

## Исследование пигментов сине-зеленой водоросли спирулины платенсис для практического использования в технологиях кондитерских изделий

Татьяна К. Каленик	<sup>1</sup>	<a href="mailto:kaleniktk@rambler.ru">kaleniktk@rambler.ru</a>
Елена В. Добрынина	<sup>1</sup>	<a href="mailto:elena_victory@list.ru">elena_victory@list.ru</a>
Виолетта М. Остапенко	<sup>1</sup>	<a href="mailto:vetaostapenko_97@mail.ru">vetaostapenko_97@mail.ru</a>
Ясуёши Тори	<sup>2</sup>	<a href="mailto:torii.yasuyoshi@nihon-u.ac.jp">torii.yasuyoshi@nihon-u.ac.jp</a>
Юро Хироми	<sup>2</sup>	<a href="mailto:hiromi.juro@nihon-u.ac.jp">hiromi.juro@nihon-u.ac.jp</a>

<sup>1</sup> Дальневосточный федеральный университет, поселок Аякс, 10, г. Владивосток, о. Русский, 690922, Россия

<sup>2</sup> Колледж биоресурсных наук, Нихонский университет, 1866 Камейно, Фудзисава. Канагава 252-0880, Япония

**Аннотация.** В статье представлено исследование процесса выделения натурального синего пигмента – фикоцианина из биомассы сине-зеленой водоросли *Spirulina platensis* методом водной экстракции с последующим использованием его водного раствора в качестве натурального пищевого красителя в технологии производства голубого шоколада. В последнее время современные пищевые предприятия ведут свою политику в сторону расширения ассортимента выпускаемой продукции, что тесно связано с увеличением потребностей населения в пищевых продуктах нового вида. Одним из вариантов решения этого вопроса является применение пищевых добавок как природного, так и синтетического происхождения. Среди подобных компонентов широкое распространение нашли красители искусственного происхождения, которые обладают высокой красящей способностью и относительно невысокой стоимостью. Однако многие из разрешенных в нашей стране синтетические пищевые красители запрещены в ряде развитых государств как потенциально опасные для здоровья. Синтетические красители красного, желтого и зеленого цвета имеют большое количество природных аналогов – каротиноиды, лютеин, хлорофилл и т.д., за исключением синего красителя, аналогом которого является только антоцианы, являющиеся нестабильными в зависимости от условий pH среды. В данной статье проведена идентификация фикобилинпротеинов и хлорофилла *a* в водном экстракте спирулины. Определена массовая концентрация фикобилинпротеинов и хлорофилла *a* спектрофотометрическим методом до и после добавления насыщенного раствора сульфата аммония. Проведен сравнительный анализ влияния фракционирования (высаливания) на степень очистки раствора фикоцианина. Представлена и описана технологическая схема извлечения фикоцианина, которая позволяет использовать его в пищевых технологиях в качестве экстракта, либо сухого порошка. Установлена концентрация экстракта фикоцианина из сине-зеленой водоросли спирулины для использования его в производстве голубого шоколада. Определены органолептические и гигиенические показатели готового продукта.

**Ключевые слова:** сине-зеленые водоросли, спирулина платенсис, фикобилинпротеины, фикоцианин, хлорофилл *a*, экстракция, спектрофотометрия, натуральные красители, голубой шоколад

## Research of pigments of blue-green algae spirulina platensis for practical use in confectionery technology

Tatyana K. Kalenik	<sup>1</sup>	<a href="mailto:kaleniktk@rambler.ru">kaleniktk@rambler.ru</a>
Elena V. Dobrynina	<sup>1</sup>	<a href="mailto:elena_victory@list.ru">elena_victory@list.ru</a>
Violetta M. Ostapenko	<sup>1</sup>	<a href="mailto:vetaostapenko_97@mail.ru">vetaostapenko_97@mail.ru</a>
Yasuyoshi Torii	<sup>2</sup>	<a href="mailto:torii.yasuyoshi@nihon-u.ac.jp">torii.yasuyoshi@nihon-u.ac.jp</a>
Juro Hiromi	<sup>2</sup>	<a href="mailto:hiromi.juro@nihon-u.ac.jp">hiromi.juro@nihon-u.ac.jp</a>

<sup>1</sup> Far Eastern Federal University, Ajax Bay, 10 Vladivostok, i. Russky, 690922, Russia

<sup>2</sup> College of Bioresource Sciences, Nihon University, 1866 Kameino, Fujisawa-shi, Kanagawa 252-0880, Japan

**Abstract.** The article presents a study of the process of isolation of natural blue pigment – phycocyanin from the biomass of blue-green algae *Spirulina platensis* by water extraction, followed using its water solution as a natural food colorant in the production of milk chocolate. Recently, modern food enterprises are pursuing their policy towards expanding the range of products, which is closely related to the increasing needs of the population in food of a new kind. One of the solutions to this problem is the use of food additives of both natural and synthetic origin. Among the similar components widespread found dyes synthetic origin, which have high coverage rates and relatively low cost. However, many of the permitted in our country synthetic food dyes are banned in several developed countries as potentially dangerous to health. Synthetic dyes of red, yellow and green color have many natural analogues – carotenoids, lutein, chlorophyll, etc., except for the blue dye, the analogue of which is only anthocyanins, which are unstable depending on the pH conditions. In this article were identified phycobiliproteins and chlorophyll *a* in a water extract of spirulina. The mass concentration of phycobiliproteins and chlorophyll *a* was determined by spectrophotometric method before and after the addition of ammonium sulfate. A comparative analysis of the effect of fractionation (salting out) on the degree of purification of the phycocyanin solution. Presented and described the technological scheme of extraction of phycocyanin which allows to use it in food technologies as an extract or a dry powder. Established the concentration of phycocyanin extract from blue-green algae spirulina to produce milk blue chocolate. Determined organoleptic and hygienic characteristics of the finished product

**Keywords:** blue-green algae, spirulina platensis, phycobiliproteins, phycocyanin, chlorophyll *a*, extraction, spectrophotometry, natural colorants, blue chocolate

Для цитирования

Каленик Т.К., Добрынина Е.В., Остапенко В.М., Тори Ясуёши, Хироми Юро Исследование пигментов сине-зеленой водоросли спирулины платенсис для практического использования в технологиях кондитерских изделий // Вестник ВГУИТ. 2019. Т. 81. № 2. С. 170–176. doi:10.20914/2310-1202-2019-2-170-176

For citation

Kalenik T.K., Dobrynina E.V., Ostapenko V.M., Torii Yasuyoshi, Hiromi Juro Research of pigments of blue-green algae spirulina platensis for practical use in confectionery technology. *Vestnik VGUIT* [Proceedings of VSUET]. 2019. vol. 81. no. 2. pp. 170–176. (in Russian). doi:10.20914/2310-1202-2019-2-170-176

## Введение

В настоящее время перспективным сырьем для получения биологически активных веществ являются макро- и микроводоросли [1]. Одним из альтернативных источников получения натурального пигмента синего цвета, который может быть использован в качестве натурального пищевого красителя, является сине-зеленая водоросль спирулина платенсис (*Spirulina platensis*).

Вид цианобактерии спирулина платенсис представляет собой нитчатую микроскопическую, не образующую гетероцист, неазотфиксирующую, спиралевидную цианобактерию, использующую для роста энергию фотосинтеза и относящуюся к прокариотам [2].

Спирулина содержит множество пигментов, которые могут быть полезны и биодоступны, в том числе бета-каротин, зеаксантин, хлорофилл *a* (хлорофилл *b* отсутствует), ксантофилл, эхиненон, миксооксантофил, кантаксантин, диатоксантин, 3'-гидроксиэхиненон, бетакриптоксантин и осциллаксантин, а также фикобилипротеины (ФБП) – С-фикоцианин, аллофикоцианин и фикоэритрин [3].

Фикоцианин – белок, входящий в состав фотосинтезирующих пигментных комплексов спирулины – фикобилисом. В составе биомассы спирулины он представлен несколькими изоформами, включая аллофикоцианин и С-фикоцианин. Последний состоит из 2 типов субъединиц молекулярной массой 17–21 кД, организованных в нативном белке в гексамерный комплекс. Каждая субъединица содержит ковалентно связанный хромофор фикоцианобилин, определяющий его биологическую активность. Фикоцианобилин является веществом, родственным билирубину сыворотки крови, и подобно ему обладает свойствами гасителя свободных радикалов. Благодаря этому фикоцианин является активным пищевым антиоксидантом [4]. Фикоцианин подавляет развитие опухолевых клеток, снижает содержание медиаторов воспаления. Кроме этого, он ингибирует окислительный стресс клетки, предотвращает перекисное окисление липидов, повреждения ДНК, разрушение клеточных мембран и гибель клетки [5–7].

С-фикоцианин является не единственным продуктом, извлекаемым из клеточной массы, используются каротиноиды, биополимеры и низкомолекулярные продукты клеток. При сушке получаемой биомассы С-ФЦ частично денатурирует, но сине-зеленая окраска и биологическая активность высушенных препаратов сохраняются годами [8].

Создание методов извлечения С-фикоцианина связано с исследованиями, выполненными в начале XX века Т. Сведбергом [9]. ФБП как окрашенные протеины в развитии этого направления оказались чрезвычайно удобны.

**Цель работы** – научный поиск и исследование источников натурального пищевого красителя синего цвета, а также возможность его использования в пищевом производстве.

Задачи исследования включали следующие этапы:

- исследование процесса выделения С-фикоцианина из сине-зеленой водоросли спирулины платенсис методом водной экстракции;
- идентификацию ФБП и хлорофилла *a* в экстрактах спирулины спектрофотометрическим методом;
- сравнительный анализ влияния фракционирования на степень очистки раствора фикоцианина;
- возможность применения водного экстракта С-фикоцианина в качестве натурального пищевого красителя в производстве шоколада;
- исследование органолептических и гигиенических показателей готового продукта.

## Материалы и методы

**Объекты исследования:** сухой порошок спирулины (XI'AN FRANKHERB BIOTECH CO., LTD, Китай), водный экстракт спирулины, шоколад с добавлением экстракта фикоцианина.

Экстракцию С-фикоцианина проводили при температуре 45 °С в течение 1 ч, соотношение массы сырья к экстрагенту составляло 1:20. В качестве экстрагента использовали дистиллированную воду.

Массовую концентрацию С-фикоцианина и отдельных ФБП в экстрактах определяли по спектрам поглощения пигментов. Спектрофотометрические исследования полученных пигментных комплексов проводили при длинах волн от 200 до 700 нм. Измерение оптической плотности экстрактов проводили на спектрофотометре Shimadzu UV-1800 (Япония) при длине волны: фикоэритрин – 565 нм, С-фикоцианин – 620 нм и аллофикоцианин – 650 нм, хлорофилл *a* – 664 нм и 750 нм, соответственно до и после добавления 80%-ного раствора сульфата аммония.

Концентрацию фикобилипротеинов в экстракте определяли по формуле, вытекающей из закона Бугера-Ламберта-Бера [10]. Массовую концентрацию хлорофилла *a* в образцах экстракта спирулины платенсис определяли спектрофотометрическим методом по стандартной методике [11]. Экстракт перед повторным измерением подкисляют 0,01 см<sup>3</sup> соляной кислоты на 10 см<sup>3</sup> объема экстракта.

**Результаты и обсуждение**

Известно, что фикоцианин хорошо растворяется в воде и А.А. Ефимовым был разработан способ выделения С-фикоцианина методом водной экстракции [12]. По данному способу экстрагирование С-фикоцианина ведут при низкой температуре 0–5 °С, в результате чего увеличивается продолжительность экстракции пигмента.

Другим исследователем Н.М. Береговой был предложен усовершенствованный метод выделения С-фикоцианина с использованием горячей экстракции. После дезинтеграции клеточных стенок проводят экстракцию при температуре 45 °С, которая позволяет сократить время экстрагирования [13].

В связи с этим исследовали процесс выделения С-фикоцианина из биомассы сине-зеленой водоросли спирулины платенсис методом водной экстракции, с последующим центрифугированием и фракционированием.

Для повышения выхода извлекаемого С-фикоцианина проводили дезинтеграцию клеточных стенок, так как фикобилипротеиновые комплексы тесно связаны с наружной поверхностью мембраны клетки. Использовали процесс четырехкратного замораживания-оттаивания при температуре -12 °С в течение 20 мин. После дезинтеграции экстрагировали комплекс фикобилипротеинов водой. Известно, что спирулина платенсис является термолабильным сырьем, поэтому экстракцию проводили при температуре 45 °С в течение 1 ч при периодическом перемешивании. Соотношение водоросли и экстрагента составляет 1:20. В результате экстрагирования получали смесь водного экстракта – комплекса пигментов темно-зеленого цвета с частицами водорослей, содержащими остатки хлорофилла и каротиноидов.

Для отделения экстракта С-фикоцианина от водорослевого остатка использовали процесс его центрифугирования на лабораторной центрифуге

ЦММ1–12 при 3000 мин<sup>-1</sup> в течение 25 мин. Полученный экстракт имел сине-зеленый цвет, что указывало на присутствие хлорофилла вместе с ФБП.

Результаты идентификации и количественного содержания ФБП в полученных экстрактах спирулины приведены в таблице 1.

Таблица 1.  
Качественный и количественный состав ФБП в экстрактах спирулины платенсис

Table 1.  
Qualitative and quantitative composition of FBP in extracts of spirulina platensis

Вещество Substance	Длина волны, нм Wavelength, nm	Значение оптической плотности Optical density value	Массовая концентрация, мг/л Mass concentration, mg/l
С-фикоцианин С-phycoerythrin	620	0,150	20,55 ± 0,03
Фикоэритрин Phycocyanin	565	0,107	13,34 ± 0,01
Аллофикоцианин Allophycocyanin	650	0,090	15,52 ± 0,07

Анализ данных показал, что по спектру поглощения в диапазоне длин волн от 200 до 700 нм водные экстракты спирулины содержат пигменты фикоэритрин, С-фикоцианин, аллофикоцианин, имеющие максимумы поглощения при 565, 620, 650 нм соответственно. По результатам таблицы 1 видно, что С-фикоцианин – преобладающий пигмент в системе ФБП. Его содержание составляет 20,55 мг/л. Лимитирующим является фикоэритрин, концентрация которого составляет 13,34 мг/л.

Однако полученные экстракты спирулины имели сине-зеленый цвет. По-видимому, экстракты, кроме ФБП, содержат хлорофилл *a*. Действительно, результаты идентификации содержания хлорофилла *a* в экстрактах спирулины (таблица 2) указывают на его присутствие.

Таблица 2.  
Качественный и количественный состав хлорофилла *a* в экстрактах спирулины платенсис

Table 2.  
Qualitative and quantitative composition of chlorophyll *a* in extracts of spirulina platensis

Вещество Substance	Длина волны, нм Wavelength, nm	Значение оптической плотности Optical density value	Значение оптической плотности (подкисление) Optical density value (acidity)	Массовая концентрация, мг/л Mass concentration, mg/l
Хлорофилл <i>a</i> Chlorophyll <i>a</i>	664	0,068	0,051	0,0296 ± 0,001
	750	0,065	0,049	

Анализ данных показал, что в полученных водных экстрактах содержится большое количество хлорофилла *a*. Концентрация хлорофилла *a* в экстракте составляет 0,0296 мг/л.

Для извлечения С-фикоцианина и очистки его от хлорофилла *a* исследовали процесс его фракционирования. В экстракт спирулины добавляли 80%-ный раствор сульфата аммония в соотношении 2:1 (экстракт: раствор сульфата аммония) до образования осадка С-фикоцианина. Продолжительность процесса фракционирования С-фикоцианина составила 4–5 ч.

После фракционирования полученный осадок фильтровали от сульфата аммония и низкомолекулярных примесей с использованием ацетатных фильтров. В результате фильтрации полученный экстракт приобретает прозрачный голубой цвет с видимым осадком темно-синего С-фикоцианина. Полноту осаждения фикоцианина контролировали по цвету и оптической плотности надосадочной жидкости и осадка (таблица 3).

Таблица 3.

Качественный и количественный состав пигментов в надосадочной жидкости после осаждения С-фикоцианина

Table 3. Qualitative and quantitative composition of pigments in the supernatant fluid after precipitation of С-phycocyanin

Вещество Substance	Длина волны, нм Wavelength, nm	Значение оптической плотности Optical density value	Массовая концентрация, мг/л Mass concentration, mg / l
С-фикоцианин С-phycocyanin	620	0,061	8,36 ± 0,02
Фикоэритрин Phycocerythrin	565	0,060	7,48 ± 0,02
Аллофикоцианин Allophycocyanin	650	0,056	9,66 ± 0,01

При добавлении в водный экстракт спирулины 80%-ного раствора сульфата аммония начинает выпадать осадок ФБП и сокращается их количество в надосадочной жидкости. Это обусловлено тем, что ФБП являются веществами белкового происхождения и под действием данного реагента выпадают в осадок, соответственно их массовая концентрация в надосадочной жидкости уменьшается. По завершении процесса фракционирования ФБП осадок имеет ярко-синий цвет, а надосадочная жидкость становится прозрачной, что подтверждается результатами спектроскопического

анализа. Из данных таблицы 3 видно, что фикоэритрин имеет наименьшее значение массовой концентрации в надосадочной жидкости, которая составляет 7,48 мг/л. Аллофикоцианин является преобладающим компонентом в системе фотопигментов. Его концентрация составляет 9,66 мг/л. Это объясняется тем, что аллофикоцианин, в отличие от остальных пигментов, под действием раствора сульфата аммония выпадает в осадок спустя 1,5–2 ч.

На основании проведенных исследований была разработана технологическая схема извлечения С-фикоцианина (рисунок 1), которая позволяет получить его в качестве жидкого экстракта и сухого порошка. Для достижения порошкообразного состояния осадок С-фикоцианина сушат в потоке воздуха при температуре 45 °С. Полученный порошок имеет ярко-синий цвет без постороннего запаха и привкуса водорослей, хорошо растворяется в воде.

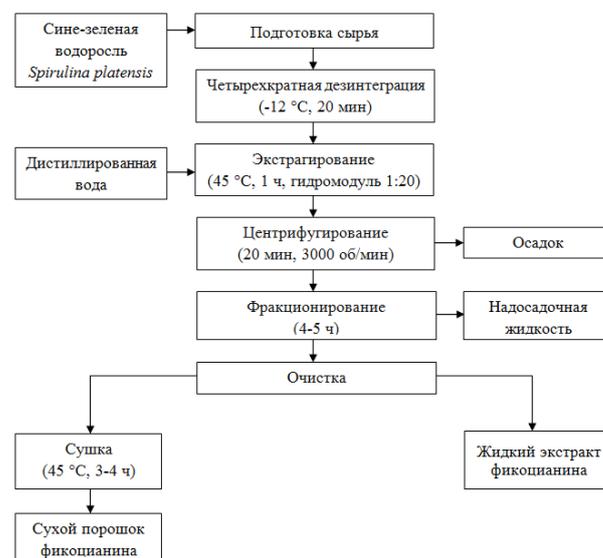


Рисунок 1. Технологическая схема выделения С-фикоцианина из биомассы сине-зеленой водоросли спирулины платенсис

Figure 1. Technological scheme isolation С-phycocyanin from biomass blue-green alga spirulina platensis

По разработанной технологической схеме из биомассы спирулины получали жидкую форму пигмента и исследовали возможность ее использования в технологии производства шоколада.

В технологических экспериментах использовали рецептуру белого шоколада. Белый шоколад – это кондитерское изделие, получаемое на основе масла какао, молока и (или) продуктов его переработки и сахара, в состав которого входит не менее 20% масла какао и не менее 14% сухих веществ молока и (или) продуктов его переработки, в том числе не менее 3,5% молочного жира [14].

Экспериментальным путем был проведен подбор различных концентраций экстракта С-фикоцианина для производства шоколада, основанный на органолептической оценке консистенции, цвета, запаха и вкуса. Для этого были исследованы следующие концентрации экстракта, %: 5, 10, 13, 15. Добавку в жидком виде вносили в количестве 5–10–13–15 мл на 100 г продукта на стадии разведения шоколадной массы перед коншированием и темперированием. При этом шоколадная масса приобретала голубой оттенок.

В результате проведенного исследования было определено, что оптимальные

органолептические характеристики достигаются при использовании концентрации пигмента в количестве 13% на 100 г продукта. При повышении концентрации отмечается присутствие запаха и привкуса водорослей. На консистенцию шоколадной массы данная добавка влияния не оказывает. После охлаждения цвет готового шоколада остается неизменным.

Органолептическую оценку голубого шоколада проводили по следующим показателям: внешний вид, консистенция, структура, запах и вкус (таблица 4).

Таблица 4.

Органолептическая оценка

Table 4.

Organoleptic evaluation

Показатель Indicator	Характеристика шоколада в соответствии с ГОСТ 31721–2012. Шоколад. ОТУ Chocolate characterization in accordance with GOST 31721-2012. Chocolate. OTU	Характеристика шоколада с использованием экстракта фикоцианина Characterization of chocolate using phycocyanin extract
Вкус и запах Taste and smell	Свойственные для конкретного типа шоколада, без постороннего привкуса и запаха Typical for a particular type of chocolate, without foreign taste and smell	Свойственные для конкретного типа шоколада, не имеет привкуса и запаха водорослей Typical for a particular type of chocolate, has no taste and smell of algae
Внешний вид Appearance	Лицевая поверхность ровная или волнистая, с рисунком или без него, блестящая The front surface is smooth or wavy, with or without pattern, shiny	Лицевая поверхность ровная, но недостаточно блестящая, без поседения The front surface is smooth, but not shiny enough, without graying
Форма Form	Соответствующая рецептуре, используемому оборудованию, без деформации для всех видов шоколада, кроме весового Corresponding to the formulation used equipment, without deformation for all types of chocolate, except weight	
Консистенция Consistency	Твердая   Solid	
Структура Structure	Однородная   Homogeneous	

Органолептическая оценка показала, что шоколад с добавлением экстракта С-фикоцианина имеет вкус и запах, свойственные шоколаду. Шоколад имеет блестящую ровную лицевую поверхность, без поседения, твердую структуру и однородную консистенцию, не имеет запаха и привкуса водорослей (рисунок 2).

Из результатов таблицы 4 видно, что шоколад с использованием экстракта С-фикоцианина соответствует ГОСТ 31721–2012. «Шоколад. Общие технические условия» по всем органолептическим показателям.

Согласно ТР ТС 021\2011 «О безопасности пищевой продукции» шоколад нормируется по следующим токсичным элементам: свинец, мышьяк, кадмий, ртуть. Результаты проведенных исследований по количеству токсичных

элементов в шоколаде с добавлением экстракта С-фикоцианина представлены в таблице 5.



Рисунок 2. Профилограмма органолептических показателей готового продукта

Figure 2. Profilogram of organoleptic characteristics of the finished product

Гигиенические показатели шоколада с использованием экстракта фикоцианина

Hygienic parameters of chocolate using extract of phycocyanin

Показатель Indicator	Допустимые уровни, мг/кг Permissible levels, mg / kg,	Фактическое значение, мг/кг Actual value, mg / kg	Погрешность измерений при P=0,95 Measurement error at P=0.95
Pb	<1,0	0,040	±0,014
As	<1,0	0,031	±0,012
Cd	<0,5	<0,050	-
Hg	<0,1	<0,005	-

По данным таблицы 5 можно сделать вывод о том, что шоколад с экстрактом С-фикоцианина полностью соответствует гигиеническим требованиям безопасности ТР ТС 021\2011 «О безопасности пищевой продукции» и, следовательно, является безопасным.

### Заключение

Изучен процесс выделения синего пигмента С-фикоцианина из сине-зеленой водоросли спирулины методом экстракции. Установлено, что С-фикоцианин экстрагируется водой при температуре 45 °С в течение 1 ч. Для повышения выхода С-фикоцианина в водный экстракт предварительно проводится дезинтеграция биомассы спирулины.

Идентификация ФБП и хлорофилла *a* в водном экстракте спирулины показала, что преобладающим является С-фикоцианин в смеси ФБП. Установлено, что полученный водный экстракт спирулины содержит хлорофилл *a*, который влияет на цвет экстракта С-фикоцианина.

### ЛИТЕРАТУРА

1 Каленик Т.К., Кадникова И.А., Добрынина Е.В., Захаренко А.М. и др. Получение биологически активных веществ из красной водоросли анфельдии тобучинской // Хранение и переработка сельхозсырья. 2017. № 10. С. 19–22.

2 Тамбиев А.Х. Биоэлементология и ее связь с другими дисциплинами // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2015. № 12. С. 23–37.

3 Бобылева А.В. Перспективы использования нетрадиционного растительного сырья в производстве мучных кондитерских изделий функционального назначения // Евразийское научное объединение. 2018. № 12. С. 63–67.

4 Патент № 2320195, RU, A23J3/20. Способ получения белкового препарата из цианобактерий / Мазо В.К., Гмошинский И.В.; Заявитель и патентообладатель Мазо В.К. № 2006118740/13; Заявл. 31.05.2006; Оpubл. 27.03.2008, Бюл. №9.

5 Li B., Zhang X., Gao M., Chu X. Effects of CD59 on antitumoral activities of phycocyanin from *Spirulina platensis* // Biomed Pharmacother. 2005. V. 59. № 10. P. 551–560.

6 Romay C., Delgado R., Ramirez D., González R. et al. Effect of phycocyanin extract on tumor necrosis factor – and nitrite levels in serum wice treated with endotoxim // Arzheim. – Forsch. 2001. № 9. P. 733–736.

Исследовали влияние процесса фракционирования на степень очистки раствора С-фикоцианина. Использование в технологии процесса осаждения 80%-ным раствором сульфата аммония позволяет получить чистый экстракт С-фикоцианина, исключая присутствие хлорофилла *a*.

Исследована возможность использования экстракта пигментов из спирулины в кондитерском производстве. Установлена концентрация экстракта С-фикоцианина для применения в технологии шоколада. Органолептическая оценка подтверждает, что использование добавки в концентрации 13% на 100 г шоколадной массы в качестве натурального красителя синего цвета придает ей оригинальный голубой цвет. Шоколад с добавлением экстракта С-фикоцианина соответствует требованиям ТР ТС 021\2011 «О безопасности пищевой продукции».

7 Belay A., Amer J. The potential Application of *Spirulina* (*Arthrospira*) as nutritional and therapeutic supplement in health management // Nutraceutical Assoc. 2002. № 2. P. 27–49.

8 Morais M.G., Vaz M.G., Morais E.G., Costa J.A. Biologically Active Metabolites Synthesized by Microalgae // Biomed. Res. Int. 2014. № 5. P. 1–16.

9 Svedberg T., Lewis N.B. The molecular weights of phycoerythrin and of phycocyan // J. Am. Chem. Soc. 1928. № 2. P. 525–536.

10 Бриттон Г. Биохимия природных пигментов: пер. с англ. Москва: Мир, 1986. 442 с.

11 РД 52.24.784–2013. Массовая концентрация хлорофилла «а» Методика измерений спектрофотометрическим методом с экстракцией этанолом. Ростов-на-Дону: ФГБУ ГХИ, 2013. 6 с.

12 Ефимов А.А. Технология получения фикоцианина из термофильных сине-зеленых водорослей как пищевой добавки // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. 2007. № 5. С. 43–45.

13 Береговая Н.М., Геворгиз Р.Г., Нехорошев М.В. Получение фикобилипротеинов методом горячей экстракции из биомассы спирулины. Керчь: Керченский филиал («ЮгНИРО») федерального государственного бюджетного научного учреждения «Азовский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства», 2013. 195 с.

14 ГОСТ 31721–2012. Шоколад. Общие технические условия. М.: Стандартинформ, 2013. 4 с.

## REFERENCES

1 Kalenik T.K., Kadnikova I.A., Dobrynin E.V., Zakharenko A.M. et al. Obtaining biologically active substances from the red algae of the tobuchinsky anfelia. Storage and processing of agricultural raw materials. 2017. no. 10. pp. 19–22. (in Russian).

2 Tambiev A. Kh. Bioelementology and its connection with other disciplines. Questions of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2015. no. 12. pp. 23–37. (in Russian).

3 Bobyleva A.V. Prospects for the use of non-traditional plant materials in the production of flour confectionery products for functional purposes. Eurasian Scientific Association. 2018. no. 12. pp. 63–67. (in Russian)

4 Maso V.K., Gmoshinsky I.V. A method of obtaining a protein preparation from cyanobacteria. Patent RF, no. 2320195, 2008.

5 Li B., Zhang X., Gao M., Chu X. Effects of CD59 on antitumoral activities of phycocyanin from *Spirulina platensis*. Biomed Pharmacother. 2005. vol. 59. no. 10. pp. 551–560.

6 Romay C., Delgado R., Ramirez D., González R. et al. Effect of phycocyanin extract on tumor necrosis factor – and nitrite levels in serum wice treated with endotoxim. *Arzneim. – Forsch.* 2001. no. 9. pp. 733–736.

7 Belay A., Amer J. The potential Application of *Spirulina* (*Arthrospira*) as nutritional and therapeutic

supplement in health management. *Nutraceutical Assoc.* 2002. no. 2. pp. 27–49.

8 Morais M.G., Vaz M.G., Morais E.G., Costa J.A. Biologically Active Metabolites Synthesized by Microalgae. *Biomed. Res. Int.* 2014. no. 5. pp. 1–16.

9 Svedberg T., Lewis N.B. The molecular weights of phycoerythrin and of phycocyan. *J. Am. Chem. Soc.* 1928. no. 2. pp. 525–536.

10 Britton G. Biochemistry of natural pigments. Moscow, Mir, 1986, 442 p. (in Russian).

11 Guiding Document 52.24.784–2013. Mass concentration of chlorophyll “a” Measurement procedure by spectrophotometric method with ethanol extraction. Rostov-on-Don, FSBI GHI, 2013. 6 p. (in Russian).

12 Efimov A.A. The technology for the production of phycocyanin from thermophilic blue-green algae as a food additive. News of higher educational institutions. Food technology. 2007. no. 5. pp. 43–45. (in Russian).

13 Beregovaya N.M., Gevorgiz R.G., Nekhoroshev M.V. Preparation of phycobiliproteins by hot extraction from spirulina biomass. Kerch, Kerch branch (“YugNIRO”) of the Federal State Budget Scientific Institution “Azov Research Institute of Fisheries”, 2013. 195 p. (in Russian)

14 State Standard 31721–2012. Chocolate. General specifications. Moscow, Standartinform Publ., 2013. 4 p. (in Russian).

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Татьяна К. Каленик** д.б.н., профессор, Департамент пищевых наук и технологий, Дальневосточный федеральный университет, поселок Аякс, 10, г. Владивосток, о. Русский, 690922, Россия, kaleniktk@rambler.ru

**Елена В. Добрынина** к.т.н., доцент, Департамент пищевых наук и технологий, Дальневосточный федеральный университет, поселок Аякс, 10, г. Владивосток, о. Русский, 690922, Россия, elena\_victory@list.ru

**Виолетта М. Остапенко** магистр, Департамент пищевых наук и технологий, Дальневосточный федеральный университет, поселок Аякс, 10, г. Владивосток, о. Русский, 690922, Россия, vetaostapenko\_97@mail.ru

**Ясуёши Тори** доцент, Департамент сельскохозяйственной биологии, Колледж биоресурсных наук, Нихонский университет, 1866 Камейно, Фудзисава, Канагава 252-0880, Япония, torii.yasuyoshi@nihon-u.ac.jp

**Юро Хироми** профессор, Департамент сельскохозяйственной биологии, Колледж биоресурсных наук, Нихонский университет, 1866 Камейно, Фудзисава, Канагава 252-0880, Япония, hiromi.juro@nihon-u.ac.jp

## КРИТЕРИЙ АВТОРСТВА

**Татьяна К. Каленик, Елена В. Добрынина** методика проведения эксперимента

**Виолетта М. Остапенко** написала рукопись, корректировала её до подачи в редакцию и несёт ответственность за плагиат

**Ясуёши Тори, Юро Хироми** консультация в ходе исследования

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ПОСТУПИЛА 10.03.2019

ПРИНЯТА В ПЕЧАТЬ 14.05.2019

## INFORMATION ABOUT AUTHORS

**Tatyana K. Kalenik** Dr. Sci. (Biol.), professor, Department of Food Science and Technology, Far Eastern Federal University, Ajax Bay, 10 Vladivostok, 690922, Russia, kaleniktk@rambler.ru

**Elena V. Dobrynina** Cand. Sci. (Engin.), associate professor, Department of Food Science and Technology, Far Eastern Federal University, Ajax Bay, 10 Vladivostok, 690922, Russia, elena\_victory@list.ru

**Viолетта M. Ostapenko** master student, Department of Food Science and Technology, Far Eastern Federal University, Ajax Bay, 10 Vladivostok, 690922, Russia, vetaostapenko\_97@mail.ru

**Yasuyoshi Torii** associate professor, Department of Agricultural Bioscience, College of Bioresource Sciences, Nihon University, 1866 Kameino, Fujisawa-shi, Kanagawa 252-0880, Japan, torii.yasuyoshi@nihon-u.ac.jp

**Juro Hiromi** professor, Department of Agricultural Bioscience, College of Bioresource Sciences, Nihon University, 1866 Kameino, Fujisawa-shi, Kanagawa 252-0880, Japan, hiromi.juro@nihon-u.ac.jp

## CONTRIBUTION

**Tatyana K. Kalenik, Elena V. Dobrynina** scheme of the experiment

**Viолетта M. Ostapenko** wrote the manuscript, correct it before filing in editing and is responsible for plagiarism

**Yasuyoshi Torii, Juro Hiromi** consultation during the study

## CONFLICT OF INTEREST

The authors declare no conflict of interest.

RECEIVED 10.3.2019

ACCEPTED 5.14.2019