

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-2-117-125>

Поступила 12.05.2021

Поступила после рецензирования 14.06.2021

Принята в печать 28.06.2021



<https://www.fsjour.com/jour>

Научная статья

# ПОЛУЧЕНИЕ И ПРИМЕНЕНИЕ МИКРОПАРТИКУЛЯТА СЫВОРОТОЧНЫХ БЕЛКОВ В ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА СМЕТАНЫ

Мельникова Е. И., Станиславская Е. Б.\*

Воронежский государственный университет инженерных технологий, Воронеж, Россия

## КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

молочная сыворотка,  
кластерная модификация,  
мембранный метод,  
β-лактоглобулин,  
ультрафильтрация,  
термомеханическая обработка

## АННОТАЦИЯ

Одним из перспективных направлений реализации ценного белкового кластера молочной сыворотки является получение микропартикулята сывороточных белков. Цель работы — модификация белкового кластера молочной сыворотки для получения микропартикулята сывороточных белков и реализации его в технологии производства сметаны. В качестве объектов исследования рассматривали подсырную сыворотку, микропартикулят сывороточных белков, а также сметану. Технология получения микропартикулята включала очистку подсырной сыворотки от казеина и жира, ультрафильтрацию, термомеханическую обработку. Показатели состава объектов исследования, их физико-химические свойства определяли в соответствии с российскими стандартами. В ходе работы подтверждены бифидогенные свойства микропартикулята, его высокая антиоксидантная активность, водо-, жиросвязывающая и эмульгирующая способности. Представлены сведения о влиянии микропартикулята на физико-химические и биохимические процессы при производстве сметаны. Внесение микропартикулята стимулировало сбраживание лактозы, оказывало влияние на консистенцию сметаны, повышая вязкость продукта и снижая синерезис. Рекомендуемая доля микропартикулята в составе сметаны составила 15%. Качественные показатели сметаны отвечали требованиям нормативной документации. Внесение микропартикулята придавало продукту более выраженный аромат. В готовом продукте было отмечено более высокое содержание молочнокислых микроорганизмов, чем в контрольном образце. Пребиотические свойства микропартикулята улучшали выживаемость микрофлоры заквасочных культур при хранении. Образование свободных жирных кислот опытного образца в процессе хранения происходило более интенсивно, чем в контроле, в то время как окисление жира было менее выраженным. Применение микропартикулята сывороточных белков в производстве сметаны характеризуется многочисленными преимуществами: позволяет добиться повышения эффективности переработки молока, способствует экологичности, рентабельности производства, улучшает качество готового продукта.

Received 12.05.2021

Accepted in revised 14.06.2021

Accepted for publication 28.06.2021

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Original scientific article

# PREPARATION AND USE OF THE WHEY PROTEIN MICROPARTICULATE IN THE SOUR CREAM PRODUCTION TECHNOLOGY

Elena I. Melnikova, Ekaterina B. Stanislavskaya\*

Voronezh State University of Engineering Technologies, Voronezh, Russia

## KEY WORDS:

milk whey, cluster modification,  
membrane method,  
β-lactoglobulin, ultrafiltration,  
thermomechanical treatment

## ABSTRACT

One of the promising directions in the application of the valuable whey protein cluster is production of the whey protein microparticulate. The aim of the study was modification of the whey protein cluster to obtain the whey protein microparticulate and its use in the sour cream production technology. Cheese whey, whey protein microparticulate and sour cream were used as the objects of the research. The microparticulate production technology included purification of cheese whey from casein and fat, ultrafiltration, thermomechanical treatment. The composition of the objects of the research, their physico-chemical properties were determined according to the Russian standards. During investigations, the bifidogenic properties of the microparticulate, its high antioxidant activity, water- and fat-binding capacities as well as emulsifying capacity were confirmed. The data about an effect of the microparticulate on the physico-chemical and biochemical processes in sour cream production are presented. Addition of the microparticulate stimulated lactose fermentation, influenced sour cream consistency increasing product viscosity and reducing syneresis. The recommended dose of the microparticulate in the sour cream composition was 15%. Quality indicators of sour cream corresponded to the requirements of the normative documentation. Addition of the microparticulate imparted more pronounced aroma to the product. Higher content of lactic acid microorganisms was observed in the finished product compared to the control sample. The prebiotic properties of the microparticulate improved viability of starter cultures during storage. Formation of free fatty acids in the experimental sample during storage was more intensive compared to the control, while fat oxidation was less pronounced. The use of the whey protein microparticulate in sour cream production is characterized by many advantages: it allows achieving an increase in the effectiveness of milk processing, facilitates sustainability, production profitability, improves finished product quality.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Мельникова, Е. И., Станиславская, Е. Б. (2021). Получение и применение микропартикулята сывороточных белков в технологии производства сметаны. *Пищевые системы*, 4(2), 117-125. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-2-117-125>

FOR CITATION: Melnikova, E.I., Stanislavskaya, E.B. (2021). Preparation and use of the whey protein microparticulate in the sour cream production technology. *Food systems*, 4(2), 117-125. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-2-117-125>

## 1. Введение

Современные технологические решения переработки молока основаны на комплексном и рациональном использовании сырья, при котором задействованы побочные продукты отрасли. Среди них особое значение имеет сыворотка, ежегодные объемы которой в Российской Федерации составляют почти 8 млн т [1]. Проблема переработки молочной сыворотки актуальна не только для России, но и для других стран с развитой молочной промышленностью. Мировые объемы сыворотки превышают 200 млн т. в год и имеют тенденцию к росту [2]. Использование всего комплекса питательных веществ сыворотки затруднительно ввиду особенностей ее биотехнологического потенциала: низкой массовой доли сухих веществ, высокой гетерогенности по молекулярной массе, высокой титруемой кислотности, наличия специфических ароматических веществ [3,4]. В этой связи, на наш взгляд, наиболее рентабельным направлением переработки молочной сыворотки является ее кластерная модификация с применением мембранных методов. Это позволит в наибольшей мере реализовать биотехнологический потенциал сыворотки, максимально использовать ее ценные нутриенты. Раздельное использование компонентов сыворотки позволяет получить: подсырные сливки, казеино-альбуминную массу, концентраты сывороточных белков, молочный сахар, концентраты белков с полисахаридами (пектин, хитозан), молочную кислоту, минеральные соли, глюкозо-галактозный сироп, лактулозу, лактитол и др. [5–7].

Наиболее ценным компонентом сыворотки являются сывороточные белки. Они выполняют различные функции в человеческом организме, среди которых можно выделить защитную, структурную, транспортную и другие. Наиболее важным в качественном и количественном отношении сывороточным белком является  $\beta$ -лактоглобулин. Молекула его состоит из 162 аминокислотных остатков и имеет молекулярную массу около 18300. Белок включает две дисульфидные связи, соединяющие остатки цистеина в положениях 66 и 160 и 106 и 119 (или 106 и 121) и одну свободную дисульфидную группу у остатка цистеина в положении 121 (или 119). Свободная сульфгидрильная (тиольная группа) располагается внутри свернутой полипептидной цепи, но выходит наружу при тепловой денатурации. В процессе нагревания высвобождающиеся тиольные группы молекулы белка приводят к их самоассоциации. В результате ассоциации белковых молекул образуются димеры, полимеры или происходит формирование комплексов с мицеллами казеина. Вторым белком сыворотки по количественному соотношению является  $\alpha$ -лактоальбумин. Это компактный глобулярный белок, который характеризуется самыми малыми размерами по сравнению с другими сывороточными белками. Биологическая функция  $\alpha$ -лактоальбумина заключается в регулировании синтеза лактозы из УДФ-D-галактозы и D-глюкозы. В присутствии  $\alpha$ -лактоальбумина активизируется фермент галактозилтрансфераза, который катализирует перенос галактозы в N-ацетилглюкозаминиловые остатки на боковых углеводных цепях гликопротеина. Альбумин сыворотки крови — крупный глобулярный белок с молекулярной массой около 66000. Полипептидная цепь его состоит из 582 аминокислотных остатков, содержит 17 внутримолекулярных дисульфидных связей и только одну свободную сульфгидрильную группу. Сывороточный альбумин характеризуется способностью связывать и транспортировать жирные кислоты и некоторые другие слаборастворимые соединения. Молекулы иммуноглобулинов представляют собой мономеры и полимеры, построенные из одинаковых структурных единиц или субъединиц. Иммуноглобулины

относятся к гликопротеидам — к тяжелым цепям субъединиц присоединены олигосахариды. Последние представлены остатками гексоз, гексозаминов и сиаловой кислоты. К группе минорных белков относят  $\beta_2$ -микроглобулин, лактоферрин, трансферрин, церулоплазмин и компонент протеозо-пептонов. Молекула  $\beta_2$ -микроглобулина состоит из 98 аминокислотных остатков, молекулярная масса составляет 11636. Лактоферрин и церулоплазмин — белки, связывающие железо и медь. Лактоферрин является гликопротеидом, имеет два участка для связывания металла, по структуре и функциям идентичен трансферрину крови. Главной функцией лактоферрина является, в связи с этим, транспорт железа. Кроме того, лактоферрин способен выполнять важнейшую защитную функцию, он проявляет бактериостатическое действие на микрофлору кишечника, способствуя усилению бактерицидного действия лизоцима. Церулоплазмин является медьсодержащим белком с молекулярной массой около 15000. Церулоплазмин регулирует содержание меди в организме, обладает ферментативными свойствами феррооксидазы — катализирует окисление  $\text{Fe}^{2+}$  в  $\text{Fe}^{3+}$ . Церулоплазмин является наиболее сильным среди сывороточных белков ингибиторов образования гипохлорита в системе «миелопероксидаза —  $\text{H}_2\text{O}_2$  —  $\text{Cl}^-$ »; супрессивный эффект обусловлен его прямым взаимодействием с миелопероксидазой. В физиологических условиях церулоплазмин на порядок более эффективно захватывает  $\text{OCl}^-$ , чем трансферрин, альбумид, супероксиддисмутаза, и выполняет таким образом ведущую роль в антиоксидантной защите клеток в острой фазе воспаления. Ангиогенин — специфическая рибонуклеаза, являющаяся активным фактором роста кровеносных сосудов и основой создания лекарственных препаратов для лечения ран различного генезиса. Сывороточные белки способны оказывать стимулирующее действие на иммунитет, выступать в качестве фактора, повышающего уровень инсулиноподобный фактор роста, принимать участие в понижении уровня холестерина в крови. Они имеют низкий гликемический индекс, что позволяет оптимизировать выделение инсулина, тем самым оказывая регулирующее действие на уровень глюкозы в крови. Такое свойство сывороточных белков позволяет рассматривать их как компонент, оказывающий профилактическое действие в отношении диабета второго типа. Сывороточные белки являются естественным источником аминокислот: цистина, гистидина, метионина, лизина, треонина, триптофана и аргинина [8–10].

Одним из перспективных направлений реализации ценного белкового кластера молочной сыворотки является получение пищевого продукта с уникальными свойствами, имитирующими флейвор молочного жира — микропартикулята сывороточных белков. Направленное изменение физико-химических, органолептических, функционально-технологических свойств белковых сывороточных концентратов реализовано в технологии микропартикуляции. Эта операция открывает новые возможности использования белков молочной сыворотки в технологии широкого ассортимента пищевых продуктов как имитаторов свойства жира, позволяя замещать ценное жиросодержащее молочное сырье [11–13]. Известно применение микропартикулятов подсырной и творожной сыворотки как в Российской Федерации, так и за рубежом. Высокую эффективность показало их использование в производстве кисломолочных напитков [14], позволяющее модифицировать их реологические свойства; в составе творога, приводящее к увеличению выхода продукта. Большой научный и практический интерес приобретает применение микропартикулята в технологии создания высококалорийных молочных продуктов для снижения доли жира. К таким продуктам относится сметана. Цель работы —

модификация белкового кластера молочной сыворотки для получения микропартикулята сывороточных белков и реализации его в технологии производства сметаны.

## 2. Объекты и методы

В качестве объектов исследования рассматривали подсырную сыворотку, полученную при производстве сыров Российского, Калачеевского и Тильзитер в условиях сыродельного завода «Калачеевский» (г. Калач, Воронежская область, РФ), микропартикулят сывороточных белков, выработанный на основе подсырной сыворотки, а также сметана. В качестве технологически вспомогательных средств применяли заквасочные культуры мезофильных молочнокислых лактококков производства компании Chr. Hansen. Процесс микропартикуляции подсырной сыворотки проводили в аппаратном цехе ПАО Молочный комбинат «Воронежский» (г. Воронеж, РФ). Технология получения микропартикулята включала очистку подсырной сыворотки от казеина и жира, ультрафильтрацию, а также термомеханическую обработку [15,16]. Полученный микропартикулят использовали для получения опытных образцов нормализованной молочной смеси для производства сметаны. Для этого часть сливок заменяли микропартикулятом в количестве от 10 до 20 масс. %.

Пробы объектов исследования отбирали и подготавливали к анализам в соответствии со стандартом ISO 707:2008 (IDF 50:2008) Milk and milk products. Guidance on sampling. Оценку органолептических показателей проводили в соответствии со стандартом ISO 22935-2:2009 «Milk and milk products. Sensory analysis. Part 2: Recommended methods for sensory evaluation». Показатели состава объектов исследования, их физико-химические свойства определяли в соответствии с Российскими стандартами. Массовую долю сухого вещества оценивали по потере массы в процентах при высушивании пробы продукта при постоянной температуре. Определение массовой доли белка проводили методом Кьельдаля. Он основан на определении количества аммиака, образованного из сернокислого аммония титриметрическим методом. Образование последнего происходит при минерализации образца серной кислотой. Для определения массовой доли лактозы в объектах исследования использовали метод Бертрана. Сущность этого метода заключается в титровании железа (II) раствором  $\text{KMnO}_4$ . Двухвалентное железо получается в результате окислительно-восстановительной реакции железоаммонийных квасцов с оксидом меди (I), который образуется в результате восстановления двухвалентной меди редуцирующими сахарами. Определение массовой доли жира проводили кислотным методом, который заключается в выделении жира из объекта исследования и измерении его количества с помощью жиромера. Определение диацитила и свободных жирных кислот в сметане проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Условия хроматографирования: колонка 300x7,8 мм, защитная колонка Carbo-N+4x3 мм, режим разделения — изократический, подвижная фаза — серная кислота, расход 0,6 мл/мин, температура колонки 60 °C, объем пробы 20 мкл. Антиоксидантную активность определяли амперометрическим методом на приборе Цвет-Яуза-01-АА путем измерения электрического тока, возникающего при окислении исследуемого вещества на поверхности рабочего электрода при определенном потенциале и сравнении полученного сигнала с сигналом стандарта (дигидрокверцитина), измеренного в тех же условиях. Оценку антиоксидантной активности *in vivo* при индукции свободнорадикальной патологии проводили в условиях воспроизведения экспериментальной модели  $\text{CCl}_4$ -индуцированного повреждения печени. Для исследования биохимических параметров

сыворотки крови крыс по принципу аналогов были сформированы четыре группы белых неинбредных особей с массой тела 200–220 г, по 10 особей в каждой. Продолжительность эксперимента составила 21 день. Контрольная группа экспериментальных животных получала обычный рацион, вторая группа дополнительно тетрахлорметан посредством внутрижелудочного введения в дозе 1,25 мл/кг в виде 50% раствора в растительном масле в течение трех дней. Другие группы дополнительно получали микропартикулят сывороточных белков. Оценку антиоксидантной активности и гепатопротекторных свойств проводили на основе значений показателей сыворотки крови: аланинаминотрансферазы, аспартатаминотрансферазы, щелочной фосфатазы, общего белка, альбумина, билирубина, холестерина, а также гистологических срезов печени лабораторных животных. Для определения кислотного числа жира применяли метод, основанный на титровании свободных кислот жира спиртовым раствором гидроксида калия. Перекисное число жира определяли йодометрическим методом, основанным на окислении йодистого калия пероксидами и гидропероксидами жира в растворе уксусной кислоты и хлороформа и титровании выделившегося йода раствором тиосульфата натрия. Эмульгирующую способность микропартикулята оценивали следующим образом. Для приготовления эмульсий использовали раствор микропартикулята с массовой долей белка 1% и дезодорированное подсолнечное масло. Готовили серию эмульсий с содержанием жировой фазы от 10 до 80%. Эмульгирование производили на лабораторном гомогенизаторе с частотой вращения 3000 мин<sup>-1</sup> при скорости добавления масла 1 капля в секунду. После добавления заданного объема масла перемешивание продолжали в течение 1 мин. Полученную эмульсию с помощью шприца разливали в пробирки (диаметром 5 мм и высотой 100 мм) и термостатировали при 85 °C в течение 20 мин. Далее пробирки охлаждали проточной водой и центрифугировали в течение 20 мин. при частоте вращения 6000 мин<sup>-1</sup>. Критерием стабильности эмульсий при исходном соотношении жировой и водной фаз служило отношение высоты эмульсионного слоя, к общей высоте (в % по объему). На основании полученных результатов строили диаграммы стабильности эмульсии в осях: исходная объемная доля жировой фазы — соотношение объемов фаз в процентах. Активную кислотность определяли потенциометрическим методом, основанном на измерении разности потенциалов между двумя электродами (измерительным и электродом сравнения), погруженными в анализируемую пробу. Титруемую кислотность устанавливали титриметрическим методом. Определение динамической вязкости проводили методом камертонной вибрации на вибровискозиметре SV-10. Определение эффективной вязкости проводили на ротационном вискозиметре Brookfield RVDV-II+Pro. Для определения синергетической способности сгустка применяли центрифугирование с последующим определением доли выделившейся сыворотки. Бифидогенную активность микропартикулята оценивали в опытах *in vitro*. Для этого применяли модифицированную среду Блаурокка, на которой культивировали микроорганизмы *Bifidobacterium bifidum*. Модификация питательной среды заключалась в добавлении в нее микропартикулята сывороточных белков, а также инулина (для сравнения). Применяли предварительно растворенный препарат «Бифидобактерин сухой», который активизировали в течение 24 ч при температуре 37–38 °C. Подготовленный препарат вносили в модифицированные среды из расчета 5 доз на 1 л среды. Культивирование осуществляли в анаэробных условиях. Для оценки роста культуры проводили расчет количества клеток на фиксированных мазках в соответствии с методом



Виноградского-Шульгиной-Брига. Математическую обработку эксперимента проводили методами математической статистики по данным 5–10 опытов в трехкратной последовательности. Графические зависимости на рисунках представлены после обработки экспериментальных данных по методу наименьших квадратов.

### 3. Результаты и их обсуждение

Для получения микропартикулята сыровоточных белков использовали технологическую схему, состоящую из следующих операций: приемка и подготовка сыворок; очистка от казеиновой пыли, жира и механических загрязнений (сепарирование, очистка на виброситах); тепловая обработка для подавления активности заквасочных культур; концентрирование белковой фракции сыворок с применением различных методов (преимущественно ультрафильтрации); термомеханическая обработка полученного концентрата. Для предотвращения формирования излишне крупных скоплений денатурированных белков необходимо придерживаться показателя рациональной массовой доли белка в ультрафильтрационном концентрате. По мере повышения фактора концентрирования (ФК) происходило увеличение доли всех составных частей сыворок. Наибольшему концентрированию подвергались белковые соединения (Рисунок 1).

Из представленных данных видно, что состав УФ-концентратов подсырной и творожной сыворок отличается, как и состав нативных видов сыворок. Это связано с различной степенью перехода сухих веществ молока в сыворотку при производстве сыра и творога. Для дальнейших исследований был выбран ультрафильтрационный концентрат подсырной сыворок. Он характеризовался невысоким значением титруемой кислотности в сравнении с концентратом творожной сыворок.

При нагреве УФ-концентрата происходила денатурация сыровоточных белков. Развертывание структуры белковых молекул при нагреве сопровождалось образованием агрегатов. Для формирования сферических частиц микропартикулята из скоплений денатурированных сыровоточных белков была проведена механическая обработка. В результате интенсивной механической обработки при получении микропартикулята белковые скопления УФ-концентратов дробятся с образованием частиц правильной сферической формы. Это позволяет имитировать флейвор молочного жира, приближая микропартикулят по сенсорным свойствам к молочным сливкам.

Полученный микропартикулят сыровоточных белков представляет собой однородную непрозрачную в меру вязкую жидкость белого цвета с чистым молочным вкусом и ароматом. Цвет микропартикулята обусловлен рассеиванием света частицами агрегированного белка, характеризующимися высокой степенью дисперсности и схожими по размеру и форме с шариками жира. При микропартикуляции изменяется аромат УФ-концентрата, происходит нивелирование специфических органолептических характеристик сыворок. В зависимости от состава и целей дальнейшего использования микропартикуляты сыровоточных белков по физико-химическим показателям (Таблица 1) и свойствам сравнимы с обезжиренным, цельным молоком или сливками.

Таблица 1

Физико-химические показатели микропартикулятов сыровоточных белков

| Наименование показателя      | Значение показателя для микропартикулята |      |                        |      |
|------------------------------|------------------------------------------|------|------------------------|------|
|                              | подсырной сыворок с ФК                   |      | творожной сыворок с ФК |      |
|                              | 4                                        | 13   | 4                      | 13   |
| Титруемая кислотность, °Т    | 19                                       | 25   | 60                     | 75   |
| Активная кислотность, ед. рН | 6,3                                      | 6,2  | 4,5                    | 4,4  |
| Динамическая вязкость, мПа·с | 10,1                                     | 27,0 | 9,7                    | 25,3 |

Химический состав микропартикулята позволяет рассматривать микропартикулят как пищевой компонент с функциональными свойствами, который целесообразно использовать в составе кисломолочных продуктов. Значительная доля белков, пептидов и аминокислот обуславливает бифидогенные свойства микропартикулята. Молочный сахар в составе микропартикулята также выступает в качестве пребиотического компонента, поскольку не всасывается в верхних отделах ЖКТ и оказывает стимулирующее воздействие на естественную микрофлору организма. Достигая толстой кишки в неизменном виде, лактоза расщепляется интестинальной микрофлорой (в основном бифидобактериями), вырабатывающей ферменты типа гидролаз. Она используется данной микрофлорой в качестве источника энергии и утилизируется до  $\text{CO}_2$  и органических кислот, понижает рН среды кишечника и препятствует развитию вредных микроорганизмов. В ходе работы подтвержден значительный рост количества бифидобактерий на среде, модифицированной микропартикулятом (Таблица 2). Клетки бифидобактерий характеризовались большим количеством

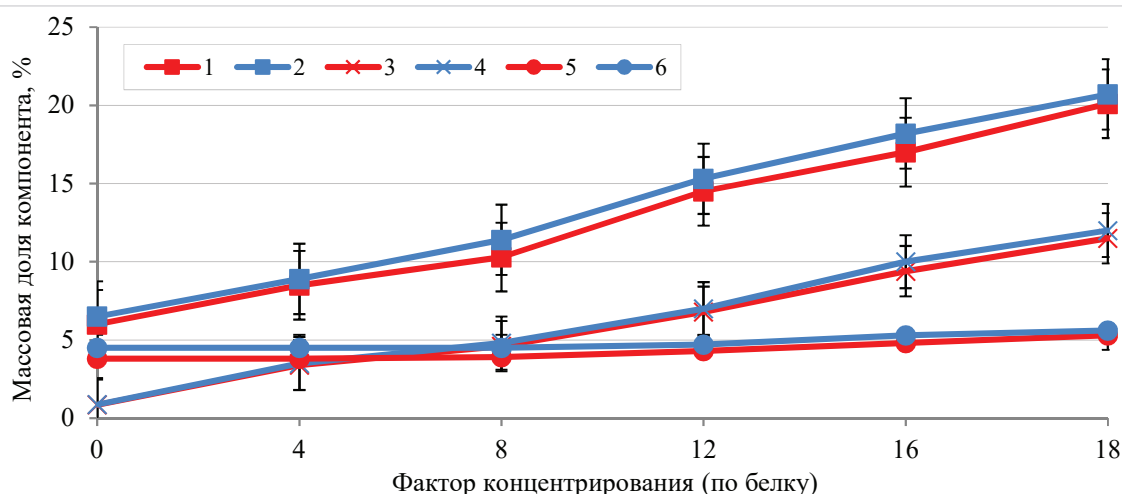


Рисунок 1. Изменение массовой доли сухих веществ (1, 2), белка (3, 4), лактозы (5, 6) при ультрафильтрационном концентрировании подсырной (2, 4, 6) и творожной (1, 3, 5) сыворок

цепочек, состоящих из типичных форм, превышая их содержание в контроле.

Таблица 2

**Определение количества бифидобактерий в модифицированных средах**

| Продолжительность культивирования, ч | Содержание микроорганизмов, кл/г |                                  |                                           |
|--------------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|-------------------------------------------|
|                                      | среда без модификации (контроль) | среда, модифицированная инулином | среда, модифицированная микропартикулятом |
| 18                                   | $7 \cdot 10^5$                   | $6 \cdot 10^8$                   | $9 \cdot 10^9$                            |
| 24                                   | $1 \cdot 10^6$                   | $8 \cdot 10^9$                   | $1 \cdot 10^{10}$                         |
| 48                                   | $6 \cdot 10^7$                   | $7 \cdot 10^{10}$                | $7 \cdot 10^{11}$                         |

Следствием денатурации сывороточных белков является активирование сульфгидрильных групп. Группы -SH в нативных белках так структурно расположены, что могут стать реакционноспособными только после развертывания  $\alpha$ -спирали. Активирование начинается при нагревании уже при температуре 75 °С и с повышением ее усиливается. При высвобождении сульфгидрильных групп снижается окислительно-восстановительный потенциал, а антиоксидантные свойства белков повышаются. SH-содержащим соединениям принадлежит ведущая роль в защите клеток от гидроксильного радикала, образующегося в реакции Фентона или в результате разложения молекул воды под действием ионизирующих излучений. Тиоловые соединения — важный элемент поддержания окислительно-восстановительного баланса в клетках и тканях. Кроме того, антиоксидантной активностью характеризуются и некоторые продукты реакции Майяра, полученные в ходе высокотемпературной обработки концентрата. Результаты исследования антиок-

сидантного эффекта микропартикулята с УФ-концентратом такого же состава показывают его увеличение на 13–17% (Рисунок 2).

Усиление антиоксидантных свойств микропартикулята подтверждают и результаты исследования крови лабораторных животных (Таблица 3). Биохимические исследования были подтверждены гистологической экспертизой тканей печени.

Печень животных, получавших микропартикулят сывороточных белков (3-я группа), имела заметное улучшение в архитектуре клеток различных зон вокруг центральных вен (Рисунок 3а). Большинство клеток печени животных 4-й экспериментальной группы имели нормальное строение (Рисунок 3б), что доказывает повышение антиоксидантного действия, достигнутого в ходе микропартикуляции.

Микропартикулят характеризуется высокой водосвязывающей способностью, что объясняется присутствием адсорбирующих воду гидрофильных элементов аминокислот. Жиросвязывание микропартикулята обусловлено адсорбцией жира посредством присоединения его к гидрофобным участкам аминокислот. Вокруг белковых частиц микропартикулята формируется гидратная оболочка. Гидратация нативных сывороточных белков слабая, однако повышается по мере возрастания степени денатурации. Ввиду хороших гидратационных свойств микропартикуляты являются связующим звеном между водной фазой и другими составными частями матрикса молочных продуктов. Гидрофильные группы белка в составе микропартикулята ориентируются в направлении воды, а гидрофобные — к маслу. Это создает прочный адсорбционный слой на границе раздела фаз, снижая поверхностное натяжение, и формирует агрегативно устойчивые системы и одновременно вязкие.

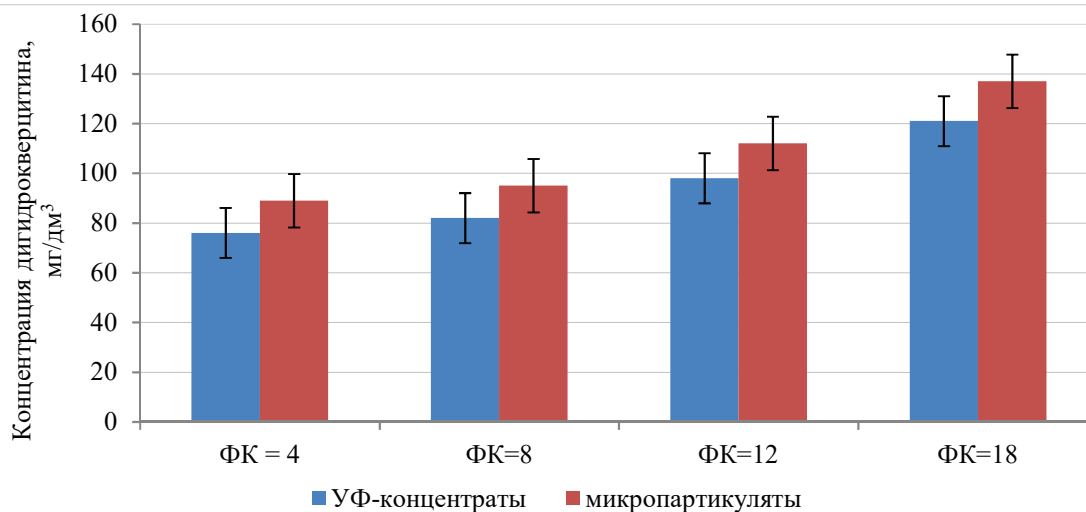


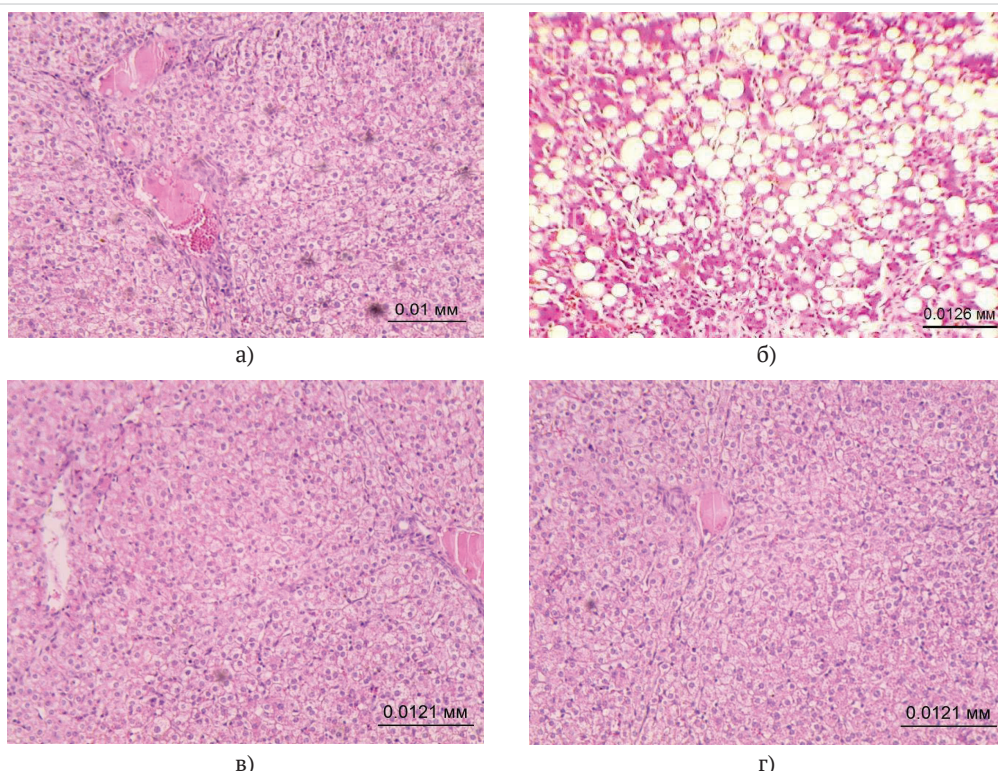
Рисунок 2. Антиоксидантная активность продуктов модификации сыворотки

Таблица 3

**Влияние микропартикулята подсырной сыворотки на биохимические параметры сыворотки крови крыс**

| Наименование показателя       | Значение показателя для группы животных* |               |            |             |
|-------------------------------|------------------------------------------|---------------|------------|-------------|
|                               | 1                                        | 2             | 3          | 4           |
| Аланинаминотрансфераза (Е/л)  | 70 ± 1                                   | 81,9 ± 3,10   | 69 ± 0,7   | 70 ± 0,8    |
| Аспаратаминотрансфераза (Е/л) | 58 ± 3                                   | 66,1 ± 2,55   | 57 ± 2,4   | 58 ± 1,7    |
| Щелочная фосфатаза (Е/л)      | 332 ± 10                                 | 401,7 ± 18,95 | 329 ± 8    | 331 ± 7     |
| Общий белок (г/л)             | 69 ± 0,6                                 | 52,4 ± 1,37   | 69 ± 0,6   | 69 ± 0,6    |
| Альбумин (мг/дл)              | 29 ± 0,4                                 | 22,3 ± 1,47   | 29 ± 0,4   | 28,7 ± 0,56 |
| Билирубин общий (мг/дл)       | 1,7 ± 0,10                               | 2,3 ± 0,57    | 1,6 ± 0,10 | 1,6 ± 0,07  |
| Холестерин общий (ммоль/л)    | 1,8 ± 0,03                               | 3,5 ± 0,03    | 1,8 ± 0,03 | 1,8 ± 0,11  |

\* 1 — контрольная группа, животные получали обычный рацион кормления; 2–4 — опытные группы; животные 2-й группы дополнительно получали  $CCl_4$ , животные 3-й группы дополнительно получали микропартикулят сывороточных белков, животные 4-й группы дополнительно получали микропартикулят и  $CCl_4$



**Рисунок 3.** Гистологические срезы печени животных а) 1-й группы (контрольная группа, животные получали обычный рацион кормления), б) 2-й группы (животные дополнительно получали  $\text{CCl}_4$ ), в) 3-й группы (животные дополнительно получали микропартикулят сывороточных белков), г) 4-й группы (животные дополнительно получали микропартикулят и  $\text{CCl}_4$ ) (окрашивание гематоксилин эозин, увеличение 200)

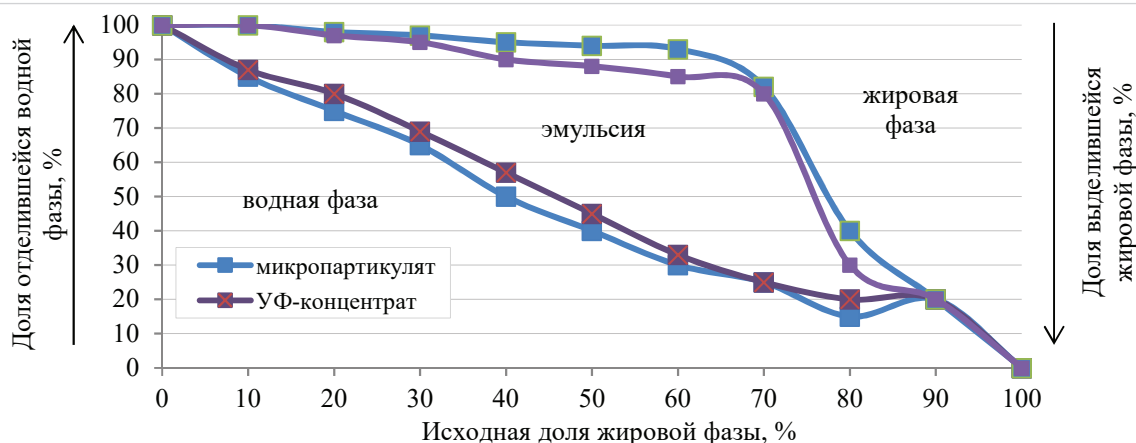
Денатурированные сывороточные белки характеризуются высокими эмульгирующими свойствами. Диаграмма стабильности эмульсий (Рисунок 4) свидетельствует о более высокой эмульгирующей способности микропартикулята по сравнению с нативным УФ-концентратом, что приводит к увеличению объема стабильной эмульсии.

На основе жироземлюющих свойств микропартикулят подсырной сыворотки целесообразно использовать в производстве высокожирных молочных продуктов, в частности, сметаны. Исследовано влияние микропартикулята на физико-химические и биохимические процессы при производстве сметаны. В качестве контрольного образца была выбрана сметана с массовой долей жира 15%. Часть сливок заменяли микропартикулятом подсырной сыворотки с фактором концентрирования, равном 15. Внесение микропартикулята стимулировало сбраживание лактозы (Таблица 4), способствовало формированию плотного густка кислотностью 55–70 °Т за 6–8 ч (Рисунок 5).

Таблица 4  
**Лактозосбраживающая активность заквасочных культур для сметаны в присутствии микропартикулята**

| Массовая доля микропартикулята, % | Начальная кислотность, °Т | Конечная кислотность, °Т | Количество сброженной лактозы, г |
|-----------------------------------|---------------------------|--------------------------|----------------------------------|
| 0                                 | 18                        | 75                       | 0,46                             |
| 10                                | 18                        | 80                       | 0,50                             |
| 15                                | 19                        | 81                       | 0,50                             |
| 20                                | 19                        | 78                       | 0,48                             |

Применение микропартикулята оказывало влияние на консистенцию сметаны. Продукт характеризовался коагуляционно-конденсационной пространственной структурой с преобладанием тиксотропнообратимых связей. Сывороточные белки, ввиду высокой гидратации, улучшали структуру



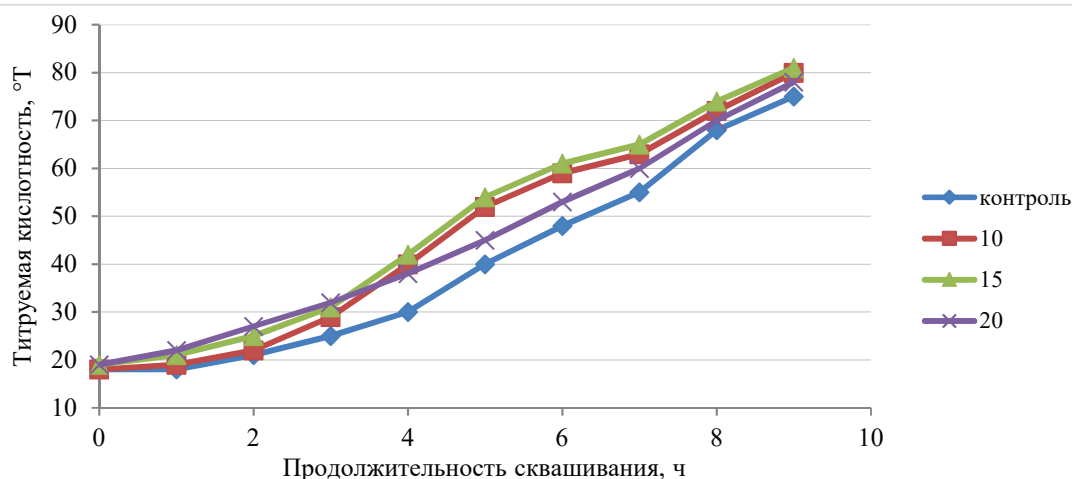
**Рисунок 4.** Эмульгирующая способность УФ-концентрата и микропартикулята подсырной сыворотки

сметаны. Увеличение доли микропартикулята повышало вязкость продукта (Рисунок 6) и снижало синерезис (Рисунок 7).

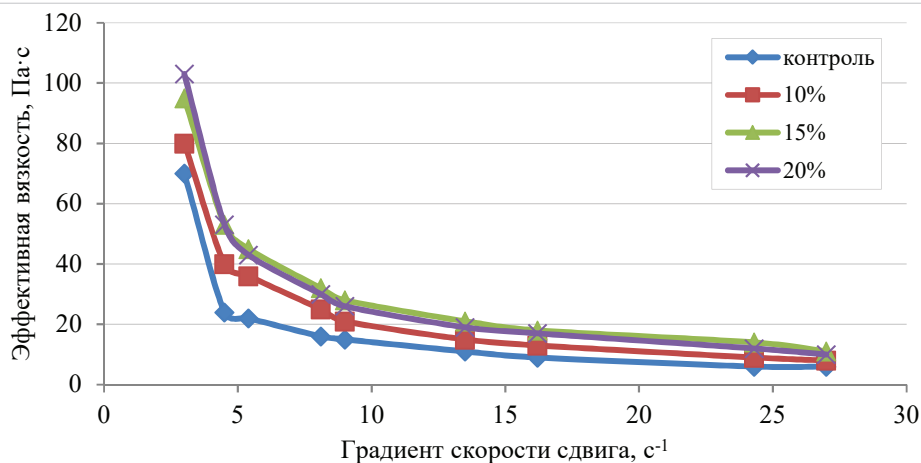
Вместе с тем основную роль в формировании консистенции сметаны выполняет молочный жир, который в результате отвердевания и кристаллизации повышает прочность структуры и вязкость сметаны. Дополнительно структуру стабилизируют жировые скопления. При повышении доли микропартикулята выше 15% вязкость сметаны понижалась, что объясняется значительным уменьшением доли жира в продукте. В этой связи рекомендуемая доля микропартикулята в составе сметаны составляет 15%.

Аромат сметаны обусловлен рядом ароматических веществ, образующихся в результате биохимических прев-

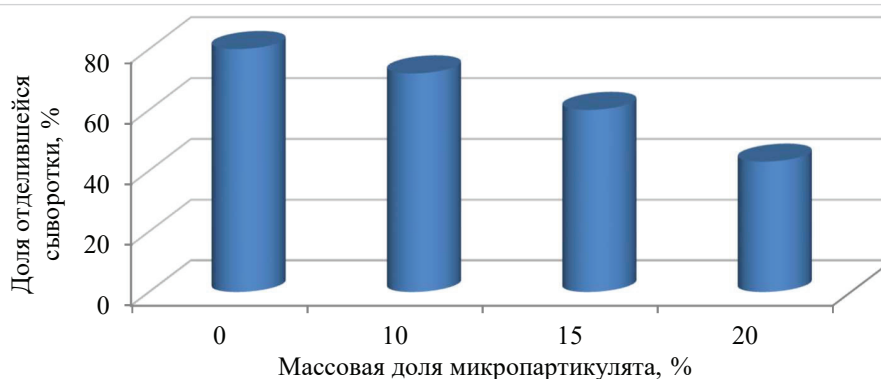
ращений лактозы. Дегустационная комиссия отмечала улучшение органолептических свойств сметаны в присутствии микропартикулята, продукт пониженной жирности оценивался как высокожирный. Внесение микропартикулята придавало сметане более выраженный аромат, который обусловлен образованием таких веществ, как диацетил, летучие жирные кислоты, этаналь, а также некоторые лактоны, диметилсульфид и др. Качественные показатели сметаны отвечали требованиям нормативной документации (Таблица 5). В готовом продукте было отмечено более высокое содержание молочнокислых микроорганизмов, чем в контрольном образце.



**Рисунок 5.** Изменение титруемой кислотности при сквашивании сливок при производстве сметаны при разных массовых долях микропартикулята



**Рисунок 6.** Зависимость эффективной вязкости сметаны от градиента скорости сдвига при разных долях микропартикулята



**Рисунок 7.** Влияние массовой доли микропартикулята на синергетическую способность сгустка



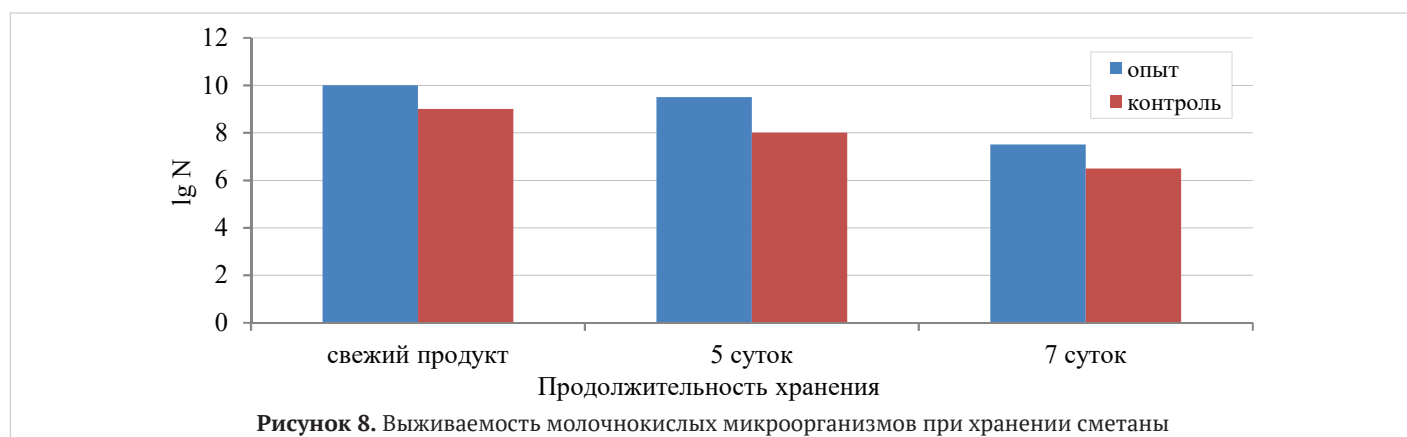


Рисунок 8. Выживаемость молочнокислых микроорганизмов при хранении сметаны

Таблица 5

| Показатели качества сметаны         |                                     |                |                   |
|-------------------------------------|-------------------------------------|----------------|-------------------|
| Наименование показателя             | Значение показателя                 |                |                   |
|                                     | требования нормативной документации | контроль       | опыт              |
| Массовая доля жира, %               | 10–58                               | 15,0           | 12,8              |
| Массовая доля белка, %              | не менее 1,2                        | 3,0            | 3,7               |
| СОМО, %                             | не менее 3,6                        | 5,0            | 6,3               |
| Молочнокислые микроорганизмы, КОЕ/г | не менее $1 \cdot 10^7$             | $1 \cdot 10^9$ | $1 \cdot 10^{10}$ |
| Титруемая кислотность, °T           | не более 160                        | 70             | 75                |
| Содержание диацетила, мг%           | не регламентируется                 | 0,3            | 0,7               |

Энергетическая ценность разработанного продукта составила 144 ккал/100 г, что на 10% ниже контрольного образца. Присутствие микропартикулята сывороточных белков оказывало влияние на хранимостепособность сметаны. Пребиотические свойства микропартикулята улучшали выживаемость микрофлоры заквасочных культур при хранении (Рисунок 8).

Интенсивность процессов превращения липидов в результате гидролиза и окисления оценивали по изменению кислотного и перекисного чисел жира (Таблица 6).

Таблица 6

| Показатели, характеризующие интенсивность гидролиза и окисления молочного жира в сметане при хранении |                                        |       |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------|-------|
| Наименование показателя                                                                               | Значение показателя на период хранения |       |
|                                                                                                       | контроль                               | опыт  |
| готовый продукт                                                                                       |                                        |       |
| Кислотное число, мг КОН/г                                                                             | 1,5                                    | 1,7   |
| Свободные жирные кислоты, мг%                                                                         | 14                                     | 16    |
| Перекисное число, % J                                                                                 | 0,008                                  | 0,008 |
| 5 суток хранения                                                                                      |                                        |       |
| Кислотное число, мг КОН/г                                                                             | 2,3                                    | 2,5   |
| Свободные жирные кислоты, мг%                                                                         | 22                                     | 26    |
| Перекисное число, % J                                                                                 | 0,019                                  | 0,013 |
| 7 суток хранения                                                                                      |                                        |       |
| Кислотное число, мг КОН/г                                                                             | 3,1                                    | 3,4   |
| Свободные жирные кислоты, мг%                                                                         | 45                                     | 56    |
| Перекисное число, % J                                                                                 | 0,023                                  | 0,016 |

Образование свободных жирных кислот опытного образца происходило более интенсивно, чем в контроле. Это обусловлено повышенной долей влаги и белка в результате внесения микропартикулята. Вместе с тем рост доли свободных жирных кислот в исследуемых образцах сметаны был незначительным и не оказывал влияния на органолептические свойства продукта. Интенсивность протекания начальной стадии окисления липидов характеризовали по величине перекисного числа. На первой стадии окисления происходит образование перекисей и гидроперекисей. Появление этих веществ в продукте не оказывает заметного влияния на его вкус и аромат. Вместе с тем перекиси и гидроперекиси могут оказывать негативное влияние на организм ввиду токсического действия, оказывающего разрушительное влияние на витамины и снижающего долю полиненасыщенных жирных кислот. Кроме того, продукты начальной стадии окисления могут образовывать комплексы с аминокислотами, плохо усваиваемые организмом. Это приводит к значительному снижению пищевой и биологической ценности продукта. Перекиси, образующиеся на начальной стадии окисления, в ходе дальнейших химических превращений преобразуются в насыщенные и ненасыщенные альдегиды и кетоны. Вторичные продукты окисления липидов оказывают влияние на органолептические свойства продукта, придают посторонние привкусы и запахи. В опытном образце сметаны происходило менее интенсивное окисление жира, что объясняется высокой выживаемостью микрофлоры заквасочных культур, вырабатывающей ферменты с антиоксидантными свойствами и антиоксидантной активностью микропартикулята.

#### 4. Выводы

Применение микропартикулята сывороточных белков в производстве сметаны характеризуется многочисленными преимуществами. Использование подсырной сыворотки в качестве основы для получения микропартикулята позволяет добиться повышения эффективности переработки молока, способствует экологичности, рентабельности производства. Уникальная структура и консистенция микропартикулята, а также его высокая вязкость позволяют исключить из рецептуры низкожирного продукта стабилизационные системы. Полученный продукт характеризуется пониженной калорийностью, вместе с тем имеет насыщенный вкус, гладкую, сливочную консистенцию.

## БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Короткий, И.А., Плотников, И.Б., Мазеева, И.А. (2019). Современные тенденции в переработке молочной сыворотки. *Техника и технология пищевых производств*, 49(2), 227–234. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-2-227-234>
- Информационно-аналитический отчет о ситуации в молочной отрасли. Предварительные итоги 2019 года. Электронный ресурс: <http://www.souzmoloko.ru/materiali/Predvaritelnye-itogi-2019.pdf>. Дата обращения 14.04.2021



3. Ahmad, T., Aadil, R. M., Ahmed, H., Rahman, U. U., Soares, B. C. V., Souza, S. L. Q. et al. (2019). Treatment and utilization of dairy industrial waste: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 88, 361–372. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.04.003>
4. Евдокимов И. А., Кравцов В. А., Федорцов Н. М., Богоровская М. А., Бобрышева Т. Н., Золоторева М. С. и др. (2021). Состав и свойства микропартитулатов сыровоточных белков. *Молочная промышленность*, 4, 40–44. <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2021-04-40-44>
5. Золоторева М. С., Володин Д. Н., Евдокимов И. А., Харитонов В. Д. (2018). Мембранные технологии для обеспечения эффективности и безопасности молочного производства. *Молочная промышленность*, 5, 36–39.
6. Tamime, A.Y. (2013). *Membrane Processing: Dairy and Beverage Applications*. US: Wiley-Blackwell, 2013.
7. Khramtsov, A.G., Babenyshev, S.P., Zhidkov, V.E., Mamay, D.S., Nurullo, M., Mamay, A.V. (2021, 18–20 ноября). *Membrane purification of secondary milk raw materials: intensification of processes*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. Krasnoyarsk, Russian Federation, 2021. P. 32060. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/677/3/032060>
8. de Castro, R. J. S., Domingues, M. A. F., Ohara, A., Okuro, P. K., dos Santos, J. G., Brexó, R. P. et al. (2017). Whey protein as a key component in food systems: Physicochemical properties, production technologies and applications. *Food Structure*, 14, 17–29. <https://doi.org/10.1016/j.foosr.2017.05.004>
9. Баранов, С.А., Евдокимов, И.А., Гордиенко, Л.А., Шрамко, М.И. (2020). Влияние микропартитулата сыровоточных белков на показатели кисломолочных напитков. *Молочная промышленность*, 9, 59–62. <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2020-09-59-61>
10. Гунькова, П.И., Горбатова, К.К. (2015). Биотехнологические свойства белков молока. СПб.: ГИОРД, 2015.
11. Liu, K., Tian, Y., Stieger, M., Van der Linden, E., Van de Velde, F. (2016). Evidence for ball-bearing mechanism of microparticulated whey protein as fat replacer in liquid and semi-solid multi-component model foods. *Food Hydrocolloids*, 52, 403–414. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.07.016>
12. Olivares, M. L., Shahrivar, K., de Vicente, J. (2019). Soft lubrication characteristics of microparticulated whey proteins used as fat replacers in dairy systems. *Journal of Food Engineering*, 245, 157–165. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.10.015>
13. Ipsen, R. (2017). Microparticulated whey proteins for improving dairy product texture. *International Dairy Journal*, 67, 73–79. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.08.009>
14. Torres, I. C., Amigo, J. M., Knudsen, J. C., Tolkach, A., Mikkelsen, B. Ø., Ipsen, R. (2018). Rheology and microstructure of low-fat yoghurt produced with whey protein microparticles as fat replacer. *International Dairy Journal*, 81, 62–71. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.01.004>
15. Лосев А. Н., Станиславская Е. Б., Мельникова Е. И. (2017). Новые технологические решения в переработке творожной сыворотки. Часть 1. Исследование процесса микропартитуляции творожной сыворотки. *Молочная промышленность*, 1, 56–57.
16. Melnikova, E.I., Stanislavskaya, E.B., Fedorova, A.R. (2021, *Modification of the whey protein cluster for the utilization in low-calorie food technology*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. International Conference on Production and Processing of Agricultural Raw Materials. Voronezh, Russia, 2021. P. 032014. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/640/3/032014>

## REFERENCES

1. Korotkiy, I.A., Plotnikov, I.B., Mazeeva, I.A. (2019). Current trends in whey processing. *Food Processing: Techniques and Technology*, 49(2), 227–234. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-2-227-234> (In Russian)
2. Information and analytical report on the situation in the dairy industry. Preliminary results of 2019. Retrieved from <http://www.souzmoloko.ru/materiali/Predvaritelnye-itogi-2019.pdf>. Accessed April 14, 2021 (In Russian)
3. Ahmad, T., Aadil, R. M., Ahmed, H., Rahman, U. U., Soares, B. C. V., Souza, S. L. Q. et al. (2019). Treatment and utilization of dairy industrial waste: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 88, 361–372. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.04.003>
4. Evdokimov, I.A., Kravtsov, V.A., Fedortsov, N.M., Bogorovskaya, M.A., Bobrysheva, T.N., Zolotoreva, M.S. et al. (2021). Composition and properties of whey protein microparticulates. *Dairy Industry*, 4, 40–44. <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2021-04-40-44> (In Russian)
5. Zolotoreva, M.S., Volodin, D.N., Evdokimov, I.A., Haritonov, V.D. (2018). Membrane technologies for ensuring efficiency and safety of milk processing. *Dairy Industry*, 5, 36–39. (In Russian)
6. Tamime, A.Y. (2013). *Membrane Processing: Dairy and Beverage Applications*. US: Wiley-Blackwell, 2013.
7. Khramtsov, A.G., Babenyshev, S.P., Zhidkov, V.E., Mamay, D.S., Nurullo, M., Mamay, A.V. (2021, 18–20 ноября). *Membrane purification of secondary milk raw materials: intensification of processes*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. Krasnoyarsk, Russian Federation, 2021. P. 32060. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/677/3/032060>
8. de Castro, R. J. S., Domingues, M. A. F., Ohara, A., Okuro, P. K., dos Santos, J. G., Brexó, R. P. et al. (2017). Whey protein as a key component in food systems: Physicochemical properties, production technologies and applications. *Food Structure*, 14, 17–29. <https://doi.org/10.1016/j.foosr.2017.05.004>
9. Baranov, S.A., Evdokimov, I.A., Gordienko, L.A., Shramko, M.I. (2020). The effect of whey protein microparticulate on properties of fermented milk drinks. *Dairy Industry*, 9, 59–62. <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2020-09-59-61> (In Russian)
10. Gunkova, P.I., Gorbatova, K.K. (2015). Biotechnological properties of milk proteins. Saint-Petersburg: GIORД, 2015.
11. Liu, K., Tian, Y., Stieger, M., Van der Linden, E., Van de Velde, F. (2016). Evidence for ball-bearing mechanism of microparticulated whey protein as fat replacer in liquid and semi-solid multi-component model foods. *Food Hydrocolloids*, 52, 403–414. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.07.016>
12. Olivares, M. L., Shahrivar, K., de Vicente, J. (2019). Soft lubrication characteristics of microparticulated whey proteins used as fat replacers in dairy systems. *Journal of Food Engineering*, 245, 157–165. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2018.10.015>
13. Ipsen, R. (2017). Microparticulated whey proteins for improving dairy product texture. *International Dairy Journal*, 67, 73–79. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.08.009>
14. Torres, I. C., Amigo, J. M., Knudsen, J. C., Tolkach, A., Mikkelsen, B. Ø., Ipsen, R. (2018). Rheology and microstructure of low-fat yoghurt produced with whey protein microparticles as fat replacer. *International Dairy Journal*, 81, 62–71. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.01.004>
15. Losev, A.N., Stanislavskaya, E.B., Melnikova, E.I. (2017). New technological solutions in curds whey processing. Part 1. Study of the process of curds whey microparticulation. *Dairy Industry*, 1, 56–57. (In Russian)
16. Melnikova, E.I., Stanislavskaya, E.B., Fedorova, A.R. (2021, *Modification of the whey protein cluster for the utilization in low-calorie food technology*. IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. International Conference on Production and Processing of Agricultural Raw Materials. Voronezh, Russia, 2021. P. 032014. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/640/3/032014>

| СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   | AUTHOR INFORMATION                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Принадлежность к организации                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                          | Affiliation                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    |
| <p><b>Мельникова Елена Ивановна</b> — доктор технических наук, профессор, профессор, кафедра технологии продуктов животного происхождения, Воронежский государственный университет инженерных технологий 394036, Воронеж, пр. Революции, 19<br/>Тел.: +7-919-241-44-04<br/>E-mail: <a href="mailto:melnikova@molvest.ru">melnikova@molvest.ru</a><br/>ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-3474-2534">https://orcid.org/0000-0002-3474-2534</a></p>                                            | <p><b>Elena I. Melnikova</b> — doctor of technical sciences, professor, professor, Department of Technology of Animal Products, Voronezh State University of Engineering Technologies<br/>19, Revolution Av., 394036, Voronezh, Russia<br/>Tel.: +7-919-241-44-04<br/>E-mail: <a href="mailto:melnikova@molvest.ru">melnikova@molvest.ru</a><br/>ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-3474-2534">https://orcid.org/0000-0002-3474-2534</a></p>                                          |
| <p><b>Станиславская Екатерина Борисовна</b> — доктор технических наук, доцент, профессор, кафедра технологии продуктов животного происхождения, Воронежский государственный университет инженерных технологий 394036, Воронеж, пр. Революции, 19<br/>Тел.: +7-953-509-90-44<br/>E-mail: <a href="mailto:tereshkova-katia@yandex.ru">tereshkova-katia@yandex.ru</a><br/>ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-0955-6238">https://orcid.org/0000-0002-0955-6238</a><br/>* автор для контактов</p> | <p><b>Ekaterina B. Stanislavskaya</b> — doctor of technical sciences, docent, professor, Department of Technology of Animal Products, Voronezh State University of Engineering Technologies<br/>19, Revolution Av., 394036, Voronezh, Russia Tel.: +7-953-509-90-44<br/>E-mail: <a href="mailto:tereshkova-katia@yandex.ru">tereshkova-katia@yandex.ru</a><br/>ORCID: <a href="https://orcid.org/0000-0002-0955-6238">https://orcid.org/0000-0002-0955-6238</a><br/>* corresponding author</p> |
| Критерии авторства                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Contribution                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                   |
| <p>Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                        | <p>Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       |
| Конфликт интересов                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | Conflict of interest                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                           |
| <p>Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                              | <p>The authors declare no conflict of interest</p>                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                             |