

Научная статья  
УДК 664.6, 579.67  
DOI: <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-76-86>



## Оценка протеолитической активности новых штаммов лактобацилл с криорезистентными свойствами

Светлана Владимировна Китаевская, Всеволод Ярославович Пономарев,  
Ольга Алексеевна Решетник

Казанский национальный исследовательский технологический университет,  
г. Казань, Российская Федерация

Автор, ответственный за переписку: Китаевская Светлана Владимировна, [kitaevskayas@mail.ru](mailto:kitaevskayas@mail.ru)

**Аннотация.** Поиск новых функционально-активных штаммов молочнокислых бактерий и разработка отечественных конкурентоспособных заквасок на их основе – важные направления современной пищевой биотехнологии. Протеолитическая активность является одним из критериев отбора штаммов молочнокислых бактерий в отношении использования их в пищевом производстве и во многом определяет качественные характеристики готовой продукции. Цель работы – оценка протеолитической активности пятнадцати новых криорезистентных штаммов молочнокислых бактерий рода *Lactobacillus*, обладающих рядом функционально-технологических свойств. Результаты исследования показали, что все штаммы демонстрируют более высокую протеолитическую активность в щелочной среде и в среде, близкой к нейтральной (рН = 6,5), в слабокислой среде протеолитическая активность лактобацилл имеет минимальные значения, за исключением штаммов *L. fermentum* 12 и *L. plantarum* 21. Максимальную протеолитическую активность проявляют штаммы *L. casei* 32, *L. casei* 36, *L. fermentum* 10, *L. acidophilum* 9 (48,9–52,3 мкг тирозина/мл·мин), минимальную – *L. fermentum* 12, *L. fermentum* 24 и *L. plantarum* 1 (27,7–28,9 мкг тирозина/мл·мин). Установлено, что исследуемый параметр зависит от условий протеолиза (субстрата, рН среды) и является индивидуальной характеристикой штамма, не зависящей от видовой принадлежности лактобацилл. На основании проведенных исследований криорезистентные штаммы *L. casei* 32, *L. casei* 36 и *L. fermentum* 10, проявляющие высокую протеолитическую активность и эффективно воздействующие на различные белковые субстраты (казеин, альбумин и гемоглобин) в широком интервале значений рН среды, можно рекомендовать для включения в состав заквасок для производства ферментированных продуктов питания.

**Ключевые слова:** *Lactobacillus*, молочнокислые бактерии, протеолитическая активность, ферментация

**Для цитирования:** Китаевская С. В., Пономарев В. Я., Решетник О. А. Оценка протеолитической активности новых штаммов лактобацилл с криорезистентными свойствами // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2022. Т. 12. N 1. С. 76–86. <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-76-86>.

### PHYSICOCHEMICAL BIOLOGY

Original article

## Evaluation of the proteolytic activity of new cryoresistant lactobacillus strains

Svetlana V. Kitaevskaya, Vsevolod Y. Ponomarev,  
Olga A. Reshetnik

Kazan National Research Technological University,  
Kazan, Russian Federation

Corresponding author: Svetlana V. Kitaevskaya, [kitaevskayas@mail.ru](mailto:kitaevskayas@mail.ru)

**Abstract.** The search for new functionally active strains of lactic acid bacteria, together with the development of domestic competitive starter cultures on their basis, are important directions of contemporary food biotechnology. Proteolytic activity represents one of the criteria for selecting lactic acid bacteria strains for their subsequent use in food production and largely determines the quality characteristics of the finished product.

The present study aims to evaluate the proteolytic activity of 15 new cryoresistant strains of *Lactobacillus* genus lactic acid bacteria having a number of functional and technological properties. According to the results obtained, all strains demonstrated higher proteolytic activity in alkaline media and those close to neutral (pH = 6.5). In slightly acidic media, the strains under study showed minimal values of proteolytic activity, except for *L. fermentum* 12 and *L. plantarum* 21 strains. Strains *L. casei* 32, *L. casei* 36, *L. fermentum* 10, and *L. acidophilum* 9 (48.9–52.3  $\mu\text{g}$  tyrosine/mL·min) showed the maximum proteolytic activity. The minimal proteolytic activity was characteristic of *L. fermentum* 12, *L. fermentum* 24, and *L. plantarum* 1 (27.7–28.9  $\mu\text{g}$  tyrosine/mL·min). The studied parameter depends on the conditions of proteolysis (substrate, medium pH) and represents an individual strain characteristic independent of the *Lactobacillus* species membership. According to the results obtained, *L. casei* 32, *L. casei* 36, and *L. fermentum* 10 cryoresistant strains, manifesting high proteolytic activity and effectively affecting various protein substrates (casein, albumin, haemoglobin) in a wide range of medium pH values, can be recommended for inclusion in the composition of starter cultures for the production of fermented food products.

**Keywords:** *Lactobacillus*, lactic acid bacteria, proteolytic activity, fermentation

**For citation:** Kitaevskaya S. V., Ponomarev V. Y., Reshetnik O. A. Evaluation of the proteolytic activity of new cryoresistant *Lactobacillus* strains. *Izvestiya Vuzov. Prikladnaya Khimiya i Biotekhnologiya = Proceedings of Universities. Applied Chemistry and Biotechnology*. 2022;12(1):76-86. (In Russian). <https://doi.org/10.21285/2227-2925-2022-12-1-76-86>.

## ВВЕДЕНИЕ

Молочнокислые бактерии обладают разнообразными биотехнологическими свойствами и представляют интерес как объект изучения для получения пробиотических препаратов для человека и животных, способов коррекции микробиологических нарушений, а также разработки функциональных и специализированных продуктов питания [1–7]. Молочнокислые бактерии способны продуцировать гидролитические ферменты, участвующие в пищеварительном процессе, расщепляя сложные компоненты пищи с образованием биоактивных молекул, таких как короткоцепочечные жирные кислоты, пребиотические полисахариды, галактоолигосахариды, линолевые кислоты, фенольные соединения и биоактивные пептиды [8–12].

Промышленно-ценными культурами являются молочнокислые бактерии, относящиеся к роду *Lactobacillus*, которые традиционно включаются в состав большинства заквасок прямого внесения и применяются в технологии широкого спектра ферментированных пищевых продуктов из растительного и животного сырья – в производстве сыров, сметаны, йогурта, кисломолочных напитков и т.п., сырокопченых и сыровяленых мясных продуктов, ржаных и ржано-пшеничных сортов хлеба, квашеных овощей, фруктов, ферментированных соков, соусов и др. [13–16].

Среди биологически активных веществ, продуцируемых молочнокислыми бактериями, особый интерес представляют протеолитические ферменты, которые в основном формируют органолептические и структурно-механические характеристики ферментированных пищевых продуктов, а также оказывают влияние на их биологическую ценность [13, 17].

Протеолитические ферменты лактобактерий играют важную роль в снабжении клеток соединениями азота, в первую очередь аминокисло-

тами, поскольку потребность в них у молочнокислых бактерий очень высока. Доступное количество таких соединений в естественной среде обычно невелико, поэтому основной функцией этих ферментов является гидролиз белков до компонентов, поглощаемых бактериальной клеткой.

Протеолитическая система молочнокислых бактерий образована протеиназой, связанной с клеточной стенкой, специфическими транспортными системами для переноса пептидов и аминокислот и различными цитоплазматическими пептидазами [17, 18].

Трансформация белков пищевых систем при участии молочнокислых бактерий на начальных стадиях протеолиза происходит под влиянием внеклеточных и связанных с клеточной стенкой протеиназ, которые являются мономерными сериновыми протеиназами с молекулярной массой 180–190 кДа. Дальнейшее расщепление пептидов протекает под воздействием пептидаз, лактобактерий, представляющих собой металло-, серин- и цистеинпептидазы с молекулярной массой от 30 до 100 кДа [19, 20]. Следует отметить, что активность протеаз и пептидаз способствует гомеостазу клеток за счет поддержания адекватных внутриклеточных концентраций аминокислот, ди- и трипептидов, которые действуют как осмопротекторы [21].

Существенное влияние на регуляцию протеолитического комплекса лактобактерий оказывают температура, pH среды, концентрация растворенного кислорода, наличие в среде пептидов и аминокислот. Исследователи отмечают, что оптимальное значение pH для роста бактерий не всегда совпадает с оптимальным pH для биосинтеза ферментов [18, 20].

От протеолитической способности отдельных штаммов, входящих в состав стартовых заквасок, зависит содержание и количество определенного набора аминокислот в пищевых фер-

ментированных продуктах, что во многом предопределяет их органолептические и структурно-механические свойства [13, 14, 17]. В результате протеолиза в ферментированных пищевых продуктах накапливаются аминокислоты (валин, аргинин, лейцин, глютаминовая кислота, пролин, триптофан, фенилаланин, лизин и др.) в зависимости от исходного субстрата и протеолитической активности конкретного штамма молочнокислых бактерий. Свободные аминокислоты, образующиеся в результате протеолиза, могут быть преобразованы в различные ароматические соединения (аммиак, амины, альдегиды, фенольные соединения, индол и спирты), которые могут способствовать приданию вкуса и запаха ферментированным пищевым продуктам [20].

В последние годы возрос интерес к протеолитической системе молочнокислых бактерий с точки зрения получения и применения биоактивных пептидов из пищевых источников. Большое внимание ученых всего мира сосредоточено на изучении антиоксидантной активности данных соединений, их способности оказывать иммуномодулирующее, антигипертензивное и гипохолестеринемическое действие [21–23].

Поскольку свойства заквасок существенно зависят от свойств конкретных штаммов, в состав заквасок для ферментации пищевого сырья следует включать производственно-ценные штаммы, проявляющие прежде всего высокую протеолитическую активность. Актуальными и перспективными направлениями в пищевой биотехнологии являются поиск и разработка отечественных конкурентоспособных заквасок молочнокислых бактерий для функциональных и специализированных продуктов питания, имеющих высокую биохимическую активность и ряд функционально-технологических свойств.

Интенсивное внедрение в пищевой промышленности технологий с использованием замораживания полуфабрикатов и готовой продукции требует новых подходов к разработке стартовых культур для ферментированных продуктов питания, в том числе отличающихся высокой выживаемостью при длительном низкотемпературном хранении.

Цель настоящей работы – оценка протеолитической активности новых функционально-активных штаммов *Lactobacillus* с криорезистентными свойствами.

### **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ**

Объектами исследования служили ранее выделенные из различных пищевых источников растительного и животного происхождения молочнокислые бактерии *Lactobacillus*, отличающиеся устойчивостью к низкотемпературному воздействию (выживаемость клеток при температуре -30 °С не менее 80%) и обладающие высоким биотехнологическим потенциалом – широким

спектром антибактериального действия, устойчивостью к антибиотикам и неблагоприятным факторам окружающей среды (высоким концентрациям NaCl, желчи, кислот и фенола) [24, 25]. Данные штаммы хорошо размножаются в широком диапазоне температур – от 15 до 45 °С, температурный оптимум составляет 30–37 °С, оптимальное значение pH – от 5,5 до 6,2.

Для выявления активности кazeиназы использовали молочный агар Эйкмана, где в качестве субстрата применяли обезжиренное молоко. Способность к образованию протеолитических ферментов определяли по прозрачным ореолам вокруг зоны роста бактерий, что обуславливает пептонизацию кazeина.

Способность молочнокислых бактерий гидролизировать саркоплазматические и миофибриллярные белки оценивали по диаметру прозрачной зоны на плотной питательной среде, обогащенной стерильными вытяжками саркоплазматических или миофибриллярных белков, полученных методом экстрагирования, в количестве 1 мг/мл [26, 27].

Степень воздействия микробных протеаз на белковые субстраты (кazeин, альбумин) оценивали по изменению содержания белков, пептидов и свободных аминокислот спектрофотометрическими методами согласно рекомендациям, данным в работах [28–30]. Степень гидролиза белка определяли как отношение аминного азота к общему [31], содержание аминного азота в растворе устанавливали методом формольного титрования.

Активность протеаз оценивали модифицированным методом Ансона [32], о протеолитической активности судили по количеству высвободившегося тирозина, накапливающегося в субстрате за 1 ч под действием протеаз, секретируемых в культуральную жидкость лактобациллами через 12 и 24 ч культивирования в жидкой питательной среде MRS. В качестве субстрата использовали 2%-й раствор гемоглобина на универсальном буфере (уксусная, ортофосфорная и борная кислоты с концентрацией 0,1 моль/дм<sup>3</sup> в равных соотношениях) со значениями pH 5,0, 6,5 и 8,0 для определения протеолитической активности слабокислых, нейтральных и щелочных протеаз молочнокислых бактерий соответственно.

Полученные результаты исследований обработаны статистически при помощи программы Microsoft Excel. Данные представляют собой средние арифметические значения трех повторностей эксперимента и их среднеквадратичное отклонение. Достоверность различий между группами данных определяли с помощью *t*-критерия Стьюдента ( $p \leq 0,05$ ).

### **ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ**

Молочнокислые бактерии способны продуци-

ровать внутриклеточные и внеклеточные протеазы и пептидазы [18–23, 31]. Знание о протеолитической активности лактобактерий имеет решающее значение при подборе заквасочных культур.

Проведенные экспериментальные исследования показали, что все исследуемые штаммы образуют прозрачные ореолы пептизации казеина на агаризованной среде с добавлением обезжиренного молока, что свидетельствует о способности штаммов образовывать протеолитические ферменты, гидролизующие молочный белок (рис. 1).

Диаметр зон просветления, свидетельствующий о пептизации молочного белка у штаммов

молочнокислых бактерий, колеблется от 10,5 до 25,3 мм. Максимальную зону просветления образует штамм *L. acidophilum* 9, наименьшую – штамм *L. fermentum* 24. Диаметр ореолов пептизации казеина остальных штаммов находится приблизительно в одинаковых пределах – 18–20 мм (табл. 1).

Выявлено, что штаммы способны гидролизовать как саркоплазматические, так и миофибриллярные белки, диаметр прозрачной зоны гидролизованных саркоплазматических белков составляет 7,4–16,8 мм, миофибриллярных белков – 8,6–21,6 мм. Максимальную активность демонстрируют штаммы *L. casei* 23, *L. casei* 32, *L. casei* 36 и *L. fermentum* 10.



Штаммы:

1. *L. casei* 1
2. *L. casei* 7
3. *L. casei* 16
4. *L. casei* 23
5. *L. casei* 32
6. *L. casei* 36
7. *L. fermentum* 10
8. *L. fermentum* 12
9. *L. fermentum* 13
10. *L. fermentum* 24
11. *L. plantarum* 1
12. *L. plantarum* 21
13. *L. acidophilum* 9
14. *L. bavaricus* 6
15. *L. brevis* 3

Рис. 1. Способность штаммов *Lactobacillus spp.* пептонизировать белки молока

Fig. 1. *Lactobacillus spp.* strains ability to peptonize milk proteins

Таблица 1. Способность к гидролизу белков животного происхождения криорезистентными штаммами *Lactobacillus spp.*

Table 1. *Lactobacillus spp.* strains ability to hydrolyze proteins of animal origin

Штамм	Диаметр зоны просветления, мм		
	Молочный белок	Саркоплазматические белки мяса	Миофибриллярные белки мяса
<i>L. casei</i> 1	18,8±0,1	12,3±0,2	15,9±0,1
<i>L. casei</i> 7	18,0±0,1	11,1±0,2	14,4±0,1
<i>L. casei</i> 16	19,7±0,2	10,2±0,1	14,8±0,1
<i>L. casei</i> 23	19,2±0,1	15,5±0,2	16,7±0,2
<i>L. casei</i> 32	20,6±0,2	16,8±0,2	21,6±0,2
<i>L. casei</i> 36	20,1±0,1	15,9±0,1	19,2±0,1
<i>L. fermentum</i> 10	19,6±0,1	15,0±0,1	20,4±0,3
<i>L. fermentum</i> 12	18,8±0,1	10,5±0,1	13,2±0,1
<i>L. fermentum</i> 13	19,2±0,1	9,8±0,1	12,4±0,1
<i>L. fermentum</i> 24	10,5±0,1	7,4±0,1	8,6±0,1
<i>L. plantarum</i> 1	15,9±0,1	8,8±0,1	7,5±0,1
<i>L. plantarum</i> 21	18,4±0,1	14,4±0,2	17,0±0,2
<i>L. acidophilum</i> 9	25,3±0,2	11,9±0,1	13,2±0,1
<i>L. bavaricus</i> 6	14,8±0,1	7,8±0,1	8,8±0,1
<i>L. brevis</i> 3	17,9±0,1	8,3±0,1	9,6±0,1

Таким образом, результаты исследования показывают, что изучаемые штаммы лучше гидролизуют миофибриллярные белки, чем саркоплазматические белки, что согласуется с ранее проведенными исследованиями [26].

Следует отметить, что штамм *L. acidophilum* 9, обладающий высокой способностью гидролизовать белки молока, демонстрирует слабую активность по отношению к белковым фракциям, выделенным из мясного сырья.

Для выявления активности внеклеточных протеолитических ферментов рассматриваемых штаммов были проведены исследования по оценке содержания растворимых азотистых соединений в модельных субстратах (1%-е растворы казеина и сывороточного альбумина) после ферментации их лактобациллами.

Результаты исследования содержания отдельных фракций азотистых соединений показали, что в процессе ферментации казеина лактобациллами наблюдается интенсивное снижение общего количества белка относительно исходных значений и увеличение содержания пептидов и свободных кислот (табл. 2). Наиболее выраженные изменения характерны для штаммов *L. casei* 32, *L. casei* 36, *L. fermentum* 10, *L. fermentum* 13 и *L. acidophilum* 9, для данных молочнокислых бактерий степень гидролиза казеина составила в среднем 80% (рис. 2). Наименьшую способность гидролизовать белки продемонстрировали штаммы *L. casei* 16, *L. plantarum* 1, *L. bavaricus* 6, степень гидролиза казеина данными бактериями составила 45,2, 32,8 и 36,7% соответственно. Степень гидролиза казеина остальными штаммами составила в среднем 58,2%.

Аналогичные результаты были получены при оценке протеолитической активности криорези-

стентных штаммов *Lactobacillus* при ферментации альбумина, однако способность микроорганизмов гидролизовать данный белок ниже в среднем на 10–15% по сравнению со степенью протеолиза, продемонстрированной на казеине (см. рис. 2).

При ферментации казеина в среде накапливается большее количество пептидов и свободных аминокислот, чем при ферментации альбумина. Ферментные системы штаммов *L. casei* 32, *L. casei* 36 и *L. fermentum* 10 оказывают интенсивное воздействие как на казеин, так и на альбумин, тогда как штаммы *L. fermentum* 13, *L. casei* 7 и *L. acidophilum* 9 активно пептонизируют молочный белок, однако показывают низкую активность при ферментации альбумина.

Таким образом, результаты исследования свидетельствуют о том, что активность протеолитической системы криорезистентных бактерий существенно зависит от природы исходного субстрата, в связи с чем при подборе штаммов для стартовых заквасок, разрабатываемых для пищевой промышленности, требуется изучение активности протеолитических ферментов не только общепринятыми методами, но и проведение их тестирования на конкретных субстратах в зависимости от производственных целей.

Специалисты отмечают, что характер гидролиза белковых молекул до пептидов и аминокислот зависит не только от природы субстрата, но и от внешних условий, в первую очередь значений pH среды. Протеолитические ферменты лактобактерий способны проявлять активность в широком интервале значений pH, и по этому признаку они делятся на слабокислые, нейтральные и щелочные.

**Таблица 2.** Изменение фракций растворимых азотистых соединений при ферментации казеина и альбумина криорезистентными штаммами лактобацилл

**Table 2.** Changes in soluble nitrogenous compounds during casein and albumin fermentation by lactobacilli cryoresistant strains

Штамм	Содержание фракций, мг/100 мл					
	Казеин			Альбумин		
	Белки	Пептиды	Аминокислоты	Белки	Пептиды	Аминокислоты
<i>L. casei</i> 1	501,9±14,8	377,4±12,3	25,8±4,1	705,6±28,2	247,3±16,3	16,7±4,1
<i>L. casei</i> 7	434,7±16,1	479,9±18,6	28,9±5,3	785,9±22,5	159,1±12,8	14,8±3,6
<i>L. casei</i> 16	547,5±20,3	325,2±15,2	23,9±3,9	762,2±26,3	184,2±14,6	16,5±4,2
<i>L. casei</i> 23	348,6±11,4	557,0±16,7	36,5±4,7	626,5±18,3	285,4±18,1	21,3±4,7
<i>L. casei</i> 32	163,1±10,6	762,8±30,1	43,4±6,2	418,8±19,2	461,4±16,5	30,9±5,4
<i>L. casei</i> 36	205,5±15,7	724,7±26,2	41,9±5,8	499,1±17,4	448,2±17,9	29,5±5,9
<i>L. fermentum</i> 10	184,4±13,4	713,9±22,7	43,4±5,1	454,6±18,6	394,9±14,7	34,2±6,5
<i>L. fermentum</i> 12	428,9±24,1	518,4±20,4	29,6±4,5	604,4±20,8	277,3±11,8	15,4±3,6
<i>L. fermentum</i> 13	371,2±16,6	510,4±19,8	33,4±5,6	632,9±25,1	275,6±15,2	13,6±2,9
<i>L. fermentum</i> 24	480,6±17,2	434,8±17,2	27,1±5,4	705,3±29,6	259,5±19,2	11,8±3,1
<i>L. plantarum</i> 1	671,5±21,4	275,4±15,4	15,3±3,1	892,5±34,5	85,6±10,8	18,7±4,4
<i>L. plantarum</i> 21	432,9±15,6	515,1±17,7	32,7±6,4	638,7±19,2	276,6±12,5	20,1±4,9
<i>L. acidophilum</i> 9	211,3±12,8	680,1±21,1	45,3±7,1	593,2±21,7	311,7±17,3	12,5±2,7
<i>L. bavaricus</i> 6	632,7±20,9	336,1±14,8	23,9±4,8	859,8±36,4	112,5±11,5	10,4±2,4
<i>L. brevis</i> 3	427,4±18,5	484,6±12,6	28,3±5,2	715,6±30,2	197,1±16,7	6,2±1,6

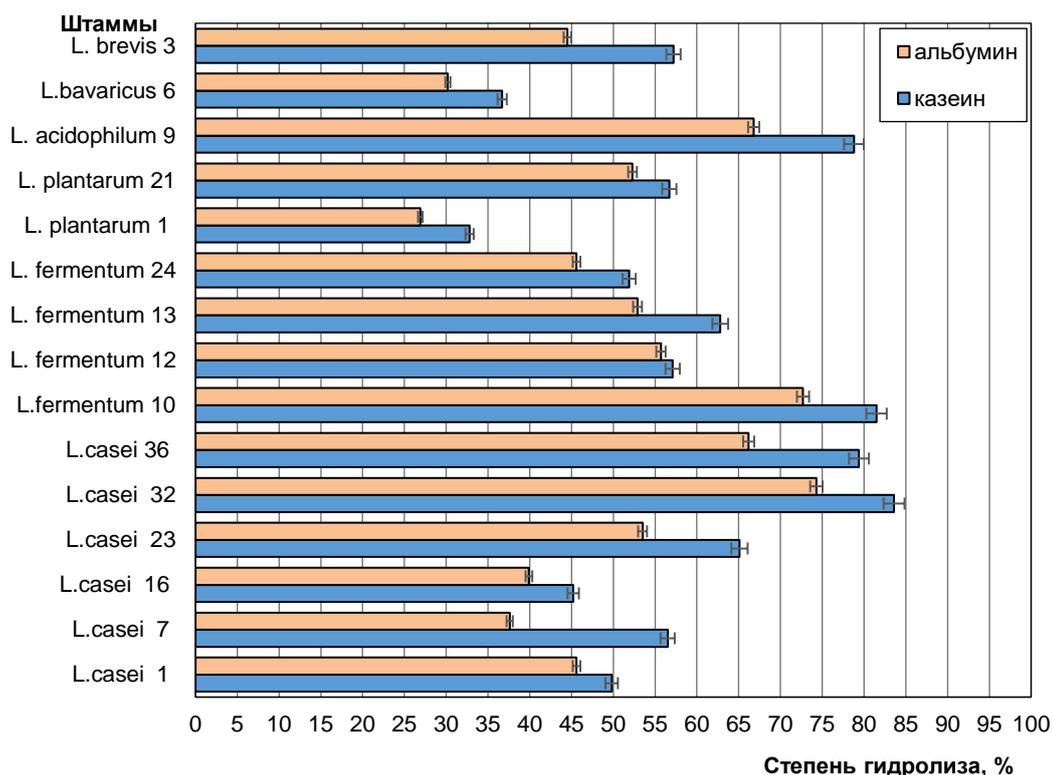


Рис. 2. Степень гидролиза белков при их ферментации лактобациллами

Fig. 2. Protein hydrolysis degree during their fermentation by lactobacilli

В табл. 3 представлены данные по оценке активности внеклеточных протеаз криорезистентных штаммов *Lactobacillus* в зависимости от pH среды. Для учета субстрат-специфичности протеолитических ферментов, получения достоверных результатов и корректного их сравнения в качестве субстрата использовали 2%-й гемоглобин, приготовленный на универсальном буфере [32].

Установлено, что протеолитическая активность криорезистентных молочнокислых бактерий не зависит от вида и является индивидуальной особенностью конкретного штамма, что еще раз подтверждает выводы о необходимости тщательного анализа функционально-технологических свойств каждого «кандидата» для включения в состав стартовых заквасок, предназначенных для ферментированных продуктов питания.

Таблица 3. Протеолитическая активность криорезистентных штаммов лактобацилл, мкг тирозина/мл·мин

Table 3. Proteolytic activity of cryoresistant strains of lactobacilli,  $\mu\text{g}$  tyrosine/(ml·min)

Штамм	pH=5,0		pH=6,5		pH=8	
	12 ч	24 ч	12 ч	24 ч	12 ч	24 ч
<i>L. casei</i> 1	12,29±0,62	8,52±0,43	19,24±0,97	16,71±0,80	32,89±1,60	20,60±1,08
<i>L. casei</i> 7	10,70±0,51	6,15±0,31	23,82±1,17	17,42±0,86	34,49±1,73	11,41±0,52
<i>L. casei</i> 16	14,03±0,69	9,21±0,42	28,53±1,39	20,18±0,97	43,38±2,09	22,26±1,11
<i>L. casei</i> 23	10,32±0,52	7,33±0,36	15,65±0,76	12,29±0,61	30,06±1,48	15,73±0,73
<i>L. casei</i> 32	19,53±0,94	11,60±0,55	36,61±1,83	30,04±1,47	48,86±2,39	22,18±1,02
<i>L. casei</i> 36	17,86±0,87	12,08±0,61	34,75±1,71	28,33±1,41	47,92±2,40	20,69±1,06
<i>L. fermentum</i> 10	20,08±1,09	10,19±0,49	31,12±1,54	25,92±1,30	52,34±2,61	21,90±0,67
<i>L. fermentum</i> 12	18,84±0,96	16,56±0,82	7,35±0,37	4,84±0,23	30,11±1,49	14,51±0,84
<i>L. fermentum</i> 13	11,07±0,52	8,77±0,43	24,91±1,22	16,59±0,82	36,48±1,76	17,03±0,49
<i>L. fermentum</i> 24	9,12±0,41	6,07±0,29	12,73±0,60	11,45±0,58	28,86±1,29	10,24±0,42
<i>L. plantarum</i> 1	5,62±0,28	2,31±0,14	9,9±0,48	6,58±0,32	27,72±1,75	8,57±0,89
<i>L. plantarum</i> 21	18,72±0,95	14,03±0,68	10,37±0,51	9,05±0,43	37,44±1,46	17,94±0,94
<i>L. acidophilum</i> 9	21,41±1,06	11,17±0,53	26,38±1,28	17,24±0,85	31,28±1,38	19,93±0,99
<i>L. bavaricus</i> 6	6,20±0,30	4,42±0,21	20,44±0,99	9,10±0,42	28,95±1,44	9,42±0,40
<i>L. brevis</i> 3	10,31±0,52	7,75±0,39	16,37±0,81	10,74±0,53	25,02±1,16	11,56±0,56

Все исследованные штаммы проявляют более высокую активность в фазу интенсивного роста через 12 ч культивирования клеток в питательной среде (см. табл. 3), что свидетельствует об активном синтезе протеаз в первые часы развития лактобацилл.

Для всех изучаемых штаммов лактобацилл максимальная протеолитическая активность была зарегистрирована при pH = 8, тогда как оптимальное значение для роста и развития данных штаммов лежит в диапазоне от 5,5 до 6,2.

Показано, что в слабокислой среде самую высокую протеолитическую активность проявляют штаммы *L. casei* 32, *L. fermentum* 10 и *L. acidophilum* 9 (19,53–21,41 мкг тирозина/мл·мин.), в нейтральной – *L. casei* 32, *L. casei* 36 и *L. Fermentum* 10 (31,12–36,61 мкг тирозина/мл·мин.), в щелочной – *L. casei* 16, *L. casei* 32, *L. casei* 36 и *L. fermentum* 10 (43,38–52,34 мкг тирозина/мл·мин.).

Следует отметить, что протеолитическая активность для каждого отдельно взятого штамма молочнокислых бактерий в слабокислой среде отличается низкими значениями по сравнению с ее показателями в нейтральной зоне pH, за исключением штаммов *L. fermentum* 12 и *L. plantarum* 21. Данные штаммы характеризуются достаточно высокой активностью протеаз в слабокислой среде (21,41 и 18,72 мкг тирозина/мл·мин соответственно) при значениях pH = 5,0.

Штаммы *L. fermentum* 24, *L. plantarum* 1, *L. bavaricus* 6 и *L. brevis* 3 демонстрируют наименьшую протеолитическую активность среди изученных лактобацилл вне зависимости от pH среды и продолжительности культивирования клеток.

Результаты, полученные при количественном измерении протеолитической активности исследуемых штаммов, показывают, что значение pH оказывает большое влияние на активность внеклеточных протеаз, продуцируемых лактобактериями, что, вероятно, обусловлено изменением водородно-ионного равновесия, вызывающего модификацию структуры ферментов и снижение доступности субстрата [21, 28].

Среди пятнадцати новых функционально-активных штаммов *Lactobacillus* с криорезистентными свойствами штаммы *L. casei* 32, *L. ca-*

*sei* 36 и *L. fermentum* 10 продемонстрировали самую высокую протеолитическую активность на различных белковых субстратах и в широком диапазоне значений pH, что свидетельствует об универсальности протеолитического комплекса данных штаммов.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Протеолиз является одним из наиболее важных биохимических процессов, связанных с производством многих ферментированных продуктов питания, в связи с чем при подборе заквасочных культур следует особое внимание уделять изучению протеолитической активности индивидуальных штаммов и их комбинаций с целью получения высококачественной продукции.

Криорезистентные штаммы лактобацилл, представленные в данном исследовании, являются продуцентами внеклеточных протеаз и проявляют активность на различных пищевых субстратах, при этом наиболее высокие значения протеолитической активности зарегистрированы в нейтральной и щелочной средах.

Штаммы *L. casei* 32, *L. casei* 36 и *L. fermentum* 10 обладают универсальной внеклеточной протеолитической активностью в широком диапазоне pH и эффективно воздействуют не только на модельные белковые субстраты (казеин, альбумин и гемоглобин), но и на белковые комплексы мясного сырья и молока.

Представленные в данной статье результаты по оценке протеолитической активности новых штаммов молочнокислых бактерий с криорезистентными свойствами в дальнейшем послужат основой разработки промышленных заквасок для производства пищевых продуктов, подвергающихся низкотемпературной обработке, таких как замороженные тестовые полуфабрикаты, кисломолочные десерты, сыры и сыровяленые колбасные изделия. Кроме того, штаммы *L. casei* 32, *L. casei* 36 и *L. fermentum* 10 в дальнейшем могут быть использованы в качестве продуцентов аминокислот и биоактивных пептидов, а также специализированной продукции биотехнологического профиля.

## **СПИСОК ИСТОЧНИКОВ**

1. Rajoka M. S. R., Shi J. L., Zhu J., Shao D., Huang Q., Jang H., et al. Capacity of lactic acid bacteria in immunity enhancement and cancer prevention // *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2017. Vol. 101, no. 1. P. 35–45. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-8005-7>.
2. Yousefi B., Eslami M., Ghasemian A., Kokhaei P., Farrohi S. A., Darabi N. Probiotics importance and their immunomodulatory properties // *Journal of Cellular Physiology*. 2019. Vol. 234, no. 6. P. 8008–8018. <https://doi.org/10.1002/jcp.27559>.
3. Kerry R. G., Patra J. K., Gouda S., Park Y., Shin H.-S., Das G. Benefaction of probiotics for human health: A review // *Journal of Food and Drug Analysis*. 2018. Vol. 26, no. 3. P. 927–939. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.01.002>.
4. Головин М. А., Ганина В. И., Машенцева Н. Г. Холестеринредуцирующие пробиотические бактерии в молочной продукции // *Молочная промышленность*. 2014. N 5. С. 46–47.
5. Liu C.-F., Tseng K.-C., Chiang S.-S., Lee B.-H., Hsu W.-H., Pan T.-M. Immunomodulatory and antioxidant potential of *Lactobacillus* exopolysaccharides // *Journal of the Science of Food and Agriculture*.

- ture. 2011. Vol. 91, no. 12. P. 2284–2291. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4456>.
6. Ускова М. А., Кравченко Л. В. Антиоксидантные эффекты молочнокислых бактерий – пробиотиков и йогуртных заквасок // Вопросы питания. 2009. Т. 78. N 2. С. 18–24.
7. Вековцев А. А., Серба Е. М., Бямбаа Б., Позняковский В. М. Микробиом и биохакинг: парадигма управления здоровьем // Индустрия питания. 2021. Т. 6. N 2. С. 16–22. <https://doi.org/10.29141/2500-1922-2021-6-2-2>.
8. Raveschot C., Cudennec B., Coutte F., Flahaut C., Fremont M., Drider D., et al. Production of bioactive peptides by lactobacillus species: from gene to application // *Frontiers in Microbiology*. 2018. Vol. 9. Article number 2354. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02354>.
9. Shah N. P. Functional cultures and health benefits // *International Dairy Journal*. 2007. Vol. 17, no. 11. P. 1262–1277. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.01.014>.
10. Rajoka M. S. R., Wu Y. G., Mehwish H. M., Bansal M., Zhao L. Q. *Lactobacillus* exopolysaccharides: New perspectives on engineering strategies, physicochemical functions, and immunomodulatory effects on host health // *Trends in Food Science and Technology*. 2020. Vol. 103. P. 36–48. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.06.003>.
11. Lynch K. M., Zannini E., Coffey A., Arendt E. K. Lactic acid bacteria exopolysaccharides in foods and beverages: Isolation, properties, characterization, and health benefits // *Annual Review of Food Science and Technology*. 2018. Vol. 9, no. 9. P. 155–176. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030117-012537>.
12. Maske B. L., de Melo Pereira G. V., S Vale A., de Garvalho Neto D. P., Karp S. G., Viesser J. A., et al. A review on enzyme-producing lactobacilli associated with the human digestive process: From metabolism to application // *Enzyme and Microbial Technology*. 2021. Vol. 149. Article number 109836. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2021.109836>.
13. Leroy F., Verluyten J., de Vuyst L. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation // *International Journal of Food Microbiology*. 2006. Vol. 106, no. 3. P. 270–285. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.06.027>.
14. Артюхова С. И., Гаврилова Ю. А. Использование пробиотиков и пребиотиков в биотехнологии производства биопродуктов: монография. Омск: ОмГТУ, 2010. 112 с.
15. Sanlier N., Gokcen B. B., Sezgin A. C. Health benefits of fermented foods // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2019. Vol. 59, no. 3. P. 506–527. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1383355>.
16. Просеков А. Ю., Остроумов Л. А. Инновационный менеджмент биотехнологий заквасочных культур // *Техника и технология пищевых производств*. 2016. Т. 43. N 4. С. 64–69.
17. Chen C., Zhao S., Hao G., Yu H., Tian H., Zhao G. Role of lactic acid bacteria on the yogurt flavor: A review // *International Journal of Food Properties*. 2017. Vol. 20, no. 1. P. 316–330. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1295988>.
18. Kieliszek M., Pobiega K., Piwowarek K., Kot A. M. Characteristics of the proteolytic enzymes produced by lactic acid bacteria // *Molecules*. 2021. Vol. 26, no. 7. P. 1858. <https://doi.org/10.3390/molecules26071858>.
19. Lim Y. H., Foo H. L., Loh T. C., Mohamad R., Abdullah N. Comparative studies of versatile extracellular proteolytic activities of lactic acid bacteria and their potential for extracellular amino acid productions as feed supplements // *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 2019. Vol. 10. Article number 15. 13 p. <https://doi.org/10.1186/s40104-019-0323-z>.
20. Sun F., Hu Y., Yin X., Kong B., Qin L. Production, purification and biochemical characterization of the microbial protease produced by *Lactobacillus fermentum* R6 isolated from Harbin dry sausages // *Process Biochemistry*. 2020. Vol. 89. P. 37–45. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.10.029>.
21. Raveschot C., Cudennec B., Coutte F., Flahaut C., Fremont M., Drider D., et al. Production of bioactive peptides by *Lactobacillus* species: from gene to application // *Frontiers in Microbiology*. 2018. Vol. 9. Article number 2354. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02354>.
22. Elias R. J., Kellerby S. S., Decker E. A. Antioxidant activity of proteins and peptides // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2008. Vol. 48, no. 5. P. 430–441. <https://doi.org/10.1080/10408390701425615>.
23. Tagliazucchi D., Martini S., Solieri L. Bioprospecting for bioactive peptide production by lactic acid bacteria isolated from fermented dairy food // *Fermentation*. 2019. Vol. 5, no. 4. P. 96. <https://doi.org/10.3390/fermentation5040096>.
24. Agafonova A. N., Bagaeva T. V., Kitaevskaya S. V., Romanova N. K., Reshetnik O. A. Study of the influence of lactic acid bacteria on hydrolytic and oxidation processes in stuffed meat // *Helix*. 2019. Vol. 9, no. 5. P. 5318–5322. <https://doi.org/10.29042/2019-5318-5322>.
25. Китаевская С. В. Исследование резистентности молочнокислых бактерий к низкотемпературной обработке // *Вестник Казанского технологического университета*. 2014. Т. 17. N 23. С. 214–217.
26. Cao C.-C., Feng M.-Q., Sun J., Xu X.-L., Zhou G.-H. Screening of lactic acid bacteria with high protease activity from fermented sausages and antioxidant activity assessment of its fermented sausages // *CyTA – Journal of Food*. 2019. Vol. 17, no. 1. P. 347–354. <https://doi.org/10.1080/19476337.2019.1583687>.
27. Grujić R., Savanović D. Analysis of myofibrillar and sarcoplasmic proteins in pork meat by capillary gel electrophoresis // *Foods and Raw Materials*. 2018. Vol. 6, no. 2. P. 421–428. <http://doi.org/10.21>

603/2308-4057-2018-2-421-428.

28. Atanasova J., Moncheva P., Ivanova I. Proteolytic and antimicrobial activity of lactic acid bacteria grown in goat milk // *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2014. Vol. 28, no. 6. P. 1073–1078. <http://doi.org/10.1080/13102818.2014.971487>.

29. Bah C. S., Bekhit A. E.-D. A., Carne A., McConnell M. A. Production of bioactive peptide hydrolysates from deer, sheep and pig plasma using plant and fungal protease preparations // *Food Chemistry*. 2015. Vol. 176. P. 54–63. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.025>.

30. Nielsen P. M., Petersen D., Dambmann C.

Improved method for determining food protein degree of hydrolysis // *Journal of Food Science*. 2001. Vol. 66, no. 5. P. 642–646. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb04614.x>.

31. Хамагаева И. С., Жеребятьева О. А., Щёкотова А. В. Протеолитическая активность лактобактерий // *Молочная промышленность*. 2016. N 11. С. 29–31.

32. Сербя Е. М., Оверченко М. Б., Агашичева К. Л., Римарева Л. В. Универсальный метод определения протеолитической активности ферментных препаратов для пищевой промышленности // *Хранение и переработка сельхозсырья*. 2010. N 6. С. 33–35.

## REFERENCES

1. Rajoka M. S. R., Shi J. L., Zhu J., Shao D., Huang Q., Jang H., et al. Capacity of lactic acid bacteria in immunity enhancement and cancer prevention. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2017;101(1):35-45. <https://doi.org/10.1007/s00253-016-8005-7>.

2. Yousefi B., Eslami M., Ghasemian A., Kokhaei P., Farrohi S. A., Darabi N. Probiotics importance and their immunomodulatory properties. *Journal of Cellular Physiology*. 2019;234(6):8008-8018. <https://doi.org/10.1002/jcp.27559>.

3. Kerry R. G., Patra J. K., Gouda S., Park Y., Shin H.-S., Das G. Beneficial of probiotics for human health: A review. *Journal of Food and Drug Analysis*. 2018;26(3):927-939. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.01.002>.

4. Golovin M. A., Ganina V. I., Mashentseva N. G. Probiotic bacteria reducing cholesterol in milk products. *Molochnaya promyshlennost' = Dairy Industry*. 2014;5:46-47. (In Russian).

5. Liu C.-F., Tseng K.-C., Chiang S.-S., Lee B.-H., Hsu W.-H., Pan T.-M. Immunomodulatory and antioxidant potential of *Lactobacillus* exopolysaccharides. *Journal of the Science of Food and Agriculture*. 2011;91(12):2284-2291. <https://doi.org/10.1002/jsfa.4456>.

6. Uskova M. A., Kravchenko L. V. Antioxidant properties of lactic acid bacteria – probiotic and yogurt strains. *Voprosy pitaniya = Problems of Nutrition*. 2009;78(2):18-24. (In Russian).

7. Vekovtsev A. A., Serba E. M., Byambaa B., Poznyakovskiy V. M. Microbiome and biohacking: health management paradigm. *Industriya Pitaniya = Food Industry*. 2021;6(2):16-22. (In Russian). <https://doi.org/10.29141/2500-1922-2021-6-2-2>.

8. Raveschot C., Cudennec B., Coutte F., Flahaut C., Fremont M., Drider D., et al. Production of bioactive peptides by lactobacillus species: from gene to application. *Frontiers in Microbiology*. 2018;9. Article number 2354. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02354>.

9. Shah N. P. Functional cultures and health benefits. *International Dairy Journal*. 2007;17(11):1262-1277. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2007.01.014>.

10. Rajoka M. S. R., Wu Y. G., Mehwish H. M., Bansal M., Zhao L. Q. *Lactobacillus* exopolysaccha-

rides: New perspectives on engineering strategies, physiochemical functions, and immunomodulatory effects on host health. *Trends in Food Science and Technology*. 2020;103:36-48. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.06.003>.

11. Lynch K. M., Zannini E., Coffey A., Arendt E. K. Lactic acid bacteria exopolysaccharides in foods and beverages: Isolation, properties, characterization, and health benefits. *Annual Review of Food Science and Technology*. 2018;9(9):155-176. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030117-012537>.

12. Maske B. L., de Melo Pereira G. V., S Vale A., de Garvalho Neto D. P., Karp S. G., Viesser J. A., et al. A review on enzyme-producing lactobacilli associated with the human digestive process: From metabolism to application. *Enzyme and Microbial Technology*. 2021;149. Article number 109836. <https://doi.org/10.1016/j.enzmictec.2021.109836>.

13. Leroy F., Verluyten J., de Vuyst L. Functional meat starter cultures for improved sausage fermentation. *International Journal of Food Microbiology*. 2006;106(3):270-285. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2005.06.027>.

14. Artyukhova S. I., Gavrilova Yu. A. *Probiotics and prebiotics in biotechnology for bio products production*. Omsk: Izdatel'stvo Omskogo gosudarstvennogo tekhnicheskogo universiteta; 2012. 112 p. (In Russian).

15. Sanlier N., Gokcen B. B., Sezgin A. C. Health benefits of fermented foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2019;59(3):506-527. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1383355>.

16. Prosekov A. Yu., Ostroumov L. A. Innovation management biotechnology of starter cultures. *Tehnika i tehnologiya pishchevykh proizvodstv = Food Processing: Techniques and Technology*. 2016;43(4):64-69. (In Russian).

17. Chen C., Zhao S., Hao G., Yu H., Tian H., Zhao G. Role of lactic acid bacteria on the yogurt flavor: A review. *International Journal of Food Properties*. 2017;20(1):316-330. <https://doi.org/10.1080/10942912.2017.1295988>.

18. Kieliszek M., Pobiega K., Piwowarek K., Kot A. M. Characteristics of the proteolytic enzymes Produced by lactic acid bacteria. *Molecules*. 2021;26(7):1858.

<https://doi.org/10.3390/molecules26071858>.

19. Lim Y. H., Foo H. L., Loh T. C., Mohamad R., Abdullah N. Comparative studies of versatile extracellular proteolytic activities of lactic acid bacteria and their potential for extracellular amino acid productions as feed supplements. *Journal of Animal Science and Biotechnology*. 2019;10. Article number 15. 13 p. <https://doi.org/10.1186/s40104-019-0323-z>.

20. Sun F., Hu Y., Yin X., Kong B., Qin L. Production, purification and biochemical characterization of the microbial protease produced by *Lactobacillus fermentum* R6 isolated from Harbin dry sausages. *Process Biochemistry*. 2020;89:37-45. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.10.029>.

21. Raveschot C., Cudennec B., Coutte F., Flahaut C., Fremont M., Drider D., et al. Production of bioactive peptides by *Lactobacillus* species: from gene to application. *Frontiers in Microbiology*. 2018;9. Article number 2354. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.02354>.

22. Elias R. J., Kellerby S. S., Decker E. A. Antioxidant activity of proteins and peptides. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 2008;48(5):430-441. <https://doi.org/10.1080/10408390701425615>.

23. Tagliazucchi D., Martini S., Solieri L. Bioprospecting for bioactive peptide production by lactic acid bacteria isolated from fermented dairy food. *Fermentation*. 2019;5(4):96. <https://doi.org/10.3390/fermentation5040096>.

24. Agafonova A. N., Bagaeva T. V., Kitaevskaya S. V., Romanova N. K., Reshetnik O. A. Study of the influence of lactic acid bacteria on hydrolytic and oxidation processes in stuffed meat. *Helix*. 2019;9(5):5318-5322. <https://doi.org/10.29042/2019-5318-5322>.

25. Kitaevskaya S. V. Resistance of lactic acid bacteria for low temperature processing. *Vestnik Kazanskogo tehnologicheskogo universiteta = Bulletin of Kazan Technological University*. 2014;17

(23):214-217. (In Russian).

26. Cao C.-C., Feng M.-Q., Sun J., Xu X.-L., Zhou G.-H. Screening of lactic acid bacteria with high protease activity from fermented sausages and antioxidant activity assessment of its fermented sausages. *CyTA – Journal of Food*. 2019;17(1):347-354. <https://doi.org/10.1080/19476337.2019.1583687>.

27. Grujić R., Savanović D. Analysis of myofibrillar and sarcoplasmic proteins in pork meat by capillary gel electrophoresis. *Foods and Raw Materials*. 2018;6(2):421-428. <http://doi.org/10.21603/2308-4057-2018-2-421-428>.

28. Atanasova J., Moncheva P., Ivanova I. Proteolytic and antimicrobial activity of lactic acid bacteria grown in goat milk. *Biotechnology & Biotechnological Equipment*. 2014;28(6):1073-1078. <http://doi.org/10.1080/13102818.2014.971487>.

29. Bah C. S., Bekhit A. E.-D. A., Carne A., McConnell M. A. Production of bioactive peptide hydrolysates from deer, sheep and pig plasma using plant and fungal protease preparations. *Food Chemistry*. 2015;176:54-63. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.025>.

30. Nielsen P. M., Petersen D., Dambmann C. Improved method for determining food protein degree of hydrolysis. *Journal of Food Science*. 2001;66(5):642-646. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2001.tb04614.x>.

31. Hamagaeva I. S., Zherebjat'eva O. A., Shchekotova A. V. Proteolytic activity of lactobacilli. *Molochnaya promyshlennost' = Dairy Industry*. 2016;11:29-31. (In Russian).

32. Serba E. M., Overchenko M. B., Agashicheva K. L., Rimareva L. V. Universal method of definition of proteolytic activity of fermental preparations for the food-processing industry. *Khranenie i pererabotka sel'khozsyrya = Storage and Processing of Farm Products*. 2010;6:33-35. (In Russian).

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

##### С. В. Китаевская,

к.т.н., доцент,  
Казанский национальный исследовательский  
технологический университет,  
420015, г. Казань, ул. К. Маркса, 68,  
Российская Федерация,  
kitaevskayas@mail.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-2211-8742>

##### В. Я. Пономарев,

к.т.н., доцент,  
Казанский национальный исследовательский  
технологический университет,  
420015, г. Казань, ул. К. Маркса, 68,  
Российская Федерация,  
v.y.ponomarev@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0003-1320-4881>

##### О. А. Решетник,

д.т.н., профессор,

#### INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

##### Svetlana V. Kitaevskaya,

Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,  
Kazan National Research Technological  
University,  
68, K. Marx St., Kazan, 420015,  
Russian Federation,  
kitaevskayas@mail.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-2211-8742>

##### Vsevolod Y. Ponomarev,

Cand. Sci. (Engineering), Associate Professor,  
Kazan National Research Technological  
University,  
68, K. Marx St., Kazan, 420015,  
Russian Federation,  
v.y.ponomarev@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0003-1320-4881>

##### Olga A. Reshetnik,

Dr. Sci. (Engineering), Professor,

заведующая кафедрой технологии пищевых производств,  
Казанский национальный исследовательский технологический университет,  
420015, г. Казань, ул. К. Маркса, 68,  
Российская Федерация,  
roa.olga@mail.ru  
<https://orcid.org/0000-0001-5322-0769>

#### **Вклад авторов**

С. В. Китаевская – выполнение экспериментальной работы; обобщение результатов; написание рукописи.

В. Я. Пономарев – выполнение экспериментальной работы; обобщение результатов; написание рукописи.

О. А. Решетник – обобщение результатов; написание рукописи.

#### **Конфликт интересов**

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

*Все авторы прочитали и одобрили окончательный вариант рукописи.*

#### **Информация о статье**

*Поступила в редакцию 04.12.2021.*

*Одобрена после рецензирования 15.02.2022.*

*Принята к публикации 28.02.2022.*

Head of the Department of Food production technology,  
Kazan National Research Technological University,  
68, K. Marx St., Kazan, 420015,  
Russian Federation,  
roa.olga@mail.ru  
<https://orcid.org/0000-0001-5322-0769>

#### **Contribution of the authors**

Svetlana V. Kitaevskaya – performance of experimental work; generalization of results; writing a manuscript.

Vsevolod Y. Ponomarev – performance of experimental work; generalization of results; writing a manuscript.

Olga A. Reshetnik – generalization of results; writing a manuscript.

#### **Conflict interests**

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this article.

*The final manuscript has been read and approved by all the co-authors.*

#### **Information about the article**

*The article was submitted 04.12.2021.*

*Approved after reviewing 15.02.2022.*

*Accepted for publication 28.02.2022.*