



## Технология переработки водных биоресурсов

# Криопротекторы в холодильных технологиях продуктов питания

В.Д. Богданов, А.В. Панкина

Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет (ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз»), ул. Луговая, д.52 Б, г. Владивосток, 690087  
E-mail: bogdanovvd@dgtru.ru

**Цель работы:** систематизация тенденций развития научных изысканий по созданию эффективных криорезистентных систем для холодильной технологии продуктов питания, в том числе из водных биологических ресурсов.

**Результаты:** проведённые аналитические исследования показали широкое применение криопротекторов в криобиологии, аквакультуре, производстве разнообразных продуктов питания и др. отраслях. В пищевой промышленности целесообразно в качестве криопротекторов использовать натуральные материалы, не обладающие токсичностью и являющиеся компонентами продуктов питания.

**Новизна работы:** перспективным направлением является применение в качестве криопротекторов в холодильных технологиях продуктов из гидробионтов сухих концентратов морепродуктов, получаемых по криотехнологии. Они имеют высокие функциональные свойства и могут использоваться как отдельно взятые препараты, так и в составе композиционных систем.

**Практическая значимость:** полученные результаты используются специалистами при разработке новых технологий мороженых рыбных фаршевых продуктов, которые вследствие использования криопротекторов имеют более высокие качественные показатели по сравнению с контрольными образцами.

**Используемые методы:** аналитическая оценка современных отечественных и зарубежных научных работ в области криотехнологии с использованием криопротекторов, систематизация научных данных и обоснование направлений по созданию криозащитных композиций для холодильной технологии продуктов питания.

**Ключевые слова:** криоконсервирование, кристаллообразование, витрификация, денатурация, обратимость криообработки, композиционные криопротекторы.

## Cryoprotectors in food refrigeration technologies

Valery D. Bogdanov, Anna V. Pankina

Far Eastern State Technical Fisheries University («Dal'rybvтуз»), 52b, st. Lugovaya, Vladivostok, 690087, Russia

**The purpose of the work:** systematization of trends in the development of scientific research on the creation of effective cryoresistant systems for the refrigeration technology of food, including from aquatic biological resources.

**Results:** analytical studies have shown the widespread use of cryoprotectors in cryobiology, aquaculture, the production of various food products and other industries. In the food industry, it is advisable to use natural materials that do not have toxicity and are components of food products as cryoprotectors.

**Novelty of the work:** a promising direction is the use of products from hydrobionts of dry seafood concentrates obtained by cryotechnology as cryoprotectors in refrigeration technologies. They have high functional properties and can be used both as separate preparations and as part of composite systems.

**Practical significance:** the results obtained are used by specialists in the development of new technologies for frozen minced fish products, which, due to the use of cryoprotectors, have higher quality indicators compared to control samples.

**Methods used:** Analytical evaluation of modern domestic and foreign scientific works in the field of cryotechnology using cryoprotectors, systematization of scientific data and justification of directions for the creation of cryoprotective compositions for food refrigeration technology.

**Keywords:** cryopreservation, crystal formation, vitrification, denaturation, reversibility of cryoprocessing, composite cryoprotectors.

### ВВЕДЕНИЕ

Реализация основной задачи крионики, заключающейся в минимизации негативных последствий применения низких температур, невозможна без использования криопротекторов — веществ, предотвращающих или замедляющих рост кристаллов льда при

замораживании. Анализ зарубежной и отечественной литературы свидетельствует о научных достижениях в области криоконсервирования биологических объектов с высокой степенью их функциональной обратимости. Научные знания физических и химических процессов низкотемпературной обработки сырья

и его последующего хранения, в настоящее время, находят практическое применение в криобиологии, биомедицине, косметологии, производстве фармацевтических и биофармацевтических препаратов. В качестве криопротекторов используются сорбит, глицерин, пропиленгликоль, маннит, сахароза, раффиноза, диметилсульфоксид и др. Имеются отдельные научные работы по использованию криопротекторов в производстве продуктов питания из мяса, молока, зерновых, овощей и фруктов. Что касается использования криопротекторов в решении технологических задач в области переработки гидробионтов, то научные исследования в этом направлении весьма ограничены.

Вместе с тем, холодильная обработка – основной способ консервирования биологического сырья водного происхождения. В процессе её осуществления вследствие фазового перехода воды в лёд оказывается существенное физико-химическое воздействие на белковые структуры замораживаемого сырья. Происходят физические и химические изменения белков сырья, причём, чем меньше их глубина, тем выше пищевая ценность продукта и его технологический выход. Поэтому сохранение нативных свойств белков, биологической активности отдельных компонентов в процессе технологического воздействия на сырьё, важная научно-производственная задача, решение которой обеспечит высокое качество и объёмы выпускаемой мороженой рыбной продукции.

Цель работы – систематизация тенденций развития научных изысканий по созданию эффективных криорезистентных систем для холодильной технологии продуктов питания, в том числе из водных биологических ресурсов.

### **Теоретические предпосылки применения криопротекторов**

Холодильная технология является основным способом консервирования водных биологических ресурсов, добываемых в рыбной отрасли Российской Федерации. Основными процессами холодильной технологии являются охлаждение, замораживание, холодильное хранение и размораживание. На каждом из этих процессов возможны качественные и количественные потери, связанные с нарушением водно-белкового баланса, приводящего к денатурационным изменениям в белковых макроструктурах тканей. Биологическим принципом консервирования холодом является анабиоз. Условия анабиоза в консервированном сырье создаются вследствие воздействия на него двух физических факторов: низкой температуры и изменениями осмотических давлений в структурных элементах матрикса продукта. При снижении темпе-

ратуры ниже криоскопической происходит фазовый переход воды в лёд, приводящий к тому, что постепенно жидкая среда в продукте исчезает и наступает состояние так называемой «физиологической сухости», когда основная часть воды превращается в лёд и становится невозможным нормальное протекание физико-химических, биохимических и микробиологических процессов в тканях обрабатываемого объекта. Таким образом, льдообразование – это основное физическое изменение в сырье, обуславливающее стабильность его свойств в процессе замораживания и холодильного хранения. Очень важно, чтобы обратимость процесса замораживания сырья водного происхождения, впрочем, как и других объектов, была высокой, что означает идентичность свойств материала до и после криообработки.

На практике исследование теплофизических процессов часто осуществляется по термограммам, показывающим снижение температуры во времени в тканях сырья водного происхождения [Богданов и др., 2016; Харенко и др., 2019] и других биологических объектов (кривая Ринффрета) [Блынская и др., 2018; Харенко и др., 2019].

При контакте объекта с охлаждающей средой его температура снижается от начальной до криоскопической и ниже, до значений, соответствующих состоянию переохлаждённой жидкости, когда происходит нуклеация (зарождение) первых ядер (зародышей) кристаллов льда. Этот теплофизический процесс идёт с выделением скрытой теплоты льдообразования, поэтому температура охлаждаемого объекта несколько повышается. В пищевых продуктах имеет место гетерогенный характер нуклеации, при этом центрами льдообразования являются поверхности клеток и межклеточные пространства вследствие наличия в этих местах взвешенных частиц, пузырьков воздуха, коагулята, способствующих появлению ядер кристаллов льда. Изменяется осмотическое давление, и вода начинает диффундировать из клеток в межклеточное пространство, где формируются кристаллы льда различной формы и размеров. Теряется связь воды с белками, что отрицательно сказывается на обратимости процесса замораживания. С точки зрения сохранения нативных свойств белков важно чтобы вода оставалась в клетках и кристаллизовалась в них виде мелких кристаллов, не травмирующих клеточные оболочки. Тип, размер и распределение кристаллов образующегося льда зависят от скорости замораживания, которая определяется интенсивностью отвода тепла охлаждающей средой от обрабатываемого органического материала. При медленном теплоотводе образуются крупные кристаллы в межклеточных

пространствах, быстром – непосредственно в самих клетках, причём, мелких размеров и в большом количестве. Таким образом, регулирование процесса кристаллизации внеклеточной и внутриклеточной воды даёт возможность влиять на обратимость процесса низкотемпературной обработки органического сырья и формировать качество и выход производимой из него продукции.

На практике реализация такого подхода осуществляется, в основном, двумя способами: первый – применение современных технических средств для осуществления процесса криообработки органических материалов; второй – использование при низкотемпературной обработке специальных добавок, повышающих криорезистентность клеток, которые получили название криопротекторов.

В первом случае применяют интенсивные способы замораживания, основанные на использовании сжиженных газов: двуокиси углерода, озона, гелия, азота и др. Высокий эффект обратимости процесса замораживания даёт криообработка при сверхвысоких скоростях теплоотвода, например, в жидком азоте при температуре минус 196 °С. При скорости замораживания более 10 °С/сек фазовый переход воды в лёд может развиваться в соответствии с явлением витрификации, представляющим собой отвердевание жидкости с образованием стекловидного или аморфного состояния твёрдой фазы [Чистякова, Кузьмина, 2018]. Такое стеклование жидкой фазы существенно отличается от обычного образования кристаллов льда различной формы и размеров. При витрификации не происходит глубоких изменений в межмолекулярных взаимодействиях воды, белков и других компонентов, составляющих дисперсную систему замораживаемого материала. Стеклообразная форма соответствует состоянию переохлаждённой жидкости, которая из-за высокой вязкости приобретает свойственную твёрдым телам устойчивую форму. Стеклование в максимальной степени сохраняет биологические структуры замораживаемого объекта вследствие отсутствия миграционных перемещений воды и повреждающего действия кристаллов льда.

При обычных скоростях замораживания витрификацию можно получить только при введении в систему криопротекторов (отдельно взятых или в смеси) в соответствующих концентрациях. При введении в биоматериал высоких концентраций криопротекторов, повышающих вязкость воды, уменьшаются скорость образования зародышей кристаллов и скорость роста их линейных размеров, что в целом облегчает процесс стеклования воды и делает возможным процесс его осуществления при более высоких температурах.

При замораживании рост концентрации незамерзшего жидкого раствора продолжается до тех пор, пока раствор не достигнет вязкости, при которой формируется аморфный витрифицированный лёд. То есть в системе имеются области как кристаллического, так и витрифицированного (аморфного) льда [Андреев и др., 2017].

При размораживании, особенно в интервале температур, близких к криоскопическим, метастабильная стекловидная форма переходит в кристаллическую, которая обладает большей термодинамической стабильностью. Для устранения процесса рекристаллизации льда необходимо применять высокие скорости девитрификации замороженных биообъектов.

Интенсивные способы замораживания применяются, в основном, в криомедицине и в криобиологии. В производстве продуктов питания используются технологии и холодильное оборудование, обеспечивающие невысокую скорость замораживания. Поэтому для обеспечения высокой степени обратимости процесса холодильной обработки биологического сырья необходимо применять криопротекторы как известные, традиционные, так и новые, в том числе композиционные, поиск и разработка которых являются актуальной научной и производственной задачей для специалистов в области производства продуктов питания.

Криопротектор представляет собой вещество или смесь компонентов, защищающих биологическое сырьё от негативных изменений при его холодильной обработке (замораживание, хранение, размораживание) и обеспечивающих высокую степень обратимости процессов криоконсервирования сырья. В зависимости от класса химических соединений в качестве криопротекторов выступают следующие группы веществ:

- спирты (глицерин, сорбит, этиленгликоль и т. д.);
- амиды (диметилацетамид, мочевины и др.);
- оксиды (диметилсульфоксид (ДМСО) и др.);
- углеводы (сахароза, трегалоза, лактоза и др.);
- натуральные биополимеры (белки, полисахариды и др.);
- искусственные полимеры (полиэтиленгликоль и др.);
- неорганические соли (цитрат натрия, фосфаты, хлорид кальция и др.) [Костяев и др., 2016].

Криопротекторы различаются по способности проникать через плазматическую мембрану клетки. Выделяют эндоцеллюлярные криопротекторы, проникающие в клетки. Они за счёт своих полярных молекул уменьшают количество свободной воды, способствуют образованию мелких кристаллов льда,

способны взаимодействовать с полярной областью липидов, ингибировать денатурацию белков. Вторая группа криопротекторов — экзоцеллюлярные, не проникающие в клетки. Они связывают воду, уменьшают осмотический шок, способствуют процессу восстановления объектов после криообработки. Третья группа — криопротекторы смешанного действия, проявляющие свойства как проникающих, так и непроникающих криопротекторов.

Замечено, что проникающие криопротекторы (глицерин, этиленгликоль, ДМСО и др. имеют молекулярную массу не более 101. Непроникающие (углеводы и др.) имеют молекулярную массу более 101. Криопротекторы смешанного действия имеют молекулярную массу более 400 и выше. Причём, высокую криорезистентность проявляют как низкомолекулярные криопротекторы (глицерин с молекулярной массой 92,1), так и высокомолекулярные (полиэтиленгликоль с молекулярной массой 1500).

Механизм действия криопротекторов в настоящее время полностью не изучен. Имеется ряд работ по исследованию широко применяемых криопротекторов углеводов и многоатомных спиртов [Андреев и др., 2017; Конов, 2016; Полежаева, 2013]. Как было сказано выше, кристаллизация внеклеточной и внутриклеточной воды — основной повреждающий фактор влияния низких температур на белковые структуры замораживаемого материала. Водные растворы дисахаридов препятствуют кристаллизации воды, но их концентрация в клетках недостаточна для стеклования всего её объёма. Но даже при низких концентрациях дисахариды проявляют криозащитные свойства, что объясняется их специфическим взаимодействием с клеточной мембраной. Общепринятой является гипотеза вытеснения воды, объясняющая криозащитное действие непосредственным взаимодействием молекул дисахаридов и клеточных мембран с образованием большого количества водородных связей. Молекулы воды вытесняются с клеточной мембраны и заменяются молекулами дисахаридов. В работе [Андреев и др., 2017] экспериментально подтверждено осаждение молекул сахарозы и трегалозы на поверхности клеточных мембран, что подтверждает гипотезу вытеснения воды. Также установлена высокая концентрация дисахаридов внутри клеток, что говорит о проникающих свойствах дисахаридов. Трёхатомный спирт глицерин эффективен внутри клеточной жидкости, что подтверждает его проникающую способность за счёт диффузии через клеточную мембрану. В тоже время известно, что проницаемость клеточных мембран при 0 °С у большинства типов клеток снижается, и в этом случае глицерин действует как экзо-

целлюлярный криопротектор, то есть в межклеточной среде [Водопьянова, Жегунов, 2007]. Его криорезистентная активность связана с препятствием процессу кристаллизации межклеточной и внутриклеточной жидкости. Водно-глицериновые растворы при определённой концентрации не кристаллизуются, а витрифицируют, что существенно снижает повреждающее действие фазового перехода воды на биологические структуры, прежде всего, белки, при криообработке материала. Отмечается, что глицерин способен снижать температуру фазового перехода. В водно-глицериновых растворах липидная мембрана способна оставаться в жидкокристаллической фазе даже при низких температурах.

Криопротекторы в биообъектах способны создавать прочные связи с молекулами воды как вне, так и внутри клеток, снижать концентрацию солей, сохраняя тем самым белковые структуры, образовывать связи со структурными компонентами клеток, предохраняя их от разрушения кристаллами льда [Полежаева, 2013]. Хорошо выраженные криозащитные свойства проявляют глицерин, ДМСО, полиэтиленоксид (ПЭО-400), диметилацетомид, 1,2-пропандиол. Их недостаток — наличие вкуса и проявление токсичности. После размораживания биообъект необходимо отмывать, что не всегда возможно.

Положительный эффект дают антифризные протеины, гликопротеины, антиоксиданты. Начинают создаваться многокомпонентные криозащитные смеси, содержащие, помимо проникающих и непроникающих веществ, биологически активные вещества, измельчённые до наноразмеров: диоксид кремния, гидроксипатит, оксид алюминия и др. Они повышают теплопроводность, увеличивают вязкость, снижают криоскопическую температуру [Кузьмина и др., 2020].

Специалисты видят перспективность использования в качестве криопротекторов природных (натуральных) веществ как в изолированном виде, так и в составе технологических вспомогательных средств (ферментов, пищевых добавок, микроорганизмов). Предлагается использовать в качестве криопротекторов экзогенные липиды и антиоксиданты [Борода, 2010]. Липиды, выделенные из гидробионтов с низкими температурами фазового перехода, проявляют хорошо выраженные криозащитные свойства. Объясняется это особым составом жирных кислот морских гидробионтов, в которых преобладают ненасыщенные жирные кислоты. Установлено, что экзогенные липидные экстракты способствуют более плавному течению процесса кристаллизации, формированию кристаллов льда с более сглаженными границами и меньших размеров.

Отмечается, что криозащитные вещества не только уменьшают размеры кристаллов льда, регулируют их количество, но также сглаживают отрицательное воздействие эффекта обезвоживания на токсичность материала, изменения pH и другие факторы [Попов, 2008].

Обосновано использование в качестве криопротекторов натуральных полисахаридов: камеди рожкового дерева, камеди гуар, шрота тыквы, муки из пшеничного зародыша и зерновой добавки при замораживании и хранении мясных полуфабрикатов [Глушков, 2016]. Формованные полуфабрикаты замораживали при температуре минус 30 °С и хранили при минус 18 °С в течение 3–6 месяцев. Установлено, что исследованные полисахариды обладают криорезистентным действием, прежде всего, по отношению к белкам, так как они сохраняли более высокую растворимость после замораживания и холодильного хранения. Также в опытных образцах полуфабрикатов был более низкий уровень содержания аминного азота, в 2 раза по – сравнению с контролем. Опытные образцы обладали лучшими функционально-технологическими свойствами. Их водоудерживающая способность (ВУС) превышала ВУС контроля в 2,0–2,5 раза.

Считается, что глицерин меньше всего повреждает клетки. Он проникает внутрь клетки, связывает воду и предотвращает дегидратацию цитоплазмы, способствует образованию аморфной фазы (стеклованию).

При выборе криопротекторов оценивают такие параметры, как температура стеклования, вязкость, минимальная концентрация необходимая для витрификации, токсичность. Перспективное направление – комбинирование проникающих и непроникающих криопротекторов. Проникающие – замедляют рост и образование кристаллов льда внутри клеток. Непроникающие выступают в роли блокаторов льда, препятствуют образованию центров кристаллизации в межклеточном пространстве, уменьшая диффузию воды через мембрану, снижая тем самым осмотический шок [Симоненко и др., 2018].

Интерес представляют комбинированные криопротекторы, включающие эндоцеллюлярные и экзоцеллюлярные криопротекторы, соли органических и неорганических кислот, углеводы, белки, биологически активные вещества, антиоксиданты [Timohina, Nanchaou, 2021]. Комбинированные криопротекторы хорошо стабилизируют фракции воды, способствуют формированию тонкокристаллической структуры льда, снижают эффект гиперконцентрации солей. Их преимуществом является вариабельность составов.

Степень обратимости процесса замораживания также во многом зависит не только от функциональ-

ных свойств криопротекторов, но и от технологических параметров процессов холодильной обработки: охлаждения, замораживания, холодильного хранения, размораживания. Эти параметры определяют сложные теплофизические процессы, ведущие к глубоким физико-химическим, биохимическим, микробиологическим, структурным изменениям обрабатываемого материала. Это параметры, определяющие скорость тепловых процессов, температуры: криоскопические, эвтектические, замораживания. Большую роль на протекание теплофизических процессов оказывают свойства материалов (влажность, химический состав, степень свежести), структура материала, прежде всего, дисперсность и т. д.

Перспективным является метод замораживания биологических объектов, основанный на процессе витрификации. Это сверхбыстрое охлаждение и замораживание в присутствии криопротекторов. Его особенность – отсутствие кристаллизации с выделением теплоты льдообразования и увеличения объёма, создающего критические напряжения в клетках, приводящие к их механическим повреждениям. Жидкость образует монокристалл. Для витрификации необходимы, кроме сверхбыстрого снижения температуры (в жидком азоте и тонком слое), очень высокие концентрации криопротекторов в замораживаемом материале. Температура стеклования большинства используемых в криобиологии криопротекторов находится в интервале минус 80 – минус 178 °С [Красильникова, 2019].

Для сохранения структурно-механических свойств и химического состава криолабильных плодов (хурма, киви, фейхоа) применяют обработку перед замораживанием в электромагнитном поле низкой частоты (ЭМП НЧ). Замораживание осуществляют в сжиженных газах диоксида углерода и азота, в качестве криопротектора используют пектин [Касьянов, Связин, 2013]. Установлено что при обработке пектином и ЭМП НЧ структура криолабильных плодов после замораживания и оттаивания в меньшей степени подвержена отрицательным изменениям. При этом также лучше сохраняются и химические показатели плодов. Отмечается, что замороженные в диоксиде углерода продукты имеют лучшие реологические показатели по сравнению с замороженными в жидком азоте.

Лучшим способом размораживания тестовых хлебобулочных полуфабрикатов, содержащих в качестве протектора пектин, является размораживание от минус 18 °С в электромагнитном поле сверхвысокой частоты. В этом случае последующий процесс расстойки тестовых заготовок сокращается в 2,5 раза по сравнению с размораживанием в условиях цеха [Кейнз, Шледевиц, 2015].

Требования к криопротекторам до настоящего времени уточняются, расширяются, конкретизируются. Тем не менее, можно сформулировать общепринятые признаки криопротекторов:

1. Проявлять гидрофильность, иметь функциональные группы, взаимодействующие с молекулами воды, растворяться в воде, связывать её.
2. Уменьшать количество вымораживаемой воды, способствовать нуклеации вне- и внутриклеточной воды, образованию мелкокристаллической структуры льда.
3. Устранять или уменьшать криповреждения клеток тканей замораживаемого биологического объекта.
4. Не проявлять токсичности.
5. Не накапливаться в тканях замораживаемого объекта, выводиться при размораживании.
6. Иметь нейтральный запах и вкус, не изменять цвета замораживаемого объекта.
7. Проявлять хорошую способность к витрификации, повышению вязкости водной фазы, снижению температуры её кристаллизации.

### **Использование криопротекторов в производстве продуктов питания**

Установлен положительный эффект влияния криопротекторных добавок на качество мороженых мясных полуфабрикатов [Холодов, 2011; Семенова и др., 2009; Семенова и др., 2010]. Исследованы криозащитные свойства как отдельно взятых проникающих криопротекторов (смеси пирогосфата и трифосфата натрия, цитрата натрия, глицерина, сорбита) и непроникающих (трегалозы, сахарозы), так и их различных композиций. Подтверждено, что криопротекторы снижают криоскопическую температуру и активность воды мышечной ткани мяса [Семенова и др., 2009].

По результатам экспериментальных исследований предложены рецептуры криозащитных композиций «Криопротект-1» и «Криопротект-2», в состав которых входят поваренная соль, фосфат, цитрат натрия, сорбит, трегалоза. Криопротекторы как отдельно взятые, так и композиции вносят в количестве 10% к массе мясного сырья в виде растворов. Для их приготовления сначала в требуемом количестве воды растворяют натрий хлор, цитрат натрия, фосфат, затем добавляют криопротекторы и перемешивают до их полного растворения. Полученный поликомпонентный раствор после охлаждения до температуры 4 °С инъецируют в мясо. После этого куски мяса массируют в течение часа и выдерживают в посоле в течение суток при температуре от 2 °С до 4 °С. Затем мясо подвергают замораживанию и холодильному хранению при

температуре не выше минус 18 °С [Холодов, 2011]. Исследованиями микроструктуры мяса установлено, что криопротекторы способствуют образованию мелкокристаллической структуры льда и сохранению целостности мышечных волокон.

Использование криопротекторных добавок снижает денатурационные изменения в белковых макромолекулах мышечной ткани мяса в процессе её холодильной обработки: замораживания, хранения, размораживания. Так потери при размораживании уменьшились в 3,7 раза, при термической обработке – на 15–20%, улучшились показатели цвета мяса и реологических свойств.

Так как исследованные криопротекторы снижают криоскопическую температуру тканевого сока мяса, то это позволяет снизить температуру хранения охлаждённых мясных полуфабрикатов до минус 5 °С и увеличить сроки их годности до 21 суток без существенного снижения качества продукта.

Обоснована возможность замены фосфатов на трегалозу в производстве варёных колбасных изделий [Насонова и др., 2011].

Разработана технология мясных рубленых полуфабрикатов с кальцийсодержащими композициями животных белков [Эсаулов, 2009]. Исследовалось влияние добавок растворимых солей кальция (лактата, цитрата и хлорида кальция) на функционально-технологические свойства и текстуру мясных фаршей. Лучшим по водосвязывающей и водоудерживающей способности является лактат кальция, который рекомендуется вносить в количестве 0,9% к массе фарша.

Композиции белков являются бинарными смесями концентрата сывороточных белков, казеината кальция пищевого, концентрата плазмы свиной крови, коллагена, изолята соевого белка. Бинарное комбинирование соответствующих белков даёт повышение реологических характеристик смешанных гелей за счёт эффекта синергизма, что свидетельствует об улучшении структурных свойств фаршевых систем. Перед использованием композиция белковых препаратов сначала гидратируется в водном растворе лактата кальция (гидромодуль 3) и гомогенизируется. Полученная дисперсная гелеобразная система направляется на созревание, которое осуществляется при температуре 5 °С в течение 1 часа. Затем готовая белковая кальцийсодержащая композиция направляется на технологическую операцию «приготовление фарша».

В последнее время холодильная обработка широко применяется в производстве мороженых полуфабрикатов хлебобулочных изделий. Очень важно в процессе холодильного консервирования уменьшить денатурацию белков, сохранить биохимическую

активность хлебопекарных дрожжей, обеспечивающую соответствующие качественные показатели готовым хлебобулочным изделиям.

Для достижения этой цели рекомендуется использовать криопротекторы различных типов. В качестве криопротекторов используются крахмальная патока и сахароза в количестве по 3,0% к массе муки. Они проявляют гидрофильные свойства, снижают количество свободной и слабосвязанной воды в хлебобулочных изделиях [Кудрявцев, 2010]. Для снижения негативного влияния низких температур и кристаллообразования на жизнедеятельность дрожжевых клеток в качестве гидрофобных криопротекторов используют растительное масло – 3,0% и энзимомодифицированный лецитин марки «Солек-К-ЕМЛ» – 1,5% от массы муки.

Исследовалось влияние криопротекторов пектина, фруктозы и сорбита в количестве 1,5% к массе муки на упруго-эластичные свойства теста, активность дрожжей, органолептические показатели пшеничного хлеба при получении его из замороженных полуфабрикатов [Кенийз, Сокол, 2011]. Результаты исследований показали, что лучшим среди исследованных криозащитных добавок оказался пектин. Его использование интенсифицирует газообразование и газодерживание в тесте, регулирует водный баланс в процессе фазового перехода воды в лёд, что в целом улучшает качество готового пшеничного хлеба.

В продолжение этих исследований методом ядерно-магнитного резонанса установлено, что пектин быстрее и лучше связывает воду, чем фруктоза и сорбит. Перевод воды в связанное состояние способствует образованию мелкокристаллической структуры льда и, тем самым, сохранению жизнеспособности дрожжей [Кенийз, Сокол, 2014]. Стоит отметить, что в процессе хранения, даже не продолжительного, вследствие перекристаллизации, иначе называемого «созревание Оствальда», количество мелких кристаллов уменьшается, а крупных увеличивается. Вызвано это тем, что система стремится к равновесию, а крупные кристаллы имеют большую термодинамическую устойчивость из-за уменьшенной поверхностной энергии. Чем ниже и стабильнее температура хранения замороженного продукта, тем в меньшей степени развивается созревание Оствальда, тем выше обратимость процесса криоконсервирования [Kenijz et al., 2019].

В молочной отрасли криоконсервирование применяется часто при хранении молочнокислых бактерий, палочек дрожжей. Для криозамораживания и хранения при температуре минус 195 °С молочнокислых бактерий и бифидобактерий экспериментально обо-

снована криопротекторная среда (КС – 20) на основе фосфатного буфера с добавлением, %: глицерина – 20; лактозы – 20; лимоннокислого натрия – 4; желатина – 5. Обеспечивает выживаемость бактериальных клеток после замораживания/оттаивания на уровне 87–94% [Кузьмина, 2010].

Установлены высокие криопротекторные свойства белкового гидролизата пшеничной муки. Его использование в качестве основы для культивирования бифидобактерий с последующей лиофильной сушкой субстрата позволяет получить высокий титр жизнеспособных клеток  $3,0 \cdot 10^9$  КОЕ/мл и выживаемость бифидобактерий не менее 90%. Используются для получения молочных функциональных продуктов [Сальникова и др., 2018].

Обосновано применение криопротекторов для криоконсервирования симбиотической закваски для сквашивания молока. Использование в качестве криозащитой добавки глицерина в количестве 5,0% даёт при замораживании закваски высокую степень выживаемости микроорганизмов. Глицерин обладает смешанным эффектом действия – эндо- и экзоцеллюлярным [Занданова, 2021].

Исследовалось введение криопротекторов непроницающего (сахароза, лактоза, трегалоза) и проницающего (ДМСО) действия, а также режимов замораживания на жизнеспособность дрожжевых клеток, иммобилизованных в альгинатном геле. Включение криопротекторов повышает жизнеспособность дрожжевых клеток после замораживания и оттаивания. Наибольший эффект даёт применение комбинации ДМСО – 5,0–10,0% и одного из дисахаридов – 20,0–25,0%. Во всех экспериментах медленное охлаждение обеспечивало значительно более высокую жизнеспособность по сравнению с быстрым погружением образцов в жидкий азот [Vysekantsev et al., 2021].

В отечественной рыбохозяйственной отрасли криопротекторы пока что не нашли широкого применения в холодильных технологиях сырья водного происхождения. Из практики известен только один применяемый технологический способ криозащиты дисперсных рыбных фаршевых систем, заключающийся в добавлении в фарш перед замораживанием сорбита или сахара в количестве 3,0% и триполифосфата натрия в количестве 0,2–0,3%.

Вместе с тем, как показывает анализ иностранных литературных источников, ведутся исследования по изучению свойств и обоснованию композиций криопротекторных систем для криоконсервирования рыбного сырья и различных продуктов с высокими качественными показателями. Исследовалось влияние гидролизатов (ферментатов) рыбных (хека) бел-

ков в качестве криопротекторов на свойства фарша из трески при его холодильной обработке, заключающейся в его замораживании, холодильном хранении и оттаивании. Добавление гидролизата в количестве 4,0% и более сводит к минимуму потери воды при размораживании и варке, при этом максимально увеличивая количество экстрагируемого солью белка из рыбного фарша после его замораживания и оттаивания. Причём, действие гидролизата более эффективно, чем смесь сахарозы и сорбита в количестве 8,0%, используемая в параллельном опыте. Сенсорно установлено, что добавление 8,0% исследуемого гидролизата в формованные изделия из фарша усиливало ощущение рыбного вкуса, солёности, горечи. При этом отмечалось уплотнение структуры формованного изделия и снижение его влажности [Jenkelunas, Li-Chan, 2018]. Авторами предложено использование нового криопротектора в качестве альтернативы применяемым в замороженных рыбных продуктах криопротекторов на основе сахара.

Исследовалось влияние на свойства непромытого фарша из толстолобика двух смесей криопротекторов: сахароза, сорбит, триполифосфат натрия (№ 1) и те же самые компоненты, но с дополнительным внесением солёного яичного белка (№ 2). Отмечается, что при холодильной обработке непромытого фарша толстолобика применение криопротекторов смеси № 1 фарш сохраняет высокую гелеобразующую и водоудерживающую способность по сравнению с контролем. Кроме того, криозащитная добавка ингибирует окислительные процессы в белках, о чём свидетельствуют замедление снижения содержания карбонила и сульфгидрила. Данные исследования солерастворимости белка подтверждают, что применение криопротекторов ингибирует агрегацию белков при холодильном воздействии, защищая их структуры. Дополнительное включение в смесь солёного яичного белка не показало существенного криозащитного эффекта или синергетического антиоксидантного действия. Однако отмечается, что образцы мороженого фарша со смесью № 2 имели более высокую эластичность геля после хранения [Qinyea et al., 2022].

Исследовалась роль криопротекторов при холодильной обработке сурими: сахарозы, сорбита, полидекстрозы, мальтодекстрина, лактата натрия, трегалозы и фосфатов. Подтверждено положительное их влияние на сохранение структурных и функциональных свойств миофибриллярных белков от агрегации в период замораживания и холодильного хранения. Подчёркивается необходимость применения криопротекторов для сохранения стабильности физических, функциональных и структурных характеристик

фарша сурими при холодильной обработке [Walayat et al., 2020].

Исследовались криопротекторные свойства олиго-глюкоманнана Капјос (КОГ) на степень обратимости процесса холодильной обработки промытого фарша толстолобика. КОГ добавляли в рыбный фарш сурими перед замораживанием в количестве 1,0 и 3,0% к массе миофибриллярных белков. Для изготовления контрольных образцов использовали фарш сурими из толстолобика с добавлением смеси сахарозы и сорбита. Отмечается, что характер общих изменений физических, химических и структурных свойств образцов идентичен: снижалась водоудерживающая способность, растворимость белков, повышалась жёсткость их структур, что говорит о денатурационных изменениях в период холодильной обработки сурими. При этом установлено, что внесение КОГ в количестве 3,0% в большей степени сохраняет функциональные, в том числе текстурные и органолептические свойства за счёт ингибирования отмеченной выше денатурации белка. Авторы рекомендуют для промышленного использования КОГ в количестве 3,0% в качестве потенциальной альтернативы традиционным криопротекторам [Walayat et al., 2022].

Исследовалась криопротекторная и антиоксидантная активность ферментативных гидролизатов желатина кожи амурского осетра. Гидролизаты вносили в непромытый рыбный фарш, в том числе повторной заморозки. Установлено, что они проявляют антиокислительные свойства замедляя образование карбонила белка и уменьшая потери содержания сульфгидрилов. Анализ протонного магнитного резонанса в слабом поле показал, что гидролизаты желатина предотвращают смещение молекул воды между различными клеточными структурами, тем самым стабилизируя воду, связанную с миофибриллами в непромытом фарше, вызванную повторным замораживанием-оттаиванием. Авторы рекомендуют использование ферментативных гидролизатов желатина кожи амурского осетра в качестве криопротекторов и антиоксидантов в производстве непромытых рыбных фаршей [Mehdia et al., 2015].

Исследовались криопротекторные добавки с трифункциональными свойствами в холодильной технологии водных биологических ресурсов [Tian et al., 2022]. Авторы считают, что помимо хорошей водосвязывающей способности, ингибирующего действия в рыбных мышечных белках денатурационных процессов, криопротектор должен проявлять антиокислительные свойства по отношению к тканевым липидам консервируемого холодом продукта. Антиокислительная функция будет предотвращать образование

малонового диальдегида и альдегидов в результате окисления липидов, которые в дальнейшем взаимодействуют с белками, что способствует их последующей денатурации в процессе холодильного хранения. Недавно получены положительные результаты по использованию в качестве криопротекторов антифризных белков и белковых гидролизатов, с их ролью в замедлении изменений, вызванных замораживанием. Авторы отмечают, что трифункциональные криопротекторы эффективны благодаря их гидрофильным аминокислотным цепям, способным связывать радикалы и воду, а также устанавливать связь с гидроксильными группами, которые взаимодействуют в функциональных участках белковых молекул. Полагают, что полисахариды и белковые гидролизаты являются потенциальными ингредиентами с трифункциональными криозащитными свойствами [Tian et al., 2022].

Исследовались криозащитные свойства яичных белков и смеси ксилоолигосахаридов (0; 2,0; 4,0 и 6,0%), которые добавляли в фарш рыбы уклея *Culter alburnus* Basilewsky, 1855, образцы замораживали и хранили при температуре  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение двух месяцев. Отмечается, что ксилоолигосахариды существенно снижают активность Са-АТФазы, что в значительной степени связано с третичными структурными изменениями белков. Кроме того, образцы, обработанные ксилоолигосахаридами в количестве 6,0%, показали меньший рост содержания карбонила, что указывает на снижение степени окисления белка. Отмечается также эффективное ингибирование снижения содержания сульфгидрилов.

Добавление ксилоолигосахаридов повышает вторичную структурную стабильность, предотвращая снижение содержания  $\alpha$ -спиралей. Микроструктурный анализ подтвердил сохранение хорошо структурированной белковой сети, которая уменьшала пористость и агрегацию белков геля рыбного фарша. Исследованные криопротекторные смеси, особенно шестипроцентная, обеспечивают хорошее качество, сохранность функциональных и структурных свойств *C. alburnus* в течение 60 дней холодильного хранения [Walayat et al., 2020].

Исследовалось влияние сверхохлаждения криопротекторами (смесь сахарозы и сорбита) на микробный рост, окисление липидов и протеолитическую деградацию белков фарша сурими карпа (*Cyprinus carpio* L.).

Отмечается, что охлаждение до минус  $3\text{ }^{\circ}\text{C}$  с криопротекторами существенно снижало микробиологические показатели сурими по сравнению с контрольными образцами. Степень деградации белка в целом

увеличивалась во времени хранения. Однако, по сравнению с образцом, замороженным при  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ , сверхохлаждение при  $-1\text{ }^{\circ}\text{C}$  и  $-3\text{ }^{\circ}\text{C}$  приводило к заметному снижению степени деградации микроструктуры миофибриллярных белковых гелей, а добавление криопротекторов дополнительно замедляло ухудшение этого показателя [Liu et al., 2014].

Смеси сахара и полиолов использовались в качестве криопротекторов сурими из трески при холодильном хранении при температуре минус  $18\text{ }^{\circ}\text{C}$  в течение 4 месяцев. Смеси содержали лактит (Litesse™), сахарозу и сорбит при конечных общих концентрациях в опытных образцах 4,0–12,0%. Установлено, что в замороженном сурими смеси стабилизировали прочность геля, цвет, pH и соотношение миозина и актина. Опытные образцы сурими давали показатели функциональных и структурных свойств гелей, сравнимые с таковыми, в которых использовалась широко применяемая коммерческая криозащитная добавка, включающая 4,0% сахарозы и 4,0% сорбита. Однако 4,0% опытная смесь, была наиболее экономичной и наименее калорийной [Sultanbawa, Li-Chan, 1998].

Исследовалось влияние криопротекторов сахарозы и сорбита на процессы окисления белков и липидов, а также изменение функциональных свойств белковых структур. Объектом исследования являлся фарш сурими, полученный из карпа (*C. carpio*). Образцы мороженого сурими с криопротекторами подвергали различному количеству циклов замораживание-оттаивание. Отмечается, что уже несколько циклов замораживание-оттаивание могут вызвать достаточно глубокое окисление белков и липидов мышечной ткани карпа, а также снижение функциональных свойств. Добавление криопротекторов значительно ингибировало образование карбонила и окисление липидов, а их защитный эффект в отношении денатурации белка подтвержден способностью поддержания активности Са-АТФазы, уменьшении быстрого воздействия гидрофобных и сульфгидрильных групп на поверхность белка с повышением их агрегативной устойчивости [Kong et al., 2013].

Предлагается использование в качестве криопротекторов гидроколлоидов полисахаридов с высокой молекулярной массой. Они широко используются в пищевой промышленности с различными технологическими целями: гелеобразование, загущение, стабилизация, эмульгирование и др. Они используются в производстве промытого (сурими) и непромытого рыбного фарша, рыбных и мясных полуфабрикатов, тестовых заготовок, предназначенных для замораживания. Гидроколлоиды, за счёт своих индивидуальных функциональных свойств, придают пищевым продук-

там различные криозащитные эффекты [Maity et al., 2018].

Авторы отмечают, что из-за возможной токсичности и канцерогенного действия синтетических антиоксидантов и сладости отдельных криопротекторов всё большее внимание привлекают натуральные и безопасные добавки, полученные из морепродуктов. Показано, что пептиды, в основном полученные из побочных продуктов переработки, проявляют антиоксидантное и криозащитное действие в морепродуктах [Nikoo, Benjakul, 2015].

В Дальрыбвтузе разработаны криоконцентраты из морепродуктов, функциональные свойства которых обосновывают целесообразность их использования в качестве криопротекторов в холодильном консервировании рыбного сырья [Богданов и др., 2022].

### Выводы

В криоконсервировании биологических объектов чаще всего в качестве криопротекторов применяют углеводы (дисахариды) и многоатомные спирты. Хорошие криозащитные свойства проявляют глицерин, ДМСО, полиэтилен оксид, диметилацетамид и др. вещества. Их существенный недостаток — наличие вкуса и проявление токсичности, что вызывает необходимость отмывания материала после размораживания. Развивающееся направление — создание композиционных криопротекторов, включающих эндоцеллюлярные и экзоцеллюлярные компоненты с различной молекулярной массой. В их состав также целесообразно включать биологически активные вещества, измельчённые до наноразмеров. Такие композиты увеличивают теплопроводность и вязкость охлаждаемых биообъектов, снижают их криоскопическую температуру.

Перспективным считается использование в качестве криопротекторов природных (натуральных) веществ как в изолированном виде, так и в составе технологических вспомогательных средств (ферментов, пищевых добавок, микроорганизмов). Отмечается целесообразность использования в качестве криопротекторов экзогенных липидов и антиоксидантов. Липиды, выделенные из гидробионтов с низкими температурами фазового перехода, проявляют хорошо выраженные криозащитные свойства. Объясняется это особым составом жирных кислот морских гидробионтов, в которых преобладают ненасыщенные жирные кислоты. Установлено, что экзогенные липидные экстракты способствуют более плавному течению процесса кристаллизации, формированию кристаллов льда с более сглаженными гранями и меньших размеров.

В Дальрыбвтузе разработаны и внедрены в производство технологии сухих концентратов морепродуктов, которые содержат антифризные белки, каротиноиды, полисахариды, гликозиды и др. биологически активные вещества, проявляющие криозащитные свойства. В этой связи исследование криопротекторной эффективности сухих концентратов морепродуктов как отдельно взятых, так и в композициях с другими криозащитными добавками и разработка новых технологий мороженных рыбных продуктов с их применением является решением актуальной отраслевой проблемы. В настоящее время научные изыскания в этом направлении весьма ограничены.

В то же время, работа в этом направлении имеет как фундаментальное, так и прикладное значение. Фундаментальная составляющая работы заключается в обосновании технологии замораживания водных биоресурсов с использованием эффективных криозащитных компонентов, что важно для повышения сроков хранения мороженных продуктов из гидробионтов без снижения их качества. Прикладное значение работы заключается в том, что будет разрабатываться новая технология мороженных рыбных фаршевых продуктов, которые вследствие использования криопротекторов имеют более высокие качественные показатели.

### Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии у них конфликта интересов.

### Соблюдение этических норм

Все применимые этические нормы соблюдены.

### Финансирование

Работа выполнена в рамках Государственного задания ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз» по теме НИР 814–2022 «Совершенствование холодильной технологии рыбных продуктов с использованием природных веществ с криопротекторными свойствами».

### ЛИТЕРАТУРА

- Андреев А.А., Садикова Д.Г., Ивлиева Н.А., Борода А.В. 2017. Формирование микрочастиц льда в криозащитных растворах // Биофизика. Т. 62. Вып. 2. С. 213–220.
- Блынская Е.В., Тишков С.В., Алексеев К.В., Минаев С.В. 2018. Математическое моделирование этапа замораживания в технологии лиофилизированных лекарственных форм // Российский биотерапевтический журнал. Т. 17. № 2. С. 15–21.
- Богданов В.Д., Симдянкин А.А., Панкина А.В., Мостовой В.Д. 2022. Исследование влияния структурорегулирующих добавок на свойства рыбных фаршевых систем // Вест-

- ник МГТУ. Труды Мурманского государственного технического университета. Т. 25. № 3. С. 219–230. DOI: 10.21443/1560-9278-2022-25-3-219-230.
- Богданов В.Д., Симдянкин А.А., Назаренко А.В. 2016. Исследование процесса замораживания дальневосточного трепанга при его криообработке // Вестник Астраханского государственного технического университета. Сер. Рыбное хозяйство. № 2. С. 130–135.
- Борода А.В. 2010. Влияние экзогенных липидов и антиоксидантов на выживаемость и функциональную активность клеток личинок моллюсков и иглокожих после криоконсервации. Автореф. дисс. ...канд. биол. наук. Владивосток: ИБМ ДВО РАН. 24 с.
- Водопьянова Л.А., Жегунов Г.Ф. 2007. Сохранность клеток костного мозга собак после инкубации с криопротекторами и криоконсервирования в жидком азоте // Ветеринарная патология. № 4 (23). С. 234–235.
- Глушков О.А. 2016. Влияние природных полисахаридов на качественные показатели замороженных полуфабрикатов при хранении // Пищевая наука и технология. Т. 10. № 3. С. 35–38.
- Занданова Т.Н. 2021. Выбор криопротекторов для замораживания бактериального концентрата симбиотической закваски // Вестник КрасГАУ. № 3 (168). С. 163–168. DOI: 10.36718/1819-4036-2021-3-163-168
- Касьянов Г.И., Связин И.Е. 2013. Реологические характеристики криолабильных растительных продуктов // Доклады Российской академии сельскохозяйственных наук. № 2. С. 59–61.
- Кенийз Н.В., Сокол Н.В. 2011. Технология производства хлеба из замороженных полуфабрикатов с использованием пектина в качестве криопротектора // Вестник МичГАУ. № 2. Ч. 2. С. 92–94.
- Кенийз Н.В., Сокол Н.В. 2014. Изучение состояния влаги в тесте с криопротекторами, методом ядерно-магнитного резонанса // Политематический сетевой электронный научный журнал КубГАУ. № 98. С. 416–428.
- Кейнз Н.В., Шледевиц В.П. 2015. Использование криопротекторов в хлебопекарной отрасли // Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского ГАУ. № 105. С. 523–547.
- Конов К.Б. 2016. Исследование методами эпр воздействия криопротекторов сахарозы, трегалозы, глицерина и сорбита на структуру и динамику модельной липидной мембраны. Автореф. дисс. ...канд. физ.-мат. наук. Казань: КФТИ КанЦ РАН. 21 с.
- Костяев А.А., Утёмов С.В., Андреев А.А., Полежаева Т.В., Мартусевич А.К., Исаева Н.В., Шерстнев Ф.С., Ветошкин К.А., Калинина Е.Н., Князев М.Г. 2016. Анналы криобиологии. Классификации криопротекторов и криоконсервантов для клеток крови и костного мозга // Вестник гематологии. Т. 12. № 3. С. 23–27.
- Красильникова А.А. 2019. Оптимизация процесса подготовки репродуктивных клеток самцов рыб к криоконсервации // Вестник рыбохозяйственной науки. Т. 6. № 4 (24). С. 63–69.
- Кудрявцев В.А. 2010. Разработка технологии замороженных заварных хлебобулочных полуфабрикатов: Автореф. дисс. ...канд. техн. наук. СПб.: СПбГНПТ. 16 с.
- Кузьмина О.М. 2010. Исследование влияния состава защитной среды на выживаемость микроорганизмов в процессе криозамораживания: Автореф. дисс. ...канд. техн. наук. Москва: ГНУ ВНИМИ им. В.М. Горбатова Россельхозакадемии. 22 с.
- Кузьмина Т.И., Чистякова И.В., Татарская Д.Н. 2020. Влияние наночастиц высокодисперсного кремнезема на функциональную активность митохондрий и статус хроматина нативных и девитрифицированных ооцитов *Bos Taurus* при культивировании *in vitro* // Сельскохозяйственная биология. Т. 55. № 4. С. 784–793. DOI: 10.15389/agrobiology.2020.4.784rus.
- Насонова В.В., Туниева Е.К., Холодов Ф.В. 2011. Перспективы применения трегалозы для производства мясных продуктов // Все о мясе. № 2. С. 8–9.
- Полежаева Т.В. 2013. Комбинированные криоконсерванты в сохранении функций лейкоцитов. Автореф. дис. ...док. биол. наук. СПб. 39 с.
- Сальникова А.Г., Хромова Н.Ю., Кареткин Б.А., Гордиенко М.Г., Шакир И.В., Панфилов В.И. 2018. Исследование ростовых и криопротекторных свойств гидролизата пшеничной муки при ферментации и лиофильном высушивании бифидобактерий // Успехи в химии и химической технологии. Т. 32. № 12 (208). С. 30–32.
- Семенова А.А., Беретов Л.А., Холодов Ф.В. 2009. Влияние пищевых криопротекторов на мясное сырье // Мясные технологии. № 8 (80). С. 46–49.
- Семенова А.А., Туниева Е.К., Холодов Ф.В. 2010. Криопротекторы или новые свойства «старых» пищевых добавок // Мясная индустрия. № 9. С. 14–16.
- Симоненко Е.Ю., Иванова А.А., Бурмистрова Е.В., Прядун В.В., Васильев А.Н., Яковенко С.А. 2018. Калориметрические параметры криопротектора на основе глицерина // Актуальные вопросы биологической физики и химии. Т. 3. № 2. С. 406–410.
- Харенко Е.Н., Архипов Л.О., Яричевская Н.Н. 2019. Установление функциональной зависимости количества вымороженной воды от индивидуальных криоскопических температур рыбы // Труды ВНИРО. Т. 176. с. 81–94.
- Холодов Ф.В. 2011. Разработка композиций пищевых добавок криопротекторного действия для сохранения качества мясных полуфабрикатов: Автореф. дис. ...канд. техн. наук. Москва: ГНУ ВНИМИ им. В.М. Горбатова Россельхозакадемии. 22 с.
- Чистякова И.В., Кузьмина Т.И. 2018. Витрификация ооцитов коров (*Bos taurus*) // Мат. XVIII Всерос. конф. молодых учёных «Биотехнология в растениеводстве, животноводстве и ветеринарии», посв. памяти академика РАСХН Г.С. Муромцева. М. С. 231–233.
- Эсаулов С.В. 2009. Разработка технологии мясных рубленых полуфабрикатов с кальцийсодержащими композициями животных белков: Автореф. дис. ...канд. техн. наук. СПб.: СПбГУНИПТ. 17 с.
- Jenkelunas P., Li-Chan E. 2018. Production and assessment of Pacific hake (*Merluccius productus*) hydrolysates as cryoprotectants for frozen fish mince // Food Chemistry. V. 239. P. 535–543. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.06.148.
- Kenijz N.V., Nesterenko A.A., Zayats M.S. 2019. Cryoprotectants in the technology for the production of frozen bakery

- products // Food Industry. V. 4. № 4. P. 23–29. DOI: 10.29141/2500-1922-2019-4-4-3
- Kong B., Guo Y., Xia X., Liu Q., Li Y., Chen H. 2013. Cryoprotectants Reduce Protein Oxidation and Structure Deterioration Induced by Freeze-Thaw Cycles in Common Carp (*Cyprinus carpio*) Surimi // Food Biophysics V. 8 (2). P. 104–111. DOI: 10.1007/s11483-012-9281-0.
- Liu Q., Kong B., Han J., Chen Q., He X. 2014. Effects of superchilling and cryoprotectants on the quality of common carp (*Cyprinus carpio*) surimi: Microbial growth, oxidation, and physiochemical properties // LWT – Food Science and Technology. V. 57. P. 165–171. DOI: 10.1016/j.lwt.2014.01.008.
- Maity T., Saxena A., Raju P. 2018. Use of hydrocolloids as cryoprotectant for frozen foods // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. V. 58 (3). P. 420–435. DOI: 10.1080/10408398.2016.1182892.
- Mehdia N., Soottawatb B., Xueminga X. 2015. Antioxidant and cryoprotective effects of Amur sturgeon skin gelatin hydrolysate in unwashed fish mince // Food Chemistry. V. 181. P. 295–303. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.02.095
- Nikoo M., Benjakul S. 2015. Potential application of seafood-derived peptides as bifunctional ingredients, antioxidant-cryoprotectant: A review // J. of Functional Foods. V. 19. P. 753–764. DOI: 10.1016/j.jff.2015.10.014.
- Qinyea Y., Junb L., Yueyuea L., Yanyanc Z., Ruobinga P., Elliota M., Yuqinga T., Yongkanga L., Huia H. 2022. Inhibitive effect of cryoprotectants on the oxidative and structural changes in myofibrillar proteins of unwashed mince from silver carp during frozen storage // Food Research International. V. 161. 111880. DOI 10.1016/j.foodres.2022.111880.
- Sultanbawa Y., Li-Chan E. 1998. Cryoprotective effects of sugar and polyol blends in ling cod surimi during frozen storage // Food Research International. V. 31. № 2. P. 87–98. DOI: 10.1016/S0963-9969(98)00063-5.
- Tian J., Walayat N., Ding Y., Liu J. 2022. The role of trifunctional cryoprotectants in the frozen storage of aquatic foods: Recent developments and future recommendations // Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety. V. 21, № 1. P. 321–339. DOI 10.1111/1541-4337.12865.
- Timohina O.V., Hancharou A.Y. 2021. Characteristics of cryoprotectors used for long-term storage of donor dendritic cells // J. of the Belarusian State University. Biology. Vol. 3. P. 102–108. Russian. DOI: 10.33581/2521-1722-2021-3-102-108.
- Vysekantsev I., Buriak I., Martsenyuk V., Gurina T., Pushkova E. 2021. Incorporation of disaccharides and dimethyl sulfoxide into alginate beads increases post-thaw viability of immobilized *accharomyces bouldarii* yeast // Nova Biotechnologica et Chimica. Vol. 20. № 2. C. e716. DOI: 10.36547/nbc.716.
- Walayat N., Tang W., Nawaz A., Ding Y., Liu J., Lorenzo J. 2022. Influence of Konjac oligo-glucomannan as cryoprotectant on physicochemical and structural properties of silver carp surimi during fluctuated frozen storage // LWT. V. 164. 113641. DOI 10.1016/j.lwt.2022.113641.
- Walayat N., Xiong Z., Xiong H., Moreno M., Niaz N., Ahmad M.N., Hassan A., Nawaz A., Ahmad I., Wang P. 2020. Cryoprotective effect of egg white proteins and xylooligosaccharides mixture on oxidative and structural changes in myofibrillar proteins of *Culter alburnus* during frozen storage // International J. of Biological Macromolecules. V. 158. P. 865–874. DOI 10.1016/j.ijbiomac.2020.04.093.
- Walayat N.; Xiong H.; Xiong Z.; Moreno H.M.; Nawaz A.; Niaz N.; Randhawa M.A. Atif. M. 2020. Role of Cryoprotectants in Surimi and Factors Affecting Surimi Gel Properties: A Review // Food Reviews International. V. 38(6). P. 1103–1122. DOI 10.1080/87559129.2020.1768403.

## REFERENCES

- Andreev A.A., Sadikova D.G., Ivlicheva N.A., Boroda A.V. 2017. Formation of ice microparticles in cryoprotective solutions // Biophysics. Vol. 62. № 2. P. 213–220. (In Russ.).
- Blynskaya E.V., Tishkov S.V., Alekseev K.V., Minaev S.V. 2018. Mathematical modeling of the freezing stage in the technology of lyophilized dosage forms // Russian Biotherapeutic Journal. V.17. № 2. P. 15–21. (In Russ.).
- Bogdanov V.D., Simdyankin A.A., Pankina A.V., Mostovoy V.D. 2022. Study of the study of the structural-regulating properties of minced fish systems // Bulletin of MSTU. Proceedings of the Murmansk State Technical University. T. 25. No. 3. S. 219–230. DOI: 10.21443/1560-9278-2022-25-3-219-230. (In Russ.).
- Bogdanov V.D. Simdyankin A. A., Nazarenko A. V. 2016. Investigation of the freezing process of the Far Eastern trepang during its cryoprocessing // Bulletin of the Astrakhan State Technical University. Ser. Fisheries. № 2. P. 130–135. (In Russ.).
- Boroda A.V. 2010. The effect of exogenous lipids and antioxidants on the survival and functional activity of cells of mollusk and echinoderm larvae after cryopreservation. PhD absrt. in biology. Vladivostok: IBM FEB RAS. 24 p. (In Russ.).
- Vodopyanova L.A., Zhegunov G.F. 2007. Preservation of bone marrow cells of dogs after incubation with cryoprotectors and cryopreservation in liquid nitrogen // Veterinary pathology. № 4 (23). P. 234–235. (In Russ.).
- Vodopyanova L.A., Zhegunov G.F. 2007. Preservation of bone marrow cells of dogs after incubation with cryoprotectors and cryopreservation in liquid nitrogen // Veterinary pathology. № 4 (23). P. 234–235. (In Russ.).
- Glushkov O.A. 2016. The influence of natural polysaccharides on the quality indicators of frozen semi-finished products during storage // Food Science and Technology. Vol. 10. № 3. P. 35–38. (In Russ.).
- Zandanova T.N. 2021. Selection of cryoprotectors for freezing bacterial concentrate of symbiotic starter culture // Bulletin of KrasGAU. № 3 (168). P. 163–168. DOI: 10.36718/1819-4036-2021-3-163-168. (In Russ.).
- Kasyanov G.I., Svyazin I.E. 2013. Rheological characteristics of cryolabile plant products // Reports of the Russian Academy of Agricultural Sciences. № 2. P. 59–61. (In Russ.).
- Keynes N.V., Shledevits V.P. 2015. The use of cryoprotectors in the baking industry // Polythematic network electronic scientific journal of the Kuban State Agrarian University. № 105. P. 523–547. (In Russ.).
- Kenyz N.V., Sokol N.V. 2011. Technology of bread production from frozen semi-finished products using pectin as

- a cryoprotector // Bulletin of MICHGAU. № 2. Part 2. P. 92–94. (In Russ.).
- Kenyiz N.V., Sokol N.V.* 2014. The study of the state of moisture in a test with cryoprotectors, by the method of nuclear magnetic resonance // Polythematic network electronic scientific journal of KubGAU. № 98. P. 416–428. (In Russ.).
- Konov K.B.* 2016. EPR study of the effects of cryoprotectors sucrose, trehalose, glycerin and sorbitol on the structure and dynamics of a model lipid membrane. PhD absrt. in physic and mathematic. Kazan: KFTI KANTS RAS. 21 p. (In Russ.).
- Kostyaev A.A., Utemov S.V., Andreev A.A., Polezhaeva T.V., Martusevich A.K., Isaeva N.V., Sherstnev F.S., Vetoshkin K.A., Kalinina E.N., Knyazev M.G.* 2016. Annals of Cryobiology. Classifications of cryoprotectors and cryopreservants for blood and bone marrow cells // Bulletin of Hematology. Vol. XII. № 3. P. 23–27. (In Russ.).
- Krasilnikova A.A.* 2019. Optimization of the process of preparation of reproductive cells of male fish for cryopreservation // Bulletin of Fisheries Science. Vol. 6. № 4 (24). P. 63–69. (In Russ.).
- Kudryavtsev V.A.* 2010. Development of technology of frozen custard bakery semi-finished products: PhD absrt. in technical Sciences. SPb.: SPbSULTFT. 16 p. (In Russ.).
- Kuzmina O.M.* 2010. Investigation of the effect of the composition of the protective environment on the survival of microorganisms in the process of cryofreezing: PhD absrt. in technical sciences. Moscow: V.M. Gorbato WRIMI of the Russian Agricultural Academy. 22 p. (In Russ.).
- Kuzmina T.I., Chistyakova I.V., Tatarskaya D.N.* 2020. The effect of highly dispersed silica nanoparticles on the functional activity of mitochondria and the chromatin status of native and devitrified *Bos Taurus* oocytes during in vitro cultivation // Agricultural Biology. Vol. 55. № 4. P. 784–793. DOI: 10.15389/agrobiology.2020.4.784rus. (In Russ.).
- Nasonova V.V., Tunieva E.K., Kholodov F.V.* 2011. Prospects for the use of trehalose for the production of meat products // All about meat. № 2. P. 8–9.
- Polezhaeva T.V.* 2013. Combined cryopreservants in the preservation of leukocyte functions. Astr. dis. ...doc. biol. sciences. Saint-Petersburg. 39 p.
- Salnikova A.G., Khromova N.Yu., Karetkin B.A., Gordienko M.G., Shakir I.V., Panfilov V.I.* 2018. Investigation of growth and cryoprotective properties of wheat flour hydrolysate during fermentation and lyophilic drying of bifidobacteria // Advances in chemistry and chemical technology. Vol. 32. № 12 (208). P. 30–32. (In Russ.).
- Semenova A.A., Beretov L.A., Kholodov F.V.* 2009. The influence of food cryoprotectors on meat raw materials // Meat technologies. № 8 (80), P. 46–49. (In Russ.).
- Semenova A.A., Tunieva E.K., Kholodov F.V.* 2010. Cryoprotectors or new properties of "old" food additives // Meat industry. № 9. P. 14–16. (In Russ.).
- Simonenko E.Yu., Ivanova A.A., Burmistrova E.V., Pryadun V.V., Vasiliev A.N., Yakovenko S.A.* 2018. Calorimetric parameters of a glycerin-based cryoprotector // Actual issues of biological physics and chemistry. V. 3. № 2. P. 406–410. (In Russ.).
- Kharenko E.N., Arkhipov L.O., Yarichevskaya N.N.* 2019. Establishing the functional dependence of the amount of frozen water on the individual cryoscopic temperatures of fish // Proceedings of VNIRO. Vol. 176. P. 81–94. (In Russ.).
- Kholodov F.V.* 2011. Development of compositions of cryoprotective food additives to preserve the quality of meat semi-finished products: Abstract. dis. ...candidate of Technical Sciences. Moscow: V.M. Gorbato WRIMI of the Russian Agricultural Academy. 22 p. (In Russ.).
- Chistyakova I.V., Kuzmina T.I.* 2018. Vitrification of cow oocytes (*Bos taurus*) // Mat. of the XVIII All-Russian Conf. of Young Scientists «Biotechnology in plant growing, animal husbandry and veterinary medicine», in memory of academician of RASKHN G.S. Muromtsev. Moscow. P. 231–233. (In Russ.).
- Esaulov S.V.* 2009. Development of technology of minced meat semi-finished products with calcium-containing compositions of animal proteins: PhD absrt. in technical sciences. S-Pb.: SPbSULTFT. 17 p. (In Russ.).
- Jenkelunas P., Li-Chan E.* 2018. Production and assessment of Pacific hake (*Merluccius productus*) hydrolysates as cryoprotectants for frozen fish mince // Food Chemistry. V. 239. P. 535–543. DOI: 10.1016/j.foodchem.2017.06.148.
- Kenjiz N.V., Nesterenko A.A., Zayats M.S.* 2019. Cryoprotectants in the technology for the production of frozen bakery products // Food Industry. V. 4. № 4. P. 23–29. DOI: 10.29141/2500-1922-2019-4-4-3
- Kong B., Guo Y., Xia X., Liu Q., Li Y., Chen H.* 2013. Cryoprotectants Reduce Protein Oxidation and Structure Deterioration Induced by Freeze-Thaw Cycles in Common Carp (*Cyprinus carpio*) Surimi // Food Biophysics V. 8 (2). P. 104–111. DOI: 10.1007/s11483-012-9281-0.
- Liu Q., Kong B., Han J., Chen Q., He X.* 2014. Effects of superchilling and cryoprotectants on the quality of common carp (*Cyprinus carpio*) surimi: Microbial growth, oxidation, and physicochemical properties // LWT – Food Science and Technology. V. 57. P. 165–171. DOI: 10.1016/j.lwt.2014.01.008.
- Maity T., Saxena A., Raju P.* 2018. Use of hydrocolloids as cryoprotectant for frozen foods // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. V. 58 (3). P. 420–435. DOI: 10.1080/10408398.2016.1182892.
- Mehdia N., Soottawatb B., Xueminga X.* 2015. Antioxidant and cryoprotective effects of Amur sturgeon skin gelatin hydrolysate in unwashed fish mince // Food Chemistry. V. 181. P. 295–303. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.02.095
- Nikoo M., Benjakul S.* 2015. Potential application of seafood-derived peptides as bifunctional ingredients, antioxidant-cryoprotectant: A review // J. of Functional Foods. V. 19. P. 753–764. DOI: 10.1016/j.jff.2015.10.014.
- Qinyea Y., Junb L., Yueyuea L., Yanyanc Z., Ruobinga P., Elliota M., Yuqinga T., Yongkanga L., Huia H.* 2022. Inhibitive effect of cryoprotectants on the oxidative and structural changes in myofibrillar proteins of unwashed mince from silver carp during frozen storage // Food Research International. V. 161. 111880. DOI 10.1016/ j.foodres.2022.111880.
- Sultanbawa Y., Li-Chan E.* 1998. Cryoprotective effects of sugar and polyol blends in ling cod surimi during frozen storage // Food Research International. V. 31. № 2. P. 87–98. DOI: 10.1016/S0963-9969(98)00063-5.
- Tian J., Walayat N., Ding Y., Liu J.* 2022. The role of trifunctional cryoprotectants in the frozen storage of aquatic foods:

- Recent developments and future recommendations // *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*. V. 21, № 1. P. 321–339. DOI 10.1111/1541-4337.12865.
- Timohina O.V., Hancharou A.Y.* 2021. Characteristics of cryoprotectors used for long-term storage of donor dendritic cells // *J. of the Belarusian State University. Biology*. Vol. 3. P. 102–108. Russian. DOI: 10.33581/2521-1722-2021-3-102-108.
- Vysekantsev I., Buriak I., Martsenyuk V., Gurina T., Pushkova E.* 2021. Incorporation of disaccharides and dimethyl sulfoxide into alginate beads increases post-thaw viability of immobilized *accharomyces boulardii* yeast // *Nova Biotechnologica et Chimica*. Vol. 20. № 2. С. e716. DOI: 10.36547/nbc.716.
- Walayat N., Tang W., Nawaz A., Ding Y., Liu J., Lorenzo J.* 2022. Influence of Konjac oligo-glucomannan as cryoprotectant on physicochemical and structural properties of silver carp surimi during fluctuated frozen storage // *LWT*. V. 164. 113641. DOI 10.1016/j.lwt.2022.113641.
- Walayat N., Xiong Z., Xiong H., Moreno M., Niaz N., Ahmad M.N., Hassan A., Nawaz A., Ahmad I., Wang P.* 2020. Cryoprotective effect of egg white proteins and xylooligosaccharides mixture on oxidative and structural changes in myofibrillar proteins of *Culter alburnus* during frozen storage // *International J. of Biological Macromolecules*. V. 158. P. 865–874. DOI 10.1016/j.ijbiomac.2020.04.093.
- Walayat N.; Xiong H.; Xiong Z.; Moreno H.M.; Nawaz A.; Niaz N.; Randhawa M.A. Atif. M.* 2020. Role of Cryoprotectants in Surimi and Factors Affecting Surimi Gel Properties: A Review // *Food Reviews International*. V. 38(6). P. 1103–1122. DOI 10.1080/87559129.2020.1768403.

*Поступила в редакцию 29.09.2022 г.  
Принята после рецензии 20.01.2023 г.*