



ПРИМЕНЕНИЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНОГО КОМПЛЕКСА  
ИЗ ЦИАНОБАКТЕРИЙ *ARTHROSPIRA PLATENSIS*  
В ТЕХНОЛОГИИ ОБОГАЩЕННОГО ШОКОЛАДА

А. О. Алимова, студентка,  
e-mail: [alimovaanna38@gmail.com](mailto:alimovaanna38@gmail.com)

ФГБОУ ВО «Калининградский государственный  
технический университет»

С. В. Агафонова, канд. техн. наук, доцент кафедры  
пищевой биотехнологии,

e-mail: [svetlana.agafonova@klgtu.ru](mailto:svetlana.agafonova@klgtu.ru)

ФГБОУ ВО «Калининградский государственный  
технический университет»

Рассмотрена возможность обогащения белого шоколада пигментно-белковым комплексом цианобактерий *Arthrospira platensis* – фикоцианином. Определена динамика накопления биомассы спирулины при культивировании ее в лабораторных условиях на питательной среде Заррука, для чего использован спектрофотометрический метод. Получен обогащающий компонент – фикоцианин-содержащая паста (ФСП) синего цвета с содержанием белка 98,3 % в пересчете на сухое вещество. Установлено оптимальное количество вносимой ФСП – 2,1 г на 100 г готового шоколада. Приведены данные по общему химическому составу обогащенного шоколада.

**Ключевые слова:** *Arthrospira platensis*, спирулина, фикоцианин, экстракция, спектрофотометрия, шоколад

## ВВЕДЕНИЕ

Изучение нетрадиционных источников биоактивных веществ является одним из современных направлений развития биотехнологии во многих странах мира. Перспективным сырьем для их получения являются макро- и микроводоросли.

Еще в 1974 году спирулина (*Arthrospira platensis*) была объявлена лучшим продуктом питания на будущее Всемирной продовольственной конференцией Организации Объединенных Наций.

*Arthrospira platensis* (*Spirulina platensis*) – многоклеточный сине-зелёный прокариотический организм, относящийся к Цианобактериям. Спирулина содержит большое количество белка, от 55 до 70 % сухого вещества. Это полноценный белок, содержащий 18 различных аминокислот, 8 из которых являются незаменимыми, а также более 2000 различных ферментов в микродозах.

В спирулине содержится большое количество полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), 1,5–2,0 % от общего количества липидов (табл. 1). В частности, спирулина богата  $\gamma$ -линоленовой кислотой (36 % от общего количества ПНЖК) [1]. Она также отличается высоким содержанием витаминов группы В, витаминов С, А, D и Е, является богатым источником калия, содержит кальций, хром, медь, железо, магний, марганец, фосфор, селен, натрий и цинк [2].

Таблица 1 – Биохимический состав биомассы *Arthrospira platensis* [2]

Показатель	Содержание в сухом веществе биомассы, %
Белок	55-70
Углеводы	15-25
Пищевые волокна	8-10
Липиды	6-8
Зола	7-13

Спирулина содержит много пигментов, включая хлорофилл  $\alpha$  (хлорофилл  $\beta$  отсутствует), ксантофилл,  $\beta$ -каротин, эхиненон, миксоксантофилл, зеаксантин, кантаксантин, диатоксантин, 3-гидроксиэхиненон,  $\beta$ -криптоксантин, осциллаксантин, а также фикобилипротеины (ФБП) – С-фикоцианин, аллофикоцианин и фикоэритрин. Наибольшее содержание среди пигментов фикоцианина (синий пигмент) – 14 %, хлорофилла (зеленый пигмент) – 1 % и каротиноидов (желтые, оранжевые или красные пигменты) – 0,5 % [2].

Фикоцианин – это пигментно-белковый комплекс, который биологически функционирует совместно с хлорофиллом в процессе фотосинтеза. Фикоцианины имеют синий цвет, который является результатом поглощения ими красно-оранжевых длин волн света [3]. Фикоцианин входит в состав фотосинтезирующих пигментных комплексов – фикобилисом [8]. Фикобилипротеин является одним из компонентов фикобилисомы, которая представляет собой супрамолекулярный белковый комплекс, дополнительно собирающий световую энергию. Фикобилисома играет важную роль в поглощении и передаче энергии фотосинтеза. Фикобилипротеин действует как молекула-антенна в фотосинтезе водорослей, которая может поглощать световую энергию и способна эффективно доставлять световую энергию в реакционный центр, содержащий хлорофилл [4]. В составе биомассы спирулины он представлен несколькими изоформами, включая аллофикоцианин и С-фикоцианин. Последний состоит из 2 типов субъединиц, каждая из которых содержит ковалентно связанный хромофор фикоцианобилин, определяющий его биологическую активность. Фикоцианобилин обладает свойствами гасителя свободных радикалов. Благодаря этому фикоцианин является активным пищевым антиоксидантом [8].

Клиническое значение фикоцианина было зарегистрировано при заболеваниях сердца, почек, легких, неврологических и онкологических заболеваниях, воспалениях, катаракте и заболеваниях печени. Флуоресцентная природа фикоцианина обуславливает ингибирующую роль в отношении злокачественных клеток лейкемии. Фикоцианин проявляет заметное ингибирование сердечных нарушений путем изменения ферментов крови [5]. В связи с этим разработка пищевых продуктов, обогащенных фикоцианином, является актуальным направлением развития ассортимента продуктов функциональной направленности. Для таких целей подходят сахаристые кондитерские изделия, в частности, шоколад, который отличается высокой хранимостью и пользуется неизменной популярностью у потребителей.

Шоколад – это кондитерское изделие, получаемое на основе какао-продуктов и сахара, в составе которого не менее 35 % общего сухого остатка какао-продуктов, в том числе не менее 18 % масла какао и не менее 14 % сухого обезжиренного остатка какао-продуктов. По данным «РБК», в ходе исследований NeoAnalytics [6] было выяснено, что за 2016-2022 гг. предложение шоколада и какао-продуктов на российском рынке выросло на 12,1 % к уровню 2016 г., или на 183,8 тыс. т. Показатель рос за счет увеличения как импортных поставок (+89,3 тыс. т), так и отечественного производства (+46,8 тыс. т за период). Снижение предложения наблюдалось только в 2020 г. (на 7,8 % относительно предыдущего года), когда кризисные изменения в российской экономике на фоне пандемии коронавируса привели к сжатию спроса на продукцию. Однако с 2021 г. прослеживается динамика увеличения потребления шоколада в России (рис. 1).

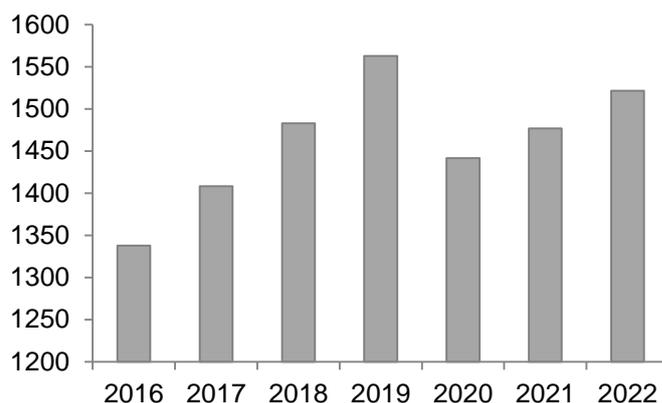


Рисунок 1 – Динамика производства шоколада и какао-продуктов в РФ в 2016-2022 гг. (тыс.т) [6]

### ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Объектами исследования явились штамм спирулины (*Arthrospira platensis*) из коллекции ФИЦ ИнБЮМ им. А. О. Ковалевского РАН (Федеральный исследовательский центр «Институт биологии Южных морей имени А. О. Ковалевского РАН» (ФИЦ ИнБЮМ) г. Севастополь), обогащающий белковый комплекс, выделенный из биомассы спирулины, и образцы белого шоколада, обогащенного им.

### ЦЕЛЬ И ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ

Целью исследования явилась разработка технологии производства белого шоколада, обогащенного биологически активным комплексом из цианобактерий *Arthrospira platensis*.

Были поставлены задачи по получению биомассы *Arthrospira platensis* при культивировании ее в лабораторном биореакторе; получению из биомассы спирулины обогащающей добавки в виде фикоцианин-содержащей пасты (ФСП) и установлению количества ее внесения в шоколад; исследованию органолептических показателей качества и химического состава готового продукта.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Спирулину выращивали в пластиковом лабораторном реакторе при температуре  $23 \pm 2$  °С на питательной среде Заррука (табл. 1) и периодическом освещении до накопления 1000 мг сухого вещества биомассы на 1 дм<sup>3</sup> культуральной жидкости.

Таблица 1 – Состав питательной среды Заррука, г / 1 дм<sup>3</sup> среды

Компонент	Количество
NaHCO <sub>3</sub>	16,8
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	1,0
NaNO <sub>3</sub>	2,5
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1,0
NaCl	1,0
Na <sub>2</sub> ЭДТА	0,08
FeSO <sub>4</sub>	0,01
CaCl <sub>2</sub>	0,04
MgSO <sub>4</sub>	0,2
Раствор микроэлементов	1,0

Содержание сухого вещества биомассы в культуральной жидкости определяли измерением оптической плотности культуральной жидкости на спектрофотометре при

560 нм. Сухую массу рассчитывали, принимая во внимание данные о том, что оптическая плотность культуры спирулины при 560 нм, равная 1, эквивалентна содержанию 699 мг сухой биомассы в 1 л суспензии [7].

Содержание влаги и сухих веществ в ФСП и готовом продукте определяли высушиванием в сушильном шкафу до постоянной массы. Содержание белка в ФСП и готовом продукте определяли методом Кьельдаля. Метод основан на минерализации навески образца при нагревании с концентрированной серной кислотой в присутствии катализаторов с образованием сульфата аммония, добавлении щелочи и дальнейшей отгонке образовавшегося аммиака. Содержание жира в готовом продукте определяли экстракцией диэтиловым эфиром по методу Сокслета, содержание золы в готовом продукте – озолением в муфельной печи при температуре 600 °С.

Для разработки рецептуры обогащенного фикоцианином шоколада в качестве базовой использовали рецептуру белого шоколада, изготовленного на основе сахарной пудры, какао-масла, сухого молока, ванилина и эмульгатора соевого лецитина.

### РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

На основании данных, полученных в результате измерения оптической плотности культуральной жидкости во время культивирования *Arthrospira platensis* и дальнейшего расчета значений в мг сухого вещества, был получен график накопления биомассы, представленный на рисунке 2.

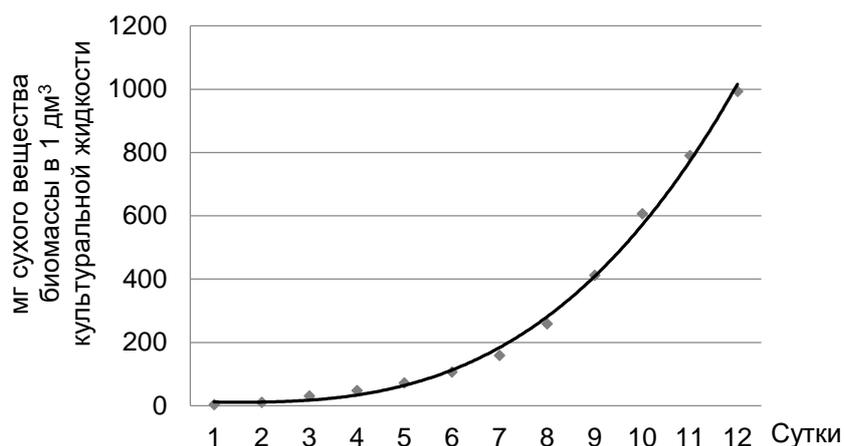


Рисунок 2 – Содержание сухого вещества биомассы *Arthrospira platensis* в 1 дм<sup>3</sup> культуральной жидкости

Для получения ФСП биомассу спирулины отделяли от питательной среды, промывали и высушивали лиофильно. Дезинтеграцию клеток проводили при измельчении высушенной биомассы на лабораторной мельнице. Экстракцию пигментного комплекса осуществляли водой, после чего отделяли клеточные стенки центрифугированием. Из полученного раствора осаждали белковый комплекс в изоэлектрической точке (рН 4,0) [8] и отделяли его от раствора центрифугированием при 4000 об/мин.

После осаждения и последующего центрифугирования была получена ФСП с содержанием сухих веществ 16,8 %. Массовая доля белка в ФСП составила 98,3 % в пересчете на сухое вещество. Выход ФСП составил 62 % от массы сухой спирулины. Внешний вид ФСП представлен на рисунке 3.



Рисунок 3 – Внешний вид ФСП

Опытным путем было установлено, что оптимальное количество вносимой ФСП составляет 2,1 г на 100 г готового продукта. При повышении концентрации ФСП шоколад приобретает не свойственную ему консистенцию, а процесс темперирования шоколадной массы затрудняется.

На основании проведенных исследований была разработана технологическая схема производства белого шоколада, обогащённого биологически активным комплексом – ФСП – из цианобактерий *Arthrospira platensis*, представленная на рисунке 4.

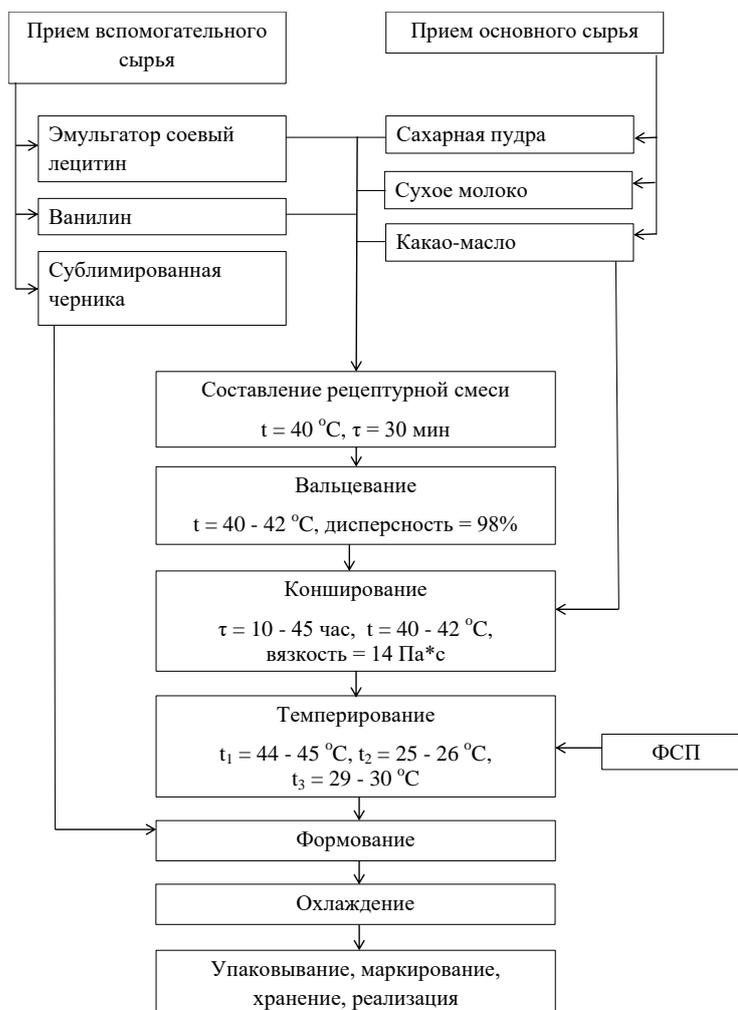


Рисунок 4 – Технологическая схема производства белого шоколада, обогащённого биологически активным комплексом из цианобактерий *Arthrospira platensis*

Органолептические показатели готового продукта представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Органолептические показатели белого шоколада, обогащённого биологически активным комплексом из цианобактерий *Arthrospira platensis*

Наименование показателя	Характеристика
Вкус и запах	Свойственные для белого шоколада, без постороннего запаха
Внешний вид	Лицевая поверхность ровная или волнистая, с рисунком или без него, блестящая, без поседения
Цвет	Однородный. От светло-зеленого до светло-голубого
Форма	Соответствующая рецептуре, используемому оборудованию, без деформации
Консистенция	Твердая
Структура	Однородная

Органолептическая оценка готового продукта показала, что обогащенный шоколад не имеет специфических привкуса и запаха, свойственных спирулине. Шоколад обладает блестящей ровной поверхностью и твердой консистенцией, без поседения.

Данные по химическому составу обогащенного шоколада представлены в таблице 3.

Таблица 3 – Химический состав белого шоколада, обогащённого биологически активным комплексом из цианобактерий *Arthrospira platensis*

Показатель	Содержание, %
Белок	8,25
Жир	34,55
Углеводы*	53,75
Влага	3,2
Зола	0,25

\*Установлено расчетным путем.

Употребление 15 г шоколада полностью удовлетворяет ежедневную адекватную потребность взрослого человека в фикоцианине.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Исследовано накопление биомассы спирулины при ее культивировании в лабораторных условиях на питательной среде Заррука.

Разработана технологическая схема получения биологически активного комплекса из спирулины в виде фикоцианин-содержащей пасты, основанная на дезинтеграции клеток цианобактерий, отделении клеточных стенок и получении раствора фикоцианина с последующим его изоэлектрическим осаждением.

Было выявлено, что с увеличением дозировки выше 2,1 % ФСП оказывает негативное влияние на консистенцию готового шоколада.

Использование фикоцианин-содержащей пасты, выделенной из *Arthrospira platensis*, перспективно для создания функциональных и обогащенных продуктов благодаря высокому содержанию белка, а также положительному действию, которое фикоцианин оказывает на организм человека.

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. A Review on culture, production and use of spirulina as food for humans and feeds for domestic animals and fish. // Habib MAB, Parvin M, Huntington TCH, Hasan MR. - Food and Agriculture Organization of The United Nations. Retrieved November 20. – 2008. – Circular 1034.

2. Мухитдинова, С. З. Биохимический состав *Spirulina platensis* и ее применение в медицине./ С. З. Мухитдинова, С. Т. Топал // Материалы VIII Международной студенческой научной конференции «Студенческий научный форум». Режим доступа: <https://scienceforum.ru/2016/article/2016027359>" (дата обращения:27.04.2023).
3. Michael Zeece, Food colorants, in Introduction to the Chemistry of Food, – Elsevier – 2020. 1<sup>st</sup> Edition – P. 34-37
4. Liangqian Jiang A Potential Drug for Cancer Treatment/ Liangqian Jiang, Yujuan Wang, Qifeng Yin// – National Library of Medicine –2017 Sep
5. Kannaujiya VK Phycobiliproteins and Their Commercial Significance in Cyanobacteria/ Kannaujiya VK, Kumar D, Pathak J, Sinha RP. – Elsevier. – 2019. – P. 207–216.
6. BUSINESSSTAT Анализ рынка шоколада и какао-продуктов в России в 2016-2020 гг., прогноз на 2021-2025 гг. Структура розничной торговли. Оценка влияния коронавируса [Электронный ресурс]/ BUSINESSSTAT – Москва, 2021. – Режим доступа: [https://businessstat.ru/images/demo/chocolate\\_and\\_cocoa\\_products\\_demo\\_russia\\_businessstat.pdf](https://businessstat.ru/images/demo/chocolate_and_cocoa_products_demo_russia_businessstat.pdf)
7. Эфективність повторного використання модифікованої питатальної середо Заррука для культивування спіруліни (*Spirulina platensis*) / Е. В. Вязов [и др.] // Вес. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2018. – Т. 63, № 4. – С. 426–436.
8. Исследование пигментов сине-зеленой водоросли спирулины платенсис для практического использования в технологиях кондитерских изделий // Т. К. Каленик, Е. В. Добрынина, В. М. Остапенко [и др.] // Вестник ВГУИТ. – 2019. – Т. 81, № 2. – С. 170–176.

## THE USE OF A BIOLOGICALLY ACTIVE COMPLEX OF CYANOBACTERIA ARTHROSPIRA PLATENSIS IN THE TECHNOLOGY OF ENRICHED CHOCOLATE

A. O. Alimova, student  
e-mail: [alimovaanna38@gmail.com](mailto:alimovaanna38@gmail.com)  
Kaliningrad State Technical University

S. V. Agafonova, PhD in Engineering,  
Associate Professor of the Department of Food Biotechnology  
e-mail: [svetlana.agafonova@klgtu.ru](mailto:svetlana.agafonova@klgtu.ru)  
Kaliningrad State Technical University

The article considers the possibility of enriching white chocolate with the pigment-protein complex of cyanobacteria *Arthrospira platensis*. The dynamics of the accumulation of spirulina biomass during its cultivation in laboratory conditions on the Zarrouk nutrient medium has been determined by the spectrophotometric method. The enriching component – phycocyanin-containing paste (FSP) of blue color with a protein content of 98.3% in terms of dry matter has been obtained. The optimal amount of introduced FSP is 2.1 g per 100 g of finished chocolate. The data is presented on the total chemical composition of the enriched chocolate.

**Keywords:** *Arthrospira platensis*, *spirulina*, *phycocyanin*, *extraction*, *spectrophotometry*, *chocolate*