УДК 664.959.5:663.88

Е.В. Охота, А.И. Чепкасова, Е.П. Караулова, Т.Н. Слуцкая*Тихоокеанский филиал ВНИРО (ТИНРО),
690091, г. Владивосток, пер. Шевченко, 4**ОБОСНОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ
ОТХОДОВ ПЕРЕРАБОТКИ ТРЕПАНГА
ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА БЕЗАЛКОГОЛЬНЫХ НАПИТКОВ**

Проведены работы по осветлению варочной воды дальневосточных голотурий (трепанга) различными сорбентами: минеральными (перлит, бентонит) и хитозанами из панциря краба и углохвостой креветки. Положительные результаты были получены при использовании хитозанов: достигнуто максимальное осветление (35–55 %) за счет сорбции и последующего удаления белково-пигментного комплекса. Содержание гликозидов при этом уменьшилось в два раза по сравнению с исходным. Количество аминокислот зависело от источника хитозана: применение крабового хитозана не повлияло на этот показатель, а хитозана их панциря углохвостой креветки — привело к снижению в два раза. Наиболее эффективным по совокупности показателей является высокомолекулярный хитозан из панциря краба (молекулярная масса 1300 кДа). Применение предварительной ферментации варочных вод протамексом способствует увеличению количества низкомолекулярных биологически активных пептидов в результирующем растворе. По органолептическим показателям и с учетом содержания биологически активных компонентов (гликозидов, аминокислот и низкомолекулярных пептидов) полученный продукт может являться основой для безалкогольных тонирующих напитков.

Ключевые слова: голотурии, трепанг, варочные воды, тритерпеновые гликозиды, аминокислота, минеральные сорбенты, хитозан, ферментативный гидролиз.

DOI: 10.26428/1606-9919-2020-200-221-228.

Okhota E.V., Chepkasova A.I., Karaulova E.P., Slutskaya T.N. Substantiation of possibility to use waste of sea cucumber processing for production of soft drinks // *Izv. TINRO*. — 2020. — Vol. 200, Iss. 1. — P. 221–228.

The broth of sea cucumber was decolorized with mineral sorbents, as perlite and bentonite, and with chitosans of crab carapace and shrimp shell. The chitosans were the most effective in sorption and subsequent removal of the protein-pigment complex, providing the decoloriza-

* Охота Евгения Владимировна, аспирант, e-mail: food-fish.technology@list.ru; Чепкасова Анна Ивановна, кандидат технических наук, ведущий специалист, e-mail: anna.chepkasova@tinro-center.ru; Караулова Екатерина Павловна, кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник, e-mail: karaulova@tinro-center.ru; Слуцкая Татьяна Ноевна, доктор технических наук, профессор, заведующая сектором, e-mail: tinro@tinro.ru.

Okhota Eugenia V., post-graduate student, Pacific branch of VNIRO (TINRO), 4, Shevchenko Alley, Vladivostok, 690091, Russia, e-mail: food-fish.technology@list.ru; Chepkasova Anna I., Ph.D., leading specialist, Pacific branch of VNIRO (TINRO), 4, Shevchenko Alley, Vladivostok, 690091, Russia, e-mail: chepkasova@tinro-center.ru; Karaulova Ekaterina P., Ph.D., leading researcher, Pacific branch of VNIRO (TINRO), 4, Shevchenko Alley, Vladivostok, 690091, Russia, e-mail: karaulova@tinro-center.ru; Slutskaya Tatiana N., D.Tech., professor, head of sector, Pacific branch of VNIRO (TINRO), 4, Shevchenko Alley, Vladivostok, 690091, Russia, e-mail: tinro@tinro.ru.

tion degree of 35–55 %. Besides, the content of glycosides in the broth was twice decreased. The amino sugars content changed in dependence on the chitosan origin: the chitosan of crab carapace did not influence on this parameter, but the chitosan of shrimp shell caused its halving. For the optimal combination of chemical compounds in the broth, the chitosan with high molecular weight (1300 kDa) extracted from crab carapace should be used for decolorizing. Preliminary fermentation of the broth with Protamex increased concentration of biologically active peptides with low molecular weight in the solution. The fermented and decolorized broth of sea cucumber has good organoleptic properties and high content of biologically active components, as glycosides, amino sugars and low molecular weight peptides, so could be used as the basis for nonalcoholic tonic drinks.

Key words: holothuria, sea cucumber, broth, triterpene glycoside, amino sugar, mineral sorbent, chitosan, enzymatic hydrolysis.

Введение

Отечественный рынок безалкогольных напитков является крупнейшим в Восточной Европе. Он входит в топ-12 Мирового рейтинга, и это на фоне того, что отрасль еще крайне далека от насыщения. По данным Анализа рынка безалкогольных напитков в России [2018]*, подготовленного BusinesStat в 2017 г., за 2012–2016 гг. наибольший объем их продаж в стране был отмечен в 2014 г. и составил более 13,6 млрд л.

Анализ рынка безалкогольных напитков позволяет выделить ряд тенденций. В первую очередь это существенное увеличение числа потребителей, обращающих внимание на состав приобретаемых напитков. Растет спрос на продукты, которые позиционируются как натуральные, поэтому практически все производители при продвижении делают первоочередной акцент на «полезности» своего товара. Развивается интерес к новым оригинальным вкусам, что обусловило актуальность наших исследований по разработке технологии безалкогольных напитков на основе водных биологических ресурсов с использованием биоконверсии сырья дальневосточных голотурий (Holothurioidea) кукумарии *Cucumaria japonica* и дальневосточного трепанга *Apostichopus japonicus*. Как правило, первым этапом обработки голотурий является гидротермическая обработка их в течение 2,0–2,5 ч, в результате чего в варочную воду переходит большое количество биологически активных веществ — водорастворимых фракций коллагена, аминоксахаров и тритерпеновых гликозидов [Slutskaya et al., 2013]. Эти вещества оказывают антиоксидантное действие, препятствуют старению организма, предупреждают возникновение онкологических заболеваний, угнетают рост новообразований, а также обладают иными полезными свойствами [Kalinin et al., 2008; Пат. № 2360692]. На основе варочных вод в настоящее время разработаны технологии нескольких биологически активных добавок к пище, однако получение каждой из них включает такую процедуру, как высушивание [Пат. № 2236155].

Тем не менее сама по себе варочная вода, содержащая упомянутые полезные вещества, уже может служить основой для приготовления функциональных напитков общеукрепляющего действия, которые вполне могут стать дополнением к уже существующим тонизирующим напиткам. Однако этому препятствует ее неприятный привкус и непривлекательный внешний вид: непрозрачная суспензия бурого цвета.

Целью данной работы является разработка способа осветления варочных вод трепанга с максимально возможным сохранением полезных веществ для создания основы безалкогольных напитков.

Материалы и методы

Объектом исследования явилась варочная вода, полученная после гидротермической обработки трепанга (соотношение вода–трепанг — 1 : 1, время варки — 2,0–2,5 ч, кратность варки — 3).

* Анализ рынка безалкогольных напитков в России. BusinesStat, 2018. 153 с.

В качестве сорбентов использовали минеральные сорбенты — перлит и бентонит, а также хитозаны с различной молекулярной массой (ММ). Хитозаны из панциря камчатского краба (ММ 1300 кДа) и углохвостой креветки (ММ 151 кДа) изготовлены по ТУ 9283-174-00472012-08. Хитозаны с молекулярными массами 587; 402; 151; 30,3; 8,4; 3,4 кДа получены методом ферментативного гидролиза («Целлолюкс-А» ООО ПО «СИББИОФАРМ», 2000 ед./г) [Позднякова и др., 2013].

Эффективность каждого из применяемых сорбентов оценивали по степени осветления варочной воды путем анализа спектров поглощения, которые снимали на спектрофотометре Shimadzu UV 3101 PC, предварительно установив длину волны максимального поглощения 310 нм.

Содержание тритерпеновых гликозидов определяли по методу Аминина [Аминин и др., 1981]. Аминосакхара определяли по методу Элсон-Моргана [Elson, Morgan, 1933].

Протеолиз варочной воды проводили с использованием ферментного препарата Protamex (Novozymes, Denmark), активность 1,5 AU/g; 2 % m/v; t = 55 °C; pH 6,5; 4 ч [Аюшин и др., 2016].

Анализ фракционного состава белков и пептидов проводили методом жидкостной хроматографии (АКТА Explorer, Amersham Biosciences), колонка Superdex peptide (1,0 × 30 cm), УФ-детектор, подвижная фаза 0,1 N NaCl-20 mM Tris-HCl, pH 8,0, скорость потока 0,1–0,3 мл/мин, $\lambda = 280$ нм.

Молекулярную массу пептидов рассчитывали с помощью маркеров молекулярной массы (Sigma-Aldrich): карнозин (226 Да), бацитрацин (1422 Да), апротинин (6500 Да), цитохром (12500 Да), миоглобин (18000 Да), используя сравнение времени удерживания.

Результаты и их обсуждение

Обработка варочной воды трепанга перлитом и бентонитом проводилась путем добавления сухого сорбента в воду в соотношении 1 : 20 с последующим фильтрованием. Как следует из данных табл. 1 и рис. 1, использование бентонита не приводит к снижению концентрации тритерпеновых гликозидов в варочной воде, однако не оказывает и значимого осветляющего эффекта. Использование перлита хотя и способствует осветлению варочной воды, но при этом существенно снижает количество гликозидов.

Таблица 1

Оптическая плотность и содержание тритерпеновых гликозидов в варочной воде трепанга, обработанной минеральными сорбентами

Table 1

Decolorizing degree and triterpene glycosides content in the broth of sea cucumber treated with mineral sorbents

Способ обработки варочной воды	Оптическая плотность при 310 нм	Содержание тритерпеновых гликозидов, мг/мл
Необработанная (н/о)	2,70	2,8 ± 0,3
Перлит	1,82	1,7 ± 0,2
Бентонит	2,60	2,8 ± 0,3

Хитозаны из панциря камчатского краба и панциря углохвостой креветки растворяли в 3 %-ной уксусной кислоте и добавляли к варочной воде при соотношении варочная вода : раствор хитозана = 10 : 1. После формирования и удаления осадка были сняты спектры поглощения всех образцов надосадочной жидкости (рис. 2, 3).

Для оценки эффективности осветления был рассчитан «эффект осветления» как процентное соотношение разницы оптической плотности исходного и экспериментального образцов к исходному. Во всех образцах было определено содержание тритерпеновых гликозидов и аминосакхаров (табл. 2, 3).

Результаты показывают, что максимальное осветление варочной воды было достигнуто при обработке хитозаном из панциря углохвостой креветки, имеющим молекулярную массу 8,4 кДа. Установлено, что во всех случаях содержание гликозидов

Рис. 1. Спектры поглощения варочной воды трепанга, обработанной минеральными сорбентами

Fig. 1. Spectra of absorption for the broth of sea cucumber treated with mineral sorbents

Рис. 2. Спектры поглощения варочной воды трепанга, обработанной хитозанами из панциря камчатского краба различной молекулярной массы

Fig. 2. Spectra of absorption for the broth of sea cucumber treated with chitosan of red king crab carapace with certain molecular weight

Рис. 3. Спектры поглощения варочной воды трепанга, обработанной хитозанами из панциря углохвостой креветки различной молекулярной массы

Fig. 3. Spectra of absorption for the broth of sea cucumber treated with chitosan of shrimp shell with certain molecular weight

снизилось более чем в два раза, однако содержание аминокислот существенно выше в случае применения хитозанов из краба.

Таблица 2

Характеристика варочной воды трепанга, обработанной хитозаном
из панциря камчатского краба

Table 2

Properties of the broth of sea cucumber treated with chitosan of red king crab carapace

ММ хитозана, кДа	Оптическая плотность, 310 нм	Эффект осветления, %	Содержание тритерпеновых гликозидов, мг/мл	Содержание аминосахаров, мг/мл
1300	1,38	44,8	1,3 ± 0,2	2,7 ± 0,3
587	1,62	35,2	1,2 ± 0,1	2,1 ± 0,2
402	1,63	34,8	1,2 ± 0,1	2,0
151	1,60	36,0	1,2 ± 0,1	2,0
Варочная вода н/о	2,5	100,0	2,8 ± 0,3	2,5 ± 0,3

Таблица 3

Характеристика варочной воды трепанга, обработанной хитозаном
из панциря углохвостой креветки

Table 3

Properties of the broth of sea cucumber treated with chitosan of shrimp shell

ММ хитозана, кДа	Оптическая плотность, 310 нм	Эффект осветления, %	Содержание тритерпеновых гликозидов, мг/мл	Содержание аминосахаров, мг/мл
151,0	1,62	35,2	1,2 ± 0,1	1,1 ± 0,1
30,3	1,59	36,4	1,2 ± 0,1	1,1 ± 0,1
8,4	1,12	55,2	1,2 ± 0,1	1,1 ± 0,1
Варочная вода н/о	2,5	100,0	2,8 ± 0,3	2,5 ± 0,2

Эксперименты показали, что в целом эффект осветления почти не зависит от источника и молекулярной массы хитозана. Можно отметить действие высокомолекулярного хитозана из краба и низкомолекулярного хитозана (ММ 8,4 кДа) из углохвостой креветки (табл. 2, 3). Выбор сорбента проводился по максимальному количеству биологически активных веществ в полученном растворе. С учетом наибольшего содержания в результирующем растворе аминокислот при относительно равном содержании гликозидов можно заключить, что высокомолекулярный крабовый хитозан (ММ 1300 кДа) является наиболее перспективным сорбентом для осветления варочных вод трепанга.

Как следует из данных табл. 4, наиболее очищенными от пигмента являются варочные воды, полученные с применением хитозана в концентрации 1,5–3,0 %. При этом прослеживалось снижение количества гликозидов при увеличении концентрации хитозана. Учитывая полученные данные, можно предположить, что рациональной является концентрация хитозана от 0,5 до 1,5 %.

Для разрушения белковой части варочная вода была подвергнута протеолизу с применением протамекса (2 % m/v, pH 6,5, 4 ч, 55 °C), а затем очищена хитозаном (ММ 1300 кДа) с концентрацией 1,5 %. Результаты показали, что это приводит к наиболее значительному осветлению раствора (эффективность 64 %) и к почти полному сохранению гликозидов (82 % от исходного). Такой способ осветления варочной воды позволяет получить слабоокрашенный раствор и полностью удалить неприятный привкус.

Для оценки изменения водорастворимых белков и пептидов в варочных водах после применения сорбентов и ферментализации проводили анализ фракционного состава белков до и после обработки варочной воды.

Согласно данным табл. 5 белковая часть необработанных варочных вод содержит до 36,7 % белков с молекулярной массой более 30 кДа. Обработка хитозаном с низкой молекулярной массой (ММ 151 кДа) не приводит к снижению доли этих белков. В то же время при протеолизе варочных вод ферментным препаратом Протамекс с последующей обработкой хитозаном (ММ 1300 кДа) происходит снижение доли вы-

Таблица 4

Зависимость осветления и содержания тритерпеновых гликозидов от концентрации хитозана (ММ 1300 кДа)

Table 4

Decolorizing degree and triterpene glycosides content dependence on concentration of chitosan (molecular mass 1300 kDa)

Концентрация хитозана, %	Оптическая плотность, А	Содержание гликозидов, мг/мл
0,1	1,5	1,2 ± 0,1
0,5	1,4	1,0 ± 0,1
1,0	1,5	0,8 ± 0,1
1,5	0,9	1,0 ± 0,1
2,0	0,8	0,5 ± 0,1
3,0	0,6	0,0

Таблица 5

Молекулярно-массовое распределение белков и пептидов в варочных водах трепанга

Table 5

Molecular-weight composition of proteins and peptides in the broth of sea cucumber

Способ обработки варочной воды	Фракционный состав белков и пептидов варочных вод, %			
	> 30 кДа	10–3 кДа	3–1 кДа	< 1 кДа
Исходная (контроль)	36,7 ± 3,1	21,6 ± 2,5	31,2 ± 2,3	10,5 ± 2,2
Хитозан из креветки, 151 кДа	40,6 ± 3,1	–	52,4 ± 2,2	7,0 ± 1,2
Хитозан краба, 1300 кДа	40,5 ± 4,4	16,8 ± 2,6	35,2 ± 4,1	7,5 ± 1,1
Протамекс+ Хитозан краба, 1300 кДа	16,8 ± 1,2	21,1 ± 2,3	37,0 ± 2,8	25,1 ± 3,1

сокомолекулярных компонентов в два раза. Отмечено, что доля низкомолекулярных белков и пептидов с молекулярной массой 3–10 кДа отсутствовала в варочных водах, обработанных хитозаном из креветки, тогда как в варочных водах, обработанных хитозаном с высокой молекулярной массой и протамексом, их доля составляла 16–21 %, что сопоставимо с долей низкомолекулярных белков в исходных варочных водах. Как известно из литературы, наибольшую биологическую активность проявляют пептиды голотурий, имеющие молекулярную массу 3 кДа и ниже [Park et al., 2012; Pérez-Vega et al., 2013; Tripoteau et al., 2015], поэтому наличие низкомолекулярных пептидов от 42,7 до 62,1 % позволяет обоснованно предполагать, что данный продукт может обладать функциональными свойствами.

Выводы

Таким образом, наиболее перспективным является применение высокомолекулярного хитозана из панциря камчатского краба (в концентрации 1,5 %) с предварительной обработкой исходной варочной воды протеолитическим ферментом. Полученная жидкость, содержащая высокое количество тритерпеновых гликозидов, аминсахаров и низкомолекулярных пептидов, прозрачна, имеет приятный розоватый оттенок.

Полученные результаты являются основанием для проведения дальнейших исследований по использованию варочных вод голотурий в качестве основы безалкогольных тонизирующих напитков.

Финансирование работы

Исследование не имело спонсорской поддержки.

Соблюдение этических стандартов

Настоящая статья не содержит исследований с использованием животных в качестве объектов.

Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

Информация о вкладе авторов

Е.В. Охота — организация, планирование и проведение экспериментов, обработка данных, написание и редактирование статьи; А.И. Чепкасова — проведение экспериментов, обработка данных, редактирование статьи; Е.П. Караулова — проведение экспериментов, обработка данных; Т.Н. Слуцкая — организация, планирование экспериментов, анализ данных, написание, оформление и редактирование статьи.

Список литературы

Аминин Д.Л., Шевцова Е.Б., Анисимов М.М., Кузнецова Т.А. Спектрофотометрическое определение стихопозита А из голотурии *Stichopus japonicus* // Антибиотики. — 1981. — Т. 26, № 8. — С. 585–589.

Аюшин Н.Б., Караулова Е.П., Карлина А.Е. и др. Отходы переработки дальневосточных голотурий как сырье для получения биологически активных добавок к пище // Изв. ТИНРО. — 2016. — Т. 186. — С. 238–246.

Пат. РФ № 2236155. Способ комплексной переработки голотурий, биологически активная добавка «Акмар», кормовая биологически активная добавка / Г.Н. Тимчишина, Т.Н. Слуцкая, А.Е. Афанасьева и др. — Заявлено 05.08.2002; Оpubл. 20.09.2004; Бюл. № 26.

Пат. РФ № 2360692. Средство, стимулирующее апоптоз клеток лейкемии человека / С.Н. Федоров, Л.К. Шубина, И.И. Капустина и др. — Заявлено 21.12.2007; Оpubл. 10.07.2009; Бюл. № 19.

Позднякова Ю.М., Ковалев Н.Н., Чепкасова А.И. Зависимость сорбции протеолитических ферментов от вязкости хитозанов различного происхождения // Изв. ТИНРО. — 2013. — Т. 175. — С. 291–298.

Elson L.A., Morgan W.T.J. A colorimetric method for the determination of glucosamine and chondrosamine // Biochem. J. — 1933. — Vol. 27, Iss. 6. — P. 1824–1828. DOI: 10.1042/bj0271824.

Kalinin V.I., Aminin D.L., Avilov S.A. et al. Triterpene glycosides from sea cucumbers (Holothurioidea, Echinodermata). Biological activities and functions // Studies in Natural Products Chemistry. — 2008. — Vol. 35. — P. 135–196. DOI: 10.1016/S1572-5995(08)80006-3.

Park Soo-Yeong, Lim Hee Kyoung, Lee Seogjae et al. Pepsin-solubilised collagen (PSC) from Red Sea cucumber (*Stichopus japonicus*) regulates cell cycle and the fibronectin synthesis in HaCaT cell migration // Food Chemistry. — 2012. — Vol. 132, Iss. 1. — P. 487–492. DOI: 10.1016/j.foodchem.2011.11.032.

Pérez-Vega J.A., Olivera-Castillo L., Gómez-Ruiz J.A., Hernández-Ledesma B. Release of multifunctional peptides by gastrointestinal digestion of sea cucumber (*Isostichopus badionotus*) // J. Functional Foods. — 2013. — Vol. 5, Iss. 2. — P. 869–877. DOI: 10.1016/j.jff.2013.01.036.

Slutskaya T.N., Kim A.G., Chernova E.V. The changes of the quantitative content of biologically active substances and collagen under the thermal processing of Holothurian (Holothurioidea) // Materials of the International Scientific Conference «Ecology of the Marginal seas and their basins». — Vladivostok : FEFU, 2013. — P. 285–291.

Tripoteau L., Bedoux G., Gagnon J., Bourgougnon N. *In vitro* antiviral activities of enzymatic hydrolysates extracted from byproducts of the Atlantic holothurian *Cucumaria frondosa* // Process Biochemistry. — 2015. — Vol. 50, Iss. 5. — P. 867–875. DOI: 10.1016/j.procbio.2015.02.012.

References

Aminin, D.L., Shevtsova, E.B., Anisimov, M.M., and Kuznetsova, T.A., Spectrophotometric determination of stioposide A from holothurium *Stichopus japonicus*, *Antibiotiki*, 1981, vol. 26, no. 8, pp. 585–589.

Ayushin, N.B., Karaulova, E.P., Karlina, A.E., Chepkasova, A.I., and Slutskaya, T.N., Wastes after processing of Far-Eastern holothurians as a raw material for production of biologically active supplements for food, *Izv. Tikhookean. Nauchno-Issled. Inst. Rybn. Khoz. Okeanogr.*, 2016, vol. 186, pp. 238–246.

Timchishina, G.N., Slutskaya, T.N., Afanasyev, A.E., Pavel, G.K., and Andreev, N.G., RF Patent no. 2236155, Method for complex processing of holothuria, Akmar dietary supplement, biologically active feed additive, *Byul.*, 2004, no. 26.

Fedorov, S.N., Shubina, L.K., Kapustina, I.I., Avilov, S.A., Stonik, V., Shastina, V.V., Kvak Yang Yong, Park Joo Yi, Jin Joon O, Kwon Young Hee, RF Patent no. 2360692, Means, stimulating apoptosis of human leukemia cells, *Byul.*, 2009, no. 19.

Pozdnyakova, Yu.M., Kovalev, N.N., and Chepkasova, A.I., Dependence of proteolytic enzymes sorption on viscosity of chitosans of different origin, *Izv. Tikhookean. Nauchno-Issled. Inst. Rybn. Khoz. Okeanogr.*, 2013, vol. 175, pp. 291–298.

Elson, L.A. and Morgan, W.T.J., A colorimetric method for the determination of glucosamine and chondrosamine, *Biochem. J.*, 1933, vol. 27, no. 6, pp. 1824–1828. doi 10.1042/bj0271824

Kalinin, V.I., Aminin, D.L., Avilov, S.A., Silchenko, A.S., and Stonik, V.A., Triterpene glycosides from sea cucumbers (Holothurioidea, Echinodermata). Biological activities and functions, *Studies in Natural Products Chemistry*, 2008, vol. 35, pp. 135–196. doi 10.1016/S1572-5995(08)80006-3

Park, Soo-Yeong, Lim, Hee Kyoung, Lee, Seogjae, Hwang, Hyeong Cheol, Cho, Somi Kim, Cho, Moonjae, Pepsin-solubilised collagen (PSC) from Red Sea cucumber (*Stichopus japonicus*) regulates cell cycle and the fibronectin synthesis in HaCaT cell migration, *Food Chemistry*, 2012, vol. 132, no. 1, pp. 487–492. doi 10.1016/j.foodchem.2011.11.032

Pérez-Vega, J.A., Olivera-Castillo, L., Gómez-Ruiz, J.A., Hernández-Ledesma, B., Release of multifunctional peptides by gastrointestinal digestion of sea cucumber (*Isostichopus badionotus*), *J. Functional Foods*, 2013, vol. 5, no. 2, pp. 869–877. doi 10.1016/j.jff.2013.01.036

Slutskaya, T.N., Kim, A.G., and Chernova, E.V., The changes of the quantitative content of biologically active substances and collagen under the thermal processing of Holothurian (Holothurioidea), *Materials of the International Scientific Conference «Ecology of the Marginal seas and their basins»*, Vladivostok: FEFU, 2013, pp. 285–291.

Tripoteau, L., Bedoux, G., Gagnon, J., and Bourgougnon, N., *In vitro* antiviral activities of enzymatic hydrolysates extracted from byproducts of the Atlantic holothurian *Cucumaria frondosa*, *Process Biochemistry*, 2015, vol. 50, no. 5, pp. 867–875. doi 10.1016/j.procbio.2015.02.012

Analiz rynka bezalkogol'nykh napitkov v Rossii (Market analysis of soft drinks in Russia), *BusinesStat*, 2018.

Поступила в редакцию 13.12.2019 г.

После доработки 21.01.2020 г.

Принята к публикации 20.02.2020 г.