

УДК 5+664

РАЗВИТИЕ ХИМИЧЕСКИХ ИССЛЕДОВАНИЙ ПО ИСКУССТВЕННОЙ И СИНТЕТИЧЕСКОЙ ПИЩЕ

*В. М. Беликов, С. В. Рогожин, Г. Л. Слонимский,
Р. В. Головня, Б. В. Толстогузов*

1. Введение

Идея о своевременности начала практических работ по получению пищи промышленными методами, минуя сельское хозяйство, была высказана А. Н. Несмеяновым в начале 1961 года. Эта идея была основана, с одной стороны, на трудах великих химиков прошлого — Д. И. Менделеева и М. Берто, а с другой,— на понимании современного состояния науки о физиологии питания и успехах химической промышленности¹. Действительно, к этому времени выяснилось, что человек может удовлетворить все свои физиологические потребности, питаясь исключительно рационом, состоящим из веществ, приготовленных синтетически. Это давало уверенность в знании главных ингредиентов питания.

Огромные мощности органического синтеза, достигшие в производстве полимерных продуктов миллионов тонн в год, сделали реальной постановку вопроса о создании промышленности пищевых продуктов. Так, если бы весь белок, необходимый для питания страны с населением 250 млн. чел., производился промышленным путем, то его нужно было бы получать около 6 млн. тонн в год.

Вместе с тем очень остро встал вопрос о нехватке питания, особенно белкового. По данным Организации Объединенных Наций, около двух третей населения земного шара находятся в настоящее время в состоянии хронического недоедания, а часто и полного голода².

Не меньшую тревогу вызывает прогрессивное разрушение экосферы Земли и связанное с этим истощение природных ресурсов³.

Таким образом, в противоположность XIX веку, появились необходимость и реальные предпосылки для практического решения вопроса о производстве синтетической пищи. Оставалось все же еще одно затруднение, без преодоления которого нельзя было и думать о пропаганде нового пути получения пищи. Затруднение это состоит в высокой цене синтетических пищевых веществ, используемых для приготовления синтетических рационов. Вещества эти — аминокислоты, жирные кислоты, некоторые витамины, продаваемые в виде реактивов,— стоили непомерно дорого. А ведь именно экономика должна в конечном счете сделать выбор между различными способами получения пищи. Кроме того, необходимо было придать синтетическим смесям вкус в широком понимании этого слова, включающем запах, собственно вкус, форму, текстуру и т. п.

Для решения всех этих проблем под руководством А. Н. Несмеянова в ордена Ленина Институте элементоорганических соединений АН СССР были развернуты лабораторные исследования по получению пищевых аминокислот, белков и других пищевых веществ, по изучению и воспроизведению приятных естественных запахов приготовленной пищи, по

исследованию физических и химических процессов структурообразования. Возникла необходимость в разработке ряда теоретических и прикладных вопросов биохимии, органической, физической и аналитической химии и фактически был заложен фундамент новой отрасли науки — науки о синтетической пище.

При сравнении различных путей индустриального получения пищевых веществ наиболее перспективным в настоящее время представляется микробиологический синтез. А. Н. Несмиянов первым понял огромные потенциальные возможности этого метода и по его инициативе в 1963 году в Советском Союзе были развернуты комплексные работы по выращиванию дрожжей на углеводородах нефти. В результате уже к 1967 году вступило в строй несколько опытно-промышленных производств дрожжевой биомассы.

Эта биомасса содержит $\sim 40\%$ полноценного по аминокислотному составу белка, а также жиры и витамины. Используется она пока как кормовой продукт. Однако значительно более рентабельным представляется использование этих дрожжей непосредственно в питании человека³. Естественно, что для этого полезные составные части должны быть выделены, очищены от ингредиентов, имеющих сомнительную питательную ценность и превращены в пищевые формы, имеющие необходимый запах и вкус.

Изложению работ, в основном проводимых под руководством А. Н. Несмиянова, и направленных на решение этой задачи, и посвящен настоящий обзор.

2. Белки и питание

Основную долю аминокислот, необходимых для жизнедеятельности, человек получает в форме различных белков, содержащихся в продуктах растительного и животного происхождения. Большой белковый дефицит крайне остро ставит вопрос о повышении эффективности использования пищевых белков, а также о привлечении новых необычных источников белков, которые могут быть использованы в решении проблемы питания непосредственно, или через животноводство.

Первый путь — использование белков необычного происхождения непосредственно в питании человека представляется более перспективным, так как сокращение пищевой цепи увеличивает эффективность использования белков более чем в пять раз, т. е. для достижения тех же самых результатов нужно производить значительно меньше белков, чем при получении белковых продуктов питания традиционными методами через животноводство¹.

Кроме того, выделение из различных источников белков, с одновременной их очисткой от посторонних, иногда и вредных примесей, позволяет при использовании их в питании не только увеличивать биологическую ценность белков, но получать продукты питания с необходимым аминокислотным составом и комплексом других пищевых компонентов нужного состава, взятых в оптимальных количествах, т. е. превратить продукты питания в достаточно мощное средство регулирования биохимических процессов организма человека.

Кроме обычных животных и растительных источников белков, уже зарекомендовавших себя в питании, имеется большое число источников достаточно полноценных белков, особенно растительных, которые не находят широкого применения в питании из-за тех или иных сопутствующих примесей. В табл. I приведены данные о мировом производстве масличных культур, содержащих большие количества белков, достаточно

ТАБЛИЦА 1

Главные масличные культуры

Наименование	Среднее содержание белков, %	Содержание липидов, %	Мировое производство, тыс. тонн	Главные производящие страны	Факторы, мешающие использованию для питания
Соевые бобы	42	20	35 000	США, Китай	Ингибиторы трипсина хемотрипсина, гемоглобинин, сапонины,
Арахис	27	48	14 800	Индия, Сенегал, Нигерия	Афлотоксины, сапонины
Семена хлопка	30	30	20 600	США, Индия, СССР, Мексика, ОАР, Бразилия, Пакистан	Госсипол, афлотоксины
Восточный кунжут	25	50	1500	Китай, Индия, Судан, Мексика	Оксалаты, волокна
Семена подсолнечника	30	40	6840	СССР, Аргентина, Уругвай, Ю. Африка, Турция	Волокна

полноценных в пищевом отношении⁴. Однако богатые белками семена хлопка содержат обладающий токсичностью госсипол, в бобах сои содержится ряд ингибиторов роста и ингибиторов пищеварительных ферментов, семена клещевины содержат рицин и ряд аллергенов, в некоторых растительных плодах содержатся глюкозиды, выделяющие цианиды и различные ингибиторы биологических процессов⁵. Такие белковые продукты, естественно, могут широко применяться в питании только после изолирования белков и очистки их от вредных примесей.

Еще более богатые источники полноценных белков имеются в микромире среди различных водорослей, дрожжей и непатогенных микроорганизмов⁶⁻⁹. Так, широко распространенные дрожжевые культуры *Candida tropicalis* и *Torula*, основой для роста которых служат отходы производства спиртовой промышленности и углеводороды, являются богатым источником ценных белков¹⁰ (табл. 2).

ТАБЛИЦА 2

Компоненты	<i>Torula</i>	<i>Candida tropicalis</i>	Компоненты	<i>Torula</i>	<i>Candida tropicalis</i>
Сухие вещества, %	93,0	92,7	Витамин, мг/кг		
Белок (суммарный), %	34,0	43,6	Тиамин (<i>B</i> ₁)	80	3,16
Углеводы, %	34,0	21,0	Рибофлавин (<i>B</i> ₂)	120	75
Жиры, %	7,8	18,5	Никотиновая кислота (Р—Р)	800	180—200
Неорганические вещества (зола), %	7,5	4,43	Пантотеновая кислота (<i>B</i> ₃)	47	150—192
			Пиридоксин (<i>B</i> ₆)	26	23

Исключительно большая скорость синтеза белков микроорганизмами, а также возможность организации их производства в больших масштабах индустриальными методами предоставляет значительные потенциальные возможности быстрого увеличения белковых ресурсов микробиологическим путем. Приведенные в табл. 3 данные о скорости накопления биомассы различными организмами показывают, что скорость синтеза белков микроорганизмами превышает более чем на три порядка скорость синтеза белков высшими организмами.

Следует отметить, что в отличие от большинства растительных белков, часто дефицитных по лизину, триптофану и метионину, белки, синтезируемые микроорганизмами, значительно ближе по составу к животным белкам и хорошо усваиваются в изолированном состоянии.

Несмотря на неоднократные попытки использовать в питании человека различные дрожжи без выделения из них белков, особенно в необычных условиях (война, засуха и т. п.), микробиологические продукты до сих пор не нашли широкого применения в питании без дополнительной химической переработки из-за ряда присущих им качеств (привкус, запах, внешний вид).

ТАБЛИЦА 3

Время двукратного увеличения биомассы
растущих организмов в фазе максималь-
ного роста¹¹

Наименование организмов	Время, час.
Бактерии и дрожжи	0,3—2
Грибы и хлорелла	2—6
Трава и растения	144—288
Цыплята	288—576
Поросыта	576—864
Мясной скот	720—1500

Биомасса суммы содержащихся в нем белков, очистка и использование их непосредственно в пищевых целях. В этом случае могут быть устранены все факторы: цвет, запах, посторонний вкус, препятствующие широкому применению новых источников белков в питании, что одновременно увеличит биологическую ценность таких белков. Так, например, в работе Мицуда, Ясумото и Фурукава¹² показано, что изолированные белки культуры *Micrococcus glutamicus* по аминокислотному составу не отличаются от белка куриных яиц.

Приведенный в табл. 4 аминокислотный состав выделенных микробиологических белков указывает на значительно большую их сбалансированность по сравнению с растительными белками.

При определении пищевой ценности изолированных экстракций мочевиной суммарных белков штамма *Torula* было найдено, что выделенный продукт значительно лучше усваивается и переваривается, чем це-

ТАБЛИЦА 4

Аминокислотный состав белков в % от суммы десяти важнейших аминокислот

Аминокислоты	Продукты									
	мясо (сви- нина)	сухое обез- жиренное молоко	цефоз яйцо	белок <i>Micrococcus glutamicus</i>	белок дрожжей <i>Torula</i>	белый хлеб	овсяная мука	земля- ной орех	кори- флекс	
Аргинин	11,8	6,0	10,3	14,4	—	9,5	12,3	30,4	4,4	
Валин	10,7	13,3	12,1	14,1	8,8	15,9	13,1	9,7	12,2	
Изолейцин	9,9	10,5	9,9	11,1	13,4	12,0	9,7	8,3	9,3	
Лейцин	18,4	19,5	15,9	17,3	18,2	20,4	19,0	14,7	39,2	
Лизин	16,8	16,3	13,1	12,3	21,0	7,3	8,1	8,7	1,8	
Метионин	5,5	4,9	6,1	3,8	1,2	3,8	4,6	2,1	4,9	
Треонин	8,9	8,8	8,6	9,2	12,8	8,9	8,7	5,7	8,5	
Триптофан	2,8	3,1	2,9	2,8	2,4	3,7	2,8	2,6	1,5	
Тирозин	6,9	8,3	7,2	5,4	10,0	5,7	7,7	6,5	4,6	
Фенилаланин	8,3	9,4	9,4	9,3	11,9	14,1	14,2	11,4	13,5	

льные клетки дрожжей¹³. При использовании в качестве источников белков хлореллы с неразрушенными клетками были получены аналогичные результаты. В этом случае оказалось, что более 40% азота не всасывалось в желудочно-кишечном тракте¹⁴.

Громадным источником белков может быть зоопланктон Мирового океана¹⁵, роль которого для увеличения ресурсов белков станет реальной после разработки доступных и экономически выгодных методов выделения и очистки белков, содержащихся в микроорганизмах моря.

Необходимость тщательной очистки микробиологических белков, предназначенных для пищевых целей, подтверждается также исследованием биологической ценности и безвредности белково-витаминного концентрата, получаемого из дрожжей, выращенных на углеводородах, и используемого в настоящее время только в качестве кормового белка^{16, 17}.

Извлечение и очистка белков из микробиологического сырья необходимы также и для дальнейшего создания из них приемлемых для человека пищевых форм. Большинство продуктов питания человека имеет сложную структуру, состоящую из трех основных элементов — волокон, пленок и гелей, которые могут быть получены и уже получаются для технических целей в промышленности¹⁸ из белков, представляющих собой полимеры α -аминокислот.

Белки, как и смесь аминокислот, белые, практически лишенные запаха и вкуса порошки, мало приемлемы в таком виде для питания. Однако комплекс физико-химических свойств белков позволяет, о чем сообщено ниже, получать на их основе любые структурные элементы привычных пищевых форм и создавать на их основе новые пищевые формы.

Как известно, биомасса после ферментации и отделения от культуральной среды содержит в себе очень много ценных в питательном отношении веществ: до 40% на сухой вес белков, некоторое количество свободных аминокислот, жиры, полиглеводы, витамины, нуклеиновые кислоты и различные другие соединения. С точки зрения химика, одноклеточный организм — это сложная система, состоящая из полимеров трех типов и большого числа низкомолекулярных соединений, входящих как в состав клеточных оболочек, мембран и других структурных элементов клетки, так и находящихся в цитоплазме.

В связи с полупроницаемым характером клеточных мембран и других структурных образований клетки, часть низкомолекулярных соединений — неорганические соли, витамины, свободные аминокислоты и часть липидов — может быть извлечена из клеточного материала без разрушения клетки и ее структурных элементов.

Белки по своей химической природе в большинстве случаев сравнительно легко растворяются в воде или водно-солевых растворах при различных значениях pH в зависимости от характера белков, и из полученных растворов могут быть выделены в чистом виде. Однако из-за нерастворимости внешней оболочки одноклеточных и полимерного характера белков, выделение их в чистом виде без разрушения клеточных мембран практически невозможно.

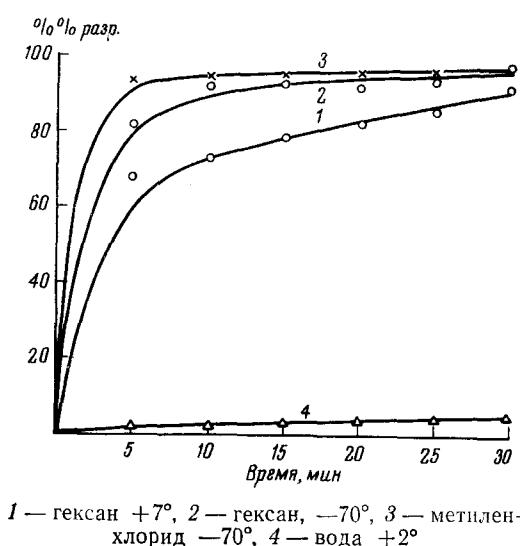
В литературе описан ряд способов извлечения нативных белков из микробиологического материала, в которых обычно преследовалась прежде всего цель сохранить ферментативную активность белков, их надмолекулярную структуру, а также получить узкие белковые фракции и, по возможности, индивидуальные белки^{19–21}. Эти методы, как правило, отличаются малой производительностью, сложностью технического оформления и мало пригодны для получения белков в больших количествах.

Используя опыт по получению мелкодисперсного алюминия для синтеза катализаторов полимеризации этилена по Циглеру, удалось создать метод разрушения клеточного материала в достаточно больших количествах (1 кг сухого материала на 1 операцию). В результате большого числа экспериментов было установлено, что при температуре 10—15° в течение 15—20 мин. имеет место практически полное разрушение клеточных оболочек.

Было найдено, что эффективность разрушения клеточных оболочек зависит от природы среды, в которой производятся разрушения; так на

рисунке показано изменение степени разрушения клеточных оболочек, рассчитанной по данным электронной микроскопии в разных средах, в зависимости от времени и температуры.

Как видно из рисунка, вода совершенно не может быть использована для этих целей. Наиболее подходящей средой для разрушения клеточных оболочек оказался хлористый метилен, широко применявшийся в производстве ацетатного шелка. Так же эффективно идет разрушение и в других низкокипящих обезвоженных органических растворителях: серный эфир, ацетон, спирт и т. п. Большим достоинством



метода является его универсальность, что позволяет получать белки из разнообразного микробиологического и растительного сырья.

Разрушение клеточных мембран в хлористом метилене, в котором хорошо растворяются парафины и липиды, сопровождается эффективным извлечением из микробиологического материала жиров и углеводородов, а также жирорастворимых витаминов, которые затем могут быть выделены и использованы из экстрагента. Полное извлечение липидов существенно облегчает дальнейшее выделение белков и обеспечивает более высокую степень чистоты конечного продукта.

Разрушенный клеточный материал после тщательного удаления органического растворителя может быть использован для выделения нуклеиновых кислот и белков.

Нуклеиновые кислоты, которые в результате ферментолиза превращаются в нуклеотиды²², из которых инозинат и гуанилат натрия — лучшие вкусовые добавки, извлекаются в форме нуклеопротеидов экстракцией 10%-ным раствором NaCl. Белки переводятся в раствор, после извлечения нуклеиновых кислот, обработкой разрушенного клеточного материала слабыми растворами щелочей (0,2 раствора NaOH) и очищаются переосаждением соляной, уксусной кислотами, или электродиализом. Остатки клеточных оболочек и других структурных элементов клетки при выделении нуклеиновых кислот и белков отделяют от растворов центрифугированием или фильтрованием.

Выход белков на основе лабораторных экспериментов составляет 65—75% (25—29% от сухого веса) при 80—95%-ной степени чистоты. Полученные белковые продукты не содержат минеральных примесей

(зольность менее 0,5%), нуклеиновых кислот (фосфор — следы), а также органических примесей липидного и углеводородного характера. В качестве единственной примеси полученные продукты содержат 10—15% олигосахаридов, входящих в состав клеточных оболочек, которые в случае необходимости могут быть удалены дополнительной очисткой.

Аминокислотный состав полученных суммарных белков (см. табл. 5), особенно из дрожжевых культур, указывает на исключительно высокую ценность их в качестве перспективных источников полноценных пищевых белков, так как по своему составу они очень близки к лучшим белкам животного происхождения (белки молока, мяса и т. д.).

ТАБЛИЦА 5

Аминокислотный состав микробиологических белков и белков животного происхождения

Аминокислоты	Мышечный актин	Казеин	Белок дрожжей <i>Candida tropicalis</i>	Белок из <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Белок из <i>Micobacterium rubrum</i>	Белок из хлореллы
Аланин	5,7	3,4	5,7	6,2	8,2	7,0
Аргинин	5,9	3,9	3,9	4,2	8,1	4,1
Аспарагиновая кислота	9,8	7,6	10,6	10,0	7,4	7,8
Валин	4,4	5,7	5,4	5,5	7,0	3,4
Гистидин	2,3	2,6	2,2	2,1	1,6	1,2
Глутаминовая кислота	13,3	20,3	11,5	12,6	12,2	9,6
Глицин	4,7	2,1	4,2	4,4	4,0	4,7
Изолейцин	6,8	5,8	5,7	5,4	3,9	2,3
Лейцин	7,4	7,1	8,8	6,9	7,3	5,3
Лизин	6,8	8,1	7,2	9,2	3,2	5,7
Метионин	4,0	2,3	2,2	1,2	1,6	1,8
Пролин	4,6	6,9	3,6	4,0	2,2	3,6
Серин	5,3	5,7	3,8	5,2	2,5	3,5
Тирозин	5,2	7,3	4,4	3,6	1,9	2,9
Треонин	6,3	4,4	4,1	5,4	4,1	4,1
Триптофан	1,8	1,5	1,5	1,3	1,2	1,3
Фенилаланин	4,3	4,1	5,4	4,7	3,5	3,0

Приложение: Данные по мышечному актину и казеину приведены по каталогу Аджинимото, часть 4, 1965 г. Аминокислотный анализ полученных микробиологических белков выполнен на автоматическом анализаторе производства Чехословакии. Данные по последним двум продуктам несколько занижены из-за содержащихся в них углеводных примесей.

ТАБЛИЦА 6

Содержание аминокислот в микробиологическом сырье и изолированных белках, полученных на его основе

Наименование исходного материала	Триптофан, % в расчете на белок		Метионин, % в пересчете на белок		Общий лизин, % в пересчете на белок		Доступный лизин, % в пересчете на белок		Отношение доступного к общему лизину	
	исход. матер.	суммари. белок	исход. матер.	суммари. белок	исход. матер.	суммари. белок	исход. матер.	суммари. белок	исход. матер.	суммари. белок
<i>Candida tropicalis</i>	0,88	1,52	1,33	2,10	6,60	7,40	5,47	6,82	0,82	0,92
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	0,93	1,27	1,37	1,75	8,78	9,20	6,25	7,92	0,71	0,86
<i>Micobacterium rubrum</i>	0,83	1,20	1,42	1,82	4,51	5,18	3,16	3,59	0,70	0,69
Хлорелла	1,51	1,53	1,98	2,10	7,53	5,30	4,52	4,55	0,60	0,85

Определение содержания в исходном материале и выделенных белках трех лимитирующих аминокислот — триптофана, метионина и лизина, а также определение в них доступного лизина убедительно подтверждает, что при выделении и очистке биологическая ценность микробиологических белков резко повышается (табл. 6).

Вполне естественно, что возможность использования таких изолированных белков непосредственно для питания людей будет определена после детальных медико-биологических исследований как самих белков, так и новых пищевых продуктов, основанных на их использовании. По своим же физико-химическим свойствам изолированные белки из дрожжевых культур очень близки к казеину и вполне пригодны для получения гранулированных пищевых продуктов типа искусственной белковой зернистой икры, метод получения которой был разработан в ИНЭОС. Полученные образцы черной зернистой икры с использованием дрожжевых белков не отличаются ни физико-механическими, ни органолептическими качествами от икры, полученной на основе молочно-го казеина.

3. Аминокислоты

В последние годы получены важные результаты по изучению питания человека смесями аминокислот, хотя многое еще остается сделать. Можно считать твердо установленным, что для поддержания азотного баланса человеческого организма не существует никакой разницы в том, питается ли человек белками или необходимым образом составленными смесями аминокислот.

В последнее время опубликовано много исследований по длительно-му питанию людей синтетическими диетами²³⁻²⁸. Для примера можно привести аминокислотный состав диеты²³, примененной для питания 22—25-летних мужчин (табл. 7). Остальной (заменимый) азот давали в виде смеси 1 : 1 по весу глицина и диаммоний цитрата. По-видимому, эта смесь является наилучшим источником заменимого азота²⁹⁻³¹.

ТАБЛИЦА 7
Аминокислотный состав диет

Аминокислоты	Количество, г/день	Аминокислоты	Количество, г/день
Изолейцин	1,78	Фенилаланин	2,42
Лейцин	2,60	Тирозин	0,66
Лизин	3,60	Треонин	1,21
Метионин	1,88	Триптофан	0,62
Цистин	0,31	Валин	1,78

Применение таких диет уже не в медицинских, а в пищевых целях может быть ограничено, с одной стороны, необходимостью их структурирования и кулинарной обработки, а с другой,— возможной высокой стоимостью отдельных природных аминокислот. Что касается структурирования, то в результате работ, которые будут изложены ниже, доказано, что это препятствие преодолимо. Что же касается стоимости, то успехи в синтезе аминокислот, достигнутые за последние годы, дают основание надеяться, что и с этой стороны не будет принципиальных затруднений.

Очень перспективен способ получения смесей пищевых аминокислот выращиванием одноклеточных микроорганизмов (обычно дрожжей на сахаристом или углеводородном сырье), гидролиз получающихся при этом белков до аминокислот и их выделение в чистом виде.

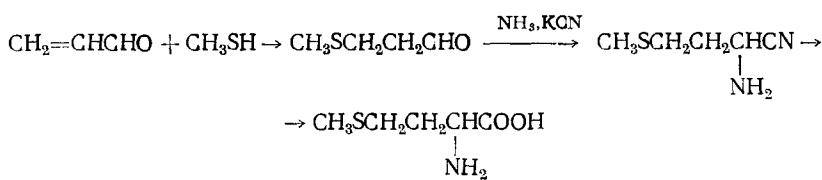
Выращивание дрожжей в настоящее время разработано очень хорошо и осуществляется в промышленном масштабе. Получающаяся при этом биомасса содержит ~40% белков. Действие на эту биомассу протеолитических ферментов приводит к гидролизу белковых молекул³².

Из получаемого таким образом продукта можно выделить сумму хроматографически чистых аминокислот. Для этого используется метод вытеснительной ионообменной хроматографии³³. Раствор последовательно проводят через катионообменную и анионообменную смолы, и аминокислоты как амфотерные соединения отделяются от всех остальных примесей, не имеющих амфотерного характера. Этот продукт представляет собой белый порошок, полностью растворимый в воде. Аминокислотный состав соответствует аминокислотному составу исходного ферментного гидролизата. Изменение аминокислотного состава в желаемом направлении может быть достигнуто добавлением небольших количеств чистых аминокислот. В таком виде продукт может быть использован как основа для синтетического мяса и других съедобных продуктов, для составления синтетических диет, а также в различных областях медицины.

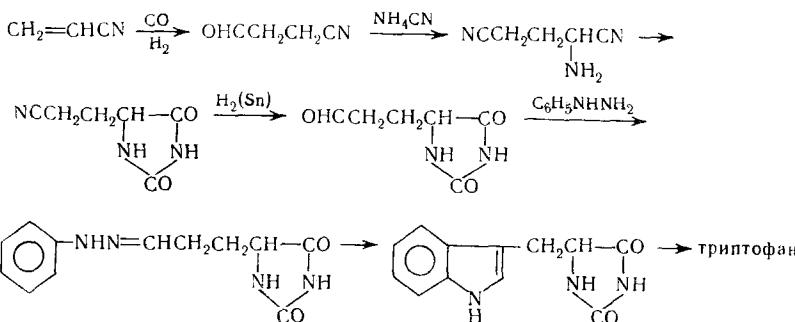
Многие аминокислоты в промышленном масштабе получают микробиологическим путем, выращивая на питательной среде микробы — производители определенной аминокислоты. Наилучшие результаты достигнуты для *L*-глутаминовой кислоты и для *L*-лизина³⁴. В качестве сырья обычно используется глюкоза или более дешевая меласса с добавкой солей аммония в качестве источника азота и других солей, нужных для микроорганизмов. Однако имеются данные, что парафиновые углеводороды также могут служить источником углерода для микроорганизмов — продуцентов аминокислот³⁵. Важнейший предшественник глутаминовой кислоты — α -кетоглутаровая кислота выделяется в среду при выращивании некоторых штаммов дрожжей на смеси нормальных углеводородов состав C_{14} — C_{26} . Из одного килограмма парафинов образуется более 800 г кетоглутаровой кислоты³⁶.

Экономически выгодным в ряде случаев оказывается и чисто химический синтез. В качестве примера можно привести получение *L*-лизина из капролактама, осуществленное голландской фирмой Статсмийнен в промышленном масштабе³⁷.

Имеющееся в нашей стране промышленное производство метионина основывается на следующей схеме³⁸:



В Японии осуществлен совмещенный способ получения глутаминовой кислоты и триптофана из акрилонитрила³⁹. Часть, относящаяся к триптофану, включает следующие стадии:



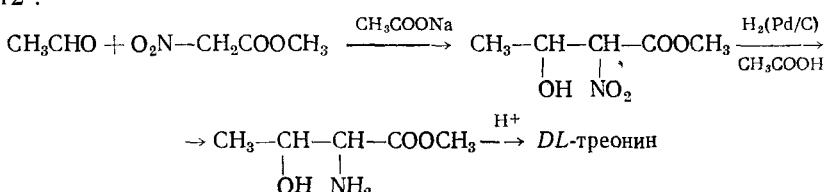
Что касается треонина, то наилучшим методом его получения можно считать осуществленный в Японии в промышленном масштабе синтез Акабори. Реакция заключается во взаимодействии глицината меди с ацетальдегидом в щелочной среде⁴⁰. Как показали наши последние исследования⁴¹, непременным условием протекания этой реакции является образование Шиффова основания, так как если в реакцию вместо глицина ввести *L*-аланин, скорость рацемизации его медного комплекса очень сильно повышается в присутствии ацетальдегида и получающийся метилтреонин всегда рацемизован.

С другой стороны, *N,N*-диметил-*L*-аланин в присутствии ацетальдегида не только не рацемизуется, но и не дает оксиаминокислоты.

В 1957 г. Несмейнов и Фрейдлина разработали новый метод синтеза ω - и α -галоидных кислот на базе реакции теломеризации. Аминирование этих соединений дает с высокими выходами самые различные алифатические, ароматические и гетероциклические аминокислоты⁴².

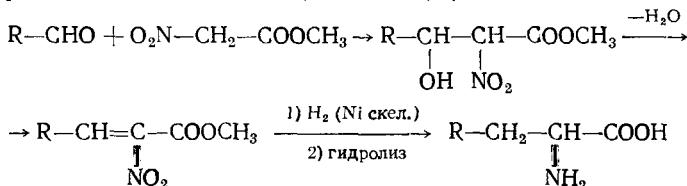
В последнее время описан ряд новых синтезов важнейших незаменимых аминокислот⁴³. Наиболее перспективны для промышленности синтезы, основанные на алифатических нитро-соединениях. Ключевым веществом во всех этих синтезах служит нитрометан — дешевое и доступное сырье. Нитрометан может быть легко превращен⁴⁴ в нитроуксусный эфир $O_2NCH_2COOCH_3$ — очень реакционноспособное соединение, имеющее карбоксильную группу и потенциальную аминогруппу.

В ИНЭОС АН СССР и Ленинградском педагогическом институте разработаны синтезы аминокислот из нитроуксусного эфира, основанные на реакциях конденсации с альдегидами, присоединения к активированной двойной связи, алкилирования галоидными алкилами. Так, при конденсации нитроуксусного эфира с ацетальдегидом в присутствии каталитических количеств ацетата натрия образуется α -нитро- β -оксимасляный эфир. Количественный выход продукта реакции наблюдается в том случае, если ее проводить в отсутствие растворителей и при 10–12°.

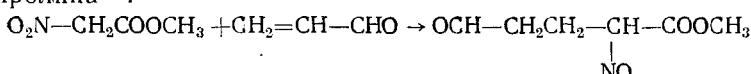


Восстановление α -нитро- β -оксимасляного эфира осуществлялось над Pd-катализатором в автоклаве⁴⁵.

При использовании почти той же последовательности реакций получают и другие α -аминокислоты (лейцин⁴⁶, фенилаланин⁴⁷ и др.):

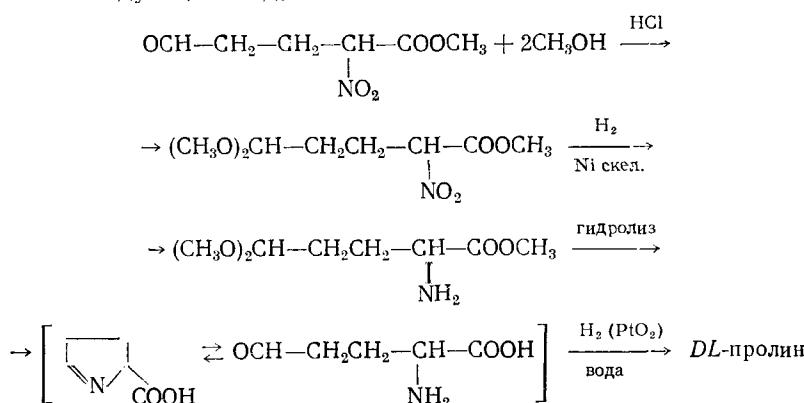


Реакция присоединения нитроуксусного эфира к активированной двойной связи в присутствии оснований была положена в основу синтеза *D,L*-пролина⁴⁸:



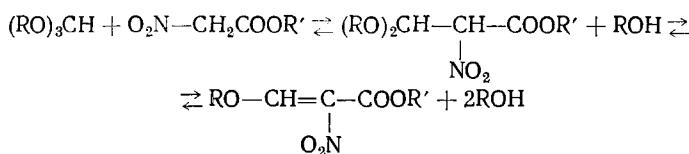
Оказалось, что при гидрировании над скелетным никелевым катализатором продукта этого присоединения образуется *DL*-пролин, но с низким выходом и сильно загрязненный примесями. Это определило необходимость предварительной защиты альдегидной группы, которая в условиях восстановительного алкилирования может вступать в побочные реакции.

Окончательная схема получения *DL*-пролина, свободного от примесей, имеет следующий вид:

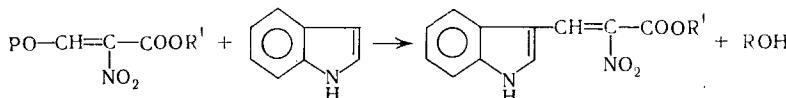


Промежуточным продуктом при синтезе *DL*-пролина является Δ^1 -пирролидонкарбоновая кислота, которая, как известно, участвует в биосинтезе пролина.

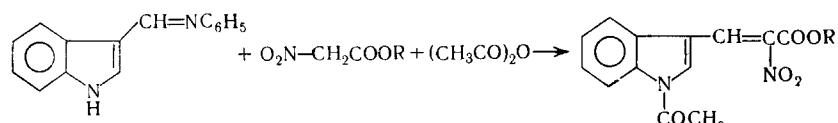
Недавно был разработан также оригинальный способ синтеза *DL*-триптофана⁴⁹. В его основе лежит реакция конденсации индола с эфирами α -алкоксизамещенных α -нитроакриловых кислот. Последние в настоящее время доступны и легко получаются при взаимодействии нитроуксусного эфира с эфирами ортомуравиной кислоты:



Реакция индола с α -нитро- β -алкоксиакриловыми эфирами протекает очень гладко, и в отсутствие катализаторов и растворителей приводит к эфиру α -нитро- β -(3-индолил) акриловой кислоты:

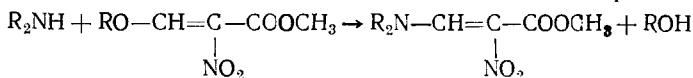


N-Ацильное производное того же эфира было получено при реакции анила индолальдегида с нитроуксусным эфиром в уксусном ангидриде⁵⁰:



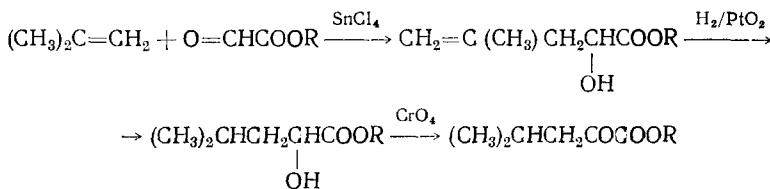
Восстановление обоих эфиров и гидролиз привело к *DL*-триптофану.

Аналогично реакции с индолом протекает взаимодействие α -нитро- β -алкоксиакриловых эфиров с аминами⁵¹. При этом образуются разнообразные замещенные эфиры α -нитро- β -аминоакриловой кислоты — предшественники α , β -диаминокислот:



Одна из важнейших диаминокислот — лизин — была получена присоединением нитроуксусного эфира к нитробутадиену с последующим гидролизом и омылением⁵². Описаны также синтезы *D,L*-лейцина⁵³ и *D,L*-глутаминовой кислоты^{54–56} из нитроуксусного эфира. Путь к лейцину идет через алкилирование галоидным алкилом, а глутаминовая кислота получается после присоединения к акриловому эфиру.

Несомненный интерес представляет вопрос, насколько α -аминокислоты могут быть заменены в диете соответствующим образом построенными α -окси- и α -кетокислотами. В последнем случае дополнительный интерес состоит в том, что α -кетокислоты не имеют асимметрического α -углеродного атома. В связи с этим нужно упомянуть об интересном синтезе кето-аналога лейцина^{58, 59} по схеме:



Естественно, что при химическом синтезе получаются рацемические аминокислоты. Описанные до настоящего времени примеры асимметрического синтеза, пока еще не вышли за рамки лабораторных исследований⁵⁷.

Пищевая ценность рацематов аминокислот, естественно, ниже пищевой ценности природных оптически активных форм.

Для расщепления рацематов α -аминокислот наиболее перспективно использование оптически активных ионообменных сорбентов, ставших доступными в результате исследований, проведенных в ИНЭОС АН СССР⁶⁰. На основе сополимеров стирола с дивинилбензолом, имеющих пространственную сетчатую структуру различной плотности в зависимости от содержания дивинилбензола, были синтезированы диссимметрические сорбенты, содержащие в качестве ионогенных группировок различные оптически активные соединения (*L*- и *D*-формы α -аминокислот, их эфиры и амиды, оптически активные амины и т. п.) с обменной емкостью 3–3.5 мг-экв/г.

При использовании таких сорбентов для разделения рацематов α -аминокислот происходит сильное обогащение выходящих фракций одним из антиподов, а в некоторых случаях их полное разделение⁶¹. Продолжение исследований в этом направлении несомненно позволит получить доступный метод выделения обоих *L*- и *D*-изомеров α -аминокислот, что обеспечит этому методу большие преимущества по сравнению с другими. Получающиеся в результате *D*-изомеры *L*-аминокислот должны найти применение при проведении медико-биологических исследований; после рацемизации они могут возвращаться на разделение, что позволит использовать все количество синтетических α -аминокислот для пищевых целей.

Что касается анализа оптической чистоты смесей аминокислот, то поляриметрические методы непригодны для решения поставленной задачи из-за специфических особенностей самого метода (аддитивность суммарного вращения, малая чувствительность и точность). Было показано⁶²⁻⁶⁴, что ряд соединений, содержащих асимметрические атомы углерода (аминокислоты, оксикислоты, спирты) могут быть превращены в диастереоизомерные сложные эфиры в результате обработки их соответствующим оптически активным реагентом.

Полученные диастереоизомеры хроматографируются в газовой фазе. При этом достигается как удовлетворительное их разделение между собой, так и отделение от других веществ, в том числе и оптически активных. Возможность количественного анализа определяется оптической чистотой второго компонента, используемого для получения диастереоизомеров. Таким образом, легко достигается точность, превышающая 0,5 отн. % при чувствительности (в смысле возможности открытия противоположного энантиомера) 0,2 отн. %⁶⁵.

Эти принципы были использованы при анализе белковых ферментолизатов и гидролизатов. Было показано, что основная масса аминокислот, присутствующих в ферментном гидролизате дрожжей, представляет собой природные *L*-изомеры. Газохроматографическое определение отношения оптических изомеров впервые было использовано при изучении реакции Акабори. Было установлено, что медный комплекс *L*-аланина реагирует с избытком ацетальдегида, причем образуются рацемические *treo*- и *эритро*-метилтреонины. Скорость рацемизации исходного вещества оказалась меньше скорости образования конечных рацемических продуктов. Сумма экспериментальных данных привела к выводу, что реакция идет через медный комплекс имида (шиффова основания) быстро рацемизующегося путем образования карбаниона, вступающего в реакцию с ацетальдегидом⁴¹.

4. Химия запаха и вкуса

Успешное развитие работ по синтезу пищевых продуктов привело к необходимости начать в 1963 г. исследования химии запаха и вкуса.

Как всякий очищенный полимер, белок, составляющий основу искусственной пищи, практически не имеет вкуса и запаха. Чтобы сделать его аппетитным, необходимо придать ему текстуру, внешний вид, вкус и запах какого-либо определенного пищевого продукта.

Вкус большинства природных продуктов можно имитировать сочетанием четырех доминирующих вкусовых ощущений, кислого, соленого, горького и сладкого*. Комбинацией химических веществ можно подобрать нужное вкусовое ощущение. Использование природных интенсификаторов вкуса, таких, как *L*-глутаминат натрия⁶⁹, динатриевые соли инозин-5'-монофосфорной и гуанозин-5'-монофосфорной кислот⁷⁰ и ряд других, значительно улучшает вкусовые качества продукта.

Имитация запаха — одна из самых сложных задач в проблеме создания синтетической пищи. К сожалению, пока нельзя целенаправленно синтезировать ароматические композиции с заданными свойствами. Попытки создать теорию запаха⁷¹⁻⁸⁵ предпринимались неоднократно. Наибольшую известность получила стереохимическая теория Эмура,

* Кроме перечисленных вкусовых ощущений, имеется ряд других, например, холодащий, острый, жгучий, металлический, мыльный и т. д. Существующее утверждение о наличии только 4 вкусовых ощущений и соответствующих им 4 видов рецепторов неточно. В действительности каждый вкусовой рецептор имеет свой специфический спектр ответов на вкусовые вещества⁶⁶⁻⁶⁸.

в которой постулировалось геометрическое соответствие формы и размеров молекулы определенным лакунам на поверхности рецептора. Была предложена классификация запаха на 7 типов: цветочный, эфирный, камфорный, мускусный, мятный, едкий и гнилостный^{76, 77}. Эта теория подвергалась основательной критике^{86, 87}, которая признана справедливой самим автором, и в настоящее время оставлена.

Много сторонников было у теории Дайсона Райта^{78–82}. Райт считал, что ощущение запаха возникает в результате колебательных движений, свойственных молекулам одоранта, и предполагал найти корреляцию между ИК спектром молекулы в области 500–50 см⁻¹ и ее запахом. Однако под давлением экспериментальных фактов Райт признал, что не удалось связать специфичность запаха с характерными частотами в далекой ИК области молекулы⁸⁸.

В настоящее время наиболее многообещающей является теория «пробоя мембранны», развития Дэвисом и Тейлором^{83–85} по аналогии с теорией вкуса, предложенной ранее Байдлером^{66, 89}. По этой теории ответный импульс обонятельного рецептора может быть результатом только энергетически богатого процесса, поэтому маловероятно, чтобы первичным источником импульса была энергия адсорбции или растворения. Механизм проникновения одоранта на рецепторную поверхность включает адсорбцию молекул одоранта из воздуха слоем мукозы, покрывающей обонятельную поверхность, затем диффузию через водномукозный слой и адсорбцию на поверхности мембранны обонятельной клетки, ее фосфорно-липидным протеиновым слоем. Адсорбция на поверхности мембранны клетки приводит к нарушению упорядоченности ее поверхностного слоя. Это влечет за собой изменение потенциала, существующего между стенкой нейрона и внешней средой. Возникает ионный ток за счет переноса ионов K⁺ и Na⁺, и, следовательно, электрический импульс, т. е. ответ на одорант.

Однако эта теория еще недостаточно развита, чтобы уметь предсказывать запах на основе физико-химических свойств молекулы. В связи с этим отправным пунктом при создании ароматизирующих композиций служит расшифровка запаха природных пищевых продуктов⁹⁰.

Концентрация запаха в пищевом продукте ничтожна, обычно составляет несколько миллионных долей, а количество компонентов часто более 200. Поэтому исследование природы запаха немыслимо без специальных тонких методов анализа.

В ИНЭОС АН СССР была поставлена задача разработать бесстандартные газохроматографические методы идентификации различных классов органических веществ. Для этой цели требовалось найти закономерности газохроматографического поведения в зависимости от структуры соединения. Подобная задача могла быть решена только при наличии хорошо воспроизводимых газохроматографических параметров. Впервые для идентификации компонентов запаха были применены индексы удерживания Ковача⁹¹, которые имеют хорошую воспроизводимость⁹² и с успехом могут быть использованы при работе на полярных стационарных фазах, даже таких, как β, β'-оксидипропионитрил⁹³.

Проведенные исследования показали, что существует четкая зависимость величины индекса от структуры исследуемого соединения, а именно, от числа углеродных атомов, количества функциональных групп и точки кипения. Наличие подобных закономерностей дает возможность предсказывать газохроматографические параметры и, следовательно, идентифицировать вещество в отсутствие стандарта.

В качестве примера можно привести бесстандартный метод идентификации *n*-алифатических аминов^{94–96}, который в настоящее время яв-

ляется единственным при изучении аминов в запахе. Анализ смеси первичных, вторичных и третичных алифатических аминов относится к наиболее трудным газохроматографическим задачам вследствие их адсорбции на твердых носителях и частых случаев наложения хроматографических зон.

Удалось успешно решить эту задачу, используя обнаруженную способность первичных и вторичных аминов образовывать водородную связь с твердой щелочью, нанесенной на сорбент^{97, 98}. Термоплота образования водородной связи, найденная из хроматографических данных, и равная в случае первичных аминов $\Delta H = -6,3 \text{ ккал/моль}$, а вторичных — $\Delta H = -3,6 \text{ ккал/моль}$, вносит заметный вклад в величину индекса. Индексы удерживания третичных аминов на различных колонках изменяются незначительно.

Дальнейшее изучение газохроматографического поведения аминов позволило найти ряд уравнений (табл. 8 и 9), связывающих величину индекса с физико-химическими свойствами аминов.

ТАБЛИЦА 8

Уравнения, связывающие индексы удерживания с числом углеродных атомов в молекуле алифатических аминов нормального строения *

Первичные амины, $n \geq 2$	Вторичные амины, $n \geq 4$	Третичные амины, $n \geq 9$
$I_{100}^{\text{TC}} = 100n + 283$	$I_{100}^{\text{TC}} = 100n + 176$	$I_{100}^{\text{TC}} = 85n + 162$
$I_{100}^{\text{BM}} = 100n + 386$	$I_{100}^{\text{BM}} = 100n + 176$	$I_{100}^{\text{BM}} = 86n + 146$
$I_{100}^{\text{TB}} = 100n + 461$	$I_{100}^{\text{TB}} = 100n + 266$	$I_{100}^{\text{TB}} = 85n + 183$
$I_{100}^{\text{ПЭГ}} = 100n + 568$	$I_{100}^{\text{ПЭГ}} = 100n + 330$	$I_{100}^{\text{ПЭГ}} = 85n + 200$

* n —число атомов углерода в амине; I_{100}^{TC} , I_{100}^{TB} , $I_{100}^{\text{ПЭГ}}$, I_{100}^{BM} —индексы аминов при температуре 100° на колонках с тристеарином (тс), твином-80 (тв), полиэтиленгликолем-1000 (пэг) и 5% вазелинового масла +2% KOH (bm) на детергенте «Новатор».

В табл. 9 приведены уравнения зависимости величины индекса от температуры кипения для первичных алифатических аминов. Для вторичных и третичных n -алифатических аминов такая зависимость наблюдается только на колонке с вазелиновым маслом +2% KOH. Уравнения имеют вид $I_{100}^{\text{bm}} = 4,0 (t_k + 85)$ для вторичных и $I_{100}^{\text{bm}} = 4,0 (t_k + 79)$ для третичных аминов.

Аналогично найдены оптимальные условия для газохроматографического анализа смесей n -альдегидов, метилкетонов и α -ненасыщенных альдегидов⁹⁹. Необходимые для идентификации данные представлены в табл. 10 и 11.

В общем виде схема анализа сводится к следующему: после концентрирования летучих веществ из пищевого продукта извлекают с помощью химических реакций определенный класс органических соединений. Для газохроматографического анализа смеси веществ каждого класса подбирают систему трех-четырех колонок с разной полярностью, чтобы исключить ошибки, связанные с наложением пиков на хроматограммах. Последующую идентификацию проводят на основании величин индексов и их связей с числом углеродных атомов и температурой кипения исследуемых веществ.

ТАБЛИЦА 9

Зависимость величины индекса удерживания от температуры кипения амина (t_k)

Уравнение	Амины	t_k , °С, вычисленная из			t_k , °С (литературные данные)
		I_{100}^{TC}	I_{100}^{TB}	$I_{100}^{ПЭГ}$	
$I_{100}^{TC} = 4,0 (t_k + 91)$	Пропиламин	54	55	55	45—50
	Бутиламин	80	80	80	78—79
	Амиламин	104	105	105	104
$I_{100}^{BM} = 4,0 (t_k + 116)$	Гексиламин	131	130	130	130
	Гептиламин	155	155	155	155
$I_{100}^{TB} = 4,0 (t_k + 135)$	Изопропиламин	35			33—34
	Изобутиламин	69			68—69
$I_{100}^{ПЭГ} = 4,0 (t_k + 164)$	Изоамиламин	96			95
	Виниламин	56			56
	Аллиламин	54			53

ТАБЛИЦА 10

Уравнения, связывающие индексы удерживания с числом углеродных атомов в молекуле монокарбонильных соединений *

Алканали	2-Алкенали	Метилкетоны
$I_{125}^{APM} = 100n + 188$	$I_{125}^{APM} = 100n + 251$	$I_{125}^{APM} = 100n + 171$
$I_{125}^{ПЭГА} = 100n + 555$	$I_{125}^{ПЭГА} = 97n + 732$	$I_{125}^{ПЭГА} = 100n + 558$
$I_{50}^{APM} = 100n + 179$	$I_{50}^{APM} = 100n + 243$	$I_{50}^{APM} = 100n + 167$
$I_{50}^{\beta\beta'} = 82n + 820$	$I_{50}^{\beta\beta'} = 81n + 993$	$I_{50}^{\beta\beta'} = 81n + 856$

* n —число атомов углерода в соединении; I_x^y , где x — температура анализа, y — жидкую фазу: апен-
-зон-м (апм), полиэтиленгликольадипат и $\beta\beta'$ — оксидипропионитрил на целите.

В экстракте запаха, как правило, содержится много органических веществ, относящихся к различным гомологическим рядам. В этом случае при идентификации помогает изучение связи индекса со структурой соединения. Установлена аддитивность вкладов, отражающих специфическое взаимодействие каждой функциональной группы с субстратом колонки. Оказалось, что, если вещество имеет несколько функциональных групп, то суммарный вклад в величину индекса будет равен сумме вкладов всех функциональных групп. В табл. 12 представлены найденные уравнения для вычисления индексов веществ с несколькими функциональными группами.

При анализе на полярной колонке вклад в индекс, характеризующий функциональную группу, резко возрастает, тогда как вклад, вносимый особенностями строения углеродного скелета, заметно не изменяется. В связи с этим весьма полезной для идентификации является величина ΔI — разность индексов одного и того же вещества на полярной и неполярной колонках, ΔI — оценивает вклад функциональной группы в величину индекса.

ТАБЛИЦА II

Зависимость индексов удерживания от температуры кипения монокарбонильных соединений

Уравнение	Альдегиды и метилкетоны	Вычисленная t_k , °С, из					t_k , °С (литер. данные)
		$I_{125}^{\text{апм}}$	$I_{125}^{\text{днф}}$ *	$I_{125}^{\text{пэга}}$	$I_{50}^{\text{апм}}$	$I_{50}^{\beta\beta'}$	
$I_{125}^{\text{апм}} = 3,8 (t_k + 78)$	C ₂ -аль	24	15	29	24	25	20
$I_{125}^{\text{днф}} = 3,8 (t_k + 104)$	C ₃ -аль	50	50	49	50,5	51	49,5
	C ₄ -аль	76	75	74	76	75	75,7
$I_{125}^{\text{пэга}} = 3,8 (t_k + 175)$	C ₅ -аль	103	103	103	103	101	103
	C ₆ -аль	129	130	129	130	126	129
$I_{50}^{\beta\beta'} = 3,4 (t_k + 260)$	C ₇ -аль	156	157	156	156	151	155
$I_{125}^{\text{апм}} = 4,2 (t_k + 58)$	C ₃ -ОН	57	56	63	52	61	56
$I_{125}^{\text{днф}} = 4,2 (t_k + 84)$	C ₄ -ОН	80	80	83	78	82	79,6
	C ₅ -ОН	101	101	102	101,5	101	101
$I_{125}^{\text{пэга}} = 4,2 (t_k + 154)$	C ₆ -ОН	127	126	125	128	127	127,5
$I_{50}^{\text{апм}} = 3,8 (t_k + 74)$	C ₇ -ОН	150	150	149	154	152	151,5
$I_{50}^{\beta\beta'} = 3,25 (t_k + 285)$	C ₈ -ОН	173	175	173	176	173	

* днф — динонилфталат.

Из табл. 13 видно, что несмотря на различную величину индексов веществ нормального и изостроения, величина ΔI для одной и той же функциональной группы практически одинакова.

Сравнение данных анализа на двух фазах — полярной и неполярной сразу дает возможность выявить вещества с одинаковой функциональной группой.

Знание функциональной группы, в свою очередь, позволяет оценить, применяя соответствующие уравнения, количество углеродных атомов (n) и температуру кипения анализируемого соединения.

Рассмотренные выше методы идентификации относятся к изотермическим условиям анализа. Очевидно, что анализ компонентов запаха в ряде случаев удобнее вести методом газовой хроматографии с программированием температуры. Поэтому неоднократно пытались применить изотермические данные для идентификации в условиях программированного газохроматографического анализа. Был найден ряд эмпирических формул^{100,101}. Недавно удалось теоретически связать изотермический индекс с параметрами, измеряемыми на опыте^{102,103}. Получена формула:

$$I_{t_0/\beta} = I_{t_0} + \frac{\beta \tau_x}{2} \frac{dI}{dt} \quad (1)$$

где $I_{t_0/\beta}$ — индекс исследуемого вещества при линейном программировании температуры колонки со скоростью β , град/мин, от начальной температуры t_0 ; I_{t_0} — изотермический индекс при температуре t_0 ; τ_x — время выхода исследуемого вещества в режиме программирования; dI/dt — температурный инкремент индекса на 1°.

Формула (1) проверена на большом экспериментальном материале и позволяет идентифицировать вещества при программированном анализе по величинам изотермических индексов.

ТАБЛИЦА 12

Связь индекса удерживания со структурой анализируемого вещества

Уравнения зависимости индекса от числа атомов углерода $n \geq 2$ и природы функциональной группы	Функциональная группа	ΔI^*
Для перв.-аминов $I_{100}^{\text{ПЭГ}} = 100n + 586$	$-\text{NH}_2$	586
Для диаминов $I_{100}^{\text{ПЭГ}} = 100n + 586 \cdot 2$	$\begin{array}{c} \diagup \\ \text{NH} \end{array}$	330
Для втор.-аминов $I_{100}^{\text{ПЭГ}} = 100n + 330$	$\begin{array}{c} \diagup \\ \text{N}- \end{array}$	200
Для трет.-аминов $I_{100}^{\text{ПЭГ}} = 85n + 200$	$\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C}=\text{CH}_2 \end{array}$	-17
Для алкенов-1 $I_{125}^{\text{АПМ}} = 100n - 17$	$\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{H} \end{array}$	188
Для n -алканалей $I_{125}^{\text{АПМ}} = 100n + 188$	$\begin{array}{c} \diagup \\ \text{H}_2\text{C}=\text{C} \quad \Bigg \\ \diagdown \\ \text{C}=\text{O} \\ \\ \text{H} \end{array}$	
Для ω -алканалей $I_{125}^{\text{АПМ}} = 100n - 17 + 188$	$\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{O} \\ \quad \diagdown \\ \text{H} \quad \text{H} \end{array}$	251
Для α -алканалей $I_{125}^{\text{АПМ}} = 100n + 251$	$\begin{array}{c} \diagup \\ \text{C}=\text{O} \end{array}$	171
Для метилкетонов $I_{125}^{\text{АПМ}} = 100n + 171$	$-\text{SH}$	297
Для n -меркаптанов $I_{60}^{\text{СЭ}}** = 101n + 297$	$-\text{S}-$	330
Для n -сульфидов $I_{60}^{\text{СЭ}} = 91n + 330$	$-\text{S}-\text{S}-$	546
Для n -дисульфидов $I_{130}^{\text{СЭ}} = 93n + 546$		

* ΔI — Величина, характеризующая взаимодействие функциональной группы с субстратом колонки.

** СЭ — Силиконовый эластомер SE-30.

ТАБЛИЦА 13

Величины ΔI , характерные для n -алифатических аминов *

Амины	$\Delta I^{\text{ПЭГ-ТВ}}$	Амины	$\Delta I^{\text{ПЭГ-ТВ}}$
Метиламин	173	Диметиламин	90
Этиламин	111	Диэтиламин	63
Пропиламин	107	Дипропиламин	60
Бутиламин	109	Дибутиламин	62
Амиламин	105	Диамиламин	66
Гексиламин	106	Триэтиламин	34
Гептиламин	106	Трипропиламин	15
Изопропиламин	100	Трибутиламин	16
Изобутиламин	103	Триамиламин	17

* $\Delta I^{\text{ПЭГ-ТВ}}$ — разность индексов амина на колонках с 10% полиэтилен-гликоля-1000 и твина-80.

ТАБЛИЦА 14

Состав монокарбонильных соединений в летучих компонентах 5-месячного российского сыра *

Альдегиды	Относит. %	Альдегиды	Относит. %	Кетоны	Относит. %
Этаналь	5,4	Изопентаналь	1,9	Ацетон	42,0
Пропаналь	0,15	Акролеин	3,3	Бутанон	13,7
Бутаналь	2,0	Пентеналь	0,1	Пентанон	5,6
Пентаналь	0,7	Бутеналь	0,17	Гексанон	0,3
Гексаналь	0,95	Октеналь	0,01	Гептанон	4,6
Гептаналь	0,2	Ноненаль	0,13	Октанон	0,03
Октааль	0,9	Деценаль	0,05	Нонаон	1,6
Нонааль	0,6	2,4-Гептадиеналь	0,01	Деканон	0,06
Деканаль	0,7	2,4-Октадиеналь	0,04	Ундеканон	0,5
Ундеканаль	0,12	2,4-Нонадиеналь	0,04		
Изобутаналь	0,16				

* Всего 86%, не идентифицировано 11 пиков.

ТАБЛИЦА 15

Изменение количественного соотношения летучих аминов в российском сыре при хранении, отн. %

Амины	4-месячный сыр	10-месячный сыр	Амины	4-месячный сыр	10-месячный сыр
<i>Первичные</i>					
Метиламин	7,4	0,2	Триметиламин	14,3	3,0
Этиламин	—	0,3	Триэтиламин	4,8	2,8
Пропиламин	0,6	—	Трипропиламин	1,2	0,1
Изопропиламин	0,2	0,1	<i>Гетероциклические</i>		
Изобутиламин	12,8	0,5	Пиридин	29,6	4,9
Изоамиламин	0,6	0,1	α-Николин	7,5	52,4
<i>Вторичные</i>					
Диметиламин	2,5	2,5	β-Николин	—	0,3
Диэтиламин	2,5	1,1	Пиперидин	0,4	15,4
Дипропиламин	2,9	0,5	Пирролидин	—	0,2
Дизопропиламин	9,0	8,8	Гексаметиленимин	—	0,3
Дибутиламин	1,2	0,4			
Дизобутиламин	0,3	0,1			
Неидентифицированный втор-амин.	2,3	6,4			

Разработанные методы идентификации позволили впервые получить чрезвычайно ценную информацию о составе аминов и карбонильных соединений в запахе различных природных пищевых продуктов¹⁰⁴⁻¹⁰⁸. Результаты приведены в табл. 14—17.

Интересно отметить, что состав летучих компонентов сыров интенсивно изучается за рубежом, однако до сих пор газохроматографически в каждом случае найдено было не более 11 монокарбонильных соединений¹⁰⁹⁻¹¹¹, тогда как с помощью бесстандартного метода¹¹² идентифицировано 30.

Применение разработанных в ИНЭОС методов анализа позволило впервые установить, что в летучих компонентах пищевых продуктов, которые содержат протеины, имеется большое число органических оснований. В табл. 15 * приведен состав аминов, идентифицированных в ароматической композиции 4- и 10-месячного российского сыра. В процессе

* По условиям анализа идентифицировались амины, выходящие на хроматограмме до *n*-додекана.

хранения сыра происходит накопление гетероциклических оснований. Методом абсолютной калибровки (табл. 16) было определено количественное содержание некоторых из них.

Аналогично с помощью бесстандартного газохроматографического метода анализа изучен состав аминов в летучих компонентах зернистой и лососевой икры^{104, 105}.

ТАБЛИЦА 16

Накопление аминов в процессе хранения российского сыра

Вещество	Содержание, мкг на 1 кг сыра	
	4-месячный	10-месячный
Пиперидин	1,5	50,0
α -Пиколин	13,0	80,0
Пиридин	36,0	3,3
Триэтиламин	6,0	3,0

ТАБЛИЦА 17

Амины в летучих веществах зернистой и лососевой икры

Амины	Севрюжья икра, отн. %	Лососевая икра, отн. %
<i>Первичные</i>		
Метил-	2,2	3,2
Этил-	2,5	—
Пропил-	12,0	—
Изопропил-	2,0	0,1
Бутил-	3,1	0,3
Изобутил-	—	1,8
Амил-	2,8	0,1
<i>Вторичные</i>		
Диметил-	2,8	1,0
Дизетил-	2,8	0,4
Дипропил-	2,6	0,3
Дизопропил-	8,6	2,3
Дибутил-	2,4	0,3
Дизобутил-	1,8	0,1
<i>Третичные</i>		
Триметил-	3,4	87,5
Триэтил-	9,0	0,3
Трипропил-	—	0,1
<i>Гетероциклические</i>		
Пиридин	40,4	0,3
α -Пиколин	1,4	0,6
Пиперидин	—	0,5
Пирролидин	—	0,1
	99,8%	99,3%

продуктами жизнедеятельности или же возникают в результате распада после гибели организма. С этой целью изучали состав и кинетику накопления аминов в летучих компонентах быстрорастущих организмов. В качестве объекта исследования выбраны молочнокислые бактерии *Streptococcus lactis*.

В табл. 18 приведен состав аминов, идентифицированных в летучих компонентах *Streptococcus lactis* в стадии логарифмической фазы роста.

Идентифицированные амины приведены в табл. 17. Как следует из табл. 17, анализ данных по составу аминов показывает, что количественное соотношение аминов довольно специфично для каждого пищевого продукта. Так, в летучих компонентах зернистой икры пиридина содержится в 21 раз больше, чем в лососевой, в которой преобладает триметиламин. Это сказывается на ее органолептических свойствах. На основании этих данных был создан имитатор запаха для синтетической зернистой икры.

Если сравнить состав аминов в запахе столь разных пищевых продуктов, как икра и сыр (табл. 15 и 17), то поражает большое сходство качественного состава аминов¹⁰⁶. Возможно это связано с тем, что оба продукта содержат белок животного происхождения, который служит предшественником аминов.

Состав азотсодержащих оснований в летучих компонентах пищевых продуктов весьма разнообразен. Наряду с первичными аминами присутствуют вторичные и третичные алифатические амины. Наличие вторичных и третичных аминов несколько неожиданно. Общепринято, что алифатические амины образуются при декарбоксилировании аминокислот. Однако таким путем могут возникать только первичные амины, вторичные же и третичные амины могут образоваться только в результате процессов алкилирования, которые, за исключением метилирования, неизвестны. Интересно было выяснить, являются ли эти амины про-

Идентификацию органических оснований проводили с помощью вышеизложенного газохроматографического метода анализа.

Как следует из табл. 18, общая концентрация аминов в процессе роста молочнокислых бактерий увеличивается, резко изменяется их соотношение в смеси, растет концентрация изопропил-*n*-бутиламина и третич-

ТАБЛИЦА 18

Кинетика изменения концентрации аминов в летучих веществах молочнокислой бактерии

Амины	Возраст культуры, часы		
	6	24	30
<i>Первичные</i>			
Метиламин	5,2	0,7	0,1
Этиламин	0,3	0,1	0,1
<i>i</i> -Пропиламин	Следы	0,2	0,2
Бутиламин	1,5	0,2	0,1
<i>i</i> -Бутиламин	0,8	0,7	0,7
Амиламин	—	0,4	0,4
<i>i</i> -Амиламин	0,7	0,7	0,4
<i>Treg.-</i> Бутиламин	1,9	1,3	0,2
<i>Вторичные</i>			
Диметиламин	0,1	1,2	0,1
Диэтиламин	2,5	0,5	3,6
Дипропиламин	4,0	1,2	0,7
Ди- <i>i</i> -пропиламин	9,4	2,8	1,3
Ди- <i>i</i> -бутиламин	—	1,2	0,6
<i>i</i> -Пропил- <i>n</i> -бутиламин	15,9	50,6	56,1
Пирролидин	2,9	0,4	0,1
Пиперидин	5,6	Следы	0,1
Неидентифицр.	0,2	0,5	Следы
<i>Третичные</i>			
Триметиламин	25,7	7,2	2,8
Триэтиламин	18,3	2,0	1,7
Трипропиламин	0,7	1,3	0,3
<i>Treg.-</i> алифатический амин	4,1	27,0	30,9

ного амина с 10 углеродными атомами и т. кип. 166°¹¹³. Это свидетельствует о том, что в процессе обмена бактериальной клетки синтезируются вторичные и третичные амины, что позволяет предположить существование специфических ферментативных систем, ведущих процессы синтеза аминов. Таким образом, открыто принципиально новое явление в биохимии — синтез вторичных и третичных аминов живыми организмами.

Результаты анализа компонента запаха, проведенные в ИНЭОС АН СССР, показывают, что при исключительной тщательности работы, с помощью газо-жидкостной хроматографии удается не только получить интересные данные о составе сложных ароматических композиций пищевых продуктов, но и прийти к пониманию процессов возникновения пищевых запахов. Достигнутые результаты позволяют выразить уверенность, что проблема запаха и вкуса может быть успешно решена. Ее решение поможет синтетическим пищевым продуктам завоевать успех и признание человечества.

5. Структурно-физические проблемы искусственной пищи

Производство искусственной пищи требует решения еще одной крупной проблемы — придания используемым пищевым веществам (естественного, искусственного или синтетического происхождения) вкуса, за-

запаха и привлекательного внешнего вида. Следует подчеркнуть, что каждый из этих факторов играет крайне важную роль и недооценка любого из них может привести к невозможности приема пищи и ее усвоения даже в случае идеального ее состава. Совершенно очевидно, что неприятный или даже просто незнакомый вкус пищи вызовет у любого человека настороженность или даже отказ от ее употребления. То же, естественно, можно сказать и о запахе пищи.

Однако не менее серьезными факторами являются цвет пищи и ее форма, необычность которых может вызвать крайне неприятные физиологические ощущения. Так, например, оказалось, что искусственная зернистая икра, изготовление которой было разработано в ИНЭОС АН СССР¹¹⁴⁻¹¹⁸, имеющая один и те же состав, структуру и физические свойства, обладающая одинаковыми запахом и вкусом, но различающаяся по цвету, вызывала при еде резко различные реакции. В то время как икра, окрашенная в естественные цвета (зеленовато-серый, темно-серый), воспринималась отлично, икру, окрашенную в ярко-зеленый цвет, есть было невозможно.

Поэтому придание искусственной пище вкуса и запаха, а также внешней привлекательности, оказалось одной из важнейших проблем. Рассмотрим ее более подробно.

Обычно считают, что вкус определяется комбинацией четырех ощущений, а именно кислого, сладкого, соленого и горького. Однако это верно только в отношении химического аспекта вкуса, поскольку вкусовые рецепторы, находящиеся в полости рта, действительно воспринимают именно эти основные вкусовые ощущения. Таким образом, эту часть проблемы создания вкуса решить легко. Достаточно только правильно подобрать соотношение четырех носителей этих ощущений, например, соли, сахара, какой либо пищевой кислоты и кофеина.

Несравненно сложнее решить другую часть проблемы вкуса, имеющую физический или физико-химический характер, включающую в себя прежде всего создание физической структуры и определенного комплекса физических свойств искусственной пищи.

Действительно, вкусовые ощущения при еде определяются не только химическим воздействием пищи на вкусовые рецепторы, но и распределением ощущений кислого, сладкого, соленого и горького по отдельным рецепторам, а также механическим воздействием пищи на язык, нёбо и зубы, степенью смачиваемости пищи слюной и изменением физических свойств системы пища — слюна при их взаимодействии, вызывающем набухание и другие физико-химические процессы. Все это требует всестороннего физико-химического исследования веществ, используемых при изготовлении искусственной пищи. Наибольшее значение имеют здесь исследования структурных и механических характеристик.

Поскольку два основных ингредиента пищи — белки и полисахариды — являются высокомолекулярными веществами, то структурно-физическая задача создания конкретных форм искусственной пищи оказывается¹¹⁹ частью общей физико-химической проблемы создания заданной структуры и комплекса физических свойств полимерных изделий, т. е. частью проблемы, разработка которой велась многие годы исследователями, работающими в области физико-химии полимеров¹²⁰.

Следует особо подчеркнуть, что процессы растворения или диспергирования белков и полисахаридов, смешения их между собой и с другими пищевыми веществами, носителями запаха, красителями и т. п., а также образование студней из таких систем, затрагивают ряд проблем, относящихся к физико-химической теории истинных и коллоидных растворов полимеров. К числу таких проблем относятся, например, набуха-

ние и растворимость пищевых полимеров в воде, жирах и других растворителях, взаимная растворимость белков и полисахаридов, поверхностные свойства растворов и студней этих полимеров, структурообразование в растворах полимеров, зависимость разных механических свойств растворов и студней от их состава и надмолекулярной структуры.

Поэтому все достижения современной физико-химии полимеров могут быть использованы при разработке приемов производства разных форм искусственной пищи.

Изготовление конкретного вида искусственной пищи, например, зернистой икры, круп, мяса, рыбы и т. д., требует, с одной стороны, определения характерного для натурального продукта комплекса структурно-физических характеристик, а с другой стороны,— разработки приемов формования искусственных пищевых изделий, обладающих этими характеристиками. Если первая сторона проблемы требует использования методов физико-химии полимеров, то вторая ее сторона оказывается тесно связанной со многими технологическими приемами, разработанными при производстве пластмассовых, резиновых, пленочных и волокнистых полимерных изделий, kleев и лаков. Действительно, среди пищевых изделий имеются все соответствующие формы, а именно однородные и неоднородные, жидкие и твердые системы (бульоны, молоко, желе, сыры), слоистые формы (кондитерские изделия), волокнистые формы (мясо, рыба), зернистые формы (икра, ягоды, крупы) и др. При этом структура может быть тонкой и грубой (пористые и пенистые пищевые изделия, эмульсии, суспензии, фаршированные изделия и т. д.), а механические и другие физические свойства крайне разнообразными.

Таким образом, имеется очень далеко идущая аналогия между пищевыми и техническими изделиями из полимеров, позволяющая широко использовать при создании тех или иных форм искусственной пищи уже имеющийся громадный опыт переработки различных полимеров в разнообразные изделия. При разработке приемов структурирования и формования искусственных пищевых продуктов необходимо дополнительно учитывать специфические санитарно-гигиенические требования.

Разработка проблемы искусственной пищи потребовала развития большого комплекса физико-химических исследований белков, полисахаридов и композиций на их основе. Постановка этих работ несомненно, представляет также и общий интерес для физико-химии полимеров. К их числу относятся, например, исследования свойств водных и масляных растворов и дисперсий отдельных пищевых полимеров и их смесей, изучение влияния на эти жидкые и студнеобразные системы различных по природе веществ (жиры, витамины, ферменты, поваренная соль и др.), а также внешних условий (температура, давление).

При создании искусственных макаронных и крупяных изделий¹²¹ возникает необходимость придания им определенной устойчивости формы и объема, так как при варке крупы или макарон должно происходить набухание, но не распад частицы.

Соответствующие исследования^{122–126} привели к созданию в искусственном пищевом изделии, содержащем все необходимые питательные вещества (белки, крахмал и др.), специальной пространственной сетчатой структуры. Эта сетка, совершенно безвредная для организма, составляет ничтожную часть массы пищевого изделия, но тем не менее, создает его упругость и прочность, обеспечивающие сохранение целостности при набухании в кипящей воде. Этим, естественно, придаются и определенные вкусовые качества продукта, зависящие от механических свойств пищи.

С физико-химической стороны эти исследования привели к интерес-

ным новым данным по физико-химическим свойствам пространственных полимерных структур, в частности по свойствам двойных сетчатых структур, например, систем, содержащих одновременно две сетки — желатины и альгината кальция¹²⁷.

К настоящему времени наиболее далеко продвинулись физико-химические исследования, связанные с производством искусственной зернистой икры. Учитывая это, а также особое значение такого деликатесного продукта, следует остановиться на этих работах более подробно.

В общем случае приготовление зернистых форм искусственных продуктов питания, например, искусственных круп, ягод, икры и т. д., сводится к приготовлению гранул пищевых студней определенного размера, химического состава, структуры и с необходимыми физико-химическими свойствами¹²⁸, созданию на этих гранулах оболочек и окрашиванию их в требуемый цвет¹²³.

В соответствии с разработанным способом для приготовления искусственной зернистой икры могут быть использованы различные пищевые вещества животного, растительного и микробиологического происхождения, а также продукты химического синтеза. Однако в настоящее время в качестве пищевого сырья используют казеин — высококачественный белок, проблема применения которого для питания весьма актуальна. Существо способа сводится к следующему. Для приготовления пищевых гранулированных студней нагретый раствор желатины, содержащий казеин или другие пищевые вещества, подают в виде капель в предварительно охлажденное растительное или вазелиновое масло.

Полученные гранулы выдерживают в масле при 5—10° до образования студня с модулем упругости порядка $10^4 \text{ дН}/\text{см}^2$, после чего отделяют от масла и промывают холодной водой для освобождения поверхности от следов последнего. Процесс образования студня желатины осложнен при этом присутствием значительных количеств казеина и других пищевых веществ, а также сорбцией масел белковыми компонентами студня. Так, сорбция углеводородов вазелинового масла приводит к существенному изменению температуры плавления, скорости набухания и механических свойств гранулированных студней. Фазовое состояние исходной смеси пищевых веществ, условия формования, структура и соответствующий им комплекс физико-химических свойств гранулированных студней определяют возможность приготовления высококачественного продукта. Для изучения влияния этих факторов на свойства гранулированных студней были разработаны простые и точные методы определения температурной области их плавления, скорости набухания и податливости¹²⁸, а также методика исследования механических свойств студней в условиях одноосного сжатия^{129, 130} и метод определения объемной степени их набухания¹³¹. Возможность удаления масел с поверхности гранулированных студней при их промывке водой существенно зависит от поверхностных свойств студня. Студни желатины очень плохо смачиваются водой¹³². Введение в них глобулярных белков приводит к различным изменениям поверхностных свойств, в зависимости от природы вводимого белка¹³³. Добавление яичного альбумина сопровождается некоторым увеличением гидрофобности желатинового студня, в то время как введение даже небольших количеств казеина делает их гидрофильными.

Поэтому в отличие от гранул студня чистой желатины, гранулы желатины, содержащие казеин, легко отмываются водой от масла при перемешивании. Последующая обработка гранулированных студней водными экстрактами растительных дубильных веществ позволяет получать на гранулах достаточно однородные плотные и эластичные оболоч-

ки продуктов дубления. Однородность оболочек при этом определяется степенью удаления масла с поверхности гранул и поверхностными свойствами студня. Для дубления гранул используют водные экстракты зеленого чая или отходов чайного производства^{114,123}. Окрашивание оболочек в серо-черный цвет, для имитации икры осетровых, производят обработкой гранул растворами солей трехвалентного железа пищевых кислот^{114,115}, т. е. используя известную реакцию фенольных соединений с ионами трехвалентного железа. Существенное влияние на свойства гранул оказывают реагенты и среды с различными осмотическими свойствами, применяемые для обработки гранулированных студней (промывка, дубление, окрашивание), а также условия кулинарной обработки и последующего хранения продукта. Объемные свойства гранулированных студней не изменяются заметным образом при их дублении. Интенсивность набухания студня снижается при этом в результате сопротивления оболочки гранул растяжению. Диффузия в студень ионов трехвалентного железа, применяемых для окрашивания оболочек, сопровождается дублением белков во всем объеме студня, в результате чего снижается податливость и интенсивность набухания студня, а также возрастает температура его плавления.

Для приготовления зернистой икры к гранулам студня, покрытым окрашенными эластичными оболочками, добавляют поваренную соль, растительное масло, рыбий жир и ряд других вкусовых и ароматических веществ. Комбинация казеина, растительных масел, рыбьего жира, а также дополнительно вносимых минеральных солей и витаминов обуславливает высокую пищевую ценность продукта, для приготовления которого используют высококачественное и в то же время не дорогое пищевое сырье. В связи с тем, что для дубления гранулированных студней применяют чайные экстракты, исследовали их влияние на ферментативную активность пепсина, трипсина и химотрипсина *in vitro*¹³⁴. Было показано, что комплекс дубильных веществ зеленого чая не только не оказывает в этих условиях ингибирующего действия на ферменты, но даже повышает активность пепсина и химотрипсина. В то же время сравнительное исследование атакуемости белков ферментами желудочно-кишечного тракта *in vitro* и тех же белков в составе различных сортов искусственной икры показало, что биологическая ценность указанных белков возрастает при их включении в состав продукта¹³⁵. Проведенные исследования физико-химических и механических свойств, а также биологической ценности гранулированных студней позволили определить рецептуру и условия приготовления гранулированных студней, охарактеризовать влияние различных факторов на состав и свойства готового продукта, что явилось необходимым этапом в разработке способа приготовления искусственной зернистой икры.

В результате работ, проводимых в ИНЭОС АН СССР под общим руководством А. Н. Несмеянова, получены первые результаты по созданию высококачественной искусственной пищи. Эти работы создали необходимый химический, физико-химический и технологический базис для дальнейшего развития исследований в этой новой интересной области науки и промышленности.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. Н. Несмеянов, В. М. Беликов, Природа, **54**, 13 (1965).
2. Доклад экономического и социального совета ООН. 25 мая 1967 г., № E/4343.
3. П. Дювилье, М. Танг, Биосфера и место в ней человека, М., «Наука», 1968.
4. M. Milner, в кн. World protein resources, Ser. 57, Washington D. C., 1966, стр. 52.
5. A. Altschul, Proteins, Their Chemistry and Politics, London, 1965, стр. 266—267.

6. O. Schmidt - Botan. Marina, 1966, 9 Suppl. 41—46.
7. Г. Винберг, Усп. совр. биологии, **43**, 332 (1957).
8. W. Calder, New Scient., **6**, 458 (1959).
9. K. Goswami, A. Lahiri, Chem. Age India, **18**, 345 (1967).
10. К. А. Степчков, Синтетические белковые продукты и их использование в пищевой промышленности, Изд. ЦИНТИПищепром, М., 1967.
11. А. Нипригей, Chem. Engng, **73**, 149 (1966).
12. Х. Мицуда, К. Ясумото, Т. Фарукава, J. Japan Soc. Food and Nutr., **20**, 40 (1967).
13. Х. Мицуда, Х. Какамура, К. Ясумото, Ф. Каваи, Т. Сиканай, Там же, **20**, 35 (1967).
14. R. Damm, S. Lee, P. Fry, H. Fox, J. Nutr., **86**, 376 (1965).
15. E. Postel, Science et nature, **1966**, № 76, 36—48.
16. Б. Саанов, Ю. Рыжков, А. Колосова, И. Дорохов, С. Новодережкина, А. Мулатова, А. Поляк, Микробиологич. синтез, **1966**, № 20, 8—10.
17. Б. Рубенчик, М. Плисс, А. Петрунь, Б. Ручковский, В. Коган, Л. Бундюк, С. Друк, М. Зарецкий, Там же, **1966**, вып. 19, 5—8.
18. G. Davidson, Ам. пат. 3206320 (14.07.1965, кл. 106—154); Японск. пат. 231764 (2.05—1961); L. Elmquist, Ам. пат. 3175909 (29.09—1962, кл. 99—17).
19. U. Lagerkvist, J. Waldenstrom, J. Biol. Chem., **242**, 3021 (1967).
20. B. McCarthy, Biochim. biophys. acta, **55**, 880 (1962).
21. R. Taylor, H. Weissbach, J. Biol. Chem., **242**, 1502 (1967).
22. W. Grey, M. Karve, Econ. Bot., **21**, 110 (1967).
23. H. E. Clark, J. N. Boyd, S. M. Kolski, B. Shannow, Amer. J. Clin. Nutr., **21**, 217 (1968).
24. M. E. Swendseid, C. L. Harris, S. G. Tuttle, J. Nutr., **77**, 391 (1962).
25. H. E. Clark, K. Fusate, P. E. Allen, Amer. J. Clin. Nutr., **20**, 233 (1967).
26. J. Nakagawa, T. Takahashi, T. Suzuki, R. Kobayashi, J. Nutr., **83**, 115 (1964).
27. D. M. Hegsted, Fed. Proc., **22**, 1424 (1963).
28. M. Winitz и др., Nature, **205**, 741 (1965).
29. S. E. Snyderman, L. E. Holt, J. Dancis, E. Roitman, A. Boyer, M. Bolis, J. Nutr., **78**, 57 (1962).
30. C. Kies, E. Williams, H. M. Fox, Там же, **86**, 357 (1965).
31. J. H. Watts, B. Tolbert, W. L. Raff, Metab. Clin. Exptl., **13**, 172 (1964).
32. К. А. Степчков, В. Ю. Ракитин, Г. М. Головкина, Авт. свид. СССР, 192143 (1966); 210789 (1967).
33. Т. Л. Бабаян, М. О. Рожанский, К. А. Степчков, Прикл. биохимия и микробиол. (в печати).
34. Е. Л. Рубан, Н. М. Вербина, С. А. Бутенко, Р. К. Озолинь, Д. Г. Заринь, Биосинтез аминокислот микроорганизмами, «Наука», М., 1968.
35. F. Shah, M. Sed, T. Sheikh, Agricult. and biol. chem., **31**, 645 (1967).
36. Т. В. Финогенова, А. Б. Лозинов, В. М. Беликов, И. Т. Ермакова, Л. Н. Мунтян, Э. Н. Сафонова, Микробиология, **37**, 38 (1968).
37. Франц. пат. 1261743 (1959); Японск. пат. 21222 (1966).
38. Англ. пат. 892755 (1962); С. А., **57**, 35617 (1962).
39. Японск. пат. 1968 (1961); С. А., **56**, 8837 (1962).
40. M. Sato, K. Okawa, S. Akabori, Bull. Chem. Soc. Japan, **30**, 937 (1957).
41. С. В. Витт, В. М. Беликов, Н. И. Кузнецова, М. Г. Безруков, М. Б. Сапоровская, Изв. АН СССР, сер. хим. (в печати).
42. А. Н. Несмеянов, Р. Х. Фрейдлина, Р. Г. Петрова, Изв. АН СССР сер. хим., **1957**, 451.
43. Э. Н. Сафонова, В. М. Беликов, Усп. химии, **36**, 913 (1967).
44. H. Feuer, H. Haas, V. Waggen, J. Am. Chem. Soc., **71**, 3078 (1949).
45. К. К. Бабиевский, В. М. Беликов, Н. А. Тихонова, Изв. АН СССР сер. хим., **1965**, 89.
46. К. Б. Бабиевский, В. М. Беликов, Н. А. Тихонова, Там же, **1965**, 751.
47. В. В. Перекалин, А. А. Тэмп, Авт. свид. СССР 209465 (1968).
48. К. К. Бабиевский, В. М. Беликов, Ю. Н. Белоконь, Изв. АН СССР сер. хим., **1965**, 1226.
49. К. К. Бабиевский, Н. А. Тихонова, В. М. Беликов, Авт. свид. СССР 181652 (1965); Химия гетероциклич. соед., сб. 1, 1967, 46.
50. Н. И. Абоскарова, А. С. Полянская, В. В. Перекалин, ДАН, **176**, 829 (1967).
51. К. К. Бабиевский, В. М. Беликов, Н. А. Тихонова, Изв. АН СССР сер. хим., 1969 (в печати).
52. Т. И. Самойлович, А. С. Полянская, В. В. Перекалин. Авт. свид. СССР 186496 (1966); ЖОрХ, **3**, 1532 (1967); **5**, 579 (1969).

53. Л. А. Бочарова, А. С. Полянская, В. В. Перекалин, Авт. свид. СССР 166706 (1964); С. А., **62**, 10509а (1965).
54. В. В. Перекалин, А. А. Тэмп, Авт. свид. СССР 150841 (1962); С. А., **58**, 14094а (1963).
55. T. Okuda, Bull. Chem. Soc. Japan, **32**, 931 (1952).
56. В. М. Беликов, Ю. Н. Белоконь, Изв. АН СССР, сер. хим., **1964**, 1134.
57. К. К. Бабиевский, В. К. Латов, Усп. химии, **38**, 1009 (1969).
58. Е. И. Климова, Ю. А. Арбузов, ДАН, **167**, 1060 (1966).
59. Е. И. Климова, Кандид. диссерт. МГУ, 1968, стр. 188.
60. В. В. Коршак, С. В. Рогожин, В. А. Даванков, Авт. свид. СССР 176064 (1965).
61. С. В. Рогожин, В. А. Даванков, Усп. химии, **37**, 1327 (1968).
62. S. V. Witt, M. B. Saparovskaya, I. P. Gudkova, V. M. Belikov, Tetrahedron Letters, **30**, 2575 (1965).
63. С. В. Витт, М. Б. Сапоровская, В. М. Беликов, Изв. АН СССР, ОХН, **1967**, 1947.
64. С. В. Витт, М. Б. Сапоровская, В. М. Беликов, Ж. аналит. химии, **21**, 227 (1966).
65. С. В. Витт, М. Б. Сапоровская, В. М. Беликов, Изв. АН СССР, сер. хим., **1967**, 2771.
66. L. M. Beidler, Advances in Chemistry, Ser. **56**, 1 (1966).
67. J. Hornstein, R. Teranishi, Chem. Eng. News, **45**, 15, 93 (1967).
68. K. Kulka, J. Agr. Food Chem., **15**, 48 (1967).
69. K. Ikeda, J. Tokyo Chem. Soc., **30**, 820 (1909).
70. A. Kuninaka, Advances in Chemistry, Ser. **56**, 261 (1966).
71. R. W. Moncrieff, Am. J. Psychol., **70**, 1 (1957).
72. R. W. Moncrieff, J. Physiol., **130**, 543 (1955); **133**, 301 (1956).
73. R. W. Moncrieff, Proc. of 3-nd Intern. Congress of Surface Activity, Brussels, 1964.
74. M. G. Beets, Molecular Structure and Organoleptic Quality. Monograph, Soc. of Chem. Industry, London, 1957.
75. M. G. Beets, J. Am. Perfumer Aromat., **76**, № 6, 54 (1961).
76. J. E. Amoore, Perfumery Essent. Oil Record, **43**, 321 (1952).
77. J. E. Amoore, Proc. Sci. Sect. Toilet Goods Assoc. Suppl., **37**, 1 (1962).
78. G. M. Dyson, Perfumery Essent Oil Record, **28**, 13 (1937).
79. G. M. Dyson, Chem. and Ind., **16**, 647 (1938).
80. R. H. Wright, J. Appl. Chem., **4**, 611 (1954).
81. R. H. Wright, Science of Smell, New York, 1964. См. перевод «Наука о запахах», М., 1966, стр. 191.
82. R. H. Wright, K. M. Michels, Ann. N. Y. Acad. Sci., **116**, 535 (1964).
83. J. T. Davies, F. H. Taylor, Proc. 2-nd Intern. Congress surface Activity, **4**, 329 (1957).
84. J. T. Davies, J. Theoret. Biol., **8**, 1 (1965).
85. E. T. Theimer, J. T. Davies, J. Agr. Food Chem., **15**, 6 (1967).
86. W. McCartney, Soap Perfumery Cosmetics, **36**, 33 (1963).
87. A. Dravnicka, Advances in Chemistry Ser., **56**, 29, 1966.
88. R. H. Wright, Nature, **209**, 571 (1966).
89. L. M. Beidler, J. Gen. Physiol., **38**, 133 (1954).
90. Р. В. Головня, Г. А. Миронов, С. В. Соколов, Усп. химии, **33**, 816 (1964).
91. E. Kovats, Helv. chim. acta, **41**, 1915 (1958); L. S. Ette, Anal. Chem., **36**, 314 (1964).
92. Рекомендации по вопросам представления данных в газовой хроматографии. J. Gas Chrom., **3**, 289 (1965); Усп. химии, **35**, 1890 (1966).
93. Р. В. Головня, В. П. Уралец, Изв. АН СССР, сер. хим., **1967**, 185.
94. Р. В. Головня, Г. А. Миронов, И. Л. Журавлева, ДАН, **163**, 369 (1965). Gas Chromatographie, 1965, ed. H. G. Stroppe, Berlin, 1966, стр. 1555.
95. Р. В. Головня, Г. А. Миронов, И. Л. Журавлева, Изв. АН СССР, сер. хим., **1967**, 492.
96. Р. В. Головня, Г. А. Миронов, И. Л. Журавлева, Ж. аналит. химии, **22**, 797 (1967).
97. Р. В. Головня, И. Л. Журавлева, Изв. АН СССР, сер. хим., **1967**, 2113; **1968**, 673.
98. Р. В. Головня, И. Л. Журавлева, Ю. Н. Арсеньев, ДАН, **181**, 100 (1968).
99. Р. В. Головня, В. П. Уралец, ДАН, **177**, 350 (1967); Ж. аналит. химии-**23**, 605 (1969).
100. J. C. Giddings, Gas Chromatography, Acad. Press, N. Y., 1962, стр. 57.
101. G. Guichon, Anal. Chem., **36**, 661 (1964).
102. Р. В. Головня, В. П. Уралец, ДАН, **182**, 589 (1968).

103. R. V. Golovnya, V. P. Ugaletz, J. Chromat., **36**, 276 (1968).
104. Р. В. Головня, Г. А. Миронов, И. Л. Журавлева, Ж. аналит. химии, **22**, 612 (1967); **22**, 956 (1967).
105. Р. В. Головня, Г. А. Миронов, И. Л. Журавлева, Изв. АН СССР, сер. хим., **1968**, 922.
106. R. V. Golovnya, G. A. Mironov, I. L. Shuravljova, R. M. Abdullina, 2-nd Intern. Congress of Food Sci and Technol., Warszawa, 1966, p. 434.
107. Р. В. Головня, Г. А. Миронов, Р. Н. Абдуллина, Ж. аналит. химии, **23**, 766 (1968).
108. Р. В. Головня, Г. А. Миронов, И. Л. Журавлева, Р. М. Абдуллина. Молочн. пром., **1968**, № 2, 11.
109. M. Keelley, E. A. Day, J. Daity Sci., **40**, 874 (1957).
110. E. A. Day, L. M. Libbey, J. Food Sci., **29**, 583 (1964).
111. E. A. Day, D. F. Anderson, J. Agr. Food Chem., **13**, 2 (1965).
112. Р. В. Головня, В. П. Уралец, Молочн. пром., **1969** (в печати).
113. Р. В. Головня, И. Л. Журавлева, С. Г. Харатьян, Биохимия, **1969** (в печати).
114. Г. Л. Слонимский, С. В. Рогожин, В. Б. Толстогузов, В. А. Ершова, Авт. свид. СССР, 231314 (23.XII.1965); Бюлл. изобр., **1968**, № 35.
115. А. Н. Несмейнов, С. В. Рогожин, Г. Л. Слонимский, В. Б. Толстогузов, В. А. Ершова, Авт. свид. СССР 228521 (23.XII.1965); бюлл. изобр., **1968**, № 31.
116. А. Н. Несмейнов, С. В. Рогожин, Г. Л. Слонимский, В. Б. Толстогузов, В. А. Ершова, В. И. Мисюров и др., Авт. свид. СССР, В-2483 (1966).
117. Г. Л. Слонимский, М. И. Кабачник, В. Б. Толстогузов, Е. Е. Браудо, Авт. свид. СССР по заявке № 1016671/28—13 от 12.06.1965.
118. А. Н. Несмейнов, В. М. Беликов, С. В. Рогожин, Г. Л. Слонимский, Р. В. Головня, В. Б. Толстогузов, Вестник АН СССР, **1969**, № 1, стр. 27.
119. Г. Л. Слонимский, Труды Междунар. симп. по макромолек. химии, т. 1, докл. А6-6, Торонто, 1968.
120. В. А. Карагин, Г. Л. Слонимский, Краткие очерки по физико-химии полимеров, «Химия», изд. II, 1967.
121. Г. Л. Слонимский, Е. П. Козьмина, В. Б. Толстогузов, Э. Бондарева, Авт. свид. СССР 234860 (1967); Бюлл. изобр., **1969**, № 4.
122. Е. Козьмина, Э. Бондарева, Г. Слонимский, В. Толстогузов, Мукомольно-элеваторная пром., **1969**, № 1, 29.
123. В. А. Ершова, В. Б. Толстогузов, Е. Е. Браудо, Н. В. Михеева, Э. С. Бондарева, Труды МИНХ им. Г. В. Плеханова, **1969**, вып. 58, стр. 125.
124. Е. П. Козьмина, Г. Л. Слонимский, В. Б. Толстогузов, Э. С. Бондарева, Там же, стр. 118.
125. Е. П. Козьмина, Э. С. Бондарева, В. Б. Толстогузов, ЦИНТИ ГОСКОМЗАГа 1968, вып. 7.
126. Г. Л. Слонимский, Е. Е. Браудо, И. Д. Ертанов, В. Б. Толстогузов, Э. С. Бондарева, И. Г. Плащина. Вопросы питания (в печати).
127. Г. Л. Слонимский, В. Б. Толстогузов, Д. Б. Изюмов, Высокомол. соед., **1969** (в печати).
128. В. А. Ершова, В. Б. Толстогузов, Г. Л. Слонимский, Высокомол. соед., **1969** (в печати).
129. В. Ф. Алексеев, В. В. Кочкин, Е. Е. Браудо, Г. Л. Слонимский, В. Б. Толстогузов, Рыбное хозяйство, **1965**, № 7, 70.
130. Г. Л. Слонимский, В. Ф. Алексеев, В. Я. Гринберг, Д. Б. Изюмов, В. Б. Толстогузов, Высокомол. соед., **11A**, 460 (1969).
131. Е. Е. Браудо, В. Б. Толстогузов, Там же, **1969** (в печати).
132. Е. Е. Браудо, В. Б. Толстогузов, Г. Л. Слонимский, Высокомол. соед., **9B**, 796 (1967).
133. Е. Е. Браудо, В. Б. Толстогузов, В. А. Ершова, Г. Л. Слонимский. Коллоидн. журн., **1969** (в печати).
134. Е. Е. Браудо, В. Б. Толстогузов, И. Г. Плащина, Вопросы питания, **1968**, № 6, 40.
135. Е. Е. Браудо, В. Б. Толстогузов, И. Г. Плащина, Там же, **1969** (в печати).