

БИОТЕХНОЛОГИЯ ПРОДУКТОВ ПИТАНИЯ И БИОЛОГИЧЕСКИХ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ /
BIOTECHNOLOGY OF FOOD AND BIOLOGICAL ACTIVE SUBSTANCES

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2024.139.99>

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ПРИМЕНЕНИЯ ПАПАИНА И БЕТА-ГЛЮКАНАЗЫ ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ
ДРОЖЖЕВОГО ГИДРОЛИЗАТА

Научная статья

Шмелёв И.Е.^{1,*}, Баланов П.Е.², Басковцева А.С.³, Смотраева И.В.⁴

¹ ORCID : 0009-0002-4395-7438;

² ORCID : 0000-0002-0610-9248;

³ ORCID : 0000-0003-0726-4386;

⁴ ORCID : 0000-0003-1255-832X;

^{1, 2, 3, 4} Национальный исследовательский университет ИТМО, Санкт-Петербург, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (ivansmelev92[at]gmail.com)

Аннотация

Статья фокусируется на производстве микробных белков (Single-Cell Proteins, SCP) с использованием дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Этот подход обладает большой перспективой в обогащении пищевых продуктов и замене животного белка. Преимущество SCP заключается в минимальном использовании водно-земельных ресурсов и сниженном образовании отходов.

Предлагается ферментативный способ разрушения клеточных стенок дрожжей для получения белковых изолятов. Было установлено, что ферменты папаин и бромелаин увеличивают выход сухих веществ в дрожжевом гидролизате. Из заданного набора ферментов наибольший выход белка можно наблюдать в комбинации папаина в дозировке 1% и бета-глюканазы в дозировке 0,03%. Выход белка в данном образце составил 1,51%, что в 3,5 раз больше, чем выход белка в образцах с использованием комбинации ферментов пепсина и бета-глюканазы. Выход гидролизованного белка, относительно исходного варьируется от 9,8 до 37,5%.

Ключевые слова: дрожжевой гидролизат, дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, папаин, бромелаин, пепсин.

A STUDY OF THE POSSIBILITY OF USING PAPAIN AND BETA-GLUCANASE TO PRODUCE YEAST
HYDROLYSATE

Research article

Shmelev I.Y.^{1,*}, Balanov P.Y.², Baskovtseva A.S.³, Smotraeva I.V.⁴

¹ ORCID : 0009-0002-4395-7438;

² ORCID : 0000-0002-0610-9248;

³ ORCID : 0000-0003-0726-4386;

⁴ ORCID : 0000-0003-1255-832X;

^{1, 2, 3, 4} ITMO National Research University, Saint-Petersburg, Russian Federation

* Corresponding author (ivansmelev92[at]gmail.com)

Abstract

The article focuses on the production of microbial proteins (Single-Cell Proteins, SCP) using the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. This approach has a great promise in food fortification and animal protein replacement. The advantage of SCP is the minimal use of water and land resources and reduced waste generation.

An enzymatic method of yeast cell wall degradation for the production of protein isolates is proposed. The enzymes papain and bromelain were found to increase the dry matter yield of yeast hydrolysate. From a given set of enzymes, the highest protein yield could be observed in the combination of papain at a dosage of 1% and beta-glucanase at a dosage of 0.03%. The protein yield in this sample was 1.51%, which is 3.5 times higher than the protein yield in samples using the combination of pepsin and beta-glucanase enzymes. The yield of hydrolysed protein, relative to the original protein, ranged from 9.8 to 37.5%.

Keywords: yeast hydrolysate, *Saccharomyces cerevisiae* yeast, papain, bromelain, pepsin.

Введение

Начиная с 2020 года, на фоне пандемии вопрос глобального дефицита белка в человеческом рационе стал снова актуальным. Продовольственная и сельскохозяйственная организация Объединенных Наций в своем докладе сообщила об ожидаемой нехватке богатой белком пищи на рынке [10]. К счастью, продовольственного кризиса удалось избежать, однако, учитывая растущее население нашей планеты, необходимо развивать альтернативные пути получения высококачественного и пригодного для употребления белка.

Одним с таких способ является производство одноклеточных белков или Single-cell Proteins (SCP) – экстрактов биомассы чистых или смешанных культур водорослей, грибов или дрожжей. Полученный таким способом белок может быть использован как ингредиент для обогащения пищевых продуктов или замены животного белка. Выгодным отличием от традиционных способов получения богатых белком продуктов, например животноводства, являются отсутствие потребности в интенсивном использовании водно-земельных ресурсов, и значительно меньшее количество отходов [9].

Дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* благодаря своей доступности и химическому составу (рис. 1) являются подходящим вариантом для получения белкового изолята.

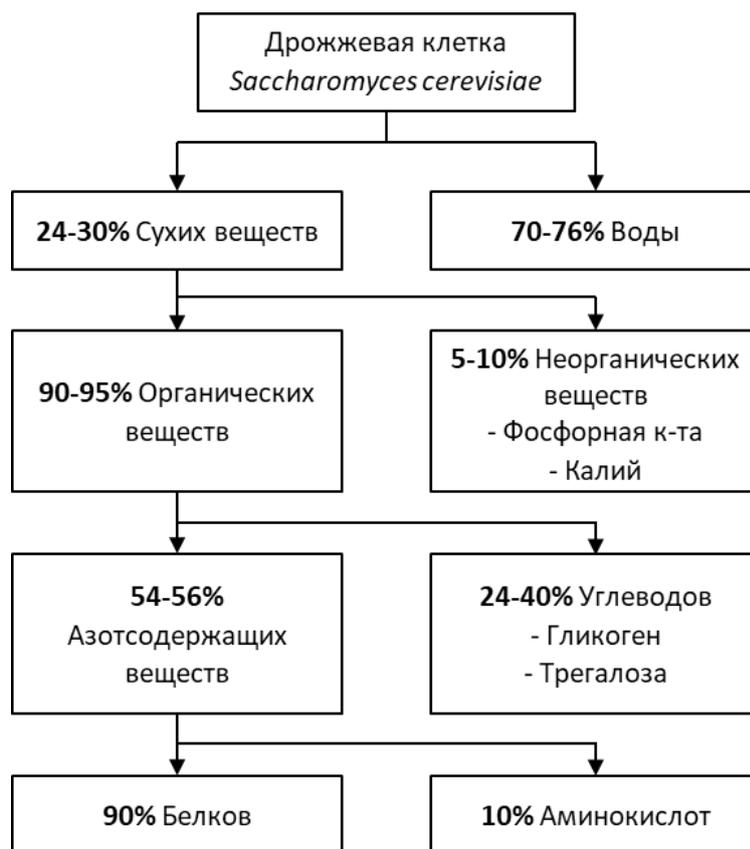


Рисунок 1 - Приблизительное процентное содержание веществ в дрожжевой клетке
DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2024.139.99.1>

Дрожжевая клетка в среднем на 70-75% состоит из воды, сухие вещества занимают оставшиеся 25-30%. До 95% сухих веществ в клетке составляют органические вещества, в то время как на долю неорганических веществ приходится до 10% от объема сухих веществ. Органические вещества в дрожжевой клетке представлены азотсодержащими веществами и углеводами (гликоген и трегалоза). Перечень аминокислот, содержащихся в дрожжах, в сравнении с другими источниками, представлен в таблице 1 [7].

Таблица 1 - Содержание аминокислот
DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2024.139.99.2>

Аминокислоты	Дрожжи <i>Sacch. cerevisiae</i>	Творог, мг/100 г продукта	Телятина 1-й категории, мг/100 г продукта
Незаменимые, мг/100 г продукта	4802	7680	7626
Валин, мг/100 г продукта	698	990	1156
Изолейцин, мг/100 г продукта	741	1000	998
Лейцин, мг/100 г продукта	903	1850	1484
Лизин, мг/100 г продукта	913	1450	1683
Метионин, мг/100 г продукта	233	480	414
Треонин, мг/100 г продукта	644	800	855
Триптофан, мг/100 г	174	180	245

продукта			
Фенилаланин, мг/100 г продукта	496	930	791
Заменимые, мг/100 г продукта	5785	10270	12333
Алин, мг/100 г продукта	366	440	1124
Аргинин, мг/100 г продукта	528	810	1278
Аспарагиновая кислота, мг/100 г продукта	684	1000	1844
Гистидин, мг/100 г продукта	302	560	739
Глицин, мг/100 г продукта	465	260	948
Глутаминовая кислота, мг/100 г продукта	1570	3300	3329
Пролин, мг/100 г продукта	490	2000	1333
Серин, мг/100 г продукта	583	820	813
Тирозин, мг/100 г продукта	676	930	689
Цистин, мг/100 г продукта	121	150	236

Принципиальная схема получения белкового изолята включает в себя следующие обязательные этапы: экстрагирование белков; осаждение белка в изоэлектрической точке рН; центрифугирование; концентрация и очистка белка, промывка и сушка [4]. Экстрагирование белков из биомассы возможно только после разрушения клеточной стенки. Разрушение может быть осуществлено физическим, химическим и ферментативным способом. В рамках данного исследования внимание было сосредоточено на получении белковых изолятов с использованием ферментативного способа разрушения клеточных стенок.

Процесс естественного автолиза дрожжевых клеток, продолжительность которого может составлять от двух суток до 2 месяцев, обусловлен активностью собственных ферментов, включая протеолитические, гидролитические и оксиредуктазы [6]. В контексте этого процесса, дополнительное внедрение внешних ферментов, таких как папаин, получаемый из плодов папайи, и бромелаин, извлекаемый из стеблей и плодов ананаса, может дополнительно ускорить ферментативный гидролиз клеточных структур дрожжей. Папаин, как протеолитический фермент, эффективно разрушает белковые связи, в то время как бромелаин, содержащий смесь протеаз, амилаз и липаз, дополнительно активен в гидролизе белковых компонентов [14]. Этот интегрированный подход может оптимизировать выход белка и улучшить процесс ферментативного гидролиза, способствуя получению дрожжевого изолята с желаемыми свойствами.

Клеточная стенка дрожжей состоит примерно на 40% из маннанопротеинов, на 60% из глюканов и на 2% из хитина (таблица 2) [3].

Таблица 2 - Компоненты клеточной стенки дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2024.139.99.3>

Компоненты клеточной стенки	Количество, % от КС	Основной тип связи	Степень полимеризации	Мг, кДа	Число молекул $\times 10^6$ на клетку
Маннанопротеины	40	$\alpha 1,6 + \alpha 1,3 + \alpha 1,2$	-	От <10 до >450	2,6
Глюкан:	-	$\beta 1,3$	-	-	-
щелочерастворимый	20	$\beta 1,3$	1500	243	2,5
щелоче/ кислотонерастворимый	35	$\beta 1,3$	1500	243	4,3
щелоченерастворимый, кислоторастворимый	5	$\beta 1,6$	140	23	6,6
Хитин	2	$\beta 1,4$	-	-	-

В реакции гидролиза есть одна, важная для понимания процесса, деталь – при расщеплении пептидной связи, добавляется одна молекула воды. Это значительно сказывается на составе сухого вещества конечного продукта, поскольку он зависит от степени гидролиза. Если белковый изолят, с содержанием белка 90% в сухом веществе, гидролизуют с ДН = 25%, то на каждые четыре аминокислоты приходится одна молекула воды, что соответствует $18/(4 \cdot 128) = 3,5\%$ воды будет добавлено в смесь. Конечная смесь в таком случае будет содержать 86,5% белка в пересчете на сухое вещество. Это может привести к противоречию с определениями изолятов, которые обычно определяются как содержащие не менее 90% белка в пересчете на сухое вещество [13].

Методы и принципы исследования

В ходе эксперимента использовались прессованные хлебопекарные дрожжи «Люкс Экстра» (ООО «Саф-Нева», Россия), сухие ферменты пепсин, трипсин, папаин, бромелаин и жидкая бета-глюканаза. Протеолитические ферменты пепсин, трипсин, папаин и бромелаин на первом этапе, с последующим внесением бета-глюканазы во все образцы.

Пепсин (код фермента 3.4.23.1) – эндопептидаза, протеолитический фермент, принадлежит к классу гидролаз. Трипсин (код фермента 3.4.21.1) – фермент группы сериновых протеаз, способный расщеплять пептиды и белки, а также сложные эфиры. Папаин (код фермента 3.4.22.2) фермент является монотиоловой цистеиновой эндопротеазой, по своему действию схож с пепсином, однако действует как в кислых, так и в щелочных средах (рН 3-12) и проявляет амидазную/трансамидазную а также эстеразную/трансэстеразную активность. Бромелаин (код фермента 3.4.22.32) – цистеиновые протеиназы (эндопептидазы), растворим в воде. Бета-глюканаза (код фермента 3.2.1.6) – фермент способен расщеплять 1,3 и 1,4 гликозидные связи β -глюканов и других полисахаридов [5], [8], [11], [13]. Характеристика ферментов представлена в таблице 3.

Таблица 3 - Характеристика выбранных ферментов

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2024.139.99.4>

Название	Оптимум рН	Оптимальная t, °С	t инактивации, °С
Пепсин	1,5-2,0	25-30	60
Трипсин	7,8-8,0	45-50	50
Папаин	5,0-7,0	60	80
Бромелаин	5,0-8,0	50-60	80
Бета-глюканаза	4,5-5,5	50-55	80

Измерения сухих веществ (СВ) производились рефрактометрическим методом на автоматическом рефрактометре модели PTR 46X (Index Instruments Ltd., Великобритания) в конце каждой инкубации и после конечного центрифугирования. Измерение рН проводилось потенциометрическим методом на автоматическом титраторе 848 Titrino Plus (Metrohm, Швейцария). Содержание белка в конечном продукте измерялось по методу Кьельдаля [2].

В рамках эксперимента готовилась 10% дрожжевая суспензия прессованных хлебопекарных дрожжей, из которой формировалось 12 образцов с различными дозировками каждого из протеолитических ферментов. Для каждого фермента были выбраны три дозировки – минимальная, средняя и максимальная (таблица 4), итого получили 12 вариаций (таблица 5).

Таблица 4 - Дозировки внесения протеолитических ферментов

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2024.139.99.5>

Фермент	Минимальная дозировка, %	Средняя дозировка, %	Максимальная дозировка, %
Папаин	0,01	0,5	1
Трипсин			
Пепсин			
Бромелаин			

После этого образцы инкубировались на водяной бане в течение 120 минут при оптимальной температуре и уровне рН (таблица 3), затем инактивировались при 80°C в течение 15 минут. Далее вносился фермент бета-глюканаза в дозировке 0,03% и инкубировался в течение 120 минут при температуре 55°C с последующей инактивацией при 80°C в течение 15 минут. Затем раствор центрифугировался при 6000 об/с в течение 10 минут. Из жидкой фазы белок осаждался в изоэлектрической точке рН 4,5 и осадок высушивался при температуре 40-50°C в течение 120 минут.

Параллельно готовился контрольный образец по способу экстракции этанолом. В 10% дрожжевую суспензию добавлялся 96% этанол в количестве 1,5%. Этот раствор в дальнейшем инкубировался при температуре 70°C и рН 5,5 в течение 255 минут, что равняется времени инкубации образцов с ферментами, затем подвергался кипячению в

течение 15 минут. Далее образец центрифугировался при 6000 об/с в течение 10 минут. Из жидкой фазы белок осаждался в изoeлектрической точке pH 4,5 и осадок высушивался при температуре 40-50°C в течение 120 минут.

Конечные образцы были проанализированы по методу Кьельдаля для выявления содержания сырого протеина. Математическая обработка данных производилась с использованием программы Microsoft Excel.

Основные результаты

Результаты показателей сухих веществ и pH в образцах дрожжевого гидролизата после ферментативной обработки представлены в таблице 5 и на рисунке 2.

Таблица 5 - Динамика изменения показателей в образцах дрожжевого гидролизата

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2024.139.99.6>

Фермент	Дозировка, %	Начальный pH раствора	СВ после первой инкубации, %	СВ после второй инкубации, %	СВ после центрифугирования, %	Конечный pH раствора
Папаин	0,01	5,2	0,5	1,3	2,2	6,4
Папаин	0,50	5,2	1,7	3	3,5	6,1
Папаин	1,00	5,2	2,2	3,3	4,2	5,8
Бромелаин	0,01	5,2	0,2	0,5	1,4	6,4
Бромелаин	0,50	5,2	0,7	1,2	2,6	6,5
Бромелаин	1,00	5,2	1,3	1,6	2,9	6,6
Пепсин	0,01	2	0,2	0,5	1,4	4,3
Пепсин	0,50	2	0,5	1	1,8	4,2
Пепсин	1,00	2	1,4	1,5	2,2	4,3
Трипсин	0,01	8	0,6	1	1,6	6,5



Рисунок 2 - Динамика изменения массовой доли сухих веществ

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2024.139.99.7>

Результаты демонстрируют, что после каждой инкубации и после центрифугирования при использовании ферментов количество сухих веществ в дрожжевом гидролизате увеличивается. Кроме того, увеличение дозировки всех выбранных ферментов также увеличивает количество сухих веществ в конечном растворе. Самый высокий показатель сухих веществ 4,2% был получен после центрифугирования при добавлении фермента папаина в дозировке 1%. Что в 1,9 раз больше, чем при внесении папаина в дозировке 0,01%. Использование ферментов бромелаина, пепсина и трипсина также повышает выход сухих веществ и увеличивает pH конечного раствора, за исключением фермента трипсина, который, наоборот, снижает pH.

Показатели сухих веществ и pH образца по способу экстракции этанолом представлены в таблице 6.

Таблица 6 - Динамика изменения показателей в образце с этанолом

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2024.139.99.8>

Реагент	Дозировка, %	СВ после инкубации, %	СВ после центрифугирования, %	Конечный pH раствора
Этанол	1,5	0,6	1,8	6,2

Данные в таблице показывают, что контрольный образец без добавления ферментов имеет более низкие показатели сухих веществ после инкубации и центрифугирования.

Результаты измерения содержания сырого протеина в образцах гидролизата представлены в таблице 7 и на рисунке 3.

Таблица 7 - Содержание сырого протеина в образцах

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2024.139.99.9>

Наименование образца	Количество образца, мл	Титранта, мл	Азот (N), мг	Азот (N)/100 г, мг	Азот (N), %	Белок, %
Папаин 1%	25,0000	43,944	61,552	246,207	0,246	1,539
Папаин 1%	25,0000	44,688	62,595	250,379	0,250	1,565
Пепсин 1%	25,0000	12,548	17,576	70,303	0,070	0,439
Пепсин 1%	25,0000	11,947	16,734	66,936	0,067	0,418
Этанол 1,5%	25,0000	11,529	16,149	64,596	0,065	0,404
Этанол 1,5%	25,0000	10,739	15,041	60,166	0,060	0,376

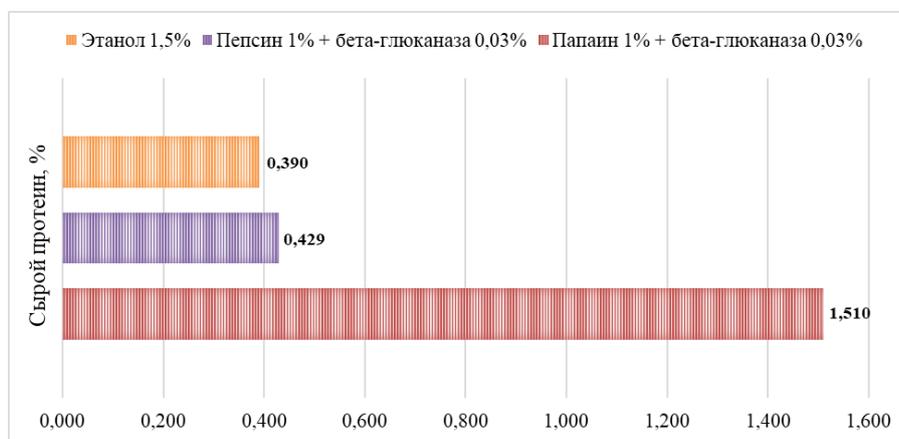


Рисунок 3 - Содержание сырого протеина в гидролизатах

DOI: <https://doi.org/10.23670/IRJ.2024.139.99.10>

С учетом влажности дрожжей и разведением стартового гидромодуля (1:10) содержание белка в гидролизатах, в пересчёте на абсолютно сухое вещество, составил:

- При экстракции этанолом 4,88%;
- При экстракции с использованием пепсина 5,36%;
- При экстракции с использованием папаина 18,75%.

При учете того, что усреднённое содержание белка, в пересчёте на абсолютно сухое вещество, составляет 50%, то мы имеем следующий выход очищенного микробного белка, относительно исходного негидролизованного:

- При экстракции этанолом 9,8%;
- При экстракции с использованием пепсина 10,7%;
- При экстракции с использованием папаина 37,5%.

Целевым показателем содержания микробного белка после гидролиза, на данный момент, по мнению исследователей является 50% [1], [12]. В связи с этим полученный результат можно охарактеризовать, как вызывающий умеренный оптимизм.

Заключение

В результате экспериментов выявлено, что использование протеолитических ферментов папаина и бромелаина увеличивает выход сухих веществ в дрожжевом гидролизате. Из заданного набора ферментов наибольший выход белка можно наблюдать в комбинации ферментов папаина в дозировке 1% и бета-глюканызы в дозировке 0,03%. Выход сырого протеина в этом образце составил 1,51%, что в 3,5 раз больше, чем выход белка в образцах с использованием комбинации ферментов пепсина и бета-глюканызы. Также стоит отметить, что pH раствора после всех манипуляций повышается в среднем на 1,45 пункта, за исключением использования фермента трипсина.

Выход гидролизованного белка, относительно исходного варьируется от 9,8 до 37,5%, что, при целевом показателе 50%, можно считать приемлемым.

Исходя из имеющихся результатов, в дальнейшем планируется:

а) изучить существующие протеолитические ферменты с оптимальным уровнем pH и температурой близким к оптимальным для естественного автолиза дрожжей, с целью подобрать комбинацию ферментов способных ускорить процесс естественного гидролизата и повысить выход питательных веществ;

б) подобрать наилучший температурный режим для такой комбинации ферментов;

в) подобрать подходящий способ очистки белка в полученном дрожжевом экстракте для получения белкового изолята с содержанием белка 80%.

Исследование подтверждает, что дрожжи *Saccharomyces cerevisiae*, благодаря их химическому составу и доступности, представляют собой перспективный источник белкового изолята. Этот подход может быть ключевым элементом в разработке эффективных и устойчивых методов получения белка, отвечающих растущим потребностям нашего общества.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы / References

- Белик С.Н. Продукты микробного синтеза в решении проблемы белкового дефицита / С.Н. Белик, Е.В. Моргуль, В.В. Крючкова [и др.] // Восточно-европейский научный журнал. — 2016. — № 1(7). — С. 122-129.
- ГОСТ Р 54607.7-2016. Услуги общественного питания. Методы лабораторного контроля продукции общественного питания. Часть 7. Определение белка методом Кьельдаля. — Введ. 2017-01-01. — Москва: Стандартинформ, 2016. — 11 с.
- Калебина Т.С. Роль белков в формировании молекулярной структуры клеточной стенки дрожжей / Т.С. Калебина, И.С. Кулаев // Успехи биологической химии. — 2001. — № 41. — С. 105-130.
- Компанцев Д.В. Белковые изоляты из растительного сырья: обзор современного состояния и анализ перспектив развития технологии получения белковых изолятов из растительного сырья / Д.В. Компанцев, А.В. Попов, И.М. Привалов [и др.] // Современные проблемы науки и образования. — 2016. — № 1. — URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=24132> (дата обращения: 15.12.2023).
- Королева В.А. Термическая инактивация цистеиновых протеаз: «Ключевые стадии» / В.А. Королева, С.С. Ольшанникова, М.Г. Холявка [и др.] // Биофизика. — 2021. — № 3(66). — С. 429-439. — DOI: 10.31857/S0006302921030029.
- Рожко Ж.А. Оптимальные режимы автолиза дрожжей / Ж.А. Рожко, О.О. Гулько // Биомедицинская инженерия и электроника. — 2017. — № 1(15). — С. 84-89. — DOI: 10.6084/m9.figshare.4877447.
- Тулякова Т.В. Дрожжевые экстракты – безопасные источники витаминов, минеральных веществ и аминокислот / Т.В. Тулякова, А.В. Пасхин, В.Ю. Седов // Пищевая промышленность. — 2004. — № 6. — С. 60-62.
- Шевякова К.А. Изучение возможности применения комплекса энзиматических систем при переработке концентрата сывороточных белков / К.А. Шевякова, М.Г. Курбанова // Молочнохозяйственный вестник. — 2017. — № 3(27). — С. 134-142. — DOI: 10.24411/2225-4269-2017-00034.
- Aidoo R. Overview of Single Cell Protein: Production Pathway, Sustainability Outlook, and Digital Twin Potentials / R. Aidoo, E.M. Kwofie, P. Adewale [et al.] // Trends in Food Science & Technology. — 2023. — Vol. 138. — P. 577-598. — DOI: 10.1016/j.tifs.2023.07.003.
- Food Outlook. Biannual report on global food markets // Food and Agriculture Organization of the United Nations. — 2020. — URL: <https://www.fao.org/3/ca9509en/ca9509en.pdf> (accessed: 06.11.2023).
- Kihara M. Temperature and pH Dependency of Pepsin Activity in the Gastric Juice of Farmed Pacific Buefin Runa *Thunnus Orientalis*. / M. Kihara // Aquaculture Science. — 2015. — № 63(4). — P. 459-461.
- Takaloo Z. Autolysis, Plasmolysis and Enzymatic Hydrolysis of Baker's Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*): a comparative study / Z. Takaloo, M. Nikkhah, R. Nemati [et al.] // World Journal of Microbiology and Biotechnology. — 2020. — № 36(5). — DOI: 10.1007/s11274-020-02840-3.
- Whitehurst R.J. Enzymes in Food Technology / R.J. Whitehurst, B.A. Law. — Sheffield: Sheffield Academic Press, 2002. — 278 p.

14. Xu J. The Mechanistic Effect of Bromelain and Papain on Tenderization in Jumbo Squid (*Dosidicus gigas*) Muscle / J. Xu, H. Cao, B. Zhang [et al.] // *Food Research International*. — 2020. — № 131. — DOI: 10.1016/j.foodres.2020.108991.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Belik S.N. Produkty mikrobnogo sinteza v reshenii problemy belkovogo defitsita [Products of Microbial Synthesis in Solving Protein Deficiency] / S.N. Belik, E.V. Morgul, V.V. Kruchkova [et al.] // *Vostochno-evropeyskiy nauchnyy zhurnal* [East European Scientific Journal]. — 2016. — № 1(7). — P. 122-129. [in Russian]
2. GOST R 54607.7-2016. Uslugi obshchestvennogo pitaniya. Metody laboratornogo kontrolya produkcii obshchestvennogo pitaniya. CHast' 7. Opredelenie belka metodom K'el'dalya [Public Catering Services. Methods of Laboratory Quality Control of Products Catering. Part 7. Determination of protein by the Kjeldahl method]. — Introduced 2017-01-01. — Moscow: Standardinform, 2016. — 11 p. [in Russian]
3. Kalebina T.S. Rol belkov v formirovaniy molekulyarnoy struktury kletochnoy stenki drozhzhey [The Role of Proteins in the Formation of the Molecular Structure of the Yeast Cell Wall] / T.S. Kalebina, I.S. Kulayev // *Uspekhi biologicheskoy khimii* [Advances in Biological Chemistry]. — 2001. — № 41. — P. 105-130. [in Russian]
4. Kompantsev D.V. Belkovyye izolyaty iz rastitelnogo syrya: obzor sovremennogo sostoyaniya i analiz perspektiv razvitiya tekhnologii polucheniya belkovykh izolyatov iz rastitelnogo syrya [Protein Isolates from Vegetable Raw Materials: an Overview of the Current State and Prospects of Development of Analysis Technology of Protein Isolates from Vegetable Raw Materials] / D.V. Kompantsev, A.V. Popov, I.M. Privalov [et al.] // *Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya* [Modern Problems of Science and Education]. — 2016. — № 1. — URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=24132> (accessed: 15.12.2023). [in Russian]
5. Koroleva V.A. Termicheskaya inaktivatsiya tsisteinovykh proteaz: «Klyuchevyye stadii» [Thermal Inactivation of Cysteine Proteases: the key stages] / V.A. Koroleva, S.S. Olshannikova, M.G. Holyavka [et al.] // *Biofizika* [Biophysics]. — 2021. — № 3(66). — P. 429-439. — DOI: 10.31857/S0006302921030029. [in Russian]
6. Rozhko Zh.A. Optimalnyye rezhimy avtoliza drozhzhey [Optimal Regimes of Yeast Autolysis] / Zh.A. Rozhko, O. Gulko // *Biomeditsinskaya inzheneriya i elektronika* [Biomedical Engineering and Electronics]. — 2017. — № 1(15). — P. 84-89. — DOI: 10.6084/m9.figshare.4877447. [in Russian]
7. Tulyakova T.V. Drozhzhevyye ekstrakty – bezopasnyye istochniki vitaminov, mineralnykh veshchestv i aminokislot [Yeasts Extracts – Safe Sources of Vitamins, Mineral Substances and Aminoacids] / T.V. Tulyakova, A.V. Pashkin, V.Yu. Sedov // *Pishchevaya promyshlennost* [Food Processing Industry]. — 2004. — № 6. — P. 60-62. [in Russian]
8. Shevyakova K.A. Izucheniye vozmozhnosti primeneniya kompleksa enzimaticheskikh sistem pri pererabotke kontsentrata syvorotochnykh belkov [Study of the Possibility of Using a Complex of Enzymatic Systems for the Processing of Whey Protein Concentrate] / K.A. Shevyakova, M.G. Kurbanova // *Molochnokhozyaistvenny Vestnik* [Dairy Bulletin]. — 2017. — № 3(27). — P. 134-142. — DOI: 10.24411/2225-4269-2017-00034. [in Russian]
9. Aidoo R. Overview of Single Cell Protein: Production Pathway, Sustainability Outlook, and Digital Twin Potentials / R. Aidoo, E.M. Kwofie, P. Adewale [et al.] // *Trends in Food Science & Technology*. — 2023. — Vol. 138. — P. 577-598. — DOI: 10.1016/j.tifs.2023.07.003.
10. Food Outlook. Biannual report on global food markets // Food and Agriculture Organization of the United Nations. — 2020. — URL: <https://www.fao.org/3/ca9509en/ca9509en.pdf> (accessed: 06.11.2023).
11. Kihara M. Temperature and pH Dependency of Pepsin Activity in the Gastric Juice of Farmed Pacific Buefin Runa *Thunnus orientalis*. / M. Kihara // *Aquaculture Science*. — 2015. — № 63(4). — P. 459-461.
12. Takaloo Z. Autolysis, Plasmolysis and Enzymatic Hydrolysis of Baker's Yeast (*Saccharomyces cerevisiae*): a comparative study / Z. Takaloo, M. Nikkhah, R. Nemati [et al.] // *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. — 2020. — № 36(5). — DOI: 10.1007/s11274-020-02840-3.
13. Whitehurst R.J. *Enzymes in Food Technology* / R.J. Whitehurst, B.A. Law. — Sheffield: Sheffield Academic Press, 2002. — 278 p.
14. Xu J. The Mechanistic Effect of Bromelain and Papain on Tenderization in Jumbo Squid (*Dosidicus gigas*) Muscle / J. Xu, H. Cao, B. Zhang [et al.] // *Food Research International*. — 2020. — № 131. — DOI: 10.1016/j.foodres.2020.108991.