздуху, почвам, жилым помещениям, эксплуатации производственных, общественных помещений, организации и проведению санитарно-противоэпидемических (профилактических) мероприятий» от 28 января 2021 г. № 2.1.3684-21. – Постановление Главного государственного санитарного врача РФ от 28 января 2021 г. № 3. – Введ. в действие с 01.03.2021 г.

151. Расчет инвестиционных проектов. Вариант Окупаемость. [Электронный ресурс] // Режим доступа: [https://finances-analysis.ru/buy-xls-list.htm?\\_aid=18013&\\_vcaid=](https://finances-analysis.ru/buy-xls-list.htm?_aid=18013&_vcaid=) (Дата обращения: 02.04.2024).

## ПРИЛОЖЕНИЕ А

### АНКЕТА для опроса потребителей

<b>1.</b>	<b>В каком районе (городе, городском округе) Вы проживаете?</b> _____ _____																																																																																
<b>2.</b>	<b>Укажите Ваш пол:</b> Мужской Женский																																																																																
<b>3.</b>	<b>Укажите Ваш возраст:</b> 18-24 25-34 35-44 45-54 55-64																																																																																
<b>4.</b>	<b>Каков Ваш социальный статус?</b> Работаю Без работы Учусь / студент Домохозяйка (домохозяин) Пенсионер (в том числе по инвалидности) Предприниматель Самозанятый																																																																																
<b>8.</b>	<b>Напиткам в какой упаковке Вы отдаете предпочтение при выборе?</b>  <i>1. Полностью устраивает 2. Скорее удовлетворен 3. Скорее не удовлетворен 4. Не удовлетворен 5. Затрудняюсь ответить</i>																																																																																
	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse; text-align: center;"> <thead> <tr> <th style="width: 35%;">Тип напитка</th> <th colspan="5">ПЭТ</th> <th colspan="5">Стекло</th> <th colspan="5">Другие</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>Питьевая вода</td> <td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td> <td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td> <td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td> </tr> <tr> <td>Газированные напитки</td> <td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td> <td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td> <td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td> </tr> <tr> <td>Фруктовые соки/напитки</td> <td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td> <td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td> <td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td> </tr> <tr> <td>Напитки брожения</td> <td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td> <td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td> <td>1</td><td>2</td><td>3</td><td>4</td><td>5</td> </tr> </tbody> </table>	Тип напитка	ПЭТ					Стекло					Другие					Питьевая вода	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	Газированные напитки	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	Фруктовые соки/напитки	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	Напитки брожения	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
Тип напитка	ПЭТ					Стекло					Другие																																																																						
Питьевая вода	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5																																																																		
Газированные напитки	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5																																																																		
Фруктовые соки/напитки	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5																																																																		
Напитки брожения	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5																																																																		
<b>11.</b>	<b>Качество каких напитков, по Вашему мнению, в Краснодарском крае выше, по сравнению с другими регионами?</b> _____ _____ _____																																																																																

**БЛАГОДАРИМ ВАС ЗА УЧАСТИЕ В ОПРОСЕ!**

## ПРИЛОЖЕНИЕ Б

### Технические условия

Краснодарский научно-исследовательский институт  
хранения и переработки сельскохозяйственной продукции – филиал  
Федерального государственного бюджетного научного учреждения  
«Северо-Кавказский федеральный научный центр  
садоводства, виноградарства, виноделия»  
**(КНИИХП – ФИЛИАЛ ФГБНУ СКФНЦСВВ)**

ОКПД2 11.07.19. 129  
ОКП 91 8515

ОКС 67.160.20 (Группа Н 71)



### НАПИТОК БРОЖЕНИЯ «ТАМАЛИ-ДЖАЗ»

Технические условия

ТУ 11.07.19 – 073 – 17021101 – 2022

(Утверждены впервые)

Дата введения в действие - 24 июля 2022 г

РАЗРАБОТАНО  
КНИИХП – филиал ФГБНУ СКФНЦСВВ  
Ведущий научный сотрудник,  
отдела хранения и комплексной  
переработки сельскохозяйственного сырья, д.т.н.  
\_\_\_\_\_ Першакова Т.В.  
Младший научный сотрудник,  
отдела хранения и комплексной  
переработки сельскохозяйственного сырья,  
\_\_\_\_\_ Семиряжко Е.С.  
Младший научный сотрудник,  
отдела хранения и комплексной  
переработки сельскохозяйственного сырья  
\_\_\_\_\_ Бабакина М.В.  
Младший научный сотрудник,  
отдела хранения и комплексной  
переработки сельскохозяйственного сырья  
\_\_\_\_\_ Самойленко М.В.

Краснодар  
2022

Краснодарский научно-исследовательский институт  
хранения и переработки сельскохозяйственной продукции – филиал  
Федерального государственного бюджетного научного учреждения  
«Северо-Кавказский федеральный научный центр  
садоводства, виноградарства, виноделия»  
**(КНИИХП – ФИЛИАЛ ФГБНУ СКФНЦСВВ)**

ОКПД2 10.89.19. 290  
ОКП 91 7681

ОКС 67.220.20 (Группа Н 51)

УТВЕРЖДАЮ  
Директор КНИИХП – филиал  
ФГБНУ СКФНЦСВВ, к.т.н.,  
Г. А. Купин  
«24» июля 2022 г.

**ПИЩЕВАЯ ДОБАВКА.  
ВЫЖИМКИ ВИНОГРАДНЫЕ СУШЕНЫЕ**  
Технические условия

**ТУ 10.89.19 – 074 – 17021101 – 2022**

(Утверждены впервые)

Дата введения в действие - 24. июля 2022 г

РАЗРАБОТАНО  
КНИИХП – филиал ФГБНУ СКФНЦСВВ  
Ведущий научный сотрудник, отдела хранения  
и комплексной переработки  
сельскохозяйственного сырья, д.т.н.,  
Першакова Т.В.  
Младший научный сотрудник, отдела  
хранения и комплексной переработки  
сельскохозяйственного сырья  
Семиряжко Е.С.  
Старший научный сотрудник, отдела хранения  
и комплексной переработки  
сельскохозяйственного сырья, к.т.н.  
Яковлева Т.В.  
Младший научный сотрудник, отдела  
хранения и комплексной переработки  
сельскохозяйственного сырья  
Тягушева А.А.  
Младший научный сотрудник, отдела  
хранения и комплексной переработки  
сельскохозяйственного сырья,  
Бабакина М.В.

Краснодар  
2022

**ПРИЛОЖЕНИЕ В****Технологические инструкции**

Краснодарский научно– исследовательский институт  
хранения и переработки сельскохозяйственной продукции – филиал  
Федерального государственного бюджетного научного учреждения  
«Северо– Кавказский федеральный научный центр  
садоводства, виноградарства, виноделия»  
(КНИИХП – филиал ФГБНУ СКФНЦСВВ)

УТВЕРЖДАЮ

Директор КНИИХП – филиал  
ФГБНУ СКФНЦСВВ, к.т.н.,  
Купин Г.А.

«27 июня» 2022 г.

ТИ 11.07.19.129 – 073 – 17021101 – 2022

ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ИНСТРУКЦИЯ  
ПО ПРОИЗВОДСТВУ НАПИТКА БРОЖЕНИЯ «ТАМАЛИ-ДЖАЗ»

Дата введения «27» июня 2022 г.

Настоящий документ не может быть полностью или частично воспроизведен, тиражирован  
и распространен без разрешения КНИИХП – филиал ФГБНУ СКФНЦСВВ

Краснодарский научно– исследовательский институт  
хранения и переработки сельскохозяйственной продукции – филиал  
Федерального государственного бюджетного научного учреждения  
«Северо– Кавказский федеральный научный центр  
садоводства, виноградарства, виноделия»  
(КНИИХП – филиал ФГБНУ СКФНЦСВВ)

УТВЕРЖДАЮ  
Директор КНИИХП – филиал  
ФГБНУ СКФНЦСВВ к.т.н.,  
Г.А. Купин  
« 27 » июня 2022 г.

ТИ 10.89.19.290 – 074 – 17021101– 2022

ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ИНСТРУКЦИЯ  
ПО ПРОИЗВОДСТВУ ПИЩЕВОЙ ДОБАВКИ  
«ВЫЖИМКИ ВИНОГРАДНЫЕ СУШЕНЫЕ»

Дата введения « 27 » июня 2022 г.

Настоящий документ не может быть полностью или частично воспроизведен,  
тиражирован и распространен без разрешения КНИИХП – филиал ФГБНУ СКФНЦСВВ

Краснодар  
2022

## ПРИЛОЖЕНИЕ Г

## Патент

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ(19) RU<sup>(11)</sup> **2 783 431** <sup>(13)</sup> C1(51) МПК  
[A23L 2/38 \(2006.01\)](#)  
[A23L 2/52 \(2006.01\)](#)  
(52) СПК  
[A23L 2/38 \(2022.05\)](#)  
[A23L 2/52 \(2022.05\)](#)

## (12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

Статус: действует (последнее изменение статуса: 04.08.2023)  
 Пошлина: учтена за 3 год с 23.09.2023 по 22.09.2024. Установленный срок для уплаты пошлины за 4 год: с 23.09.2023 по 22.09.2024. При уплате пошлины за 4 год в дополнительный 6-месячный срок с 23.09.2024 по 22.03.2025 размер пошлины увеличивается на 50%.

(21)(22) Заявка: [2021127909](#), 22.09.2021(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
22.09.2021Дата регистрации:  
14.11.2022Приоритет(ы):  
(22) Дата подачи заявки: 22.09.2021(45) Опубликовано: [14.11.2022](#) Бюл. № [32](#)

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2337592 C2, 10.11.2008. RU 2153816 C1, 10.08.2000. ZUEHLKE J.M., PETROVA B., EDWARDS C.G. "Advances in the control of wine spoilage by Zygosaccharomyces and Dekkera/Brettanomyces." ANNUAL REVIEW OF FOOD SCIENCE AND TECHNOLOGY, vol. 2013, p. 57-78. RU 2711782 C1, 22.01.2020. RU 2605352 C1, 20.12.2016. WO 2012047786 A1, 12.04.2012. US

20070071871 A1, 29.03.2007.

Адрес для переписки:  
350072, г. Краснодар, ул. Тополиная аллея,  
2, КНИИХП-филиал ФГБНУ СКФНЦСВВ,  
директор Купин Г.А.

(72) Автор(ы):

Бабкина Мария Владимировна (RU),  
Першакова Татьяна Владимировна (RU),  
Самойленко Мария Владимировна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное  
научное учреждение "Северо-Кавказский  
федеральный научный центр садоводства,  
виноградарства, виноделия" (RU)

(54) СПОСОБ ПРИГОТОВЛЕНИЯ НАПИТКА, ОБЛАДАЮЩЕГО БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ



## ПРИЛОЖЕНИЕ Д

## Государственная регистрация программы для ЭВМ

РОССИЙСКАЯ ФЕДЕРАЦИЯ

RU

2021666411



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

## (12) ГОСУДАРСТВЕННАЯ РЕГИСТРАЦИЯ ПРОГРАММЫ ДЛЯ ЭВМ

<p>Номер регистрации (свидетельства): <b>2021666411</b></p> <p>Дата регистрации: <b>14.10.2021</b></p> <p>Номер и дата поступления заявки: <b>2021663373 25.08.2021</b></p> <p>Дата публикации: <b>14.10.2021</b></p> <p>Контактные реквизиты: Тел.: +7(989)830-09-01; e-mail: <b>wuhdz@mail.ru</b></p>	<p>Авторы: <b>Бабаккина Мария Владимировна (RU), Самойленко Мария Владимировна (RU), Свердличенко Анастасия Валериевна (RU), Бородихин Александр Сергеевич (RU)</b></p> <p>Правообладатель: <b>Бабаккина Мария Владимировна (RU)</b></p>
---	--

Название программы для ЭВМ:

**«Автоматизированный расчет скорости сбраживания субстрата консорциумом дрожжей и бактерий в зависимости от изменения pH среды и содержания редуцирующих сахаров» (УМКСбраживание2021)**

**Реферат:**

Программа позволяет осуществлять автоматизированный расчет скорости сбраживания субстрата до конечной точки сбраживания с pH 3,5 с помощью симбиотического консорциума дрожжей и бактерий для производства функционального напитка в зависимости от pH среды и количества редуцирующих сахаров в среде. Программу можно применять для наиболее быстрого сбраживания растительных субстратов и водных экстрактов фруктово-ягодных выжимок. Рекомендуется для специалистов производства функциональных напитков. Инновационный проект выполнен при финансовой поддержке Кубанского научного фонда в рамках Конкурса научно-инновационных проектов, ориентированных на коммерциализацию № НИП 20.1/9. Тип ЭВМ: IBM PC-совмест. ПК; ОС: Windows XP/7/10.

**Язык программирования:** Object Pascal (Lazarus)

**Объем программы для ЭВМ:** 3,10 МБ

**ПРИЛОЖЕНИЕ Е**  
**Денежный поток по шагам**

Время		Денежный поток на шаге					Нарастающим итогом		
Шаг	Год	Расход	Доход	Потребность в инвестициях	Чистый доход	Дисконти рованный ЧД	Потребность в инвестициях	Чистый доход	Дисконти рованный ЧД
1	1	10 121 533,51	0,00	10 121 533,51	-10 121 533,51	-10 121 533,51	10 121 533,51	-10 121 533,51	-10 121 533,51
2	1	8 800 533,50	0,00	8 800 533,50	-8 800 533,50	-8 431 648,86	18 922 067,01	-18 922 067,01	-18 553 182,37
3	1	15 535 294,95	5 000 000,00	15 535 294,95	-10 535 294,95	-9 670 606,72	34 457 361,96	-29 457 361,96	-28 223 789,09
4	1	15 535 294,95	10 000 000,00	10 535 294,95	-5 535 294,95	-4 868 008,21	44 992 656,91	-34 992 656,91	-33 091 797,30
5	2	15 535 294,95	20 000 000,00	5 535 294,95	4 464 705,05	3 761 896,30	50 527 951,86	-30 527 951,86	-29 329 901,00
6	2	15 535 294,95	20 000 000,00	-4 464 705,05	4 464 705,05	3 604 212,02	46 063 246,81	-26 063 246,81	-25 725 688,97
7	2	15 535 294,95	20 000 000,00	-4 464 705,05	4 464 705,05	3 453 137,27	41 598 541,76	-21 598 541,76	-22 272 551,71
8	2	15 535 294,95	20 000 000,00	-4 464 705,05	4 464 705,05	3 308 394,99	37 133 836,71	-17 133 836,71	-18 964 156,72
9	3	15 535 294,95	20 000 000,00	-4 464 705,05	4 464 705,05	3 169 719,75	32 669 131,66	-12 669 131,66	-15 794 436,97
10	3	15 535 294,95	20 000 000,00	-4 464 705,05	4 464 705,05	3 036 857,24	28 204 426,61	-8 204 426,61	-12 757 579,73
11	3	15 535 294,95	20 000 000,00	-4 464 705,05	4 464 705,05	2 909 563,83	23 739 721,56	-3 739 721,56	-9 848 015,90
12	3	15 535 294,95	20 000 000,00	-4 464 705,05	4 464 705,05	2 787 606,06	19 275 016,51	724 983,49	-7 060 409,84
13	4	15 535 294,95	20 000 000,00	-4 464 705,05	4 464 705,05	2 670 760,30	14 810 311,46	5 189 688,54	-4 389 649,54
14	4	15 535 294,95	20 000 000,00	-4 464 705,05	4 464 705,05	2 558 812,26	10 345 606,41	9 654 393,59	-1 830 837,28
15	4	15 535 294,95	20 000 000,00	-4 464 705,05	4 464 705,05	2 451 556,66	5 880 901,36	14 119 098,64	620 719,38
16	4	15 535 294,95	20 000 000,00	-4 464 705,05	4 464 705,05	2 348 796,80	1 416 196,31	18 583 803,69	2 969 516,17
		236 416196,31	255 000 000,00		18 583 803,69				2 969 516,17



## ПРИЛОЖЕНИЕ 3

## Акт внедрения

СОГЛАСОВАНО  
 Директор КНИИХП – филиала  
 ФГБНУ СКФНЦСВВ  
 Кулин Г.А.  
 « 19 » \_\_\_\_\_ 2022 г.

УТВЕРЖДАЮ  
 Директор  
 ООО «АНПРИС»  
 Приходько Г.Н.  
 « \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2022 г.

## Акт внедрения

результатов научно-исследовательских, опытно-конструкторских и технологических работ Краснодарского научно-исследовательского института хранения и переработки сельскохозяйственной продукции – филиала Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Северо-Кавказский федеральный научный центр садоводства, виноградарства, виноделия» (КНИИХП – филиал ФГБНУ СКФНЦСВВ)

Заказчик ООО «АНПРИС», Приходько Галина Николаевна

Настоящим актом подтверждается, что результаты научно-исследовательской работы по проекту «Разработка биотехнологических процессов комплексной конверсии плодово-ягодного сырья и вторичных сырьевых ресурсов с применением симбиотического консорциума бактерий и дрожжей для производства функционального напитка и фруктово-ягодных кондитерских изделий» (код конкурса НИП 20.1),

выполненной отделом хранения и комплексной переработки сельскохозяйственного сырья КНИИХП – филиала ФГБНУ СКФНЦСВВ

выполняемой в срок с 2020 года по 2022 год  
 внедрены в ООО «АНПРИС»

1. Вид внедрённых результатов Технология производства напитка брожения «Тамали-джез»
2. Форма внедрения Технические условия «Напиток брожения «Тамали-Джез» ТУ 11.07.19-073-17021101-2022 (введ. в действие 27.06.22), Технологическая инструкция по производству напитка брожения «Тамали-Джез» ТИ 11.07.19.129-073-17021101-2022 (введ. в действие 27.06.22).
3. Новизна результата НИР доказана возможность использования микроорганизмов симбиотического консорциума бактерий *Glucopacetobacter xylinus* и дрожжей *Zygosaccharomyces kombuchaensis* для сбраживания экстракта белых несброженных виноградных выжимок для создания напитка, обогащенного биологически активными веществами.
4. Внедрены в процесс производства напитков брожения.
5. Объём внедрения 100 дал.
6. Экономический эффект: прибыль от реализации – 48664,8 руб. за 100 дал.
7. Научно-технический эффект: улучшение свойств и пищевой ценности напитков брожения за счёт увеличения содержания биологически активных веществ на 10-12 %.

От КНИИХП – филиала  
 ФГБНУ СКФНЦСВВ  
 Руководитель научно-исследовательской  
 работы, зав. отделом ХиКПСС,  
 д-р техн. наук, доцент  
 \_\_\_\_\_ Т.В. Першакова  
 Исполнители:  
 \_\_\_\_\_ Бабакина М.В.  
 \_\_\_\_\_ Семиряжко Е.С.  
 \_\_\_\_\_ Самойленко М.В.

От предприятия  
 ООО «АНПРИС»  
 Директор  
 \_\_\_\_\_ Приходько Г.И.  
 Технолог  
 \_\_\_\_\_ Тимакова И.Г.