
I. ІННОВАЦІЙНІ ТЕХНОЛОГІЇ ХАРЧОВИХ ВИРОБНИЦТВ

УДК [544.115:577.352]-026.785

ДОСЛІДЖЕННЯ ХАРАКТЕРИСТИК МЕМБРАННИХ ЛІПІДІВ ПЛОДОВОЇ СИРОВИНИ У ПРОЦЕСІ ВІДНОВЛЕННЯ АРОМАТУ

В. О. Сукманов, доктор технічних наук, професор
(Вищий навчальний заклад Укоопспілки
«Полтавський університет економіки і торгівлі»);
А. І. Маринін, кандидат технічних наук, доцент
(Національний університет харчових технологій);
Г. Є. Дубова, кандидат технічних наук, доцент;
Л. І. Куц
(Вищий навчальний заклад Укоопспілки
«Полтавський університет економіки і торгівлі»)

Анотація. *Мета* дослідження полягає у вивченні впливу характеристик ліпідних частинок клітинних мембран на швидкість перебігу ферментативних реакцій. **Методика дослідження.** Аналіз летких компонентів проводили на хромато-мас-спектрометричній системі Agilent 6890N/5973, розподіл розміру колоїдної фракції та електрофоретична рухливість частинок була визначена аналізаторі Malvern Zetasizer Nano ZS, із плодової м'якоті ліпіди виділяли в апараті Сокслета, використовуючи розчинник хлороформ-етанол. **Результати.** Гідродинамічний розмір ліпідних частинок і значення ζ -потенціалу свіжих плодів змінюються після теплової обробки. У плодах, що пройшли комбіновану обробку, збільшується концентрація гідропероксидних сполук (субстрату) і знижується доступність мембранозв'язаних ферментів, а саме гідропероксидлази (HPL). Установлено, що під час нагрівання у вакуумі (розрідження 8 ± 2 кПа, температура 34 ± 2 °C) суспендованих рослинних гомогенатів субстрат-ферментні взаємодії найбільш інтенсивні за умови міжфазної активації, коли відбуваються сприятливі ферментативні процеси, які призводять до утворення свіжого запаху (GLVs). **Висновки.** Зміна площі поверхні контакту гідрофільно-гідрофобної взаємодії забезпечує полімолекулярну адсорбцію і біосинтез зеленого запаху GLVs у плодах після комбінованої обробки.

Ключові слова: аромат, гомогенат, попередники, ферменти, субстрат.

Постановка проблеми в загальному вигляді та зв'язок із найважливішими науковими чи практичними завданнями. Перебіг ферментативних реакцій за участю ліпідів клітини досліджено у свіжих плодах огірків, томатів, бананів, полуниці, солодкого перцю та ін. [1]. Вивчення процесу утворення аромату з мембранних ліпідів *in vitro* пов'язане з великими методичними труднощами, тому такі процеси в рослинній сировині після теплового або комбінованого впливу (теплового й фізичного) мало висвітлені в наукових публікаціях. Ліпідні попередники аромату мають гідрофобну природу, а ферменти – гідрофільну, у зв'язку з цим відповідні ферментні реакції в умовах *in vitro* протікають за дуже низької швидкості. Тому у водно-ліпідних системах додатково використовують поверхнево-активні речовини (ПАР) для збільшення площі поверхні контакту в ліпід-субстратних реакціях і зменшення товщини водної або ліпідної оболонки. Подібні ефекти можуть бути забезпечені фізичним впливом і привести до необхідного результату – утворення певних компонентів аромату. У даному дослідженні здійснення ферментативних реакцій розглянуто більше з точки зору фізичних змін, так як зменшення розмірів ліпідних частинок призводить до збільшення площі поверхні взаємодії в гідрофільно-гідрофобній системі.

Аналіз останніх досліджень і публікацій. Відповідно до теорії відновлення аромату, висловленою Дж. Рідом, за наявності необхідних ферментів аромат може бути відновлений у плодовій сировині після теплової обробки за умови подолання енергетичного бар'єра [2]. Передумови для повторного утворення аромату у плодах після теплової обробки з попередників були досліджені раніше [3–5], проте участь субстратів ліпідної природи в таких процесах залишається не до кінця з'ясованою. Теорія ферментативної кінетики розглядає ферментативні реакції як багатостадійні, що супроводжуються утворенням тимчасових проміжних сполук. Велика частина ароматичних компонентів – проміжні сполуки різних ферментативних реакцій. Наприклад, для утворення C_6 - C_9 альдегідів субстратом можуть слугувати не тільки ненасичені жирні кислоти ліпідів мембран, а й продукти їх первинного окиснення – гідропероксидні похідні (НРО). Для таких субстратів ароматоутворювальними ферментами виступають гідропероксид ліази (НРЛ) [6–8]. Утворення ароматичних компо-

нентів *in vitro* в харчовій системі досить повно відображає перебіг процесу ферментолізу ліпідних компонентів сировини.

Формування цілей статті (постановка завдання). Мета роботи – визначення оптимальних умов комбінованого впливу на ліпідну складову клітинних мембран (у тому числі ліпідних гідропероксидів) м'якоті плодів, розглядаючи її як субстрат для здійснення ферментативних реакцій утворення аромату.

Виклад основного матеріалу дослідження з повним обґрунтуванням отриманих наукових результатів. Усі без винятку клітинні мембрани – це тонкі ліпопротеїдні плівки, що складаються з подвійного шару ліпідних молекул, у які включені молекули білка. Під час заморожування, нагрівання, мікрохвильового впливу в білкових компонентах сировини відбувається коагуляція. Основними факторами, які визначають поведінку частинок у коагульованій структурі, є: величина частинок, гідрофільно-ліпофільний баланс поверхні частинок, загальний та електрокінетичний потенціали цієї поверхні. Від динамічних властивостей загальної ліпідної фази мембран істотно залежить активність НРЛ, які взаємодіють із водонерозчинними субстратами – гідропероксидами.

Більшість гідропероксидів у термічно оброблених плодах утворені з лінолевої і ліноленової кислот. Схематично каталіз гідропероксидів можна уявити так: $9/13 \text{ НРО} + 9/13 \text{ НРЛ} \rightarrow C_6$ - C_9 альдегіди + C_9 - C_{12} оксокислоти.

Гідропероксид ліази (НРЛ) належать до мембранзв'язаних ферментів. Реакції НРЛ свіжих плодів достатньо вивчені [9], а їхня участь у термообробленій сировині може обумовлювати реакції повторного формування свіжого аромату або його відновлення. Для ідентифікації та розуміння умов здійснення каталізу за участю НРЛ проведена порівняльна характеристика фізико-хімічних показників ліпідної системи свіжих і термооброблених зразків огіркового екстракту (табл.1).

Згідно із традиційними уявленнями, чим більша абсолютна величина ζ -потенціалу, тим більше електростатичне відштовхування між краплями, і, отже, тим стійкіша стабільність системи [10]. Експериментальні вимірювання ζ -потенціалу показують стеричні відштовхування частинок у гідроколоїдній системі й характеризують стабілізуючі властивості емульгатора, які представлені фосфоліпідами клітинних стінок [8]. У зразках ζ -потенціал

знаходиться в діапазоні $-2,5 \dots -5,5$ mV. Для порівняння наводимо дані діапазону ζ -потенціалу промислових ароматизаторів після завершення ферментативних процесів $22 \dots 25$ mV, та відповідно цими значеннями можна охарактеризувати стабільність системи. Для досліджуваної емульсії тригліцеридів ζ -потенціал у плодів сировині (після розморожування і ГТО) може свідчити про нестабільність системи та протікання реакцій за участю ферментів. Для досліджуваних зразків величина

ζ -потенціалу розподілена в такій послідовності: свіжа сировина < заморожена < ГТО. Розміри частинок тригліцеридів, екстрагованих із плодів огірків, розташовані у зворотній послідовності відносно ζ -потенціалу. Отже, зі збільшенням розміру частинок підвищується їх рухливість. Подібна закономірність описана для ліпосом [11–12]. Зразки гарбуза й кавуна після теплової обробки показали ідентичні закономірності розподілу ζ -потенціалу й гідродинамічного діаметра частинок.

Таблиця 1

Фізико-хімічна характеристика ліпідного екстракту огірків

Назва показника	Зразки екстрактів із плодів		
	свіжих	заморожених	гідротермічно оброблених (ГТО)
ζ -потенціал, mV	$-2,87 \pm 0,15$	$-4,11 \pm 0,30$	$-5,50 \pm 0,22$
Гідродинамічний діаметр частинок, нм	10000...5000	5000...1000	1000...500
Загальний вміст гідропероксидних сполук, ммоль активного кисню/кг	8	12	18
Характеристика аромату	Насичений огірковий	Овочевий, грибний відтінок	Трав'янистий, суповий
Загальна кількість альдегідів, мг/г	0,079	0,055	0,043

Динамічні властивості ліпідного комплексу мембрани забезпечують конформаційну рухливість ферментів. Властивості цього комплексу пов'язані зі структурними перебудовами в біологічних мембранах. Наприклад, у заморожених плодах кристалізація води індукує активацію мембраноз'язаних ліполітичних ферментів і, як наслідок, суттєву зміну складу та фізико-хімічних характеристик жирних кислот мембранних ліпідів. Теплова обробка мембранних ліпідів впливає на фізичні характеристики ліпідів і процес окиснення ендogenous ферментами. Тепловий вплив, заморожування, електричний пробій, осмотичний тиск – фактори, що обумовлюють структурні перебудови й активність ендogenous ферментів [13]. Альдегіди є кінцевими продуктами реакції між HPL і гідропероксидами, тому, у міру їх накопичення, у системі спостерігається інгібуючий ефект. Відповідно до цього, наявність гідропероксидів в екстрактах

ліпідів плодів після гідротермічної обробки – не єдина умова для максимально ефективної дії HPL. Для збільшення концентрації C_6 - C_9 альдегідів необхідні подальші дослідження властивостей ліпідного матриксу.

Дані про нанорозмірні області є потужним підходом до вивчення динаміки біомолекул. Поодинокі молекули ліпідів рослин мають розмір у межах 5-200 нм. Деякі джерела показують існування у клітинних мембранах не поодиноких ліпідів, а ліпідних нанодоменив [14], із середнім розміром 710 нм. Показано, що розмір понад 700 нм свідчить про наявність кластерних білків, гідратної оболонки, гідрофобної гідратації, що перешкоджає виявленню ліпідів за допомогою електронної мікроскопії. З метою виділення ліпідних доменів з екстрактів й аналізу їх гідродинамічного діаметра, зразки досліджували до й після центрифугування за різної частоти та часу поділу ліпідного екстракту (рис.1).

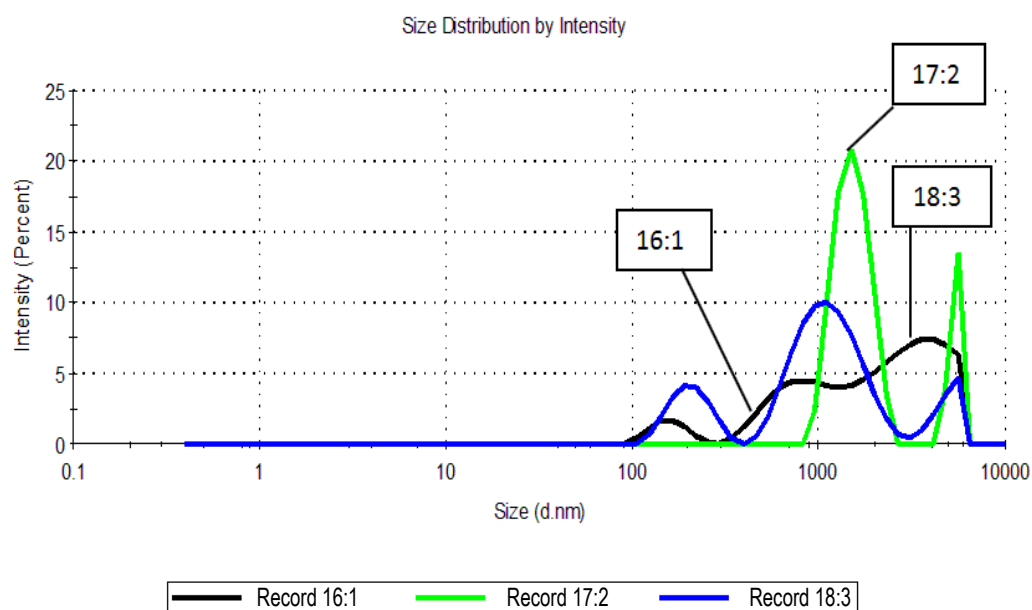


Рис. 1. Розподіл часток за розмірами (PSD-particle size distribution) ліпідних екстрактів плодів після гідротермічної обробки:

16:1 – без поділу; 17:2 – поділ 10 хв за частоти 1 500 об/хв; 18:3 – поділ 10 хв за частоти 4 000 об/хв

Ліпідні домени в екстракті плодів після гідротермічної обробки, в основному, складені з частинок, гідродинамічний діаметр яких дорівнює 1 000 нм (за відсутності відцентрового впливу). За відцентрового поділу екстракту плодів протягом 10 хв та частоти 1 500 об/хв гідродинамічний діаметр ліпідних доменів збільшується до 2 000 нм, а при 4 000 об/хв – до 5 000 нм. З метою представлення характеру впливу відцентрової сили на білково-ліпідні асоціати, час поділу екстрактів плодів було збільшено до 20 хв. У разі поділу ліпідного екстракту протягом 20 хв у відцентровому полі за частоти 1 500 об/хв гідродинамічний діаметр ліпідних доменів зменшується, розподіляючись між 800 нм і 25 нм, а за 4 000 об/хв – між 500 нм, 250 нм і 25 нм. Збільшення часу відцентрового поділу ліпідного екстракту до 20 хв призводить до тенденції зменшення гідродинамічного діаметра ліпідних доменів та збільшення площі поверхні контакту з ферментами, відповідно до утворення свіжого аромату.

Для реакційного зближення частинок ферментів і ліпідів необхідно досягти деформації дифузних оболонок, щоб відбулося їх взаємне перекривання (або проникнення один в одного). Поки товщина рідкого прошарку або лі-

підної плівки залишається більше сумарної товщини граничних шарів з особливою структурою, вплив останніх виявляється тільки через відповідні зміни електростатичної та молекулярної складових розклинюючого тиску. Подальше проведення досліджень було пов'язане з вимірюванням гідродинамічного діаметра частинок ліпідного екстракту, отриманого із плодової м'якоти, обробленої одночасно у вакуумі й мікрохвильовому полі (комбінована обробка). Порівняння результатів зразків після гідротермічної обробки й комбінованої показує тенденцію більшої стійкості та стабільності ліпідної системи, яка виражається в упорядкуванні гідродинамічного діаметра до діапазону 100-1 000 нм.

Аналіз PSD профілю зразків після гідротермічної та комбінованої обробки під час впливу доцентрової сили в разі поділу протягом 20 хв показує наближеність результатів. Отже, посилення фізичного впливу – відцентрової сили на ліпідні нанодомени ефективно за певної тривалості процесу. Під час комбінованої обробки плодової м'якоти відбувається основний вплив – тепловий та додатковий фізичний – глибоке розрідження. Ефективність поєднання теплового впливу й розрідження пояснюється тим, що у вакуумі

має місце розширення локальних ділянок поверхні ліпідного шару клітинних мембран, що призводить до впорядкування гідродинамічного діаметра та сприятливих умов ферментолізу. Посилення подальшого фізичного впливу на дану систему змінює умови розклинюючого тиску колоїдів і частки прагнуть до відштовхування, що виражається у зменшенні гідродинамічного діаметра та збільшенні ζ -потенціалу, площі поверхні контакту.

Активація мембранозв'язаних ферментів є складним завданням для харчової промисловості. Наприклад, спостерігається активація мітохондріальних фосфоліпаз під час додавання до мембранних фракцій іонів Ca^{2+} або продуктів пероксидного окиснення ліпідів [15–16]. Відомо, що білкова молекула може фіксуватися в біпрошарок за допомогою різних типів взаємодій, включаючи електростатичні (на рівні полярних головок ліпідів) і гідрофобні (у товщі біпрошарку). Описані зміни гідродинамічного діаметра ліпідних екстрактів плодової м'якоти відображаються на міцності зв'язування периферичних білків біліпідного шару. Вивільнення білкової компоненти бішару клітинних мембран призводить до активації мембранозв'язаних ферментів, а саме HPL. Після комбінованої обробки, в результаті зміни активності гідропероксидліаз HPL зареєстровані зміни аромату в плодах, які відбуваються в разі накопичення C_6 - C_9 альдегідів. Інтенсивність і площа піків ароматичних компонентів, проаналізованих на хроматограмах, свідчить про утворення C_6 - C_9 альдегідів GLVs профілю з гідропероксидних сполук ліпідів клітинних мембран.

Ефективність комбінованої обробки плодів, з точки зору здійснення реакцій, полягає в активації гідропероксидліаз і здійсненні реакцій між гідрофільними ферментами й гідрофобними попередниками. Під дією розклинюючого тиску (в умовах глибокого розрідження) шар води в міжфазному прошарку біліпідного шару, гідратних оболонках навколо полярних частин ліпідів і мембранних білків достатньо зменшується для перебігу необхідних реакцій утворення або відновлення GLVs профілю.

Висновки із зазначених проблем і перспективи подальших досліджень у поданому напрямку. Теплова обробка сировини у вакуумі дозволяє цілеспрямовано впливати

шляхом регулювання величини розрідження на ферментативний процес утворення аромату. Оцінити доступність попередників аромату ліпідної природи для здійснення ферментативних реакцій можливо за розподілом їх гідродинамічного діаметра та дзета-потенційної рухливості. Зміни цих параметрів ліпідних компонентів рослин у процесі обробки впливають на концентрацію ароматичних компонентів.

Вплив розмірних характеристик ліпідних екстрактів на можливість здійснення реакцій утворення аромату полягає у зміні умов взаємодії гідрофільно-гідрофобних колоїдних систем та площі поверхні контакту. Установлено, що під час вакуумного нагрівання (розрідження 8 ± 2 кПа, температура 34 ± 2 °C) плодової м'якоти субстрат-ферментні взаємодії найбільш інтенсивні через умови міжфазної активації, коли відбувається ослаблення гідрофобної взаємодії, ковалентних зв'язків, сил міжмолекулярної взаємодії (вандерваальсівських). Такі ефекти забезпечують полімолекулярну адсорбцію і біосинтез свіжого запаху GLVs у плодах після комбінованої обробки.

ЛІТЕРАТУРА

1. Guentert, M. The flavour and fragrance industry – past, present, and future. In Berger, R. G. (Ed.). *Flavours and fragrances: chemistry, bioprocessing and sustainability*. Springer, 2007.
2. Reed, G. *Enzymes in Food Processing*. Access Online via Elsevier. 1966.
3. Dateo, G. P., Clapp, R. C., Mackay D. A. M., Hewitt E. J., Hasselstrom, T. Identification of the volatile sulfur components of cooked cabbage and the nature of the precursors in the fresh vegetable. *Journal of Food Science*, 1957, 22(5), 440–447.
4. Hasselstrom, T. Bailey, S. Reese, E. *Regeneration of Food Flavors through Enzymatic Action*. Army Research Office Washington DC. 1962.
5. Schwimmer, S. Alteration of the flavor of processed vegetables by enzyme prepara-

- tions. Journal of Food Science, 1963, 28(4), 460–466.
6. Gargouri, M. Akacha, N. B. Kotti, F. Rjeb, I. B. Voie de la lipoxygenase: valorisation d'huiles vegetales et biosynthese de flaveurs. Biotechnologie, Agronomie, Societe et Environnement, 2008, 12(2), 185–202.
 7. Oey I. Effect of novel food processing on fruit and vegetable enzymes. In A. Bayindirli (Ed.), Enzymes in Fruit and Vegetable Processing Chemistry and Engineering Applications: Taylor & Francis Group, 2010, 245–312.
 8. Bezysov, A. Dubova, H. Rogova, N. New Methods Of Plant Selection For Food Aroma Recovery Aided By Oxidation Processes. Acta Universitatis Cibiniensis. Ser. E: Food Technology, 2015, 19(2), 15–26.
 9. Hui Y. H., Chen F., Nollet L. M. (Eds.). (2010). Handbook of fruit and vegetable flavors. John Wiley and Sons.
 10. Nakauma, M. Funami, T. Noda, S. Ishihara, S. Al-Assaf, S. Nishinari, K. Phillips, G. O. Comparison of sugar beet pectin, soybean soluble polysaccharide, and gum arabic as food emulsifiers. 1. Effect of concentration, pH, and salts on the emulsifying properties. Food Hydrocolloids, 2008, 22(7), 1254–1267.
 11. Tsukagoshi, K. Tanaka, A. Nakajima, R. Hara, T. Notes On-Line Capillary Zone Electrophoretic Separation-Chemiluminescence Detection of Protein Labeled with Fluorecamine. Analytical sciences, 1996, 12(3), 525–528.
 12. Radko, S. P. Stastna, M. Chrambach, A. Size-dependent electrophoretic migration and separation of liposomes by capillary zone electrophoresis in electrolyte solutions of various ionic strengths. Analytical chemistry, 2000, 72(24), 5955–5960.
 13. Gonzalez, M. E., Anthon, G. E. Barrett, D. M. Onion cells after high pressure and thermal processing: comparison of membrane integrity changes using different analytical methods and impact on tissue texture. Journal of food science, 2010, 75(7), 426–432.
 14. Eggeling, C. Ringemann, C. Medda, R. Schwarzmann, G. Sandhoff, K. Polyakova, S. Hell, S. W. Direct observation of the nanoscale dynamics of membrane lipids in a living cell. Nature, 2009, 457(7233), 1159–1162.
 15. Halliwell, B. Chirico, S. Lipid peroxidation: its mechanism, measurement, and significance. The American journal of clinical nutrition, 1993, 57(5), 715–724.
 16. Adibhatla, R. M. Hatcher, J. F. Phospholipase A2, reactive oxygen species, and lipid peroxidation in CNS pathologies. BMB reports, 2008, 41(8), 560.

В. А. Сукманов, доктор технических наук, профессор (Высшее учебное заведение Укоопсоюза «Полтавский университет экономики и торговли»); **А. И. Маринин**, кандидат технических наук, доцент (Национальный университет пищевых технологий); **Г. Е. Дубова**, кандидат технических наук, доцент; **Л. И. Куц**, (Высшее учебное заведение Укоопсоюза «Полтавский университет экономики и торговли»). **Исследование характеристик мембранных липидов плодового сырья в процессе восстановления аромата.**

Аннотация. Цель влияния исследования заключается в изучении характеристик липидных частиц клеточных мембран на скорость осуществления ферментативных реакций. **Методика исследования.** Анализ летучих компонентов проводили на хромато-масс-спектрометрической системе Agilent 6890N/5973, распределение размера коллоидной фракции и электрофоретическая подвижность частиц была определена на анализаторе Malvern Zetasizer Nano ZS, липиды плодовой мякоти выделяли в аппарате Сокслета, используя растворитель хлороформ-этанол. **Результаты.** Гидродинамический размер липидных частиц и значение ζ -потенциала свежих плодов меняются после тепловой обработки. В плодах, прошедших комбинированную обработку, увеличивается концентрация гидроперекисных соединений (субстратов) и снижается доступность мембраносвязанных ферментов, а именно гидроперексид лиазы (HPL). Установлено, что во время нагревания в вакууме

(разрежение 8 ± 2 кПа, температура 34 ± 2 °C) взвешенных растительных гомогенатов субстрат-ферментные взаимодействия наиболее интенсивны при условии межфазной активации, когда происходят благоприятные ферментативные процессы, которые приводят к образованию свежего запаха (GLVs). **Выводы.** Изменение площади поверхности гидрофильно-гидрофобного взаимодействия обеспечивает полимолекулярную адсорбцию и биосинтез зеленого запаха GLVs в плодах после комбинированной обработки.

Ключевые слова: аромат, гомогенат, предшественники, ферменты, субстрат.

V. Sukmanov, Doctor of Technical Sciences, Professor (Poltava University of Economics and Trade); **A. Marynin**, Candidate of Technical Sciences, Associate Professor (National University of Food Technology); **H. Dubova**, Candidate of Technical Sciences, Associate Professor; **L. Kushch** (Poltava University of Economics and Trade). **A study of changes in membrane lipids of raw materials during the process of flavor recovery.**

Purpose. The formation of fruit flavor involving precursors and enzymes is important and has a certain advantage over other methods. The molecules of a precursor-compound can withstand the processing modes, while enzymes and aromatic compounds break down frequently. The fruit and vegetable pretreatment conditions and subsequent environment in which enzymatic reactions take place can be considered as potential factors in the formation of fresh flavors. **Methods.** Lipid emulsions fruits (cucumber, squash, watermelon) were prepared in the Soxhlet apparatus according to the classical procedure using chloroform-ethanol solvent. The intensity of oxidative processes was evaluated using the developed technique based on the reactions of carbonyl compounds (CC) in the vapor phase with 2,4-dinitrophenylhydrazine. The particle size distribution (PSD), ζ -potential of the colloidal fraction was made on the analyser Malvern Zetasizer Nano ZS. Lipid emulsions were prepared in the Soxhlet apparatus according to the classical procedure using chloroform-ethanol solvent. **Results.** It has been shown that changes of the plant aromatic components during heat or combined processing are associated with transformations of lipid components. It has been established that the availability of these components for enzymatic reactions depends on the distribution of lipid particles according to their size and potential mobility. It has been found that the increased hydrodynamic particle size and decreased ζ -potential in fresh fruits are associated with enzymatic processes leading to the formation of fresh flavor (GLVs). Most of the aromatic components are reaction intermediates formed between the substrate (lipid hydroperoxide derivatives, HPO) and the corresponding enzymes (hydroperoxide lyase HPL). Fruits subjected to combined processing demonstrate the increased concentration of hydroperoxide compounds (substrate) and the reduced availability of the membrane bound enzymes of hydroperoxide lyase HPL. Regardless of the method of heat input, the functional activity of membrane proteins and dynamic properties of the membrane lipid matrix contributing to conformational flexibility of enzymes were shown. Vacuum processing of watermelon flesh which lost its flavor results in aroma recovery due to the repeated enzyme-substrate interactions down to measurable concentration which can be recorded on a chromatograph. **Conclusions.** It has been established that during heating in vacuum (with underpressure 8 ± 2 kPa, at temperature 34 ± 2 °C) of the suspended plant homogenates, substrate-enzyme interactions are the most intensive because of the conditions of interphase activation when the hydrophobic interaction, covalent links, and Van der-Vaalsovyh forces change. These effects ensure multimolecular adsorption and biosynthesis of green leaf volatiles (GLVs) in the fruits after heat treatment.

Keywords: aroma, homogenate, precursors, enzymes, substrate.

Надійшло 10.08.2016

Надійшло в переробленому вигляді 15.08.2016

Прийнято 10.09.2016