

Volume 4, Issue 1, 2021

ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ
ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ

ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ FOOD SYSTEMS

An international science journal

FOOD SYSTEMS
FOOD SYSTEMS
FOOD SYSTEMS
FOOD SYSTEMS
FOOD SYSTEMS
FOOD SYSTEMS
FOOD SYSTEMS
FOOD SYSTEMS
FOOD SYSTEMS

ISSN 2618-9771 (Print)

ISSN 2618-7272 (On line)

<http://www.fsjour.com>

Федеральное агентство научных организаций

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН

ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ FOOD SYSTEMS

Учредитель и издатель

Федеральное государственное бюджетное научное учреждение «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН

Главный редактор

Кузнецова Оксана Александровна — Доктор технических наук, Врио директора ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, Москва, Россия

Заместитель Главного редактора

Лисицын Андрей Борисович — Доктор технических наук, профессор, Академик РАН, научный руководитель ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, Москва, Россия

Научный редактор

Горбунова Наталия Анатольевна — Кандидат технических наук, ученый секретарь, ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, Москва, Россия

Научный редактор

Банникова Анна Владимировна — Доктор технических наук, Заведующий учебно-научно-испытательной лабораторией, ФГБОУ ВО «Саратовский государственный аграрный университет имени Н.И. Вавилова», Саратов, Россия

Выпускающий редактор

Захаров Александр Николаевич — Кандидат технических наук, старший научный сотрудник, заведующий редакционно-издательским отделом, ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, Москва, Россия

АДРЕС РЕДАКЦИИ И ТИПОГРАФИИ:

109316, Россия, Москва, Талалихина, 26,
Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова РАН.
www.fsjour.com

Журнал зарегистрирован в Роскомнадзоре

Регистрационные данные:

ПИ № ФС77-71610 от 13.11.2017

ЭЛ № ФС 77-72022 от 26.12.2017

Периодичность — 4 номера в год.

Издается с 2018 года.

Подписано в печать 30.03.2021.

Тираж 300 экз. Заказ № 350.

Типография ФНЦПС.

© ФНЦПС, 2021

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Абрамова Любовь Сергеевна — доктор технических наук, профессор, помощник директора ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии», Москва, Россия
Баженова Баяна Анатольевна — доктор технических наук, доцент, профессор кафедры «Технология мясных и консервированных продуктов» ФГБОУ ВО «Восточно-Сибирский университет технологии и управления», Улан-Удэ, Россия

Галстян Арам Генрихович — доктор технических наук, профессор РАН, член-корреспондент РАН, заведующий Межотраслевым научно-техническим центром мониторинга качества пищевых продуктов, Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, Москва, Россия
Горлов Иван Федорович — доктор сельскохозяйственных наук, профессор, академик РАН, Научный руководитель ФГБНУ «Поволжский научно-исследовательский институт производства и переработки мясомолочной продукции», Волгоград, Россия

Донник Ирина Михайловна — доктор биологических наук, профессор, Академик РАН, Вице-президент РАН, Москва, Россия
Евдокимов Иван Алексеевич — доктор технических наук, профессор, Заведующий кафедрой «Технология молока и молочных продуктов» ФГАОУ ВО «Северо-Кавказский федеральный университет» Ставрополь, Россия

Ежкова Галина Олеговна — доктор биологических наук, профессор, заведующий кафедрой «Технология мясных и молочных продуктов» ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет», Казань, Россия
Замаратская Галия — кандидат технических наук, доцент, Научный работник Шведского университета аграрных наук, Упсала, Швеция
Иванкин Андрей Николаевич — доктор химических наук, профессор, Заведующий кафедрой «Химия», Мытищинский филиал Московского государственного технического университета им. Н.Э. Баумана, Мытищи, Московская область, Россия

Кочеткова Алла Алексеевна — доктор технических наук, профессор, Руководитель лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов, ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», Москва, Россия
Машенцева Наталья Геннадиевна — доктор технических наук, доцент, профессор РАН, заведующий кафедрой «Биотехнология и технология продуктов биологического синтеза» ФГБОУ ВО «Московский государственный университет пищевых производств», Москва, Россия

Мирошников Сергей Александрович — доктор биологических наук, профессор, Директор ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт мясного скотоводства», Оренбург, Россия

Римарева Любовь Вячеславовна — доктор технических наук, профессор, Академик РАН, Заместитель директора Всероссийского научно-исследовательского института пищевой биотехнологии — филиал ФГБНУ «Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи», Москва, Россия

Настасиевич Иван — доктор, адъюнкт-директор, Институт гигиены и технологии мяса, Белград, Сербия

Петров Андрей Николаевич — доктор технических наук, профессор, Академик РАН, Директор Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования — филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, Видное, Московская область, Россия

Просеков Александр Юрьевич — доктор технических наук, профессор, профессор РАН, Ректор ФГБОУ ВО «Кемеровский государственный университет», Кемерово, Россия

Ребезов Максим Борисович — доктор сельскохозяйственных наук, профессор, Заведующий кафедрой прикладной биотехнологии ФГАОУ ВО «Южно-Уральский государственный университет (национальный исследовательский университет)», Челябинск, Россия
Такеда Широ — адъюнкт- профессор, Профессор лаборатории науки о пище, Институт ветеринарной медицины, Университет Азабу, Сагами-хара, Япония

Тимошенко Николай Васильевич — доктор технических наук, профессор, Заведующий кафедрой технология хранения и переработки животноводческой продукции, ФГБОУ ВО «Кубанский государственный аграрный университет», Краснодар, Россия

Чернуха Ирина Михайловна — доктор технических наук, профессор, член-корреспондент РАН, Руководитель научного направления ФГБНУ «Федеральный научный центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН, Москва, Россия

Швегеле Фреди — доктор, Директор Института Макса Рубнера, Кульмбах, Федеративная Республика Германия

Federal Agency of Scientific Organizations
(FANO of Russia)

V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food
Systems of Russian Academy of Sciences
(Gorbatov Research Center for Food Systems)

ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ FOOD SYSTEMS

Founder and publisher:

V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food
Systems of Russian Academy of Sciences

Editor-in-Chief:

Oxana A. Kuznetsova, doctor of technical sciences,
Director of V.M. Gorbatov Federal Research Center
for Food Systems of Russian Academy of Sciences,
Moscow, Russia

Deputy Editor-in-Chief:

Andrey B. Lisitsyn, doctor of technical sciences,
professor, Academician of RAS, Scientific supervisor
Of V.M. Gorbatov Federal Research Center
for Food Systems of Russian Academy of Sciences,
Moscow, Russia

Science editor:

Natalia A. Gorbunova, candidate
of technical sciences, Academic Secretary of
V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food
Systems of Russian Academy of Sciences, Moscow,
Russia

Science editor:

Anna V. Bannikova, doctor of technical sciences,
Head of the educational-scientific-testing laboratory,
Saratov State Vavilov Agrarian University, Saratov,
Russia

Production editor:

Aleksandr N. Zakharov, candidate of technical
sciences, senior research worker, Head of the Editorial
and Publishing Department of V.M. Gorbatov Federal
Research Center for Food Systems of Russian Academy
of Sciences», Moscow, Russia

PRINTING OFFICE:

109316, Talalikhina str. 26, Moscow, Russia,
Gorbatov Research Center for Food Systems.
www.fsjour.com

The journal is registered in ROSKOMNADZOR.

Registration data:

ПН № ФС77-71610 from 13.11.2017

ЭЛ № ФС 77-72022 from 26.12.2017

Frequency — 4 issues a year.

Published in 2018.

Signed print 30.03.2021.

Circulation — 300 copies. Order № 350.

Printing house — FNCPS.

© FNCPS, 2021

ISSN 2618-9771 (Print)
ISSN 2618-7272 (Online)

EDITORIAL BOARD

Liubov S. Abramova, doctor of technical sciences, professor, assistant director of Russian Federation Research Institute of Fishery and Oceanography, Moscow, Russia

Baiana A. Bazhenova, doctor of technical sciences, docent, professor of the chair «Meat and canned product technology» of East Siberia State University of Technology and Management, Ulan-Ude, Russia

Aram G. Galstyan, Doctor of Technical Science, Professor of RAS, Corresponding Member of RAS, Head of the Interbranch Scientific and Technical Center for Food Quality Monitoring of All-Russian Scientific Research Institute of Brewing, Beverage and Wine Industry — Branch of V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS, Moscow, Russia

Ivan F. Gorlov, doctor of agricultural sciences, professor, academician of RAS, Scientific supervisor of Povolzhskiy Research Institute of Production and Processing of Meat and Dairy Products, Volgograd, Russia

Irina M. Donnik, doctor of biological sciences, professor, academician of RAS, Vice president of RAS, Moscow, Russia

Ivan A. Evdokimov, doctor of technical sciences, professor, Head of the chair «Technology of milk and dairy products» of North-Caucasus Federal University, Stavropol, Russia

Galina O. Ezhkova, doctor of biological sciences, professor, the head of the chair «Technology of meat and dairy products» of Kazan National Research Technological University, Kazan, Russia

Galia Zamaratskaya, candidate of technical sciences, docent, research worker, the Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden

Andrey N. Ivankin, doctor of Chemical Sciences, professor, the head of the chair of Chemistry of Mytishchi branch of Bauman Moscow State Technical University, Mytishchi, Moscow region, Russia

Alla A. Kochetkova, doctor of technical sciences, professor, the head of the «Laboratory of food biotechnologies and specialized products», Federal Research Centre of nutrition, biotechnology and food safety, Moscow, Russia

Natal'ya G. Mashentseva, doctor of technical sciences, professor RAS, the head of the chair of Biotechnology and Technology of Products of Bioorganic Synthesis of Moscow State University of Food Production, Moscow, Russia

Sergey A. Miroshnikov, doctor of biological sciences, professor, director of The All-Russian Research Institute of Beef Cattle, Orenburg, Russia

Liubov V. Rimareva, doctor of technical sciences, professor, academician of RAS, deputy director of The All-Russian Scientific Research Institute of Food Biotechnology — branch Federal Research Centre of nutrition, biotechnology and food safety, Moscow, Russia

Nastasijevic Ivan, doctor, Associate Director of the Institute of Meat Hygiene and Technology, Belgrad, Serbia

Andrey N. Petrov, doctor of technical sciences, professor, academician of RAS, Director of All-Russian Research Institute of Canning Technology — Branch of V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS, Vidnoe, Moscow region, Russia

Aleksandr Yu. Prosekov, doctor of technical sciences, professor, professor of RAS, Rector of Kemerovo State University, Kemerovo, Russia

Maxim B. Rebezov, doctor of agricultural sciences, professor, the head of the chair of Applied Biotechnology of South Ural State University (national research university), Chelyabinsk, Russia

ShiroTakeda, associate Professor, Laboratory of Food Science School of Veterinary Medicine, Azabu University, Sagami-hara, Japan

Nikolai V. Timoshenko, doctor of technical sciences, professor, the head of the chair «Technology of storage and processing of animal products» of the Kuban State Agrarian University, Krasnodar, Russia

Irina M. Chernukha, doctor of technical sciences, professor, corresponding members of RAS, head of the scientific direction of V.M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Fredi Schwagele, doctor, Director of Max Rubner-Institut, Kulmbach, Germany.

CONTENTS

Зверев С. В., Карпов В. И., Никитина М. А. ОПТИМИЗАЦИЯ ПИЩЕВЫХ КОМПОЗИЦИЙ ПО ПРОФИЛЮ ИДЕАЛЬНОГО БЕЛКА	4
Aurica I. Chirsanova, Alina V. Boistean, Natalia Chiseliță, Rodica Siminiuc IMPACT OF YEAST SEDIMENT BETA-GLUCANS ON THE QUALITY INDICES OF YOGHURT	12
Лазарева Е. Г., Гильманов Х. Х., Бигаева А. И., Тюлькин С. В., Вафин Р. Р. ПОТЕНЦИАЛ ПРИМЕНЕНИЯ ДНК-ТЕХНОЛОГИЙ В ПИВОВАРЕННОЙ ОТРАСЛИ	19
Купаева Н. В., Василевская Е. Р., Федулова Л. В., Котенкова Е. А. ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ ДЛЯ АНАЛИЗА АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ.	26
Верхивкер Я. Г., Мирошниченко Е. М., Петькова О. В. ВОДА В ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА ХЛЕБОБУЛОЧНЫХ ИЗДЕЛИЙ С ОТЛОЖЕННОЙ ВЫПЕЧКОЙ	31
Витол И. С., Мелешкина Е. П., Дубцова Г. Н. К ВОПРОСУ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛИКЕМИЧЕСКОГО ИНДЕКСА ПО ГЛЮКОЗЕ	40
Мягконосов Д. С., Абрамов Д. В., Овчинникова Е. Г., Краюшкина В. Н. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОЦЕНКИ ПРОТЕОЛИЗА В СЫРАХ И АРОМАТИЧЕСКИХ ДОБАВКАХ С СЫРНЫМ ВКУСОМ	45
Федотова О. Б., Пряничникова Н. С. ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРЫ ПОЛИЭТИЛЕНОВОГО СЛОЯ УПАКОВКИ, КОНТАКТИРУЮЩЕГО С ПИЩЕВЫМ ПРОДУКТОМ, ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ	56
Вострикова Н. Л., Минаев М. Ю., Чиковани К. Г. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ КУРКУМЫ	62

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-4-11>



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

Научная статья

ОПТИМИЗАЦИЯ ПИЩЕВЫХ КОМПОЗИЦИЙ ПО ПРОФИЛЮ ИДЕАЛЬНОГО БЕЛКА

Зверев С. В.^{1*}, Карпов В. И.², Никитина М. А.³

¹ Всероссийский научно-исследовательский институт зерна и продуктов его переработки — филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН, Москва, Россия

² Московский государственный университет технологий и управления имени К. Г. Разумовского (Первый казачий университет), Москва, Россия

³ Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

идеальный белок, аминокислоты, комбинаторная задача, критерий оптимизации, растительное сырье, структура белка

АННОТАЦИЯ

В статье подчеркивается важность не только количественного, но и качественного состава белка в питании. Авторами предлагается классификация белка на три основные группы, согласно концепции эталонного (идеального) белка. Для решения задачи получения рациональной смеси при заданном профиле эталонного белка рассматривается математическая модель. Описаны два варианта критерия для формирования оптимальной композиции. Один из них, представляет из себя классическую сумму квадратов невязки скоров незаменимых аминокислот и единицы. Второй также сумму квадратов невязки скоров незаменимых аминокислот белка композиции и единицы, но с учетом только тех аминокислот, у которых скоры меньше единицы. В качестве целевых функций приняты минимумы этих критериев на множестве вариантов содержания ингредиентов. В программной среде Builder C++ 6.0 реализован алгоритм и программа вычисления. Представлена укрупненная блок-схема алгоритма и дано подробное описание каждого блока. Показан интерфейс программы до запуска расчетного модуля и после. Описаны основные окна и интерпретация представленных данных. Приведен пример реализации предлагаемого математического аппарата при составлении пищевой модельной композиции. В качестве объекта исследования были выбраны растительные компоненты (фасоль белая, лен, арахис, крупа «Полтавская», морковь красная сухая). Большинство растительных белков неполные. Комбинируя растительное сырье можно регулировать химический состав, в том числе корректировать профиль белка. Анализ альтернативных вариантов показал, что минимальный скор незаменимых аминокислот первой композиции равен 0.79 (по первому критерию), второй равен 1.0 (по второму критерию); доля эталонного белка в смеси 10.8 и 13.5, соответственно при первом и втором критерии. Даны сравнительные результаты и по другим показателям качества белка смеси: коэффициент различия аминокислотного состава (КРАС), биологическая ценность (БЦ), коэффициент утилитарности, индекс незаменимых аминокислот (ИНАК).

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

Original scientific article

OPTIMIZATION OF FOOD COMPOSITIONS ACCORDING TO THE IDEAL PROTEIN PROFILE

Sergey V. Zverev^{1*}, Valeriy I. Karpov², Marina A. Nikitina³

¹ All-Russian Scientific Research Institute for Grain and Products of its Processing — Branch of the V. M. Gorbato Federal Research Center for Food Systems of RAS, Moscow, Russia

² K. G. Razumovsky Moscow State University of technology and management (First Cossack University), Moscow, Russia

³ V.M. Gorbato Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

KEY WORDS:

ideal protein, amino acids, combinatorial problem, optimization criterion, plant raw materials, protein structure ranking

ABSTRACT

The paper emphasizes the importance of not only the quantitative but also qualitative composition of protein in nutrition. The authors propose protein classification into three main groups according to the concept of reference (ideal) protein. A mathematical model is examined to solve the task of rational mixture production upon the given profile of reference protein. Two variants of the criterion for formation of optimal composition are described. One of them presents the classical sum of squares of the residual for essential amino acid scores and 1. The second also presents the sum of squares of the residual for essential amino acid scores and 1 but with regard to only those amino acids, which scores are less than 1. The minima of these criteria at the set of variants for the content of ingredients are taken as targeted functions. The algorithm and the program of calculation were realized in the program environment Builder C++ 6.0. The macro flowchart of the algorithm is presented and detailed description of each block is given. The program interface before and after the start of the calculation module is shown. The main windows and interpretation of the presented data are described. An example of realization of the proposed mathematical apparatus when calculating a food model composition is given. Plant components (white kidney beans, flax, peanut, grit "Poltavskaya", dry red carrot) were used as an object of the research. Most plant proteins were incomplete. It is possible to regulate the chemical composition including correction of a protein profile by combination of plant raw materials. Analysis of alternative variants demonstrated that minimum essential amino acid score in the first composition was 0.79 (by the first criterion), in the second 1.0 (by the second criterion); the reference protein proportion in the mixture was 10.8 and 13.5, respectively, according to the first and second criterion. The comparative results by other quality indicators for protein in the mixture are also presented: the coefficient of amino acid score difference (CAASD), biological value (BV), coefficient of utility, essential amino acids index (IEAA).

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Зверев, С.В., Карпов, В.И., Никитина, М.А. (2021). Оптимизация пищевых композиций по профилю идеального белка. *Пищевые системы*, 4(1), 4–11. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-4-11>

FOR CITATION: Zverev, S.V., Karpov, V.I., Nikitina, M.A. (2021). Optimization of food compositions according to the ideal protein profile. *Food systems*, 4(1), 4–11. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-4-11>

1. Введение

В классической триаде «белки-жиры-углеводы» белки занимают особую роль, поскольку они, в частности, обеспечивают формирование и реставрацию мышечной массы человека, а, кроме того, несут ряд других жизненно необходимых функций. Как известно, 1) дефицит белка в организме приводит к нарушению его нормальной работы — потери памяти и ослаблению умственных возможностей, сопротивляемости организма; 2) избыток белка в организме приводит к перегрузке работы органов, в первую очередь это относится к функционированию печени и почек.

Рациональное использования белка организмом человека определяется двумя основными параметрами: его сбалансированностью по содержанию незаменимых аминокислот и отношению к белковому эталону, а также эффективностью обмена и утилизации белка системой пищеварения. В работе [1] рассматривается определение возможного «общего знаменателя» между потребностями в питании, математическими алгоритмами, которые могут быть применены к поставленной задаче, и экономическими аспектами, целевых функций при формулировании используемых математических моделей. Автором [2] предлагается оценивать качество белков в продуктах питания человека с помощью системы, называемой DIAAS (Digestible Indispensible Amino Acid Scores). Значения DIAAS были определены в 21 продукте, используемом в питании человека. Оценке качества моделей прогнозирования третичной структуры белка, в которых структуры наилучшего качества выбираются из нескольких моделей для определения полезности модели и ее потенциальных применений посвящена работа [3]. Количественной оценке качества пищевых белков на основе системы DIAAS посвящен обзор [4] в котором излагается обоснование включения многих факторов в расчет DIAAS и описываются связанные с ними потенциальные ошибки. Соавторы работы [5] разработаны комплекс методов для моделирования качества белков важной части прогнозирования их структуры. Ими использованы различные типы описания белка и различные методологии машинного обучения. Однако общим для всех этих методов была целевая функция, используемая для обучения. Целевая функция в ProQ описывает локальное качество остатка в белковой модели.

Как известно [6], в структуру многих белков входят не все аминокислоты. Так, например, белок кукурузы — зеин — не содержит таких аминокислот, как глицин, лизин, триптофан; в желатине нет аминокислот — тирозина, триптофана. Наиболее дефицитными считаются три аминокислоты — триптофан, лизин, метионин.

Триптофан играет важную роль в синтезе тканевых белков, в процессах обмена веществ и роста, участвует в образовании гемоглобина, сывороточных белков, никотиновой кислоты. При недостатке триптофана снижается синтез никотиновой кислоты и накапливается ксантуреновая кислота, которая угнетает β -клетки островков Лангерганса поджелудочной железы, провоцируя тем самым возникновения диабета [7].

Дефицит лизина, большое количество которого содержится в ядерных белках — протаминах и гистонах, вызывает задержку процессов биосинтеза белка.

Метионин является универсальным донатором метильных групп и таким образом участвует в синтезе холина, тимины, адреналина, креатинина. Стоит отметить, что креатинин играет важную роль в процессах, связанных с мышечным сокращением. Также метионин выступает источником серной кислоты, которая в активизированной форме обеспечивает обезвреживание в печени различных токсичных веществ [6].

Поэтому необходимо обеспечить их поступление в организм. Этого можно добиться лишь рациональным сочетанием ингредиентов в рецептурных смесях.

Ориентировочно человеку в сутки необходимо потреблять около одного грамма полноценного белка на каждый килограмм своего веса. Но именно полноценного белка. Если белок низкого качества, то все равно организм испытывает белковое голодание. Использование в рационе полноценного белка или сбалансированных растительных белковых смесей необходимо для исключения необратимых отклонений в здоровье человека.

Все белки — это соединенные в определенной последовательности цепочки из аминокислот [8]. Белки характерные для организма человека синтезируются самим организмом из аминокислот, поступивших с пищей. Под действием пищеварительных ферментов в организме происходит декомпозиция белка на аминокислоты (АК), всасывание аминокислот в кровь с последующим использованием на синтез новых белков, присущих данному организму.

Все аминокислоты можно разделить на две группы: незаменимые (не синтезируются в организме и поступают извне с пищей) и заменимые (могут синтезироваться в организме). Но часто выделяют ещё частично заменимые и условно незаменимые.

Аминокислоты усваиваются организмом в определенной пропорции. Отсюда следует концепция эталонного (идеального) белка. Таким образом, «идеальный» белок — условное понятие, обозначающее белок, по сбалансированности аминокислотного состава наиболее полно отвечающее потребностям организма человека. Профиль (аминокислотный состав) этого белка на основе многолетних медико-биологических исследований предлагается Продовольственной и сельскохозяйственной организацией (ФАО) при ООН. Периодически профиль эталонного белка пересматривается с учетом обновляемых научных знаний [9].

В 1989 г. совместная консультация экспертов ФАО/ВОЗ по оценке качества белка рекомендовала использовать метод аминокислотной шкалы с поправкой на усвояемость протеина (PDCAAS) для оценки качества белка [9].

В статье [10] представлен обзор использования метода PDCAAS по сравнению с другими методами, а также рекомендованные нормы потребления белка, используемые в настоящее время в разных странах в соответствии со стандартами WHO / FAO / UNU.

Исходя из концепции эталонного (идеального) белка, все белки можно разделить на три группы:

- ❑ Полноценный белок — аминокислотный (АК) профиль соответствует профилю эталонного белка;
- ❑ Неполноценный белок — хотя бы одна из незаменимых аминокислот (НАК) отсутствует;
- ❑ Неполный белок — все НАК присутствуют, но не в должной пропорции.

Животные белки полноценны и не нуждаются в дополнении. Как известно [11], большинство растительных белков неполные. Из двух неполных белков лучше и ценнее тот, у которого больше скор C_m первой лимитирующей НАК (с учетом усвояемости), т. е. больше эталонная часть белка. Очевидно, что в этом случае неполноценная (избыточная) часть белка $(1 - C_m)$ однозначно меньше.

Профиль НАК растительных белков, как правило, может быть улучшен добавкой полноценного или комплементарного белка. Смешивая (комбинируя) те или иные продукты можно регулировать химический состав, в том числе корректировать профиль белка [11,12,13].

В последнее время отмечается повышенное внимание к эффективности использования белков вообще

и растительных в частности. Научные и практические основы производства пищевых продуктов с применением сырья растительного происхождения в России были заложены академиком А. Н. Несмеяновым [14]. В настоящее время, в Европейском Союзе с 1 января 2020 года, стартовал новый проект Smart Protein (<https://smartproteinproject.eu/>) для разработки следующего поколения экономичных, ресурсоэффективных и питательных продуктов. В рамках проекта стоимостью 10 миллионов евро исследуется потенциал альтернативных источников белка, которые можно использовать для создания ингредиентов и продуктов на растительной основе.

Целью представленной работы является разработка целевых функций, методики оптимизации (балансировки), алгоритма и программы расчета рациональной пищевой системы по критерию их соответствия эталонному белку.

2. Методология оптимизации

При выполнении работы осуществлялся сбор, анализ и интерпретация данных, количественная формулировка на основе научных принципов и эмпирических законов, оценка разработанных целевых функций, методики оптимизации, алгоритма и программ расчета по выбранным критериям.

2.1. Исходные данные для расчетов

В качестве исходных данных используются:

1) множество ингредиентов:

$$\text{Ingr}(i) = \langle \text{ingr}(i, j) \rangle, i = 1, N, j = 1, 9 \quad (1)$$

где $\text{ingr}(i, 1)$ — содержание изолейцина в i -й компоненте, %;
 $\text{ingr}(i, 2)$ — содержание лейцина в i -й компоненте, %;
 $\text{ingr}(i, 3)$ — содержание лизина в i -й компоненте, %;
 $\text{ingr}(i, 4)$ — содержание метионина+цистина в i -й компоненте, %;
 $\text{ingr}(i, 5)$ — содержание фенилаланина+тирозина в i -й компоненте, %;
 $\text{ingr}(i, 6)$ — содержание треонина в i -й компоненте, %;
 $\text{ingr}(i, 7)$ — содержание триптофана в i -й компоненте, %;
 $\text{ingr}(i, 8)$ — содержание валина в i -й компоненте, %;
 $\text{ingr}(i, 9)$ — содержание гистидина в i -й компоненте, %;
 $\text{ingr}(i, 10)$ — содержание общего белка в i -й компоненте, %.

2) содержание НАК в эталонном (идеальном) белке Idb :

$$\text{Idb} = \langle \text{idb}(j) \rangle, j = 1, 9 \quad (2)$$

где $\text{idb}(j)$ — содержание j -й аминокислоты в эталонном белке, %.

Требуется определить вектор $X(k)$, определяющий k -й вариант купажа:

$$X(k) = \langle x(k, i) \rangle, i = 1, N \quad (3)$$

где $x(k, i)$ — доля i -го ингредиента в k -том варианте купажа, %; может принимать значения, равные 0, 1, 2, ... 100.

Расчет пропорций компонент смеси ведется методом сканирования. Для учета всех граничных точек, ограничения должны быть кратны шагу. Ниже, в модельном примере использован шаг 1%. Уменьшение шага сканирования при необходимости возможно, но при этом существенно возрастает время работы программы, а в результате получаем решение с точностью в сотых долях процента, что невозможно реализовать на практике.

Допустимое решение $X(k)$ для любого варианта k определяется следующим условием

$$\forall k \sum_{i=1}^N x(k, i) = 100 \quad (4)$$

при этом состав белка $kp(k, j)$ в купаже $Kp(k)$ определяется по формуле:

$$Kp(k) = \langle kp(k, j) \rangle, j = 1, 9 \quad (5)$$

где $kp(k, j)$ — содержание НАК в купаже k , %; вычисляется следующим образом:

$$kp(k, j) = \sum_{i=1}^N \text{ingr}(i, j) \times x(k, i) / 100 \times \text{ingr}(i, 10) / 100$$

Общее содержание белка $kp(k, 10)$ в купаже k , %:

$$kp(k, 10) = \sum_{i=1}^N \text{ingr}(i, 10) \times x(k, i) / 100 \quad (6)$$

Структура содержания идеального белка в смеси относительно общего содержания белка в купаже k определяется вектором $IKp(k)$:

$$IKp(k) = \langle ikp(k, j) \rangle$$

где $ikp(k, j) = kp(k, j) / kp(k, 10) \times 100$

Структура скоров в купаже k представляется вектором $Skor(k)$:

$$Skor(k) = \langle skor(k, j) \rangle, j = 1, 9 \quad (7)$$

где $skor(k, j)$ — доля j -й НАК в купаже по отношению к эталонному, рассчитывается как

$$skor(k, j) = ikp(k, j) / \text{idb}(j)$$

2.2. Целевые функции оптимизации

Критерием качества белка композиции является ее минимальный скор НАК. В качестве критериев близости профиля белка композиции предлагаются следующие варианты:

1. В первом варианте при сравнении двух векторов участвуют все НАК [11]. Критерий имеет вид

$$K_1 = \sqrt{\sum_{j=1}^9 [1 - skor(k, j)]^2}, k = 1, K$$

2. Во втором варианте при сравнении двух векторов эталонного белка и белка композиции используются только те НАК, для которых скор меньше единицы. Критерий второго типа

$$K_2 = \sqrt{\sum_{j \in J} [1 - skor(k, j)]^2},$$

где J — множество всех j , для которых справедливо $1 - skor(k, j) > 0$.

В первом случае целевая функция имеет вид

$$F_1 = \min_k \sqrt{\sum_{j=1}^9 [1 - skor(k, j)]^2}, k = 1, K; \quad (8)$$

во втором

$$F_2 = \min_k \sqrt{\sum_{j \in J} [1 - skor(k, j)]^2}, \quad (9)$$

где J — множество всех j , для которых справедливо $1 - skor(k, j) > 0$.

Условием существования не тривиального (вырожденно-го) решения является наличие в смеси компонент с комплексными белками.

2.3. Алгоритм и программа расчета

Разработанный алгоритм и программа решения, реализованная на платформе Builder C++ 6.0. Алгоритм основан на генерации возможных вариантов с предварительным отсеком недопустимых и неперспективных вариантов. Допустимое решение ищется в пространстве натуральных чисел. Программа позволяет вносить ингредиенты моделируемой смеси, их диапазон варьирования, выбирать эталон ФАО/ВОЗ [15,16,17,18,19].

Укрупненно блок-схема алгоритма расчета приведена на Рисунке 1.

Алгоритм включает десять этапов, что обеспечивает решение поставленной задачи.

Этап 1 является определяющим в формировании условий для математического обеспечения решения задачи.

Из базы данных выбираются ингредиенты будущей рецептуры и диапазон их варьирования, а также шкала-эталон идеального белка ФАО/ВОЗ.

На **этапе 2** задаются начальные значения критериев оптимизации $F1_0$ (уравнение 8) и $F2_0$ (уравнение 9). Переменной k (число итераций при решении задачи или номер допустимого варианта купажа) присваивается значение равное единице.

На **этапе 3** формируется (генерируется) первый купаж $X(k)$ при $k=1$, т. е. $X(1)$, удовлетворяющий ограничениям (уравнение 3 и уравнение 4). Для первого купажа $X(1)$ вычисляются критерии $F1(1)$ (уравнение 8) и $F2(1)$ (уравнение 9).

Этап 4 связан с проверкой условия $X(k)=0$. Если условие выполняется, то мы переходим на завершающий этап 10. Происходит вывод оптимальной рецептуры смеси (композиции), а также значения оптимальных купажей и критериев $F1$ (уравнение 8) и $F2$ (уравнение 9), и число итераций, пройденное программой для получения оптимального решения.

Иначе происходит переход на этап 5.

Этап 5 связан с проверкой условия текущего значения первого критерия $F1(k)$ с начальным значением первого критерия $F1_0$. Если $F1(k) < F1_0$ выполняется, происходит переход на этап 6, в противном случае на этап 7.

На **этапе 6** происходит перераспределение в значениях. В значение $F1_0$ записывается (заносится) текущее значение $F1(k)$, а в значение $X1_0$ вносится текущее значение $X(k)$.

Этап 7 связан с проверкой условия текущего значения второго критерия $F2(k)$ с начальным значением второго критерия $F2_0$. При выполнении условия $F2(k) < F2_0$ происходит переход на этап 8, в противном случае на этап 9.

На **этапе 8** происходит перераспределение в значениях. В значение $F2_0$ записывается (заносится) текущее значение $F2(k)$, а в значение $X2_0$ вносится текущее значение $X(k)$.

На **этапе 9** выполняется переход на следующий уровень итерации ($k=k+1$) и алгоритм возвращается к этапу 4.

На первом этапе решения задачи вводится информация о составе ингредиентов, показателей их качества, информация об эталонном белке, ограничения на использование ингредиентов. В случае безусловного присутствия той или иной компоненты в смеси диапазон ее варьирования при задании исходных данных сводится к нулю.

Алгоритм основан на генерации возможных вариантов с предварительным отсеком недопустимых и неперспективных вариантов.

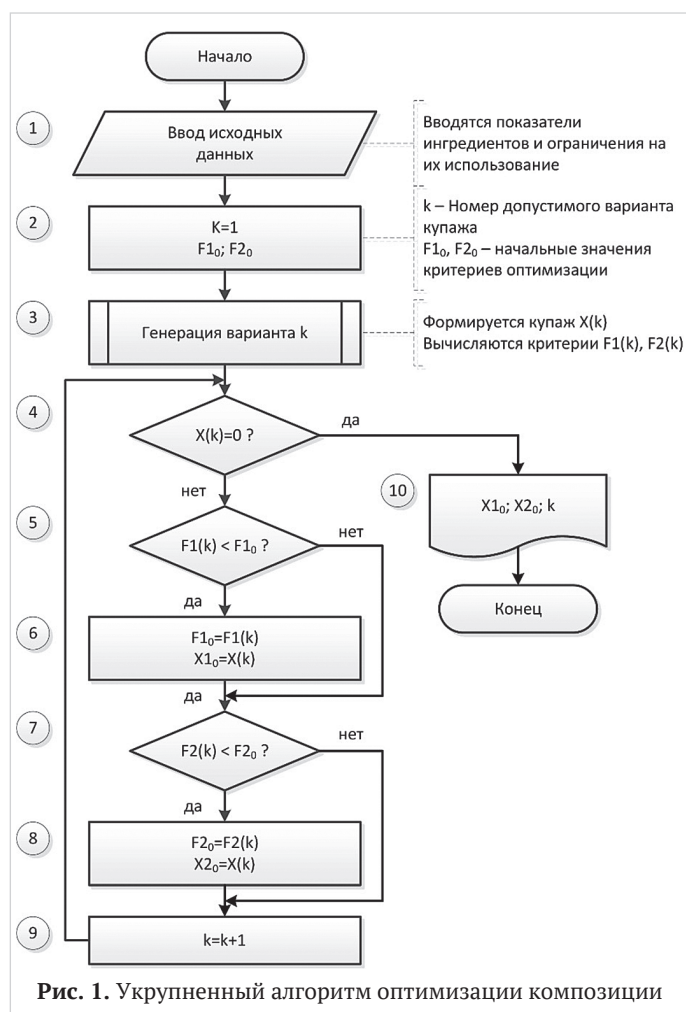
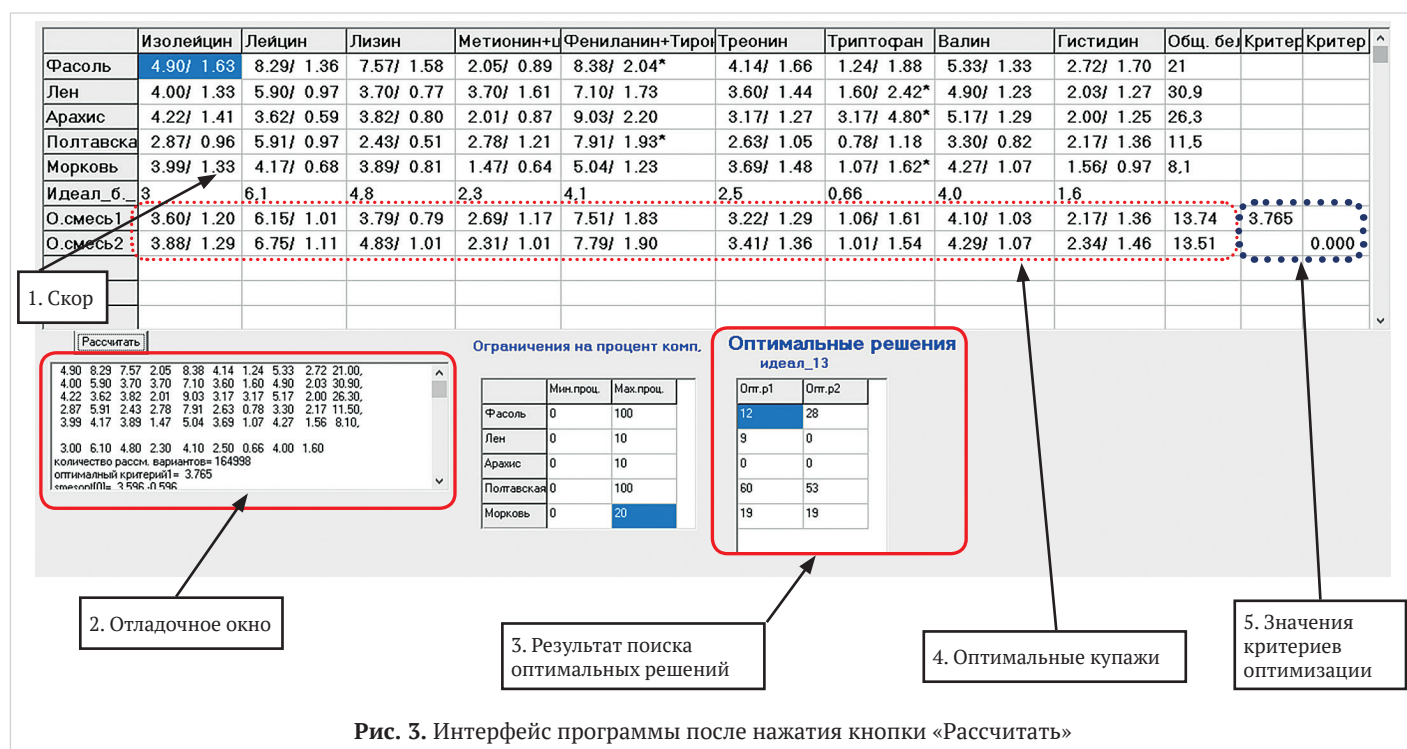


Рис. 1. Укрупненный алгоритм оптимизации композиции

Допустимое решение ищется в пространстве натуральных чисел. Программа (блок 1) позволяет вносить ингредиенты моделируемой смеси, их диапазон варьирования, выбирать эталон ФАО/ВОЗ [15,16,17,18,19]. Блок 3 формирует очередной вариант допустимого купажа, удовлетворяющий ограничениям (3), (4). Количество рассмотренных вариантов k выдается в отладочном окне, оптимальный вариант купажа для каждого критерия выдается на входной форме в строках «О смесь1», «О смесь2» (Рисунок 2).



Рис. 2. Интерфейс программы на этапе формирования исходных данных



В программе использован графический интерфейс платформы Builder C++ на основе объектов StringGrid, ListBox, Button, Label. Интерфейс на этапе ввода исходных данных представлен на Рисунке 2.

На первом этапе пользователь должен:

1. выбрать ингредиенты будущей рецептурной смеси (на рисунке выделено пунктирной линией);
2. выбрать эталонную шкалу ФАО/ВОЗ для идеального белка (в приведенном примере указан эталон ФАО/ВОЗ 2013 года);
3. установить диапазон варьирования (минимальное и максимальное значения), в котором может находиться ингредиент в рецептурной композиции (в представленном примере, диапазон варьирования фасоли белой от 0 до 100; льна — от 0 до 10; арахиса — от 0 до 10; крупы «Полтавская» — от 0 до 100; моркови красной (сухой) — от 0 до 20).

На втором этапе после нажатия пользователем кнопки «Рассчитать» получаем результат, представленный на Рисунке 3.

На экране пользователь видит следующие данные:

1. аминокислотный скор каждого ингредиента рецептурной смеси (через слэш после значения аминокислоты);
2. окно отладки. В нем представлено число итераций (в нашем примере $k=164998$), сделанные программой до получения заданных значений критерия (в нашем случае, критерии стремятся к минимуму);
3. результат поиска оптимального решения по эталону ФАО/ВОЗ 2013 года (представлено в процентах содержание ингредиентов в рецептурной смеси по критерию 1 (уравнение 8) и по критерию 2 (уравнение 9));
4. оптимальные купажи (на рисунке выделены красной пунктирной линией);
5. значения критериев оптимизации (на рисунке выделены синей пунктирной линией).

3. Результаты и обсуждение

На примере расчета модельной композиции, состоящей из фасоли белой, льна, арахиса, крупы «Полтавская» и моркови красной покажем результаты работы программы с ис-

пользованием двух целевых функций оптимизации (уравнения 8, 9). Модельный рецептурный вариант композиции был выбран по следующим соображениям:

- 1) приемлемое вкусовое сочетание (в соответствии с кулинарными представлениями авторов);
- 2) заполнение всех пяти позиций, зарезервированных под компоненты. Расширение ассортимента компонент не представляет технической трудности;
- 3) сочетание комплементарных и не комплементарных компонент.

В Таблице 1 представлен профиль незаменимых аминокислот белка выбранных ингредиентов композиции и эталонного белка (ФАО/ВОЗ 2013 г.).

Таблица 1
Аминокислотный состав, г/100 г белка [20, 21]

	Лизин	Метионин + Цистин	Изолейцин	Лейцин	Треонин	Фенилаланин + Тирозин	Триптофан	Валин	Гистидин
Фасоль белая	7,57	2,05	4,90	8,29	4,14	8,38	1,24	5,33	2,72
Лен	3,70	3,70	4,00	5,90	3,60	7,10	1,60	4,90	2,03
Арахис	3,59	2,51	1,97	6,48	3,42	9,40	0,97	4,19	2,53
Крупа «Полтавская»	2,43	2,78	2,87	5,91	2,63	7,91	0,78	3,30	2,17
Морковь красная (сухая)	3,89	1,47	3,99	4,17	3,69	5,04	1,07	4,27	1,56
Эталонный белок	4,8	2,3	3,0	6,1	2,5	4,1	0,66	4,0	1,6

На основании приведенных данных в таблице 1 был рассчитан аминокислотный скор каждого ингредиента композиции по методике Х. Митчела и Р. Блока [22] по эталону 2013 года ФАО/ВОЗ. Данные расчета представлены в Таблице 2, лимитирующая аминокислота каждого ингредиента выделена зеленым цветом.

Таблица 2

	Аминокислотный скор, %								
	Лизин	Метионин + Цистин	Изолейцин	Лейцин	Треонин	Фенилаланин + Тирозин	Триптофан	Валин	Гистидин
Фасоль белая	1,58	0,89	1,63	1,36	1,66	2,04	1,88	1,33	1,70
Лен	0,77	1,61	1,33	0,97	1,44	1,73	2,42	1,23	2,31
Арахис	0,75	1,09	0,66	1,06	1,37	2,29	1,47	1,05	2,24
Крупа «Полтавская»	0,51	1,21	0,96	0,97	1,05	1,93	1,18	0,83	1,52
Морковь красная (сухая)	0,81	0,64	1,33	0,68	1,48	1,23	1,63	1,07	0,97

Из Таблицы 2 видно, что основными лимитирующими НАК рассматриваемых ингредиентов являются лизин и серосодержащие аминокислоты «Метионин+Цистин». И только в арахисе таковой аминокислотой является изолейцин. Таким образом, условие наличия в композиции ингредиентов с комплементарными белками выполняется.

После выбора ингредиентов будущей рецептурной смеси, необходимо подобрать оптимальную рецептурную композицию для удовлетворения поставленным критериям и ограничениям. Для этого используем разработанный алгоритм. В результате работы программы по выбранным двум вариантам критериям оптимизации (эталонный белок от ФАО/ВОЗ 2013 г.) получили следующие данные (Таблица 3).

Таблица 3

Результаты расчета модельной композиции				
Продукт	Ограничения, %		Доля продукта, %	
	min	max	Критерий первого типа (уравнение 8)	Критерий второго типа (уравнение 9)
Фасоль	0	100	12	28
Лен	0	10	9	0
Арахис	0	10	0	0
Крупа «Полтавская»	0	100	60	53
Морковь красная	0	20	19	19
Смесь				
Скор лимитирующей НАК	—	—	Лизин 0,79	1
Доля эталонного белка, %	—	—	10,8	13,5
Значение критерия	—		3,77	0

В таблице 3 представлен интервал варьирования каждого компонента будущей смеси. В результате расчета для достижения экстремума по критерию первого типа (уравнение 8) из ингредиентов смеси был исключен — арахис; по критерию второго типа (уравнение 9) — лен и арахис. Если их присутствие в смеси по тем или иным соображениям

необходимо, то их долю в исходных данных необходимо задавать «жестко» (min = max). Из полученных данных видно, что второй критерий приводит к более приемлемым результатам: минимальный скор (1.0 против 0.79) и доля эталонного белка в смеси (13.5 против 10.8). При этом, значение критерия (9) для оптимального варианта предельно возможное (равно нулю).

Зная рецептуру смеси, мы также получаем дополнительные характеристики, связанные с качественными характеристиками белка (Таблица 4).

Таблица 4

Качественные характеристики белка модельных рецептурных смесей		
	Модельная рецептурная смесь № 1	Модельная рецептурная смесь № 2
Белок, %	13,74	13,51
Незаменимые аминокислоты, г/100 г белка		
Лизин	0,79	1,01
Метионин+Цистин	1,17	1,01
Изолейцин	1,2	1,29
Лейцин	1,01	1,11
Треонин	1,29	1,36
Фенилаланин+Тирозин	1,83	1,09
Триптофан	1,61	1,54
Валин	1,03	1,07
Гистидин	1,65	1,54
Лимитирующая аминокислота (скор)	Лизин (0.79)	—
КРАС, %	49,37	46,58
БЦ, %	50,63	53,42
Коэффициент утилитарности, доли ед.	0,41	0,45
Индекс незаменимых аминокислот (ИНАК), доли ед.	0,45	0,47

4. Выводы

Использование минимума наименьших квадратов невязки единицы и скоров лимитирующих НАК белка ингредиентов смеси в качестве критерия близости профиля НАК белка смеси к профилю эталонного белка приводит к положительным результатам при наличии в смеси компонент с комплементарными белками. Установлено, что критерий (9), учитывающий только положительные невязки, приводит к лучшим результатам.

Предлагаемая математическая модель и алгоритм решения позволяют в рамках принятых ограничений на содержание отдельных компонент получить рациональное их соотношение исходя из близости белка смеси эталонному белку, в соответствии с принятым критерием. В случае безусловного присутствия той или иной компоненты в смеси диапазон ее варьирования при задании исходных данных сводится к нулю.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Burlacu, R. (2018). Mathematical model of optimization energy metabolism and protein quality to swine. *Scientific Papers. Series D. Animal Science*, LXI(1), 115–120.
- Stein, H. (2016). Evaluating protein quality of human foods using the pig as a model. *Journal of animal science*, 94(suppl_2), 20–21. <https://doi.org/10.2527/msasas2016-045>
- Ouyang, J.Q., Huang, N.Q., Jiang, Y.Q. (2020). A single-model quality assessment method for poor quality protein structure. *BMC Bioinformatics*, 21(1), Article 157. <https://doi.org/10.1186/s12859-020-3499-5>
- Wolfe, R.R., Rutherfurd, S.M., Kim, I.-Y., Moughan, P.J. (2016). Protein quality as determined by the Digestible Indispensable Amino Acid Score: evaluation of factors underlying the calculation. *Nutrition reviews*, 74(9), 584–599. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuw022>
- Uziela, K., Menéndez Hurtado, D., Shu, N., Wallner, B., Elofsson, A. (2018). Improved protein model quality assessments by changing the target function. *Proteins-structure function and bioinformatics*, 86(6), 654–663. <https://doi.org/10.1002/prot.25492>
- Рогов, И.А., Антипова, Л.В., Дунченко, Н.И., Жеребцов, Н.А. (2000). Химия пищи. Кн. 1. Белки: структура, функции, роль в питании. — М.: Колос. — 384 с. ISBN 5–10–003538–2
- Нечаев, А.П., Траубенберг, С.Е., Кочеткова, А.А., Колпакова, В.В., Витол, И.С., Кобелева, И.Б. (2015). Пищевая химия. — СПб.: ГИОРД. — 672 с.
- Кочеткова, А.А. (2012). Пищевая химия. — М.: Гиорд. — 389 с.
- Dietary protein quality evaluation in human nutrition: Report of an FAO Expert Consultation. Rome: FAO, 2013. — 66 p.
- Boye, J., Wijesinha-Bettoni, R., Burlingame, B. (2012). Protein quality evaluation twenty years after the introduction of the protein digestibility corrected amino acid score method. *British Journal of Nutrition*, 108 (SUPPL. 2), S183–S211. <https://doi.org/10.1017/S0007114512002309>
- Зверев, С.В., Никитина, М.А. (2017). Оценка качества белка бобовых культур. *Комбикорма*, 4, 37–41.
- Zverev, S.V., Nikitina, M.A. (2019). Balance protein supplements on the criterion of convertible protein. *Food systems*, 2(1), 16–19. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2019-2-1-16-19>
- Zverev, S., Sesikashvili, O., Pruidze, E. (2020). Enrichment of protein barley and triticale groats by adding chickpea. *Journal of Food and Nutrition Research*, 59(3), 202–206.
- Несмеянов, А.Н., Беликов, В.М. (1965). Проблема синтеза пищи. Доклад на пленарном заседании XI Менделеевского съезда по общей и прикладной химии. М.: Наука. — 24 с.
- FAO (1970). Amino-Acid content of foods and biological data on proteins. FAO food and nutrition series. Rome, Italy. Retrieved from <http://www.fao.org/docrep/005/ac854t/ac854t00.htm>. Accessed November 09, 2020
- FAO/WHO (1973). Energy and protein requirements: Report of a joint FAO/WHO ad hoc expert committee. — Rome: FAO Nutrition Meetings Report Series No. 52. Geneva: WHO Technical Report Series No. 522.
- FAO/WHO-UNU. (1985). Energy and Protein Requirements: Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation, WHO Tech Report Series no.724, Geneva: WHO. ISBN 92–4–120724–8 Retrieved from <http://www.fao.org/docReP/003/aa040e/AA040E00.htm> Accessed November 09, 2020.
- FAO/WHO. (1991) Protein Quality Evaluation: Report of the Joint FAO/WHO Expert Consultation, FAO Food and Nutrition Paper 51. Rome, FAO. — 72 p. ISBN 92–5–103097–9
- FAO/WHO (2001). Report of the FAO/WHO Working Group on Analytical Issues Related to Food Composition and Protein Quality. Rome: FAO.
- Скурихин, М.И. (1987). Химический состав пищевых продуктов. Кн. 1. — М.: Агропромиздат. — 224 с.
- Свидетельство о регистрации базы данных RU2015620557. Пищевые продукты / Никитина М. А., Лисицын А. Б., Захаров А. Н., Сусь Е. Б., Пилюгина С. А., Дыдыкин А. С., Устинова А. В. Оpubл. 30.03.2015.
- Block, R.J., Mitchell, H.H. (1946). The Correlation of the Amino Acid Composition of Proteins with Their Nutritive Value. *Nutrition Abstracts & Reviews*, 16, 249–278.

REFERENCES

- Burlacu, R. (2018). Mathematical model of optimization energy metabolism and protein quality to swine. *Scientific Papers. Series D. Animal Science*, LXI(1), 115–120.
- Stein, H. (2016). Evaluating protein quality of human foods using the pig as a model. *Journal of animal science*, 94(suppl_2), 20–21. <https://doi.org/10.2527/msasas2016-045>
- Ouyang, J.Q., Huang, N.Q., Jiang, Y.Q. (2020). A single-model quality assessment method for poor quality protein structure. *BMC Bioinformatics*, 21(1), Article 157. <https://doi.org/10.1186/s12859-020-3499-5>
- Wolfe, R.R., Rutherfurd, S.M., Kim, I.-Y., Moughan, P.J. (2016). Protein quality as determined by the Digestible Indispensable Amino Acid Score: evaluation of factors underlying the calculation. *Nutrition reviews*, 74(9), 584–599. <https://doi.org/10.1093/nutrit/nuw022>
- Uziela, K., Menéndez Hurtado, D., Shu, N., Wallner, B., Elofsson, A. (2018). Improved protein model quality assessments by changing the target function. *Proteins-structure function and bioinformatics*, 86(6), 654–663. <https://doi.org/10.1002/prot.25492>
- Rogov, I.A., Antipova, L.V., Dunchenko, N.I., Zhrebetsov, N.A. (2000). Chemistry of the food. Book 1. Proteins: structure, functions, role in nutrition. Moscow: Kolos. 384 p. ISBN 5–10–003538–2
- Nechaev, A.P., Traubenberd, S.E., Kochetkova, A.A., Kolpakova, V.V., Vitol, I.S., Kobleleva, I.B. (2015). Food chemistry. Saint-Petersburg: GIORD. 672 p.
- Kochetkova, A.A. (2012). Food chemistry. Moscow: Giord. 389 p.
- Dietary protein quality evaluation in human nutrition: Report of an FAO Expert Consultation. Rome: FAO, 2013. — 66 p.
- Boye, J., Wijesinha-Bettoni, R., Burlingame, B. (2012). Protein quality evaluation twenty years after the introduction of the protein digestibility corrected amino acid score method. *British Journal of Nutrition*, 108(SUPPL. 2), S183–S211. <https://doi.org/10.1017/S0007114512002309>
- Zverev, S.V., Nikitina, M.A. (2017). Evaluation of the quality of leguminous protein. *Feed*, 4, 37–41.
- Zverev S. V., Nikitina M. A. (2019). Balance protein supplements on the criterion of convertible protein. *Food systems*, 2(1), 16–19. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2019-2-1-16-19>
- Zverev, S., Sesikashvili, O., & Pruidze, E. (2020). Enrichment of protein barley and triticale groats by adding chickpea. *Journal of Food and Nutrition Research*, 59(3), 202–206.
- Nesmeyanov, A.N., Belikov, V.M. (1965). The problem of food synthesis. Report at the plenary session of the XI Mendeleev Congress on General and Applied Chemistry. Moscow: Nauka. 24 p.
- FAO (1970). Amino-Acid content of foods and biological data on proteins. FAO food and nutrition series. Rome, Italy. Retrieved from <http://www.fao.org/docrep/005/ac854t/ac854t00.htm>. Accessed January 09, 2019.
- FAO/WHO (1973). Energy and protein requirements: Report of a joint FAO/WHO ad hoc expert committee. — Rome: FAO Nutrition Meetings Report Series No. 52. Geneva: WHO Technical Report Series No. 522.
- FAO/WHO-UNU. (1985). Energy and Protein Requirements: Report of a Joint FAO/WHO/UNU Expert Consultation, WHO Tech Report Series no.724, Geneva: WHO. ISBN 92–4–120724–8 Retrieved from <http://www.fao.org/docReP/003/aa040e/AA040E00.htm> Accessed November 09, 2020.
- FAO/WHO. (1991) Protein Quality Evaluation: Report of the Joint FAO/WHO Expert Consultation, FAO Food and Nutrition Paper 51. Rome, FAO. — 72 p. ISBN 92–5–103097–9
- FAO/WHO (2001). Report of the FAO/WHO Working Group on Analytical Issues Related to Food Composition and Protein Quality. Rome: FAO.
- Skurikhin, M.I. (1987). Chemical composition of food products. Book 1. Moscow: Agropromizdat. 224 p.
- Nikitina M. A., Lisitsyn A. B., Zakharov A. N., Sus E. B., Pilugina S. A., Dydykin A. S., Ustinova A. V. Food product. Certificate of registration of the database RU, no. 2015620557, 2015.
- Block, R.J., Mitchell, H.H. (1946). The Correlation of the Amino Acid Composition of Proteins with Their Nutritive Value. *Nutrition Abstracts & Reviews*, 16, 249–278.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Зверев Сергей Васильевич — доктор технических наук, профессор, заведующий лабораторией «Технология и техника производства зерновых культур», Всероссийский научно-исследовательский институт зерна и продуктов его переработки- Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН 127434, Москва, Дмитровское шоссе, 11 Тел.: +7-903-533-38-43 E-mail: zverevsv@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6136-1796 * автор для контактов	Sergey V. Zverev — doctor of technical sciences, professor, head of laboratory «Technology and technique of cereal production», All-Russian Scientific Research Institute of Grain and Products of Its Processing — Branch of V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS 127434, Moscow, Dmitrovskoe shosse, 11 Tel.: +7-903-533-38-43 E-mail: zverevsv@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6136-1796 * corresponding author
Карпов Валерий Иванович — доктор технических наук, профессор, профессор кафедры «Информационные технологии и системы, Московский государственный университет технологий и управления имени К. Г. Разумовского (Первый казачий университет) 109004, Москва, ул. Земляной Вал, 73 Тел.: +7-916-583-34-93 E-mail: vikarp@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6338-0467	Valeriy I. Karpov — doctor of technical Sciences, Professor, professor of the Department of «Information Technologies and Systems», K. G. Razumovsky Moscow State University of technology and management (First Cossack University), 109004, Moscow, Zemlyanoy Val str., 73. Tel.: +7-916-583-34-93 E-mail: vikarp@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6338-0467
Никитина Марина Александровна — кандидат технических наук, доцент, ведущий научный сотрудник руководитель направления информационных технологий, Центр «Экономико-аналитических исследований и информационных технологий», Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-92-14 E-mail: m.nikitina@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8313-4105	Marina A. Nikitina — candidate of technical sciences, docent, leading scientific worker, the Head of the Direction of Information Technologies, Center of Economic and Analytical Research and Information Technologies, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences 109316, Moscow, Talalikhina str., 26 Tel.: +7-495-676-92-14 E-mail: m.nikitina@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8313-4105
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат	Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов	The authors declare no conflict of interest
Поступила 14.10.2020	Received 14.10.2020
Поступила после рецензирования 12.03.2021	Accepted in revised 12.03.2021
Принята в печать 25.03.2021	Accepted for publication 25.03.2021

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-12-18>Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Original scientific article

IMPACT OF YEAST SEDIMENT BETA-GLUCANS ON THE QUALITY INDICES OF YOGHURT

Aurica I. Chirsanova¹, Alina V. Boistean^{1*}, Natalia Chiseliță², Rodica Siminiuc¹¹ Technical University of Moldova, Chisinau, Republic of Moldova² Institute of Microbiology and Biotechnology of the Academy of Sciences of Moldova, Chisinau, Republic of Moldova**KEY WORDS:***beta-glucan, yeast sediment, yoghurt, fermentation***ABSTRACT**

The objective of the study was to investigate the potential application of beta-glucans obtained from yeast sediment resulting from the manufacture of local Viorica wine (2018 harvest). To determine the amount of beta-glucans in the yeast sediment, two were used: the calculation method and the laboratory method, obtaining similar quantities, 29.92 ± 0.47 and 28.17 ± 0.32 respectively. The beta-glucans obtained were incorporated in various concentrations (0.1%; 0.2%; 0.3%; 0.4% and 0.5%) in the yogurt obtained from skimmed milk. The effect of beta-glucan addition on the physicochemical properties of freshly prepared yogurts was investigated. The addition of beta-glucans positively influenced the formation of the gel relay resulting in a decrease in the fermentation time of yogurt. The final pH point of 4.5 was reached one hour earlier (in 4 hours) compared to the control sample (in 5 hours). The results showed that there are no significant changes in physicochemical properties (titratable acidity, pH, viscosity and syneresis). The results obtained report that beta-glucans can be used as a thickening agent for low-fat yogurts by shortening the fermentation period and not essentially changing the sensory characteristics. Experimental results showed that the glycemic index of yogurt samples with the addition of beta-glucans have similar values in the range of 28–30. Respectively, the yogurts under study are attributed to food category with low glycemic index.

FUNDING: The research was funded by State Project 20.80009.5107.10 “Personalized nutrition and smart technologies for my well-being”, running at Technical University of Moldova

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

Научная статья

ВЛИЯНИЕ БЕТА-ГЛЮКАНОВ ИЗ ДРОЖЖЕВОГО ОСАДКА НА ПОКАЗАТЕЛИ КАЧЕСТВА ЙОГУРТА

Кирсанова А. И.¹, Боиштян А. В.^{1*}, Киселица Н.², Симениук Р.¹¹ Технический университет Молдовы, Кишинев, Республика Молдова² Институт микробиологии и биотехнологии Академии Наук Республики Молдова, Кишинев, Республика Молдова**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:***ideal protein, amino acids, combinatorial problem, optimization criterion, plant raw materials, protein structure ranking***АННОТАЦИЯ**

Целью исследования было изучить возможности применения бета-глюканов, из дрожжевого осадка, полученных при производстве местного вина Виорика (урожай 2018 г.). Для определения количества бета-глюканов в дрожжевом осадке использовали два метода: метод расчета и лабораторный метод, получив значения $29,92 \pm 0,47$ и $28,17 \pm 0,32$ соответственно. Полученные бета-глюканы были введены в различных концентрациях (0,1%; 0,2%; 0,3%; 0,4% и 0,5%) в йогурт, полученный из обезжиренного молока. Было исследовано влияние добавления бета-глюканов на физико-химические свойства свежеприготовленного йогурта. Добавление бета-глюканов положительно повлияло на образование геля, что привело к уменьшению времени ферментации йогурта. Конечная точка pH 4,5 была достигнута на час раньше (за 4 часа) по сравнению с контрольным образцом (за 5 часов). Результаты показали не значительные изменения физико-химических свойств йогурта (титруемой кислотности, pH, вязкости и синерезиса). Полученные результаты показывают, что бета-глюканы можно использовать в качестве загустителя для обезжиренных йогуртов за счет сокращения периода ферментации и без существенного изменения органолептических характеристик. Результаты экспериментов показали значения гликемического индекса в диапазоне 28–30 для образцов йогурта с бета-глюканами. Соответственно, исследуемые йогурты относятся к категории пищевых продуктов с низким гликемическим индексом.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Исследование финансировалось Государственным проектом 20.80009.5107.10 «Personalized nutrition and smart technologies for my well-being», реализуемый Техническим Университетом Молдовы.

1. Introduction

Interest in beta-glucans is outlined and argued by biological activities, including anti-cancer [1,2], anti-inflammatory [3] and immunomodulatory [4,5] properties. Due to the specific physical properties of beta-glucan, such as water solubility, viscosity and gelling, they are increasingly used in the food industry.

The following products are well known as sources of beta-glucans, such as: rice, oats, beans, lentils, peas and others [6]. The content of beta-glucans varies in the range from 0.4 to 10% [7]. In recent years, microorganisms, especially yeasts, capable of synthesizing a complex of bioactive substances, including beta-glucans, which have an important role in the vital activity

FOR CITATION: Chirsanova, A.I., Boistean, A.V., Chiseliță, N., Siminiuc, R. (2021). Impact of yeast sediment beta-glucans on the quality indices of yoghurt. *Food systems*, 4(1), 12–18. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-12-18>

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Кирсанова, А.И., Боиштян, А.В., Киселица, Н., Симениук, Р. (2021). Влияние бета-глюканов из дрожжевого осадка на показатели качества йогурта. *Пищевые системы*, 4(1), 12–18. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-12-18>

of living organisms [8] and their obtaining from the point of view of economically, it is advantageous [9].

Based on the increased interest and the wide possibility of use, new sources of beta-glucans are in high demand today. Particular attention is paid to agri-food waste and by-products. In this context, the yeast sediment resulting from the production of wine can be valuable sources of beta-glucans [10]. At the same time, the wine industry has an essential role in the economy of our country, being one of the strategic branches, including:

- ❑ the Republic of Moldova is in the list of the top 10 wine producing and exporting countries in the world;
- ❑ wine exports represent 6.2% of the country's export revenues; At present, about 112 thousand ha of vineyards are registered, planted with over 50 varieties of grapes for wine (another 15 thousand hectares will bear fruit in two years);
- ❑ in the field of grape processing, manufacturing, storage and wholesale of wines, there are 187 enterprises, of which 22 also produce distillates (strong alcoholic beverages);
- ❑ the annual production is about 20.0 million decalitres (daL) of wine raw material and about 900 thousand daL / y of distillates;
- ❑ every fourth person from the rural area works in this sector – over 150 thousand people; exports to 68 countries around the world – Moldovan wine accounts for 2% of world wine volume.

It is worth mentioning that in 2019–94652 hl of yeast sediment waste from the manufacture of wines was reported by enterprises registered in the Wine Register of the Republic of Moldova [11].

Use of beta-glucans

Food production is a competitive industry and the manufacturer is always looking to develop new ingredients to reduce the cost of raw materials. In addition, consumers have become interested in “natural” and healthy foods, preferring foods with low cholesterol, calories and fat, but high in dietary fiber. beta-glucan has demonstrable advantages in improving the physical properties of food as a thickening and water retaining agent, it is

also a good emulsifying stabilizer and fat substitute [12]. In addition, beta-glucan is nutritionally dysfunctional in the human digestive tract and therefore functions as a non-caloric food [13]. Information about its functional and health-beneficial properties can lead to the development of new food applications.

It should be noted that on 25 April 2016, Leiber GmbH submitted an application to the competent authority of Ireland to increase the use and levels of use of beta-glucans in yeast as a novel food ingredient. In particular, the company requested that the use of yeast beta-glucans be extended to other categories and types of food and that the maximum daily doses for the use of yeast beta glucans be increased for food categories already authorized by Implementing Decision 2011/762 / EU. Regulation (EU) no. Regulation (EC) No 609/2013 of the European Parliament and of the Council lays down general requirements for the composition and information of foods for infants and young children, foods for special medical purposes and substitutes for a total diet for weight control. Those acts also project the beta-glucans in yeast. Therefore, beta-glucans should be authorized without prejudice to the provisions of those acts and any other applicable legislation in parallel with Regulation (EC) No 1234/2007. 258/97 (Table 1).

Research into the possibility of using beta-glucans as a supplement has grown in recent years. Thus, beta-blockers are used as a thickening agent for low-fat or low-fat yogurts [15,16], as a stabilizer for mayonnaise [17], as a supplement in meat products [18] and other uses are considered. in the food industry (for example: bakery and pastry products) [19].

On the other hand, yogurt is a healthy food product, widely consumed worldwide. Its popularity has made it possible to use it as a basis in the production of probiotic preparations. Based on the above, the beta-glucans in the residual yeasts from wine-making can be used as a supplement to obtain novel foods. The results of the research presented in this article had the following decisive arguments:

- ❑ the yeasts resulting from the production of wines can serve as a valuable source of beta glucans, at the same time they are accessible and in sufficient quantities;

Table 1

Authorized uses for beta-glucans in yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) [14]

Nr d/o	Food category	Maximum level of beta-glucans in yeast
1	Food supplements as defined in Directive 2002/46 / EC, with the exception of food supplements for infants and young children	1,275 g / day for children older than 12 years and the adult population in general 0.675 g / day for children under 12 years of age
2	Substitutes for a total weight control diet as defined in Regulation (EU) No 1095/2010. 609/2013	1,275 g / day
3	Beverages based on fruit juices and / or vegetable juices including concentrated and dehydrated juices	1,3 g/kg
4	Fruit flavored beverages	0,8 g/kg
5	Powdered preparation for cocoa-based beverages	38,3 g/kg (in powder form)
6	Cereal bars	6 g/kg
7	Breakfast cereals	15,3 g/kg
8	Breakfast cereals made from whole grains and high in fiber	1,5 g/kg
9	„Cookies”	2,2 g/kg
10	„Crackers”	6,7 g/kg
11	Milk based beverages	3,8 g/kg
12	Fermented dairy products	3,8 g/kg
13	Other drinks	0,8 g/kg (ready to drink)
14	Dehydrated milk / Milk powder	25,5 g/kg
15	Soups and mixes for soups	0,9 g/kg (ready for consumption) 1,8 g/kg (condensed) 6,3 g/kg (in powder form)
16	Chocolate and sweets	4 g/kg
17	Protein bars and protein powder	19,1 g/kg
18	Jam, marmalade and other spreads	11,3 g/kg

□ taking into account the properties of beta-glucans to form gel, to change the viscosity of products, etc., we consider it appropriate to add them to yogurt — a healthy food product, widely consumed, whose popularity has made it possible to use it as a basis in the production of probiotics.

The experimental study presented in this article reports on the influence of beta-glucans addition on the evolution of some physico-chemical parameters during milk fermentation.

2. Materials and methods

The yeast sediment obtained after the manufacture of Viorica wine (fruit of 2018) from the Department of Oenology and Chemistry of the Faculty of Food Technology of the Technical University of Moldova was used to obtain beta-glucans.

The determination of beta-glucan content was performed after a simplified process for extraction from yeasts [20], which consists of the following steps:

- homogenization of cellular biomass at 15000 rpm for 10 minutes;
- separation of cell walls by centrifugation at 3500 rpm for 10 minutes;
- treating the cell walls with 1N NaOH in a ratio of 1: 5, heating at 90 °C for 1 hour;
- treatment with 0.5N acetic acid (1: 5 ratio) at a temperature of 75±5 °C for 1 hour;
- centrifugation at 3500 rpm for 10 minutes at room temperature;
- washing the beta-glucan sediment twice with distilled water;
- drying of beta-glucans at 50±5 °C.

The determination of the total nitrogen, fat and ash content was performed using official AOAC methods [21]. The protein content was calculated by multiplying the total nitrogen by 6.25. The fat was determined by the Soxhlet extraction method. The ash was determined by incinerating the dry samples at 600 °C. Total carbohydrate was determined by the hydrolysis procedure [22]. Glucose was determined by the hydrolysis method and then measured with a glucose oxidase kit (Glucose-PAP method, Germany). Glycogen was determined using the enzyme amyloglucosidase from Sigma, St. Louis, MO, USA [23] and then measured with the glucose oxidase set. The beta-glucans content was calculated by subtracting the glucose obtained from glycogen from total glucose. The results are reported on a dry matter basis.

The yogurt was obtained in laboratory conditions, and for the preparation of samples used: skimmed cow's milk powder (GOST 10970–87), starter culture YO-MIX 207 LYO containing *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus delbrueckii ssp. Bulgaricus*, *Lactobacillus acid Bifidobacterium lactis* (VITAL PROBIOTIC YOGHURT), Danisco, Denmark and beta-glucan obtained from

residual yeasts after fermentation of the wine in a concentration of 0; 0,1%; 0,2%; 0,3%; 0,4% and 0,5%.

The determination of the titratable acidity was performed by titration and consists in neutralizing the acidic substances in milk with 0.1N NaOH (KOH) solution. By convention the titratable acidity is expressed in grams of lactic acid /100g product.

Determination of lactic acid was calculated from the relation: where: V — volume of 0.1 N NaOH solution used for titration, ml; m — mass of the analyzed sample, g; 0.9 — lactic acid conversion factor. The determination of the active acidity was performed at pH-meter pH-150MA.

The glycemic index of the tested samples was determined in vivo by monitoring the blood glucose level of the experiment participants until and after the consumption of the researched food products, according to ISO 26642: 2010 [24].

The statistical processing of the results was performed computerized using Excel, with the calculation of standard errors for the relative and average values of the significance threshold $p \leq 0.05$.

3. Results and discussion

3.1 Physico-chemical characteristics of yeast sediment

From the physico-chemical characteristics of the yeast sediment obtained after the manufacture of Viorica wine we notice that the carbohydrate content is 49.90 ± 0.51 , the raw protein is 32.59 ± 0.51 , and the ash is 9.21 ± 0.37 . The beta-glucan content was determined by two methods: the calculation method (29.92 ± 0.47) and the laboratory method (28.17 ± 0.32). Thus, in the Figure 2 we notice that the number of beta-glucans is quite close and does not show an essential difference between the two methods.

Next, beta glucans were incorporated into the milk mixture intended for making yogurt. The characteristics of the mixtures are presented below in Table 3.

3.2 Evolution of titratable acidity and active acidity during yogurt fermentation

The structure and rheological properties of fermented dairy products are influenced by a number of factors: milk quality, pH, nature of bacterial cultures, temperature, mechanical processing, fermentation time, presence of additives, etc.

At the same time, the titratable acidity and the pH of yogurt with the addition of beta-glucans have a great sensory importance. The evolution of titratable acidity and pH is correlated with the intensity of lactic fermentation. Thermostatization of the samples under study was performed at a temperature of + 42 °C. The evolution of titratable acidity expressed in% lactic acid in yogurt samples with the addition of beta-glucans obtained from residual yeasts from wine production is shown in the Figure 1.

Table 2

Physico-chemical characteristics of yeast sediment (mean ± SD)

Sample (yeast sediment)	Carbo hydrate (as glucose)	Beta-Glucans (by calculation)	Crude protein (TN×6.25)	Ash	Fat
Win Viorica	49,90±0,51	29,92±0,47	32,59±0,51	9,21 ±0,37	1,32±0,51

Table 3

Characteristic of the milk mixture intended for making yoghurt

Indices	M Control	IBG 0,1	IBG 0,2	IBG 0,3	IBG 0,4	IBG 0,5
beta-glucan content, %	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
Total dry matter, %	11,00	12,36	12,77	13,52	14,01	14,50
Titratable acidity, % lactic acid	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14	0,14
pH	6,23±0,10	6,24±0,20	6,30±0,10	6,32±0,15	6,35±0,11	6,35±0,10

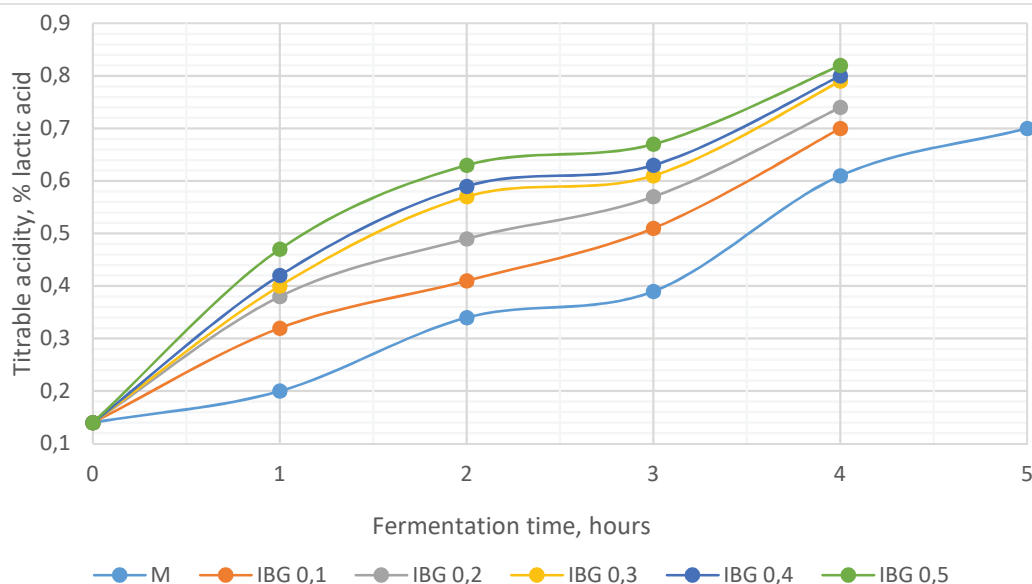


Figure 1. Evolution of titratable acidity (expressed in% lactic acid) during the fermentation period in yogurt samples with the addition of beta-glucans

During fermentation the reducing carbohydrates are fermented quickly as a result, lactic acid accumulates. This process promotes increased acidity. Lactose degradation begins after the addition of the starter culture and continues during the thermostating of the samples. It should be noted that in yogurt for sale the minimum acidity must be 0.6% lactic acid. This important moment is stipulated in the acts of the International Dairy Federation, and is also found in the Technical Regulations of the Republic of Moldova „Lapte și produse lactate” (Milk and Dairy Products). In the yogurt samples under study, at the end of the thermostating period, the recommended value is found in the recommended range. We mention that in the yogurt samples with beta-glucans, with the increase of the addition amount, the acidification of the milk proceeds faster than in the control sample, which leads to the decrease of the coagulation time. Thus, the end of coagulation in the case of yogurt samples with 0.2%, 0.3%, 0.4% and 1.5% of beta-glucans was set at 4 hours, and in the control sample and yogurt sample with 0, 1% beta-glucans — after 5 hours of fermentation in the Figure 2.

The evolution of pH is correlated with the intensity of lactose fermentation and the increase of titratable acidity, but it is also influenced by the buffer substances found in beta -glucans.

3.3 Viscosity and syneresis

The viscosity value of the yogurt samples varies from 1210 mPa·s in the case of yogurt without added beta-glucans to 11598 mPa·s in the case of the IBM 0.5 yogurt sample containing 0.5% beta-glucans. The addition of beta-glucans causes a slight increase in viscosity which does not differ significantly from the viscosity level of the yogurt control sample.

Syneresis is a complex physical and biochemical phenomenon, and is a thermodynamic property of gels that consists in reducing the volume of the gel, caused by the expulsion of a quantity of whey with the aging of yogurt. The intensity and depth of the yoghurt syneresis depends largely on the internal surface of the solid phase, the porosity (spaces occupied by whey) and the permeability of the gel [25]. The porosity of the gel depends on the size and association of the solid elements of the gel, and the permeability is dependent on the size of the solid elements, the shape and size of the pores. In clots formed by lactic acidification the pores have a micellar character [26]. In this case during the syneresis the clot contracts relatively slowly (absence of forces likely to create contracting forces), the porosity decreases continuously, but the permeability remains relatively high throughout the process due to the fact that the network consists of demineralized caseins. Supplementing yogurt with beta-glucans

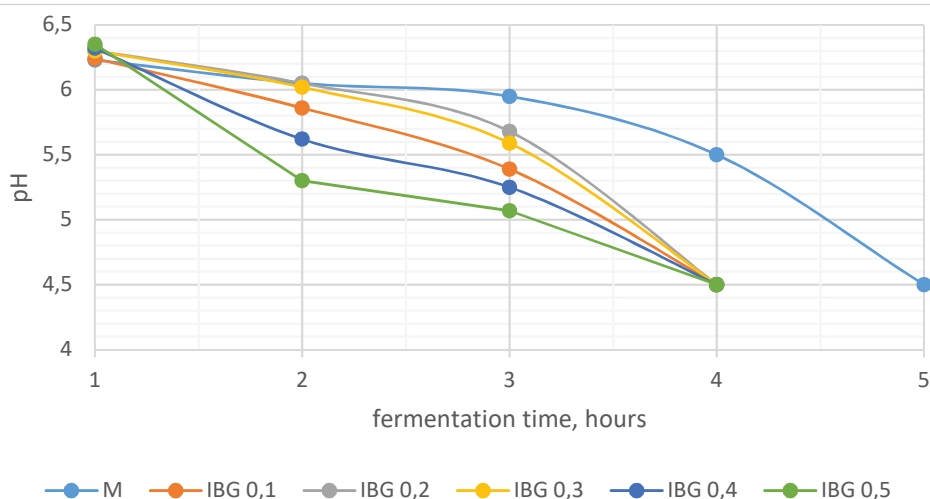


Figure 2. Evolution of pH during the fermentation period in yogurt samples with the addition of beta-glucans

changes both the structure of the network and the permeability of the curd and can affect the syneresis process. We notice that with the increase of the added amount of beta -glucans the syneresis of yogurt is slightly decreasing from 12.01 to 10.11 according to the Table 4.

Table 4

Synthesis, apparent viscosity of beta-glucan fortified yoghurts (mean $\pm$ SD)		
	Viscosity, mPa $\cdot$ s	Syneresis, %
M	1210 $\pm$ 0,3 ¹	12,01 $\pm$ 0,4 ¹
IBG 0,1	1542 $\pm$ 0,4 ¹	11, 86 $\pm$ 0,3 ¹
IBG 0,2	1558 $\pm$ 0,3 ¹	11, 74 $\pm$ 0,2 ¹
IBG 0,3	1566 $\pm$ 0,3 ¹	11,62 $\pm$ 0,3 ¹
IBM 0,4	1585 $\pm$ 0,2 ¹	10,09 $\pm$ 0,5 ¹
IBM 0,5	1598 $\pm$ 0,5 ¹	10,11 $\pm$ 0,4 ¹

¹ Means within a column with different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

Therefore, the addition of beta -glucans improves both the structure of the network and the permeability of the curd and reduces the process of synergism — moments appreciated in the production process in the dairy industry.

3.4 Sensory characteristics of yogurt

All yogurt samples were analyzed according to the main indices of organoleptic characteristics [27]: appearance, color and consistency, smell, shows in the Table 5.

It should be noted that the sensory characteristics of yogurt samples with the addition of beta-glucans in different amounts do not influence the smell of yogurts obtained. At the same time, the external appearance and consistency are changed in essentially: the consistency of the curd becomes firmer but still remains without gas bubbles, with poor elimination of whey.

3.5 Glycemic index

Reliable glycemic index tables compiled from the scientific literature are essential for improving the quality of research, examining the relationship between glycemic index, glycemic load and health. The glycemic index has proven to be a more useful nutritional concept than the chemical classification of carbohydrates, allowing new perspectives on the relationship between the physiological effects of carbohydrate-rich foods and health. Several studies have shown that chronic consumption of a diet with a high glycemic load is associated with an increased risk of developing type 2 diabetes, cardiovascular disease and certain types of cancer [28].

The experimental results showed that the glycemic index of the studied yogurts is in the range 28–30 (Figure 3) and are quite close.

Thus, according to international tables and recommendations in the field we can say that yogurts with added beta-glucans are assigned to the category of foods with low glycemic index and can be recommended in diets that reduce the risk of type 2 diabetes, cardiovascular disease and others [29].

4. Conclusions

Changing the technological properties of dairy products, such as yogurt, has gained considerable interest in the development of new products. The addition of beta -glucans accelerates the fermentation and coagulation process and reduces the duration of yogurt fermentation. The evolution of the pH in the fermentation of yogurt with the addition of beta -glucans is correlated with the intensity of lactose fermentation and the increase in titratable acidity, but it is also influenced by the buffers that are formed during manufacture.

Beta -glucans from yeast sediment obtained from the manufacture of local Viorica wine (harvest year 2018) are technologically promising ingredients. In addition, these natural ingredients attract attention due to their health-promoting properties. At the same time, it is necessary to perform microscopy by scanning the beta -glucan powders and studying the textural features of yogurt with the addition of beta -glucans.

Table 5

Sensory characteristics of yogurts with the addition of beta-glucans							
Nr. ord.	Yogurt Samples	M	IBG 0,1	IBG 0,2	IBG 0,3	IBG 0,4	IBG 0,5
Characteristics							
1	Exterior appearance and consistency	The curd with the right consistency, without gas bubbles, with poor removal of whey		Firm curd, gas bubble station and whey removal		The curd with a firm consistency, without gas bubbles, with poor whey elimination	
2	Smell	Specific flavor of yogurt, with specific characteristics of lactic fermentation					
3	Taste	Pleasant sour, specific flavor of yogurt		Pleasant sour, specific flavor of yogurt		Pleasant sour, weak yogurt flavor, weak gulceag	

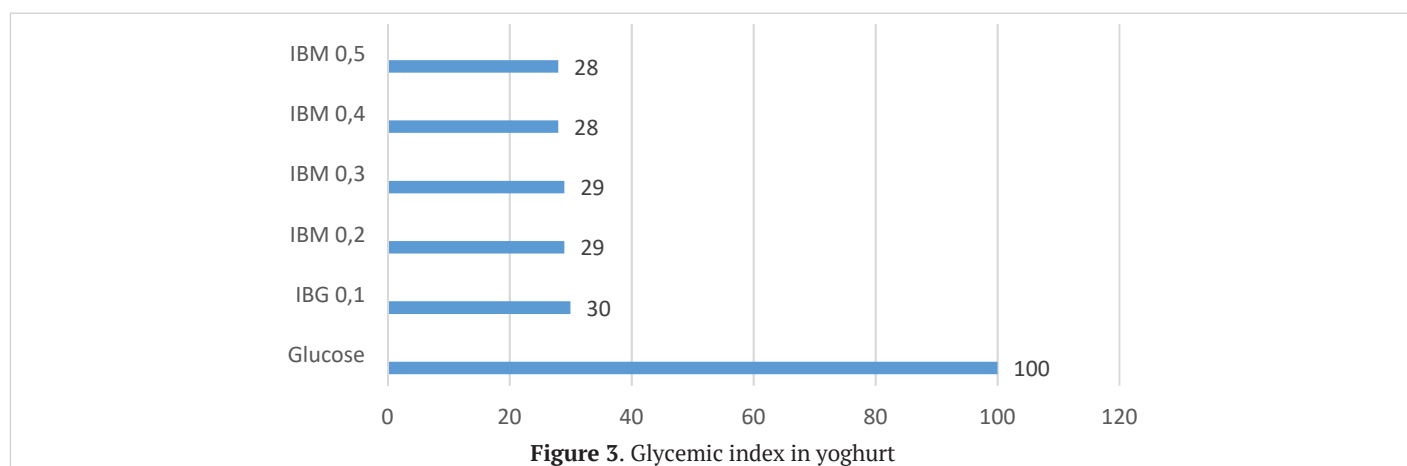


Figure 3. Glycemic index in yogurt

REFERENCES

- Chan, G. C., Chan, W. K., Sze, D. M. (2009). The effects of beta-glucan on human immune and cancer cells. *Journal of Hematology & Oncology*, 2, 25. <https://doi.org/10.1186/1756-8722-2-25>
- Ostroff, G.R., Easson, D.D., Jamas S. (1991). A new beta-glucan-based macrophage-targeted adjuvant. Chapter in a book: *Polymeric Drugs and Drug Delivery Systems*. Volume 469. Washington, (DC): American Chemical Society. 52–59.
- Aouadi, M., Tesz, G. J., Nicoloso, S. M., Wang, M., Chouinard, M., Soto, E. at al. (2009). Orally delivered siRNA targeting macrophage Map4k4 suppresses systemic inflammation. *Nature*, 458(7242), 1180–1184. <https://doi.org/10.1038/nature07774>
- Vetvicka, V., Vannucci, L., Sima, P., Richter, J. (2019). Beta glucan: Supplement or drug? from laboratory to clinical trials. *Molecules*, 24(7) <https://doi.org/10.3390/molecules24071251>
- De Smet, R., Demoor, T., Verschuere, S., Dullaers, M., Ostroff, G. R., Leclercq, G. at al. (2013). β -Glucan microparticles are good candidates for mucosal antigen delivery in oral vaccination. *Journal of Controlled Release*, 172(3), 671–678. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2013.09.007>
- Ahmad, A., Munir, B., Abrar, M., Bashir, S., Adnan, M., Tabassum, T. (2012). Perspective of β -Glucan as Functional Ingredient for Food Industry. *Journal of Nutrition Food Sciences*, 2, Article 133. <https://doi.org/10.4172/2155-9600.1000133>
- Ahmad, A., Ahmed, Z. (2016). Nutraceutical aspects of β -glucan with application in food products. Chapter in a book: *Nutraceuticals*. Elsevier. 2016, 387–425. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-804305-9.00011-7>
- Ulbricht, C. (2014). An evidence-based systematic review of beta-glucan by the natural standard research collaboration. *Journal of Dietary Supplements*, 11(4), 361–475. <https://doi.org/10.3109/09286586.2014.975066>
- Jin, Y., Li, P., Wang, F. (2018). β -Glucans as potential immunoadjuvants: A review on the adjuvanticity, structure-activity relationship and receptor recognition properties. *Vaccine*, 36(35), 5235–5244. <https://doi.org/10.1016/j.vaccine.2018.07.038>
- Usatii, A., Chiselița, N. (2016). Innovative Solutions for Cultivation of β -Glucan Producing Yeasts. *Intellectus*, 4, 77–80. (In Romanian)
- Report on the use of the funds of the vine and wine fund Retrieved from <http://madrm.gov.md/sites/default/files/Documente%20atasate%20Advance%20Pagines/Raport%20FVV-2017-2019-ONVV-MADRM.pdf> Accessed January 01, 2021. (In Romanian)
- Temelli, F. (1997). Extraction and functional properties of barley β -glucan as affected by temperature and pH. *Journal of Food Science*, 62(6), 1194–1197+1201. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1997.tb12242.x>
- Burkus, Z., Temelli, F. (2000). Stabilization of emulsions and foams using barley β -glucan. *Food Research International*, 33(1), 27–33. [https://doi.org/10.1016/S0963-9969\(00\)00020-X](https://doi.org/10.1016/S0963-9969(00)00020-X)
- Commission implementing decision (EU) 2017/2078 of 10 November 2017 authorising an extension of use of yeast beta-glucans as a novel food ingredient under Regulation (EC) No 258/97 of the European Parliament and of the Council. Retrieved from <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/PDF/?uri=CELEX:32017D2078&from=EN> Accessed January 01, 2021.
- Raikos, V., Grant, S. B., Hayes, H., Ranawana, V. (2018). Use of β -glucan from spent brewer's yeast as a thickener in skimmed yogurt: Physicochemical, textural, and structural properties related to sensory perception. *Journal of Dairy Science*, 101(7), 5821–5831. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14261>
- Cruz, A. G., Cadena, R. S., Castro, W. F., Esmerino, E. A., Rodrigues, J. B., Gaze, L. at al. (2013). Consumer perception of probiotic yogurt: Performance of check all that apply (CATA), projective mapping, sorting and intensity scale. *Food Research International*, 54(1), 601–610. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2013.07.056>
- Silva Araújo, V. B. D., Melo, A. N. F. D., Costa, A. G., Castro-Gomez, R. H., Madruga, M. S., Souza, E. L. D., Magnani, M. (2014). Followed extraction of β -glucan and mannoprotein from spent brewer's yeast (*saccharomyces uvarum*) and application of the obtained mannoprotein as a stabilizer in mayonnaise. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 23, 164–170. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2013.12.013>
- Apostu, P. M., Nicolau, A. I., Mihociu, T. E., Catană, L. (2017). Enzymatic quantification of β -glucan in a finely comminuted meat product system. *Food Analytical Methods*, 10(8), 2908–2912. <https://doi.org/10.1007/s12161-017-0856-8>
- Dhingra, D., Michael, M., Rajput, H., Patil, R. T. (2012). Dietary fibre in foods: A review. *Journal of Food Science and Technology*, 49(3), 255–266. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0365-5>
- Usatii, A., Chiselița, N. (2015). Methods for extracting β -glucans from yeasts and their physicochemical properties. *Bulletin of the Academy of Sciences of Moldova. Life sciences*, 1(325), 153–160 (In Romanian)
- AOAC. (1990). *Official Methods of Analysis*, 15th edn. Methods 955.04, 920.39, 942.05. Arlington VA: Association of Official Analytical Chemists.
- Dallies, N., François, J., Paquet, V. (1998). A new method for quantitative determination of polysaccharides in the yeast cell wall. application to the cell wall defective mutants of *saccharomyces cerevisiae*. *Yeast*, 14(14), 1297–1306. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0061\(199810\)14:14<1297::AID-YEA310>3.0.CO;2-L](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0061(199810)14:14<1297::AID-YEA310>3.0.CO;2-L)
- Parrou, J. L., François, J. (1997). A simplified procedure for a rapid and reliable assay of both glycogen and trehalose in whole yeast cells. *Analytical Biochemistry*, 248(1), 186–188. <https://doi.org/10.1006/abio.1997.2138>
- ISO 26642:2010 “Food products — Determination of the glycaemic index (GI) and recommendation for food classification”. Technical Committee: ISO/TC34 Food products. 2010. — 18 p
- Dönmez, Ö., Mogol, B. A., Gökmen, V. (2017). Syneresis and rheological behaviors of set yogurt containing green tea and green coffee powders. *Journal of Dairy Science*, 100(2), 901–907. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11262>
- Coggins, P. C., Rowe, D. E., Wilson, J. C., Kumari, S. (2010). Storage and temperature effects on appearance and textural characteristics of conventional milk yogurt. *Journal of Sensory Studies*, 25(4), 549–576. <https://doi.org/10.1111/j.1745-459X.2010.00286.x>
- Government decision no.611, of 05.07.2010, Annex 1, to the technical regulation «Milk and dairy products» Retrieved from https://www.legis.md/cautare/getResults?doc_id=22246&lang=ro Accessed January 01, 2021. (In Romanian)
- Chen, M., Sun, Q., Giovannucci, E., Mozaffarian, D., Manson, J. A. E., Willett, W. C., & Hu, F. B. (2014). Dairy consumption and risk of type 2 diabetes: 3 cohorts of US adults and an updated meta-analysis. *BMC Medicine*, 12(1) <https://doi.org/10.1186/s12916-014-0215-1>
- Foster-Powell, K., Holt, S. H. A., Brand-Miller, J. C. (2002). International table of glycaemic index and glycaemic load values: 2002. *American Journal of Clinical Nutrition*, 76(1), 5–56. <https://doi.org/10.1093/ajcn/76.1.5>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Кирсанова Аурика Ивановна — доктор биологических наук, доцент, Заведующий Департаментом Пищевых продуктов и Питания, Технический Университет Молдовы Республика Молдова, Кишинев, бул. Штефан чел Маре, 168 Тел.: +373-79-770-751 E-mail: aurica.chirsanova@toap.utm.md ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1172-9900 * автор для контактов	Aurica Chirsanova — doctor of microbiology sciences, docent, Head of Department of Food and Nutrition, Technical University of Moldova 168, Stefan cel Mare Bd., Chisinau, Republic of Moldova Tel.: +373-79-770-751 E-mail: aurica.chirsanova@toap.utm.md ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1172-9900 * corresponding author
Боистян Алина Вячеславовна — кандидат технических наук, доцент, Кафедра пищевых продуктов и питания, Технический Университет Молдовы Республика Молдова, Кишинев, бул. Штефан чел Маре, 168 Тел.: +373-69-081-217 E-mail: alina.boistean@toap.utm.md ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5374-5853 * автор для контактов	Alina Boistean — candidate of technical sciences, docent, Department of Food and Nutrition, Technical University of Moldova 168, Stefan cel Mare Bd., Chisinau, Republic of Moldova Tel.: +373-69-081-217 E-mail: alina.boistean@toap.utm.md ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5374-5853
Киселица Наталья Николаевна — доктор биологических наук, доцент, Лаборатория Биотехнология дрожжей, Институт Микробиологии и биотехнологии академии наук Республики Молдова Республика Молдова, Кишинев, ул. Академическая, 1 Тел.: +373-68-019-119 E-mail: chiselita.natalia@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6943-8129	Natalia Chiselita — doctor of microbiology sciences, docent, Yeast Biotechnology Laboratory, Institute of Microbiology and biotechnology of the Academy of Sciences of Moldova 1, Academy Street, Chisinau, Republic of Moldova Tel.: +373-68-019-119 E-mail: chiselita.natalia@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6943-8129
Симиниук Родика Ивановна — доктор, доцент, Кафедра пищевых продуктов и питания, Технический Университет Молдовы Республика Молдова, Кишинев, бул. Штефан чел Маре, 168 Тел.: +373-69-579-120 E-mail: rodica.siminiuc@adm.utm.md ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4257-1840	Rodica Siminiuc — doctor, docent, Department of Food and Nutrition, Head of doctoral and postdoctoral department, Technical University of Moldova 168, Stefan cel Mare Bd., Chisinau, Republic of Moldova Tel.: +373-69-579-120 E-mail: rodica.siminiuc@adm.utm.md ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4257-1840
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат	Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов	The authors declare no conflict of interest
Поступила 06.01.2021	Received 06.01.2021
Поступила после рецензирования 17.02.2021	Accepted in revised 17.02.2021
Принята в печать 25.03.2021	Accepted for publication 25.03.2021

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-19-25><https://www.fsjour.com/jour>

Обзорная статья

ПОТЕНЦИАЛ ПРИМЕНЕНИЯ ДНК-ТЕХНОЛОГИЙ В ПИВОВАРЕННОЙ ОТРАСЛИ

Лазарева Е. Г.^{1*}, Гильманов Х. Х.¹, Бигаева А. И.¹, Тюлькин С. В.¹, Вафин Р. Р.²¹ Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук, Москва, Россия² Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности — филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

пиво, ячмень, маркер, ДНК, идентификация, ПЦР, контроль производства

АННОТАЦИЯ

Представлен анализ литературных данных по проведению исследований, касающихся применения ДНК-технологий в рамках пивоваренной отрасли. Значительную актуальность среди них имеют работы по борьбе с широко распространенной фальсификацией пищевой продукции, в том числе алкогольной. Классические методы оценки качества и безопасности пива не позволяют выявить подмену заявленного производителем сырья — одного из широкомасштабных направлений фальсификации. Следовательно, актуальным является вопрос о применении новых подходов к оценке подлинности пивоваренной продукции. В частности, наиболее полно позволяют идентифицировать фальсификации в алкогольной промышленности молекулярно-генетические методы анализа. В данной статье рассмотрены методы экстракции нуклеиновых кислот, а также маркеры, используемые в качестве генетических мишеней в рамках ДНК-аутентификации алкогольной продукции. Проанализированный материал указывает на возможность применения молекулярно-генетических методов, основанных на полимеразной цепной реакции, в качестве современных лабораторных инструментов определения подлинности выпускаемых товаров. Кроме того, выявлен потенциал применения ДНК-технологий в борьбе с контаминацией отраслевых предприятий.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по Государственному заданию № 0437–2019–0001 Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук.

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

Review article

POTENTIAL FOR THE APPLICATION OF DNA TECHNOLOGIES IN THE BREWING INDUSTRY

Ekaterina G. Lazareva^{1*}, Khamid Kh. Gilmanov¹, Alana V. Bigaeva¹, Sergey V. Tulykin¹, Ramil R. Vafin²¹ V.M. Gorbato Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia² All-Russian Scientific Research Institute of the Brewing, Non-Alcoholic and Wine Industry — Branch of the V. M. Gorbato Federal Research Center for Food Systems of RAS, Moscow, Russia

KEY WORDS:

beer, barley, marker, DNA, identification, PCR, control of production

ABSTRACT

The article presents an analysis of the literature data on research related to the use of DNA technologies in the brewing industry. Significant relevance among them is the work on combating widespread falsification of food products, including alcohol. Classical methods of assessing the quality and safety of beer do not allow us to identify the substitution of raw materials declared by the manufacturer — one of the large-scale areas of falsification. Therefore, the question of applying new approaches to the assessment of the authenticity of brewing products is relevant. In particular, the most complete identification of falsifications in the alcohol industry is made by molecular genetic analysis methods. This article discusses the methods of extraction of nucleic acids, as well as markers used as genetic targets in the DNA authentication of alcoholic beverages. The analyzed material indicates the possibility of using molecular genetic methods based on the polymerase chain reaction as modern laboratory tools for determining the authenticity of manufactured goods. In addition, the potential of using DNA technologies in the fight against contamination of industrial enterprises has been identified.

FUNDING: The article was published as part of the research topic No.0437–2019–0001 of the state assignment of the V. M. Gorbato Federal Research Center for Food Systems of RAS.

1. Introduction

Алкогольная промышленность имеет большое значение для экономики большинства государств мира. Значительный объем выпускаемой продукции приходится на пивоваренную отрасль [1,2,3].

Пивоварение является сложным биохимическим процессом [4]. В результате ферментативных и физико-химических реакций получается продукт, который должен обладать

определенными показателями качества и безопасности [5,6].

Производство пива от ячменя до готового напитка интенсивно развивается, внедряются новые техники и технологии, а также появляются новые способы фальсификации пенных напитков. Следовательно, сохраняется потребность в новых методах определения подлинности продуктов данной категории.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Лазарева, Е.Г., Гильманов, Х.Х., Бигаева, А.И., Тюлькин, С.В., Вафин, Р.Р. (2021). Потенциал применения ДНК-технологий в пивоваренной отрасли. *Пищевые системы*, 4(1), 19–25. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-19-25>

FOR CITATION: Lazareva, E.G., Gilmanov, Kh. Kh., Bigaeva, A.V., Tulykin, S.V., Vafin, R.R. (2021). Potential for the application of DNA technologies in the brewing industry. *Food systems*, 4(1), 19–25. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-19-25>

Фальсификация пивоваренной продукции возможна практически на любом этапе производства: от приготовления затора до хранения и транспортировки готового пива. Выделяют следующие способы фальсификации:

- ❑ разбавление водой;
- ❑ полная замена пива подкрашенными растворами;
- ❑ применение в процессе производства значительных объемов несоложенных материалов;
- ❑ использование некачественного соложенного сырья;
- ❑ нарушение технологических режимов;
- ❑ внесение специальных пенообразователей, не допустимых в производстве пива и т. д.

Распознать фальсификаты можно при помощи органолептического и физико-химического анализов (сенсорный анализ, определение кислотности продукта, углеводного и аминокислотного состава и пр.) [6,7,8,9].

Однако широко распространенные методы оценки качества и безопасности пива не располагают потенциалом распознавания некоторых методов фальсификации [10]. Так жидкостная и газовая хроматография, спектрофотометрия позволяют эффективно и быстро оценить показатели безопасности пива, но не используются широко для определения подлинности заявленного сырья. Соответственно, актуальным является расширение области оценочных критериев современными методами определения подлинности пивоваренной продукции, в частности, технологиями ДНК-аутентификации [11,12].

ДНК-аутентификация алкогольной продукции — процесс проверки подлинности готового напитка посредством идентификации основного растительного ингредиента при помощи молекулярно-генетического анализа остаточных нуклеиновых кислот, экстрагируемых из клеточного дебриса продукта [13].

Данная статья посвящена анализу работ по таким направлениям, как экстракция нуклеиновых кислот из растительных компонентов пива, поиск и подбор мишеней для ДНК-аутентификации продукта, оценка потенциала применимости молекулярно-генетических технологий для выявления фальсификатов пивоваренной продукции и для повышения стабильности и чистоты производства.

2. Main part

Последовательность выделения нуклеиновых кислот из пива представлена на Рисунке 1 и является модификацией

метода экстракции ДНК из вина [14,15], включающей следующие основные этапы:

- ❑ ступенчатый ферментативный гидролиз лиофилизата;
- ❑ многократный процесс седиментации и ресуспендирования нуклеопротеидного комплекса;
- ❑ этап удаления рибонуклеиновых кислот с последующей экстракцией ДНК с применением органических растворителей;
- ❑ дополнительный этап удаления посторонних примесей из ДНК при помощи магнитных частиц.

Маркеры для геноидентификации компонентов пива

Основными ингредиентами пива являются ячмень или произведенные из него солод, хмель и дрожжи [16], фрагментарный анализ амплифицированных ПЦР-продуктов которых лежит в основе апробируемых методов ДНК-анализа [17].

При этом молекулярные маркеры, используемые при генотипировании и паспортизации сельскохозяйственных растений [18,19], могут быть применены как при оценке подлинности, так и места происхождения пищевых систем. Ряд генетических мишеней, используемых в качестве молекулярных маркеров для геноидентификации сортов пивоваренного ячменя, может быть использован и в целях ДНК-аутентификации коммерческого пива [20]. В частности, различают следующие мишени растительных компонентов, у которых по результатам проведенных анализов не выявлено корреляционной связи с показателями качества пива:

- ❑ полигалактуроназа — фермент, осуществляющий гидролитическое расщепление α -1,4-гликозидных связей в пектинах [21]; в качестве ДНК-мишеней для идентификации и дифференциации образцов пива применим локус гена *HvPG1*;
- ❑ гордеины — полиморфные белки зерна ячменя, кодируемые 7 локусами *HrdA-G*, локализованными в коротком плече 5-й хромосомы *Hordeum vulgare*; являются приоритетными мишенями для молекулярно-генетического анализа качества ячменя [22, 23];
- ❑ амилоза в сорте *ваху*-ячменя — один из основных полисахаридов, составляющий крахмал. Праймеры, подобранные для амплификации *Ваху*-локуса обладают статусом положительного контроля ввиду генерации специфичного ПЦР-продукта во всех тестируемых образцах ячменя и пива [24];



- α -амилаза — фермент, активирующийся в процессе соложения [25]. Праймеры, разработанные на основании нуклеотидной последовательности локуса гена, кодирующего α -амилазу, инициируют амплификацию ПЦР-продукта у большинства исследованных сортов ячменя и образцов пива;
- (1–3, 1–4) β -D-глюкан — полисахарид, определяющий твердость зерна ячменя [26]. Процедура амплификации локуса гена *HvCslF6* с определенной парой праймеров приводит к наработке специфического ПЦР-продукта у ряда американских, австралийских и японских сортов пивоваренного ячменя.
Генетическими мишенями, имеющими корреляционную связь с показателями качества пива, являются:
- протеины Z ячменя (Z4 и Z7) — основные белки пива, проявляющие корреляционную связь с показателями качества пива, в частности, со стабильностью пены [27];
- липоксигеназа — железосодержащий фермент, катализирующий реакцию диоксигенации к полиненасыщенным жирным кислотам [28]. Сорта ячменя с пониженной или утраченной активностью генов *LOX* оказывают положительное влияние на такие показатели качества, как вкус пива и стабильность пены;
- белковые ингибиторы протеолитических ферментов — участники формирования гомеостатических реакций у растений. Подобранные к локусу гена ингибитора трипсина (*Itr1*) праймеры приводят к амплификации специфического ПЦР-продукта у ряда сортов ячменя и образцов пива.
Генетические мишени, описанные выше, и используемые в качестве молекулярных маркеров для геноидентификации сортов пивоваренного ячменя и ДНК-аутентификации пива представлены в Таблице 1 [14].

Таблица 1

Генетические мишени, используемые в качестве молекулярных маркеров для геноидентификации сортов пивоваренного ячменя и ДНК-аутентификации пива

Мишень	Последовательность праймеров (5'-3')
<i>HvPG1</i> F	GACAGAATGGCGTTCAAGAACAT
<i>HvPG1</i> R	AGCAAGTTGCCTTCCAGCTTGAT
<i>HrdA</i> F	agatagcggtttgaaggtcac
<i>HrdA</i> R	tagacctgaataatttcca
<i>HrdB</i> F	TCACACATAAGGTTGTGTGAC
<i>HrdB</i> R	CAAGCTTTCCACACAACCA
<i>HrdC</i> F	AATTAAACAAGTAGTTTCGGGTGG
<i>HrdC</i> R	caagctttcccaacaaccaccat
<i>waxy</i> F	CAATTCATCCGATCACTCAATCAT
<i>waxy</i> R	CAGGCCGACAAGGTGCTG
<i>Xlms</i> F	GGTACAACGTCGCGTCGG
<i>Xlms</i> R	CGTGTACCAGACGGTCCAGATACAGC
<i>PrtnZ4</i> F	GAGACGTGTAGTAATCTTCG
<i>PrtnZ4</i> R	GCGAGCACAAATTGCACCACC

Широкое распространение получили микросателлиты — молекулярные маркеры, пригодные для идентификации *Hordeum vulgare* [29], представленные в Таблице 2 [30, 31].

Наряду с SSR-маркерами, высокой идентификационной способностью обладают SNP-маркеры, используемые для геноидентификации сортовой принадлежности ячменя, в том числе пивоваренного (Таблица 3) [32,33,34].

Таблица 2

SSR-маркеры ядерной ДНК *Hordeum vulgare*, используемые для геноидентификации сортов пивоваренного ячменя, потенциально пригодные и для ДНК-аутентификации пива

№ п.п.	SSR-маркер	Последовательность праймеров (5/-3/)	Кол-во аллелей	Источник
1	<i>Bmac 0040</i> F	AGCCCGATCAGATTTACG	6	
	<i>Bmac 0040</i> R	TTCTCCCTTTGGTCCTTG		
2	<i>Bmag 0125</i> F	AATTAGCGAGAACAAAATCAC	5	
	<i>Bmag 0125</i> R	AGATAACGATGCACCACC		
3	<i>Bmac 0134</i> F	CCAACTGAGTCGATCTCG	5	[30]
	<i>Bmac 0134</i> R	CTTCGTTGCTTCTCTACCTT		
4	<i>Bmag 0211</i> F	ATTTCATCGATCTTGTAATAGTCC	4	
	<i>Bmag 0211</i> R	ACATCATGTGCGATCAAAAGC		
5	<i>Bmag 0222</i> F	ATGCTACTCTGGAGTGGAGTA	7	
	<i>Bmag 0222</i> R	GACCTTCAACTTTGCTTATA		
6	<i>Bmag0125</i> F	AATTAGCGAGAACAAAATCAC	2	
	<i>Bmag0125</i> R	AGATAACGATGCACCACC		
7	<i>Bmag0321</i> F	ATTATCTCTCGCAACAACCTA	3	
	<i>Bmag0321</i> R	CTCCGGAACACGACAAG		
8	<i>Bmag0727</i> F	AACTATGTCCAGTCGTTTCC	5	
	<i>Bmag0727</i> R	CTTGTCGTATCATCTTATTCAGA-		
9	<i>Bmag0808</i> F	TCATAGACTACGACGAAGATG	5	[31]
	<i>Bmag0808</i> R	TCTTTGGATGTGTGTTACTG		
10	<i>Bmag0872</i> F	TCATAGACTACGACGAAGATG	3	
	<i>Bmag0872</i> R	TCTTTGGATGTGTGTTACTG		
11	<i>EBmac0871</i> F	TGCCTCTGTTGTGTTATTGT	2	
	<i>EBmac0871</i> R	CCCCAAGTGAACATTGAC		
12	<i>EBmac0003</i> F	AATTTTGCAAAGCTGGAGG	1	
	<i>EBmac0003</i> R	CATTATGGTGGGGTTTCATGT		

Таблица 3

SNP-маркеры ядерной ДНК *Hordeum vulgare*, используемые для геноидентификации сортов ячменя, потенциально пригодные и для ДНК-аутентификации пива

№ п.п.	Олигонуклеотиды	Последовательность праймеров (5/-3/)
1	MWG2062 (325 A-G) (outer primer)	F: GTTGTGTCAAGCATATCGGTTGCTCTT R: CAGCACGTTCCGAAAACAATAGGATCC
	MWG2062 (325 A-G) (inner primer)	F: AAGAATATGCCAATTATTTGGCGTGTCA R: CACACTGCATGTCATCAACAAGCAC
2	ABC465b (254 C-T) (outer primer)	F: CAGGTACACCTGGAAGCTCTACTCAGAG R: CAGCAGCCTGAATTCAACAAAACATAC
	ABC465 (254 C-T) (inner primer)	F: TGGAGATGTTCTACGCTCTCAAGTACAGT R: CTGTTGGTCAGATAACCTACCAGGATG
3	MWG2218 (175 G-C) (outer primer)	F: CTCTCCGACATCGACCGCTTCTCTTCG R: GCCGCATCATCCCTGGTGTATCATCCT
	MWG2218 (175 G-C) (inner primer)	F: GGGGACGTCATCCACGTCTGTGCGACC R: GTTCCCGCGGTGGGCTTTGTTTCCTC
4	MWG801 (344 G-A) (outer primer)	F: CAACAACCCCAATACCAGGCCAGCTCCACA R: AACCTCGACTGCTCAAGGCAGAGCCGC
	MWG801 (344 G-A) (inner primer)	F: GAAGCATGCTCGACGACCCCATCC R: CGGCAGCGGAGGGGAAGGGGAGCAGT

Их потенциал в качестве ДНК-маркеров программ селекции по улучшению качества ячменя для пивоварения раскрывается также в работе авторов [35], в которой объектами исследования стали 10 уникальных гаплотипов на основе 56 вариаций гена *HvXYN1* в выборке из 210 образцов ячменя из 34 стран. Проведенное исследование показало достоверную связь 7 SNP-маркеров и 7 гаплотипов с активностью фермента эндо-1,4-β-ксилазы и общим содержанием арабиноксилана в зерне.

Обнаружение заменителей пивоваренного ячменя в пиве, нередко используемых в качестве более дешевого источника крахмала, позволяет оценить реализуемую продукцию на предмет качественной, количественной, информационной и комплексной фальсификации. Последовательности праймеров, нацеленные на генетические мишени, используемые при обнаружении заменителей пивоваренного ячменя в пиве, такие как гранул-связанная синтаза крахмала (GBSS) риса, β-конглицинин сои и зеин кукурузы, представлены в Таблице 4. При этом другие ПЦР-системы, разработанные для идентификации злаковых культур в продуктах питания, также могут быть пригодны при ДНК-аутентификации пива [36,37,38].

Таблица 4

Генетические мишени, используемые при обнаружении заменителей пивоваренного ячменя и идентификации хмеля и дрожжей в пиве

Мишень	Последовательность праймеров (5/-3/)
GBSS F	GGATGAAGGCCGAATCCTG
GBSS R	CTTGCCCGGATCTTCTCTCT
B-conglycinin F	TTTGGAATGCTTACTGGGAAAAGAG
B-conglycinin R	TCTGTAGGAGTCTCTGTCGTCGTTG
Zein F	CACATGTGTAAGGTGAAGCGAT
Zein R	GCTCGCCGAAGCGCTTGTG
Hop-a F	GGAACCGTTGCCTAATCCTAAGATT
Hop-a R	GTGTTTTCCGTATCTACGCGCTGGG
Hop-b F	AATTAGGGCATGCCATGAATATT
Hop-b R:	TGGCATAGTTAAATATTTCTG
Yeast-a F	GTTTTGCGCTCATTAACCTAGTGGGAG
Yeast-a R	GTCATTTTTTTAGTGGTGTAATC

Пивоваренное производство относится к областям с высокими требованиями к санитарному состоянию, напитки представляют собой хорошую среду для развития микро-

организмов, поэтому на предприятиях должен осуществляться систематический микробиологический контроль.

Классические методы микробиологического мониторинга длительны по времени. Поэтому определенным потенциалом обладает внедрение высокоэффективных и экспрессных методов ДНК-контроля, кроме всего прочего предоставляющих глубокое понимание производственной проблемы.

Так, анализ наиболее распространенного контаминанта пивоваренного производства — *Lactobacillus brevis*, способного пребывать в жизнеспособном, но не культивируемом состоянии (VBNC — viable but nonculturable) показал: выделенный из образца готового пива, секвенированный геном *L. Brevis BM-LB13908* содержит ген устойчивости к компонентам хмеля *HorA* и несколько генов, ассоциированных с формированием состояния VBNC [39]. Что позволяет ему выживать при неблагоприятных условиях среды и приводить к порче пива с изменениями кислотности и/или мутности, ухудшению органолептических показателей продукта и экономическим потерям.

Разработанный авторами [40] подход к экстракции ДНК и постановке ПЦР в реальном времени позволяет обнаруживать морфологически схожий с пивными дрожжами загрязнитель *S. Cerevisiaevar. diastaticus* в коллекции дрожжевых культур на производстве при минимально низких концентрациях.

Авторами [41] с помощью ДНК-методов был подробно исследован потенциальный вредитель для пивоваренного производства — *Lactobacillus rossiae*, который был идентифицирован в 1,52% всех случаев выявления молочнокислых микроорганизмов. Было выявлено, что присутствие гена *hor* установило корреляцию с возможностью роста изолятов на пшеничном пиве, тогда как присутствие гена *hitA* показывало обратный эффект. Получаемые в ходе таких исследований данные крайне важны для разработки методов быстрого определения порчи пива.

3. Выводы

Анализ методов экстракции остаточной ДНК из готовой продукции, а также системы молекулярно-генетического маркирования сырьевых растительных компонентов и их заменителей, указывает на актуальность и перспективность использования ДНК-аутентификации в качестве метода определения подлинности алкогольных напитков с целью интенсификации борьбы с фальсификатами в отрасли. В тоже время ДНК-технологии позволяют быстро и эффективно бороться с микробиологической контаминацией на производстве.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Clements, K. W., Lan, Y., Liu, H. (2020). Understanding alcohol consumption across countries. *Applied Economics*, 52(40), 4421–4439. <https://doi.org/10.1080/00036846.2020.1735621>
- Anderson, K., Meloni, G., Swinnen, J. (2018). Global alcohol markets: Evolving consumption patterns, regulations, and industrial organizations. *Annual Review of Resource Economics*, 10, 105–132. <https://doi.org/10.1146/annurev-resource-100517-023331>
- Обзор российского рынка алкогольной продукции. Электронный ресурс <https://ac.gov.ru/uploads/2-Publications/alcogol/al%D1%81o.2020.4.pdf> Дата доступа 6 февраля 2021 г.
- De Keukeleir, D. (2000). Fundamentals of beer and hop chemistry. *Quimica Nova*, 23(1), 108–112. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422000000100019>
- Bokulich, N. A., Bamforth, C. W. (2013). The microbiology of malting and brewing. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 77(2), 157–172. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00060-12>
- Lachenmeier, D.W., Rehm, J. (2012). Is there a relationship between alcohol quality and health? *Alcohol and Alcoholism*, 48(1), 127–129. <https://doi.org/10.1093/alcac/ags101>
- Оганесянц, Л.А., Хуршудян, С.А., Галстян, А.Г. (2018). Мониторинг качества пищевых продуктов — базовый элемент стратегии. Food quality monitoring as the basic strategic element. *Контроль качества продукции*, 4, 56–59. (In Russian)
- Lachenmeier, D. W., Frank, W., Humpfer, E., Schäfer, H., Keller, S., Mörtter, M., Spraul, M. (2005). Quality control of beer using high-resolution nuclear magnetic resonance spectroscopy and multivariate analysis. *European Food Research and Technology*, 220(2), 215–221. <https://doi.org/10.1007/s00217-004-1070-7>
- Pokrivčák, J., Supeková, S. C., Lančarič, D., Savov, R., Tóth, M., Vašina, R. (2019). Development of beer industry and craft beer expansion. *Journal of Food and Nutrition Research*, 58(1), 63–74.
- Duarte, I., Barros, A., Belton, P. S., Righelato, R., Spraul, M., Humpfer, E., Gil, A. M. (2002). High-resolution nuclear magnetic resonance spectroscopy and multivariate analysis for the characterization of beer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(9), 2475–2481. <https://doi.org/10.1021/jf011345j>
- Fernández, M. E., Figueiras, A. M., Benito, C. (2002). The use of ISSR and RAPD markers for detecting DNA polymorphism, genotype identification

- and genetic diversity among barley cultivars with known origin. *Theoretical and Applied Genetics*, 104(5), 845–851. <https://doi.org/10.1007/s00122-001-0848-2>
12. Rapacz, M., Stepień, A., Skorupa, K. (2012). Internal standards for quantitative RT-PCR studies of gene expression under drought treatment in barley (*Hordeum vulgare* L.): The effects of developmental stage and leaf age. *Acta Physiologiae Plantarum*, 34(5), 1723–1733. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-0967-1>
 13. Oganessyants, L. A., Vafin, R. R., Galstyan, A. G., Semipyatniy, V. K., Khurshudyan, S. A., Ryabova, A. E. (2018). Prospects for DNA authentication in wine production monitoring. *Foods and Raw Materials*, 6(2), 438–448. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2018-2-438-448>
 14. Nakamura, S., Tsushima, R., Ohtsubo, K. (2013). A novel method for the preparation of template DNA for PCR from beer to detect materials and to develop DNA markers to evaluate the quality of beer. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 77(4), 820–831. <https://doi.org/10.1271/bbb.120969>
 15. Nakamura, S., Haraguchi, K., Mitani, N., Ohtsubo, K. (2007). Novel preparation method of template DNAs from wine for PCR to differentiate grape (*Vitis vinifera* L.) cultivar. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(25), 10388–10395. <https://doi.org/10.1021/jf072407u>
 16. Baxter, E. D., Hughes, P. S. (2001). An overview of the malting and brewing processes. Chapter in a book: *Beer Quality, Safety and Nutritional Aspects*. RSC: Cambridge, U.K., 2001. 1–13.
 17. Bamforth, C.W. (2006). *Scientific Principles of Malting and Brewing*. American Society of Brewing Chemists: MN, USA, 2006.
 18. Абдуллина, И.Р., Вафин, Р.Р., Зайнуллин, Л.И., Алимова, Ф.К. (2012). Выявление аллельного варианта Wx-A1G Waxy-гена у генотипов яровой пшеницы отечественной селекции. *Ученые записки Казанского Университета. Серия: естественные науки*, 154(4), 158–163.
 19. Абдуллина, И.Р., Вафин, Р.Р., Ржанова, И.В., Гараева, А.Л., Асхадуллин, Д.Ф., Асхадуллин, Д.Ф. и др. (2013). Молекулярная идентификация генотипов яровой пшеницы по аллельным вариантам Waxy-генов. *Фундаментальные исследования*, 1–1, 13–17.
 20. Yamaguchi, O., Baba, T., Furusho, M. (1998). Relationship between genotype of hordein and malting quality in Japanese barley. *Breeding Science*, 48(3), 309–314. <https://doi.org/10.1270/jsbbs1951.48.309>
 21. Pulido, A., Bakos, F., Devic, M., Barnabás, B., Olmedilla, A. (2009). HvPG1 and ECA1: Two genes activated transcriptionally in the transition of barley microspores from the gametophytic to the embryogenic pathway. *Plant Cell Reports*, 28(4), 551–559. <https://doi.org/10.1007/s00299-008-0662-2>
 22. Pomortsev, A.A., Lialina, E.V., Martynov, S.P. (2008). Polymorphism of hordei-coding loci in near eastern local populations of cultivated barley (*Hordeum vulgare* L.). *Russian journal of genetics*, 44(6), 709–721. <https://doi.org/10.1134/S1022795408060112>
 23. Lyalina, E.V., Boldyrev, S.V., Pomortsev, A.A. (2016). Current state of the genetic polymorphism in spring barley (*Hordeum vulgare* L.) from Russia assessed by the alleles of hordein-coding loci. *Russian journal of genetics*, 52(6), 565–577. <https://doi.org/10.1134/S1022795416060077>
 24. Washington, J.M., Box, A., Barr, A.R. (2000, 22–27 October). *Developing waxy barley cultivars for food, feed and malt*. International Barley Genetics. Volume: VIII. Adelaide, Australia.
 25. Knox, C. A. P., Sonthayanon, B., Chandra, G. R., Muthukrishnan, S. (1987). Structure and organization of two divergent α -amylase genes from barley. *Plant Molecular Biology*, 9(1), 3–17. <https://doi.org/10.1007/BF00017982>
 26. Paris, M., Jones, M. G. K., Eglinton, J. K. (2002). Genotyping single nucleotide polymorphisms for selection of barley β -amylase alleles. *Plant Molecular Biology Reporter*, 20(2), 149–159. <https://doi.org/10.1007/BF02799430>
 27. Rasmussen, S. K., Klausen, J., Hejgaard, J., Svensson, B., Svendsen, I. (1996). Primary structure of the plant serpin BSZ7 having the capacity of chymotrypsin inhibition. *Biochimica Et Biophysica Acta – Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1297(2), 127–130. [https://doi.org/10.1016/S0167-4838\(96\)00115-X](https://doi.org/10.1016/S0167-4838(96)00115-X)
 28. Hirota, N., Kaneko, T., Kuroda, H., Kaneda, H., Takashio, M., Ito, K., Takeda, K. (2005). Characterization of lipoxygenase-1 null mutants in barley. *Theoretical and Applied Genetics*, 111(8), 1580–1584. <https://doi.org/10.1007/s00122-005-0088-y>
 29. Lakhneko O. R., Morgun B. V., Kalendar R. M., Stepanenko, A.I., Troianovska, A.V., Rybalka, O.I. (2016). SSR analysis in the study of genetic diversity and similarity of barley cultivars. *Biotechnologia Acta*, 9(3)61–68. <https://doi.org/10.15407/biotech9.03.061>
 30. Tomka, M., Urmínská, D., Chňápek, M., Gálová, Z. (2017). Potential of selected SSR markers for identification of malting barley genotypes. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 6(6), 1276–1279. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2017.6.6.1276-1279>
 31. Palumbo, F., Galla, G., Barcaccia, G. (2017). Developing a molecular identification assay of old landraces for the genetic authentication of typical agro-food products: The case study of the barley 'agordino'. *Food Technology and Biotechnology*, 55(1), 29–39. <https://doi.org/10.17113/ftb.55.01.17.4858>
 32. Chiapparino, E., Lee, D., Donini, P. (2004). Genotyping single nucleotide polymorphisms in barley by tetra-primer ARMS-PCR. *Genome*, 47(2), 414–420. <https://doi.org/10.1139/g03-130>
 33. Hayden, M. J., Tabone, T., Mather, D. E. (2009). Development and assessment of simple PCR markers for SNP genotyping in barley. *Theoretical and Applied Genetics*, 119(5), 939–951. <https://doi.org/10.1007/s00122-009-1101-7>
 34. Kurbakov, K.A., Konorov, E.A., Minaev, M. Yu., Kuznetsova, O.A. (2019). Multiplex real-time PCR with HRM for detection of *Lactobacillus sakei* and *Lactobacillus curvatus* in Food Samples. *Food Technology and Biotechnology*, 57(1), 97–104. <https://doi.org/10.17113/ftb.57.01.19.5983>
 35. Lu, X., Fang, Y., Tian, B., Tong, T., Wang, J., Wang, H. et al. (2019). Genetic variation of HvXYN1 associated with endoxylanase activity and TAX content in barley (*Hordeum vulgare* L.). *BMC Plant Biology*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1747-5>
 36. Ohtsubo, K., Nakamura, S., Yoza, K., Shishido, K. (2001). Identification of glutinous rice cultivars using rice cake as samples by the PCR method. *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology*, 48, 306–310. <https://doi.org/10.3136/nshkk.48.306>
 37. Tsukada, Y., Kitamura, K., Harada, K., Kaizuma, N. (1986). Genetic Analysis of Subunits of Two Major Storage Proteins (β -Conglycinin and Glycinin) in Soybean Seeds. *Japanese Journal of Breeding*, 36(4), 390–400. <https://doi.org/10.1270/jsbbs1951.36.390>
 38. Silletti, S., Morello, L., Gavazzi, F., Gianì, S., Braglia, L., Breviaro, D. (2019). Untargeted DNA-based methods for the authentication of wheat species and related cereals in food products. *Food Chemistry*, 271, 410–418. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.178>
 39. Xu, Z., Xu, R., Soteyome, T., Deng, Y., Chen, L., Liang, Y. et al. (2020). Genomic analysis of a hop-resistance *Lactobacillus brevis* strain responsible for food spoilage and capable of entering into the VBNC state. *Microbial Pathogenesis*, 145 Article 104186 <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104186>
 40. Schönling, J., Pick, E., Peter, U., Britton, S. (2019). Effect of autolytic by-products on PCR-detection of beer spoilers in yeast slurry. *Brewing Science*, 72(9–10), 168–172. <https://doi.org/10.23763/BrSc19-18schoenling>
 41. Schneiderbanger, J., Jacob, F., Hutzler, M. (2019). Genotypic and phenotypic diversity of *Lactobacillus rossiae* isolated from beer. *Journal of Applied Microbiology*, 126(4), 1187–1198. <https://doi.org/10.1111/jam.14202>

REFERENCES

1. Clements, K. W., Lan, Y., Liu, H. (2020). Understanding alcohol consumption across countries. *Applied Economics*, 52(40), 4421–4439. <https://doi.org/10.1080/00036846.2020.1735621>
2. Anderson, K., Meloni, G., Swinnen, J. (2018). Global alcohol markets: Evolving consumption patterns, regulations, and industrial organizations. *Annual Review of Resource Economics*, 10, 105–132. <https://doi.org/10.1146/annurev-resource-100517-023331>
3. Overview of the Russian market of alcoholic beverages. Retrieved from <https://ac.gov.ru/uploads/2-Publications/alcogol/al%D1%81o.2020.4.pdf> Accessed February 06, 2021 (In Russian)
4. De Keukeleirc, D. (2000). Fundamentals of beer and hop chemistry. *Quimica Nova*, 23(1), 108–112. <https://doi.org/10.1590/s0100-40422000000100019>
5. Bokulich, N. A., Bamforth, C. W. (2013). The microbiology of malting and brewing. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 77(2), 157–172. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00060-12>
6. Lachenmeier, D.W., Rehm, J. (2012). Is there a relationship between alcohol quality and health? *Alcohol and Alcoholism*, 48(1), 127–129. <https://doi.org/10.1093/alcals/ags101>
7. Oganessyants, L.A., Khurshudyan, S.A., Galstyan, A.G. (2018). Food quality monitoring as the basic strategic element. *Production Quality Control*, 4, 56–59. (In Russian)
8. Lachenmeier, D. W., Frank, W., Humpfer, E., Schäfer, H., Keller, S., Mörtter, M., Spraul, M. (2005). Quality control of beer using high-resolution nuclear magnetic resonance spectroscopy and multivariate analysis. *European Food Research and Technology*, 220(2), 215–221. <https://doi.org/10.1007/s00217-004-1070-7>
9. Pokrivčák, J., Supeková, S. C., Lančarič, D., Savov, R., Tóth, M., Vašina, R. (2019). Development of beer industry and craft beer expansion. *Journal of Food and Nutrition Research*, 58(1), 63–74.
10. Duarte, I., Barros, A., Belton, P. S., Righelato, R., Spraul, M., Humpfer, E., & Gil, A. M. (2002). High-resolution nuclear magnetic resonance spectroscopy and multivariate analysis for the characterization of beer. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(9), 2475–2481. <https://doi.org/10.1021/jf011345j>
11. Fernández, M. E., Figueiras, A. M., & Benito, C. (2002). The use of ISSR and RAPD markers for detecting DNA polymorphism, genotype identification and genetic diversity among barley cultivars with known origin. *Theoretical and Applied Genetics*, 104(5), 845–851. <https://doi.org/10.1007/s00122-001-0848-2>
12. Rapacz, M., Stepień, A., Skorupa, K. (2012). Internal standards for quantitative RT-PCR studies of gene expression under drought treatment in barley (*Hordeum vulgare* L.): The effects of developmental stage and leaf age. *Acta Physiologiae Plantarum*, 34(5), 1723–1733. <https://doi.org/10.1007/s11738-012-0967-1>
13. Oganessyants, L. A., Vafin, R. R., Galstyan, A. G., Semipyatniy, V. K., Khurshudyan, S. A., Ryabova, A. E. (2018). Prospects for DNA authentication

- titication in wine production monitoring. *Foods and Raw Materials*, 6(2), 438–448. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2018-2-438-448>
14. Nakamura, S., Tsushima, R., Ohtsubo, K. (2013). A novel method for the preparation of template DNA for PCR from beer to detect materials and to develop DNA markers to evaluate the quality of beer. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 77(4), 820–831. <https://doi.org/10.1271/bbb.120969>
15. Nakamura, S., Haraguchi, K., Mitani, N., Ohtsubo, K. (2007). Novel preparation method of template DNAs from wine for PCR to differentiate grape (*Vitis vinifera* L.) cultivar. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(25), 10388–10395. <https://doi.org/10.1021/jf072407u>
16. Baxter, E. D., Hughes, P. S. (2001). An overview of the malting and brewing processes. Chapter in a book: *Beer Quality, Safety and Nutritional Aspects*. RSC: Cambridge, U.K., 2001. 1–13.
17. Bamforth, C.W. (2006). *Scientific Principles of Malting and Brewing*. American Society of Brewing Chemists: MN, USA, 2006.
18. Abdulina, I. R., Vafin, R. R., Zainullin, L. I., Alimova, F. K. (2012). Identification of the allelic variant of the Wx-A1G Waxy gene in the genotypes of spring wheat of domestic selection. *Uchenye zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya estestvennye nauki*, 154, (4), 158–163. (In Russian)
19. Abdulina I. R., Vafin R. R., Rzhanova I. V., Garaeva A. L., Askhadullin D. F., Askhadullin D. F. et al. (2013). Molecular identification of spring wheat genotypes by allelic variants of Waxy genes. *Basic research*, 2013, 1–1, 13–17. (In Russian)
20. Yamaguchi, O., Baba, T., Furusho, M. (1998). Relationship between genotype of hordein and malting quality in Japanese barley. *Breeding Science*, 48(3), 309–314. <https://doi.org/10.1270/jsbbs1951.48.309>
21. Pulido, A., Bakos, F., Devic, M., Barnabás, B., Olmedilla, A. (2009). HvPG1 and ECA1: Two genes activated transcriptionally in the transition of barley microspores from the gametophytic to the embryogenic pathway. *Plant Cell Reports*, 28(4), 551–559. <https://doi.org/10.1007/s00299-008-0662-2>
22. Pomortsev, A.A., Lialina, E.V., Martynov, S.P. (2008). Polymorphism of hordei-coding loci in near eastern local populations of cultivated barley (*Hordeum vulgare* L.). *Russian journal of genetics*, 44(6), 709–721. <https://doi.org/10.1134/S1022795408060112>
23. Lialina, E.V., Boldyrev, S.V., Pomortsev, A.A. (2016). Current state of the genetic polymorphism in spring barley (*Hordeum vulgare* L.) from Russia assessed by the alleles of hordein-coding loci. *Russian journal of genetics*, 52(6), 565–577. <https://doi.org/10.1134/S1022795416060077>
24. Washington, J.M., Box, A., Barr, A.R. (2000, 22–27 October). *Developing waxy barley cultivars for food, feed and malt*. International Barley Genetics. Volume: VIII. Adelaide, Australia.
25. Knox, C. A. P., Sonthayanon, B., Chandra, G. R., Muthukrishnan, S. (1987). Structure and organization of two divergent α -amylase genes from barley. *Plant Molecular Biology*, 9(1), 3–17. <https://doi.org/10.1007/BF00017982>
26. Paris, M., Jones, M. G. K., Eglinton, J. K. (2002). Genotyping single nucleotide polymorphisms for selection of barley β -amylase alleles. *Plant Molecular Biology Reporter*, 20(2), 149–159. <https://doi.org/10.1007/BF02799430>
27. Rasmussen, S. K., Klausen, J., Hejgaard, J., Svensson, B., Svendsen, I. (1996). Primary structure of the plant serpin BSZ7 having the capacity of chymotrypsin inhibition. *Biochimica Et Biophysica Acta — Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1297(2), 127–130. [https://doi.org/10.1016/S0167-4838\(96\)00115-X](https://doi.org/10.1016/S0167-4838(96)00115-X)
28. Hirota, N., Kaneko, T., Kuroda, H., Kaneda, H., Takashio, M., Ito, K., Takeda, K. (2005). Characterization of lipoxigenase-1 null mutants in barley. *Theoretical and Applied Genetics*, 111(8), 1580–1584. <https://doi.org/10.1007/s00122-005-0088-y>
29. Lakhneko O. R., Morgun B. V., Kalendar R. M., Stepanenko, A.I., Troianovska, A.V., Rybalka, O.I. (2016). SSR analysis in the study of genetic diversity and similarity of barley cultivars. *Biotechnologia Acta*, 9(3)61–68. <https://doi.org/10.15407/biotech9.03.061>
30. Tomka, M., Urminská, D., Chňápek, M., Gálová, Z. (2017). Potential of selected SSR markers for identification of malting barley genotypes. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 6(6), 1276–1279. <https://doi.org/10.15414/jmbfs.2017.6.6.1276-1279>
31. Palumbo, F., Galla, G., Barcaccia, G. (2017). Developing a molecular identification assay of old landraces for the genetic authentication of typical agro-food products: The case study of the barley 'agordino'. *Food Technology and Biotechnology*, 55(1), 29–39. <https://doi.org/10.17113/ftb.55.01.17.4858>
32. Chiapparino, E., Lee, D., Donini, P. (2004). Genotyping single nucleotide polymorphisms in barley by tetra-primer ARMS-PCR. *Genome*, 47(2), 414–420. <https://doi.org/10.1139/g03-130>
33. Hayden, M. J., Tabone, T., Mather, D. E. (2009). Development and assessment of simple PCR markers for SNP genotyping in barley. *Theoretical and Applied Genetics*, 119(5), 939–951. <https://doi.org/10.1007/s00122-009-1101-7>
34. Kurbakov, K.A., Konorov, E.A., Minaev, M. Yu., Kuznetsova, O.A. (2019). Multiplex real-time PCR with HRM for detection of *Lactobacillus sakei* and *Lactobacillus curvatus* in Food Samples. *Food Technology and Biotechnology*, 57(1), 97–104. <https://doi.org/10.17113/ftb.57.01.19.5983>
35. Lu, X., Fang, Y., Tian, B., Tong, T., Wang, J., Wang, H. et al. (2019). Genetic variation of HvXYN1 associated with endoxylanase activity and TAX content in barley (*Hordeum vulgare* L.). *BMC Plant Biology*, 19(1). <https://doi.org/10.1186/s12870-019-1747-5>
36. Ohtsubo, K., Nakamura, S., Yoza, K., Shishido, K. (2001). Identification of glutinous rice cultivars using rice cake as samples by the PCR method. *Journal of the Japanese Society for Food Science and Technology*, 48, 306–310. <https://doi.org/10.3136/nshkk.48.306>
37. Tsukada, Y., Kitamura, K., Harada, K., Kaizuma, N. (1986). Genetic Analysis of Subunits of Two Major Storage Proteins (β -Conglycinin and Glycinin) in Soybean Seeds. *Japanese Journal of Breeding*, 36(4), 390–400. <https://doi.org/10.1270/jsbbs1951.36.390>
38. Silletti, S., Morello, L., Gavazzi, F., Gianì, S., Braglia, L., Breviaro, D. (2019). Untargeted DNA-based methods for the authentication of wheat species and related cereals in food products. *Food Chemistry*, 271, 410–418. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.07.178>
39. Xu, Z., Xu, R., Soteyome, T., Deng, Y., Chen, L., Liang, Y. et al. (2020). Genomic analysis of a hop-resistance *Lactobacillus brevis* strain responsible for food spoilage and capable of entering into the VBNC state. *Microbial Pathogenesis*, 145 Article 104186 <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2020.104186>
40. Schönlung, J., Pick, E., Peter, U., Britton, S. (2019). Effect of autolytic by-products on PCR-detection of beer spoilers in yeast slurry. *Brewing Science*, 72(9–10), 168–172. <https://doi.org/10.23763/BrSc19-18schoenling>
41. Schneiderbanger, J., Jacob, F., Hutzler, M. (2019). Genotypic and phenotypic diversity of *Lactobacillus rossiae* isolated from beer. *Journal of Applied Microbiology*, 126(4), 1187–1198. <https://doi.org/10.1111/jam.14202>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Лазарева Екатерина Германовна — младший научный сотрудник, лаборатория молекулярной биологии и биоинформатики, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-499-245-61-18 E-mail: lkg1996@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8069-9661 * corresponding author	Ekaterina G. Lazareva — Junior research scientist, Laboratory of Molecular Biology and Bioinformatics, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS109316, Moscow, Talalikhina str., 26 Tel.: +7-499-245-61-18 E-mail: lkg1996@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8069-9661 * corresponding author
Гильманов Хамид Халилович — кандидат биологических наук, научный сотрудник, лаборатория молекулярной биологии и биоинформатики, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26Тел.: +7-499-245-61-18. E-mail: gilmanov.xx@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7053-6925	Khamid Kh. Gilmanov — Candidate of biological sciences, Staff Scientist, Laboratory of Molecular Biology and Bioinformatics, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS109316, Moscow, Talalikhina str., 26. Tel.: +7-499-245-61-18. E-mail: gilmanov.xx@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7053-6925
Бигаева Алина Владиславовна — научный сотрудник, лаборатория молекулярной биологии и биоинформатики, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-499-245-61-18 E-mail: ada14-5@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8400-2465	Alana V. Bigaeva — Staff Scientist, Laboratory of Molecular Biology and Bioinformatics, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS109316, Moscow, Talalikhina str., 26 Tel.: +7-499-245-61-18 E-mail: ada14-5@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8400-2465
Тюлькин Сергей Владимирович — доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория молекулярной биологии и биоинформатики, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-499-245-61-18 E-mail: tulsv@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5379-237X	Sergey V. Tyulkin — Doctor of Biological Sciences, Leading Scientist, Laboratory of Molecular Biology and Bioinformatics, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS 109316, Moscow, Talalikhina str., 26 Tel.: +7-499-245-61-18 E-mail: tulsv@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5379-237X
Вафин Рамиль Ришадович — доктор биологических наук, профессор РАН, ведущий научный сотрудник, Межотраслевой научно-технический центр мониторинга качества пищевых продуктов, Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности — филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН 119021, Москва, ул. Россолимо, 7 Тел.: +7-499-245-61-18 E-mail: vafin-ramil@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0914-0053	Ramil R. Vafin — Doctor of Biological Sciences, Professor of RAS, Leading scientist, Interdisciplinary scientific and technical center of food quality monitoring, All-Russian Scientific Research Institute of Brewing, Beverage and Wine Industry — Branch of V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS 119021, Moscow, Rossolimo str., 7 Tel.: +7-499-245-61-18 E-mail: vafin-ramil@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0914-0053
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат	Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов	The authors declare no conflict of interest
Поступила 17.02.2021	Received 17.02.2021
Поступила после рецензирования 11.03.2021	Accepted in revised 11.03.2021
Принята в печать 25.03.2021	Accepted for publication 25.03.2021

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-26-30>



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

Научная статья

ПРИМЕНЕНИЕ МЕТОДА ТОНКОСЛОЙНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ ДЛЯ АНАЛИЗА АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ

Купаева Н. В.*, Василевская Е. Р., Федулова Л. В., Котенкова Е. А.

Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

растительные экстракты,
антиоксиданты,
коэффициенты замедления,
фенольные соединения,
флавоноиды, кверцетин,
высокоэффективная
тонкослойная хроматография

АННОТАЦИЯ

Для исследования антиоксидантной активности растительного сырья, которое является богатым источником эффективных нетоксичных биологически активных веществ, используются различные физико-химические методы анализа. В данной работе был применен метод высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТХ) для разделения биологически активных веществ, входящих в этанольные экстракты шелухи красного, желтого и белого лука, сушеных розмарина, базилика и чаги. Антиоксидантную активность полученных фракций на хроматографической пластине оценивали последующим DPPH-скринингом. Наибольшими показателями антиоксидантной активности и вариативностью качественного состава характеризовались экстракты шелухи красного и желтого лука, а также розмарина, причем для этих образцов была отмечена схожесть антиоксидантных профилей. В экстракте белого лука не было обнаружено каких-либо классов антиоксидантов. Для шелухи красного лука было отмечено наличие значительно выраженных пятен по всему треку, значения R_f которых расположены в диапазоне 0,13–0,97. Доказано, что все экстракты, кроме шелухи белого лука и чаги, в разной степени интенсивности имеют пятна с коэффициентом замедления в диапазоне 0,96–0,98, что соответствует полученному значению R_f кверцетина.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Исследования проведены в рамках темы научного исследования № 013.21.05 по государственному заданию ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН.

БЛАГОДАРНОСТИ: Авторы выражают благодарность консультанту компании CAMAG Улогову Владимиру Олеговичу за содействие в выполнении эксперимента по разделению веществ методом ВЭТХ и DPPH-скрининга антиоксидантной активности.

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

Original scientific article

APPLICATION OF THE THIN-LAYER CHROMATOGRAPHY METHOD FOR ANALYSIS OF PLANT ANTIOXIDANT ACTIVITY

Nadezhda V. Kupaeva*, Ekaterina R. Vasilevskaya, Liliya V. Fedulova, Elena A. Kotenkova

V. M. Gorbato Federal Research Centre for Food Systems of RAS, Moscow, Russia

KEY WORDS:

plant extracts, antioxidants,
ratio of front, phenolic
compounds, flavonoids, quercetin,
high performance thin layer
chromatography

ABSTRACT

Plants are a rich source of effective non-toxic biologically active substances. Various physicochemical methods of analysis are used for evaluation of plant antioxidant activity. Composition of ethanol extracts of red, yellow and white onion husks, dried rosemary, basil, and chaga were studied by high performance thin layer chromatography (HPTLC) method. The antioxidant activity of the obtained fractions on a chromatographic plate was assessed by subsequent DPPH screening. The extracts red and yellow onion husk and rosemary demonstrated the highest antioxidant activity, variability of the qualitative composition and similarity of antioxidant profiles, while extract of white onion husks did not contain any antioxidant classes. Intensive spots with R_f of 0.13–0.97 were observed along the whole chromatogram track corresponding to red onion husks. It was also found that all tested extract, excepting white onion husk and chaga, contained spots with varying degrees of intensity in the R_f range of 0.96–0.98, which corresponded quercetin R_f value.

FUNDING: The article was published as part of the research topic No. 013.21.05 of the state assignment of the V. M. Gorbato Federal Research Center for Food Systems of RAS.

ACKNOWLEDGEMENTS: The authors express their gratitude to Ulogov Vladimir Olegovich, the CAMAG company consultant, for assistance in the experiment performing for separation of substances by HPTLC and DPPH screening of antioxidant activity.

1. Введение

Растения являются одним из самых богатых источников биологически активных веществ (БАВ), которые, в зависимости от вида, способны проявлять антиоксидантные,

ранозаживляющие, антимикробные, кровоостанавливающие, противовоспалительные, спазмолитические, антисептические, седативные и прочие свойства [1], что позволяет использовать их в различных отраслях промышленности.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Купаева, Н.В., Василевская, Е.Р., Федулова, Л.В., Котенкова, Е.А. (2021). Применение метода тонкослойной хроматографии для анализа антиоксидантной активности растительного сырья. *Пищевые системы*, 4(1), 26–30. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-26-30>

FOR CITATION: Kupaeva, N.V., Vasilevskaya, E.R., Fedulova, L.V., Kotenkova, E.A. (2021). Application of the thin-layer chromatography method for analysis of plant antioxidant activity. *Food systems*, 4(1), 26–30. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-26-30>

Кроме того, БАВ растительного происхождения не характеризуются высокой токсичностью, которая свойственна многим синтетическим органическим веществам [2].

Лекарственные растения с давних времен применяются в фитотерапии, и активно используются в настоящее время. Так, в Государственный реестр лекарственных средств Министерства здравоохранения Российской Федерации включены растения, используемые для получения лекарственного растительного сырья [3]. В то же время, травы, специи и растительные вытяжки широко распространены в пищевой промышленности в качестве технологических вспомогательных средств, в том числе для ингибирования химической порчи продуктов питания. Антиокислители являются особенно важным классом консервантов, так как реакции окисления происходят относительно быстро даже в замороженных или охлажденных пищевых продуктах [4]. Например, при хранении продукции мясной промышленности происходят процессы перекисного окисления липидов [5] и разрушения структуры белков под действием активных форм кислорода с образованием карбонильных групп [4]. Кроме того, рацион питания современного человека не обеспечивает организм необходимыми биологически активными веществами в нужном количестве [6]. Так, при производстве биологически активных добавок к пище (БАД), используется растительное сырье в качестве источника натуральных антиоксидантов (АО), витаминов, полисахаридов, эфирных масел, макро- и микроэлементов, клетчатки и др. [1,7]

Известно, что в большем количестве растения содержат фенольные соединения [2], которые обладают высокими антиоксидантными свойствами, и эффективны в профилактике широкого спектра хронических неинфекционных заболеваний, среди которых онкология, ишемическая болезнь сердца, ожирение, нейродегенеративные заболевания и другие [8]. В многочисленных исследованиях показано, что кверцетин является наиболее характерным растительным флавоноидом, который обладает антиоксидантными, спазмолитическими и гипотензивными свойствами [9].

На данный момент существует множество классических и альтернативных подходов к изучению антиоксидантного потенциала растений. Среди методов определения общей антиоксидантной емкости (OAE) выделяют методы Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC), Ferric Reducing/Antioxidant Power (FRAP), Cupric Reducing Antioxidant Power (CUPRAC), которые позволяют измерить количество АО в сырье [10]. Оценку антиоксидантной активности (АОА) образцов принято проводить методами, основанными на способности АО ингибировать генерируемые в модельных смесях радикалы, образующиеся при окислении ABTS [2,2'-азино-бис(3-этилбензтиазолино-6-сульфоновая кислота)] и DPPH [2,2-дифенил-1-пикрил-гидразил] [11]. Для изучения качественного состава распространено применение таких современных методов анализа, как ВЭЖХ, ГХ, ЯМР и др., однако использование этих методов требует дорогостоящего оборудования и трудоемкой обработки данных. Одним из наиболее распространенных методов, применяемых при исследовании растительного сырья, является тонкослойная хроматография (ТСХ), которая к тому же одобрена всемирной организацией здравоохранения (ВОЗ) [12]. Метод ТСХ успешно применяется уже более 50 лет, а разработанные модификации и оборудование позволили создать такой популярный количественный метод анализа, как высокоэффективная тонкослойная хроматография (ВЭТСХ), распространенность которой обусловлена скоростью, эффективностью, простотой, низким расходом растворителей и чувствительностью [13]. Одной из последних модификаций ТСХ является применение DPPH-скрининга антиокси-

дантной активности веществ после их разделения ВЭТСХ. Данный метод позволяет оценить АОА конкретных фракций веществ, за счет обесцвечивания хроматографической пластины при нейтрализации свободного радикала (СР) антиоксидантами [12].

Целью данной работы являлось использование метода ВЭТСХ с дальнейшим DPPH-скринингом для изучения антиоксидантной активности образцов растительного сырья.

2. Материалы и методы

В качестве объектов исследования были выбраны розмарин, базилик, шелуха красного, белого и желтого лука, приобретенные в сетевом магазине «ВкусВилл» (Россия), и чага, предоставленная группой компаний «ЭСВО» (Россия). Для приготовления спиртовых экстрактов образцы измельчали, смешивали с 70% этиловым спиртом в соотношении 1:15 и настаивали при температуре $22 \pm 2^\circ\text{C}$ в течение 24 ч с последующим фильтрованием через бумажный складчатый фильтр.

Разделение веществ, входящих в растительные экстракты, проводили методом высокоэффективной тонкослойной хроматографии с использованием хроматографических пластин HPTLC plates Silica gel 60 F₂₅₄ (Merck, Darmstadt, Germany) формата 10 см x 10 см. Исследуемые этанольные экстракты (по 5 мкл) и 0,05% раствор кверцетина (Sigma-Aldrich, USA) в метаноле (1 мкл и 5 мкл) наносили на пластины в виде полос 8 мм с отступом справа 20 мм и 8 мм от нижнего края пластины с помощью аппликатора Linomat 5 TLC (Camag, Muttens, Switzerland). Элюирование проводили в вертикальной камере AMD2 (Camag, Switzerland) размером 10 см x 10 см с перегородкой с насыщением 20 мин (с фильтровальной бумагой), использовали 5 мл элюента на каждый канал в камере, дистанция составляла 70 мм от нижнего края пластины. В качестве элюента использовали смесь, характерную для разделения фенольных соединений: этилацетат: уксусная кислота: муравьиная кислота: вода в соотношении 100:11:11:27. Затем хроматографическую пластину подвергали сушке в течение 30 мин при температуре 60°C .

DPPH-скрининг использовали для визуализации соединений, обладающих антиоксидантными свойствами (белые полосы на фиолетовом фоне), присутствующих в исследуемых экстрактах. После разделения веществ методом ВЭТСХ пластину погружали на 1 сек в свежеприготовленный 0,05% раствор DPPH (Sigma-Aldrich, USA) в метаноле, затем пластину сушили в течение 1 мин при комнатной температуре в вытяжном шкафу и заворачивали в алюминиевую фольгу на 30 мин. Оценку (фотографирование) проводили при освещении белым светом.

Коэффициент замедления (R_f) был использован, как основная качественная характеристика для определения положения индивидуального вещества на тонкослойной хроматограмме. Значения R_f измеряли вручную и рассчитывали по уравнению 1 [14].

$$R_f = \frac{n_a}{n_f} \quad (1)$$

где n_a — расстояние, пройденное анализируемым веществом (центр пятна) от места нанесения пробы;
 n_f — расстояние, пройденное подвижной фазой от места нанесения пробы до фронта растворителя.

Сложность химического состава исследуемых образцов и антиоксидантный потенциал соединений, входящих в растительные экстракты, были оценены с использованием визуального анализа, включавшего в себя сравнение цвета, размера и коэффициента замедления наиболее выраженных пятен.

3. Результаты и обсуждение

В ходе разделения веществ, входящих в растительные экстракты, методом ВЭТСХ с дальнейшим DPPH-скринингом антиоксидантной активности этих соединений был получен снимок хроматографической пластины, представленный на Рисунке 1.

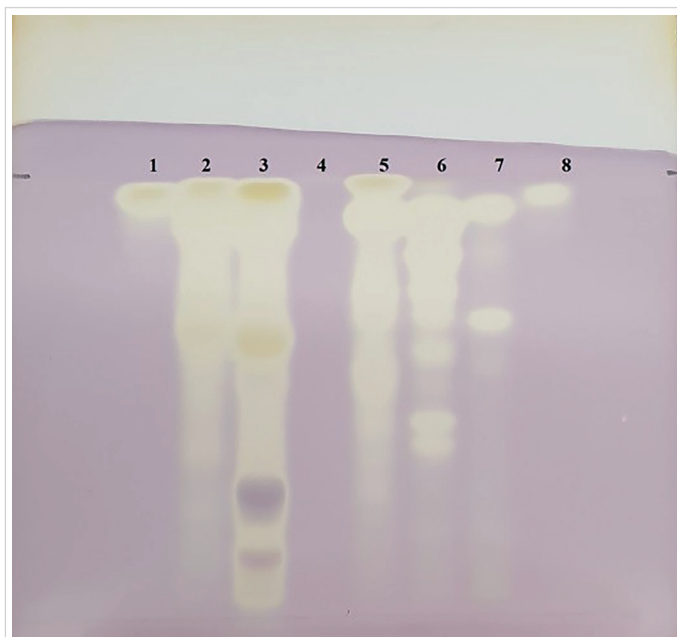


Рисунок 1. Фотоизображение хроматографической пластины после ВЭТСХ и DPPH-скрининга этанольных растительных экстрактов.

Условные обозначения треков: 1 — 0,05% раствор кверцетина (5 мкл); 2 — экстракт шелухи желтого, 3 — красного, 4 — белого лука; 5 — экстракт розмарина; 6 — экстракт базилика; 7 — экстракт чаги; 8 — 0,05% кверцетин (1 мкл)

Фон хроматографической пластины после DPPH-скрининга окрашен фиолетовым цветом, при этом светлые пятна характеризуют фракции соединений, обладающие антиоксидантной активностью. В соответствии с визуальным анализом треков стандартного антиоксиданта — кверцетина (№ 1–5 мкл и № 8–1 мкл), и исходя из выцветания пятен, интенсивность которой прямопропорциональна концентрации АО, определено, что все исследуемые образцы, кроме экстракта шелухи белого лука (№ 4), в разной степени содержат вещества, обладающие антиоксидантными свойствами. Наибольшее количество АО, в том числе находящихся в зоне кверцетина, отмечалось в экстракте шелухи красного лука (трек № 3). Также значительная концентрация антиоксидантов наблюдалась у образцов № 2 (шелуха желтого лука) и № 5 (розмарин), причем интенсивность выцветания полосы в зоне кверцетина у экстракта шелухи желтого лука незначительно превышала выцветание для розмарина. По полученным результатам видно, что количество АО в образце № 6 (базилик) существенно уступает аналогичным показателям для треков № 2 (шелуха желтого лука), № 3 (шелуха красного лука) и № 5 (розмарин), а в экстракте чаги (трек № 7) и вовсе минимально. Полученные результаты АОА для экстрактов шелухи красного, желтого и белого лука, розмарина и базилика подтверждаются значениями ОАЕ для аналогичных образцов, которые были ранее определены методами ORAC и FRAP в нашей работе [15].

В экстрактах всех образцов, кроме № 4 (шелуха белого лука), помимо пятен, соответствующих кверцетину, были обнаружены фракции веществ, проявляющих АОА, и относящихся к другим классам неизвестной природы, которых не было в стандартном заоле. Наибольшее разнообразие хи-

мических соединений наблюдалось у образцов № 3 (шелуха красного лука), № 2 (шелуха желтого лука) и № 5 (розмарин), что также коррелирует с АОА этих образцов. Вариабельность качественного состава экстракта базилика (трек № 6) была относительно схожа с розмарином (трек № 5), однако значительно уступала по количеству антиоксидантов. Практически полное отсутствие выцветания в зоне, характерной для кверцетина, в экстракте базилика можно объяснить тем, что основными ароматическими компонентами базилика являются эвгенол, эстрагол, метилциннамат, 1,8-цинеол и линалоол [16], структуры и классы которых существенно отличаются от кверцетина. Кроме того, ранее в работе [15] нами было показано, что водный экстракт базилика обладает большим значением ОАЕ, чем этанольный, чего нельзя сказать об экстрактах шелухи лука и розмарина. Можно сделать предположение, что в состав базилика в большей степени входят водорастворимые антиоксиданты, например, полисахариды, фенолгликозиды, гликозиды флавоноидов и др. [1]. Отмечалось, что наименьшим разнообразием химического состава характеризовался образец № 7 (чага), а в экстракте шелухи белого лука (трек № 4) вообще не было обнаружено каких-либо классов АО.

В связи с богатой вариабельностью полос, были проведены расчеты коэффициентов замедления для наиболее выраженных пятен всех образцов, которые представлены в Таблице 1, где R_f соответствует верхнему пятну трека (кверцетин). Расстояние, пройденное подвижной фазой от места нанесения пробы до фронта растворителя (n_r), составило 6,5 см.

Таблица 1

Рассчитанные коэффициенты замедления

	Кверцетин (5 мкл)	Желтый лук	Красный лук	Белый лук	Розмарин	Базилик	Чага	Кверцетин (1 мкл)
R_{f1}	0,95	0,96	0,97	—	0,97	0,98	0,92	0,96
R_{f2}	—	0,82	0,89	—	0,91	0,91	—	—
R_{f3}	—	0,75	0,63	—	—	0,8	—	—
R_{f4}	—	0,65	0,26	—	—	—	—	—
R_{f5}	—	—	0,13	—	—	—	—	—

По полученным данным видно, что экстракт красного лука (трек № 3) обладает не только наибольшим количеством АО, но и имеет более разнообразный химический состав. Отмечалось, что для шелухи красного лука характерно наличие значительно выраженных пятен не только в верхней части хроматограммы (R_f больше 0,6), но и в нижней. Так, были выделены пятна с коэффициентами замедления 0,26 и 0,13, которые не проявляли антиоксидантной активности и могут соответствовать другим биологически активным веществам. По коэффициентам замедления видно, что все экстракты, кроме шелухи белого лука (трек № 4), имеют пятна разной интенсивности в диапазоне R_f 0,96–0,98, что соответствует значению R_f кверцетина. Также визуальный анализ полученной хроматографической пластины и рассчитанные R_f пятен образцов продемонстрировали, что профили антиоксидантной активности экстрактов шелухи желтого (трек № 2) и красного (трек № 3) лука и розмарина (трек № 5) имеют значительное сходство и обладают наибольшей интенсивностью выцветания пятен, характерных для кверцетина. В работе Teshika et al. [17] было определено, что шелуха репчатого лука содержит примерно 300 мг кверцетина на кг сырья, а в статье Jung-No Kwak et al. [18] было показано, что в состав шелухи репчатого лука входят не только кверцетин, но и большое количество его гликозидов.

Схожесть профилей экстрактов шелухи красного и желтого лука с розмарином можно объяснить тем фактом, что в составе розмарина в работе Luis Almela et al. [19] были обнаружены такие флавоны, как апигенин и лютеолин, структуры которых значительно совпадают со структурой кверцетина.

4. Выводы

Методом ВЭТСХ было выявлено, что этанольные экстракты желтого и красного лука и розмарина обладают высокой антиоксидантной активностью, причем наибольший потенциал характерен для красного лука, в то время как в экстракте шелухи белого лука вообще не было обнаружено антиоксидантов. Полученные результаты подтверждаются ранее определенными значениями общих антиоксидантных емкостей для аналогичных экстрактов методами ORAC и FRAP.

С использованием визуального анализа хроматографической пластины и рассчитанных коэффициентов замедления для наиболее ярко выраженных пятен всех экстрактов

было выявлено, что шелуха желтого и красного лука и розмарин имеют схожий антиоксидантный профиль, причем для красного лука характерен более разнообразный химический состав. Было выявлено, что все экстракты кроме шелухи белого лука имеют пятна разной интенсивности с коэффициентом замедления в диапазоне 0,96–0,98, что соответствует пятнам кверцетина.

В ходе эксперимента было показано, что выбранный способ оценки антиоксидантной активности растительного сырья позволяет судить о присутствии антиоксидантов различной природы. Было показано, что метод ВЭТСХ возможно использовать и для количественной оценки веществ, однако для этого необходимо проведение дополнительных исследований с использованием большего количества стандартов. Отмечалось, что в ходе разделения веществ методом ВЭТСХ не удалось получить достаточно четких отдельных пятен, что может указывать на необходимость варьирования концентрации нанесения образцов, состава элюирующей смеси или предварительной очистки экстрактов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Мирович, В.М., Привалова Е. Г. (2018). Биологически активные вещества растений (полисахариды, эфирные масла, фенологликозиды, кумарины, флавоноиды): Учебное пособие. ФГБОУ ВО Иркутский государственный медицинский университет МЗ РФ, кафедра фармакологии и фармацевтической технологии. — Иркутск: ИГМУ. — 70 с.
2. Меньшикова, Е.Б., Ланкин, В.З., Кандалинцева Н. В. (2012). Фенольные антиоксиданты в биологии и медицине. Структура, свойства, механизмы действия: LAP Lambert Academic Publishing. — 496 с. ISBN 9783846594612.
3. Горовой, П.Г., Балышев, М.Е. (2017). Возможности и перспективы использования лекарственных растений Российской Дальнего Востока. *Тихоокеанский медицинский журнал*, 3(69), 5–14. <https://doi.org/10.17238/Pmj1609-1175.2017.3.5-14>
4. Soyer, A., Özalp, B., Dalmiş, U., Bilgin, V. (2010). Effects of freezing temperature and duration of frozen storage on lipid and protein oxidation in chicken meat. *Food Chemistry*, 120(4), 1025–1030. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.042>
5. Гуринович, Г.В., Патракова, И.С., Кудряшов, Л.С. (2018). Исследование влияния состава посолочных смесей на процесс окисления липидов мясных систем. *Техника и технология пищевых производств*, 48(1), 31–40. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-1-31-40>
6. Дыдыкин, А.С., Лисицын, А.Б., Асланова, М.А. (2019). Функциональные продукты — современный вектор развития пищевой индустрии. III международная научно-практическая конференция «Функциональные продукты питания: научные основы разработки, производства и потребления», 30–31 октября, Москва, 24–32.
7. Чернуха, И.М., Котенкова, Е.А., Васильевская, Е.Р., Иванкин, А.Н., Лисицын, А.Б., Федуллова, Л.В. (2020). Изучение биологических эффектов ягод годжи различного географического происхождения на крысах с моделью алиментарной гиперлипидемии. *Вопросы питания*, 89(1), 37–45. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10004>
8. Pala, F.S., Gürkan, H. (2008). The role of free radicals in ethiopathogenesis of diseases. *Advances in Molecular Biology*, 1, 1–9.
9. Lekar, A. V., Filonova, O. V., Borisenko, S. N., Maksimenko, E. V., Vetrova, E. V., Borisenko, N. I., Minkin, V. I. (2013). Extraction of bioflavonoid mixture from onion husk by subcritical water. *Russian Journal of Physical Chemistry B*, 7(7), 829–836. <https://doi.org/10.1134/S1990793113070117>
10. Amarowicz, R., Pegg, R.B., Ferreira, I.C.F.R. (ed.), Barros, L. (ed.) (2019). Functional Food Ingredients from Plants: Natural antioxidants of plant origin, 90, 1–81. Academic Press. DOI: 10.1016/bs.afnr.2019.02.011
11. Завадский, С.П., Краснюк (мл), И.И., Харитонов, Ю.Я., Тарасов, В.В., Кузьменко, А.Н., Козин, Д.А. и др. (2017). Физико-химические методы изучения антиоксидантной активности растительного сырья и продуктов его переработки. *Разработка и регистрация лекарственных средств*, 2(19), 214–221.
12. Simion, I. M., Casoni, D., Sârbru, C. (2018). Characterization and classification of medicinal plants according to their antioxidant profile estimated by thin layer chromatography assisted by chemometric expertise. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 41(6), 342–348. <https://doi.org/10.1080/10826076.2018.1448692>
13. Fazakas, L. A., Naşcu-Briciu, R. D., Sârbru, C. (2011). A comparative study concerning the image analysis in thin layer chromatography of fluorescent compounds. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 34(19), 2315–2325. <https://doi.org/10.1080/10826076.2011.587226>
14. Чибисова, М.В., Березкин, В.Г. (2011). Определение синтетических красителей в пищевых продуктах методами тонкослойной хроматографии, УФ- и ИК-спектроскопии. *Сорбционные и хроматографические процессы*, 11(2), 219–227.
15. Kotenkova, E. A., Kupaeva, N. V. (2021). Onion husk (allium cépa) as a promising source of natural antioxidants. Paper presented at the IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 640(5), Article 052002.
16. Lee, S. J., Umano, K., Shibamoto, T., Lee, K. G. (2005). Identification of volatile components in basil (ocimum basilicum L.) and thyme leaves (thymus vulgaris L.) and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 91(1), 131–137. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.05.056>
17. Teshika, J. D., Zakariyyah, A. M., Zaynab, T., Zengin, G., Rengasamy, K. R., Pandian, S. K. et al. (2019). Traditional and modern uses of onion bulb (allium cepa L.): A systematic review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59, S39–S70. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1499074>
18. Kwak, J. H., Seo, J. M., Kim, N. H., Aras, M. V., Kim, S., Yoon, M. K., Kim, S. J. (2017). Variation of quercetin glycoside derivatives in three onion (allium cepa L.) varieties. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(6), 1387–1391. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.05.014>
19. Almela, L., Sánchez-Muñoz, B., Fernández-López, J. A., Roca, M. J., Rabe, V. (2006). Liquid chromatographic-mass spectrometric analysis of phenolics and free radical scavenging activity of rosemary extract from different raw material. *Journal of Chromatography A*, 1120(1–2), 221–229. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.02.056>

REFERENCES

1. Mirovich, V.M., Privalova E. G. (2018). Biologically active substances of plants (polysaccharides, essential oils, phenologlycosides, coumarins, flavonoids): Textbook. Irkutsk State Medical University. — 70 p. (In Russian)
2. Mentshchikova, E.B., Lankin, V.Z., Kandalintseva N. V. (2012). Phenolic antioxidants in biology and medicine. Structures, properties, mechanisms of action: LAP Lambert Academic Publishing. — 496 p. ISBN 9783846594612. (In Russian)
3. Gorovoy, P.O., Balyshv, M.E. (2017). Possibilities and prospect applications of medicinal plants in Russian Far East *Pacific Medical Journal*, 3(69), 5–14. <https://doi.org/10.17238/Pmj1609-1175.2017.3.5-14> (In Russian)
4. Soyer, A., Özalp, B., Dalmiş, U., Bilgin, V. (2010). Effects of freezing temperature and duration of frozen storage on lipid and protein oxidation in chicken meat. *Food Chemistry*, 120(4), 1025–1030. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.11.042>
5. Gurinovich, G.V., Patrakova, I.S., Kudryashov, L.S. (2018). Study of the effect of curing mixture compositions on oxidation of lipids in meat systems. *S Food Processing: Techniques and Technology*, 48(1), 31–40. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2018-1-31-40> (In Russian)
6. Dydykin, A.S., Lisitsyn, A.B., Aslanova, M.A. (2019). Functional products are a modern vector of development of the food industry. III international scientific-practical conference “Functional food products: scientific foundations of development, production and consumption”, October 30–31, Moscow, 24–32. (In Russian)
7. Chernukha, I.M., Kotenkova, E.A., Vasilevskaya, E.R., Ivankin, A.N., Lisitsyn, A.B., Fedulova, L.V. (2020). The study of biological effects of different

- geographical origin goji berries in rats with alimentary hypercholesterolemia. *Problems of nutrition*, 89(1), 37–45. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10004> (In Russian)
8. Pala, F.S., Gürkan, H. (2008). The role of free radicals in ethiopathogenesis of diseases. *Advances in Molecular Biology*, 1, 1–9.
 9. Lekar, A. V., Filonova, O. V., Borisenko, S. N., Maksimenko, E. V., Vetrova, E. V., Borisenko, N. I., Minkin, V. I. (2013). Extraction of bioflavonoid mixture from onion husk by subcritical water. *Russian Journal of Physical Chemistry B*, 7(7), 829–836. <https://doi.org/10.1134/S1990793113070117>
 10. Amarowicz, R., Pegg, R.B., Ferreira, I.C.F.R. (ed.), Barros, L. (ed.) (2019). Functional Food Ingredients from Plants: Natural antioxidants of plant origin, 90, 1–81. Academic Press. DOI: 10.1016/bs.afnr.2019.02.011
 11. Zavadskiy, S.P., Krasnyuk (jr), I. I. Kharitonov, Yu. Ya., Tarasov, V.V., Kuzmenko, A.N., Kozin, D.A. at al. (2017). The physical and chemical methods for testing antioxidative activity of herbal raw material and its conversion products. *Development and registration of medicines*, 2(19), 214–221. (In Russian)
 12. Simion, I. M., Casoni, D., Sârbru, C. (2018). Characterization and classification of medicinal plants according to their antioxidant profile estimated by thin layer chromatography assisted by chemometric expertise. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 41(6), 342–348. <https://doi.org/10.1080/10826076.2018.1448692>
 13. Fazakaş, L. A., Naşcu-Bricu, R. D., Sârbru, C. (2011). A comparative study concerning the image analysis in thin layer chromatography of fluorescent compounds. *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies*, 34(19), 2315–2325. <https://doi.org/10.1080/10826076.2011.587226>
 14. Chibisova, M.V., Berezkin, V.G. (2011). Definition of synthetic dyes in food by thin-layer chromatography, UV- and IR-spectroscopy. *Sorption and chromatography processes*, 11(2), 219–227. (In Russian)
 15. Kotenkova, E. A., Kupaeva, N. V. (2021). *Onion husk (allium cépa) as a promising source of natural antioxidants*. Paper presented at the IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 640(5), Article 052002. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/640/5/052002>
 16. Lee, S. J., Umano, K., Shibamoto, T., Lee, K. G. (2005). Identification of volatile components in basil (*ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. *Food Chemistry*, 91(1), 131–137. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.05.056>
 17. Teshika, J. D., Zakariyyah, A. M., Zaynab, T., Zengin, G., Rengasamy, K. R., Pandian, S. K. at al. (2019). Traditional and modern uses of onion bulb (*allium cepa* L.): A systematic review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59, S39–S70. <https://doi.org/10.1080/10408398.2018.1499074>
 18. Kwak, J. H., Seo, J. M., Kim, N. H., Arasu, M. V., Kim, S., Yoon, M. K., Kim, S. J. (2017). Variation of quercetin glycoside derivatives in three onion (*allium cepa* L.) varieties. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 24(6), 1387–1391. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.05.014>
 19. Almela, L., Sánchez-Muñoz, B., Fernández-López, J. A., Roca, M. J., Rabe, V. (2006). Liquid chromatographic-mass spectrometric analysis of phenolics and free radical scavenging activity of rosemary extract from different raw material. *Journal of Chromatography A*, 1120(1–2), 221–229. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2006.02.056>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Купаева Надежда Владимировна — инженер-исследователь, Экспериментальная клиника — лаборатория биологически активных веществ животного происхождения, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел: +7-966-359-19-00 E-mail: NVkupaeva@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1066-5589 * автор для контактов	Nadezhda V. Kupaeva — research engineer, Experimental clinic — research laboratory of biologically active substances of an animal origin, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences 109316, Moscow, Talalikhina str., 26. Tel.: +7-966-359-19-00 E-mail: NVkupaeva@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1066-5589 * corresponding author
Василевская Екатерина Романовна — кандидат технических наук, научный сотрудник, Экспериментальная клиника — лаборатория биологически активных веществ животного происхождения, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел: +7-495-676-92-11 E-mail: e.vasilevskaya@fnpcs.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4752-3939	Ekaterina R. Vasilevskaya — candidate of technical sciences, researcher, Experimental clinic — research laboratory of biologically active substances of an animal origin, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, 109316, Moscow, Talalikhina str., 26. Tel.: +7-495-676-92-11 E-mail: e.vasilevskaya@fnpcs.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4752-3939
Федулова Лилия Вячеславовна — кандидат технических наук, заведующий лабораторией, Экспериментальная клиника — лаборатория биологически активных веществ животного происхождения, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел: +7-495-676-92-11 E-mail: l.fedulova@fnpcs.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3573-930X	Liliya V. Fedulova — candidate of technical sciences, head of the Experimental clinic — research laboratory of biologically active substances of an animal origin, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, 109316, Moscow, Talalikhina str., 26. Tel.: +7-495-676-92-11 E-mail: l.fedulova@fnpcs.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3573-930X
Котенкова Елена Александровна — кандидат технических наук, старший научный сотрудник, Экспериментальная клиника — лаборатория биологически активных веществ животного происхождения, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел: +7-495-676-92-11 E-mail: lazovlena92@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1864-8115	Elena A. Kotenkova — candidate of technical sciences, senior researcher, Experimental clinic — research laboratory of biologically active substances of an animal origin, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, 109316, Moscow, Talalikhina str., 26. Tel.: +7-495-676-92-11 E-mail: lazovlena92@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1864-8115
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат	Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов	The authors declare no conflict of interest
Поступила 12.02.2021	Received 12.02.2021
Поступила после рецензирования 14.03.2021	Accepted in revised 14.03.2021
Принята в печать 25.03.2021	Accepted for publication 25.03.2021

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-31-39><https://www.fsjour.com/jour>

Обзорная статья

ВОДА В ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА ХЛЕБОБУЛОЧНЫХ ИЗДЕЛИЙ С ОТЛОЖЕННОЙ ВЫПЕЧКОЙ

Верхивкер Я. Г.*, Мирошниченко Е. М., Петькова О. В.

Одесская национальная академия пищевых технологий, Одесса, Украина

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:*водоподготовка, отложенная выпечка, замес теста, дрожжи, замораживание, качество продукта***АННОТАЦИЯ**

Вода в хлебопекарном производстве используется как растворитель соли, сахара и других видов сырья: для приготовления теста, приготовления жидких дрожжей, заквасок; для теплотехнических целей — производства пара, необходимого для увлажнения воздушной среды в расстойных шкафах и печах, а также идет на хозяйственные нужды мойку сырья, оборудования, помещений. Вода играет важную роль в технологии отложенной выпечки хлебных изделий и используется при замесе с получением оптимально развитого клейковинного каркаса для лучшей формы — и газоудерживающей способности; для получения холодного теста, что является основой для замедления начала процесса брожения, при этом брожение должно быть сведено к минимуму или полностью отсутствовать; количество воды влияет на консистенцию теста для лучшей формоустойчивости во время размораживания. Также низкотемпературный процесс, глубокая заморозка сильно влияет на структурно-механические свойства теста и качество готового продукта. При определенных параметрах замораживания структура внутриклеточной воды дрожжей может привести к снижению их активности, а то и к гибели микроорганизмов. Поэтому, вопросы качества и количества воды на любой технологической операции в хлебобулочном производстве с отложенной выпечкой являются вопросами качества готовых изделий и очень актуальны.

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

Review article

WATER IN BAKERY PRODUCTION TECHNOLOGY PRODUCTS WITH DELAYED BAKERY

Yakov G. Verkhivker, Elena M. Myroshnichenko, Olga V. Petkova

Odessa National Academy of Food Technologies, Odessa, Ukraine

KEY WORDS:*water treatment, delayed baking, dough kneading, yeast, freezing, product quality***ABSTRACT**

In bakery water is used as a solvent for salt, sugar and other raw materials: for dough preparation, preparation of liquid yeast, starter cultures; goes for household needs cleaning of raw materials, equipment, premises, for heat engineering purposes — the production of steam necessary to humidify the air in proofing cabinets and ovens. Water plays an important role in the technology of delayed baking of bread products or in the technology of frozen semi-finished products: it is used during kneading to obtain an optimally developed gluten frame for better form and gas holding capacity; to obtain cold dough, which is the basis for slowing down the onset of the fermentation process, while fermentation should be minimized or completely absent; the amount of water affects the consistency of the dough for better dimensional stability during defrosting. Also, a low-temperature process, deep freezing strongly affects the structural and mechanical properties of the dough and the quality of the finished product; secondly, under certain parameters of freezing, the structure of the intracellular water of yeast can lead to a decrease in their activity, and even to the death of microorganisms. Therefore, the issues of the quality and quantity of water at any technological operation in bakery production with delayed baking are issues of the quality of finished products and therefore are very relevant.

1. Введение

В технологии отложенной выпечки используется явление низких температур, чтобы замедлить процесс брожения или полностью его остановить. Технология «шоковой» быстрой заморозки теста перед окончательной выпечкой в течение ограниченного периода времени позволяет не только отложить выпечку, но и позволяет вывести выпечку за пределы предприятия.

Основным принципом технологии отложенного выпекания является очень быстрое охлаждение продукта до температуры ниже минус 3 °С с последующим дальнейшим снижением температуры, при котором вода, содержащаяся

ся в хлебе, замерзает, а также для ограничения и исчезновения ферментативных, окислительных, микробиологических превращений.

Во время обычной заморозки все молекулы воды превращаются в кристаллы. Чем быстрее процесс замораживания, тем меньшего размера эти кристаллы. Только при микрокристаллизации воды молекулы продукта не разрушаются. Шоковые морозильные камеры, благодаря мощной системе заморозки с воздухом при температуре минус 40 °С, позволяют достигнуть температуры минус 18 °С в сердцевине продуктов менее чем за 240 минут: максимальное время, в течение которого необходимо осуществить процесс шоко-

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Верхивкер, Я.Г., Мирошниченко, Е.М., Петькова, О.В. (2021). Вода в технологии производства хлебобулочных изделий с отложенной выпечкой. *Пищевые системы*, 4(1), 31–39. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-31-39>

FOR CITATION: Verkhivker, Ya.G., Mirishnichenko, E.A., Petkova, O.V. (2021). Water in bakery production technology products with delayed bakery. *Food systems*, 4(1), 31–39. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-31-39>

вой заморозки для получения микро-кристаллизации воды, сохранив, таким образом, неизменные органолептические свойства продукта.

За счет большой скорости замораживания и превращения воды из жидкого состояния в твердое сокращается и период активности бактерий, так как бактерии ведут свою жизнедеятельность только в присутствии воды в жидком виде. Бактерии разных типов имеют неодинаковые температурные пределы жизнедеятельности. При медленной заморозке в продуктах появляются следы жизнедеятельности каждого из типов бактерий, в то время как при шоковой заморозке многие из них просто не успевают развиваться. Тем самым сроки хранения быстрозамороженных продуктов выше, чем продуктов, замороженных в обычных камерах. После размораживания не произойдет потери жидкости, не изменятся консистенция и вкус продукта. Шоковая заморозка дает ряд преимуществ по сравнению с обычным, традиционным способом замораживания продуктов, а именно: уменьшение потерь массы продукта; увеличение сроков хранения; значительная экономия времени.

Благодаря свойствам воды при низких температурах стало возможным разработка технологии производства хлебобулочных изделий с отложенной выпечкой. Вода оказывает большое влияние на качество готового продукта и эффективность процесса заморозки. Необходимо обязательно проводить подготовку и контроль этого компонента по физико-химическим (наличие солей жесткости), микробиологическим показателям, рецептурного количества, параметров воды перед замесом теста. Поэтому вопросы водоподготовки, рецептур хлебобулочных изделий, параметров воды в технологии отложенной выпечки играют важную роль и влияют на качество готовой выпечки [1,2,3,4].

2. Основная часть

Предварительная подготовка воды. Вода, применяемая при производстве хлебобулочных изделий, должна удовлетворять всем требованиям, предъявляемым к питьевой воде в соответствии с действующей нормативно-технической документацией.

Согласно этим требованиям вода должна быть прозрачной, бесцветной, не иметь постороннего запаха и вкуса, должна быть безопасна в эпидемиологическом и радиационном отношении, безвредна по химическому составу и иметь благоприятные органолептические показатели. На каждый вид безопасности и чистоты воды утверждены нормативы предельно допустимых концентраций (ПДК).

Безопасность воды в эпидемиологическом отношении определяется соответствующими нормативами по микробиологическим и паразитологическим показателям. Согласно требованиям микробиологической чистоты воды общее число микроорганизмов в 1 мл воды не должно превышать 100, а число бактерий группы кишечных палочек в 1 л воды — не более 3. Число образующих колонии бактерий в 1 мл (при определении общего микробного числа) не должно превышать 50 [5].

Существенное значение при производстве хлебных изделий отложенной выпечки имеет такой физико-химический показатель, как жесткость воды. Воду для замеса необходимо брать чистую, имеется в виду не сильно насыщенную минеральными солями или коагулянтами. Возможно, использование простой водопроводной воды, если только она излишне не фторирована и не хлорирована.

Жесткость воды характеризуется содержанием в ней растворимых солей кальция и магния. Величине жесткости воды 1 моль/м³ соответствует массовая концентрация эквивалентов ионов кальция 20,04 г/м³ и ионов магния

12,153 г/м³. Различают следующие виды жесткости воды: общая, карбонатная, некарбонатная, устранимая и неустраиваемая.

Например, общая жесткость воды выражается суммой молярных концентраций эквивалентов ионов кальция (1/2Ca²⁺) и магния (1/2Mg²⁺) в воде.

Величина общей жесткости питьевой воды не должна превышать 7 моль/м³.

Жесткость воды для хлебопекарного производства не является недостатком, так как умеренно жесткая вода благоприятно влияет на реологические свойства теста, улучшая его консистенцию. Чрезмерно жесткая вода замедляет процесс спиртового брожения, при использовании мягкой воды тесто приобретает свойства невыброженного полуфабриката. В то же время мягкая вода оказывает расслабляющее действие на свойства теста и соответственно клейковины, а также снижает интенсивность брожения.

Жесткая вода улучшает реологические свойства клейковины и теста из слабой муки. В случае применения хлорированной воды важно знать содержание в воде остаточного хлора, обладающего окислительным действием и поэтому также укрепляющего слабую клейковину.

Типичная технология подготовки воды может состоять из следующих этапов: предварительная фильтрация с использованием механического оборудования, обезжелезивание, к которому может быть добавлена деманганация, удаление солевых примесей, повышающих жесткость, обработка ультрафиолетом.

Структурная схема системы очищения воды зависит от ее источника (подземного или поверхностного, центральное водоснабжение), а также от результатов ее исследования. После изучения указанных характеристик определяется совокупность технологий, которые будут применяться в конкретном случае.

Основные задания, которые предстоит решить при подготовке воды к выпечке кондитерской и хлебобулочной продукции, а также меры по приведению этого сырья должны состоять из:

- ☐ оптимизации органолептических показателей: осветление, устранение мутности и запаха, снижение цветовой интенсивности;
 - ☐ регулировании минерального состава: минерализация воды, частичная или полная;
 - ☐ уменьшение жесткости и щелочности;
 - ☐ снижение концентрации содержания в воде марганца и железа;
 - ☐ уничтожение бактерий и микробов;
 - ☐ очищение от органических добавок и коррекция окисляемости перманганатом;
 - ☐ выведение солевых соединений тяжелых металлов;
 - ☐ удаление радона и других химических элементов, обладающих радиационной активностью;
 - ☐ приведение уровня кислотно-щелочного баланса в норму.
- Для обработки воды должны применяться следующие технологии:
- ☐ воздействие на воду гипохлоритом кальция и натрия;
 - ☐ деманганация и обезжелезивание методом использования каталитических наполнителей;
 - ☐ сорбция;
 - ☐ осветление;
 - ☐ смягчение катионизированным натрием;
 - ☐ озонирование;
 - ☐ использование ультрафильтрации;
 - ☐ деминерализация, смягчение методом обратного осмоса;
 - ☐ обогащение воды кислородом (напорное и безнапорное);
 - ☐ обработка ультрафиолетом с целью ее обеззараживания [5].

Использование воды в технологии производства хлебобулочных изделий.

Роль и свойства воды важны на всех стадиях технологического процесса, определяя свойства полуфабрикатов, степень интенсивности комплекса процессов их созревания. Образование из муки и воды теста является процессом пластификации сухих, твердых гидрофильных химических соединений зерна, в котором вода выступает веществом, «расклинивающим», ослабляющим и разрушающим внутренние связи между молекулами и агрегатами с последующей заменой их водородными связями.

Влагу коллоидных капиллярно-пористых тел, к которым относится мука, тесто и хлеб в зависимости от величины энергии связи можно разделить на четыре вида: химически связанная, адсорбционно-связанная, капиллярно-связанная и осмотически удерживаемая.

Процесс набухания муки проходит под действием осмотического поглощения влаги, при наличии внутри коллоидной частицы водорастворимых веществ. Разность концентраций на границе дисперсных фаз создает разность осмотического давления, под воздействием которого влага проникает внутрь коллоидной частицы. Поглощение влаги таким путем называется сорбцией или набуханием. Поглощение влаги набухания происходит без выделения тепла и концентрации, но вызывает увеличение объема и изменяет давление набухания. Помимо адсорбционно и осмотически поглощенной влаги в коллоидных капиллярно-пористых материалах может находиться капиллярная влага, удерживаемая силами макро- и микрокапилляров. Вода, удерживаемая этими силами, обладает незначительной энергией связи с материалом, обусловливаемой силами поверхностного натяжения. Этот вид воды называется свободной влагой. В гидролитических процессах, протекающих в тесте и хлебе, участвует вода, способная вступать в химические реакции, то есть свободная.

В пшеничном тесте нормальной консистенции содержится около 0,19 г связанной воды на 1 г с. в., что соответствует 35% массы воды, находящейся в тесте. Свободная вода появляется при влажности водно-мучной смеси 24%, увеличение влажности до 59,5% не приводит к увеличению содержания связанной в нем воды. В тесте из пшеничной муки около 65% воды находится в свободном состоянии и участвует в биохимических реакциях [6,7].

Вода является одним из основных ингредиентов теста. Соотношение воды и муки оказывает существенное влияние на основные свойства теста (вязкость, пластичность, растяжимость, упругость и т. д.) и, в конечном итоге, на качество хлеба.

Водопоглощательная способность муки (ВПС) является важнейшим показателем, от которого зависят свойства теста, ход технологического процесса, качество хлеба, выход готовой продукции, технико-экономические показатели производства.

Водопоглощательную способность муки определяют отношением количества воды, поглощаемой мукой с учетом ее расчетной влажности при условии получения теста требуемой консистенции (500 единиц фаринографа) и этот показатель зависит от количества поглощаемой воды отдельными компонентами. Чем суше мука, тем больше воды она может поглотить при замесе. Поэтому нормы выхода хлеба устанавливаются на муку с определенной «базисной» влажностью (14,5%) и соответственно корректируются при выработке хлеба из муки с меньшей или большей влажностью.

Количество воды в пшеничном тесте зависит от ряда условий:

— вид изделий в значительной мере определяет количество воды в тесте. Для каждого вида хлебных изделий

стандартом установлена предельно допустимая влажность мякиша или целого изделия. Норма предельно допустимой влажности данного изделия определяет и максимальную влажность теста, а в связи с этим (с учетом рецептуры теста и влажности муки) и количество воды, добавляемое на 100 кг муки. Наименьшую влажность имеет тесто для бараночных изделий, наибольшую — для формового хлеба из обойной муки; выход муки также влияет на количество воды в тесте. Чем выше выход муки, тем больше воды может содержаться в тесте. Обусловлено это тем, что частицы оболочек зерна, содержащиеся в муке высоких выходов, обладают способностью связывать воду в большем количестве, чем частицы эндосперма [8,9].

Количество сахара и жира, добавляемых в тесто по рецептуре, существенно влияет на количество воды, которое следует добавлять при замесе теста. Чем больше в тесте сахара и жиров, тем соответственно меньше требуется воды. При добавлении в тесто сахара, содержащего всего лишь десятые доли процента влаги, и, следовательно, более «сухого» чем мука, тесто все же как бы разжижается и в результате этого снижается количество воды, которое нужно было бы добавить для получения теста нормальной консистенции. Дегидратирующее действие сахароз приводит к разжижению теста вследствие того, что количество воды, осмотически связанной белками в тесте, при добавлении сахаров уменьшается, поэтому содержание жидкой фазы теста увеличивается и тесто становится более «жидким». Внесение в тесто жира также несколько разжижает его. Поэтому при внесении в тесто значительных количеств сахара и жиров приходится соответственно сокращать количество воды, добавляемой при замесе. Если в рецептуру теста входит молоко, содержащее около 88% воды, или яйца, количество воды в тесте также приходится соответственно сокращать.

Сила муки обуславливает реологические свойства теста из нее. Поэтому чем сильнее пшеничная мука, тем относительно выше количество воды, которое следовало бы вносить в тесто для получения хлеба с наибольшим объемом и лучшей пористостью.

При переработке слабой муки свойства теста в период брожения сильно ухудшаются. Тесто разжижается и становится липким, что затрудняет или даже делает практически невозможным прохождение кусков теста через округлительные и закаточные машины. При расстойке тестовые заготовки очень быстро и сильно расплываются.

В связи с этим количество воды, вносимой в тесто из слабой муки, приходится снижать, и тесто готовят с влажностью, часто даже меньшей, чем это допустимо с точки зрения норм влажности мякиша данного сорта изделий. Это, естественно, влечет за собой снижение выхода изделий и ухудшение экономических показателей их производства [10].

На количество воды в тесте влияют также способы приготовления теста, технологические режимы, применение улучшителей и другие факторы.

Так, применение интенсивного замеса или усиленной механической обработки теста повышает водопоглощательную способность муки вследствие, вероятно, перераспределения воды между белковыми веществами и крахмалом. При использовании заварок повышается водопоглощательная способность теста в связи с увеличением связывания воды клейстеризованным крахмалом.

Пищевые добавки-улучшители влияют на реологические свойства теста. При интенсификации окислительных процессов в тесте в результате действия определенных улучшителей водопоглощательная способность теста повышается [11,12].

Внесение воды в тесто имеет важное значение для процессов, происходящих на всех стадиях приготовления хлеба. При участии воды осуществляется сложный комплекс биохимических реакций.

От количества воды зависят процессы жизнедеятельности дрожжей и других микроорганизмов, скорость их размножения, интенсивность спиртового и молочнокислого брожения. Вода с pH выше 8 из-за большего содержания в ней щелочных солей нейтрализует кислоты, образующиеся при брожении, и негативно влияет на жизнедеятельность дрожжей. [13].

Учитывая важную технологическую роль влажности полуфабрикатов, воду включают в комплекс контролируемых показателей их качества, потому что влажность теста фактически предопределяет влажность мякиша хлеба, регламентируемую стандартом.

Выпечка — это постепенный прогрев расстойшихся тестовых заготовок при радиационно-конвективном подводе теплоты. В печи их объем увеличивается до постоянного — на поверхности образуется прочная корочка. Ее окраска и толщина во время выпечки постоянно меняются. Происходит упрочнение мякиша и образование структуры, характерной для готового хлебобулочного изделия. Распространение теплоты идет от корки к внутренним слоям теста.

Процесс выпечки может быть разбит на три этапа: I — увлажнение, II — основная выпечка, III — допекание. Они характеризуются температурой и относительной влажностью среды пекарной камеры соответственно: $t = 100\text{--}120^\circ\text{C}$, $w = 60\text{--}70\%$, $t = 200\text{--}260^\circ\text{C}$, $w = 0\%$, $t = 160\text{--}180^\circ\text{C}$, $w = 0\%$. Тестовые заготовки, поступая в пекарную камеру, попадают в увлажненную зону, влагообмен в этой зоне происходит в силу того, что температура тестовых заготовок $29\text{--}30^\circ\text{C}$ (ниже точки росы), поэтому влага конденсируется на поверхности и частично поглощается тестовыми заготовками, масса которых при этом увеличивается, примерно, на 1%.

Этот процесс имеет большое технологическое значение. Если влаги в первой зоне пекарной камеры мало, то интенсивно образуется корка, а объем тестовых заготовок продолжает расти. При этом на поверхности образуются подрывы. Иногда бесконтрольно увеличивают объем пара, подаваемого в первую зону печи. При этом корка получается тонкой и при хранении морщится и ломается.

Увлажнение тестовых заготовок должно происходить максимум 5 мин., причем каждому виду изделий соответствует своя степень увлажнения. Сорбция влаги тестовыми заготовками зависит от температуры и степени увлажнения пекарной камеры, свойств тестовых заготовок и т. д.

После прогрева тестовых заготовок до 100°C происходит постепенное испарение влаги с поверхности до тех пор, пока влажность корки не будет равна 0. Корка имеет низкую влаго- и теплопроводность, следовательно, необходимо повышать температуру, когда тестовые заготовки поступают во II зону выпечки.

Во II зоне выпечки температура пекарной камеры повышается от 100°C до $200\text{--}260^\circ\text{C}$, корка стабилизируется, прогрев идет от поверхности к центру. Когда влажность корки станет равной 0, нарушается равновесие между наружными и внутренними слоями. За счет диффузии влага начинает мигрировать от центра к периферийным слоям.

Но низкая влаго- и теплопроводность корки оказывает сопротивление этому перемещению. В это время от периферии к центру влага будет перемещаться под напором температурного градиента (явление термовлагопроводности). Так как разность температур значительна, перемещение влаги к центру происходит интенсивнее. Поэтому в центральной части хлеба влажность на 2–3% больше начальной. Во II зоне

перенос массы влаги термовлагопроводностью больше, чем за счет диффузии. После образования корки испарение перемещается в подкорковое пространство и медленно углубляется к центру.

В отличие от II зоны, III зона характеризуется более низкой температурой. Перемещение влаги за счет диффузии и термовлагопроводности выравнивается, подкорковый слой имеет температуру до 100°C , а центр хлеба $98\text{--}99^\circ\text{C}$.

Гидролиз части крахмала и белков под действием амиолитических и протеолитических ферментов увеличивается. Декстрины, образовавшиеся при гидролизе крахмала на поверхности тестовых заготовок, растворяются в конденсате, способствуя образованию глянца корки. Когда температура корки достигает 100°C , начинают развиваться окислительно-восстановительные реакции между сахарами, кислотами и белками. В результате интенсивно протекает реакция меланоидинообразования, придающая корке окраску, аромат и вкус.

При приготовлении теста белки интенсивно поглощают влагу, примерно в 2 раза больше собственной массы. После посадки тестовых заготовок в печь при достижении $45\text{--}50^\circ\text{C}$ белки начинают денатурироваться, при этом выделяется влага. Денатурация белков прекращается при $60\text{--}65^\circ\text{C}$. Крахмал поглощает теряемую белками влагу, за счет чего набухает и при $68\text{--}72^\circ\text{C}$ клейстеризуется. Но для полной клейстеризации не хватает воды, которой нужно в 2–3 раза больше, чем есть в тесте. Такая ограниченная клейстеризация крахмала протекает до конца выпечки.

Денатурация белков и клейстеризация крахмала приводит к образованию мякиша хлеба. После посадки тестовых заготовок в печь их объем быстро увеличивается примерно на 10–30%, чему способствует эластичность корки. Роль корки заключается в том, что она служит препятствием для удаления CO_2 и проникновения микроорганизмов при хранении [14,15,16].

Одним из основных показателей, по которому потребитель оценивает качество хлеба — является степень его свежести или черствости, сжимаемость мякиша.

Черствение хлеба определяют по изменениям структурно-механических свойств мякиша и корки, которая теряет твердость и блеск, принимая влагу из мякиша и окружающего воздуха. Как видим, здесь большую роль тоже играет вода. Клейстеризованный в процессе выпечки крахмал с течением времени выделяет поглощенную им влагу и переходит в прежнее состояние, характерное для крахмала муки. Крахмальные зерна при этом уплотняются и значительно уменьшаются в объеме, между ними образуются воздушные прослойки. Поэтому черствеющий мякиш становится крошковатым. Свободная влага, выделенная крахмалом, при черствении изделия впитывается белками и частично испаряется, а также остается в образовавшихся воздушных прослойках. Клейковина в процессе черствения хлеба не является инертной: она прочнее, чем крахмал, связывает влагу, а следовательно, и труднее выделяет ее. Процессу черствения хлеба сопутствуют изменения в белковой части мякиша, приводящие к уплотнению его структуры и снижению гидратационной способности. Однако эти изменения происходят в 4–6 раз медленнее по сравнению со скоростью старения крахмала, которого в 5–7 раз больше, чем белка. Поэтому можно считать, что в процессе черствения хлеба основную роль играют изменения крахмала мякиша.

Хлебобулочные изделия относятся к традиционным и важнейшим продуктам питания человека. Современное общество предъявляет определенные требования к ассортименту и качеству хлебобулочных изделий. Особым спросом пользуются продукты питания, имеющие профилактиче-

скую направленность. К ним можно отнести хлебобулочные изделия с использованием различных растительных добавок, плодовоовощных начинок, содержащих широкий спектр углеводов, азотистых веществ, глюкозидов, витаминов, минеральных солей, органических кислот, дубильных и ароматических веществ. Важен также способ переработки и хранения полученных полуфабрикатов. Одной из перспективных технологий в хлебопекарной промышленности является технология приготовления хлебобулочных изделий из замороженных полуфабрикатов. Замороженные хлебобулочные изделия представляют собой продукты, предварительно замороженные до температуры, составляющей минус 18 °С. Они могут быть в сыром виде, а могут быть частично приготовленными. Важен интенсивный замес теста, температура которого должна быть 16–20 °С. Для этого используют ледяную воду и сухой лед. Брожение теста после замеса должно быть сведено к минимуму. Дрожжи используются свежие. Вносятся они за 3–5 минут до окончания замеса и очень активно перемешивают для равномерного распределения. Количество дрожжей увеличено, по сравнению с традиционным замесом. Для хлебобулочных это 5–7%, для сдобных 7–10%. Норма закладки дрожжей зависит от продолжительности хранения замороженных тестовых полуфабрикатов. Количество соли также увеличивается до 2% к массе муки. Соль замедляет окисление в начале замеса, замедляет брожение, удерживает воду и способствует получению тонкой корочки [17].

Глубокая заморозка — это основная стадия в технологии изготовления замороженных тестовых полуфабрикатов. Для процесса замораживания используют камеры «шоковой» заморозки различного типа в зависимости от объема производства: тупиковые, тоннельные или спиральные. Важно, чтобы были соблюдены все необходимые параметры, обеспечивающие качество конечного продукта. Наличие циркуляции воздуха в шоковой камере в совокупности с оптимально низкой температурой обеспечивают необходимую кинетику промерзания тестовой заготовки. Продолжительность замораживания тестовых полуфабрикатов должна обеспечивать температуру в центре минус 12–18 °С. Также процесс будет зависеть и от самого полуфабриката (форма и размер). Чем больше удельная поверхность заготовки, тем равномернее идет замораживание (рекомендуется изготавливать батонобразные или плоские заготовки массой не более 300 г). Скорость промерзания зависит и от рецептуры изделия. Наличие сахара снижает температуру кристаллизации воды, то есть переход ее из жидкого состояния в твердое произойдет гораздо позже по сравнению с тестовой заготовкой из простого теста.

Во время обычной заморозки все молекулы воды превращаются в кристаллы. Чем быстрее процесс замораживания, тем меньшего размера эти кристаллы. Только при микрокристаллизации воды молекулы продукта не разрушаются. Шоковые морозильные камеры, благодаря мощной системе заморозки с воздухом при температуре минус 40 °С, позволяют достигнуть температуры минус 18 °С в центре продуктов менее чем за 240 минут: максимальное время, в течение которого необходимо осуществить процесс шоковой заморозки для получения микрокристаллизации, сохранив таким образом неизменные органолептические свойства продукта. За счет большой скорости замораживания сокращается и период активности бактерий. Бактерии разных типов имеют неодинаковые температурные пределы жизнедеятельности. При медленной заморозке в продуктах появляются следы жизнедеятельности каждого из типов бактерий, в то время как при шоковой заморозке многие из них просто не успевают развиваться. Тем самым сроки хране-

ния быстрозамороженных продуктов выше, чем продуктов, замороженных в обычных камерах. После размораживания не произойдет потери жидкости, не изменятся консистенция и вкус продукта. Шоковая заморозка дает ряд преимуществ по сравнению с обычным, традиционным способом замораживания продуктов, а именно: уменьшение потерь массы продукта; увеличение сроков хранения; значительная экономия времени.

Для хлебобулочных изделий (хлебов ржаных, пшеничных, смешанной валки, мелкоштучных булочных и сдобных, пончиков, дрожжевых и бездрожжевых слоеных, пицц и т. д.) могут быть использованы следующие варианты отложенных и шоковых технологий:

- ☐ тестовые заготовки замедленной расстойки;
 - ☐ тестовые заготовки, замороженные после деления;
 - ☐ тестовые заготовки, замороженные после формования;
 - ☐ тестовые заготовки частично-расстойные;
 - ☐ расстойные замороженные тестовые полуфабрикаты;
 - ☐ частично выпеченные тестовые полуфабрикаты;
 - ☐ выпеченные изделия.
- Для мучных кондитерских изделий (пирогов, кексов, бисквитов, тортов и т. д.):
- ☐ выпеченные полуфабрикаты для тортов, пирожных, кексов;
 - ☐ выпеченные и декорированные изделия (помадами, кремами, фруктами и т. д.).

Самый простой и доступный способ — это технология замедленной расстойки.

Для технологии производства хлебобулочных изделий из замороженных полуфабрикатов важное место занимают вопросы состояния воды в замороженных продуктах, поскольку метод замораживания во всем мире является основным для длительного хранения пищи [18, 19, 20].

В технологии хлебопекарного производства широко используют замораживание с целью замедления или прерывания брожения теста и для сохранения готовой продукции. В настоящее время практикуют использование замораживания на различных стадиях технологического процесса: после замеса, на различных этапах расстойки и выпечки полуфабрикатов.

Основная проблема в криогенных технологиях хлебопечения — это ухудшение качества готовых изделий, в частности, уменьшение удельного объема и формоустойчивости, а также отделение корки от мякиша, ее ломкость и хрупкость. Замораживание полуфабрикатов хлебопекарного производства — это сложный процесс, приводящий к изменению их микробиологических, реологических (структурно-механических) и теплофизических свойств. Для оптимизации процесса производства хлебобулочных изделий на основе замороженных полуфабрикатов необходимы исследования комплекса процессов, происходящих на стадиях замораживания, хранения, дефростации, расстойки и выпечки. Особенно подвержены глубоким изменениям клейковинные белки, ферменты муки, клетки дрожжей и молочнокислых бактерий. Крахмал отличается резистентностью к низкотемпературной обработке, однако его разрушение происходит при замерзании воды, находящейся в крахмале. Изменения структурно-механических свойств теста происходит в результате рекристаллизации льда, вызывающей ослабление трехмерной белковой структуры, ответственной за газоудерживание в тесте. Отрицательное действие замораживания на структурно-механические свойства теста и качество готовых изделий связано, в основном, с повреждением белковой матрицы кристаллами льда, а также с другими факторами.

Лед, образующийся в тесте при замораживании, представляет собой вязкопластичную упругую среду со скачко-

образными изменениями физико-механических свойств на межфазовых границах. Пластолед имеет неоднородную макроструктуру: большие кристаллы льда с включениями вещества продукта образуют отдельные зерна, между которыми остаются локальные зоны растворов различных солей, такие же зоны имеются внутри ледяных зерен. Следует учитывать, что при замораживании и последующем хранении тесто под влиянием различных процессов претерпевает изменения. Поэтому исходные свойства продуктов при размораживании восстанавливаются не полностью. Воздействие процессов замораживания и размораживания на качество продуктов в размороженном состоянии исследователи объясняют с позиций теории кристаллизации воды. Скорость замораживания является решающим фактором, влияющим на количество, размеры и равномерность распределения кристаллов льда в тесте. От размеров кристаллов зависит степень сохранения целостности естественной структуры теста. Степень разрушения структурных элементов теста зависит также от глубины автолитических процессов в момент замораживания. Кроме того, в процессе хранения происходят увеличение кристаллов льда, дальнейшее углубление автолитических процессов, явление «старения» белковых коллоидных систем и мембран клеток дрожжей, что отрицательно влияет на конечный продукт. Изменения коллоидной структуры теста, вызываемые перераспределением воды и увеличением концентрации жидкой фазы при замораживании, отражаются на величине влагосвязывающей способности после их размораживания. Они тем больше, чем выше скорость и ниже температура замораживания. Основными причинами, вызывающими образование воды в процессе замораживания-размораживания, являются: денатурация белков в результате отделения воды от белковой субстанции; рост концентрации минеральных веществ в растворах, содержащихся внутри и вне волокон и т. д. Степень воздействия указанных факторов определяется скоростью кристаллообразования и глубиной фазового превращения воды. Для того чтобы восстановилось содержание влаги в тесте, влага должна сначала пройти фазовое превращение (лед–вода), а затем проникнуть и восстановиться в тех белковых субстанциях и коллоидных системах, из которых она диффундировала в межклеточное пространство при замораживании и хранении с помощью диффузионно-осмотических сил. Способность белковых субстанций и коллоидных систем поглощать и связывать эту влагу определяется их биологической активностью, которая зависит от режимов холодильной обработки продуктов, включая и размораживание [21,22,23,24]. В технологиях с отложенной выпечкой для хлебобулочных изделий можно использовать в качестве начинки различные плодоовощные полуфабрикаты в виде пюре концентрированного, смеси кусочков плодов и овощей с пюре. Такие начинки можно хранить отдельно от тестовых заготовок и вместе с ними.

В случае отдельного хранения начинки — полуфабрикаты консервируют асептическим способом.

При асептическом консервировании продукт кратковременно стерилизуют в тонком слое «в потоке» при повышенной температуре, быстро охлаждают и фасуют в стерильных условиях в предварительно стерилизованную тару с укупоркой в асептических условиях [25,26,27].

Стерилизация «в потоке» при асептическом фасовании позволяет значительно упростить процесс нагревания и быстро охладить продукт, что особенно важно для пюре, имеющего высокую вязкость и густую консистенцию. Основными параметрами, характеризующими процесс стерилизации, являются температура, до которой нужно нагреть стерилизуемый продукт, и время выдержки, в течение которого продукт подвергается нагреву. Температура стерилизации зависит от величины pH и от кислотности стерилизуемого продукта. Чем выше кислотность продукта, тем меньше значение активной кислотности (pH) и тем ниже может быть температура стерилизации, так как микроорганизмы очень чувствительны к величине активной кислотности среды. В кислых продуктах многие патогенные микроорганизмы не могут развиваться [28,29,30,31].

Низкокислотные жидкие продукты питания больше подвержены воздействию микроорганизмов и патогенных бактерий, чем высококислотные продукты (например, фруктовые соки). Асептическая технология позволяет не менее шести месяцев сохранять продукты питания безопасными и свежими без охлаждения или добавления консервантов. Продукты питания лучше сохраняют цвет, текстуру, вкус и пищевую ценность.

Наряду с сохранением исходных свойств продукта и значительным сокращением продолжительности обработки асептическое консервирование имеет ряд достоинств:

- обеспечение одинакового качества консервируемого продукта при неизменном режиме стерилизации независимо от размеров и формы тары, так как передача теплоты через слой продукта разной толщины исключена;
- увеличение без ущерба для качества сроков хранения консервированных продуктов, так как в результате кратковременной стерилизации достигается их полная стерильность и более точный контроль стерилизации, так как регулируемая величина — температура стерилизуемого продукта, а не теплоносителя (как в автоклавах);
- значительная экономия средств за счет непрерывности и кратковременности стерилизации, охлаждения, автоматизации производственного процесса, значительного сокращения расхода пара, воды, электроэнергии и производственных площадей на единицу продукции и более высокий коэффициент безопасности обслуживания оборудования технологических линий [32,33,34].

Плодоовощные полуфабрикаты содержат до 90% воды, в связи с этим, при замораживании их в свежем состоянии возникают такие же вопросы, что и при замораживании теста [35,36,37,38].

При использовании плодоовощных полуфабрикатов в свежем состоянии без тепловой обработки, как в случае с применением асептического консервирования, появляется возможность заполнять начинкой подготовленные для выпечки изделия и замораживать тестовые полуфабрикаты уже в готовом для выпекания виде. Такой способ производства, позволяющий с одной стороны, значительно экономить энергетические затраты, так как не требует тепловой обработки начинки как в случае использования асептического метода, а с другой стороны требует дополнительного расхода энергии на охлаждение возросшего, за счет начинки, количества продукции, подготовленной для отложенного выпекания.

3. Выводы

Таким образом, вода и ее качественные показатели в технологии производства хлебобулочных изделий с отложенной выпечкой оказывает большое влияние на качество готовой продукции — это вопросы состояния воды в замороженных продуктах; органолептические, физико-химические, микробиологические показатели, жесткость воды, ее технологические параметры и рецептурное количество.

Технология шоковой заморозки обеспечивает сохранность качества свежего продукта и делает это лучше других

способов заготовки и хранения. Благодаря большому сроку хранения продуктов становится возможным лучше планировать производство и готовить заранее большое количество готовых продуктов и полуфабрикатов, избегая необходимости повторять приготовление каждый день.

В зависимости от вида хлебобулочных изделий и особенностей производства готовой продукции отложенного выпекания, может использоваться плодовоовощная начинка асептического хранения либо свежая, подвергнутая процессу глубокой заморозки.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Ureta, M. M., Diascorn, Y., Cambert, M., Flick, D., Salvadori, V. O., & Lucas, T. (2019). Water transport during bread baking: Impact of the baking temperature and the baking time. *Food Science and Technology International*, 25(3), 187–197. <https://doi.org/10.1177/1082013218814144>
- Кенийз, Н.В. (2014). Влияние технологических параметров на производство хлебобулочных полуфабрикатов. *Молодой ученый*, 10, 150–153.
- Лабутина, Н.В. (2004). Технология производства хлебобулочных изделий из замороженных полуфабрикатов. Смоленск: Универсум. — 236 с.
- Ким, Л. В. Основы замораживания, хранения и размораживания хлебобулочных изделий. Воронеж: Воронежский Государственный Университет. — 243 с.
- Мазур, П.Я. (2001). Вода в технологии приготовления хлеба. Воронеж: Воронежский Государственный Технический Университет. — 210 с.
- Кенийз Н. В. (2014). Определение содержания свободной и связанной влаги в тесте с добавлением криопротекторов. *Молодой ученый*, 4, 187–189.
- Кенийз, Н.В., Сокол, Н.В. (2014). Изучение состояния влаги в тесте с криопротекторами, методом ядерно-магнитного резонанса. *Политематический сетевой электронный научный журнал Кубанского Государственного Аграрного Университета*, 98, 416–428.
- Ермош, Л.Г., Березовикова, И.П. (2012). Технология хлебобулочных изделий из замороженных полуфабрикатов с использованием муки из топинамбура. *Техника и технология пищевых производств*, 4(27), 11–17.
- Zhou, Y.-G., Li, D., Wang, L.-J., Li, Y., Yang, B.-N., Bhandari, B. et al. (2009). Effect of water content on thermal behaviors of common buckwheat flour and starch. *Journal of Food Engineering*, 93(2), 242–248. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.01.021>
- Кенийз, Н. В. Сокол, Н.В. (2014). Влияние различных криопротекторов на реологию теста для полуфабрикатов. *Молодой ученый*, 10, 147–150.
- Корчагин, В.И., Дерканосова, Н.М., Сербулов, Ю.С. (1999). Разработка подхода к выбору полифункциональных добавок в производстве хлебобулочных и мучных кондитерских изделий. *Хранение и переработка сельхозсырья*, 8, 27–29.
- Китаевская, С. В., Решетник, О. А. (2013). Применение ферментных препаратов в технологии хлебобулочных изделий на основе замороженных полуфабрикатов. *Вестник Казанского технологического университета*, 16(24), 91–94.
- Китаевская, С.В., Решетник, О. А. (2006). Биотехнологические основы использования криорезистентных микроорганизмов в хлебопечении. Казань: Казанский Государственный Технологический Университет. — 268 с.
- Дмитриева, Ю.В., Андреев, А.Н. (2016). Влияние различных технологий отложенной выпечки и улучшителей на качество круассанов. *Научный журнал НИУ ИТМО. Серия: Процессы и аппараты пищевых производств*, 3, 39–47.
- Thania, N.M., Kamala, M.M., Sulaimana, A., Taipa, F.S., Omarb, R. (2020). Consumers' delayed consumption of bakery products: Effect on physical and chemical properties. *Journal of Agricultural and Food Engineering*, 1(2), 1–6. <http://doi.org/10.37865/jafe.2020.0013>
- Богер, В.Ю., Романов, А.С., Мартыненко, Н.С. (2012). Технология производства мелкоштучных булочных изделий на основе частично выпеченных полуфабрикатов. *Техника и технология пищевых производств*, 1, 14–19.
- Hozová, B., Turicová, R., Lenkeyová, I. (2002). Microbiological and sensory quality of stored croissant-type bakery products depending on external (sorbic acid) and internal (dough, aw value) conditions. *Nahrung — Food*, 46(3), 144–150. [http://doi.org/10.1002/1521-3803\(20020501\)46:3<144::AID-FOOD144>3.0.CO;2-X](http://doi.org/10.1002/1521-3803(20020501)46:3<144::AID-FOOD144>3.0.CO;2-X)
- Данилова, И. А. (2014). Виды замораживания хлебобулочных полуфабрикатов. *Молодой ученый*, 18, 233–235.
- Катусов, Д.Н., Шалыгина, Л.С. (2017). Производство замороженного хлеба. *Инновационная наука*, № 03–2, 35–37.
- Mikulec, A., Kowalski, S., Lukasiewicz, M. (2018). The impact of post-baked bread technology on the quality properties of kaiser rolls and in vitro starch digestibility. *Journal of Food Process Engineering*, 41(1), Article e12628. <http://doi.org/10.1111/jfpe.12628>
- Кенийз, Н.В., Сокол, Н.В. (2011). Влияние дефростации в технологии хлеба из замороженных полуфабрикатов на качество готового продукта. *Вестник НГИЭИ*, 2(2(3), 92–101.
- Лукина, О.В., Лукина, Д.В. (2013). Основы процесса дефростации и оценка качества размороженного полуфабриката и готовых хлебобулочных изделий. *Вестник Курганской ГСХА*, 4(8), 80–82.
- Кенийз, Н.В., Сокол, Н.В. (2014). Технология замороженных полуфабрикатов с применением криопротекторов. Саарбрюккен: Palmarium Academic Publishing. — 129 с.
- Кенийз, Н.В., Сокол, Н.В. (2014). Процесс замораживания хлебобулочных полуфабрикатов с добавлением криопротекторов и его влияние на структуру замороженных полуфабрикатов. *Молодой ученый*, 5, 67–70.
- Нариньянц, Г.Р., Пацок, Л.К., Костромина, Н.И., Лукашевич, О.Н. (2005). Технология асептического консервирования фруктовых полуфабрикатов для детского питания. *Пищевая промышленность*, 3, 20–21.
- Егорова, З.Е., Стигайло, И.Н., Зеленкова, Е.Н., Шачек, Т.М., Патей, Е.С. (2012, 24–25 мая). Соки с мякотью для детского питания на основе морковного сока прямого отжима асептического консервирования. Материалы Международной научно-практической конференции «Инновационные пищевые технологии в области хранения и переработки сельскохозяйственного сырья: фундаментальные и прикладные аспекты». Краснодар. 107–110.
- Toledo, R. T., Singh R. K., Kong F. (2018). Aseptic Processing. Chapter in a book: *Fundamentals of Food Process Engineering*. University of Georgia, 245–276. http://doi.org/10.1007/978-3-319-90098-8_9
- Pflug, I. J., Berry, M. R., Dignan, D. M. (1990). Establishing the heat-preservation process for aseptically-packaged low-acid food containing large particulates, sterilized in a continuous heat-hold-cool system. *Journal of Food Protection*, 53(4), 312–320 and 328. <http://doi.org/10.4315/0362-028X-53.4.312>
- Ramos, M. M. V., Wurlitzer, N. J., Machado, T. F., Sucupira, N. R., Modesto, A. L. G. (2015). Validation of an aseptic packaging system of liquid foods processed by uht sterilization. *Chemical Engineering Transactions*, 44, 331–336. <http://doi.org/10.3303/CET1544056>
- Ashwachi, P. Top 3 Methods Used for Preserving Food. Retrieved from <https://www.biologydiscussion.com/foods/preservation-foods/top-3-methods-used-for-preserving-food-microbiology/66132> Accessed February 02, 2021
- Ильина, Н.В., Расторгуева, В.В. (2019). Консервирование пищевых продуктов. *Научный электронный журнал Меридиан*, 16(34), 48–54.
- Верхивкер, Я.Г., Мирошниченко, Е.М. (2010). Асептическое консервирование пищевых продуктов. *Пищевая наука и технология*, 4(13), 25–26.
- Сенкевич, В.И. (2018). Методы и параметры определения режимов стерилизации при производстве консервов. *Аллея науки*, 2(9(25)), 295–302.
- Verkhivker, Ya.G., Myroshnichenko, E.M. (2015). Development parameter memory canning tomato sauces and ketchup in plastic containers. *Scientific Bulletin of the Lviv National University of Veterinary Medicine and biotechnology named after S. Z. Gzhytsky*, 17(4(64)), 32–41. (In Ukrainian)
- Берестова, А.В., Зинюхин, Г.Б., Манеева, Э.Ш. (2015). Особенности криообработки растительного сырья. *Вестник Оренбургского Государственного Университета*, 9(184), 130–136.
- Казанцева, М.А., Ярушин, А.М. (2009). Потребительские свойства импортных яблок из торговой сети Хабаровского края. *Хранение и переработка сельхозсырья*, 2, 55–56.
- Рогов, И.А., Куцакова, В.Е., Филиппов, В.И., Фролов, С.В. (2002). Консервирование пищевых продуктов холодом. М.: Колос. — 184 с.
- Глазков С. В., Копцев С. В., Лесникова Н. А., Богданова В. В., Володарская Т. К. (2018). Современные инновационные технологии хранения свежих фруктов и овощей и продуктов их переработки (обзор). *Овощи России*, 5, 84–89. <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2018-5-84-89>

REFERENCES

- Ureta, M. M., Diascorn, Y., Cambert, M., Flick, D., Salvadori, V. O., & Lucas, T. (2019). Water transport during bread baking: Impact of the baking temperature and the baking time. *Food Science and Technology International*, 25(3), 187–197. <https://doi.org/10.1177/1082013218814144>
- Keniyz, N.V. (2010). Influence of technological parameters on the production of bakery semi-finished products. *Young scientist*, 10, 150–153. (In Russian)
- Labutina, N.V. (2004). Technology for the production of bakery products from frozen semi-finished products. Smolensk: Universum. — 236 p. (In Russian)
- Kim, L.V. (1984). The basics of freezing, storing and defrosting baked goods. Voronezh: Voronezh State University Publishing House. — 243 p. (In Russian)
- Mazur, P.Y. (2001). Water in the technology of making bread. Voronezh: Voronezh State Technical University. — 210 p. (In Russian)

6. Keniyz, N.V. (2014). Determination of the content of free and bound moisture in the test with the addition of cryoprotectants. *Young scientist*, 4, 187–189. (In Russian)
7. Keniyz, N.V., Sokol, N.V. (2014). Study of moisture condition in dough with cryoprotectors by means of nuclear-magnetic resonance. *Polythematic online scientific journal of Kuban State Agrarian University*, 98, 416–428. (In Russian)
8. Ermosh, L.G., Berezovikova, I.P. (2012). Baked products from frozen semi-finished items with jerusalem artichoke flour. *Food processing: techniques and technology*, 4(27), 11–17. (In Russian)
9. Zhou, Y. -G., Li, D., Wang, L. -J., Li, Y., Yang, B. -N., Bhandari, B. at al. (2009). Effect of water content on thermal behaviors of common buckwheat flour and starch. *Journal of Food Engineering*, 93(2), 242–248. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2009.01.021>
10. Keniyz, N.V., Sokol, N.V. (2014). Influence of various cryoprotectants on the rheology of dough for semi-finished products. *Young scientist*, 10, 147–150. (In Russian)
11. Korchagin, V.I., Derkanosova, N.M., Serbulov, Yu.S. (1999). Development of an approach to the selection of multifunctional additives in the production of bakery and flour confectionery products. *Storage and processing of farm products*, 8, 27–29. (In Russian)
12. Kitaevskaya, S.V., Reshetnik, O.A. (2014). The use of enzyme preparations in the technology of bakery products based on frozen semi-finished products. *Bulletin of the Kazan Technological University*, 16(24), 91–94. (In Russian)
13. Kitaevskaya, S.V., Reshetnik, O.A. (2006). Biotechnological foundations of the use of cryoresistant microorganisms in baking. Kazan: Kazan State Technological University. — 268 p. (In Russian)
14. Dmitrieva, Yu.V., Andreev, A.N. (2016). The influence of delayed baking technologies and the use of improvers on croissant quality. *Processes and food production equipment*, 3, 39–47. (in Russian)
15. Thania, N.M., Kamala, M.M., Sulaimana, A., Taipa, F.S., Omarb, R. (2020). Consumers' delayed consumption of bakery products: Effect on physical and chemical properties. *Journal of Agricultural and Food Engineering*, 1(2), 1–6. <http://doi.org/10.37865/jafe.2020.0013>
16. Boger, V.U., Romanov, A.S., Martynenko, N.S. (2012). Small piece bakery goods production technology based on partially baked semi-finished products. *Food processing: techniques and technology*, 1(24), 14–19. (In Russian)
17. Hozová, B., Turicová, R., Lenkeyová, I. (2002). Microbiological and sensory quality of stored croissant-type bakery products depending on external (sorbic acid) and internal (dough, aw value) conditions. *Nahrung – Food*, 46(3), 144–150. [http://doi.org/10.1002/1521-3803\(20020501\)46:3<144::AID-FOOD144>3.0.CO;2-X](http://doi.org/10.1002/1521-3803(20020501)46:3<144::AID-FOOD144>3.0.CO;2-X)
18. Danilova, I.A. (2014). Types of freezing of bakery semi-finished products. *Young scientist*, 18, 233–235. (In Russian)
19. Katusov, D.N., Shalygina, L.S. (2017). Frozen bread production. *Innovation science*, 03–2, 35–37. (In Russian)
20. Mikulec, A., Kowalski, S., Lukasiewicz, M. (2018). The impact of postponed bread baking technology on the quality properties of kaiser rolls and in vitro starch digestibility. *Journal of Food Process Engineering*, 41(1), Article e12628. <http://doi.org/10.1111/jfpe.12628>
21. Keniyz, N.V., Sokol, N.V. (2011). The influence of defrosting in the technology of bread from frozen semi-finished products on the quality of the finished product. *Bulletin of NGIEI*, 2(2(3)), 92–101. (In Russian)
22. Lukina, O. V., Lukina, D. V. (2013). Fundamentals of defrosting process and quality assessment of defrozen semi-finished product and finished bakery products. *Bulletin of the Kurgan State Agricultural Academy*. 4(8), 80–82. (In Russian)
23. Keniyz, N.V., Sokol, N.V. (2014). The technology of frozen semi-finished products using cryoprotectants. Saarbrücken: Palmarium Academic Publishing. — 129 p. (In Russian)
24. Keniyz, N.V., Sokol, N.V. (2014). The process of freezing bakery semi-finished products with the addition of cryoprotectants and its effect on the structure of frozen semi-finished products. *Young scientist*, 5, 67–70. (In Russian)
25. Nariniyants, G.R., Patsyuk, L.K., Kostro, N.I., Lukashevich, O.N. (2005). Technology of aseptic preservation of fruit semi-finished products for baby food. *Food industry*. 3, 20–21. (In Russian)
26. Egorova, Z.E., Stigailo, I.N., Zelenkova, E.N., Shachek, T.M., Patey, E.S. (2012, 24–25 May). Juices with pulp for baby food based on directly squeezed carrot juice, aseptic preservation. Materials of the International scientific and practical conference “Innovative food technologies in the field of storage and processing of agricultural raw materials: fundamental and applied aspects”. Krasnodar. 107–110. (In Russian)
27. Toledo, R. T., Singh R. K., Kong F. (2018). Aseptic Processing. Chapter in a bok: Fundamentals of Food Process Engineering. University of Georgia, 245–276. http://doi.org/10.1007/978-3-319-90098-8_9
28. Pflug, I. J., Berry, M. R., Dignan, D. M. (1990). Establishing the heat-preservation process for aseptically-packaged low-acid food containing large particulates, sterilized in a continuous heat-hold-cool system. *Journal of Food Protection*, 53(4), 312–320 and 328. <http://doi.org/10.4315/0362-028x-53.4.312>
29. Ramos, M. M. V., Wurlitzer, N. J., Machado, T. F., Sucupira, N. R., Modesto, A. L. G. (2015). Validation of an aseptic packaging system of liquid foods processed by uht sterilization. *Chemical Engineering Transactions*, 44, 331–336. <http://doi.org/10.3303/CET1544056>
30. Ashwachi, P. Top 3 Methods Used for Preserving Food. Retrieved from <https://www.biologydiscussion.com/foods/preservation-foods/top-3-methods-used-for-preserving-food-microbiology/66132> Accessed February 02, 2021
31. Ilyina, N.V., Rastorgueva, V.V. (2019). Food preservation. *Scientific electronic journal Meridian*, 16(34), 48–54. (In Russian)
32. Verkhivker, Ya.G., Myroshnichenko, E.M. (2010). Aseptic food preservation. *Food science and technology*, 4(13), 25–26. (In Russian)
33. Senkevich, V.I. (2018). Methods and parameters for determining the sterilization modes in the production of canned food. *Alley of Science*, 2(9(25)), 295–302. (In Russian)
34. Verkhivker, Ya.G., Myroshnichenko, E.M. (2015). Development parameter memory canning tomato sauces and ketchup in plastic containers. *Scientific Bulletin of the Lviv National University of Veterinary Medicine and biotechnology named after S. Z. Gzhytsky*, 17(4(64)), 32–41. (In Ukrainian)
35. Berestova, A.V., Zinyukhin, G.B., Maneva, E. Sh. (2015). Features of cryoprocessing of vegetable raw materials. *Bulletin of Orenburg State University*, 9(184), 130–135. (In Russian)
36. Kazantseva, M.A., Yarushin, A.M. (2009). Consumer properties of imported apples from the Khabarovsk Territory retail chain. *Storage and processing of farm products*, 2, 55–56. (In Russian)
37. Rogov, I.A., Kutsakova, V.E., Filippov, V.I., Frolov, S.V. (2002). Cold preservation of food products. Moscow: Kolos. — 184 p. (In Russian)
38. Glazkov, S.V., Koptsev, S. V., Lesnikova, N. A., Bogdanova, V.V., Volodarskaya, T. K. (2018). Modern innovative technologies for storing fresh fruits and vegetables and their processed products (review). *Vegetable crops of Russia*, 5, 84–89. <https://doi.org/10.18619/2072-9146-2018-5-84-89> (In Russian)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Верхивкер Яков Григорьевич — доктор технических наук, профессор, кафедра биоинженерии и воды, Одесская национальная академия пищевых технологий Украина, Одесса, ул. Канатная, 112. E-mail: yaverkhivker@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2563-4419 * автор для контактов	Yakov G. Verkhivker — doctor of technical sciences, professor, Department of Bioengineering and Water, Odessa National Academy of Food Technologies, 65039, str. Kanatnaya, 112, Odessa, Ukraine E-mail: yaverkhivker@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2563-4419 * corresponding author
Мирошниченко Елена Михайловна — кандидат технических наук, доцент, кафедра биоинженерии и воды, Одесская национальная академия пищевых технологий Украина, Одесса, ул. Канатная, 112. E-mail: kushnir.kamenka@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7376-8008	Elena M. Myroshnichenko — candidate of technical sciences, docent, Department of Bioengineering and Water, Odessa National Academy of Food Technologies, 65039, str. Kanatnaya, 112, Odessa, Ukraine E-mail: kushnir.kamenka@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7376-8008
Петькова Ольга Васильевна — аспирант, кафедра биоинженерии и воды, Одесская национальная академия пищевых технологий Украина, Одесса, ул. Канатная, 112. E-mail: petkovaolha@gmail.com	Olga V. Petkova — graduate student, Department of Bioengineering and Water, Odessa National Academy of Food Technologies, 65039, str. Kanatnaya, 112, Odessa, Ukraine E-mail: petkovaolha@gmail.com
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат	Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов	The authors declare no conflict of interest
Поступила 16.02.2021	Received 16.02.2021
Поступила после рецензирования 18.03.2021	Accepted in revised 18.03.2021
Принята в печать 25.03.2021	Accepted for publication 25.03.2021

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-40-44><https://www.fsjour.com/jour>

Научная статья

К ВОПРОСУ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ГЛИКЕМИЧЕСКОГО ИНДЕКСА ПО ГЛЮКОЗЕ

Витол И. С.^{1*}, Мелешкина Е. П.¹, Дубцова Г. Н.²¹ Всероссийский научно-исследовательский институт зерна и продуктов его переработки — филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН, Москва, Россия² Московский Государственный университет пищевых производств, Москва, Россия**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:**

пшеничная мука, мультизерновая смесь, индексы перевариваемости, гликемический индекс, способы определения

АННОТАЦИЯ

Проведен анализ методов определения гликемического индекса (ГИ) пищевых продуктов *in vivo* и *in vitro*. Авторы отмечают что разница в методическом подходе к определению ГИ *in vitro* приводит к получению, трудно сопоставимых результатов. Предложена модифицированная методика определения ГИ *in vitro* в основе которой лежит метод определения гликемического индекса по глюкозе, который позволяет оценить с точки зрения сахарной нагрузки усвояемость в продуктах различных ингредиентов, и рассчитать гликемический индекс по глюкозе, образовавшейся в процессе «переваривания» исследуемого продукта *in vitro*. Модифицированная методика предусматривает использование для обеспечения более глубокого «переваривания» *in vitro* пищеварительных ферментных препаратов: Ацедин-пепсин и Панзинорм, обеспечивающих в модельных экспериментах *in vitro* высокую степень гидролиза основных макронутриентов. Условия проведения реакций ферментативного гидролиза (температура, pH, продолжительность реакции) были подобраны экспериментально. Проведенные исследования по определению ГИ *in vitro*, согласно предложенной методике показали сопоставимые значения, что свидетельствует о возможности использования данной методики для определения ГИ *in vitro*. Однако, полученные результаты следует рассматривать как ориентировочные, поскольку авторы придерживаются позиции, что истинное значение показателя ГИ может быть определено лишь по анализу крови, но и в этом случае на значение ГИ влияет множество факторов, в том числе и индивидуальные особенности организма человека.

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

Original scientific article

TO THE QUESTION OF DETERMINING GLYCEMIC INDEX BY GLUCOSE

Irina S. Vitol^{1*}, Elena P. Meleshkina¹, Galina N. Dubtsova²¹ All-Russian Scientific Research Institute for Grain and Products of its Processing — Branch of the V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS, Moscow, Russia² Moscow State University of Food Production, Moscow, Russia**KEY WORDS:**

wheat flour, multi-grain mixture, digestion indices, glycemic index, determination methods

ABSTRACT

The analysis of methods for determining the glycemic index (GI) of food products *in vivo* and *in vitro*. The authors note that the difference in the methodological approach to the determination of GI *in vitro* leads to obtaining results that are difficult to compare. A modified method for determining the GI for glucose is proposed, which is based on the method for determining the glycemic index for glucose, which makes it possible to assess the digestibility of various ingredients in products in terms of sugar load, and to calculate the glycemic index for glucose formed in the process of "digestion" of the test product *in vitro*. The modified technique provides for the use of digestive enzyme preparations: Acedin-pepsin and Panzinorm to provide a deeper "digestion" *in vitro*, providing a deep degree of hydrolysis of the main macronutrients in *in vitro* model experiments. The conditions for carrying out enzymatic hydrolysis reactions (temperature, pH, reaction duration) were selected experimentally. The studies carried out to determine the GI *in vitro*, according to the proposed method, showed comparable values, which indicates the possibility of using this method for the determination of GI *in vitro*. The results obtained should be considered as indicative, since the authors adhere to the position that the true value of the GI index can only be determined by blood analysis. But in this case, the value of GI is influenced by many factors, including the individual characteristics of the human organism.

1. Введение

Сахарный диабет — одна из самых быстро увеличивающихся в масштабе проблем здравоохранения в XXI веке. Число взрослых, живущих с диабетом, за последние 20 лет возросло в три раза, что вызывает серьезную озабоченность во всем мире [1,2,3,4,5,6].

Для выработки алгоритма определения того, какое питание более благоприятно для людей, болеющих сахарным диабетом в 1981 году Дэвид Дженкинс, профессор универси-

тета Торонто (Канада), ввел понятие гликемического индекса (ГИ). Д. Дженкинс и его сотрудники провели целую серию исследований того, как организм реагирует на различные продукты питания [7,8].

Гликемический индекс — это показатель, который определяет изменение концентрации глюкозы (уровня сахара) в крови, а именно показывает, как быстро и до какого уровня возрастает концентрация глюкозы в крови при приеме пищи в зависимости от того или иного продукта. Глике-

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Витол, И.С., Мелешкина, Е.П., Дубцова, Г.Н. (2021). К вопросу определения гликемического индекса по глюкозе. Пищевые системы, 4(1), 40–44. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-40-44>

FOR CITATION: Vitol, I.S., Meleshkina, E.P., Dubtsova, G.N. (2021). To the question of determining glycemic index by glucose. Food systems, 4(1), 40–44. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-40-44>

мический индекс конкретного продукта — **понятие относительное**. [1,2,4,7]. При его определении за основу взята чистая глюкоза, гликемический индекс которой приравнен к 100. Для остальных продуктов гликемический индекс имеет значение от 0 до 100 в зависимости от того, как быстро продукт усваивается организмом человека. Продукты с высоким гликемическим индексом обеспечивают быстрое повышение концентрации глюкозы в крови. Они легко перевариваются и усваиваются организмом. Продукты с низким гликемическим индексом медленнее поднимают концентрацию глюкозы в крови потому, что углеводы, содержащиеся в таких продуктах, усваиваются медленно. Гликемический индекс [8,9] принято делить на:

- Высокий гликемический индекс — от 70 до 100;
- Средний гликемический индекс — от 50 до 70;
- Низкий гликемический индекс — ниже 50.

ГИ конкретных пищевых продуктов зависит, в первую очередь, от количества и типа углеводов, которые в них содержатся, а также от содержания жиров и белков, способов кулинарной и технологической обработки, которые оказывают влияние на их усвоение [1,2,4,5,9,10,11,12].

Гликемический индекс пищевых продуктов, как правило, определяют в *in vivo* исследовании уровня глюкозы в крови у группы людей из 6 или более человек, которые съели пищевой продукт; ответный уровень глюкозы в крови для пищевых продуктов сравнивают с уровнем глюкозы, вызванным потреблением контрольного материала с известным гликемическим индексом за фиксированный период времени, и рассчитывают гликемический индекс. Осуществляемый *in vivo* способ определения гликемического индекса считается «золотым стандартом» в этой области. В общепринятом протоколе исследований измеряют порции пищевых продуктов, содержащие от 10 до 50 грамм углеводов, которые потребляют 6 или более здоровых людей после воздержания от приема пищи в течение ночи. Берут образцы крови, как правило, из пальца, перед потреблением пищевого продукта (время ноль) и в интервалы 15–30 минут в течение двух часов сразу же после потребления пищевого продукта и анализируют уровни глюкозы в крови. Полученные в результате данные (как правило, около 7 точек данных) используют для получения кривой отклика сахара, содержащегося в крови (то есть уровень глюкозы в крови изображается в зависимости от времени), в течение двух часов после потребления исследуемого пищевого продукта. Площадь под кривой сахара, содержащегося в крови, характеризует общее повышение уровня глюкозы в крови после потребления исследуемого пищевого продукта. Аналогичное исследование проводят снова после воздержания от пищи в течение ночи, те же индивидуумы потребляют эквивалентную углеводам порцию глюкозного сахара (контрольный продукт, имеющий по определению гликемический индекс 100) или белый хлеб с определенным показателем ГИ; определяют кривую отклика уровней глюкозы в течение двух часов и измеряют площадь под кривой тем же способом, как для исследуемого пищевого продукта. Гликемический индекс исследуемого пищевого продукта рассчитывают делением площади под кривой исследуемого пищевого продукта на площадь под кривой контрольного продукта и умножением на 100 [1,2,3,10].

Поскольку такие способы определения *in vivo* гликемического индекса требуют участия человека наряду с высокой стоимостью и большими временными затратами, были осуществлены попытки разработать способы определения ГИ *in vitro*.

Один из способов определения ГИ *in vitro*, основанный на исследованиях, проведенных Н. N. Englyst и соавторами, включает измерение глюкозы, выделяющейся из исследуемого пищевого продукта при выдержке его при температуре

37 °C со смесью пищеварительных ферментов при использовании предельного колориметрического значения для определения уровня глюкозы [13].

В дальнейшем этот способ определения ГИ *in vitro* был модифицирован теми же авторами, что свидетельствует о возможности совершенствования методического подхода к определению ГИ по глюкозе [14].

Однако определения ГИ *in vitro* по методу К. N. Englyst подвергается значительной критике, в частности, от сторонников способа определения ГИ *in vivo*. Например, исследователи австралийского университета в Сиднее Garsetti et al. использовал способ Englyst для оценки показателей гликемического индекса (то есть показателей легкодоступной глюкозы) и затем сравнивали их с показателями пищевых продуктов, определенными *in vivo*, имеющих гликемический индекс от 35 до 60. Было показано, что *in vitro* способ имеет низкую прогнозирующую ценность [15].

Эта же группа ученых [16] определяла показатели гликемического индекса *in vivo* для коммерческих пищевых продуктов (один зерновой завтрак и два сэндвичевых батончика), которые имели низкие показатели гликемического индекса (<55), определенные способом Englyst исследования *in vitro*. Согласно данным J. Brand-Miller, три исследуемых зерновых продуктов имели средние показатели гликемического индекса *in vivo* 75 ± 3 , 68 ± 5 и 65 ± 5 , соответственно, и, следовательно, не могут быть классифицированы как пищевые продукты с низким гликемическим индексом. Авторы заключают, что предположение о том, что «больше нет необходимости в трудоемкой работе по исследованию *in vivo* показателей ГИ пищевого продукта», просто некорректны, и «настоятельно советуют не применять любые способы *in vitro* определения показателей ГИ пищевых продуктов для обозначения на них гликемического индекса». Наконец, авторы «настаивают на том, что производители при определении ГИ должны использовать только используемый в лабораториях стандартизованный *in vivo* способ» [16].

Еще один предлагаемый способ определения ГИ *in vitro* включает:

- (1) определение содержания белка и содержания жира в исследуемом пищевом продукте;
- (2) приведение исследуемого пищевого продукта в гомогенное и тонкодисперсное состояние для получения образца пищевого продукта, пригодного для исследования;
- (3) переваривание указанного образца в гомогенном и тонкодисперсном состоянии в количестве, достаточном для обеспечения стандартного количества доступных углеводов, смесь пищеварительных ферментов за фиксированный период времени для получения переваренного образца;
- (4) обработку всего переваренного образца, сразу после указанного фиксированного периода времени, для прекращения ферментативных реакций;
- (5) определение количества глюкозы и, по меньшей мере, двух сахаров или сахарных спиртов, выбранных из группы, состоящей из фруктозы, галактозы, лактозы, сахарозы и мальтита, в переваренном образце стадии (4);
- (6) расчет гликемического индекса исследуемого пищевого продукта, исходя из данных, полученных на стадиях (1) и (5), с использованием уравнения или метода расчета, полученного многовариантным анализом калибровочных данных для калибровки образцов, причем калибровочные данные относятся к тому же типу и получены тем же способом, что и данные для исследуемого пищевого продукта, полученные на стадиях (1) и (5), причем калибровочные образцы имеют известные *in vivo* показатели гликемического индекса [17].

Сотрудники Института питания АМН СССР в 1987 году предложили способ определения гликемического индекса по глюкозе. Способ позволяет оценить с точки зрения сахарной нагрузки усвояемость в продуктах различных ингредиентов, и рассчитать гликемический индекс по глюкозе, образовавшейся в процессе «переваривания» исследуемого продукта *in vitro* [18].

Таким образом, из изложенного выше следует, что продолжает существовать необходимость в значительно более достоверном, точном и воспроизводимом *in vitro* способе определения показателей гликемического индекса [19,20], который может быть применен к широкому ряду пищевых продуктов.

Цель исследований — совершенствование методики определения индексов перевариваемости с целью оценки гликемического индекса *in vitro*.

2. Объекты и методы

Объектом исследования служили пшеничная мука высшего сорта и мультизерновая смесь для производства зерновых хлебобулочных изделий следующего состава: семена подсолнечника, мука пшеничная, лён масличный, глютен пшеничный, мука пшеничная цельнозерновая, сухая пшеничная закваска, мука из ржаного поджаренного солода, хлопья овсяные, семена тыквы, соль, солод ржаной сухой ферментированный, сахар, отруби пшеничные, эмульгатор (рапсовый лецитин), специи (кориандр), антиокислитель (аскорбиновая кислота), комплексная пищевая добавка (пшеничный крахмал, карбонат кальция, оксид магния, дифосфат железа, витамин D₃, фолиевая кислота), вспомогательные вещества (энзимы).

Для проведения ферментативных реакций «переваривания» *in vitro* использовали коммерческие препараты пищеварительных ферментов «Ацедин-пепсина» (РУП «Белмедпрепараты», Республика Беларусь) и «Панзинорм» (АО «КРКА, д. д., Ново место», Словения). Условия проведения ферментативных реакций были подобраны экспериментально.

Определение содержания глюкозы проводили по методу Бертрана (расчет по эмпирической таблице для глюкозы); растворимого белка по методу Лоури с использованием калибровочной кривой, выражали в мг/мл; общее содержание жирных кислот определяли титриметрическим методом, выражали в количестве 0,1 н. КОН, пошедшего на титрование свободных жирных кислот, содержащихся в 1 г мучной смеси [21].

Анализ проводили в трех повторностях, результаты представлены как средние арифметические. Расхождения между параллельными определениями не превышало 3% от среднего арифметического значения при доверительной вероятности P = 0,95.

3. Результаты и обсуждение

Анализ данных по существующим методам определения ГИ *in vitro* позволил конкретизировать некоторые методические аспекты и предложить модифицированную методику определения ГИ по глюкозе в основе которого лежит метод предложенный в 1987 году М. М. Гаппаровым и сотрудниками [18].

Для иллюстрации этого метода ниже приведен следующий алгоритм решения поставленной задачи:

На первом этапе работы проводили определение индексов перевариваемости углеводов, жиров, белков образца мультизерновой смеси по предлагаемой методике.

Определение проводили в двух вариантах:

1. Контроль — исходная мультизерновая смесь,
2. Опыт — прогидролизованная с участием пищеварительных ферментов (*in vitro*) мультизерновая смесь.

Контрольное определение (без «переваривания» *in vitro*):

К 10 г мультизерновой смеси смеси добавляли 15 мл 6% CuSO₄ и 15 мл 1,25% NaOH (реактив Барнштейна), тщательно перемешивали и приливали 70 мл воды. Термостатировали в ультратермостате при 37 °С в течение 20 минут, после чего фильтровали и в фильтрате определяли: глюкозу, общее содержание жирных кислот, растворимый белок.

Опытное определение («переваривание» *in vitro*):

К 10 г мультизерновой смеси смеси добавляли 40 мл раствора «Ацедин-пепсина» (2-е таблетки в 0,1 н. HCl), перемешивали и выдерживали в ультратермостате при температуре 37 °С в течение 20 минут. Затем содержимое нейтрализовали 30 мл 0,2 н. NaHCO₃ и доводили pH до 8,2–8,5. После чего добавляли содержимое 2-х капсул «Панзинорм» (одна капсула, содержит активные липазы — 10000 ед., протеазы — не менее 400 ед., амилазы — не менее 7200 ед.) перемешивали и выдерживали при 37 °С в течение 120 минут.

По истечении времени ферментативные реакции останавливали добавлением 30 мл реактива Барнштейна. После чего фильтровали и в фильтрате определяли те же показатели, что и в контроле.

Расчет индексов переваривания проводили по формуле, представленной в работе [18]:

$$I_n = \frac{\text{количество глюкозы (жирных кислот, растворимого белка) после переваривания}}{\text{суммарное количество глюкозы (жирных кислот, растворимого белка)}} \times 100 \%$$

Полученные результаты представлены в Таблице 1.

Таблица 1

Индексы переваривания макронутриентов мультизерновой смеси

Глюкоза, мг/г			Жирные кислоты, мл 0,1 н. КОН/г			Растворимый белок, мг/мл		
контроль	опыт	I _п , %	контроль	опыт	I _п , %	контроль	опыт	I _п , %
1,52	9,11	85	3,6	4,6	52	1,6	3,4	68

ГИ определяли, как отношение полученного индекса перевариваемости углеводов к индексу чистой глюкозы (100%). Значение ГИ для мультизерновой смеси, рассчитанное согласно способу определения гликемического индекса по глюкозе равно 85, таким образом исследуемая мультизерновая смесь по существующей классификации следует отнести к продукту с высоким гликемическим индексом (>70).

На втором этапе для оценки достоверности полученных результатов было проведено аналогичное определение содержания глюкозы в образце пшеничной муки высшего сорта (с известным табличным значением) до и после «переваривания» *in vitro* (Таблица 2).

Таблица 2

Индексы переваривания макронутриентов пшеничной муки

Образец	Глюкоза, мг/г		
	контроль	опыт	ИП, %
пшеничная мука, высший сорт	0,5	1,1	69

ГИ пшеничной муки высшего сорта равна 69 (табличные значения ГИ, по данным разных источников колеблются в диапазоне 68–75) [1,10,11,22]

4. Выводы

В заключении следует отметить, что разница в методическом подходе к определению ГИ *in vitro* приводит к получению, трудно сопоставимых результатов. Проведенные исследования по определению ГИ *in vitro*, согласно предложенной методике показали сопоставимые значения, что свидетельствует о возможности использования данной методики для определения ГИ *in vitro*. Однако необходимо еще раз подчеркнуть, что полученные результаты следует рассматривать как ориентировочные, поскольку как уже

отмечалось, истинное значение показателя ГИ может быть определено лишь по анализу крови. Хотя и в этом случае на значение ГИ влияет множество факторов, в том числе и индивидуальные особенности организма человека.

В связи с этим считаем, что наметившаяся тенденция производителей некоторых пищевых продуктов выносить такого рода информацию (преимущественно о низком значении ГИ) на этикетку с целью привлечения потребителей не допустима, поскольку может вводить неподготовленных потребителей в заблуждение.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Барановский, А.Ю. (2008). Диетология. Руководство. СПб.: ИД Питер. 2008. — 1024 с. ISBN 978-5-469-01681-6
2. Schwingshackl, L., Hoffmann, G. (2013). Long-term effects of low glycemic index/load vs. high glycemic index/load diets on parameters of obesity and obesity-associated risks: A systematic review and meta-analysis. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 23(8), 699–706. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2013.04.008>
3. Whiting, D. R., Guariguata, L., Weil, C., Shaw, J. (2011). IDF diabetes atlas: Global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 94(3), 311–321. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2011.10.029>
4. Черникова, Н.А., Кнышенко, О.А. (2018). Гликемический индекс и его роль в управлении и контроле сахарного диабета. *Эндокринология: новости, мнения, обучение*, 7(4), 16–22. <https://doi.org/10.24411/2304-9529-2018-14002>
5. Advocacy guide to the IDF Diabetes Atlas 2019. Retrieved from <https://diabetesatlas.org/en/resources/> Accessed January 30, 2021
6. Bornhorst, G. M., Singh, R. P. (2014). Gastric digestion in vivo and in vitro: How the structural aspects of food influence the digestion process. *Annual Review of Food Science and Technology*, 5(1), 111–132. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030713-092346>
7. Jenkins, D. J. A., Wolever, T. M. S., Taylor, R. H., Barker, H., Fielden, H., Baldwin, J. M. et al. (1981). Glycemic index of foods: A physiological basis for carbohydrate exchange. *American Journal of Clinical Nutrition*, 34(3), 362–366. <https://doi.org/10.1093/ajcn/34.3.362>
8. Jenkins, D. J. A., Kendall, C. W. C., Augustin, L. S. A., Franceschi, S., Hamidi, M., Marchie, A. et al. (2002). Glycemic index: Overview of implications in health and disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 76(1), 266S–273S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/76.1.266s>
9. Zou, Y., Wang, W., Zheng, D., Hou, X. (2021). Glycemic deviation index: A novel method of integrating glycemic numerical value and variability. *BMC Endocrine Disorders*, 21(1), Article 52. <https://doi.org/10.1186/s12902-021-00691-z>
10. Foster-Powell, K., Holt, S. H. A., Brand-Miller, J. C. (2002). International table of glycemic index and glycemic load values: 2002. *American Journal of Clinical Nutrition*, 76(1), 5–56. <https://doi.org/10.1093/ajcn/76.1.5>
11. ISO 26642:2010. "Food products. Determination of the glycaemic index (GI) and recommendation for food classification". Technical Committee: ISO/TC34 Food products. 2010. — 18 p.
12. Смирнов, С.О., Фазулина, О.Ф. (2019). Макароны изделия с низким гликемическим индексом. *Научный журнал НИУ ИТМО. Серия: процессы и аппараты пищевых производств*, 3, 32–41. <https://doi.org/10.17586/2310-1164-2019-12-3-32-41>
13. Englyst, H. N., Veenstra, J., Hudson, G. J. (1996). Measurement of rapidly available glucose (RAG) in plant foods: A potential in vitro predictor of the glycaemic response. *British Journal of Nutrition*, 75(3), 327–337. <https://doi.org/10.1079/BJN19960137>
14. Englyst, K. N., Englyst, H. N., Hudson, G. J., Cole, T. J., Cummings, J. H. (1999). Rapidly available glucose in foods: An in vitro measurement that reflects the glycaemic response. *American Journal of Clinical Nutrition*, 69(3), 448–454. <https://doi.org/10.1093/ajcn/69.3.448>
15. Garsetti, M., Vinoy, S., Lang, V., Holt, S., Loyer, S., Brand-Miller, J. C. (2005). The glycemic and insulinemic index of plain sweet biscuits: Relationships to in vitro starch digestibility. *Journal of the American College of Nutrition*, 24(6), 441–447. <https://doi.org/10.1080/07315724.2005.10719489>
16. Brand-Miller, J., Holt, S. (2004). Testing the glycaemic index of foods: In vivo, not in vitro. *European Journal of Clinical Nutrition*, 58(4), 700–701. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601856>
17. Патент № 2010102733. Способ определения in vitro гликемического индекса пищевых продуктов / Дикатальдо С. Н., Магалетта Р. Л. Оpubл. 10.08.2011. Бюл. № 22.
18. Патент № 1337765 А1. Способ определения гликемического индекса пищевых продуктов по глюкозе / Гаппаров М. М., Никольская Г. В., Соколов А. И. Оpubл. 15.09.1987. Бюл. № 34.
19. Mella, C., Quilaqueo, M., Zúñiga, R. N., Troncoso, E. (2021). Impact of the Simulated Gastric Digestion Methodology on the In Vitro Intestinal Proteolysis and Lipolysis of Emulsion Gels. *Foods*, 10(2), 321. <https://doi.org/10.3390/foods10020321>
20. Dupont, D., Le Feunteun, S., Marze, S. and Souchon, I. (2018) Structuring Food to Control Its Disintegration in the Gastrointestinal Tract and Optimize Nutrient Bioavailability. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 46, 83–90. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.10.005>
21. Нечаев, А.П., Траубенберг, С.Е., Кочеткова, А.А., Колпакова, В.В., Витол, И.С., Кобелева, И.В. (2006). Пищевая химия. Лабораторный практикум. — СПб.: ГИОРД 2–304 с. ISBN 5-98879-037-2
22. He, F., Chen, C., Li, F., Qi, Y., Lin, X., Liang, P. et al. (2021). An optimal glycemic load range is better for reducing obesity and diabetes risk among middle-aged and elderly adults. *Nutrition and Metabolism*, 18(1), Article 31. <https://doi.org/10.1186/s12986-020-00504-5>

REFERENCES

1. Baranovskiy, A. Yu. (2008). Dietetics. Manual. St. Petersburg: Peter Publishing House. 2008. — 1024 p. (in Russian)
2. Schwingshackl, L., Hoffmann, G. (2013). Long-term effects of low glycemic index/load vs. high glycemic index/load diets on parameters of obesity and obesity-associated risks: A systematic review and meta-analysis. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 23(8), 699–706. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2013.04.008>
3. Whiting, D. R., Guariguata, L., Weil, C., Shaw, J. (2011). IDF diabetes atlas: Global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030. *Diabetes Research and Clinical Practice*, 94(3), 311–321. <https://doi.org/10.1016/j.diabres.2011.10.029>
4. Chernikova, N.A., Knyshenko, O.A. (2018). Glycemic index in the management and control of diabetes mellitus. *Endocrinology. News. Opinions. Training*, 7(4), 16–22. <https://doi.org/10.24411/2304-9529-2018-14002> (in Russian)
5. Advocacy guide to the IDF Diabetes Atlas 2019. Retrieved from <https://diabetesatlas.org/en/resources/> Accessed January 30, 2021
6. Bornhorst, G. M., Singh, R. P. (2014). Gastric digestion in vivo and in vitro: How the structural aspects of food influence the digestion process. *Annual Review of Food Science and Technology*, 5(1), 111–132. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-030713-092346>
7. Jenkins, D. J. A., Wolever, T. M. S., Taylor, R. H., Barker, H., Fielden, H., Baldwin, J. M. et al. (1981). Glycemic index of foods: A physiological basis for carbohydrate exchange. *American Journal of Clinical Nutrition*, 34(3), 362–366. <https://doi.org/10.1093/ajcn/34.3.362>
8. Jenkins, D. J. A., Kendall, C. W. C., Augustin, L. S. A., Franceschi, S., Hamidi, M., Marchie, A. et al. (2002). Glycemic index: Overview of implications in health and disease. *American Journal of Clinical Nutrition*, 76(1), 266S–273S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/76.1.266s>
9. Zou, Y., Wang, W., Zheng, D., Hou, X. (2021). Glycemic deviation index: A novel method of integrating glycemic numerical value and variability. *BMC Endocrine Disorders*, 21(1), Article 52. <https://doi.org/10.1186/s12902-021-00691-z>
10. Foster-Powell, K., Holt, S. H. A., Brand-Miller, J. C. (2002). International table of glycemic index and glycemic load values: 2002. *American Journal of Clinical Nutrition*, 76(1), 5–56. <https://doi.org/10.1093/ajcn/76.1.5>
11. ISO 26642: 2010. "Food products. Determination of the glycaemic index (GI) and recommendation for food classification". Technical Committee: ISO/TC34 Food products. 2010. — 18 p.
12. Smirnov, S. O. Fazullina, O.F. (2019). Pasta with low glycemic index. *Processes and food production equipment*, 3, 32–41. <https://doi.org/10.17586/2310-1164-2019-12-3-32-41> (in Russian)

13. Englyst, H. N., Veenstra, J., Hudson, G. J. (1996). Measurement of rapidly available glucose (RAG) in plant foods: A potential in vitro predictor of the glycaemic response. *British Journal of Nutrition*, 75(3), 327–337. <https://doi.org/10.1079/BJN19960137>
14. Englyst, K. N., Englyst, H. N., Hudson, G. J., Cole, T. J., Cummings, J. H. (1999). Rapidly available glucose in foods: An in vitro measurement that reflects the glycaemic response. *American Journal of Clinical Nutrition*, 69(3), 448–454. <https://doi.org/10.1093/ajcn/69.3.448>
15. Garsetti, M., Vinoy, S., Lang, V., Holt, S., Loyer, S., Brand-Miller, J. C. (2005). The glycaemic and insulinemic index of plain sweet biscuits: Relationships to in vitro starch digestibility. *Journal of the American College of Nutrition*, 24(6), 441–447. <https://doi.org/10.1080/07315724.2005.10719489>
16. Brand-Miller, J., Holt, S. (2004). Testing the glycaemic index of foods: In vivo, not in vitro. *European Journal of Clinical Nutrition*, 58(4), 700–701. <https://doi.org/10.1038/sj.ejcn.1601856>
17. Dikatal' do S. N., Magaletta R. L. Method for determining the in vitro glycaemic index of food products. Patent RF, no.2010102733. 2011. (in Russian)
18. Gapparov M. M., Nikol'skaya G.V., Sokolov A. I. Method for determining the glycaemic index of food products by glucose. Patent SU, no. 1337765 A1. 1987. (in Russian)
19. Mella, C., Quilaqueo, M., Zúñiga, R. N., Troncoso, E. (2021). Impact of the Simulated Gastric Digestion Methodology on the In Vitro Intestinal Proteolysis and Lipolysis of Emulsion Gels. *Foods*, 10(2), 321. <https://doi.org/10.3390/foods10020321>
20. Dupont, D., Le Feunteun, S., Marze, S. and Souchon, I. (2018) Structuring Food to Control Its Disintegration in the Gastrointestinal Tract and Optimize Nutrient Bioavailability. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 46, 83–90. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.10.005>
21. Nechaev, A.P., Traubenberg, S.E., Kochetkova, A.A., Kolpakova, V.V., Vitol, I.S., Kobeleva, I.B. (2006). Food Chemistry. Laboratory practical work. St. Petersburg: GIOR. — 304 p. ISBN 5–98879–037–2 (in Russian)
22. He, F., Chen, C., Li, F., Qi, Y., Lin, X., Liang, P. et al. (2021). An optimal glycaemic load range is better for reducing obesity and diabetes risk among middle-aged and elderly adults. *Nutrition and Metabolism*, 18(1). Article 31. <https://doi.org/10.1186/s12986-020-00504-5>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Витол Ирина Сергеевна — кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник, Лаборатория биохимии и микробиологии зерна и продуктов его переработки, Всероссийский научно-исследовательский институт зерна и продуктов его переработки — филиал «Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН 127434, Москва, Дмитровское шоссе, д. 11 Тел.: +7-926-709-02-07 E-mail: vitolis@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5962-8909 * автор для контактов	Irina S. Vitol — candidate of biological sciences, docent, senior researcher, Laboratory of Biochemistry and Microbiology of Grain and Grain Products, All-Russian Scientific Research Institute of Grain and Products of Its Processing — Branch of V. M. Gorbato Federal Research Center for Food Systems of RAS 127434, Moscow, Dmitrovskoe shosse, 11 Tel.: +7-926-709-02-07 E-mail: vitolis@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5962-8909 * corresponding author
Мелешкина Елена Павловна — доктор технических наук, директор, Всероссийский научно-исследовательский институт зерна и продуктов его переработки — филиал «Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН 127434, Москва, Дмитровское шоссе, д. 11 Тел.: 8-499-976-23-23 E-mail: mep5@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1339-7150	Elena P. Meleshkina — doctor of technical sciences, director, All-Russian Scientific Research Institute of Grain and Products of Its Processing — Branch of V. M. Gorbato Federal Research Center for Food Systems of RAS, 127434, Moscow, Dmitrovskoe shosse, 11 Tel.: +7-499-976-23-23 E-mail: mep5@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1339-7150
Дубцова Галина Николаевна — доктор технических наук, профессор, профессор, кафедра «Биотехнология и технология продуктов биологического синтеза» Московский государственный университет пищевых производств 125080, Москва, Волоколамское шоссе, д. 11 Тел.: +7-915-424-23-82 E-mail: doubtsova@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6032-040X	Galina N. Dubtsova — Doctor of Technical Sciences, professor, professor, Department of Biotechnology and Technology of Bioorganic Synthesis Products, Moscow State University of Food Production 125080, Moscow, Volokolamskoe shosse, 11. Tel.: +7-915-424-23-82 E-mail: doubtsova@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6032-040X
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат	Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов	The authors declare no conflict of interest
Поступила 18.02.2021	Received 18.02.2021
Поступила после рецензирования 15.03.2021	Accepted in revised 15.03.2021
Принята в печать 25.03.2021	Accepted for publication 25.03.2021

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-45-55><https://www.fsjour.com/jour>

Научная статья

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОЦЕНКИ ПРОТЕОЛИЗА В СЫРАХ И АРОМАТИЧЕСКИХ ДОБАВКАХ С СЫРНЫМ ВКУСОМ

Мягконосов Д. С. *, Абрамов Д. В., Овчинникова Е. Г., Краюшкина В. Н.

Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия —
филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН, Углич, Ярославская область, Россия**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:**молекулярно-массовое
распределение, пептиды,
коэффициент поглощения,
триптофан**АННОТАЦИЯ**

Спектрофотометрический метод измерения содержания белка может использоваться для оценки степени протеолиза в сырах. На длине волны 280 нм поглощают триптофан, тирозин, высокое количество которых содержится в казеине — основном белке сырной массы. Установлено, что величина коэффициента поглощения раствора белков, экстрагированных из вкусоароматических добавок с сырным вкусом (ВАД) и сыров, зависит от степени протеолиза белков сырной массы и отличается у ВАД и сыров разных видов. Наибольшей коэффициент поглощения 1%-го раствора отмечается для образцов ВАД ($k = 10,30$), в которых от 65 до 81% белка переведено в растворимое состояние. У сыров степень протеолиза составляет от 23 до 33%, а коэффициент поглощения 1%-го раствора k — от 1,1 до 2,4 (за исключением сыра Чеддер), что говорит о неполном переходе поглощающих излучение на 280 нм аминокислот в состав экстракта, выделяемого из сыров. При помощи спектрофотометрического метода могут быть получены результаты измерения содержания растворимого белка в сыре, строго коррелирующие с результатами, получаемыми методом Кьельдаля ($R^2 > 0,81$). Для получения достоверных результатов оценки содержания водорастворимого белка в сырах необходимо проводить измерения на выборке сыров, относящихся к одной и той же видовой группе, имеющих одинаковую специфику протеолиза и мало отличающийся между образцами внутри выборки коэффициент поглощения.

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

Original scientific article

SPECTROPHOTOMETRIC METHOD FOR EVALUATING PROTEOLYSIS IN CHEESES AND AROMATIC ADDITIVES WITH A CHEESY TASTE

Dmitriy S. Myagkonosov*, Dmitriy V. Abramov, Elena G. Ovchinnikova, Valentina N. Krayushkina

All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking —
Branch of V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS, Uglich, Yaroslavl Region, Russia**KEY WORDS:** molecular-mass
distribution, peptides, absorbance
coefficient, tryptophan**ABSTRACT**

The spectrophotometric method for measuring protein content can be used to evaluate the degree of proteolysis in cheeses. At a wavelength of 280 nm, tryptophan and tyrosine are absorbed, a high amount of them is found in casein, the main protein of cheese mass. It was found that the value of the absorbance coefficient of the solution of proteins extracted from flavoring additives with cheese flavor (FA) and cheeses depends on the degree of proteolysis of proteins in the cheese mass and differs in FA and different types of cheeses. The highest absorbance coefficient is observed in the FA samples $A_{1\%1cm} = 10.30$, in which from 65 to 81% of the protein is converted into a soluble state. In cheeses, the degree of proteolysis is from 23 to 33%, and the absorbance coefficient of solution is from 1.1 to 2.4 (with the exception of Cheddar cheese), which indicates an incomplete transition of amino acids absorbing radiation at 280 nm into the extract released from cheeses. Using the spectrophotometric method, the results of measuring the content of soluble protein in cheeses and FA, strictly correlating with the results achieved by the Kjeldahl method ($R^2 > 0.81$), can be obtained. To get reliable results of evaluating the content of water-soluble protein in cheeses, it is necessary to carry out measurements on a sample of cheeses belonging to the same species group, having the same specificity of proteolysis and slightly different absorbance coefficient between samples within the instance.

1. Введение

В последние 10 лет отмечается серьезный прогресс во внедрении новых методов для исследования показателей качества сыров. В научных работах за указанный период используются методы исследований, позволяющие получать новые данные и открывать новые закономерности, что было недоступно при использовавшихся ранее методах исследований. К современным методам ис-

следований состава и качества сыров относятся: системы машинного зрения, компьютерная томография, рентгено-скопия, магнитно-резонансная томография, флуоресцентная спектроскопия, ИК-спектроскопия в ближней инфракрасной области, ИК-спектроскопия с преобразованием Фурье, гиперспектральная томография, рамановская спектроскопия, ультразвуковое зондирование и ряд других методов [1].

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Мягконосов, Д.С., Абрамов, Д.В., Овчинникова, Е.Г., Краюшкина, В.Н. (2021). Спектрофотометрический метод оценки протеолиза в сырах и ароматических добавках с сырным вкусом. *Пищевые системы*, 4(1), 45–55. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-45-55>

FOR CITATION: Myagkonosov, D.S., Abramov, D.V., Ovchinnikova, E.G., Krayushkina, V.N. (2021). Spectrophotometric method for evaluating proteolysis in cheeses and aromatic additives with a cheese taste. *Food systems*, 4(1), 45–55. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-45-55>

Метод ядерного магнитного резонанса был использован в работе [2] для изучения метаболитов, содержащихся в водных экстрактах из сыров Чеддер, с целью выбора их в качестве факторов математической модели, позволяющей предсказывать качество сыров в конце срока созревания.

Анализ состава сыров методами флуоресцентной спектроскопии, ИК-спектроскопии в ближней инфракрасной области (NIR), ИК-спектроскопии с преобразованием Фурье (FTIR), наряду со стандартными методами анализа был проведен в работе [3] в целях определения состава сыров и предсказания их качества в конце срока созревания.

Потенциальные возможности использования метода ИК-спектроскопии с преобразованием Фурье были исследованы в работе [4] для оценки широкого диапазона химических показателей (содержание влаги, белка, жира, золы, отдельных жирных кислот в жировой фазе), характеризующих качество зрелых сыров.

Методы ИК-спектроскопии в ближней и средней инфракрасной области наряду с традиционными методами исследований были использованы в работе [5] для определения химического состава и показателей качества сыров, включающих содержание влаги, белка, отдельных белковых фракций, жира, соли, золы, титруемой и активной кислотности.

Результаты перечисленных выше исследований показали, что замена методов сенсорной оценки качества сыров на инструментальные методы является трудно разрешимой задачей, но можно с успехом использовать спектроскопические методы анализа взамен традиционных методов измерения химических показателей для экспрессной оценки широкого диапазона анализируемых показателей существенно снизив за счет этого трудовые и экономические затраты на проведение анализов.

Показателем, традиционно используемым для характеристики степени зрелости сыров является протеолиз белков сырной массы. Протеолиз непосредственно влияет на формирование консистенции и вкуса сыров, а также является индикативным показателем степени зрелости сыра, т. к. параллельно с процессом протеолиза идут процессы гликолиза, липолиза и ряд других процессов, происходящих при созревании сыров. Увеличение интенсивности протеолиза свидетельствует об увеличении интенсивности других биохимических процессов в созревающих сырах.

Для оценки протеолиза разработано большое число методов, базирующихся на разных принципах.

Метод Кьельдаля традиционно используется для определения в сырах общего содержания белка и отдельных азотистых фракций, после предварительного фракционирования [6,7,8].

Метод Кьельдаля основан на определении содержания азота в образце с пересчетом содержания азота в содержание белка через коэффициент, являющийся константой для каждого определенного вида белков. Метод отличается высокой воспроизводимостью и пригоден для определения содержания азотистых веществ (белков, пептидов, свободных аминокислот, аминов, аммиака) в твердых, пластичных или мутных образцах [7,9]. Принципиальным недостатком метода Кьельдаля является его трудоемкость, длительное время выполнения анализа, использование агрессивных реагентов, опасных для персонала [6,10,11].

Вследствие этого, вопрос о разработке быстрого и точного метода для оценки содержания продуктов протеолиза в сырах сохраняет свою актуальность. Методы оценки протеолиза в сырах, основанные на определении количества свободных аминокислот, рассмотрены в предыдущей работе авторов [12]. Данные методы дают адекватную оценку степени протеолиза в сыре по количеству гидролизированных

пептидных связей в белке. Недостатком таких методов является отсутствие прямой связи между получаемыми с их помощью результатами и результатами традиционно используемого метода Кьельдаля.

Рассмотрим методы, дающие оценку протеолиза по содержанию растворимого белка, результаты которых прямо пропорциональны результатам, получаемым с помощью метода Кьельдаля.

Метод Халла (Hull procedure) основывается на выделении продуктов протеолиза, растворимых в трихлоруксусной кислоте (пептиды и свободные аминокислоты), окрашивании их реактивом Фолина-Чикелтау, реагирующим с остатками триптофана и тирозина, с образованием комплекса, имеющего синюю окраску с максимумом поглощения на длине волны ~650 нм. Недостатками метода Халла является его достаточно низкая чувствительность, связанная в т. ч. с удалением трихлоруксусной кислотой из анализируемого образца части продуктов протеолиза, а также громоздкость при выполнении большого числа анализов [11,13].

Метод Лоури основан на двух последовательных реакциях. Первая реакция состоит в образовании комплекса между ионом меди и амидной связью, который обладает редуцирующими свойствами в щелочной среде. Данный комплекс называется «биуретовым хромофором». Вторая реакция заключается в редуцировании реактива Фолина-Чикелтау образовавшимся ранее комплексом из ионов меди и амидных связей. Редуцированный реактив Фолина-Чикелтау приобретает интенсивную синюю окраску, которая детектируется на длине 500–750 нм. Результаты метода Лоури могут искажаться при наличии в буфере для растворения образца многих веществ: детергенты, углеводы, глицерин, Трицин, ЭДТА, Трис, соли калия, серосодержащие соединения, дисульфидные группы, большинство фенолов, мочевиная кислота, гуанин, ксантин, ионы магния и кальция. Также на результаты метода Лоури влияет содержание триптофана и тирозина в анализируемом белковом материале [14].

Метод Лоури с успехом используется для определения содержания продуктов протеолиза в сырах. Это связано с тем, что при экстракции водорастворимых продуктов протеолиза из сыров не требуется использования реагентов, влияющих на результаты метода Лоури. Лежащая в основе метода биуретовая реакция обладает чувствительностью к продуктам протеолиза с любой молекулярной массой (к белкам, к пептидам любых размеров и даже к свободным аминокислотам) [15]. При определении содержания водорастворимых азотистых фракций в сыре Чеддер, Walles установил, что метод Лоури дает результаты точно коррелирующие ($R^2 = 0,971$) с результатами метода Кьельдаля [11].

Недостатком метода Лоури является его трудоемкость и длительное время анализа (до 1,5 ч) [14], что сравнимо по трудоемкости с методом Кьельдаля.

Спектрофотометрические методы измерения содержания белка основаны на способности белковых молекул интенсивно поглощать кванты УФ-излучения в диапазоне 190–280 нм. Пептидные связи интенсивно поглощают кванты излучения с длиной волны менее 210 нм. Недостатком измерений концентрации белка в диапазоне менее 210 нм, является поглощение в данном диапазоне других, небелковых веществ, содержащих двойные связи между молекулами углерода или углерода и кислорода. На длине волны 280 нм детектируются свободные аминокислоты (главным образом, триптофан и тирозин), которые не обнаруживаются на длинах волн 205–220 нм [16]. При этом на 280 нм отмечается наличие поглощения только у малого числа химических веществ, поэтому, длина волны 280 нм была признана более

подходящей для оценки содержания белка, чем более короткие длины волн [17].

Спектрофотометрический метод измерения концентрации белка по поглощению УФ-излучения с длиной волны 280 нм имеет множество преимуществ в сравнении с другими методами [9]:

- высокая точность определения содержания измеряемого вещества, даже при очень малых концентрациях;
- измерения выполняются без добавления дополнительных реагентов (не считая буфера для разведения образца);
- измерения могут быть выполнены очень быстро, без предварительной инкубации;
- отсутствие сдвига в величине поглощения бланка и раствора анализируемого вещества с течением времени;
- для растворения белка можно применять высокие концентрации детергентов или редуцирующих веществ, что недопустимо для метода Лоури.

К недостаткам спектрофотометрического метода относятся:

- на длине волны 280 нм практически не обнаруживаются пептиды, не содержащие ароматические аминокислоты и большинство свободных аминокислот (кроме триптофана, тирозина, и в меньшей степени, цистеина) [18]; вследствие этого часть малых пептидов может не детектироваться на длине волны 280 нм, т. к. со значительной вероятностью такие пептиды не будут содержать тирозина и триптофана, поглощающих на длине волны 280 нм [19];
- анализируемый раствор белка должен быть оптически прозрачным; механические частицы или микроскопические капли липидов должны быть удалены из раствора, т. к. они обладают свойством интенсивно рассеивать излучение с короткой длиной волны [17];
- высокая чувствительность метода приводит к реагированию на загрязнение кюветы [14];
- необходимо использование дорогостоящих спектрофотометров, работающих в УФ-диапазоне ($\lambda \leq 340$ нм).

Самой главной проблемой спектрофотометрического метода является необходимость определения коэффициента поглощения белка. В выделяемом для анализа экстракте из сыра присутствует смесь из пептидов и свободных аминокислот, процентное содержание триптофана и тирозина в которой отличается от содержания триптофана и тирозина в параказеине сырной массы. Установлено, что коэффициент поглощения гидролизованного казеина изменяется в зависимости от степени гидролиза [20]. Степень гидролиза белка сырной массы влияет на содержание триптофана и тирозина в составе растворимой фракции продуктов протеолиза. В сырах на ранней стадии созревания альфа-S1-казеин гидролизуетсся с N-терминала с высвобождением пептидов, не содержащих триптофана и тирозина. Такие пептиды практически не поглощают УФ-излучение на длине волны 280 нм. Содержащие тирозин (но не триптофан) пептиды образуются в сыре при гидролизе бета-казеина на поздних стадиях созревания [6,11].

Тем не менее, спектрофотометрический метод измерения концентрации белка по поглощению УФ-излучения с длиной волны 280 нм нашел применение при оценке протеолиза в сырах.

Vakaleris & Price [21] разработали и первыми успешно применили спектрофотометрический метод для оценки протеолиза в образцах сыра Чеддер.

Schroeder et al [22] с помощью спектрофотометрического метода Vakaleris & Price исследовали степень протеолиза в образцах сыра Чеддер, содержащих разное количество поваренной соли. Эти результаты оценки степени протеолиза хорошо соотносились с показателями зрелости сыров, полученными методами органолептической оценки.

Lin et al [23] использовали модификацию спектрофотометрического метода Vakaleris & Price для оценки степени протеолиза в образцах голубых сыров, созревающих с участием плесени *Penicillium roqueforti*, и получили неоднозначные результаты при сравнении с результатами оценки протеолиза по методу Халла.

Ivens et al [24] с успехом использовали спектрофотометрический метод по поглощению на длине волны 280 нм для оценки протеолиза в сыре Чеддер, но сделали вывод, что этот метод менее чувствителен, чем метод Лоури.

Исходя из приведенных выше данных, можно сделать вывод, что среди методов оценки протеолиза в сыре, спектрофотометрический метод измерения концентрации белка по поглощению УФ-излучения с длиной волны 280 нм имеет несомненные достоинства и перспективен для использования при проведении исследовательских работ в виду простоты и быстроты выполнения. При этом присутствуют сведения от отдельных исследователей о проблемах с точностью данного метода при оценке протеолиза в сырах. Целью настоящей работы является проверка возможностей применения спектрофотометрического метода анализа и установление границ применения данного метода при оценке протеолиза в сырах.

2. Материалы и методы

2.1 Материалы

В качестве объектов исследований были выбраны твердые и полутвердые сыры, купленные в торговой сети, а также образцы сыра «Голландский» и образцы натуральных вкусоароматических добавок (ВАД) с сырным вкусом, изготовленные во ВНИИМС.

2.2 Методы

2.2.1 Изготовление сыров и ВАД

Регламент производства сыров и ВАД описан в предыдущей работе авторов [12].

2.2.2 Методы исследования свойств сыров и ВАД

Определение массовой доли влаги проводили методом высушивания при температуре 102 ± 2 °C по российскому государственному стандарту ГОСТ 3626–73¹.

Определение массовой доли общего и растворимого азота — методом Кьельдаля по российскому государственному стандарту ГОСТ Р 54662–2011².

Степень протеолиза в сырах выражали в процентах абсолютного содержания растворимого азота (water soluble nitrogen (WSN)) от абсолютного содержания общего азота (total nitrogen (TN)).

Содержание белка в сырах вычисляли по формуле:

$$B\% = 6,38 \times A\%, \quad (1)$$

где B% — массовая доля белка в образце, %;

A% — массовая доля азота в образце, измеренная методом Кьельдаля, %

6,38 — коэффициент пересчета [10].

Определение массовой доли жира — кислотным методом по российскому государственному стандарту ГОСТ Р 55063–2012³.

2.2.3 Подготовка образцов сыров и ВАД для оценки протеолиза

Образцы сыров и ВАД коллекционировали, для чего из них приготавливали сухие обезжиренные препараты. Обезжиривание проводили ледяным гексаном по методу,

¹ ГОСТ 3626–73 Молоко и молочные продукты. Методы определения влаги и сухого вещества. М.: Стандартиформ, 2009. — 11 с.

² ГОСТ Р 54662–2011 Сыры и сыры плавленые. Определение массовой доли белка методом Кьельдаля. М.: Стандартиформ, 2012. — 16 с.

³ ГОСТ Р 55063–2012 Сыры и сыры плавленые. Правила приемки, отбор проб и методы контроля. М.: Стандартиформ, 2013. — 28 с.

описанному в работе [24] с модификациями. Для этого навеску из $20,0 \pm 1,0$ г сыра или ВАД смешивали с 60 см^3 гексана в конической колбе на 500 см^3 с притертой пробкой и выдерживали в холодильнике при минус 18°C в течение 1 ч с периодическим встряхиванием. Порцию гексана с экстрагированным жиром сливали, после чего приливали свежую порцию гексана такого же объема и процедуру обезжиривания повторяли. Экстракцию жира выполняли трехкратно. Обезжиренный образец высушивали под потоком воздуха при комнатной температуре в течение 3 ч. Для ВАД после высушивания повторяли еще один цикл обезжиривания и высушивания. Полученные сухие обезжиренные препараты сыров и ВАД запечатывали в пластиковые пакеты с zip-замками и хранили до анализа при температуре минус 18°C .

Для получения водных экстрактов, содержащих водорастворимые продукты протеолиза, готовили разведения сухих образцов.

Для получения водных экстрактов из ВАД, навеску $2,5$ г сухого обезжиренного препарата ВАД смешивали с 50 см^3 деионизированной воды, выдерживали в течение 30 мин при непрерывном перемешивании 200 мин^{-1} на орбитальном шейкере SK-O180-E (DLAB Scientific Co., Ltd, Китай), после чего гомогенизировали на высокоскоростном гомогенизаторе FSH-2A (Jiangsu Jinyi Instrument Technology Company Limited, Китай) в течение 1 мин. Смесь переносили в мерную колбу, доводили объем деионизированной водой до 100 см^3 (получали смесь с массовой долей сухого вещества $2,5\%$) и фильтровали на бумажном фильтре, а затем на фильтрах из ацетата целлюлозы с размером пор $0,45 \text{ мкм}$ (Владипор, Россия). Полученный фильтрат использовали для определения содержания водорастворимого азота по методу Кьельдаля. Для измерения оптической плотности на спектрофотометре экстракт, подготовленный для определения содержания азота по методу Кьельдаля, растворяли деионизированной водой в соотношении $1:10$ (получали смесь с массовой долей сухого вещества $0,25\%$). Для определения молекулярно-массового распределения методом жидкостной хроматографии экстракт, подготовленный для определения содержания азота по методу Кьельдаля, смешивали с деионизированной водой в соотношении $6:4$ (получали смесь с массовой долей сухого вещества $1,0\%$).

Для получения водных экстрактов из сыров, навеску сухого обезжиренного препарата сыра ($4,0$ г для образцов сыра Голландский производства ВНИИМС или $3,0$ г для сыров, купленных в розничной сети) смешивали с 50 см^3 деионизированной воды, выдерживали в течение 30 мин при непрерывном перемешивании, после чего гомогенизировали на высокоскоростном гомогенизаторе. Смесь переносили в мерную колбу, доводили объем деионизированной водой до 100 см^3 (получали смесь с массовой долей сухого вещества $4,0\%$ для сыра Голландский производства ВНИИМС или $3,0\%$ для сыров, купленных в розничной сети) и фильтровали на бумажном фильтре, а затем на фильтрах из ацетата целлюлозы с размером пор $0,45 \text{ мкм}$ (Владипор, Россия). Полученный фильтрат использовали для измерения оптической плотности на спектрофотометре. Для определения содержания азота по методу Кьельдаля экстракт, подготовленный для определения оптической плотности на спектрофотометре, смешивали с деионизированной водой (в соотношении $10:6$ для сыра Голландский производства ВНИИМС или $10:2$ для сыров, купленных в розничной сети) и получали смесь с массовой долей сухого вещества $2,5\%$. Для определения молекулярно-массового распределения методом жидкостной хроматографии готовили смесь с массовой долей сухого вещества $4,0\%$ для всех видов сыров.

2.2.4 Молекулярно-массовое распределение продуктов протеолиза

Определение молекулярно-массового распределения растворимых азотистых веществ в водном экстракте из сыров и ВАД проводили методом гель-фильтрации высокого разрешения с использованием колонки Superose 12 $10/300 \text{ GL}$ (GE Healthcare, Швеция). Элюент — водный раствор $0,05 \text{ M Na}_2\text{HPO}_4 + 0,15 \text{ M NaCl}$, скорость подачи элюента — $0,5 \text{ мл/мин}$; длина волны детектора — 280 нм . Калибровку колонки проводили по времени выхода белковых веществ с известной молекулярной массой: IgG (180 кДа), альдолаза (158 кДа), BSA (69 кДа), овоальбумин (43 кДа), β -Lg ($36,0 \text{ кДа}$), α -La ($14,4 \text{ кДа}$), цитохром C ($12,3 \text{ кДа}$), триптофан ($0,204 \text{ кДа}$). Калибровочный график был построен на основе логарифмической регрессионной модели [25].

2.2.5 Оптическая плотность

Определение оптической плотности проводили в водных экстрактах из сыров и ВАД, приготовленных по п. 2.2.3 на спектрофотометре LEKI model SS1207UV (MEDIORA OY, Финляндия) в кварцевых кюветках с длиной оптического пути 10 мм при длине волны $\lambda = 280 \text{ нм}$.

Математическая обработка выполнена с использованием программных пакетов Microsoft Excel и Statsoft Statistica.

3. Результаты и обсуждение

3.1 Обоснование метода подготовки пробы

В работах исследователей, критикующих спектрофотометрический метод измерения концентрации белка по поглощению УФ-излучения с длиной волны 280 нм за его низкую точность в сравнении с референтными методами, можно найти объяснение причины таких результатов.

Lin et al [23] получили неоднозначные результаты при сравнении результатов оценки протеолиза спектрофотометрическим методом Vakaleris & Price, в котором экстракция продуктов протеолиза производится кислым буфером (pH 4,4), с результатами оценки протеолиза по методу Халла, в котором экстракция продуктов протеолиза проводится с помощью раствора трихлоруксусной кислоты (ТХУ). Причиной расхождения результатов, полученных сравниваемыми методами, может быть различие в процедуре экстракции продуктов протеолиза в данных методах. ТХУ используется для освобождения экстрактов, выделенных из сыров с помощью воды или кислого буфера (pH 4,4–4,6) от фракции белков и крупных пептидов. При экстракции ТХУ из раствора удаляется часть азотистых веществ, которые содержатся в экстрактах, получаемых с помощью кислого буфера (pH 4,4) [6].

Ivens et al [24] сделали вывод, что для оценки протеолиза в сыре Чеддер спектрофотометрический метод менее чувствителен, чем метод Лоури. Причиной получения подобных результатов была использованная Ivens et al методика выделения продуктов протеолиза, с применением 5% -го раствора NaCl, обладающая низкой селективностью. Установлено, что более 90% белковых веществ в сыре Чеддер растворимы в 5% растворе NaCl [26], поэтому при таком методе экстрагирования в экстракт переходят в т. ч. белки, не затронутые протеолизом.

Метод оценки содержания продуктов протеолиза спектрофотометрическим методом, разработанный Vakaleris and Price, предусматривает экстрагирование продуктов протеолиза, растворимых при pH 4,4. В практике российского сыроделия для оценки степени протеолиза более применимым является показатель содержания водорастворимого азота в сырах [8], поэтому на первой стадии исследований было проведено сравнение состава экстрактов, получаемых при выделении растворимых продуктов протеолиза из сыров и ВАД с помощью воды и с помощью кислого раствора.

На Рисунке 1 приведены хроматограммы продуктов протеолиза, полученных из ВАД и сыров путем экстрагирования водой при подкислении экстракта раствором соляной кислоты до pH 4,4 и без подкисления (с добавлением количества воды, равного количеству кислоты для компенсации фактора разведения).

Сравнение молекулярно-массового распределения в водных и подкисленных экстрактах из ВАД и сыров, приведенных на Рисунке 1, наглядно показывает, что при экстрагировании из ВАД и сыров продуктов протеолиза с помощью подкисленного растворителя (pH 4,4) из раствора удаляется часть пептидного материала с молекулярной массой выше

5 кДа, содержащего триптофан и тирозин. Это снижает в образце долю белковых веществ, поглощающих излучение с длиной волны 280 нм, поэтому для адекватного сравнения степени протеолиза в образцах сыров, целесообразнее использовать метод экстракции водой.

3.2 Оценка содержания белка спектрофотометрическим методом

График, отражающий зависимость оптической плотности на длине волны 280 нм водных экстрактов из ВАД и сыров от концентрации белка в данных экстрактах (определенном методом Кьельдаля), приведен на Рисунке 2.

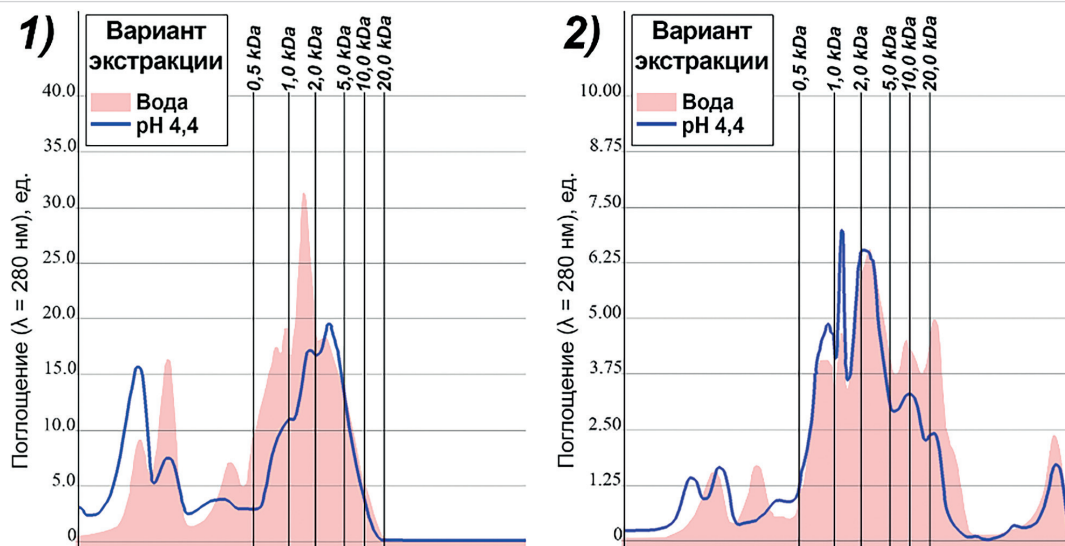


Рисунок 1. Молекулярно-массовое распределение в экстрактах, полученных: 1) из ВАД или 2) из сыров, путем экстрагирования водой (вариант экстракции — вода) или раствором соляной кислоты при кислотности экстракта pH 4,4 (вариант экстракции — pH 4,4)

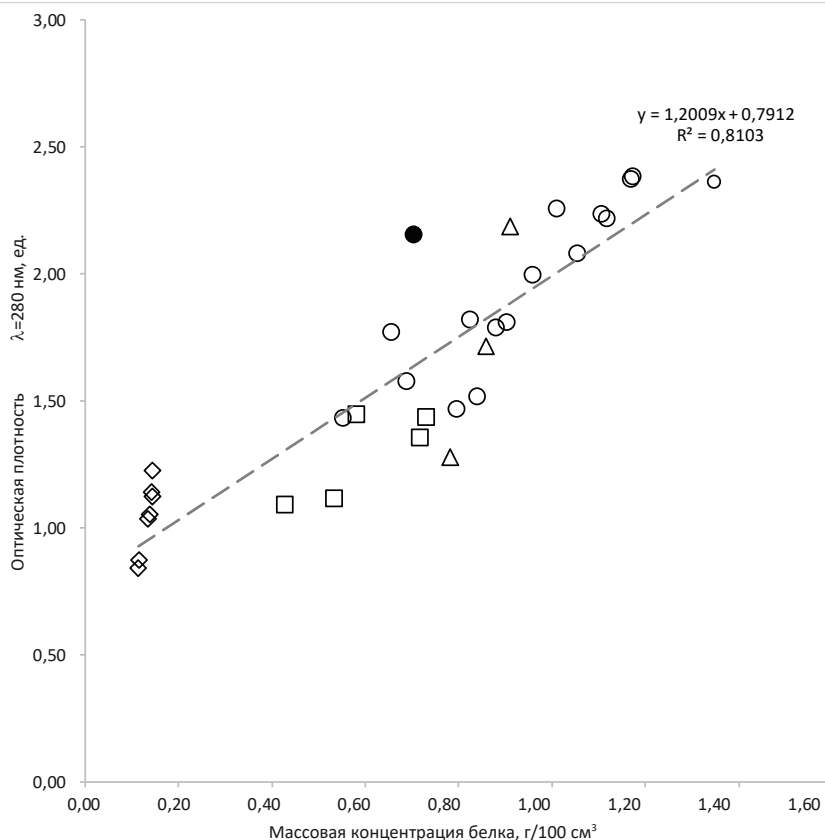


Рисунок 2. Зависимость поглощения на длине волны 280 нм от концентрации белка в водных экстрактах из образцов: $\diamond$ — ВАД; $\square$ — твердые сыры; Δ — сыр Чеддер; $\bullet$ — сыр Гауда; $\circ$ — сыр Голландский

Графическая зависимость, представленная на Рисунке 2, показывает, что поглощение водных экстрактов из ВАД и сыров на длине волны 280 нм коррелирует с содержанием белка в данных экстрактах. При этом можно отметить следующее:

- отмечается значительная вариация фактически измеренных значений оптической плотности относительно сглаживающей линии регрессии;
- точки данных, относящиеся к ВАД и к сырам одного вида, группируются в компактные области.

Это говорит о существовании разных зависимостей оптической плотности от содержания белка в пробе для каждой группы продуктов (ВАД и сыры разного вида). Необходимо построение отдельных регрессионных зависимостей для каждой группы продуктов.

Экспериментальные данные были сглажены уравнением линейной регрессии вида:

$$OD280 = k \cdot Prot + c, \quad (2)$$

где $OD280$ — оптическая плотность раствора на длине волны 280 нм;
 $Prot$ — концентрация белка в растворе, г/100 см³;
 k — коэффициент пропорциональности;
 c — константа уравнения.

После разделения на подгруппы было отмечено значительное улучшение качества сглаживания. Значения коэффициентов регрессионной модели зависимости оптической плотности от содержания белка в пробе для разных групп сыров и ВАД приведены в Таблице 1.

Из данных, приведенных в Таблице 1 следует, что регрессионные модели, построенные для выборок, более однородных по составу включенных продуктов (сыры одинаковых видов, ВАД), характеризуются более высокой степенью статистической достоверности по величине коэффициента детерминации.

Коэффициенты уравнения регрессии имеют физический смысл. Константа уравнения c равна оптической плотности

раствора при нулевом содержании белка. При имеющейся стохастической, а не строго функциональной зависимости оптической плотности от концентрации белка, константа уравнения должна быть статистически достоверно не отлична от нуля (при принятом уровне значимости $p < 0,05$). При c , не отличном от 0, зависимость (2) упрощается и принимает вид:

$$OD280 = k \cdot Prot, \quad (3)$$

Полученное уравнение, описывающее зависимость величины поглощения раствора от концентрации абсорбирующего вещества в растворе, называется законом Ламберта-Бэра (Lambert-Beer law). Коэффициент пропорциональности k называется в научной литературе «коэффициент поглощения 1%-го раствора» и равен оптической плотности раствора концентрацией 1 г / 100 см³ [14]. Коэффициент поглощения белка определяется содержанием в нем аминокислот, наиболее интенсивно поглощающих на длине волны 280 нм: триптофана, тирозина и, в меньшей степени, цистеина [18]. Отличие константы уравнения (2) c от нуля говорит о том, что для данной выборки образцов закон Ламберта-Бэра не соблюдается, ввиду значительной вариабельности коэффициентов поглощения образцов, составляющих выборку.

Коэффициент поглощения смеси пептидов, содержащихся в экстрактах из сыров, зависит от доли белка, переведенного в результате протеолиза в растворимое состояние. Чем выше степень протеолиза, тем большая доля поглощающих УФ-излучение 280 нм аминокислот переходит в состав растворимых пептидов [11], поэтому образцы, имеющие более высокую степень протеолиза, теоретически должны иметь более высокий коэффициент поглощения.

Наибольший коэффициент поглощения 1%-го раствора отмечается для образцов ВАД ($k = 10,30 \pm 1,35$), в которых от 65 до 81% белка переведено в растворимое состояние. Согласно данным Kirschenbaum [27], коэффициент поглощения 1%-го раствора параказеина равен 11,0. Коэффициент поглощения пептидного материала в экстракте из ВАД имеет

Таблица 1

Показатели регрессионной модели для разных групп сыров и ВАД

Выборка образцов		Коэффициенты уравнения линейной регрессии				Коэффициент детерминации уравнения регрессии (R^2)
Состав выборки	n	Коэффициент уравнения	Значение коэффициента	Ошибка оценки коэффициента	Уровень значимости оценки коэффициента (p)	
ВАД	7	c	-0,35454	0,181908	0,108806	0,92
		k	10,39088	1,351134	0,000593	
Сыры всех видов	25	c	0,474283	0,170564	0,010631	0,73
		k	1,543873	0,193368	0,000000	
Твердые сыры	5	c	0,648823	0,292218	0,113008	0,62
		k	1,064385	0,479455	0,113044	
Чеддер	3	c	-4,19011	0,861586	0,129105	0,98
		k	6,94948	1,010617	0,091935	
Голландский + Гауда	17	c	0,785957	0,217425	0,002547	0,67
		k	1,256255	0,228340	0,000061	
Голландский	16	c	0,600246	0,175089	0,004077	0,81
		k	1,421340	0,181336	0,000002	
Голландский (Naturen) *	8	c	-0,398772	0,290374	0,218765	0,92
		k	2,406891	0,293839	0,000178	
Голландский (Chy-max) *	4	c	0,800281	0,155761	0,035857	0,97
		k	1,197697	0,151642	0,015655	
Голландский (Fromase) *	4	c	0,807896	0,205331	0,058941	0,93
		k	1,279253	0,241820	0,033925	

Примечание:

* Образцы сыра Голландский производства ВНИИМС, изготовленные с использованием молокосвертывающих ферментов разного вида (названия торговых марок ферментов указаны в скобках). Красным цветом выделены строки, относящиеся к коэффициентам уравнения регрессии, имеющими уровень статистической значимости $p < 0,05$.

чуть меньшую величину, что говорит о практически полном переходе поглощающих излучение на 280 нм аминокислот в состав экстракта.

У сыров степень протеолиза составляет от 23 до 33%, а коэффициент поглощения 1%-го раствора k — от 1,1 до 2,4 (за исключением сыра Чеддер), что говорит о неполном переходе поглощающих излучение на 280 нм аминокислот в состав экстракта.

Различия в величине коэффициента поглощения у сыров разных видов также связаны с различиями в специфике протеолиза в разных сырах, приводящими к образованию пептидов, содержащих разное количество поглощающих излучение на 280 нм аминокислот. Методом жидкостной хроматографии был установлен состав водорастворимых азотистых фракций, поглощающих излучение с длиной волны 280 нм, в сырах разных видов (Рисунок 3).

На основании результатов хроматографического анализа, представленных на Рисунке 3, можно сделать следующие выводы.

Образцы твердых сыров имеют заметно отличающуюся форму молекулярно-массового распределения, что связано с различиями в технологии их производства, приводящим к различиям в специфике протеолиза. Значительная вариабельность по составу продуктов протеолиза в выборке «твердые сыры» (Рисунки 3.1, 3.2) объясняет получение статистически недостоверной зависимости оптической плотности от содержания белка для выборки по данной группе сыров (Таблица 1).

Значительные отличия по содержанию и уровню поглощения растворимых пептидов в исследованных образцах сыра Чеддер от разных производителей (Рисунок 3.3), привели к получению статистически недостоверной регресси-

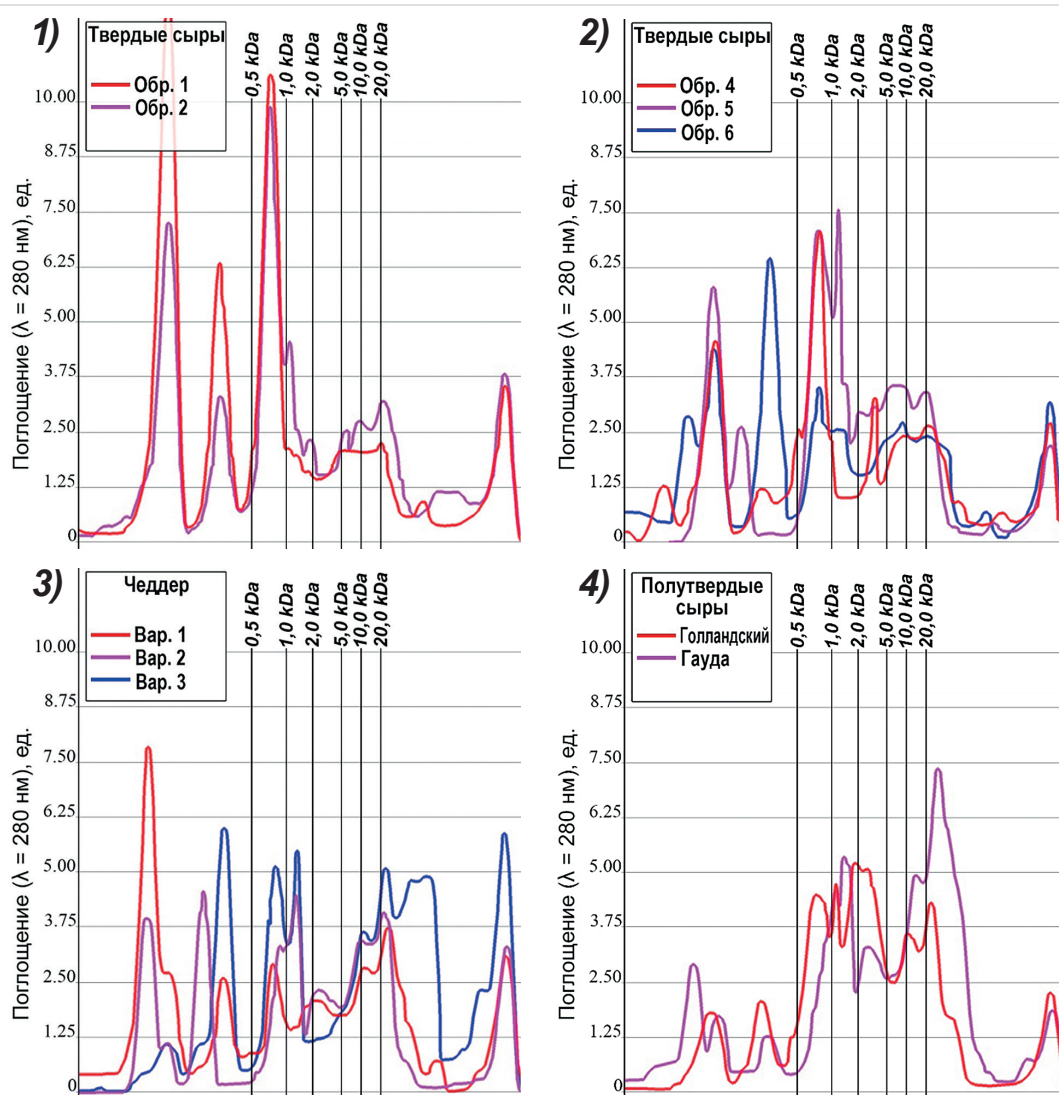


Рисунок 3. Состав водорастворимых азотистых фракций в сырах разных видов.

ТВЕРДЫЕ СЫРЫ:

Образец 1 — Сыр «Swiss Emmentaler AOP» ТМ «Schonfeld» (Швейцария);

Образец 2 — Сыр «Швейцарский» (Le Superbe Services AG, Швейцария);

Образец 4 — Сыр Гойя ТМ «La Paulina» (Molfino Hnos S. A., Аргентина);

Образец 5 — Сыр «Пармезан Делюкс» (ОАО «Молочный мир», Республика Беларусь);

Образец 6 — Сыр «Пармезан Bravo» (ООО «Ровеньки-маслосырзавод», Россия);

СЫР ЧЕДДЕР:

Вариант 1 — Сыр Чеддер (Le Superbe Services AG, Швейцария);

Вариант 2 — Сыр Чеддер ТМ «La Paulina» (Molfino Hnos S. A., Аргентина);

Вариант 3 — Сыр Чеддер ТМ «Валио» (ООО «Валио», Россия);

ГАУДА:

Сыр Гауда ТМ «Валио» (ООО «Валио», Россия).

онной зависимости оптической плотности от содержания белка для выборки по данной группе сыров (Таблица 1).

Причина различий в содержании и аминокислотном составе продуктов протеолиза в исследованных сырах состоит в использовании отличающихся технологических режимов производства сыров (в т. ч. использование закваски разного видового состава, разных типов молокосвертывающих ферментных препаратов (МФП), различия в режимах посолки, созревания и ряде других параметров). Различия в специфике протеолиза приводят к образованию водорастворимых продуктов протеолиза с разным содержанием аминокислот, поглощающих излучение с длиной волны 280 нм.

Следствием различий в содержании аминокислот, поглощающих излучение с длиной волны 280 нм в продуктах протеолиза, является различие в коэффициенте поглощения водных экстрактов из сыров с разной спецификой протеолиза. Несмотря на то, что сыры Гауда и Голландский относятся к одной группе сыров и производятся по технологии, имеющей мало отличий, эти сыры имеют отличия по качественному составу продуктов протеолиза. На Рисунке 3.4 приведен состав растворимых азотистых продуктов протеолиза в сырах Гауда и Голландский, имеющих одинаковую степень протеолиза. Поэтому, регрессионная зависимость, построенная для выборки только по сыру Голландский, имеет более высокий уровень статистической достоверности, чем регрессионная зависимость, построенная по выборке, включающей сыр Голландский и сыр Гауда (Таблица 1).

Следует отметить, что разделение общей выборки по сыру Голландский на подвыборки, включающие сыры, произведенные с одинаковым типом МФП, позволяет получить для таких подвыборок регрессионные зависимости оптической плотности от содержания белка в пробе, имеющие еще более высокий уровень статистической достоверности. Причина этого заключается в том, что образцы сыра Голландский, произведенные с молокосвертывающими ферментами разного вида, имеют несколько разный состав продуктов протеолиза.

На рисунке 4.1 приведены хроматограммы содержания растворимых продуктов протеолиза в образцах сыра Голландский на разных стадиях созревания и хранения. На Рисунке 4.2 приведены хроматограммы образцов сыра

Голландский с одинаковой степенью протеолиза ($\approx 31\%$), произведенных с молокосвертывающими ферментами разного вида.

Из данных хроматографического анализа, приведенных на Рисунке 4, можно сделать следующие выводы. Образцы сыра Голландский, произведенные по одному варианту технологии с использованием разных МФП, имеют мало различий в качественном составе продуктов протеолиза на протяжении всего срока созревания и хранения сыра (Рисунок 4.1). При этом сыры, имеющие равную степень протеолиза, но изготовленные с использованием разных типов МФП, имеют небольшие отличия в молекулярно-массовом распределении продуктов протеолиза (Рисунок 4.2). Подобных отличий достаточно для получения отличающихся коэффициентов регрессионных моделей, описывающих зависимость оптической плотности от содержания белка для данных сыров (Таблица 1).

4. Заключение

На основании полученных данных можно сделать следующие выводы: поскольку разные сыры имеют разную специфику протеолиза, следствием этого является разное содержание поглощающих на 280 нм аминокислот в составе растворимой фракции, поэтому коэффициент поглощения у водных экстрактов из сыров разных групп будет отличаться.

С помощью спектрофотометрического метода можно сравнивать только сыры, произведенные по одинаковой технологии, имеющие слабые различия по содержанию поглощающих излучение с длиной волны 280 нм аминокислот в составе продуктов протеолиза. В своих работах Vakaleris и Price [21] и Schroeder et al [22] получили надежные зависимости оптической плотности экстрактов из сыров от степени протеолиза в сырах, при применении метода к однородной группе сыров (сыр Чеддер).

При использовании спектрофотометрического метода оценки степени протеолиза применительно к выборке по сыру Голландский, также были получены сравнимые результаты. Для примера, на Рисунках 5.1 и 5.2 приведены графики, отображающий сравнительную динамику протеолиза в образцах сыра Голландский, изготовленных по одинаковой технологии с применением разных видов МФП и созревающих при разной температуре.

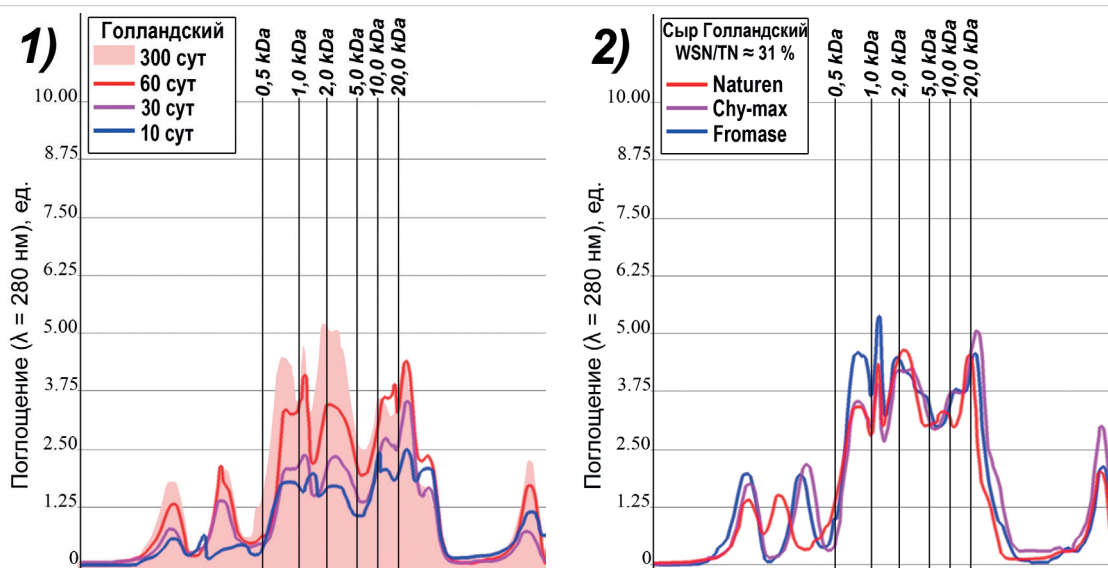
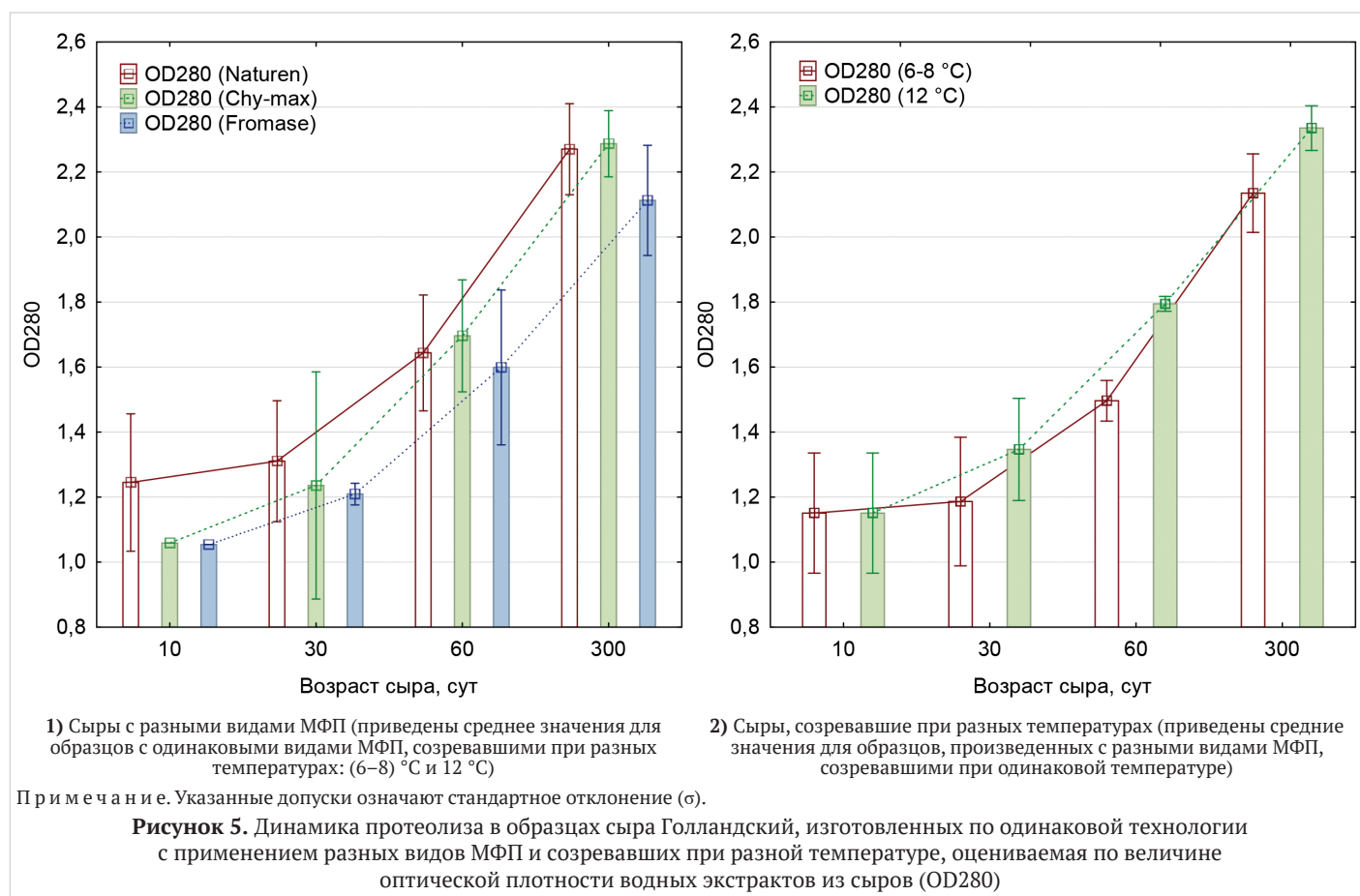


Рисунок 4. Содержание растворимых продуктов протеолиза в образцах сыра Голландский: 1) на разных стадиях созревания и хранения; 2) произведенных с молокосвертывающими ферментами разного вида и имеющих одинаковую степень протеолиза ($\approx 31\%$)



На основании данных, установленных при анализе литературы, а также в результате собственных исследований, можно заключить, что метод оценки содержания белка по поглощению УФ-излучения с длиной волны 280 нм может быть успешно использован для оценки протеолиза в сырах. Для получения достоверных результатов оценки

содержания водорастворимого белка в сырах, необходимо проводить измерения на выборке сыров, произведенных по одинаковому технологическому процессу, имеющих одинаковую специфику протеолиза и мало отличающийся между образцами внутри выборки коэффициент поглощения.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Lei, T., Sun, D.-W. (2019). Developments of nondestructive techniques for evaluating quality attributes of cheeses: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 88, 527–542. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.04.013>
- Chen, Y., MacNaughtan, W., Jones, P., Yang, Q., Williams, H., Foster, T. (2021). Selection of potential molecular markers for cheese ripening and quality prediction by NMR spectroscopy. *LWT*, 136, Article 110306. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110306>
- Kraggerud, H., Næs, T., Abrahamsen, R. K. (2014). Prediction of sensory quality of cheese during ripening from chemical and spectroscopy measurements. *International Dairy Journal*, 34(1), 6–18. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.07.008>
- Parrini, S., Crovetto, A., Aquilani, C., Nannucci, L., Bozzi, R. (2020). Near-infrared spectroscopy to assess chemical composition of sheep and goat cheeses. *Acta Fytotechnica Et Zootechnica*, 23, 97–104. <https://doi.org/10.15414/afz.2020.23.mi-fpap.97-104>
- Ayaz, H., Mortas, M., Dogan, M. A., Atan, M., Yildiz Tiriyaki, G., Karagul Yuceer, Y. (2020). Near- and mid-infrared determination of some quality parameters of cheese manufactured from the mixture of different milk species. *Journal of Food Science and Technology*, <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04861-0>
- Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., Singh, T.K. (1995). Methods for assessing proteolysis in cheese during ripening, Chapter in a book: *Chemistry of Structure-Function Relationships in Cheese*. New York: Plenum Publishing Corp. 1995. ISBN 978-1-4615-1913-3
- Bansal, N., Piraino, P., McSweeney, P.L.H. (2010). Determination of Proteolysis in Cheese. Chapter in a book: *Handbook of Dairy Foods Analysis*, Boca Raton: CRC Press. 2010. ISBN 978-1-4200-4631-1
- Гудков А. В. Сыроделие: технологические, биологические и физико-химические аспекты. М.: ДеЛи принт. — 2004. — 804 с. ISBN 5-94343-071-7
- Nielsen, S.S. (2017). *Food Analysis*. Springer. 2017. ISBN 978-3-319-45776-5
- Tremblay, L., Laporte, M.F., Leonil, J., Dupont, D., Paquin, P. (2003). Quantitation of proteins in milk and milk products. Chapter in a book: *Advanced Dairy Chemistry Volume 1: Proteins*. Springer Science & Business Media. 2003. ISBN 978-1-4419-8602-3
- Wallace, J.M., Fox, P.F. (1998). Rapid spectrophotometric and fluorimetric methods for monitoring nitrogenous (proteinaceous) compounds in cheese and cheese fractions: a review. *Food Chemistry*, 62(2), 217–224. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(97\)00162-3](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(97)00162-3)
- Myagkonosov, D.S., Abramov, D.V., Ovchinnikova, E.G., Krayushkina, V.N. (2020). Express Method for Assessing Proteolysis in Cheese and Aromatic Additives with Cheese Flavor. *Food Systems*, 3(4), 4–10. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2020-3-4-4-10>
- Samples, D. R., Richter, R. L., Dill, C. W. (1984). Measuring proteolysis in Cheddar cheese slurries: Comparison of Hull and trinitrobenzene sulfonic acid procedures. *Journal of Dairy Science*, 67(1), 60–63. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(84\)81266-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(84)81266-7)
- Olson, B. J., Markwell, J. (2007). Assays for determination of protein concentration. *Current Protocols in Protein Science* / Editorial Board, John E. Coligan at al. Chapter 3. <https://doi.org/10.1002/0471140864.ps0304s48>
- Hortin, G.L., Meilinger, B. (2005). Cross-Reactivity of Amino Acids and Other Compounds in the Biuret Reaction: Interference with Urinary Peptide Measurements. *Clinical Chemistry*, 51(8), 1411–1419. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2005.052019>
- Georgi, G., Sawatzki, G. (1988). Molecular Weight Determination of Protein Hydrolysates (FPLC). Chapter in a book: *Milk proteins: nutritional, clinical, functional and technological aspects*. Darmstadt: Steinkopff; New York: Springer. 1988. ISBN 13: 978-3-642-85375-3
- Stoscheck, C.M. (1990). Quantitation of protein. Chapter in a book: *Methods in Enzymology*. Vol. 182. Guide to Protein Purification. Academic Press, Inc. 1990. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(90\)82008-P](https://doi.org/10.1016/0076-6879(90)82008-P)

18. Pace, C. N., Vajdos, F., Fee, L., Grimsley, G., Gray, T. (1995). How to measure and predict the molar absorption coefficient of a protein. *Protein Science*, 4(11), 2411–2423. <https://doi.org/10.1002/pro.5560041120>
19. Silvestre, M.P.C. (1997). Review of methods for the analysis of protein hydrolysates. *Food Chemistry*, 60(2), 263–271. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(96\)00347-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(96)00347-0)
20. Silvestre, M.P.C., Dauphin, C., Hamon, M. (1993). Application of UV absorption and second-derivative spectrophotometry for analysing casein hydrolysates. *Analytica Chimica Acta*, 282(3), 603–612. [https://doi.org/10.1016/0003-2670\(93\)80125-5](https://doi.org/10.1016/0003-2670(93)80125-5)
21. Vakaleris, D. G., Price, W. V. (1959). A rapid spectrophotometric method for measuring cheese ripening. *Journal of Dairy Science*, 42(2), 264–276. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(59\)90562-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(59)90562-4)
22. Schroeder, C. L., Bodyfelt, F. W., Wyatt, C. J., McDaniel, M. R. (1988). Reduction of sodium chloride in cheddar cheese: Effect on sensory, microbiological, and chemical properties. *Journal of Dairy Science*, 71(8), 2010–2020. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(88\)79776-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(88)79776-3)
23. Lin, Y. C., Washam, C. J., Vadamuthu, E. R. (1982). Vakaleris-Price and Hull methods for determining soluble tyrosine and tryptophan in blue cheese. *Journal of Dairy Science*, 65(5), 707–711. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(82\)82258-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(82)82258-3)
24. Ivens, K. O., Baumert, J. L., Hutkins, R. L., Taylor, S. L. (2017). Effect of proteolysis during Cheddar cheese aging on the detection of milk protein residues by ELISA. *Journal of Dairy Science*, 100(3), 1629–1639. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11649>
25. Visser, S., Slangen, C. J., Robben, A. J. P. M. (1992). Determination of molecular mass distributions of whey protein hydrolysates by high-performance size-exclusion chromatography. *Journal of Chromatography A*, 599(1–2), 205–209. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(92\)85474-8](https://doi.org/10.1016/0021-9673(92)85474-8)
26. McSweeney, P. L. H., Fox, P. F. (1997). Chemical methods for the characterization of proteolysis in cheese during ripening. *Lait*, 77(1), 41–76. <https://doi.org/10.1051/lait:199713>
27. Kirschenbaum, D. M. (1982). Molar absorptivity and values for proteins at selected wavelengths of the ultraviolet and visible regions. XXII. *Applied Biochemistry and Biotechnology: Part A: Enzyme Engineering and Biotechnology*, 7(6), 475–495. <https://doi.org/10.1007/BF02799179>

REFERENCES

1. Lei, T., Sun, D. -W. (2019). Developments of nondestructive techniques for evaluating quality attributes of cheeses: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 88, 527–542.
2. Chen, Y., MacNaughtan, W., Jones, P., Yang, Q., Williams, H., Foster, T. (2021). Selection of potential molecular markers for cheese ripening and quality prediction by NMR spectroscopy. *LWT*, 136, Article 110306. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110306>
3. Kraggerud, H., Næs, T., Abrahamsen, R. K. (2014). Prediction of sensory quality of cheese during ripening from chemical and spectroscopy measurements. *International Dairy Journal*, 34(1), 6–18. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.07.008>
4. Parrini, S., Crovetto, A., Aquilani, C., Nannucci, L., Bozzi, R. (2020). Near-infrared spectroscopy to assess chemical composition of sheep and goat cheeses. *Acta Fytotechnica Et Zootechnica*, 23, 97–104. <https://doi.org/10.15414/afz.2020.23.mi-fpap.97-104>
5. Ayvaz, H., Mortas, M., Dogan, M. A., Atan, M., Yildiz Tiryaki, G., Karagul Yuceer, Y. (2020). Near- and mid-infrared determination of some quality parameters of cheese manufactured from the mixture of different milk species. *Journal of Food Science and Technology*, <https://doi.org/10.1007/s13197-020-04861-0>
6. Fox, P.F., McSweeney, P.L.H., Singh, T.K. (1995). Methods for assessing proteolysis in cheese during ripening, Chapter in a book: *Chemistry of Structure-Function Relationships in Cheese*. New York: Plenum Publishing Corp. 1995. ISBN 978-1-4615-1913-3
7. Bansal, N., Piraino, P., McSweeney, P.L.H. (2010). Determination of Proteolysis in Cheese. Chapter in a book: *Handbook of Dairy Foods Analysis*, Boca Raton: CRC Press. 2010. ISBN 978-1-4200-4631-1
8. Gudkov, A. V. (2004). Cheesemaking: Technological, biological and physical-chemical aspects. Moscow: DeLi print. — 804 p. ISBN 5-94343-071-7 (in Russian)
9. Nielsen, S.S. (2017). *Food Analysis*. Springer. 2017. ISBN 978-3-319-45776-5
10. Tremblay, L., Laporte, M.F., Leonil, J., Dupont, D., Paquin, P. (2003). Quantitation of proteins in milk and milk products. Chapter in a book: *Advanced Dairy Chemistry Volume 1: Proteins*. Springer Science & Business Media. 2003. ISBN 978-1-4419-8602-3
11. Wallace, J.M., Fox, P.F. (1998). Rapid spectrophotometric and fluorimetric methods for monitoring nitrogenous (proteinaceous) compounds in cheese and cheese fractions: a review. *Food Chemistry*, 62(2), 217–224. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(97\)00162-3](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(97)00162-3)
12. Myagkonosov, D.S., Abramov, D.V., Ovchinnikova, E.G., Krayushkina, V.N. (2020). Express Method for Assessing Proteolysis in Cheese and Aromatic Additives with Cheese Flavor. *Food Systems*, 3(4), 4–10. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2020-3-4-4-10>
13. Samples, D. R., Richter, R. L., Dill, C. W. (1984). Measuring proteolysis in Cheddar cheese slurries: Comparison of Hull and trinitrobenzene sulfonic acid procedures. *Journal of Dairy Science*, 67(1), 60–63. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(84\)81266-7](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(84)81266-7)
14. Olson, B. J., Markwell, J. (2007). Assays for determination of protein concentration. *Current Protocols in Protein Science* / Editorial Board, John E. Coligan et al. Chapter 3. <https://doi.org/10.1002/0471140864.ps0304s48>
15. Hortin, G.L., Meilinger, B. (2005). Cross-Reactivity of Amino Acids and Other Compounds in the Biuret Reaction: Interference with Urinary Peptide Measurements. *Clinical Chemistry*, 51(8), 1411–1419. <https://doi.org/10.1373/clinchem.2005.052019>
16. Georgi, G., Sawatzki, G. (1988). Molecular Weight Determination of Protein Hydrolysates (FPLC). Chapter in a book: *Milk proteins: nutritional, clinical, functional and technological aspects*. Darmstadt: Steinkopff; New York: Springer. 1988. ISBN 13: 978-3-642-85375-3
17. Stoscheck, C.M. (1990). Quantitation of protein. Chapter in a book: *Methods in Enzymology*. Vol. 182. Guide to Protein Purification. Academic Press, Inc. 1990. [https://doi.org/10.1016/0076-6879\(90\)82008-P](https://doi.org/10.1016/0076-6879(90)82008-P)
18. Pace, C. N., Vajdos, F., Fee, L., Grimsley, G., Gray, T. (1995). How to measure and predict the molar absorption coefficient of a protein. *Protein Science*, 4(11), 2411–2423. <https://doi.org/10.1002/pro.5560041120>
19. Silvestre, M.P.C. (1997). Review of methods for the analysis of protein hydrolysates. *Food Chemistry*, 60(2), 263–271. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(96\)00347-0](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(96)00347-0)
20. Silvestre, M.P.C., Dauphin, C., Hamon, M. (1993). Application of UV absorption and second-derivative spectrophotometry for analysing casein hydrolysates. *Analytica Chimica Acta*, 282(3), 603–612. [https://doi.org/10.1016/0003-2670\(93\)80125-5](https://doi.org/10.1016/0003-2670(93)80125-5)
21. Vakaleris, D. G., Price, W. V. (1959). A rapid spectrophotometric method for measuring cheese ripening. *Journal of Dairy Science*, 42(2), 264–276. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(59\)90562-4](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(59)90562-4)
22. Schroeder, C. L., Bodyfelt, F. W., Wyatt, C. J., McDaniel, M. R. (1988). Reduction of sodium chloride in cheddar cheese: Effect on sensory, microbiological, and chemical properties. *Journal of Dairy Science*, 71(8), 2010–2020. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(88\)79776-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(88)79776-3)
23. Lin, Y. C., Washam, C. J., Vadamuthu, E. R. (1982). Vakaleris-Price and Hull methods for determining soluble tyrosine and tryptophan in blue cheese. *Journal of Dairy Science*, 65(5), 707–711. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(82\)82258-3](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(82)82258-3)
24. Ivens, K. O., Baumert, J. L., Hutkins, R. L., Taylor, S. L. (2017). Effect of proteolysis during Cheddar cheese aging on the detection of milk protein residues by ELISA. *Journal of Dairy Science*, 100(3), 1629–1639. <https://doi.org/10.3168/jds.2016-11649>
25. Visser, S., Slangen, C. J., Robben, A. J. P. M. (1992). Determination of molecular mass distributions of whey protein hydrolysates by high-performance size-exclusion chromatography. *Journal of Chromatography A*, 599(1–2), 205–209. [https://doi.org/10.1016/0021-9673\(92\)85474-8](https://doi.org/10.1016/0021-9673(92)85474-8)
26. McSweeney, P. L. H., Fox, P. F. (1997). Chemical methods for the characterization of proteolysis in cheese during ripening. *Lait*, 77(1), 41–76. <https://doi.org/10.1051/lait:199713>
27. Kirschenbaum, D. M. (1982). Molar absorptivity and values for proteins at selected wavelengths of the ultraviolet and visible regions. XXII. *Applied Biochemistry and Biotechnology: Part A: Enzyme Engineering and Biotechnology*, 7(6), 475–495. <https://doi.org/10.1007/BF02799179>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Мягконосов Дмитрий Сергеевич — кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник, заведующий отделом прикладной биохимии и энзимологии, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия — филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН 152613, Ярославская область, г. Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: + 7-915-973-63-13 E-mail: mds-mail@mail.ru https://orcid.org/0000-0003-4443-7573 * автор для контактов	Dmitry S. Myagkonosov — candidate of technical sciences, leading researcher, head of research department in applied biochemistry and enzymology, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking — Branch of V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS 152613, Yaroslavl Region, Uglich, Krasnoarmeysky Boulevard, 19 Tel.: + 7-915-973-63-13 E-mail: mds-mail@mail.ru https://orcid.org/0000-0003-4443-7573 * corresponding author
Абрамов Дмитрий Васильевич — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, руководитель направления биохимических исследований по сыроделию и маслоделию Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия — филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН 152613, Ярославская область, г. Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: + 7-910-970-42-97 E-mail: uglich.dva@mail.ru https://orcid.org/0000-0001-8326-1932	Dmitry V. Abramov — candidate of biological sciences, leading researcher, head of biochemical research in cheesemaking and buttermaking, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking — Branch of V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS 152613, Yaroslavl Region, Uglich, Krasnoarmeysky Boulevard, 19 Tel.: + 7-910-970-42-97 E-mail: uglich.dva@mail.ru https://orcid.org/0000-0001-8326-1932
Овчинникова Елена Григорьевна — научный сотрудник, отдел биохимии, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия — филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН 152613, Ярославская область, г. Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: + 7-48532-98-1-94, E-mail: elenna.ov@mail.ru https://orcid.org/0000-0003-4891-4330	Elena G. Ovchinnikova — researcher, department of biochemistry, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking — Branch of V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS 152613, Yaroslavl Region, Uglich, Krasnoarmeysky Boulevard, 19. Tel.: + 7-48532-98-1-94, E-mail: elenna.ov@mail.ru https://orcid.org/0000-0003-4891-4330
Краюшкина Валентина Николаевна — младший научный сотрудник, отдел биохимии, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия — филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН 152613, Ярославская область, г. Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: + 7-48532-98-1-33 E-mail: uglich-cheese@mail.ru https://orcid.org/0000-0002-4904-6152	Valentina N. Krayushkina — junior researcher, department of biochemistry, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking — Branch of V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS 152613, Yaroslavl Region, Uglich, Krasnoarmeysky Boulevard, 19 Tel.: + 7-48532-98-1-33 E-mail: uglich-cheese@mail.ru https://orcid.org/0000-0002-4904-6152
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат	Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов	The authors declare no conflict of interest
Поступила 14.02.2021	Received 14.02.2021
Поступила после рецензирования 15.03.2021	Accepted in revised 15.03.2021
Принята в печать 25.03.2021	Accepted for publication 25.03.2021

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-56-61><https://www.fsjour.com/jour>

Научная статья

ИССЛЕДОВАНИЕ ИЗМЕНЕНИЯ СТРУКТУРЫ ПОЛИЭТИЛЕНОВОГО СЛОЯ УПАКОВКИ, КОНТАКТИРУЮЩЕГО С ПИЩЕВЫМ ПРОДУКТОМ, ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ УЛЬТРАФИОЛЕТОВОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Федотова О. Б., Пряничникова Н. С.*

Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

полиэтилен, упаковка пищевых продуктов, спектры, ультрафиолетовое излучение, облучение, структура, безопасность

АННОТАЦИЯ

Санитарно-гигиеническую безопасность современной упаковки, обуславливает слой упаковочного материала находящейся в непосредственном контакте с пищевым продуктом. Этот слой в большинстве случаев представляет собой синтетический полимер класса полиолефинов — полиэтилен низкой плотности. Этот материал используется в качестве самостоятельной упаковки и в составе многослойных и комбинированных упаковочных материалов. При термо- и фотоокислении в нем могут образовываться соединения, негативно влияющие на безопасность упаковки, которые могут мигрировать в продукт. В технологиях пищевых продуктов используются методы обеззараживания упаковочных материалов и упаковки перед фасованием либо розливом продукции. В составе этих методов — ультрафиолетовое облучение поверхности, которое обладает бактерицидным действием. С использованием спектральных методов анализа проведены исследования изменения структуры слоев полиэтилена в составе пленок, многослойных пленок и комбинированных упаковочных материалов при воздействии на них импульсного ультрафиолетового излучения в широкой области спектра (облучение импульсной ксеноновой лампой). Выявлены деформации химических связей макромолекул полиэтилена на поверхности и граничных слоях под воздействием импульсного УФ-облучения. Получены ИК спектры МНПВО, анализ которых показал, что наибольшему деструктивному воздействию подвержена монопленка, о чем свидетельствует появление характерных полос поглощения, ответственных за образование альдегидных, кетонных групп, а также, за обрыв полимерной цепи. Показано что использование пищевой сажи в составе многослойных упаковочных пленок блокирует их фотодеструкцию. При облучении комбинированного материала на основе картона, предназначенного для розлива молока, на спектрах обнаружена полоса поглощения, ответственная за начало процесса деструкции с образованием альдегидных и карбоксилатных группировок. Сравнение изменения структуры в трех разных упаковочных объектах, содержащих слой полиэтилена, показывает целесообразность и необходимость использования для упаковки пищевой продукции комбинированных и многослойных материалов, в которых даже при экстремальном УФ-облучении, практически отсутствуют процессы фотодеструкции, что подтверждено спектральными исследованиями.

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

Original scientific article

RESEARCH OF THE POLYETHYLENE PACKAGING LAYER STRUCTURE CHANGE IN CONTACT WITH A FOOD PRODUCT AT EXPOSURE TO ULTRAVIOLET RADIATION

Olga B. Fedotova, Nataliya S. Pryanichnikova*

All-Russian Dairy Research Institute, Moscow, Russia

KEY WORDS: polyethylene, food packaging, spectra, ultraviolet radiation, irradiation, structure, safety

ABSTRACT

The sanitary and hygienic safety of modern packaging is determined by the layer of packaging material in direct contact with the food product. This layer in most cases is a synthetic polymer of the polyolefin class — low density polyethylene. This material is used as a stand-alone packaging and in multilayer and combined packaging materials. During thermal and photooxidation, compounds can form in it that negatively affect the safety of the package, which can migrate into the product. Food technologies use methods of disinfecting packaging materials and packaging before filling or bottling products. These methods include ultraviolet irradiation of the surface, which has a bactericidal effect. Using spectral methods of analysis, researches have been carried out on changes in the polyethylene layers structure in the film's composition, multilayer films and combined packaging materials when exposed to pulsed ultraviolet radiation in a wide spectral range (irradiation with a pulsed xenon lamp). Deformations of polyethylene macromolecules chemical bonds on the surface and boundary layers under the influence of pulsed UV-irradiation have been revealed. The IR spectra of ATR (Attenuated Total Reflection) were obtained, the analysis of which showed that the monofilm is subject to the greatest destructive effect, as evidenced by the appearance of characteristic absorption bands responsible for the formation of aldehyde, ketone groups, as well as

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Федотова, О.Б., Пряничникова, Н.С. (2021). Исследование изменения структуры полиэтиленового слоя упаковки, контактирующего с пищевым продуктом, при воздействии ультрафиолетового излучения. Пищевые системы, 4(1), 56–61. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-56-61>

FOR CITATION: Fedotova, O.B., Pryanichnikova, N.S. (2021). Research of the polyethylene packaging layer structure change in contact with a food product at exposure to ultraviolet radiation. Food systems, 4(1), 56–61. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-56-61>

for the polymer chain termination. It is shown that the use of food soot in the composition of multilayer packaging films blocks their photo destruction. Upon irradiation of a combined material based on cardboard intended for bottling milk, an absorption band was found in the spectra, which is responsible for the onset of the destruction process with the formation of aldehyde and carboxylate groups with the formation of aldehyde and carboxylate groups.

Comparison of changes in structure in three different packaging objects containing a polyethylene layer shows the feasibility and necessity of using combined and multilayer materials for food products packaging, in which, even under extreme UV-irradiation, there are practically no photo destruction processes, which is confirmed by spectral researches.

1. Введение

В современности ни один продукт переработки сырья животного происхождения невозможен без его упаковки. Полимерная упаковка прочно вошла в состав технологий производства всех пищевых продуктов. При этом, наиболее широко используются комбинированные и многослойные материалы, послойный состав которых обеспечивает требуемый комплекс свойств того или иного продукта при его хранении и доведении до стола потребителя. Это, например, пленки полиэтиленовые наполненные для пастеризованного и ультрапастеризованного молока. Многослойность таких пленок обеспечивает светозащиту молока при его транспортировании и на торговых полках. В молочной промышленности широко используются комбинированные материалы на основе бумаги и картона, из которых в технологиях молока и молочных продуктов изготавливают пакеты (типа Пюр-Пак; Тетра-Брик, Тетра-брик-асептик и др) [1]. Эти упаковочные материалы, в зависимости от назначения, содержат в своем составе не только бумагу и картон, но и алюминиевую фольгу и обязательно — полиэтилен. Широкое распространение в мясной и молочной промышленности нашли материалы серии полиамид/полиэтилен, из которых изготавливают пакеты и реализуют в технологиях фасования в вакууме и модифицированной газовой среде. Эти материалы относятся к категории многослойных, обеспечивают барьерность упаковки по отношению к газам и могут состоять из различного количества слоев полимеров — от 2 до 7 и также содержат полиэтилен. Более простые по послойному составу материалы, например, для вторичной упаковки брикетов с творогом и творожными изделиями, также содержат в своем составе полиэтилен. Этот синтетический полимер выполняет в составе упаковки различные функции и используется в ее различных слоях. Внешний слой в пакетах типа Тетра-Брик защищает от атмосферных воздействий печатный рисунок, нанесенный на слой бумаги. Промежуточный слой в комбинированных материалах выполняет роль адгезива при соединении бумаги с алюминиевой фольгой. Наиболее важен и многофункционален полиэтиленовый слой в упаковочных материалах, потенциально контактирующих с пищевым продуктом. Он обеспечивает их способность к формированию сварных соединений и, соответственно герметичность формируемой упаковки. Этот же слой должен обеспечивать безопасность с санитарно-гигиенической точки зрения, быть индифферентным по отношению к пищевому продукту, в т. ч. при различных воздействиях: температуры (если термический нагрев предусмотрен технологией продукта); химических реагентов, например, перекиси водорода и надуксусной кислоты (если технологией предусмотрена асептическая обработка); ультрафиолетового облучения (если предусмотрено обеззараживание физическими методами). Практически все используемые комбинированные материалы содержат внутренний полиэтиленовый слой [1,2].

Следует отметить, что, в целом, полиэтилен достаточно хорошо изученный материал. Его безопасность доказана многочисленными исследованиями. Однако существует определенный нюанс. Исследования полимера проводятся

до воздействия на него вышеперечисленных факторов. Некоторые исследования санитарно-гигиенической безвредности упаковки с внутренним полиэтиленовым слоем проводились во ВНИМИ автором настоящей статьи. При этом, использованы приемы моделирования.

Рядом исследований показано, что упаковочные материалы и упаковка в своем жизненном цикле могут подвергаться вторичной контаминации [3,4]. При этом, основными контаминантами являются бактерии группы кишечных палочек и плесневые грибы.

В технологиях молочной продукции все большее распространение находит использование ультрафиолетового (УФ) облучения. [5]. Эффективность обеззараживания упаковки данным безреагентным способом подтверждена проведенными исследованиями [6,7,8].

Безопасность полиэтиленовой упаковки определяется содержанием в нем низкомолекулярных фракций и динамикой миграции их в модельные среды [9,10,11].

При отсутствии воздействия света и при комнатной температуре окисление пленок из полиэтилена протекает очень медленно. При повышении температуры скорость окисления возрастает. Аналогичную картину можно наблюдать при воздействии рассеянного и, особенно прямого солнечного света. При всех видах внешних воздействий (тепло и свет) в присутствии кислорода в «инертном» полимере происходит образование кислородсодержащих групп: $C=O$, OH , COO , OOH , причем, $C=O$ группы могут быть разных типов — кетонные, альдегидные, сложнэфирные и др. Все эти группы имеют характерные полосы поглощения в ИК-спектре [12]. Внешние воздействия непременно приводят к образованию этих групп в различных количественных соотношениях. Например, при воздействии высоких температур, преобладают кетонные группы, при воздействии излучения — кетонные и альдегидные [13].

Поскольку любые изменения полиэтиленового слоя связаны с возможным изменением его структуры после различных воздействий, представляло интерес проведение соответствующего исследования. В качестве воздействующего фактора использовано УФ-излучение импульсной ксеноновой лампы. Данное решение обусловлено тем, что данное воздействие охватывает широкую область спектра, «захватывая» инфракрасную (ИК) и видимую области и, как следствие, кроме поверхностной дозы облучения, привносит тепловую компоненту [14,15]. Поглощение энергии излучения, происходящее в тонком поверхностном слое облучаемого вещества, приводит к его нагреву и образованию тепловой волны, распространяющейся вглубь материала. Глубина проникновения тепловой волны определяется температуропроводностью вещества. Для режимов, определенных допустимым диапазоном потоков излучения, ранее был проведен расчёт проникновения тепловой волны вглубь образцов, который показал, что глубина проникновения меняется в диапазоне 10–20 мкм при реализуемых режимах облучения [1].

В давних публикациях Д. Н. Лазаревым [16] было доказано, что фотодеструкция полимерных материалов может происходить под влиянием излучения с длинами волн, способных поглощаться облучаемыми объектами.

В связи с вышеизложенным, целью настоящего исследования являлось выявление деформации химических связей макромолекул полиэтилена на поверхности и граничных слоях под воздействием импульсного УФ-облучения, в качестве фактора, подтверждающего его безопасность в составе упаковки продуктов питания.

2. Материалы и методы

В качестве объектов исследования были использованы: пленка полиэтиленовая из полиэтилена низкой плотности (LDPE) по ГОСТ 10354–82¹; пленка полиэтиленовая из LDPE наполненная трехслойная (слои наполнены мелкодисперсной двуокисью титана и пищевой сажой); комбинированный материал для заготовок пакетов типа Пюр-Пак (внутренний слой к продукту из LDPE).

В качестве источника излучения при облучении полиэтиленовых слоев, использована бактерицидная ртутная разрядная лампа низкого давления производства фирмы Philips, модели «tuv-15w», дающая коротковолновое ультрафиолетовое излучение с максимумом в 253,7 нм, обладающее бактерицидным действием. Поверхностная доза облучения в выбранном участке спектра исследования составляла от 18 до 64 мДж/см² в УФ диапазоне, от 540 до 1525 мДж/см² в видимом и от 47 до 57 мДж/см² в инфракрасном диапазоне. При облучении пленочных материалов источник излучения ориентировали над ними в горизонтальной плоскости. Расстояние от лампы до поверхности образца варьировалось в диапазоне 3,5–10 см, длительность импульса 0,7 миллисекунды (мс).

Для изучения структурных изменений поверхностных полиэтиленовых слоев, использован метод ИК Фурье МНПВО (многократно нарушенное полное внутреннее отражение). Этот метод является неразрушающим методом исследования и был опробован ранее при исследовании других упаковочных материалов [15,17].

При выборе метода руководствовались тем, что синтетические полимеры обладают высокими коэффициентами экстинкции для УФ — излучения, т. е. характеристикой того, насколько сильно химическое вещество поглощает свет на заданной длине волны [18,19], а также, предположением, что деструктивные процессы происходят в сравнительно тонких полиэтиленовых поверхностных слоях полимерной упаковки.

Исследования проводились на спектрометре «EQUINOX 55» фирмы BRUKER (Германия) с использованием приставки «HATR» фирмы PIKE.

Использование данного метода основано на том, что на границе раздела фаз образца и оптического материала (селенида цинка) возникает «затухающая волна» ИК излучения, которая проникает в оптически менее плотную среду образца и, при этом регистрируется спектр пропускания микронных слоев образца. Меняя угол падения ИК излучения, или меняя материал кристалла элемента МНПВО, можно последовательно получать спектры более глубоко лежащих слоев материала.

Расшифровку спектров осуществляли сопоставлением с известными данными спектрального анализа и энциклопедическими данными по структуре полиолефинов.

3. Результаты и обсуждение

Для выявления и обсуждения структурных изменений объектов исследования при воздействии выбранного УФ-излучения, в качестве контроля был получен ИК-спектр пленки из LDPE, представленный на Рисунке 1.

Анализ полученных ИК-спектров показал, что имеются всего три значимых области поглощения: 2926/2853 см⁻¹, характеризующие валентные колебания связей С-Н в СН₂-группах; 1473/1463 см⁻¹, относящиеся к деформационным колебаниям ножничного типа δ (HCH); 730/720 см⁻¹ — маятниковые колебания метиленовых групп.

Получены ИК-спектры МНПВО полиэтиленовой пленки, подвергнутой импульсному УФ облучению (Рисунок 2). Сравнение их с контролем позволяет сделать вывод, что определенные изменения имеют место для двух участков спектров в 1700–1500 см⁻¹ и 1200–800 см⁻¹. Можно говорить о появлении дисконтинуума (дискретной группы неразрешившихся полос), а также, с появлением отдельных сформировавшихся полос поглощения. При варьировании режима облучения от менее к более интенсивному (увеличение плотности потока) наблюдается тенденция к росту этих полос. Расстояние лампа-пленка практически не влияет на полученный спектр т. е. на структуру облучаемого образца. Для LDPE пленок, облученных в режиме максимальной плотности энергии, в спектрах появляются непонятные, из-за большой интенсивности, последовательности полос поглощения в окрестностях 1000 см⁻¹. Эта область спектра характерна для деформационных колебаний различных олефинов, и для колебаний простых связей С-О.

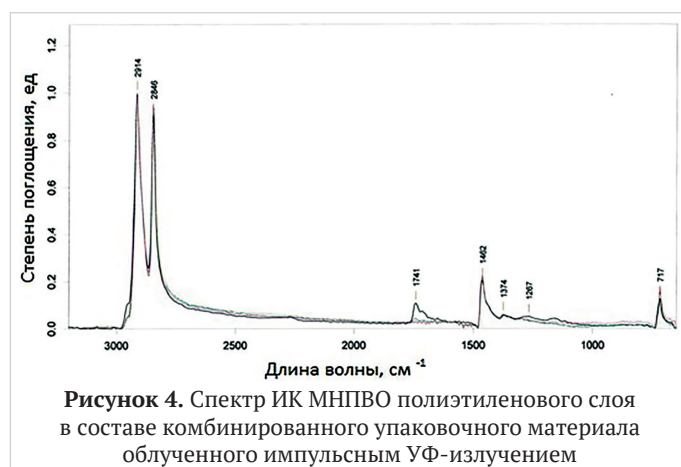
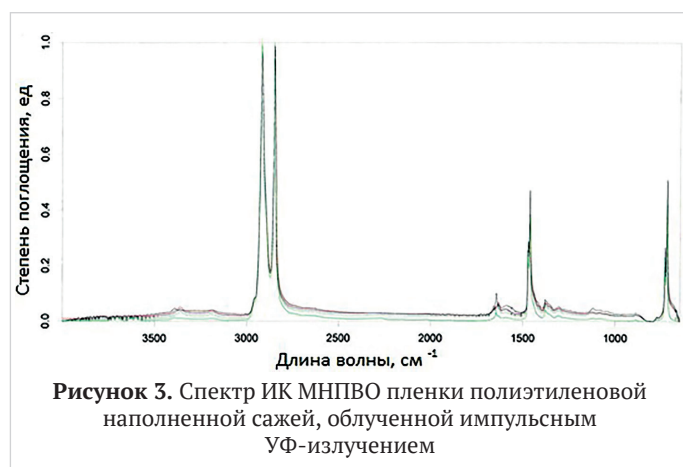
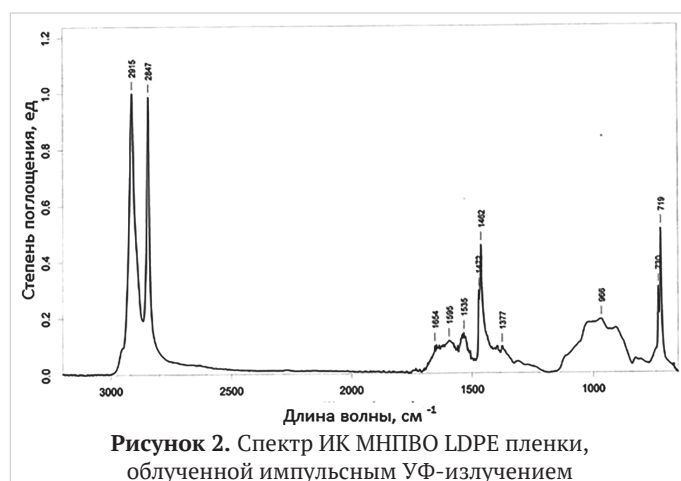
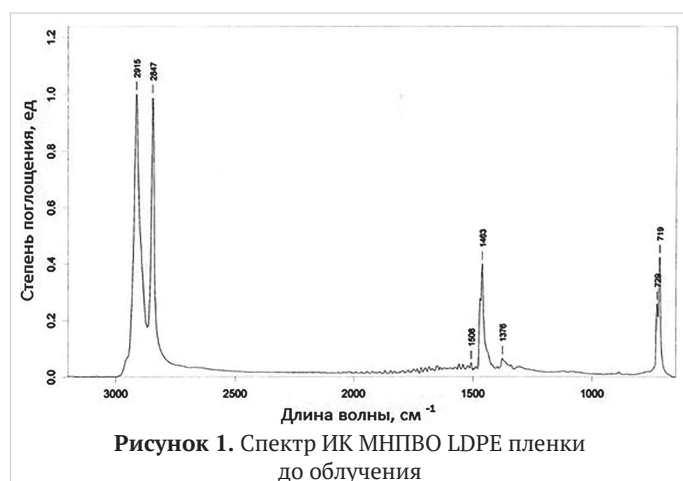
Появление полос в 1000 см⁻¹ диапазоне можно связывать с появлением транс-виниленовых фрагментов типа —СН=СН- и концевых двойных связей типа —СН=СН₂, в этой же области проявляются полосы органических озонидов. Об образовании двойных связей свидетельствуют полосы поглощения при 1654 см⁻¹. Лишь очень сильное растяжение по ординате участка спектра 1800–1500 см⁻¹ позволяет установить наличие поглощения, ответственного за появление фрагментов типа СОН и СООН, т. е. выявить начало процесса фотоокислительной деструкции с образованием альдегидных и карбоксилатных группировок и свидетельствует об обрывах цепи макромолекул полиэтилена, что приводит к появлению дефектов цепи. Существенное искажение спектра в данной области, по сравнению с контролем, в целом, свидетельствует о деструктивных процессах, регистрируемых в области (800–1000 см⁻¹) и, как следствие, подтверждающее снижение безопасности исследуемой пленки.

Спектральные исследования пленки полиэтиленовой наполненной (Рисунок 3) показали, что даже при максимальных режимах облучения, спектр не претерпел таких изменений, которые были отмечены при облучении ненаполненной пленки, даже при минимальном расстоянии от источника излучения до образца. Скорее всего, это связано с наличием в составе многослойного материала сажки, которая является светостабилизатором. Можно констатировать, что, обладая такими свойствами, пленка с данным наполнителем защищает упакованное молоко от фотоокисления. Спектры для данной пленки показали плавный характер накопления изменений в микроструктуре тонкого поверхностного слоя по мере увеличения потока облучения.

Для слоев пленки, наполненной диоксидом титана, спектральная картина практически не отличается от контроля.

Полученный спектр полиэтиленового слоя в составе комбинированного материала (Рисунок 4) показывает появление полосы 1741 см⁻¹, которая отсутствует в спектре контрольного образца. Как уже отмечалось выше, при анализе спектра облученной LDPE пленки эта полоса находится в диапазоне 1800–1500 см⁻¹ и свидетельствует о наличии поглощения, ответственного за появление фрагментов типа СОН и СООН, т. е. выявлении начала процесса фотоокислительной деструкции с образованием альдегидных и карбоксилатных группировок.

¹ ГОСТ 10354–82 «Пленка полиэтиленовая. Технические условия». М: Стандартинформ. 2007. — 23 с.



4. Выводы

Проведенные спектральные исследования показывают, что под влиянием импульсного УФ-облучения, а, возможно и нагрева в свете лампы, в:

- LDPE пленке происходят параллельные процессы обрыва цепей и, предположительно, сшивания, причем процесс обрыва цепи понижает концентрацию свободных радикалов, образующихся в процессе фотоздействия. Продукты окисления полиэтилена обнаружены только при максимальном режиме облучения и в весьма незначительном количестве. Это можно объяснить кратковременностью воздействия. Запись ИК спектров пропускания-отражения этих пленок показывает практически идентичный результат со спектрами необлученных пленок, что свидетельствует о нарушении микроструктуры лишь очень тонкого поверхностного слоя;

- в пленке полиэтиленовой наполненной сажой не происходит существенной деформации химических связей макромолекул и деградиационных процессов. Это можно объяснить тем, что сажа является светостабилизатором и экранирует воздействие облучения;
- в комбинированном материале слой полиэтилена претерпевает незначительные структурные изменения, которые свидетельствуют о начале процесса фотоокислительной деградации.

Сравнение изменения структуры в трех разных упаковочных объектах, содержащих слой полиэтилена, показывает целесообразность и необходимость использования для упаковки пищевой продукции комбинированных и многослойных материалов, в которых даже при экстремальном УФ-облучении, практически отсутствуют процессы фотодеструкции, что подтверждено спектральными исследованиями.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Федотова, О.Б. (2011). Научно-практические аспекты разработки и применения упаковочных материалов с проектируемым комплексом качества и безопасности для молока и молочной продукции. Автореф. дис. докт. техн. наук. Вологда, Вологодская государственная молочно-хозяйственная академия. — 50 с.
- Федотова, О.Б., Мясенко, Д.М. (2016). Исследования санитарно-гигиенических характеристик многослойных полимерных пленок для вакуумной упаковки, модифицированной природными антимикробными компонентами. *Теория и практика переработки мяса*, 1(2), 51–55. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2016-1-2-51-55>
- Фильчакова, С.А. (2008). Санитария и гигиена на предприятиях молочной промышленности. Москва: ДеЛи. 277. ISBN: 978–5–94343–167–8
- Фильчакова, С.А. (2008). Микробиологическая чистота упаковки для молочных продуктов. *Молочная промышленность*, 7, 44–46.
- Kharitonov, V.D., Sherstneva, N.E., Kharitonov, D.V., Yurova, E.A., Kurchenko, V.P. (2019). Changes in physico-chemical properties of milk under ultraviolet radiation, *Foods and raw materials*, 7(1), 161–167. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2019-1-161-167>
- Мясенко, Д.М. (2007, 26–27 июня). Изучение влияния ультрафиолетового излучения различной природы на микробиологические характеристики полимерных материалов. Материалы международной научно-практической конференции. Волгоград, Россия.
- Ершов, Б.Г., Поликарпов, Н.А., Федотова, О.Б., Гольдштейн, Я.А., Киреев, С.Г., Шашковский, С.Г., и др. (2018, 26–28 сентября). Применение импульсных ультрафиолетовых технологий для увеличения сроков хранения скоропортящихся продуктов. Сборник докладов международной научно-практической конференции. Обнинск, Россия
- Федотова, О.Б., Мясенко, Д.М. (2006). Обеззараживание потребительской тары для молочной продукции. *Молочная промышленность*, 12, 76–77.
- Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 005/2011 «О безопасности упаковки» (с изменениями на 18 октября 2016 года)

- (утверждён решением комиссии Таможенного союза от 16 августа 2011 года N769). Москва — 2011.
10. Yang, Y., Hu, C., Zhong, H., Chen, X., Chen, R., Yam, K. L. (2016). Effects of ultraviolet (UV) on degradation of irgafos 168 and migration of its degradation products from polypropylene films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(41), 7866–7873. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b03018>
 11. Wang, Y., Wu, J., Liu, B., Xia, Y., Lin, Q. (2021). Migration of polymer additives and radiolysis products from irradiated PET/PE films into a food simulant. *Food Control*, 124, Article 107886. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.107886>
 12. Сутягин, В.М., Ляпков, А.А. (2010). Физико-химические методы исследования полимеров. Томск: Томский политехнический университет. 140.
 13. Купцов, А.Х., Жижин, Г.Н. (2001). Фурье-КР и Фурье-ИК спектры полимеров (Фурье-спектры комбинационного рассеяния и инфракрасного поглощения полимеров). Москва: Физматлит. 656.
 14. Мяленко, Д.М. (2008). Обеззараживание тары и упаковки УФ — излучением. *Молочная промышленность*, 8, 78.
 15. Мяленко, Д.М. (2008, 18–19 июня). *Комплексное изучение влияния импульсного электромагнитного излучения на полимерные упаковочные материалы*. Материалы Международной научно-практической конференции. Волгоград, Россия.
 16. Лазарев, Д.Н. (1950). Ультрафиолетовая радиация и ее применение. Москва: Госэнергоиздат. 120.
 17. Tertyshnaya, Y.V., Podzorova, M.V. (2020). Effect of UV irradiation on the structural and dynamic characteristics of polylactide and its blends with polyethylene. *Russian Journal of Physical Chemistry B*, 14(1), 167–175. <https://doi.org/10.31857/S0207401X20010173>
 18. Dechant, J., Danz, R., Kimmer, W. (1972). Ultrared spectroscopic studies of polymers, Akademie-Verlag, Berlin. 516. (In German)
 19. Urbaniak-Domagala, W. (2012). The Use of the Spectrometric Technique FTIR-ATR to Examine the Polymers Surface. Chapter in a book: *Advanced Aspects of Spectroscopy*. Technical University of Lodz, Department of Material and Commodity Sciences and Textile Metrology, Poland. 2012. 87–104. <http://dx.doi.org/10.5772/48143>

REFERENCES

1. Fedotova, O.B. (2011). Scientific and practical aspects of the development and use of packaging materials with a projected quality and safety complex for milk and dairy products. Author's abstract of the dissertation for the scientific degree of Doctor of Technical Sciences Vologda, Vologda State Dairy Academy. — 50 p. (In Russian)
2. Fedotova, O.B., Myalenko, D.M. (2016). Investigation of sanitary-hygienic characteristics of multilayer polymer films used for vacuum packaging modified by native antimicrobial components. *Theory and practice of meat processing*, 1(2), 51–55. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2016-1-2-51-55> (In Russian)
3. Filchakova, S.A. (2008). Sanitation and hygiene in the dairy industry. Moscow: DeLi. 277. ISBN: 978-5-94343-167-8 (In Russian)
4. Filchakova, S.A. (2008). Microbiological purity of packages for milk products. *Dairy industry*, 7, 44–46. (In Russian)
5. Kharitonov, V.D., Sherstneva, N.E., Kharitonov, D.V., Yurova, E.A., Kurchenko, V.P. (2019). Changes in physico-chemical properties of milk under ultraviolet radiation, *Foods and raw materials*, 7(1), 161–167. <https://doi.org/10.21603/2308-4057-2019-1-161-167>
6. Mialenko, D.M. (2007, 26–27 June). *Study of the influence of ultraviolet radiation of various nature on the microbiological characteristics of polymeric materials*. Proceedings of the International Scientific and Practical Conference. Volgograd, Russia. (In Russian)
7. Ershov, B.G., Polikarpov, N.A., Fedotova, O.B., Goldstein, A.A., Kireev, S.G., Shashkovsky, S.G. et al. (2018, 26–28 September). *The application of pulse ultraviolet technologies to increase the storage life of perishable foodstuffs*. Proceedings of the international scientific and practical conference. Obninsk, Russia. (In Russian)
8. Fedotova, O.B., Myalenko, D.M. (2006). Decontamination of consumer tare for milk products. *Dairy industry*, 12, 76–77. (In Russian)
9. Decision of the Council of the Eurasian economic Commission of August 16, 2011 № 769 “On amendments to the technical regulations of the Customs Union “On the safety of packaging” (TR CU005/2011)” (as amended on October 18, 2016). Moscow, 2011. (in Russian)
10. Yang, Y., Hu, C., Zhong, H., Chen, X., Chen, R., Yam, K. L. (2016). Effects of ultraviolet (UV) on degradation of irgafos 168 and migration of its degradation products from polypropylene films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 64(41), 7866–7873. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.6b03018>
11. Wang, Y., Wu, J., Liu, B., Xia, Y., Lin, Q. (2021). Migration of polymer additives and radiolysis products from irradiated PET/PE films into a food simulant. *Food Control*, 124, Article 107886. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.107886>
12. Sutyagin, V.M., Lyapkov, A.A. (2010). Physicochemical methods for the study of polymers. Tomsk: Tomsk Polytechnic University. 140. (In Russian)
13. Kuptsov, A. Kh., Zhizhin, G.N. (2001). Fourier-Raman and Fourier-IR spectra of polymers (Fourier-spectra of Raman scattering and infrared absorption of polymers). Moscow: Fizmatlit. 656. (In Russian)
14. Mialenko, D.M. (2008). Decontamination of tare and packaging with UV-radiation. *Dairy industry*, 8, 78. (In Russian)
15. Myalenko, D.M. (2008, 18–19 June). *Comprehensive study of the effect of pulsed electromagnetic radiation on polymer packaging materials*. Proceedings of the International Scientific and Practical Conference. Volgograd, Russia. (In Russian)
16. Lazarev, D.N. (1950). Ultraviolet radiation and its applications. Moscow: Gosenergoizdat. 120. (In Russian)
17. Tertyshnaya, Y.V., Podzorova, M.V. (2020). Effect of UV irradiation on the structural and dynamic characteristics of polylactide and its blends with polyethylene. *Russian Journal of Physical Chemistry B*, 14(1), 167–175. <https://doi.org/10.31857/S0207401X20010173>
18. Dechant, J., Danz, R., Kimmer, W. (1972). Ultrared spectroscopic studies of polymers, Akademie-Verlag, Berlin. 516. (In German)
19. Urbaniak-Domagala, W. (2012). The Use of the Spectrometric Technique FTIR-ATR to Examine the Polymers Surface. Chapter in a book: *Advanced Aspects of Spectroscopy*. Technical University of Lodz, Department of Material and Commodity Sciences and Textile Metrology, Poland. 2012. 87–104. <http://dx.doi.org/10.5772/48143>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Федотова Ольга Борисовна — доктор технических наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория технологии молочно-белковых концентратов, пищевых добавок и производства продуктов на их основе, Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности 115093, Москва, ул. Люсиновская, 35, стр.7 Тел.: +7-499-237-03-33 E-mail: o_fedotova@vnimi.org ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7348-6019 Пряничникова Наталия Сергеевна — кандидат технических наук, старший научный сотрудник, лаборатория стандартизации, метрологии и патентно-лицензионных работ, Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности 115093, Москва, ул. Люсиновская, 35, стр.7 Тел.: +7-499-237-03-83 E-mail: n_pryanichnikova@vnimi.org ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1304-1517 * автор для контактов	Olga B. Fedotova — doctor of technical sciences, leading researcher, laboratory of technology of milk-protein concentrates, food additives and production of products based on them, All-Russian Dairy Research Institute 115093 Moscow, Lyusinovskaya Str., 35 buildings 7 Tel.: +7-499-237-03-33 E-mail: o_fedotova@vnimi.org ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7348-6019 Nataliya S. Pryanichnikova — candidate of technical sciences, senior researcher, laboratory of standardization, metrology and patent licensing works, All-Russian Dairy Research Institute 115093 Moscow, Lyusinovskaya Str., 35 buildings 7 Tel.: +7-499-237-03-83 E-mail: n_pryanichnikova@vnimi.org ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1304-1517 * corresponding author
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат	Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов	The authors declare no conflict of interest
Поступила 22.02.2021	Received 22.02.2021
Поступила после рецензирования 14.03.2021	Accepted in revised 14.03.2021
Принята в печать 25.03.2021	Accepted for publication 25.03.2021

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-62-70><https://www.fsjour.com/jour>

Научная статья

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ КУРКУМЫ

Вострикова Н. Л.*, Минаев М. Ю., Чиковани К. Г.

Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук,
Москва, Россия**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:** куркума, металлы, хром, хромат свинца, ДНК, фальсификация состава

АННОТАЦИЯ

В работе рассмотрена проблематика нестабильности состава готовой молотой специи — куркума. Дан анализ наиболее распространенных способов фальсификации куркумы и веществ, применяемых для этих целей. Дана визуальная оценка цветовых оттенков корня куркумы, специй ее содержащих и химических красителей на основе солей хрома. Проведены исследования по содержанию свинца и хрома, с целью изучения содержания этих металлов и проверки гипотезы использования хромата свинца в качестве красителя при фальсификации куркумы. Методом электротермической атомно-абсорбционной спектроскопии установлено, что содержание свинца в исследованных образцах куркумы изменялось в пределах от $1,72 \pm 0,58$ до $5,03 \pm 1,80$ мг/кг, а содержание хрома варьировалось в диапазоне от $5,56 \pm 0,85$ до $16,15 \pm 2,32$ мг/кг. В результате проведения видоспецифической ПЦР была выявлена ДНК пшеницы во всех закупленных образцах молотой куркумы. Установлены уровни подмены основного сырья, которые составили от 0,14% до 14,95% с коэффициентом корреляции близким к 100%, эффективность реакции составила 1,95 что в процентном отношении составляет 97,5%. Такие уровни незаявленного в составе продукта аллергена могут вызывать серьезную аллергическую реакцию. Проверена гипотеза внесения солей натрия и калия, для коррекции цветовой гаммы готовой специи и соответствия ее натуральному цвету цветовой гамме куркумы. В результате комплексного изучения состава специи, обнаружены достаточно высокие значения хрома, предположительно не только из соединения хромата свинца, но и солей хромовой кислоты, т. к. было обнаружено высокое значение металла калия, значительно превышающее нативное содержание данного элемента.

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

Original scientific article

DETERMINING THE AUTHENTICITY OF TURMERIC

Natal'ya L. Vostrikova*, Mihail Yu. Minaev, Kristina G. Chikovani

V. M. Gorbato Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

KEY WORDS: turmeric, metals, chromium, lead chromate, DNA, falsification of composition

ABSTRACT

The paper examines the problem of the composition instability in the ready ground spice, turmeric. Analysis of the prevalent methods for turmeric adulteration and substances used for these purposes is given. The visual assessment of color tints of the turmeric root, spices containing it and chemical dyes based on chromium salts is presented. The studies on determination of the lead and chromium content were carried out to study the content of these metals and test the hypothesis of using lead chromate as a dye in adulteration of turmeric. Using the method of electrothermal atomic absorption spectroscopy, it was found that the lead content in the analyzed turmeric samples varied from 1.72 ± 0.58 to 5.03 ± 1.80 mg/kg, while the chromium content was in a range of 5.56 ± 0.85 to 16.15 ± 2.32 mg/kg. As a result of species specific PCR, wheat DNA was revealed in all purchased samples of ground turmeric. The levels of the main raw material replacement were established, which were 0.14% to 14.95% with the correlation coefficient close to 100%; efficiency of the reaction was 1.95, which was 97.5% when expressed as percentage. These levels of an undeclared allergen in the product composition can cause a serious allergic reaction. The authors tested the hypothesis of introduction of sodium and potassium salts for correction of the color spectrum in the ready spice and its correspondence to the natural color within the color spectrum of turmeric. As a result of the complex study of the spice composition, quite high values of chromium were found, presumably not only from the lead chromate compound but also from chromic acid salts, as the high level of potassium that significantly exceeded the native content of this element was found.

1. Введение

Пряности — это группа вкусовых товаров растительно-го происхождения, добавляемых к пище в незначительных количествах для придания ей устойчивого аромата и/или характерного жгучего привкуса, особенно усиливающихся при нагревании. Вкус еды во многом зависит от правильного подбора пряностей. Пища усваивается гораздо лучше благодаря пикантному и приятному аромату пряностей [1].

Однако стоит отметить, что изучение состава и подтверждение подлинности специй не является предметом для многочисленных исследований, поэтому изучение данной

группы продукции представляется интересным. Одной из наиболее популярных специй в последнее время, которые мы употребляем в качестве добавки к пище, является куркума.

Куркума (лат. *Cúrcuma* англ. turmeric) — род многолетних травянистых растений из семейства имбирных *Curcuma longa* L. *Zingiberaceae*, которая растет в тропических и субтропических регионах по всему миру и обладает высокой пищевой ценностью (Рисунок 1). Индия является основным производителем и экспортером куркумы в мире. Она широко используется в качестве специи для ароматизации, а также

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Вострикова, Н.Л., Минаев М. Ю., Чиковани, К.Г. (2021). Определение подлинности куркумы. Пищевые системы, 4(1), 62–70. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-62-70>

FOR CITATION: Vostrikova, N.L., Minaev, M. Yu., Chikovany, K.G. (2021). Determining the authenticity of turmeric. Food systems, 4(1), 62–70. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-1-62-70>

в качестве натурального красителя, используется в косметике и как краситель, помимо того, что она является потенциальным источником терапевтически важных молекул. Порошок куркумы содержит 2–8% куркумина, который является основным биологически активным фитохимическим соединением [2]. Фирменный оранжево-желтый цвет придает карри, напиткам и выпечке особенную яркую окраску. Свежий корень куркумы, как и корень имбиря, имеет тонкую несъедобную кожуру, которая легко снимается, обнажая оранжевую мякоть. Сырая куркума мягче из-за содержания воды в корне. Она используется не только в кулинарии, но и в качестве красителя для одежды. Ведущими коммерческими производителями куркумы являются Индия, Индонезия, Китай, Филиппины, Тайвань, Гаити и Ямайка [3].

Куркума — это незаменимая специя, которую многие люди потребляют ежедневно в Южной Азии. Специя имеет лекарственное применение, потенциально может лечить воспаление и оказывать заживляющее действие при многих заболеваниях, включая рак [4].



Рисунок 1.

Внешний вид корня куркумы и порошка из него [5]

До недавнего времени была популярна эта пряность в азиатской и индийской кухне. В последние годы, из-за способности контролировать аппетит и повышать защитные свойства организма, стала востребована по всему Миру. Куркума применяется не только в кулинарии в качестве специи, но и как лекарственное средство и натуральный краситель. Благодаря наличию в составе куркумина, цингеберона, сабинена, борнеола и других полезных веществ, эта пряность применяется для лечения желудка, поджелудочной железы и желчного пузыря, легочных заболеваний. Куркума улучшает работу почек, помогает при остеоартрозе и ревматоидном артрите. Экспериментальным путем получены данные об эффективности воздействия куркумина на раковые клетки. Он способен подавлять онкологию крови, мозга, легких, кожи, груди, кишечника, почек и печени [6].

Соответственно уровень потребления этой пряности достаточно высокий. Ее добавляют в традиционные блюда, в масла при жарке, употребляют в лечебных и профилактических целях. Куркума является очень востребованной пряностью. Популярны же пищевые продукты и добавки наиболее часто подвергаются фальсификации.

Многими зарубежными авторами указывается на факт обнаружения фальсификации порошка куркумы другими растительными добавками, такими как крахмал из тапиоки, крахмальной мукой из клубней маранты и низкокуркуминсодержащих видов куркумы [7]. Виды куркумы, главным образом используемые для фальсификации — это *C. zedoaria* Rosc. или *C. malabarica* [8]. Их загрязнение в порошке курку-

мы может представлять опасность для здоровья населения. Обычные аналитические методы, такие как микроскопия, спектрофотометрия, тонкослойная хроматография и т. д. не позволяют идентифицировать эти примеси в порошке куркумы [9].

Для обнаружения фальсифицированных ингредиентов в сложных смешанных пищевых продуктах были разработаны различные технологии, такие как сенсорные, физико-химические, хроматографические, спектроскопические и ДНК-методологии. Обычно считается, что ДНК достаточно стабильна, чтобы выдерживать различные химические обработки и высокие температуры, и даже небольшие количества ДНК можно обнаружить с помощью специфических праймеров.

Очевидно, наиболее распространенным методом идентификации сортовой замены является ПЦР метод по охарактеризованной последовательности амплифицированного участка ДНК. Авторами [9,10] была установлена замена, низкокуркуминсодержащими видами куркумы *C. zedoaria* Rosc и *C. malabarica* в порошке куркумы. На основании данного исследования был разработан метод штрих-кодирования ДНК для идентификации различных примесей и наполнителей, авторы использовали базы данных штрих-кодов в GenBank и BOLD. Последовательности штрих-кодов, сгенерированные в этом исследовании, были помещены в базу данных NCBI в качестве вклада в создание универсальной библиотеки штрих-кодов. Немаркированные материалы в порошке куркумы рассматриваются как наполнители, добавляемые для увеличения насыпного веса и содержания крахмала в товаре с целью получения экономической выгоды. Это представляет потенциальную опасность для здоровья потребителей, страдающих аллергией на эти растения, снижая лекарственную ценность продукта и опровергая утверждение о том, что продукт не содержит глютена. Исследование доказало, что штрих-кодирование ДНК является эффективным инструментом для тестирования целостности и подлинности коммерческих продуктов из куркумы. В аналогичном исследовании авторами [11] разработаны три набора праймеров, нацеленных на гены хлоропластов, как для *C. longa*, так и для *Z. mays*. Для оценки количества присутствующих видов-мишеней были построены стандартные кривые с использованием рекомбинантной плазмидной ДНК и бинарных смесей ДНК. Специфичность разработанных праймеров была подтверждена еще десятью видами. Слепой анализ проб подтвердил эффективность ПЦР метода для выявления продуктов *Z. mays*, добавленных для получения экономической прибыли. Так же сравнительно не давно была опубликована работа авторов [12], в которой продемонстрирована разница между натуральным экстрактом куркумы *C. longa* и синтетическим куркумином с помощью метода ВЭЖХ-PDA на основании определения синтетических промежуточных продуктов куркумина. Этот метод дает высокодостоверное разделение и чувствительность на уровне предела обнаружения от 1% синтетического куркумина в экстракте куркумы. Аналогичные исследования так же представлены в работах [13].

Поскольку вид *C. zedoaria* более дешевый и легко доступен, производители порошка куркумы могут смешать его с *C. longa*. Куркума *C. zedoaria*, как сообщается [14], токсична, и если ее смешать с порошком куркумы, она снижает лекарственную ценность куркумы, тем самым подрывая доверие потребителей и представляя опасность для здоровья [10].

Производители, для снижения себестоимости, небольшое количество настоящего порошка смешивают с подкрашенной глиной, песком, землей и мукой, что является фальсификацией продукта. Кроме того, при производстве,

для придания оригинального цвета, применяют токсичные красители, такие как судан и хромат свинца, метаниловый желтый. Долгое употребление данных веществ наносит вред здоровью, приводит к нарушениям работы центральной нервной и систем органов. Для определения подлинности куркумы применяют различные методы. Было установлено, что метаниловый желтый меняет цвет в кислой среде. Рекомендовано проверять ее подлинность внесением в нее какой-либо кислоты, например, лимонной, если означенный краситель присутствует, приправа покраснеет [15]. При разбавлении исходного продукта заменителем многие производители корректируют его характерные свойства, в частности, цвет пряности. Куркума обладает насыщенным ярко-желтым цветом. Схожим цветом обладают соли шестивалентного хрома или, иначе говоря, хроматы. Это могут быть как хроматы калия и натрия, так и хроматы свинца. В качестве наполнителей могут использовать от нейтральных производных целлюлозы до пшеничной муки, которая, как известно, для некоторых людей является сильнейшим аллергеном.

Это обстоятельство еще раз подчеркивает, что фальсификация продукции всегда сказывается на его безопасности. Это не просто подмена дорогостоящего компонента. При этом опасный фактор в таком продукте надзорными органами не выявляется, потому что его обнаружение в данном конечном продукте не предусмотрено.

Наиболее опасным фальсифицирующим агентом в данном случае является хромат свинца.

Хромат свинца, химическое соединение, содержащее свинец и хром, представляет собой желтый пигмент, который может увеличить яркость вещества. Обладает свойством нейротоксина, при проглатывании или вдыхании его паров. Эксперты считают свинец небезопасным в любом количестве, поскольку он приводит к когнитивным дефектам. Обычно производители используют хромат свинца для придания желтым и оранжевым маслам и краскам их цвета [16, 17, 18].

Воздействие свинца на организм человека является серьезной проблемой общественного здравоохранения во всем мире. В последнее время активно проводятся исследования по изучению его антропогенных воздействий на человека и животных, миграции по трофологической цепочки «от фермы до вилки» [19]. Было много работ посвящено изучению тетраэтилсвинца, поступающего из этилированного бензина и моторного масла и пестицидов в продукты питания, особенно в продукцию животноводства.

Фальсификация специй в настоящее время, как показывает лабораторная практика, является достаточно частым фактом, а добавление токсичных веществ в специи является широко распространенным. При этом хромат свинца, запрещен в качестве пищевой добавки.

На сегодняшний день существует не так много методов определения хромата свинца. Разработан и валидирован рентгеноструктурный метод качественного определения фальсификации хромата свинца в порошке куркумы, с пределом обнаружения 0,5% от внесенного количества [20]. Однако широкую применимость данная методология в пищевых лабораториях найдет достаточно не скоро, ввиду небольшого распространения в практике применения рентгенографических методов, которые используются в основном при анализе неорганических субстанций и биообъектов животного и растительного происхождения.

Вопрос о том, как отличить настоящую куркуму от подделки, достаточно не простой, но очень актуальный, ведь от качества приправы во многом зависит вкус конечного блюда. Хотя куркума относится к группе бюджетных специй (так чистая куркума как раз недешева, на сайте продуктов iHerb 41г стоит порядка 345 руб), она чаще всего становится

объектом подделки. Причем от приобретения некачественного товара никто не застрахован, поскольку уже изобрели множество вариантов замены натурального продукта низкопробным аналогом. Поэтому в данной работе авторами изучены наиболее распространенные способы подделки товара, представлены признаки, по которым можно отличить оригинальный продукт, какими правилами руководствоваться во время покупки популярной пряности. Если в древности стоимость куркумы была сравнима с ценой благородного металла, то есть золота, то сегодня купить пряный продукт может себе позволить потребитель с любым уровнем дохода. Но, при этом, доступность специи стимулировала не только рост ее популярности, но также появление огромного числа подделок, которые не имеют ничего общего с натуральной куркумой, что объясняется чисто коммерческим интересом.

Необходимо отметить, что не только куркума является объектом, который часто подделывают. Сегодня подделываются практически все восточные специи, используют много вариантов замены настоящего продукта на сомнительный аналог. Ниже приведены наиболее часто встречающиеся методы подделки.

Замена куркумы мукой, окрашенной пищевым красителем. Это самый простой и распространенный способ фальсификации. Но при этом в случае подобной замены достаточно просто это определить, в связи с тем, что крашенная мука не имеет запаха.

Добавление в натуральный порошок смеси из крахмала и муки. При таком способе фальсификации обычно используется пропорция 1:3, то есть берется одна часть оригинальной специи и разводится тремя частями муки с крахмалом. Подобная смесь издает слабый аромат, но отличается более рассыпчатой консистенцией. Часто в поддельной смеси обнаруживаются оранжевые комочки, что не характерно для настоящей куркумы. Порой подделка оригинального продукта бывает настолько искусной, что визуально ее отличить невозможно [21]. Авторами Macêdo, I. Y. L. D. и др. был предложен инструментальный метод обнаружения крахмала в порошке куркумы [22]. В этой работе проведены масштабные исследования по определению чистоты порошка куркумы методом инфракрасного преобразования Фурье с диффузным отражением (DRIFT). При анализе куркумы методом DRIFT, наблюдаемые различия в спектрах образцов куркумы, показали большую корреляцию с содержанием в них крахмала. Авторами отмечено, что незначительные добавки крахмала могут трудно обнаруживаться из-за естественного изменения содержания крахмала в куркуме, однако куркума по содержанию крахмала со значениями выше 10% (по объему) можно считать фальсифицированными.

В связи с вышеизложенным, целью настоящей работы являлось определение состава куркумы различными методами исследований, которые наиболее внедрены в лабораторную практику и являются рутинными.

2. Материалы и методы

Исследования проведены на базе научно-исследовательского испытательного центра ФГБУ «ФНЦ пищевых систем им.В.М. Горбатова» РАН, при непосредственном участии авторов настоящей статьи.

В качестве опытных образцов использована куркума, закупленная в торговых точках (Москвы и Смоленска), а также в розничной сети упакованной фирмой-производителем, всего было проанализировано более 10 разных образцов.

Для проведения сравнительной характеристики 10 образцов куркумы были использованы современные методики определения хрома и ПЦР диагностики, а именно:

- ❑ определение хрома методом электротермической атомно-абсорбционной спектроскопии по [23].
- ❑ определение свинца методом электротермической атомно-абсорбционной спектроскопии по МУК [24].
- ❑ определение натрия и калия по [25,26].

2.1 Исследование ПЦР диагностики.

Выделение ДНК. Для выделения ДНК из объектов исследования отбирали по 100 мг от каждого из 10 образцов. Выделение ДНК проводили на станции выделения MagNA Pure LC2.0 (Roche, Germany) с использованием набора для выделения MagNA Pure LC DNA Isolation Kit II (Tissue) (Roche, Germany).

Условия проведения ПЦР в реальном времени. Для выявления ДНК митохондриального генома животных методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» использовали тест-системы согласно МР 4.2.0019–11 [27]. В состав тест-системы входит реакционная смесь специфических праймеров и зонда, фланкирующие фрагмент гена субъединицы I цитохром С оксидазы (COI). Последовательности были подобраны в базе данных GenBank [28]. Для дизайна праймеров использовались программы Primer-BLAST [29] и OligoAnalyzer 3.1 [30]. Температуры плавления (T_m) конечных ампликонов оценивались с использованием uMeltSM software согласно термодинамической модели Blake & Delcourt [31]. Праймеры и зонд выбраны с учетом требований, предъявляемых к праймерам и зондам.

Подготовку образцов к ПЦР в реальном времени проводили по инструкции к тест-системе, амплификационная смесь объемом 30 мкл включала в себя 2 мкл смеси праймеров и зонда (праймеры концентрацией 6 пмоль/реак, зонд 3 пмоль/реак), 10 мкл 2,5х реакционной смеси (содержит: 2,5х ПЦР буфер Б (KCl, TrisHCl pH- 8,8, 6.25 mM MgCl₂), SynTaq ДНК-полимеразу, dNTP, глицерол, Tween 20), 16 мкл H₂O и 2 мкл выделенной ДНК. Реакцию проводили на амплификаторе АНК-32 (ЗАО «Синтол»). Условия ПЦР включали предварительную денатурацию при 95 °С — 900 сек. и 35 циклов амплификации (60 °С — 40 сек. и 95 °С — 15 сек.) Более подробно протоколы опубликованы в работах [32, 33].

3. Результаты и обсуждение

На первом этапе исследований представлялось интересным сравнить цветовую гамму приобретенной куркумы.

Природный оттенок куркумы в норме варьирует от легкого золотистого до насыщенного оранжевого цвета. Аналогично обычно выглядят бледнее, в их цветовой гамме преобладают светло-рыжие тона.

По цветовой гамме невооруженным глазом были видны различия в цвете куркумы, представленные на Рисунке 2. Но поскольку расхождения в цветовой гамме все же не показательный результат, и судить о несоответствии состава не корректно. В связи с этим, проведены исследования по содержанию хрома и свинца в опытных образцах.

В результате проведенного исследования было изучено содержание хрома и свинца в опытных образцах куркумы. Полученные данные представлены в Таблице 1.

В результате полученных исследований установлено, среднее значение хрома по всем исследованным образцам было на уровне 9 мг/кг, при этом содержание варьировалось в диапазоне от 5,5 до 16 мг/кг.

Содержание хрома в куркуме не нормируется в нормативной документации РФ, какие-либо усредненные данные в публикациях и интернет пространстве представлены скудно. Нормирование уровня хрома представлено только в консервированной продукции и желатине. В России принята

ПДК хрома в продуктах питания 0,5 мг/кг (хромированная тара), в продуктах питания детей — 0,1 мг/кг, в напитках — 0,05 мг/кг по ТР ТС 021/2011 и ТР ТС 027/2012, а по ТР ТС 034/2013 — 10,0 мг/кг [34,35,36].

Таблица 1

Содержание массовой доли хрома и свинца в исследуемых образцах куркумы

№ п/п	Содержание хрома, мг/кг	Содержание свинца, мг/кг
1	9,44 ± 1,38	5,62 ± 1,97
2	5,96 ± 0,89	3,72 ± 1,30
3	16,15 ± 2,32	4,63 ± 1,63
4	7,20 ± 1,10	1,88 ± 0,66
5	6,44 ± 1,08	4,62 ± 1,63
6	5,56 ± 0,85	2,72 ± 1,00
7	10,15 ± 1,52	5,03 ± 1,80
8	7,70 ± 1,21	2,80 ± 0,96
9	9,04 ± 1,28	3,66 ± 1,38
10	9,96 ± 1,59	1,72 ± 0,58

По данным ФАО/ВОЗ, чаще всего в растениях содержится хрома 20–50 мг/кг. Были обнаружены в продуктах и растениях следующие количества хрома: во фруктах — 0–200 мг/кг, в овощах — 0–360 мг/кг, в злаках — 10–520 мг/кг, в молоке — 10 мг/кг, в мясопродуктах — 20–560 мг/кг, в морепродуктах — 10–440 мг/кг [37]. Таким образом, сделать однозначное заключение о вреде хрома в куркуме не представляется возможным, как и расчёт экспозиции воздействия на организм, ввиду малого потребления данной специи и отсутствия норм ПДК. Однако полученные значения достаточно высоки от справочного содержания в общепотребляемых продуктах, что, несомненно, дает пищу для размышления.

Отравление свинцом остается серьезной проблемой общественного здравоохранения, особенно для маленьких детей в развивающихся странах. Как было отмечено выше, использование подкрашивания куркумы хроматом свинца отмечено в Бангладеш [18]. Поскольку в России тенденции изменения рациона питания не стоят на месте, особенно в городах мегаполисах, мы зачастую видим тенденцию добавлять куркуму не только при приготовлении блюд подвергнутых продолжительной термической обработки (запекание, тушение, варка), но и при приготовлении сладостей (без термической обработки) и в напитки. Что в свою очередь так же может повлечь аккумуляцию вредного свинца в организме человека, при продолжительном употреблении продуктов, содержащих куркуму.

В связи с чем, были так же проведены исследования по содержанию свинца в опытных образцах куркумы. В ТР ТС 021/2011 [34] уровень ПДК составляет для свинца 5,0 мг/кг. Практически все образцы не превышали данный уровень, за исключением образцов под №№ 1 и 7, в которых незначительно было установлено превышение на 0,62 мг/кг и 0,03 мг/кг соответственно.

Дополнительно были проведены так же исследования по изучению состава опытных образцов куркумы, а именно содержание пшеничной муки, т. к. по литературным источникам такой факт фальсификации был зафиксирован.

Для того чтобы подтвердить или опровергнуть подмену пряности пшеничной мукой и определить уровень подмены была проведена полимеразная цепная реакция (ПЦР) со специфическими праймерами к группе злаковых растений, содержащих аллергенные белки — глютен, в некоторых опытных образцах куркумы. В дальнейшем, для подтверждения замены именно пшеничной мукой была поставлена видоспецифическая реакция на пшеницу.

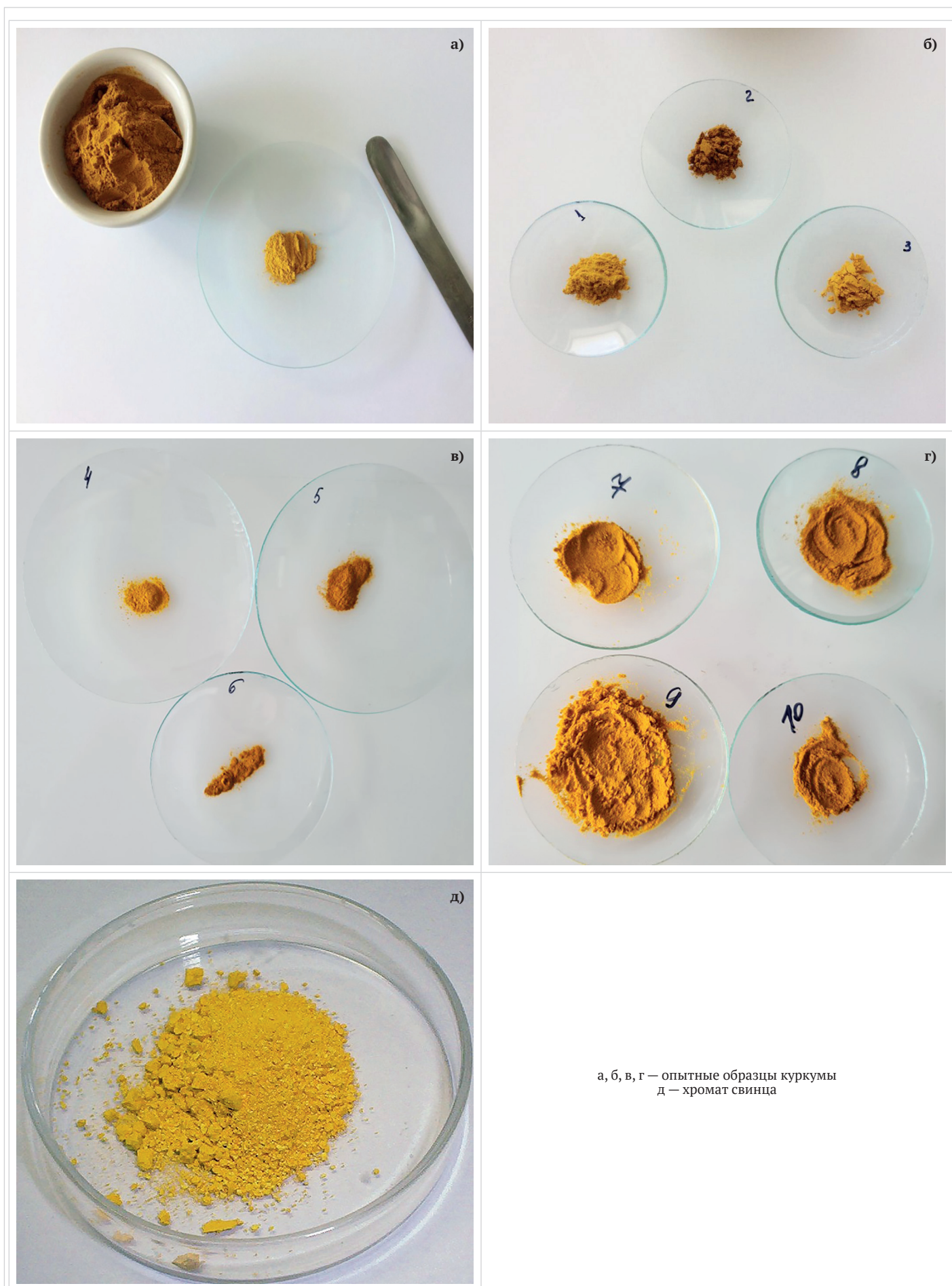


Рисунок 2. Опытные образцы куркумы и хромат свинца (различия в окрашивании заметны невооруженным глазом)

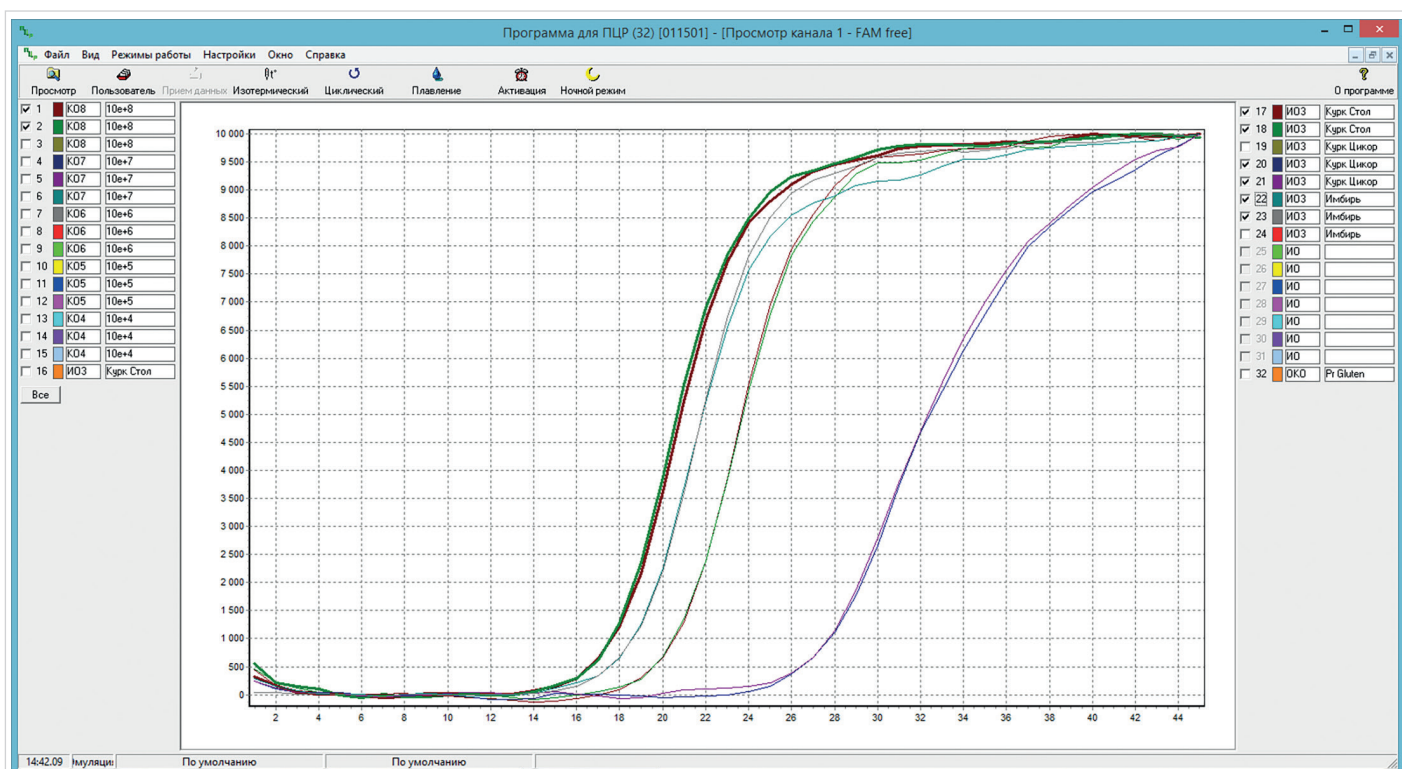


Рисунок 3. Кривые амплификации ДНК злаковых

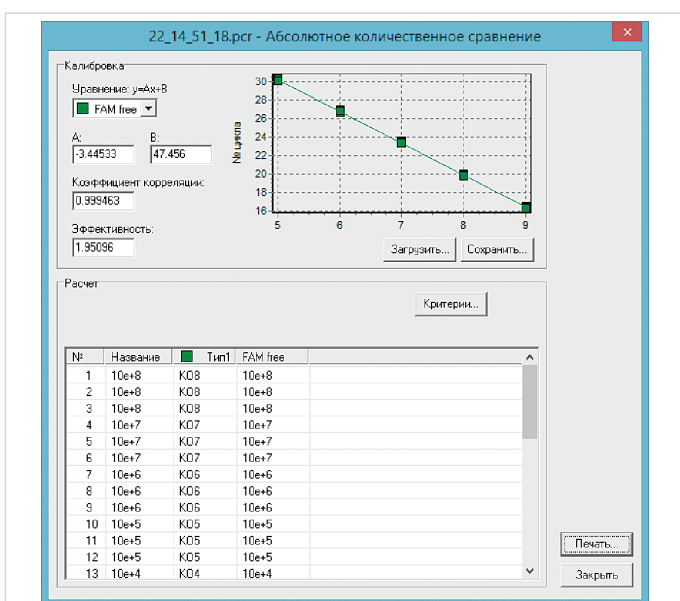


Рисунок 4. Расчет эффективности ПЦР с использованием видоспецифических праймеров к пшенице

Как видно из Рисунка 3, во всех пробах пряностей обнаружена ДНК глютен содержащих злаковых. Для расчета количества содержания фальсифицирующей добавки была построена калибровочная кривая. В качестве эталона была взята ДНК, выделенная из зерен пшеницы и ее десятикратные разведения.

Как видно из Рисунка 4, коэффициент корреляции близок к 100%, эффективность реакции составила 1,95 что в процентном отношении составляет 97,5%, что в полной мере отвечает требованиям, предъявляемым к количественной ПЦР.

Из результатов анализа видно, что в образце куркумы № 1 содержалось почти 14,95% ДНК злаковых. В образце куркумы № 2 ее было немного — 0,14%, однако и это на первый взгляд небольшое количество может вызвать аллергию у отдельных групп населения.

Наибольшее количество подмены обнаружено в образце № 1, около 15% от массы.

Видоспецифическая реакция на ДНК пшеницы подтвердила, что в образцах пряностей содержалась именно пшеничная мука.

Разумеется, такое количество подмены основного сырья требует корректировки свойств конечного продукта.

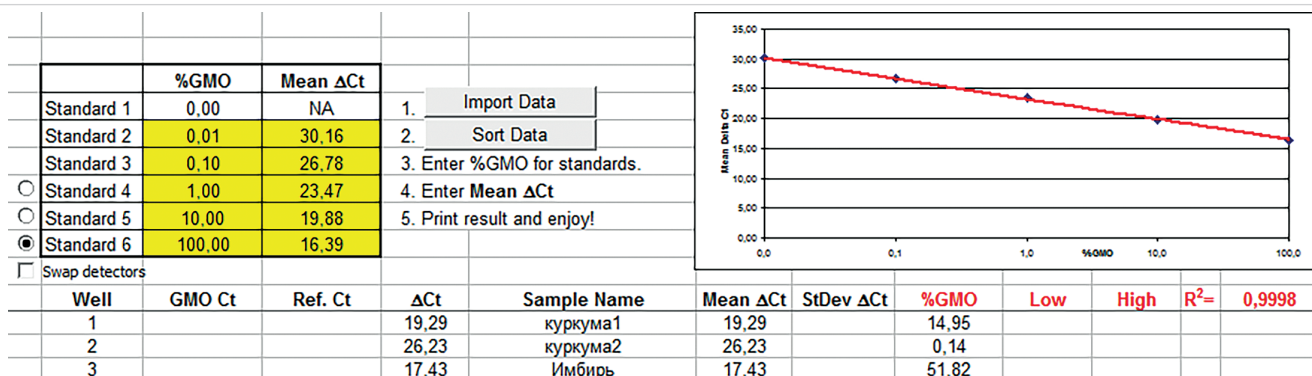


Рисунок 5. Расчет количества ДНК злаковых в исследуемых образцах по калибровочной кривой

В связи с тем, что были образцы, в которых обнаружены подмены пшеничной муки, а именно образец № 1, и по содержанию хрома и свинца в нем обнаружены значимые количества элементов, логично предположить, что в своем составе для придания окраски продукту был использован хромат свинца.

При этом некоторые из исследованных образцов не коррелировали с высоким содержанием свинца и хрома, а именно образец под № 4, но присутствие ДНК пшеницы было выявлено на достаточно высоком уровне, дополнительно проведены исследования на содержание калия и натрия, т. к. соли хромовых кислот этих элементов так же обладают специфическим оранжево-желтым цветом.

Так в образце № 4 были обнаружены калий в количестве 693,18 мг/кг, а натрий 5060,35 мг/кг, при справочном содержании данных элементов на уровне 2000 мг/кг — калия и 280 мг/кг — натрия. Что, в свою очередь, может служить подтверждением окрашивания данного образца солями хромата натрия, а не хроматом свинца.

4. Выводы

В условиях повышенного антропогенного загрязнения чрезвычайно достаточно остро стоит проблема производства экологически чистых продуктов питания. В настоящее время ассортимент специй, пряностей и их композиций достаточно широк и включает целую гамму веществ, которые могут угрожать здоровью населения, и мы применяем их как в промышленном производстве, так и в быту широк. Основную опасность для человеческого организма представляет содержание в продуктах питания ксенобиотиков химического (к примеру, металлы) и биологического происхождения (к примеру, наличие чужеродной ДНК).

В ходе проведенного исследования было выявлено, что в образцах куркумы, содержались значительные коли-

чества хрома, в определенных образцах различающиеся в несколько раз. При этом следует учитывать, что данные в литературе о природном содержании данного металла представлены скудно, за частую в справочниках стоит прочерк, или сноска, что не исследовался при изучении элементного состава. Содержание свинца в двух образцах превышало установленное ПДК, и в среднем было достаточно высоким.

Следует обратить внимание, что по действующему законодательству, необходимо указывать о наличии возможных аллергенов в составе. Таким образом, установленное методом ПЦР внесение пшеницы, содержащей глютен, в качестве аллергена, является как нарушением законодательства, так и несет в себе безопасность здоровью потребителя.

Таким образом, рассмотренный комплекс исследований авторами в настоящей статье по составу куркумы приоткрыл, лишь часть информации о продукте. Наличие незаявленных ингредиентов в исследованных образцах однозначно можно интерпретировать как нарушение ТР ТС 022 о маркировке пищевой продукции. Однако оценить допустимый вред здоровью и степень воздействия на организм вследствие обнаружения в нем хроматов калия, натрия и свинца, а также обосновано признать данную группу продукции опасной для человека, пока не представляется возможным. Тем не менее, однозначно можно сказать, что наблюдение и мониторинг на уровне контролирующих организаций необходим.

Чистота натурального продукта является краеугольным камнем его воспринимаемой биологической эффективности. Хотя аутентификация ценных травяных продуктов, таких как порошкообразные специи, является сложной задачей для выявления неэтичных практик, включая подмену, фальсификацию, использование наполнителей и неправильную маркировку, штрих-кодирование ДНК может оказаться решением этих проблем в ближайшем будущем.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Николаева, М. А., Положишникова М. А. (2009). Идентификация и обнаружение фальсификации продовольственных товаров. М.: Форум, Инфра-М. — 464 с.
2. Prasath, D., Kandianan, K., Leela, N. K., Aarthi, S., Sasikumar, B., Babu, K. N. (2018). Turmeric: Botany and production practices. *Horticultural Reviews*, 46, 99–184. <https://doi.org/10.1002/9781119521082.ch35>.
3. Куркума — специя с удивительным потенциалом. Электронный ресурс: <https://spicesguide.ru/spices/kurkuma/kurkuma-spetsiya-s-udivitelny-potentsialom.html>. Дата доступа 10.11.2020.
4. Turmeric may contain dangerous levels of lead. Электронный ресурс: <https://www.medicalnewstoday.com/articles/326652> Дата доступа 20.01.2021.
5. Turmeric validated to treat glaucoma, osteoarthritis. Электронный ресурс: <https://guardian.ng/features/turmeric-validated-to-treat-glaucoma-osteoarthritis-2/> Дата доступа 20.01.2021
6. Как правильно употреблять куркуму: безопасная суточная доза, полезные свойства, противопоказания. Электронный ресурс: <https://zen.yandex.ru/media/yellmed/kak-pravilno-upotreblat-kurkumu-bezopasnaia-sutochnaia-doza-poleznye-svoistva-protivopokazaniia-5df2268a2beb4900b06fef5e> Дата доступа 15.11.2020.
7. Sasikumar, B., Swetha, V.P., Parvathy, V.A., Sheeja, T.E. (2016). Advances in adulteration and authenticity testing of herbs and spices. Chapter in a book: *Advances in Food Authenticity Testing: Improving Quality throughout the Food Chain*, Woodhead Publishing, Cambridge, UK. 2016. 585–624.
8. Sasikumar, B., Syamkumar, S., Remya, R., Zachariah, T. J. (2004). PCR based detection of adulteration in the market samples of turmeric powder. *Food Biotechnology*, 18(3), 299–306. <https://doi.org/10.1081/FBT-200035022>
9. Dhanya, K., Syamkumar, S., Siju, S., Sasikumar, B. (2011). Sequence characterized amplified region markers: A reliable tool for adulterant detection in turmeric powder. *Food Research International*, 44(9), 2889–2895. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.040>
10. Parvathy, V. A., Swetha, V. P., Sheeja, T. E., Sasikumar, B. (2015). Detection of plant-based adulterants in turmeric powder using DNA barcoding. *Pharmaceutical Biology*, 53(12), 1774–1779. <https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1005756>
11. Oh, S. H., Jang, C. S. (2020). Development and validation of a real-time PCR based assay to detect adulteration with corn in commercial turmeric powder products. *Foods*, 9(7), Article 882. <https://doi.org/10.3390/foods9070882>
12. Girmé, A., Saste, G., Balasubramaniam, A. K., Pawar, S., Ghule, C., Hingorani, L. (2020). Assessment of curcuma longa extract for adulteration with synthetic curcumin by analytical investigations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 191, Article 113603. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113603>
13. Kourani, K., Kapoor, N., Badiye, A., Shukla, R. K. (2020). Detection of synthetic food color “Metanil yellow” in sweets: A systematic approach. *Journal of Planar Chromatography — Modern TLC*, 33(4), 413–418. <https://doi.org/10.1007/s00764-020-00046-9>
14. Lakshmi S, Padmaja G, Remani P. (2011). Antitumour Effects of Isocurcumenol Isolated from Curcuma zedoaria Rhizomes on Human and Murine Cancer Cells. *International Journal of Medicinal Chemistry*, 2011, Article 253962. <https://doi.org/10.1155/2011/253962>
15. 10 специй и пряностей, которые могут оказаться подделкой. Электронный ресурс: <https://domopravitelnitsa.com/sovety/10-spetsiy-i-pryanostey-kotoryie-mogut-okazatsya-poddelkoy.html>. Дата доступа 10.11.2020.
16. Куркума может содержать опасные уровни свинца. Электронный ресурс: <https://foodmedicine.ru/svinets-v-kurkume/>. Дата доступа 10.11.2020.
17. Gleason, K., Shine, J. P., Shobnam, N., Rokoff, L. B., Suchanda, H. S., Ibne Hasan, M. O. S. et al. (2014). Contaminated turmeric is a potential source of lead exposure for children in rural Bangladesh. *Journal of Environmental and Public Health*, 2014, Article 730636. <https://doi.org/10.1155/2014/730636>
18. Forsyth, J. E., Weaver, K. L., Maher, K., Islam, M. S., Raqib, R., Rahman, M. et al. (2019). Sources of blood lead exposure in rural Bangladesh. *Environmental Science and Technology*, 53(19), 11429–11436. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b00744>
19. Вострикова, Н.Л. (2009). Разработка научно-методических основ комплексного мониторинга токсичных и биогенных элементов в органах и тканях сельскохозяйственных животных и птицы на основе принципов прослеживаемости. Автореферат диссертации

- на соискание ученой степени кандидата технических наук. Москва: ВНИИМП им. В. М. Горбатова. — 24 с.
20. Paranthaman, R., Moses, J. A., Anandharamakrishnan, C. (2021). Development of a method for qualitative detection of lead chromate adulteration in turmeric powder using X-ray powder diffraction. *Food Control*, 126, Article 107992. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.107992>
 21. Отличае куркуму от подделки — рабочие способы! Электронный ресурс: <https://kurkumagia.ru/kak-otlichit-nastoyashhuyu-kurkumu-ot-poddelki/>. Дата доступа 10.10.2020.
 22. Macêdo, I. Y. L. D., Machado, F. B., Ramos, G. S., Costa, A. G. D. C., Batista, R. D., Filho, A. R. G. et al. (2021). Starch adulteration in turmeric samples through multivariate analysis with infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, 340, Article 127899. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127899>
 23. ГОСТ 33425–2015 «Мясо и мясные продукты. Определение никеля, хрома и кобальта методом электротермической атомно-абсорбционной спектроскопии». — М.: Стандартинформ, 2019. — 11 с.
 24. МУК 4.1.986–00 «Методика выполнения измерений массовой доли свинца и кадмия в пищевых продуктах и продовольственном сырье методом электротермической атомно-абсорбционной спектроскопии». — М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2000. — 32 с.
 25. ГОСТ EN 15505–2013 «Продукты пищевые. Определение следовых элементов. Определение натрия и магния с помощью пламенной атомно-абсорбционной спектроскопии с предварительной минерализацией пробы в микроволновой печи (Переиздание)». — М.: Стандартинформ, 2019. — 25 с.
 26. ГОСТ Р 55484–2013 «Мясо и мясные продукты. Определение содержания натрия, калия, магния и марганца методом пламенной атомной абсорбции». — М.: Стандартинформ, 2014. — 11 с.
 27. МР 4.2.0019–11 «Идентификация сырьевого состава мясной продукции: Методические рекомендации». — М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора. 2011. — 36 с.
 28. Welcome to NCBI. Электронный ресурс: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> Дата доступа 20.01.2021
 29. Primer-BLAST. Электронный ресурс: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/index.cgi>. Дата доступа 20.01.2021
 30. OligoAnalyzer Tool. Электронный ресурс: <http://eu.idtdna.com/calc/analyzer> Дата доступа 20.01.2021
 31. Melting Curve Predictions Software. Электронный ресурс: <https://dnautah.org/umelt/umelt.html> Дата доступа 20.01.2021
 32. Kurbakov, K.A., Konorov, E.A., Zhulinkova, V.N., Minaev, M. Yu. (2019). Detection of soybean by real-time PCR in the samples subjected to deep technological processing. *Theory and practice of meat processing*, 4(4), 23–27. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2019-4-4-23-27>
 33. Kurbakov, K. A., Konorov, E. A., Minaev, M. Y., Kuznetsova, O. A. (2019). Multiplex real-time PCR with HRM for detection of *Lactobacillus sakei* and *Lactobacillus curvatus* in food samples. *Food Technology and Biotechnology*, 57(1), 97–104. <https://doi.org/10.17113/ftb.57.01.19.5983>
 34. ТР ТС 021 Технический регламент Таможенного союза ТР ТС 021/2011 Технический регламент Таможенного союза «О безопасности пищевой продукции» (с изменениями на 8 августа 2019 года), принятый Решением Комиссии Таможенного союза от 9 декабря 2011 года № 880.
 35. ТР ТС 027/2012 Технический регламент Таможенного союза «О безопасности отдельных видов специализированной пищевой продукции, в том числе диетического лечебного и диетического профилактического питания», принятый Решением Комиссии Таможенного союза от 15 июня 2012 года № 34.
 36. ТР ТС 034/2013 Технический регламент Таможенного союза «О безопасности мяса и мясной продукции», принятый Решением Комиссии Таможенного союза от 9 октября 2013 года № 68.
 37. Ким, И.Н., Штанько, Т.И., Кращенко, В.В. (2019). Пищевая химия. Наличие металлов в продуктах. М.: Юрайт. — 213 с.

REFERENCES

1. Nikolaeva, M.A., Polozhishnikova, M.A. (2009). Identification and detection of falsification of food product. Moscow: Форум Forum, Infra-M. — 464 p. (In Russian)
2. Prasath, D., Kandianan, K., Leela, N. K., Aarthi, S., Sasikumar, B., Babu, K. N. (2018). Turmeric: Botany and production practices. *Horticultural Reviews*, 46, 99–184. <https://doi.org/10.1002/9781119521082.ch3>
3. Turmeric — a spice with amazing potential. Retrieved from <https://spicesguide.ru/spices/kurkuma/kurkuma-spetsiya-s-uiditelnyim-potentsialom.html>. Accessed November 10, 2020. (In Russian)
4. Turmeric may contain dangerous levels of lead. Retrieved from <https://www.medicalnewstoday.com/articles/326652> Accessed January 20, 2021.
5. Turmeric validated to treat glaucoma, osteoarthritis. Retrieved from <https://guardian.ng/features/turmeric-validated-to-treat-glaucoma-osteoarthritis-2/> Accessed January 20, 2021
6. How to use turmeric correctly: safe daily dose, useful properties, contraindications. urkuma-a spice with amazing potential. Retrieved from <https://zen.yandex.ru/media/yellmed/kak-pravilno-upotreblit-kurkumu-bezopasnaia-sutochnaia-doza-poleznye-svoistva-protivopokazaniia-5df2268a2beb4900b06fef5e> Accessed November 15, 2020. (In Russian)
7. Sasikumar, B., Swetha, V.P., Parvathy, V.A., Sheeja, T.E. (2016). Advances in adulteration and authenticity testing of herbs and spices. Chapter in a book: *Advances in Food Authenticity Testing: Improving Quality throughout the Food Chain*, Woodhead Publishing, Cambridge, UK. 2016. 585–624.
8. Sasikumar, B., Syamkumar, S., Remya, R., Zachariah, T. J. (2004). PCR based detection of adulteration in the market samples of turmeric powder. *Food Biotechnology*, 18(3), 299–306. <https://doi.org/10.1081/FBT-200035022>
9. Dhanya, K., Syamkumar, S., Siju, S., Sasikumar, B. (2011). Sequence characterized amplified region markers: A reliable tool for adulterant detection in turmeric powder. *Food Research International*, 44(9), 2889–2895. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.06.040>
10. Parvathy, V. A., Swetha, V. P., Sheeja, T. E., Sasikumar, B. (2015). Detection of plant-based adulterants in turmeric powder using DNA barcoding. *Pharmaceutical Biology*, 53(12), 1774–1779. <https://doi.org/10.3109/13880209.2015.1005756>
11. Oh, S. H., Jang, C. S. (2020). Development and validation of a real-time PCR based assay to detect adulteration with corn in commercial turmeric powder products. *Foods*, 9(7), Article 882. <https://doi.org/10.3390/foods9070882>
12. Girme, A., Saste, G., Balasubramaniam, A. K., Pawar, S., Ghule, C., Hingorani, L. (2020). Assessment of curcuma longa extract for adulteration with synthetic curcumin by analytical investigations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 191, Article 113603. <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2020.113603>
13. Kourani, K., Kapoor, N., Badiye, A., Shukla, R. K. (2020). Detection of synthetic food color “Metanil yellow” in sweets: A systematic approach. *Journal of Planar Chromatography — Modern TLC*, 33(4), 413–418. <https://doi.org/10.1007/s00764-020-00046-9>
14. Lakshmi S, Padmaja G, Remani P. (2011). Antitumour Effects of Isocurcumenol Isolated from *Curcuma zedoaria* Rhizomes on Human and Murine Cancer Cells. *International Journal of Medicinal Chemistry*, 2011, Article 253962. <https://doi.org/10.1155/2011/253962>
15. 10 spices and spices that may be fake. Retrieved from <https://domopravitelnitsa.com/sovety/10-spetsiy-i-ryanostey-kotoryie-mogut-okazatsya-poddelkoy.html>. Accessed November 10, 2020. (In Russian)
16. Turmeric may contain dangerous levels of lead. Retrieved from <https://foodismedicine.ru/svinets-v-kurkume/>. Accessed November 10, 2020. (In Russian)
17. Gleason, K., Shine, J. P., Shobnam, N., Rokoff, L. B., Suchanda, H. S., Ibne Hasan, M. O. S. et al. (2014). Contaminated turmeric is a potential source of lead exposure for children in rural Bangladesh. *Journal of Environmental and Public Health*, 2014, Article 730636. <https://doi.org/10.1155/2014/730636>
18. Forsyth, J. E., Weaver, K. L., Maher, K., Islam, M. S., Raqib, R., Rahman, M. et al. (2019). Sources of blood lead exposure in rural Bangladesh. *Environmental Science and Technology*, 53(19), 11429–11436. <https://doi.org/10.1021/acs.est.9b00744>
19. Vostrikova, N.L. (2009). Development of scientific and methodological bases for integrated monitoring of toxic and biogenic elements in organs and tissues of farm animals and poultry based on the principles of traceability. Author's abstract of the dissertation for the scientific degree of Candidate of Technical Sciences. Moscow: VNIIMP. — 24 p. (In Russian)
20. Paranthaman, R., Moses, J. A., Anandharamakrishnan, C. (2021). Development of a method for qualitative detection of lead chromate adulteration in turmeric powder using X-ray powder diffraction. *Food Control*, 126, Article 107992. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.107992>
21. We distinguish turmeric from fake-working methods! Retrieved from <https://kurkumagia.ru/kak-otlichit-nastoyashhuyu-kurkumu-ot-poddelki/>. Accessed November 10, 2020. (In Russian)
22. Macêdo, I. Y. L. D., Machado, F. B., Ramos, G. S., Costa, A. G. D. C., Batista, R. D., Filho, A. R. G. et al. (2021). Starch adulteration in turmeric samples through multivariate analysis with infrared spectroscopy. *Food Chemistry*, 340, Article 127899. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.127899>
23. ГОСТ 33425–2015 “Meat and meat products. Determination of nickel, chromium and cobalt by electrothermal atomic absorption spectrometry”. Moscow: Standartinform, 2019. — 11 p. (In Russian)
24. МУК 4.1.986–00 Method of measuring the mass fraction of lead and cadmium in food products and food raw materials by electrothermal atomic absorption spectrometry. — Moscow: Federal Center for State Sanitary and Epidemiological Supervision of the Ministry of Health of the Russian Federation. 2000. — 32 p. (In Russian)
25. ГОСТ EN15505–2013 “Foodstuffs. Determination of trace elements. Determination of sodium and magnesium by flame atomic absorption spectrometry (AAS) after microwave digestion”. Moscow: Standartinform, 2019. — 25 p. (In Russian)
26. ГОСТ R55484–2013 “Meat and meat products. Determination of sodium, potassium, magnesium and manganese by flame atomic absorption”. Moscow: Standartinform, 2014. — 11 p. (In Russian)
27. МР4.2.0019–11 Identification of the raw material composition of meat products: Methodological recommendations. Moscow: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rosпотребнадзор, 2011. — 36 p. (In Russian)

28. Welcome to NCBI. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/> Accessed January 20, 2021
29. Primer-BLAST. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/tools/primer-blast/index.cgi>. Accessed January 20, 2021
30. OligoAnalyzer Tool. Retrieved from <http://eu.idtdna.com/calc/analyzer> Accessed January 20, 2021
31. Melting Curve Predictions Software Retrieved from: <https://dna-utah.org/umelt/umelt.html> Accessed January 20, 2021
32. Kurbakov, K.A., Konorov, E.A., Zhulinkova, V.N., Minaev, M. Yu. (2019). Detection of soybean by real-time PCR in the samples subjected to deep technological processing. *Theory and practice of meat processing*, 4(4), 23–27. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2019-4-4-23-27>
33. Kurbakov, K. A., Konorov, E. A., Minaev, M. Y., Kuznetsova, O. A. (2019). Multiplex real-time PCR with HRM for detection of *Lactobacillus sakei* and *Lactobacillus curvatus* in food samples. *Food Technology and Biotechnology*, 57(1), 97–104. <https://doi.org/10.17113/ftb.57.01.19.5983>
34. TR TU 021/2011 Technical Regulations of the Customs Union “On the safety of food products” (as amended on August 08, 2019, Decision of the Council of the Eurasian economic Commission of December 09, 2011, № 880. Moscow, 2013. (In Russian)
35. TR CU 027/2012 Technical Regulations of the Customs Union “On the safety of certain types of specialized food products, including dietary therapeutic and dietary preventive nutrition”, Decision of the Council of the Eurasian economic Commission of June 15, 2012. № 34. Moscow, 2012. (In Russian)
36. TR CU 034/2013 Technical Regulations of the Customs Union “On the safety of meat and meat products”, Decision of the Council of the Eurasian economic Commission of October 09, 2013, № 68. Moscow, 2013. (In Russian)
37. Kim, I.N., Shtanko, T.I., Kraschenko, V.V. (2019). Food chemistry. The presence of metals in the products. Moscow: Urite. — 213 p. (In Russian)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Вострикова Наталья Леонидовна — доктор технических наук, Руководитель Научно-исследовательского испытательного центра, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-95-11 доб. 413 E-mail: n.vostrikova@fncps.ru https://orcid.org/0000-0002-9395-705X * автор для контактов	Natal'ya L. Vostrikova — doctor of technical sciences, Head of the Laboratory Center for food and feed testing, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences 109316, Moscow, Talalikhina str., 26 Tel.: +7-495-676-95-11 (413) E-mail: n.vostrikova@fncps.ru https://orcid.org/0000-0002-9395-705X * corresponding author
Минаев Михаил Юрьевич — кандидат технических наук, заведующий лабораторией молекулярной биологии и биоинформатики, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-95-11 доб. 401 E-mail: mminaev@inbox.ru https://orcid.org/0000-0002-0038-9744	Mihail Yu. Minaev — candidate of technical sciences, head of Laboratory of molecular biology and bioinformatics, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences 109316, Moscow, Talalikhina str., 26 Tel.: +7-495-676-95-11 (401) E-mail: mminaev@inbox.ru https://orcid.org/0000-0002-0038-9744
Чиковани Кристина Гочаевна — инженер, лаборатория «Научно-методических работ, биологических и аналитических исследований», Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-95-11 доб. 412 E-mail: k.chikovani@fncps.ru https://orcid.org/0000-0001-6476-9415	Kristina G. Chikovani — engineer, Laboratory “Scientific and methodological works, biological and analytical studies”, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences 109316, Moscow, Talalikhina str., 26 Tel.: +7 495-676-95-11 (412) E-mail: k.chikovani@fncps.ru https://orcid.org/0000-0001-6476-9415
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат	Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов	The authors declare no conflict of interest
Поступила 07.09.2020	Received 07.09.2020
Поступила после рецензирования 20.01.2021	Accepted in revised 20.01.2021
Принята в печать 25.02.2021	Accepted for publication 25.02.2021