

10. Hon D-X. Potential mechanism of cancer chemoprevention by anthocyanins /D-X. Hon // Curr. Mol. Med. – 2003. – № 3. – P. 149-159.
11. Хомич Г.П. Плоди дикорослої сировини – джерело біологічно-активних речовин для харчових продуктів / Г.П. Хомич / [Електронний ресурс] // Режим доступу: <http://archive.nbuu.gov.ua>.
12. Лозова Т. М. Дослідження вмісту біологічно-активних речовин у нетрадиційних природних добавках з анти радикальною дією для борошняних кондитерських виробів / Т.М. Лозова / [Електронний ресурс] // Режим доступу: <http://archive.nbuu.gov.ua>.
13. Ростовський, В.С. Теоретичні основи технології громадського харчування : загальна частина : навч. посіб. для вищ. навч. закл. – К.: Кондор, 2006. – 197 с.

УДК 664.002.35 : 573.6

## РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ ФЕРМЕНТНОГО ПРЕПАРАТА С ПЕКТИНМЕТИЛЭСТЕРАЗНОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Безусов А.Т., д-р техн. наук, профессор, Пилипенко И.В., канд. техн. наук, доцент,  
Среднишкая З.Ю., ст. науч. сотр.

Одесская национальная академия пищевых технологий

*Разработка эффективного способа извлечения ферментного препарата с пектинметилэстеразной активностью из отходов картофелеперерабатывающих производств*

*The extracting and concentrating method for obtaining enzyme preparation with pectinmethylesterases activity from waste potatoes production*

Ключевые слова: пектинметилэстераза, ферментный препарат, отходы картофелеперерабатывающих производств.

Аналитический обзор ситуации, которая сложилась в области использования ферментных препаратов в современной пищевой промышленности, позволил оценить, насколько острой является необходимость промышленного получения ферментных препаратов растительного происхождения. Согласно аналитическому обзору литературных данных потенциальными перспективными сырьевыми источниками получения растительных пектинметилэстераз могут быть клубни картофеля, отходы картофелеперерабатывающих предприятий.

Химический состав всего клубня и отдельных его частей может сильно изменяться в зависимости от почвенно-климатических условий, сорта, степени созревания, длительности и условий хранения и ряда других факторов. Химический состав неоднороден даже в клубнях из одного куста и в отдельных слоях одного и того же клубня. Результаты анализа химического состава клубней по слоям толщиной около 3 мм приведены в табл. 1.

Таблица 1 – Химический состав клубней картофеля по слоям (в % от сырой массы)

Вещество	Слой картофеля от периферии к центру						
	1	2	3	4	5	6	7
Вода	77,40	70,40	69,70	70,40	71,80	72,90	76,30
Общие сухие вещества	22,60	29,60	30,30	29,60	28,20	27,10	23,70
Крахмал	14,10	23,70	24,70	23,90	23,00	21,30	18,10
Белок (Nx6,25)	2,04	1,48	1,41	1,48	1,04	1,80	2,00
Растворимый азот	0,10	0,07	0,08	0,08	0,11	0,18	0,16

Исходя из приведенных в табл. 1 данных, можно сделать вывод, что максимальное количество белка содержится во внутренней сердцевине клубня, кожице и перидерме. Свообразной границей между анатомическими частями картофеля служит камбиальное кольцо. Из полученных результатов, очевидно, что это же кольцо является и условным разграничителем анатомических частей клубня с максимальным содержанием белков (кожица и перидерма) и минимальным (внешняя сердцевина).

Исследования по механизму регуляции обмена веществ, функциональной роли анатомических частей растений и их химическому составу, проведенные Л.В. Метлицким [1, 2] дают возможность предположить, что повышенное содержание белков в поверхностном слое клубней картофеля обусловлено наличием активных и неактивных ферментных комплексов, обеспечивающих фитоиммунитет: синтез фитонцидов и фитоалексинов, а также обеспечивающих суберинизацию – явление залечивания механических повреждений клубнеплодов и некоторых корнеплодов. Высокое же содержание белка во внутренней сердцевине клубня следует объяснять наличием запасных и ростовых веществ, необходимых для воспроизводства картофеля неполным путём.

По данным Н.Н. Трегубова [3] с точки зрения использования сухих веществ существующая технология получения картофельного крахмала несовершенна. Продуктом переработки является крахмал (массовый выход 85 – 90 % от массы крахмала, содержащегося в клубнях картофеля), а также образуются отходы производства – картофельная мезга, массовая доля влаги в которой обычно составляет 94 – 96 %, и соковая вода. Такие ценные составные части картофеля, как белок, растворимые углеводы, минеральные вещества, теряются, переходят в соковые воды, которые впоследствии становятся сточными, загрязняя водоёмы. Средние данные о содержании сухих веществ в картофеле, продуктах, получаемых из него, и отходах приведены в таблице 2.

**Таблица 2 – Массовая доля сухих веществ в картофеле, продуктах, получаемых из него, и отходах, в % к сырому веществу [3]**

Химический состав клубней картофеля	Картофель	Крахмал	Мезга	Соковая вода
Крахмал	18,50	15,82	2,30	0,38
Клетчатка	1,15	–	1,15	–
Растворимые углеводы	1,10	–	0,13	0,97
Азотистые вещества	2,00	–	0,24	1,76
Жиры	0,15	–	0,02	0,13
Минеральные вещества	1,00	0,09	0,24	0,67
Прочие вещества	1,10	0,02	0,41	0,67

Приведенные данные свидетельствуют о том, что все азотистые вещества картофеля уходят при переработке в отходы. Использование мезги и соковой воды картофеля для промышленного получения пектинметилэстераз является перспективным, причём соковая вода по содержанию азотистых веществ является намного более интересным сырьевым источником.

Нами был исследован химический состав соковых вод – отходов картофеле- и крахмалоперерабатывающих предприятий. Эти отходы образуются при первичном отделении влаги от крахмала на осадительных центрифугах во время обезвоживания крахмального молока, массовая доля сухих веществ в соковой воде составляет от 1 % и выше. Результаты исследования химического состава соковой воды приведены в таблице 3.

**Таблица 3 – Массовый доля сухих веществ соковой воды, % к сухому веществу**

Вещество	Массовая доля
Крахмал	6,62
Белок (Nx6,25)	32,77
Клетчатка	0,18
Глюкоза	6,92
Зола	16,35
Прочие вещества	37,16

Состав соковой воды лабилен, и может варьировать в широком диапазоне в зависимости от сорта и состояния перерабатываемого картофеля (свежесобранный, лежалый, мороженный). Нами был проведен анализ методов получения ферментного комплекса с пектинметилэстеразной активностью. Для этого изучали параметры экстракции пектинметилэстеразы из клубней картофеля; картофельной мезги и соковой воды. С целью экстракции пектинметилэстеразы из картофеля и отходов картофелеперерабатывающих предприятий качестве экстрагентов применяли растворы NaCl различных концентраций, фосфатно-цитратный и ацетатный буферы в массовом соотношении буфер:сырьё равном 3:1. Исследования проводили в диапазоне pH 6,0...8,5, величину pH в растворе регулировали раствором NaOH с молярной концентрацией 0,5 М. Экстракцию фермента проводили в течение 30 минут при постоянном помешивании при температуре 20 °С. Затем полученную гомогенную смесь фильтровали через ткань и центрифугиро-

вали в течение 20 минут при частоте оборотов 83,33 об/с. Осадок удаляли, а в фильтрате определяли концентрацию белка (табл. 4), активности пектинметилэстеразы (табл. 5) и полигалактуроназы (табл. 6).

**Таблица 4 - Степень извлечения белка экстрагентами при различных значениях pH**

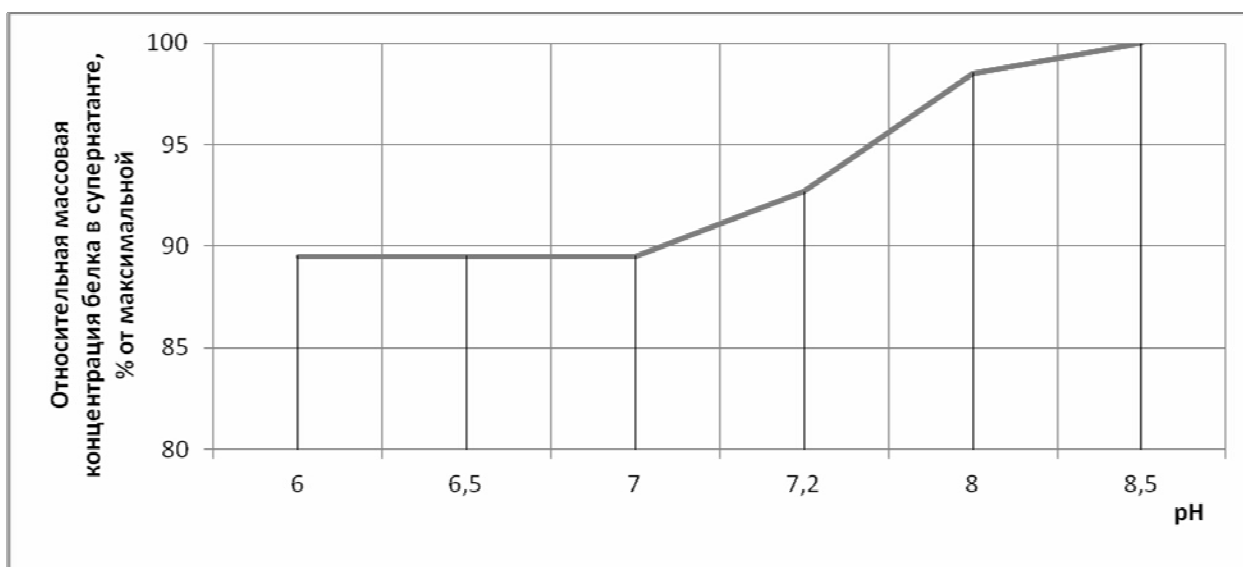
Экстрагент	Степень извлечения белка, % от максимальной* при pH					
	6,0	6,5	7,0	7,2	8,0	8,5
0,05 M NaCl	79,4	79,5	79,5	82,6	87,7	89,4
0,15 M NaCl	81,6	81,6	81,7	84,9	91,8	94,9
0,25 M NaCl	89,5	89,5	89,5	92,7	98,5	100
1,00 M NaCl	89,7	89,7	89,7	91,6	96,1	100
0,2 M ацетатный буфер	89,1	–	–	–	–	–
0,1 M фосфатный буфер	80,5	80,5	80,5	84,6	91,4	92,7

Примечание: \* – За максимальное значение принято общая массовая доля белка в соковой воде к сырому веществу

Анализ полученных экспериментальных данных (табл. 4) показывает, что в исследуемом интервале pH есть область значений pH, в которой наблюдается рост концентрации экстрагированного белка (pH 7,2...8,0). На количество экстрагированного белка влияют также природа и концентрация экстрагента. Так, при росте концентрации NaCl увеличивается не только количество экстрагируемого белка, также можно наблюдать зависимость относительного количества экстрагированного белка от величины pH.

Согласно исследованиям Коваленко А.В. [4], где в качестве сырья для экстракции пектинметилэстераз использовали дроблёные томаты, при использовании 0,25 M NaCl в качестве экстрагента, можно выделить три области значений pH, соответствующих переходу в раствор белковых в клеточном соке, имеющих различную степень прочности ассоциации с клеточными стенками. По данным автора, в области pH 3,6...4,5 в раствор переходят белки, содержащиеся в клеточном соке, не адсорбированные на клеточных стенках; в области pH 4,5...5,5 – белков диффузного слоя, изменение степени ионизации которых в указанном интервале pH ведёт к разрушению с клеточными стенками; в области pH 7,5...8,5 – белков адсорбционного по отношению к клеточным стенкам слоя, сильно взаимодействующих друг с другом.

Приведенные данные согласуются с полученными нами в процессе исследования, в нашем случае ввиду использования в качестве сырья для экстракции – соковой воды, эксперимент был поставлен в области pH 6,0...8,5, где пик экстракции пектинметилэстераз наблюдали при pH 7,2 (рис. 1).



**Рис. 1 – Зависимость степени экстракции белка раствором с молярной концентрацией NaCl 0,25M от значения pH**

Нами была исследована активность пектинметилэстераз после осаждения белков соковой воды. Получены следующие данные (табл. 5).

Таблица 5 – Активность пектинметилэстеразы в супернатантах

Экстрагент	Активность, ед/г при значениях pH					
	6,0	6,5	7,0	7,2	8,0	8,5
0,05 M NaCl	16,9	17,2	17,2	17,6	19,8	20,7
0,15 M NaCl	17,2	17,6	17,6	18,0	19,1	20,4
0,25 M NaCl	18,5	19,2	19,2	20,8	26,1	27,5
1,00 M NaCl	18,3	19,2	19,2	20,2	25,8	27,5
0,2 M ацетатный буфер	–	–	–	–	–	–
0,1 M фосфатный буфер	21,0	21,4	21,4	21,7	24,1	26,0

Из эксперимента (табл. 5) следует, что максимальная активность пектинметилэстераз проявляется в супернатантах, полученных при pH 8,5. Сопоставляя эти данные с данными, приведенными в табл. 4, можно сделать вывод, что количество экстрагированного при одинаковых условиях: pH и концентрации экстрагента, белка коррелирует с проявляемой пектинметилэстеразной активностью супернатантов. Нами была изучена полигалактуронозная активность супернатантов, которая является сопутствующей и нежелательной во всех коммерческих пектинметилэстеразных препаратах. Результаты исследований сведены в таблицу 6. По полученным данным активности полигалактуронозы в супернатантах (табл. 6) следует, что максимальная экстракция полигалактуронозы наблюдается при pH 6,0...7,0. Дальнейшее снижение активности полигалактуронозы при экстракции в области значений pH > 7,0, более выраженное при больших концентрациях экстрагентов следует объяснять как её частичную деградацию под действием щёлочи в ходе экстракции.

Таблица 6 – Активность полигалактуронозы в супернатантах

Экстрагент	Активность, ед/г при значениях pH					
	6,0	6,5	7,0	7,2	8,0	8,5
0,05 M NaCl	2,2	2,2	2,2	2,2	2,0	1,5
0,15 M NaCl	2,7	2,7	2,6	2,5	2,4	1,5
0,25 M NaCl	2,7	2,7	2,6	2,5	2,3	1,3
1,00 M NaCl	2,7	2,7	2,6	2,5	2,2	1,0
0,2 M ацетатный буфер	–	–	–	–	–	–
0,1 M фосфатный буфер	2,5	2,5	2,5	2,4	2,3	1,5

Таким образом, базируясь на полученных данных (табл. 4 – 6), обосновано, что наилучшим экстрагентом пектинметилэстеразы из соковой воды является раствор NaCl с молярной концентрацией 0,25 M при pH 8,5. При этих условиях происходит дифференцирование активностей пектинметилэстеразы и полигалактуронозы за счёт частичного ингибирования последней.

Дальнейшую очистку препарата пектинметилэстеразы проводили традиционным способом – последовательным осаждением этанолом и насыщением  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Для супернатанта, полученного после отделения осадка из соковой воды после воздействия экстрагента – раствора NaCl с молярной концентрацией 0,25 M при pH 8,5 было применено фракционное осаждение белка при pH 4,7 и осаждение при насыщении супернатанта  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  и этанолом при поддержании pH 7,0.

Традиционно для концентрирования ферментов используют методы осаждения солями, органическими растворителями и мембранные методы. Из нетрадиционных, но перспективных методов концентрирования ферментов заслуживают пристального внимания такие способы, как абсорбция желатином, лиофильное высушивание очищенного ферментного препарата. Особенно интересным способом концентрирования может быть взаимодействие пектинметилэстераз очищенного ферментного препарата с высокометоксилированным пектином с последующим энзимным превращением высокометоксилированного пектина в низкометоксилированный и дальнейшим комплексобразованием пектинметилэстеразы с пектином. Получение концентрированных ацетоновых препаратов с пектинметилэстеразной активностью основывается на извлечении пектинметилэстераз из сырья органическим растворителем – ацетоном. В охлаждённую до 0 °C соковую воду добавляли ацетон, охлажденный до минус 5 °C. Осадок отфильтровывали в воронке Бюхнера и промывали обезвоженным ацетоном, удаляя остаточную влагу, до образования рыхлого остатка. Полученный порошок высушивали над  $\text{H}_2\text{SO}_4$  и хранили в эксикаторе над  $\text{CaCl}_2$  при температуре (2...4) °C. На 100 г соковой воды расходовали 200 см<sup>3</sup> ацетона. Описанный метод позволяет получить ферментный препарат с выходом 2,5 % от исходной массы соковой воды, массовой долей сухих веществ 89,2 %, из них растворимых – 86,8 %, в том числе белка 31,5 %. В препарате определяли активность пектинметилэстеразы и полигалактуронозы. Данный метод предполагает извлечение ферментной системы сырья в целом, поэтому соотношение исходных активностей пектинметилэстеразы

и полигалактуроназы не изменилось и составило  $A_{\text{ПМЭ}} : A_{\text{ПМГ}} = 21,2$ . Активность пектинметилэстеразы в препарате составила 1833,8 ед/г при активности полигалактуроназы 86,8 ед/г. Данный метод позволяет быстро и эффективно выделить и сконцентрировать ферментную систему сырья, но характеризуется высокими ресурсозатратами и не позволяет изменять соотношения ферментов в препарате. Взаимодействие пектинметилэстераз очищенного ферментного препарата с высокометоксилированным пектином как способ концентрирования базируется на том, что концентрирование белков можно проводить заряженными полимерами. Их применение отличается дешевизной, поскольку концентрирование происходит при очень низком содержании полимеров в реагирующей смеси.

Несмотря на термодинамическую несовместимость полимеров, имеющих различную химическую природу, при определённых условиях белки и кислые полисахариды способны взаимодействовать в растворах, образуя растворимые и нерастворимые комплексные структуры. В зависимости от pH окружающей среды изменяется состояние ионизированного равновесия заряженных функциональных групп белка карбоксильных и аминогрупп ( $-\text{COOH}$ ,  $-\text{NH}_2$ ) и карбоксильных групп пектиновых веществ. На образование комплексов влияет растворимость белков и пектиновых веществ при различных значениях pH (рис. 2), при этом общий заряд молекулы изменяется. В кислой области pH карбоксильные группы белка находятся в неионизированном состоянии и величина заряда молекулы будет определяться наличием основных групп белка. Макромолекулы белка и анионного полисахарида при pH ниже изоэлектрической точки (ИЭТ) белка имеют противоположные знаки и образуют крупные комплексные структуры. Количество образовавшегося осадка в виде пектин-белковых комплексов зависит от величины отрицательного заряда низкометоксилированных пектиновых веществ, а величина pH, при котором происходит эквивалентное по заряду взаимодействие в системе белок-пектин, зависит от степени этерификации пектина. На молекулярном уровне процесс образования электростатических комплексов можно рассматривать как последовательное присоединение белка к анионному полисахариду. Белок можно считать лигандом, так как на один макроион полисахарида приходится большое количество меньших по размеру макроионов белка. По мере присоединения каждого последующего лиганда заряд полианионного комплекса снижается и в ИЭТ электронейтральные комплексные структуры выпадают в осадок. Взаимодействие ферментного препарата пектинметилэстеразы с высокоэтерифицированным яблочным пектином (степень этерификации 75 %) при термостатировании в диапазоне pH (7,5...8,0) при температуре (35...38) °C на протяжении 40...45 минут приводило к снижению этерификации пектина до 23 %.

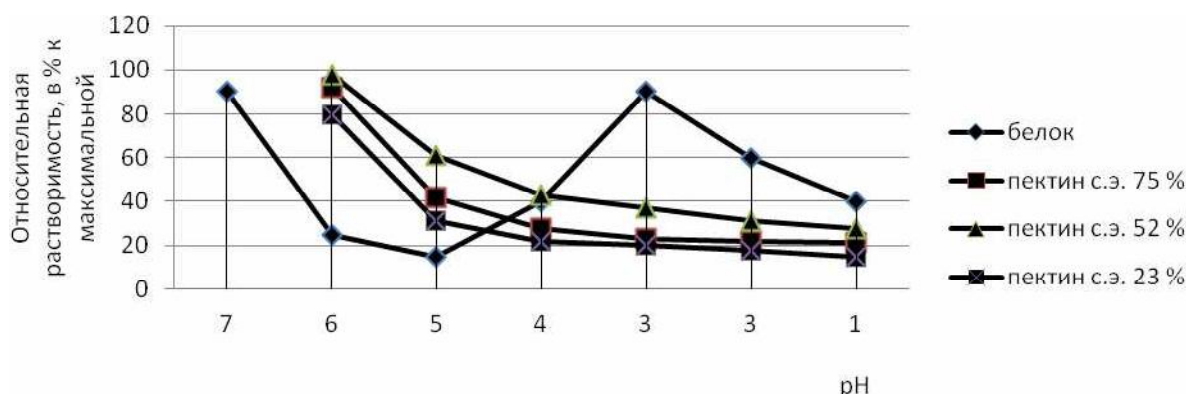


Рис. 2 – Влияние pH среды на растворимость белка и пектиновых веществ

Далее проводили собственно концентрирование ферментного препарата путём его осаждения полученным низкоэтерифицированным пектином. Для этого полученную смесь подкисляли до pH 3,0 и выдерживали при температуре 28...37 °C на протяжении 25...35 минут. При этом происходило взаимодействие: белки образовывали электростатические комплексы с макроионами полисахаридов, и электронейтральные комплексные структуры выпадали в осадок. Осадок отделяли центрифугированием при частоте оборотов 83,33 об/с на протяжении 20 минут. Полученная гомогенная пастообразная масса содержала 46,0 % сухих веществ и активность пектинметилэстеразы 390 ед/г, при этом центрифугат проявлял остаточную по сравнению с исходной активностью пектинметилэстеразы.

Далее нами была разработана принципиальная схема способа получения ферментного препарата с пектинметилэстеразной активностью. В результате проведенных исследований по выделению, экстракции, очистке и концентрированию ферментного препарата с пектинметилэстеразной активностью из соковой воды картофеля была разработана принципиальная схема получения препарата (рис. 3).



**Рис. 3 – Принципиальная схема получения ферментного препарата с пектинметилэстеразной активностью**

Получение ферментного препарата с пектинметилэстеразной активностью из соковой воды картофеля можно охарактеризовать следующими ключевыми технологическими процессами. Соковую воду центрифугируют при частоте оборотов 83,33 об/с для удаления остатков крахмала. К полученному центрифугату добавляют раствор высокоэтерифицированного яблочного пектина с массовой концентрацией 2 %, массовое соотношение пектин : центрифугат при этом составляет 1:1000.

Далее проводят ферментативную дезтерификацию пектина при pH 8,0, температура ферментации составляет 35...38 °C, длительность 40..45 мин. После проведения дезтерификации полученную смесь подкисляют до pH 3,0, термостатируют при температуре 28...37 °C на протяжении 25..35 минут, и затем центрифугируют при частоте оборотов 83,33 об/с на протяжении 20 минут.

Полученный осадок – сконцентрированный пектином ферментный препарат с пектинметилэстеразной активностью с массовой долей влаги 54,0 % помещают на протвину, причём толщина осадка должна составлять 10-15 мм, после чего замораживают методом быстрой заморозки до достижения температуры во внутреннем слое минус 18°C. Фасуют в пакеты из газо-, паро- и светонепроницаемых полимерных плёнок.

Таким образом, нами изучены параметры экстракции пектинметилэстераз из соковой воды. Установлено, что максимальная пектинметилэстеразная активность наблюдается при использовании в качестве экстрагента является раствор NaCl с молярной концентрацией 0,25 М при pH 8,5. При этих условиях происходит дифференцирование активностей пектинметилэстеразы и полигалактуроназы за счёт частичного ингибирования последней, при этом активность пектинметилэстеразы в экстракте составляет 27,5 ед/г, а полигалактуроназы – 1,3 ед/г. Разработаны методы очистки и концентрирования ферментного препарата с пектинметилэстеразной активностью. Наилучшие результаты даёт применение последовательного осаждения этанолом и насыщение  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ . Для экстракта с пектинметилэстеразной активностью было применено фракционное осаждение белка при pH 4,7 и осаждение при насыщении супернатанта  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  и этанолом при поддержании pH 7,0, что позволило получить очищенный экстракт с массовой долей пектинметилэстеразы 14,20 %, а выход 78,9 %. Разработана принципиальная схема концентрирования пектинметилэстераз из соковой воды высокометоксилированным пектином. Так как высокометоксилированный пектин является субстратом для пектинметилэстераз, был предложен оригинальный метод последовательной ферментативной дезтерификации пектина при pH 8,0, температура ферментации составляет 35...38 °C, длительность 40..45 мин, с последующим концентрированием пектинметилэстераз образовавшимся низкометоксилированным пектином (при pH 3,0, температуре 28...37 °C, длительность 25..35 мин). Полученная гомогенная пастообразная масса содержала 46,0 % сухих веществ, активность пектинметилэстеразы составляла 390 ед/г.

### Литература

1. Метлицкий Л.В. Основы биохимии плодов и овощей. – М.: Экономика, 1976. – 349 с.
2. Кретович В.Л., Метлицкий Л.В. Техническая биохимия. – М.: Высшая школа, 1973, – 456 с.
3. Трегубов, Н.Н., Жарова, Е.Я. Технология крахмала и крахмалопродуктов. – М.: Лёгкая и пищевая пром-сть, 1981. – 472 с.
4. Коваленко, А.В. Технология препарата пектинметилэстеразы томатов [Текст]: дис. ... канд. техн. наук: 03.00.20 / А.В. Коваленко. – Одесса, 1997. – 149 с.
5. Плешков Б.А. Биохимия сельскохозяйственных растений. – М.: Агропромиздат, 1987. – 494 с.
6. Брухман Э.Э. Прикладная биохимия. – М.: Лёгкая и пищевая промышленность, 1981. – 296 с.
7. Бобровник Л.Г., Лезенко Г.А. Углеводы в пищевой промышленности. – К.: Урожай, 1991. – 111 с.
8. Даффус К., Даффус Д. Углеводный обмен растений. – М.: Агропромиздат, 1987, – 175 с.

УДК 664.857.011

## МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ КОНСЕРВИРОВАНИЯ ПЛОДОВО-ЯГОДНЫХ СИРОПОВ ОСМОТИЧЕСКИ ДЕЯТЕЛЬНЫМИ ПИЩЕВЫМИ ИНГРЕДИЕНТАМИ

Осипова Л.А., д-р техн. наук, ст. науч. сотр., зав кафедрой технологии вина и энологии,  
Лозовская Т.С., аспирант кафедры технологии вина и энологии  
Одесская национальная академия пищевых технологий

*Научно обоснованы концентрации осмотически деятельных пищевых ингредиентов (органических кислот, сахаров, этилового спирта), обеспечивающие продолжительную микробиальную стойкость фруктово-ягодных сиропов без применения тепловой обработки и химических консервантов.*

*Scientifically based osmotic concentration of activity of food ingredients (organic acids, sugars, ethanol), providing long-lasting microbial resistance of fruit syrups without the use of heat treatment and chemical preservatives.*

Ключевые слова: фруктово-ягодные соки, сиропы, осмотически деятельные пищевые ингредиенты, органические кислоты, сахар, этиловый спирт.

Согласно концепции государственной политики в области здорового питания приоритет отдается технологиям, использующим безопасные способы стабилизации качественных показателей пищевых продуктов, обеспечивающие экологизацию и возможность отказа от использования химических консервантов, наносимых непоправимый вред здоровью человека.

Изучение влияния состава сиропов (активной кислотности, концентрации сахаров, органических кислот, этилового спирта) на выживаемость микроорганизмов-возбудителей порчи чрезвычайно важно для разработки теоретических основ консервирования осмотически деятельными пищевыми ингредиентами.

Цель исследования – научное обоснование значения концентраций осмотически деятельных пищевых ингредиентов (органических кислот, сахаров, этилового спирта), обеспечивающих продолжительную микробиальную стойкость фруктово-ягодных сиропов без применения тепловой обработки и химических консервантов.

На первом этапе исследовали выживаемость микроорганизмов – потенциальных возбудителей порчи в модельных фруктово-ягодных сиропах. В качестве тест-культур использовали споры плесневых грибов вида *Byssochlamys nivea* и вегетативные клетки дрожжей вида *Saccharomyces cerevisiae*. Подготовку микроцистов осуществляли по традиционным методикам [1].

Модельные сиропы готовили на основе черничного сока и свекловичного сахара. В стерилизованную смесь сока с сахаром в стерильных условиях вносили этиловый спирт.

Физико-химические показатели модельных сиропов: массовая доля сахара – 35 ... 50 %, этилового спирта – 2 ... 6 %; титруемых кислот – 1 ... 2 %; активная кислотность – 3,0 ед. рН.

Исходную кислотность в модельных сиропах для достижения максимального значения (2 %) повышали путем добавления лимонной кислоты.

Для инфицирования модельных сиропов использовали взвесь спор плесневых грибов вида *Byssochlamys nivea* (количество спор в сиропе составляла  $10^5$  спор/1 см<sup>3</sup>). Флаконы с зараженными сиро-