

**Е.М. Серба, доктор биологических наук, профессор РАН**

**П.Ю. Таджибова, аспирант**

**Л.В. Римарева, академик РАН, профессор**

**А.Ю. Кривова, доктор технических наук, профессор**

**М.Б. Оверченко, кандидат технических наук**

**Н.И. Игнатова**

**Н.А. Кузнецова, студент**

*Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии –*

*филиал «ФИЦ питания, биотехнологии и безопасности пищи»*

*РФ, 111033, Москва, ул. Самокатная, 4-Б*

*E-mail: serbae@mail.ru*

УДК 663.15:663.9

DOI: 10.30850/vrsn/2019/3/56-59

## БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СОЗДАНИЯ БЕЛКОВО-ПОЛИСАХАРИДНОГО ОБОГАТИТЕЛЯ КОРМОВ НА ОСНОВЕ ВТОРИЧНОГО СЫРЬЯ ПИЩЕВЫХ ПРОИЗВОДСТВ\*

*Исследован синтез биологически полноценного белка, полисахаридов, в том числе хитино-глюкано-маннанового комплекса непатогенным штаммом гриба *Aspergillus oryzae* в процессе твердофазного культивирования на вторичном сырье перерабатывающих отраслей АПК. Уровень содержания сырого протеина на среде с подсолнечным шротом составил 78,0%, что в два раза превосходило показатели исходной среды (38,6%); более высокое накопление белковых веществ достигнуто на средах с подсолнечным шротом и зерновой бардой (4:1) – 86,4%. Установлено, что среды, содержащие зерновую барду в своем составе, обеспечивали наиболее высокое накопление полисахаридов – 25,0–30,0%, что в 1,5 раза выше, чем на исходной среде. Введение в состав питательной среды подсолнечного шрота в количестве 20 и 80% зерновой барды позволило увеличить выход хитино-глюканового комплекса до 32%, при этом количество белка составило 76%. Содержание незаменимых аминокислот микробной биомассы, выросшей на среде с подсолнечным шротом, возросло в 1,8 раза и составило 143,7 мг/г. При этом основное увеличение незаменимых аминокислот приходилось на метионин, изолейцин, лейцин, фенилаланин, триптофан, валин. Полученные результаты могут быть использованы для производства белково-полисахаридного обогатителя кормов с сорбирующими свойствами.*

**Ключевые слова:** *мицелиальный гриб, твердофазное культивирование, протеин, аминокислоты, полисахариды, обогатителя пищи и кормов.*

**E.M. Serba, Grand PhD in Biological sciences, Professor of RAS**

**P.Y. Tazhibova, PhD student**

**L.V. Rimareva, Academician of RAS, Professor**

**A.Yu. Krivova, Grand PhD in Engineering sciences, Professor**

**M.B. Overchenko, PhD in Engineering sciences**

**N.I. Ignatova**

**N.A. Kuznetsova, student**

*Russian Research Institute of Food Biotechnology is a Branch of Federal State Budget Institution of science*

*«Federal Research Center of Food, Biotechnology and Food Safety»*

*RF, 111033, Moskva, ul. Samokatnaya, 4-B*

*E-mail: serbae@mail.ru*

## BIOTECHNOLOGICAL ASPECTS OF THE CREATION OF A PROTEIN-POLYSACCHARIDE FEED ENRICHER BASED ON SECONDARY FOOD PRODUCTION

*The synthesis of biologically valuable protein, polysaccharides, incl. chitin-glucan-mannan complex non-pathogenic strain of the fungus *Aspergillus oryzae* in the process of solid-phase cultivation on the secondary raw materials processing industries of the AIC. The content of crude protein on the medium with sunflower meal was 78.0%, which was 2 times higher than the initial medium (38.6%); a higher accumulation of proteins was achieved on media with sunflower meal and grain bard (4:1) – 86.4%. It was established that the media containing grain bard in its composition provided the highest accumulation of polysaccharides – 25.0–30.0%, which is 1.5 times higher than on the initial medium. Introduction to the composition of the nutrient medium of sunflower meal in the amount of 20 and 80% of grain bards allowed to increase the yield of the chitin-glucan complex to 32%, while the amount of protein was 76%. The content of essential amino acids of microbial biomass grown on the medium with sunflower meal increased 1.8 times and amounted to 143.7 mg/g. The main increase in the content of essential amino acids accounted for such amino acids as methionine, isoleucine, leucine, phenylalanine, tryptophan, valine. The obtained results can be used for the production of a protein-polysaccharide feed enrichment with sorbing properties.*

**Key words:** *mycelial fungus, solid-phase cultivation, protein, amino acids, polysaccharides, food and feed enrichment.*

\* Исследования проведены за счет средств субсидии на выполнение государственного задания в рамках Программы Фундаментальных научных исследований государственных академий наук (тема № 0529-2019-0066)./ The studies conducted through grant funds for the implementation state task of the Basic Scientific Research Public Academies of Science Programme (topic № 0529-2019-0066).

Биотехнологию применяют в силосовании кормов для повышения усвоения растительной биомассы, утилизации отходов животноводческих ферм, получения экологически чистых органических удобрений на основе переработки отходов растениеводства и животноводства. Белковые вещества, полученные с помощью микроорганизмов, используют в виде кормовых добавок. Производителями кормового белка могут быть бактерии, дрожжи, микроскопические водоросли, микро- и макромицеты. В последнее время ведут активные исследования биохимических и структурно-функциональных свойств биомассы грибов, выявляют перспективы ее использования в качестве субстрата для получения белково-аминокислотных кормовых добавок и функциональных ингредиентов. [1, 3, 7, 9, 13, 15]

Микромицеты легко выращивать в производственных условиях на любых субстратах, они способствуют синтезу гидролитических ферментов, устойчивы к микробной контаминации. [12] Биомасса грибов содержит белка больше, чем зерно злаковых культур, несколько уступая лишь по аминокислотному составу протеину молока и рыбной муки, богата витаминами (тиамин, рибофлавин, пантотеновая кислота, никотиновая кислота, пиридоксин, фолиевая кислота, а также холин, инозит и др.). Важное свойство мицелиальной биомассы грибов рода *Aspergillus* – высокое содержание ценных полисахаридов широко используют в прикладных исследованиях. [4, 11] Установлено, что содержащийся в грибах хитино-глюкановый комплекс обладает существенной сорбционной способностью. [6, 8, 12] Белки большей части микромицетов лимитированы по сумме аминокислот, содержащих серу. Вместе с тем, они богаты лизином и метионином – основными незаменимыми аминокислотами, недостающими в белке зерновых культур. Результаты проведенных ранее исследований показали возможность использования биомассы гриба *Aspergillus oryzae* как субстрата в биотехнологии функциональных добавок. [1, 2] Выявлено, что мицелиальные грибы в процессе глубинного культивирования синтезируют биологически полноценный белок, ценные полисахариды, в том числе аминополисахариды. Однако уровень образования полимеров в биомассе гриба при этом недостаточен – 18...25% белковых веществ и 20...25% полисахаридов.

*Цель работы* – поиск условий создания белково-полисахаридного обогатителя кормов, обогащенных незаменимыми аминокислотами, на основе гриба *Aspergillus oryzae*.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования служил непатогенный штамм *Aspergillus oryzae* RCAM 01133 из коллекции микроорганизмов ВНИИ пищевой биотехнологии; штамм депонирован в Ведомственной коллекции полезных микроорганизмов сельскохозяйственного назначения. [2] Отличительная особенность данного штамма – высокая скорость роста и пониженное спорообразование, что делает его перспективным для использования в технологиях, основанных на твердофазном культивировании.

Культивировали гриб при 30°C на натуральных питательных средах, в состав которых входило вторичное сырье (ВС) пищевых производств (пшеничные отруби, подсолнечный шрот, сухая зерновая барда, солодовые ростки и их комбинации в различных соотношениях). Подготовленные питатель-

ные среды влажностью 55...60% стерилизовали при 0,1 МПа в течение 40 мин.

Культуру тестировали по уровню накопления белковых веществ, полисахаридов и гидролитических ферментов. Содержание полисахаридов определяли колориметрическим методом по уровню образования общих редуцирующих веществ (ОРВ) после кислотного гидролиза; общего белка – по методу Кьельдаля (ГОСТ 32044.1-2012) на автоматической установке «Vadopest»; концентрацию аминокислот – с использованием аминокислотного анализатора «KNAUER» (Германия); аминокраммы просчитывали методом сравнения площадей стандарта и образца. [5] Амилолитическую активность (АС) определяли по ГОСТ Р 54330-2011, общую протеолитическую активность (ПС) – ГОСТ Р 53974-2010 с использованием в качестве субстрата гемоглобин.

Данные обрабатывали не менее, чем в трех повторностях с помощью программы Microsoft Excel и использованием коэффициента Стьюдента (доверительный интервал – 0,95).

## РЕЗУЛЬТАТЫ

Установлено, что накопление белковых веществ и полисахаридов хитино-глюкано-маннанового комплекса варьирует в широких пределах в зависимости от состава питательной среды (рис. 1, 3-я стр. обл.). Уровень активности амилолитических и протеолитических ферментов, синтезируемых грибом *Aspergillus oryzae* RCAM 01133, различен при культивировании на средах, отличающихся по составу, и влияет на накопление белка и полисахаридов в зависимости от содержания последних в исходной среде (см. таблицу). Выявлена тенденция, определяющая увеличение накопления белка при активности протеолитических ферментов от 25,0 до 12,0 ед/г и снижение образования полисахаридов при активности амилолитических ферментов выше 100,0 ед/г. Наиболее высокое накопление белковых веществ достигнуто на подсолнечном шроте и зерновой барде, что обуславливает получение белково-аминокислотных обогатителей пищи и кормов. Содержание сырого протеина по сравнению с исходной средой увеличилось на подсолнечном шроте с 38,6±3,2% до 78,0±3,4%, на зерновой барде – с 48,7±2,8% до 70,4±3,1%. Следует отметить, что количество белка в поверхностной культуре гриба более чем в три раза превышает аналогичные показатели в глубинной культуре. [3]

**Накопление биополимеров культурой *Aspergillus oryzae* RCAM 01133 при твердофазном культивировании**

| Питательная среда | Ферментативная активность, ед./г |                       | Содержание биополимеров, % |          |                       |          |
|-------------------|----------------------------------|-----------------------|----------------------------|----------|-----------------------|----------|
|                   | амилолитическая (АС)             | протеолитическая (ПС) | белка в                    |          | полисахаридов (ОРВ) в |          |
|                   |                                  |                       | исходной среде             | биомассе | исходной среде        | биомассе |
| Пшеничные отруби  | 105,0±5,2                        | 64,0±3,2              | 12,0±1,5                   | 24,0±1,8 | 52,0±3,8              | 28,0±2,4 |
| Подсолнечный шрот | 110,3±5,5                        | 20,5±1,5              | 38,0±3,5                   | 78,0±5,1 | 25,0±2,4              | 15,0±0,5 |
| Зерновая барда    | 63,1±3,1                         | 12,0±0,6              | 48,0±3,2                   | 70,0±4,2 | 15,0±2,0              | 26,0±1,4 |
| Солодовые ростки  | 43,1±2,2                         | 25,0±0,8              | 22,0±1,5                   | 42,0±3,7 | 14,0±1,8              | 24,0±1,4 |

Чтобы активизировать способность штамма гриба *A. oryzae* RCAM 01133 к синтезу белковых веществ и полисахаридов при твердофазном культивировании использовали комбинированные питательные среды, содержащие в качестве основных компонентов подсолнечный шрот, зерновую барду, пшеничные отруби и солодовые ростки (рис. 2а, б, 3-я стр. обл.).

На среде с подсолнечным шротом (80%) и зерновой бардой (20%) зафиксировано наибольшее накопление белка, а при равном количестве зерновой барды и подсолнечного шрота – полисахаридов.

Анализ аминокислотного состава полученных образцов микробной биомассы выявил повышенные содержания незаменимых аминокислот по сравнению с их исходным содержанием в питательных средах. На среде с подсолнечным шротом их общее количество возросло в 1,8 раза и составило 143,7 мг/г (в исходной среде – 80,6 мг/г), а на среде с подсолнечным шротом и зерновой бардой (4:1) – в 2,0 раза (до 152,2 мг/г). При этом основную увеличение незаменимых аминокислот приходилось на аминокислоты – метионин, изолейцин, лейцин, фенилаланин, триптофан, валин (рис. 3, 3-я стр. обл.).

Таким образом, проведенные исследования выявили возможность получения белково-аминокислотных кормовых добавок с повышенным содержанием незаменимых АК на основе твердофазного культивирования гриба *Aspergillus oryzae* RCAM 01133.

Однако комплекс белок-полисахариды на вышеуказанных средах значительно отличался по содержанию полисахаридов. Так, использование подсолнечного шрота снизило содержание ОРВ почти в два раза по сравнению с исходной средой, а при культивировании на среде, содержащей подсолнечный шрот и зерновую барду (4:1) этот показатель превысил исходный уровень на 30%. Повышение концентрации зерновой барды в среде привело к более существенному увеличению уровня синтеза хитино-глюканового комплекса. Полученные результаты могут быть использованы для производства биопрепаратов с сорбирующими свойствами. Наряду с этим, возможно создание белково-аминокислотного обогатителя кормов с сорбирующими свойствами при использовании твердофазного культивирования на питательной среде, содержащей подсолнечный шрот 20% и 80% зерновой барды, где содержание белка в биомассе составило 76%, а полисахаридов хитино-глюкано-маннанового комплекса 32%, что в 1,5 раза выше, чем на исходной среде.

#### СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Серба, Е.М. Получение ферментализатов мицелиальной биомассы для создания пищевых и кормовых биодобавок / Е.М. Серба, Л.В. Римарева, М.Б. Оверченко и др. // Пищевая промышленность. – 2016. – № 6. – С. 20–23.
2. Серба, Е.М. Мицелиальные грибы – перспективный источник гидролаз и ценных биополимеров / Е.М. Серба, Л.В. Римарева, М.Б. Оверченко и др. // Вестник российской сельскохозяйственной науки. – 2016. – № 4. – С. 41–43.
3. Серда, А.С. Ферментные комплексы для разрушения клеточной стенки мицелиальных грибов – продуцентов промышленных ферментов / А.С. Серда, И.А. Велikorейская, Д.О. Осипов и др. // Известия Уфимского научного центра Российской академии наук. – 2018. – № 3-2. – С. 31–35.

4. Фефилова, Е.П. Клеточная стенка грибов: современные представления о составе и биологической функции / Е.П. Фефилова // Микробиология. – 2010. – Т. 79. – № 6. – С. 723–733.
5. Шлейкин, А.Г. Биохимия. Лабораторный практикум. Часть 2. Белки. Ферменты. Витамины / А.Г. Шлейкин, Н.Н. Скворцова, А.Н. Бландов // Учеб. пособие. – СПб.: Университет ИТМО. – 2015. – С. 106.
6. Abdel-Gawad, K.M. Technology optimization of chitosan production from *Aspergillus niger* biomass and its functional activities / K.M. Abdel-Gawad, F. Awatief, F. Hifney Mustafa, A. Fawzy, Mohamed Gomaa // Food Hydrocolloids. – 2017. – V. 63. – P. 593–601.
7. Klis, F.M. A molecular and genomic view of the fungal cell wall / F.M. Klis, A.F.J. Ram // De Groot PWJ Biology of the fungal cell. In: The Mycota. 2nd ed/ – 2007. – V. 5. – № 3. – P. 111–151.
8. Kumaresapillai, N. Production and evaluation of chitosan from *Aspergillus niger* MTCC strains / N. Kumaresapillai, R.A. Basha, R. Sathish // Iranian journal of pharmaceutical research. – 2011. – V. 10. – № 3 – P. 553–557.
9. New, N. Characterization of chitosan-glycan complex extracted from the cell wall of fungus *Gongronellabutleri* USDB 0201 by an enzymatic method / N. New, W.F. Stevens, S. Tokura, H. Tamura // Enzyme and Microbial Technology. – 2008. – V. 42. – P. 242–251.
10. Polizeli, M.L. Xylanases from fungi: properties and industrial applications / M.L. Polizeli, A.C.S. Rizzatti, R. Monti, H.F. Terenz, J.A. Jorge, D.S. Amari // MicrobiolBiotechnol. – V. 67. – P. 577–591.
11. Skorik Y.A. Evaluation of various chitin derivatives from *Aspergillus niger* as transition metal adsorbents / Y.A. Skorik, A.V. Pestov, Y.G. // Yatluk Bioresource technology. – 2010. – V. 101. – № 6. – P. 1769–1775.
12. Viraraghavan, T. Fungal biosorption and biosorbents / T. Viraraghavan, A. Srinivasan // Microbial Biosorption of Metals. Springer Netherlands. – 2011. – P. 143–158.
13. Ward, O.P. Physiology and biotechnology of *Aspergillus* / O.P. Ward, W.M. Qin, N.J. Dhanjoon, J. Ye, A. Singh // Adv Appl. Microbiol. – 2006. – V. 58. – № 1. – P. 75.

#### LIST OF SOURCES

1. Serba, E.M. Poluchenie fermentolizatov micelial'noj biomassy' dlyasozdaniya pishhevy'xi kormovy'xbiodobavok / E.M. Serba, L.V. Rimareva, M.B. Overchenko i dr. // Pishhevaya promy'shennost'. – 2016. – № 6. – S. 20–23.
2. Serba, E.M. Micelial'ny'e griby' – perspektivny'j istochnik gidrolaz i cenny'x biopolimerov / E.M. Serba, L.V. Rimareva, M.B. Overchenko i dr. // Vestnik rossijskoj sel'skoxozyajstvennoj nauki. – 2016. – № 4. – S. 41–43.
3. Sereda, A.S. Fermentny'e komplekсы' dlya razrusheniya kletочноj stenki micelial'ny'x gribov - producentov promy'shlenny'x fermentov / A.S. Sereda, I.A. Velikoreczkaya, D.O. Osipov i dr. // Izvestiya Ufmskogo nauchnogo centra Rossijskoj akademii nauk. – 2018. – № 3-2. – S. 31–35.
4. Feofilova, E.P. Kletochnaya stenka gribov: sovremenny'e predstavleniya o sostave i biologicheskoy funkcii/ E.P. Feofilova // Mikrobiologiya. – 2010. – Т. 79. – № 6. – S. 723–733.
5. Shlejkin, A.G. Bioximiya. Laboratorny'j praktikum. Chast' 2. Belki. Fermenty'. Vitaminy' / A.G. Shlejkin, N.N. Skvorczova, A.N. Blandov // Ucheb. posobie. – SPb.: Universitet ITMO. – 2015. – S. 106.
6. Abdel-Gawad, K.M. Technology optimization of chitosan production from *Aspergillus niger* biomass and its functional activities / K.M. Abdel-Gawad, F. Awatief F Hifney Mustafa A. Fawzy, Mohamed Gomaa // Food Hydrocolloids. – 2017. – V. 63. – P. 593–601.
7. Klis, F.M. A molecular and genomic view of the fungal cell wall / F.M. Klis, A.F.J. Ram // De Groot PWJ Biology of

- the fungal cell. In: The Mycota. 2nd ed/ – 2007. – V. 5. – № 3. – P. 111–151.
8. Kumaresapillai, N. Production and evaluation of chitosan from *Aspergillus niger* MTCC strains / N. Kumaresapillai, R.A. Basha, R. Sathish // Iranian journal of pharmaceutical research. – 2011. – V. 10. – № 3 – P. 553–557.
  9. New, N. Characterization of chitosan-glucan complex extracted from the cell wall of fungus *Gongronellabutleri* USDB 0201 by an enzymatic method / N. New, W.F. Stevens, S. Tokura, H. Tamura // Enzyme and Microbial Technology. – 2008. – V. 42. – P. 242–251.
  10. Polizeli, M.L. Xylanases from fungi: properties and industrial applications / M.L. Polizeli, A.C.S. Rizzatti, R. Monti, H.F. Terenz, J.A. Jorge, D.S. Amari // MicrobiolBiotechnol. – V. 67. – P. – 577–591.
  11. Skorik Y.A. Evaluation of various chitinglucan derivatives from *Aspergillus niger* as transition metal adsorbents / Y.A. Skorik, A.V. Pestov, Y.G. // Yatluk Bioresource technology. – 2010. – V. 101. – № 6. – P. 1769–1775.
  12. Viraraghavan, T. Fungal biosorption and biosorbents / T. Viraraghavan, A. Srinivasan // Microbial Biosorption of Metals. Springer Netherlands. – 2011. – P. 143–158.
  13. Ward, O.P. Physiology and biotechnology of *Aspergillus* / O.P. Ward, W.M. Qin, N.J. Dhanjoon, J. Ye, A. Singh // Adv Appl. Microbiol. – 2006. – V. 58. – № 1. – P. 75.

**М.В. Осипов, кандидат технических наук**  
**Н.Б. Кондратьев, доктор технических наук**  
**Е.В. Казанцев**

**О.С. Руденко, кандидат технических наук**  
**П.А. Семенова, кандидат технических наук**

*Всероссийский научно-исследовательский институт кондитерской промышленности – филиал Федерального научного центра пищевых систем имени В.М. Горбатова  
 РФ, 107023, Москва, ул. Электrozаводская, 20, стр. 3  
 E-mail: conditerprom@mail.ru*

УДК 664.68:664.684:547.458.61:551.571

DOI: 10.30850/vrsn/2019/3/59-62

## ВЛИЯНИЕ МОДИФИЦИРОВАННОГО КРАХМАЛА НА ВЛАГОУДЕРЖИВАЮЩУЮ СПОСОБНОСТЬ НАЧИНОК В ПРЯНИКАХ

*Исследовано влияние двух типов «сшитого» и этерифицированного модифицированных крахмалов: гидроксипропил ди-крахмал фосфата (E 1442) и ацетилованного дикрахмал адипата (E 1422) на скорость процесса влагопереноса мучных кондитерских изделий – сырцовых пряников с фруктовой начинкой, упакованных в полипропиленовую пленку толщиной 40 мкм в процессе хранения при температуре 30°C и относительной влажности окружающего воздуха 40%. Наименьшие потери массовой доли влаги характерны для сырцовых пряников с фруктовой начинкой при использовании модифицированного крахмала E 1442. Массовая доля влаги пряников с начинкой практически сохранилась после четырех недель хранения на уровне 13,5%. Относительные потери массовой доли влаги в пряниках с фруктовой начинкой, изготовленных с использованием модифицированного крахмала E 1442 составляют 3% после четырех недель хранения, в отличие от пряников с фруктовой начинкой, изготовленных на основе модифицированного крахмала E 1422, где относительные потери влаги составляют 9% за этот же срок. Фруктовая начинка с использованием модифицированного крахмала E 1442 обуславливает более высокие влагоудерживающие свойства по сравнению с начинкой, изготовленной на основе модифицированного крахмала E 1422. Скорость влагопереноса между частями пряника зависит от таковой через полипропиленовую пленку. Массовая доля влаги верхнего слоя пряников с фруктовой начинкой, изготовленных на основе модифицированного крахмала E 1442, упакованных в полипропиленовую пленку толщиной 40 мкм, после двух недель хранения возрастает, а в пряниках с фруктовой начинкой, изготовленных на основе модифицированного крахмала E 1422, наоборот, уменьшается, что может привести к черствению продукта.*

**Ключевые слова:** модифицированный крахмал, фруктовая начинка, сырцовые пряники, влагоудерживающая способность.

**M.V. Osipov, PhD in Engineering sciences**  
**N.B. Kondratev, Grand PhD in Engineering sciences**  
**E.V. Kazantsev**

**O.S. Rudenko, PhD in Engineering sciences**  
**P.A. Semenova, PhD in Engineering sciences**

*All-Russian Research Institute of Confectionery Industry – branch of V.M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems  
 RF, 107023, Moskva, ul. E'lektrozavodskaya, 20, str. 3  
 E-mail: conditerprom@mail.ru*

## EFFECT OF MODIFIED STARCH ON THE WATER-HOLDING CAPACITY OF GINGERBREAD FILLINGS

*The effect of two types of «crosslinked» and esterified modified starches: hydroxypropyl distarch phosphate (E 1442) and acetylated distarch adipate (E 1422) on the speed of the process of moisture transfer in flour confectionery products was studied. The objects of the study were gingerbread with fruit filling packed in a polypropylene film with a thickness of 40 μm during storage at a temperature of 30°C and a relative humidity of ambient air of 40%. Smaller losses of the mass fraction of moisture are determined for gingerbread with fruit filling in which E 1442 modified starch was used. The moisture content of gingerbread with filling practically did not change during storage and remained 13.5% after four weeks of storage. The relative loss of the mass fraction of moisture in gingerbread with fruit filling made using modified starch (E 1442) was 3% after four weeks of storage. While in gingerbread with fruit filling, made on the*