

Volume 4, Issue 4, 2021

ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ
ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ

ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ
FOOD SYSTEMS

FOOD SYSTEMS
FOOD SYSTEMS

ISSN 2618-9771 (Print)

ISSN 2618-7272 (On line)

<http://www.fsjour.com>

Национальный, рецензируемый журнал посвящен основным проблемам науки о пищевой промышленности. Основной миссией является: создание, агрегация, поддержка и распространение научного контента в области пищевой промышленности, объединение усилий исследователей научных центров, университетов, преодоление разрыва между изданиями регионального, национального и федерального уровней. Журнал призван освещать актуальные проблемы в пищевой и смежных отраслях, продвигать новые перспективные технологии в широкую аудиторию научных и практических работников, преподавателей, аспирантов, студентов, предпринимателей. Научная концепция издания предполагает публикацию новых знаний в области пищевых систем и научных основ ресурсосберегающих технологий глубокой переработки сельскохозяйственного сырья, прорывных технических решений для производства пищевых продуктов общего и специализированного назначения. В журнале публикуются научные и обзорные статьи, доклады, сообщения, рецензии, краткие научные сообщения (письма в редакцию), информационные публикации по направлениям: технология пищевых производств; процессы, оборудование и аппараты пищевых производств; гигиена питания; биотехнология; стандартизация, сертификация, качество и безопасность; экономика; автоматизация и информатизация технологических процессов. Подробная информация для авторов и читателей представлена на сайте: www.fsjour.com.

Министерство науки и высшего образования
Российской Федерации

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

ПИЩЕВЫЕ СИСТЕМЫ
www.fsjour.com

Учредитель, издатель и типография
Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение «Федеральный научный
центр пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН
109316, Москва, Талалихина, 26

РЕДАКЦИЯ

Федеральное государственное бюджетное
научное учреждение «Федеральный научный центр
пищевых систем им. В.М. Горбатова» РАН
109316, Москва, Талалихина, 26
Тел.: +7-495-676-95-11, доб. 300
e-mail: a.zakharov@fncps.ru

Журнал зарегистрирован в Роскомнадзоре

Регистрационные данные:
ПИ № ФС77-71610 от 13.11.2017
ЭЛ № ФС 77-72022 от 26.12.2017
Издается с 2018 года.

Материалы публикуются на условиях лицензии CC BY 4.0
Цена свободная.

Периодичность — 4 номера в год.
Подписано в печать 27.12.2021.
Дата выхода в свет 30.12.2021.
Тираж 300 экз. Заказ № 387.

16+

ISSN 2618-9771 (Print)
ISSN 2618-7272 (Online)
DOI-prefix: 10.21323/2618-9771

© ФНЦПС, 2021
© Авторы, 2021

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

ГЛАВНЫЙ РЕДАКТОР:

Кузнецова Оксана Александровна — Доктор технических наук, Директор, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН, Москва, Россия,

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:

Лисицын Андрей Борисович — Доктор технических наук, профессор, Академик РАН, Лауреат Государственной премии Российской Федерации в области науки и техники, Научный руководитель, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН, Москва, Россия

ЗАМЕСТИТЕЛЬ ГЛАВНОГО РЕДАКТОРА:

Семенова Анастасия Артуровна — Доктор технических наук, профессор, Заместитель директора, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН, Москва, Россия

НАУЧНЫЕ РЕДАКТОРЫ:

Горлов Иван Федорович — Доктор сельскохозяйственных наук, профессор, академик РАН, Научный руководитель, Поволжский научно-исследовательский институт производства и переработки мясомолочной продукции», Волгоград, Россия

Замаратская Галия — Кандидат технических наук, доцент, Научный работник, Шведский университет аграрных наук, г. Упсала, Швеция

Настасиевич Иван — Доктор, Адъюнкт-директор, Институт гигиены и технологии мяса, Белград, Сербия

Такеда Широ — Адъюнкт-профессор, Профессор лаборатории науки о пище, Институт ветеринарной медицины, Университет Азабу, Сагамихара, Япония

Просекоев Александр Юрьевич — Доктор технических наук, профессор, член-корреспондент РАН, Ректор, Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия

Горбунова Наталья Анатольевна — Кандидат технических наук, Ученый секретарь, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН, Москва, Россия

ВЫПУСКАЮЩИЙ РЕДАКТОР:

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

ЧЛЕНЫ РЕДАКЦИОННОЙ КОЛЛЕГИИ:

Абрамова Любовь Сергеевна — Доктор технических наук, профессор, Заместитель директора Департамента, Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, Москва, Россия

Баженова Баяна Анатольевна — Доктор технических наук, профессор, Профессор кафедры «Технология мясных и консервированных продуктов», Восточно-Сибирский университет технологии и управления», Улан-Удэ, Россия
Галстян Арам Генрихович — Доктор, технических наук, академик РАН, Директор, Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности РАН, Москва, 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» Северо-Кавказский федеральный университет, Ставрополь, Россия

Иванкин Андрей Николаевич — Доктор химических наук, профессор, Заведующий кафедрой «Химия», Мытищинский филиал МГТУ им. Н. Э. Баумана, Мытищи, Московская область, Россия

Кочеткова Алла Алексеевна — Доктор технических наук, профессор, Руководитель лаборатории пищевых биотехнологий и специализированных продуктов, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи, Москва, Россия

Машенцева Наталья Геннадиевна — Доктор технических наук, доцент, профессор РАН, профессор, кафедра «Биотехнология и технология продуктов биоорганического синтеза» Московский государственный университет пищевых производств, Москва, Россия

Мирошников Сергей Александрович — Доктор биологических наук, профессор, член-корреспондент РАН, Ректор, Оренбургский государственный университет, Оренбург, Россия

Римарева Любовь Вячеславовна — Доктор технических наук, профессор, Академик РАН, Главный научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевой биотехнологии — филиал Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи, Москва, Россия

Петров Андрей Николаевич — Доктор технических наук, профессор, Академик РАН, Директор, Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования — филиал Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН, Видное, Московская область, Россия

Ребезов Максим Борисович — Доктор сельскохозяйственных наук, профессор, Главный научный сотрудник, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН, Москва, Россия

Чернуха Ирина Михайловна — Доктор технических наук, профессор, Академик РАН, Заведующий отделом, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН, Москва, Россия

The national peer reviewed journal is dedicated to the main problems of food science. The main mission is to create, aggregate, support and distribute the scientific content in the field of the food industry, join the efforts of researchers from scientific centers and universities, bridge the gap between publications at the regional, national and federal levels. The journal serves to highlight topical problems in the food and related industries, promote new promising technologies among the wide audience of scientific and practical professionals, lecturers, students, postgraduate students and entrepreneurs. The scientific concept of the journal envisages publication of new knowledge in the field of food systems and scientific foundations of the resource saving technologies for deep processing of agricultural raw materials, breakthrough technical solutions for producing food of general and specialized purpose. The journal publishes scientific and review papers, reports, communications, critical reviews, short scientific communications (letters to the editorial office), information materials concerned with food technology, processes, equipment and apparatus for food production, nutritional hygiene, biotechnology, standardization, certification, quality and safety, economics, automation and informatization of technological processes. The detailed information is given on the site: www.fsjour.com.

**Minister of Science and Higher Education
of the Russian Federation**

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

FOOD SYSTEMS **www.fsjour.com**

**Founder, Publisher and Printing Office:
Federal State Budgetary Scientific Institution
“V.M. Gorbatov Federal Research Center
for Food Systems of Russian Academy of Sciences”
Talalikhina str. 26, Moscow, Russia, 109316**

EDITORIAL OFFICE:

Federal State Budgetary Scientific Institution
“V.M. Gorbatov Federal Research Center
for Food Systems of Russian Academy of Sciences”
Talalikhina str. 26, Moscow, Russia, 109316
Tel.: +7-495-676-95-11 extension 300
e-mail: a.zakharov@fnfps.ru

The Journal is registered in the Federal Service on Supervision in the sphere of communication industry, information technologies and public communications.

The certificate of registration is
PI № FS 77 – 71610 of 13.11.2017
EL № FS 77 – 72022 of 26.12.2017
Founded in 2018.

This work is licensed under a
Creative Commons Attribution 4.0 License
Free price.

Frequency — 4 issues a year.
Signed print 27.12.2021.

Released from press 30.12.2021.

Circulation — 300 copies. Order № 387.



ISSN 2618-9771 (Print)
ISSN 2618-7272 (Online)
DOI-prefix: 10.21323/2618-9771

© FNCPS, 2021
© Authors, 2021

EDITORIAL BOARD

EDITOR-IN-CHIEF:

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

DEPUTY EDITOR-IN-CHIEF:

Anastasiya A. Semenova, Doctor of technical sciences, Professor, Deputy Director, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

SCIENTIFIC EDITORS:

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

Galia Zamaratskaya, Candidate of technical sciences, Docent, Research Worker, Swedish University of Agricultural Sciences, Uppsala, Sweden

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

Takeda Shiro, Associate Professor, Laboratory of Food Science School of Veterinary Medicine, Azabu University, Sagami-hara, Japan

Aleksandr Yu. Prosekov, Doctor of technical sciences, Professor, Corresponding member of RAS, Rector, Kemerovo State University, Kemerovo, Russia

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

PRODUCTION EDITOR:

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

MEMBERS OF THE EDITORIAL BOARD:

Liubov S. Abramova, Doctor of technical sciences, Professor, Deputy Director of the Department, Russian Federation Research Institute of Fishery and Oceanography, Moscow, Russia

Baiana A. Bazhenova, Doctor of technical sciences, Professor, 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 sciences, Academician of RAS, Director, All-Russian Dairy Research Institute, Moscow, 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”, North-Caucasus Federal University, Stavropol, Russia

Andrey N. Ivankin, Doctor of Chemical Sciences, Professor, Head of the chair of Chemistry, Mytishchi branch of Bauman Moscow State Technical University, Mytishchi, Moscow region, Russia

Alla A. Kochetkova, Doctor of technical sciences, Professor, 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, Professor, Chair of Biotechnology and Technology of Products of Bioorganic Synthesis, Moscow State University of Food Production, Moscow, Russia

Sergey A. Miroshnikov, Doctor of biological sciences, Professor, Corresponding member of RAS, Rector, Orenburg State University, Orenburg, Russia

Liubov V. Rimareva, Doctor of technical sciences, Professor, Academician of RAS, Chief Researcher, All-Russian Scientific Research Institute of Food Biotechnology — branch Federal Research Centre of nutrition, biotechnology and food safety, Moscow, Russia

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

Maxim B. Rebezov, Doctor of agricultural sciences, Professor, Chief Researcher, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

Irina M. Chernukha, Doctor of technical sciences, Professor, Academician of RAS, Head of the Department, V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia

СОДЕРЖАНИЕ

Федянина Н. И., Карастоянова О. В., Коровкина Н. В. МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦВЕТОВЫХ ХАРАКТЕРИСТИК РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ. ОБЗОР.....	230
Козин А. В., Абрамова Л. С., Гусева Е. С., Дерунец И. В. УСТАНОВЛЕНИЕ МЕТРОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ МЕТОДИКИ ИЗМЕРЕНИЙ МАССОВОЙ ДОЛИ БЕЛКА МЕТОДОМ КЪЕЛЬДАЛЯ В ПИЩЕВОЙ РЫБНОЙ ПРОДУКЦИИ	239
Крюченко Е. В., Кузлякина Ю. А., Чернуха И. М., Замула В. С. ПИЩЕВЫЕ АЛЛЕРГЕНЫ: ПОРОГОВЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И МЕТОДОЛОГИИ УПРАВЛЕНИЯ РИСКАМИ	246
Abdalla S. Ammar, Wael A. Bazaraa JUICE NANOTECHNOLOGY: A MINI REVIEW	255
Свириденко Г. М., Захарова М. Б., Иванова Н. В. ОЦЕНКА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ РИСКОВ В СЛИВКАХ КАК СЫРЬЕ ДЛЯ МАСЛОДЕЛИЯ	259
Папахин А. А., Бородина З. М. ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПУЛЛУЛАНАЗЫ В КАЧЕСТВЕ БИОКАТАЛИЗАТОРА ПРОЦЕССА ГИДРОЛИЗА КРАХМАЛА: ЧАСТЬ 1. ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ ПУЛЛУЛАНАЗЫ НА АМИЛОПЕКТИНОВЫЙ КУКУРУЗНЫЙ КРАХМАЛ.....	269
Кобелькова И. В., Коростелева М. М., Никитюк Д. Б., Кобелькова М. С. КОНЕЧНЫЕ ПРОДУКТЫ ГЛИКИРОВАНИЯ И ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СНИЖЕНИЯ ИММУНОГЕННОСТИ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫХ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ ДЛЯ ПИТАНИЯ СПОРТСМЕНОВ	278
Мягконосов Д. С., Смыков И. Т., Абрамов Д. В., Делицкая И. Н., Овчинникова Е. Г. ВЛИЯНИЕ МОЛОКОСВЕРТЫВАЮЩИХ ФЕРМЕНТОВ ЖИВОТНОГО И МИКРОБНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА КАЧЕСТВО И СРОК ХРАНЕНИЯ МЯГКИХ СЫРОВ.....	286
Канина К. А., Жижин Н. А., Каракулова Е.А., Атанасов П. Р. РЕЗУЛЬТАТЫ КОМПЛЕКСНОЙ ОЦЕНКИ СЫРА ТИПА БРЫНЗЫ И ПОБОЧНОГО СЫРЬЯ – МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКИ, С ПРИМЕНЕНИЕМ ФЕРМЕНТА МТГ И ЕГО СТЕПЕНИ АКТИВНОСТИ В ПРОЦЕССЕ ХРАНЕНИЯ	294
Рубан А. А., Новикова (Захарова) М. В., Лоскутов С. И., Костин А. А. ВЛИЯНИЕ ЭМУЛЬСИЙ ЖИРА ЛИЧИНОК ЧЕРНОЙ ЛЬВИНКИ (<i>HERMETIA ILLUCENS</i>) НА ВСХОЖЕСТЬ И ЭНЕРГИЮ ПРОРАСТАНИЯ СЕМЯН ГОРОХА ПОСЕВНОГО (<i>PISUM SATIVUM L.</i>)	308

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-4-230-238>

Поступила 08.10.2021

Поступила после рецензирования 12.11.2021

Принята в печать 25.11.2021

© Федянина Н. И., Карастоянова О. В., Коровкина Н. В., 2021

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

Обзорная статья

Open access

МЕТОДЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦВЕТОВЫХ ХАРАКТЕРИСТИК РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ. ОБЗОР

Федянина Н. И.*, Карастоянова О. В., Коровкина Н. В.

Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования. Видное, Московская область, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

цвет, способы определения цвета, растительное сырье, качество, компьютерное зрение

АННОТАЦИЯ

Качество пищевых продуктов обуславливает совокупность свойств продукции, таких как размер, форма, текстура, цвет и другие, и определяет приемлемость данной продукции для потребителя. По цвету можно определить дефекты в растительном сырье и классифицировать его по цветовым характеристикам, текстуре, размеру, форме, степени зрелости и т. д. В настоящее время ведутся работы по модернизации систем контроля цвета для быстрого и объективного измерения информации о цвете растительного сырья во время сбора, переработки, а также в процессе его хранения. Целью работы является проведение анализа существующих способов определения цветовых характеристик растительного сырья — они описаны в зарубежных и отечественных работах. Также в данной статье приводятся результаты экспериментальных работ, в которых рассказывается о практическом применении методов определения цвета пищевых продуктов. На сегодняшний день существуют следующие способы определения цветовых характеристик по принципу сенсорного анализа: органолептический, спектрофотометрический, фотометрический. Данные методы отличаются некоторыми недостатками, поэтому в качестве автоматизированного способа контроля пищевых продуктов широкое применение нашло компьютерное зрение. Он отличается высокой достоверностью и надежностью в процессе определения свежести, безопасности, степени зрелости и других параметров растительного сырья, отличающегося неоднородностью по перечисленным выше показателям. Метод компьютерного зрения находит свою реализацию в следующих системах: традиционной, гиперспектральной и многоспектральной. Каждая последующая система является составной частью предыдущей. Представленные в статье материалы позволяют сделать вывод об эффективности систем компьютерного зрения с целью автоматической сортировки и определения качества растительного сырья в пищевой промышленности.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию № FNEN-2019-00011 Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук.

Received 08.10.2021

Accepted in revised 12.11.2021

Accepted for publication 25.11.2021

© Fedyanina, N. I., Karastoyanova, O. V., Korovkina, N. V., 2021

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

Review article

Open access

METHODS FOR DETERMINING COLOR CHARACTERISTICS OF PLANT RAW MATERIALS. A REVIEW

Natalia I. Fedyanina*, Olga V. Karastoyanova, Nadezhda V. Korovkina

Russian Research Institute of Canning Technology Vidnoe, Moscow region, Russia

KEY WORDS:

color, methods for determining color, plant raw materials, quality, computer vision

ABSTRACT

Food product quality defines a complex of food product properties such size, shape, texture, color and others, and determines acceptability of these products for consumers. It is possible to detect defects in plant raw materials by color and classify them by color characteristics, texture, shape, a degree of maturity and so on. Currently, the work on modernization of color control systems has been carried out for rapid and objective measuring information about color of plant raw materials during their harvesting, processing and storage. The aim of the work is to analyze existing methods for determining color characteristics of plant raw materials described in foreign and domestic studies. Also, this paper presents the results of the experimental studies that describe the practical use of methods for measuring food product color. At present, the following methods for determining color characteristics by the sensor analysis principle are used: sensory, spectrophotometric and photometric. These methods have several disadvantages. Therefore, computer vision has found wide application as an automated method for food control. It is distinguished by high confidence and reliability in the process of determining freshness, safety, a degree of maturity and other parameters of plant raw materials that are heterogeneous in terms of the above-mentioned indicators. The computer vision method is realized in the following systems: conventional, hyper-spectral and multispectral. Each subsequent system is a component of the preceding one. Materials presented in the paper allow making a conclusion about the effectiveness of the computer vision systems with the aim of automatic sorting and determining quality of plant raw materials in the food industry.

FUNDING: The article was published as part of the research topic No. FNEN-2019-00011 of the state assignment of the V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Федянина, Н. И., Карастоянова, О. В., Коровкина, Н. В. (2021). Методы определения цветовых характеристик растительного сырья. Обзор. *Пищевые системы*, 4(4), 230-238. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-4-230-238>

FOR CITATION: Fedyanina, N. I., Karastoyanova, O. V., Korovkina, N. V. (2021). Methods for determining color characteristics of vegetable raw materials. A review. *Food systems*, 4(4), 230-238. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-4-230-238>

1. Введение

Качество пищевых продуктов является динамической, комплексной характеристикой, которая определяет степень приемлемости продуктов для потребителя, и постепенно ухудшается в процессе их хранения. Провести анализ качества возможно при изменении одного или нескольких подающихся количественному определению показателей. Наиболее значимым качественным показателем, влияющим на выбор потребителя, является внешний вид продукта. Этот всеобъемлющий термин включает размер, форму, текстуру, массу, блеск, цвет и другие показатели. Цвет поверхности пищевых продуктов является главенствующим параметром качества, оцениваемым потребителями и имеет решающее значение при выборе продукта. Этот показатель можно соотносить с другими качественными признаками, такими как сенсорные, питательные и визуальные или не визуальные дефекты.

Цвет фруктов, овощей и грибов регулируется химическими, биохимическими, микробными и физическими изменениями, которые происходят в процессе роста, созревания, обработки и переработки грибов и растений после сбора урожая. Цвет проявляется за счет натуральных пигментов, придающих окраску растительному сырью: к ним относятся жирорастворимые хлорофиллы (зеленый), каротиноиды (желтый, оранжевый и красный), водорастворимые антоцианы (красный, синий), флавоноиды (желтый) и беталаины (красный) [1]. Цветовые признаки можно использовать для выявления дефектов в пищевых продуктах [2–5], классификации продуктов по цвету [6–10], текстуре [11–13], размеру [14,15], форме [16–18], степени зрелости [6,11,19,22–27].

В связи с повышением требований потребителей к качеству пищевых продуктов было приложено немало усилий для измерения и контроля цвета продукции. Следовательно, очень важно разработать эффективные системы контроля цвета для быстрого и объективного измерения информации о цвете растительного сырья во время операций обработки и периодов хранения. Для современного пищевого производства, в связи с увеличением объемов выпускаемой продукции и ужесточением допусков по качеству, использование автоматических методов измерения и контроля цвета необходимо [28].

Цвет — это показатель субъективного восприятия, который зависит от потребителя и определенных внешних условий. Это характеристика света, которая измерима с точки зрения интенсивности и длины волны. Цвет продукта становится видимым только тогда, когда свет от источника освещает или ударяется о поверхность объекта.

2. Материалы и методы

Форма проведения исследований представляет собой выполнение систематического обзора, анализ и обобщение современных научно-исследовательских работ, где объектами анализа являются существующие способы определения характеристик цвета продуктов растительного происхождения. Ключевыми критериями включения научно-исследовательских работ являются:

1. Соответствие литературных источников теме систематического обзора по способам определения цветовых характеристик растительных объектов;
2. Публикации оригинальных исследований в рецензируемых журналах, книгах, а также обсуждаемость данных исследований на научных конференциях и так далее.

Отбор актуальных научно-исследовательских работ, опубликованных в промежутке времени с 2002 по 2021 г., проводили в отечественных и зарубежных электронных ба-

зах данных: Web of Science, Scopus, Научной электронной библиотеки РФ (elibrary.ru), Российской государственной библиотеки.

Подробный анализ каждой отобранной научно-исследовательской работы осуществляли на основе соответствия цели и задач представленного обзора, а также по критериям включения. Из каждой публикации были взяты следующие сведения: автор(ы), год публикации, страна, цель и задачи исследования, методология проведенного эксперимента и его результаты.

3. Результаты и обсуждение

3.1. Визуальные методы измерения

Человеческий глаз различает цвета в соответствии с чувствительностью различных фоторецепторных клеток — колбочек, палочек и их соотношения. Палочки обеспечивают сумеречное зрение (в темноте), колбочки служат для цветового восприятия, активируются при достаточно интенсивном освещении с разной длиной волны. Существует три типа цветных фоторецепторных клеток (колбочек) для человека с пиками чувствительности: короткими — 420–440 нм (голубоватыми), средними — 530–540 нм (зеленоватыми) и длинными — 560–580 нм (красноватыми) длинами волн [29]. Цвет воспринимается человеческим глазом благодаря трем цветовым компонентам. Эти компоненты называются трехцветными значениями, представленными тремя типами колбочек в зависимости от степени их стимуляции [28]. Качественная визуальная оценка выполняется для многих операций в существующих системах контроля цвета пищевых продуктов. Процесс осуществляют эксперты дегустационной комиссии с помощью эталонных материалов (атласов цветов), шкал (измерительной, восприятия, гедонической), а также нормативной документации на исследуемую продукцию. Качественная визуальная оценка проводится в условиях, соответствующих требованиям принятых стандартов. В результате визуального измерения получается конкретное описание цветовых характеристик продукта. Данный способ определения цветовых характеристик является субъективным, нестабильным в связи с трудоемкостью и утомительностью процесса, который зависит от многих факторов: сенсорной адаптации испытателей, геометрических условий освещения и обозрения и др. [28]. Примеры исследований с использованием человеческого зрения представлены в работах [30,31].

3.2. Традиционные инструментальные методы измерения

Объективные подходы к измерению и выражению цвета с помощью инструментального оснащения помогут минимизировать проблемы недостаточно точного и объективного определения цветовых характеристик [32]. В случае инструментального измерения цвет выражается посредством цветовых координат с помощью колориметров, спектрофотометров и спектрометрических приборов. Такие традиционные инструменты широко используются в пищевой промышленности для измерения цвета [33]. При заданном освещении эти инструменты обеспечивают количественное измерение, моделируя способ, которым человеческий глаз видит цвет объекта.

Колориметры, такие как хроматометр Minolta, колориметр Hunter Lab, колориметр Dr. Lange и др., используются для измерения цвета первичных источников излучения, излучающих световые волны, и вторичных источников излучения, отражающих или пропускающих внешний свет [34,35]. Следовательно, количественное описание измеряемого цвета получается в трехмерной системе координат (например $X, Y, Z; L^*, a^*, b^*$), полностью определяющей цвет любой точки исследуемого объекта. Измерение выполня-

ется быстро и просто. Калибровку прибора, в соответствии с руководством по эксплуатации, проводят перед началом измерений и осуществляют с помощью черной и белой калибровочных пластин.

Спектрофотометры используются для определения спектральной зависимости степени поглощения, пропускания, оптической плотности и концентрации исследуемого образца за счет воздействия различных видов электромагнитного излучения (видимого, ультрафиолетового, инфракрасного). Методы спектрометрии предусматривают спектральный анализ состава объектов исследования с помощью отраженного или прошедшего через образцы объектов электромагнитного излучения в оптическом диапазоне по их способности отражать (поглощать) различные длины волн. С этой целью осуществляется сравнение двух фотопотоков оптического излучения: падающего на образец и прошедшего или отраженного от образца. Значения X, Y, Z вычисляются в зависимости от источника света и геометрии измерения [35].

Спектрорадиометры применяются для измерения радиометрических величин, таких как длина волны и амплитуда световых колебаний от источника света [36]. Данные приборы различают длину волны в зависимости от положения, в котором свет попадает на матрицу детекторов, что позволяет получить полный спектр за одно определение. С помощью программного обеспечения представляется возможным определение следующих показаний: освещенности, яркости, светового потока, цветности, цветовой температуры, пика и доминирующей длины волны [37–39].

Традиционные инструментальные методы измерения имеют некоторые недостатки при определении цветовых характеристик растительного сырья. Например, потому, что они позволяют определять только небольшую и вместе с тем однородную поверхность образца. Место отбора проб и количество измерений для получения точного среднего цвета являются наиболее важными моментами для традиционных инструментальных измерений [33]. В том случае, если поверхность образца имеет неоднородный цвет, измерение необходимо повторить так, чтобы охватить всю исследуемую поверхность, и даже тогда получить адекватную картину распределения цвета достаточно сложно. Однако такое измерение довольно нерепрезентативно, что затрудняет общий анализ поверхности исследуемого объекта. Параметры размера и формы исследуемых образцов, в связи со своей неоднородностью, также можно отнести к проблемам, стоящим на пути определения цветовых характеристик. Если размер образца слишком мал для заполнения окна образца (предположим, это рисовое зерно) или форма измеряемой области не круглая (например, у жимолости), цветовые измерения растительного сырья могут быть недостаточно точными.

Традиционные инструментальные измерения непригодны для получения подробной характеристики и точной оценки качества исследуемых образцов в связи с трудоемкостью, изменчивостью, субъективностью, возможным нарушением в последовательности определений. Вместе с тем ручной процесс определения цвета очень утомительный, дорогостоящий и находится в прямой зависимости от внешних условий среды. Это, в свою очередь, привело к потребности в разработке автоматического процесса измерения цветовых характеристик на основе анализа изображений исследуемых объектов. Выполнимость данной задачи обеспечивается за счет применения компьютерного зрения.

3.3. Компьютерное зрение

Компьютерное зрение — это инженерная технология, с помощью которой представляется возможной разработка теоретических и алгоритмических основ для автоматиче-

ского извлечения и анализа эффективной информации об исследуемом объекте из наблюдаемого изображения, набора изображений или последовательности изображений. Этот метод соединяет электромагнитное зондирование, механику, оптические приборы, цифровые технологии обработки видео и изображений [40]. Компьютерное зрение как способ проверки и анализа путем электронного восприятия и оценки изображения имеет явные преимущества, так как является наиболее быстрым, последовательным, объективным и экономичным. В этом случае цвет — это элементарная информация, хранящаяся в пикселях цифрового изображения. Компьютерное зрение извлекает количественную информацию о цвете из цифровых изображений с помощью их обработки и анализа, в результате чего осуществляется быстрое и бесконтактное измерение цветовых характеристик [41].

В связи со стремительным развитием информационных технологий в последние годы компьютерное зрение применяется для объективного измерения цвета, распознавания и интерпретации внешних признаков пищевых продуктов, таких как форма, размер, качество и др. [19,20, 41–61].

Существенная разница между компьютерным зрением и традиционными способами оценки цветовых характеристик заключается в количестве предоставляемой пространственной информации. Высокое пространственное разрешение изображений позволяет системам компьютерного зрения анализировать каждый пиксель всей поверхности, вычислять среднее и стандартное отклонение цвета, выделять и определять внешний вид, измерять неоднородные формы и цвета, выбирать интересующую область, а также анализировать более одного объекта при обеспечении постоянной записи и сохранения изображений [33,34].

Цифровое изображение получается путем попадания света на частично отражающую поверхность в видимом спектре, при этом рассеянные фотоны собираются в объективе камеры, преобразуются в электрические сигналы с помощью вакуумной трубки либо с помощью захвата изображений (зарядовой связью) и сохраняются на жестком диске для дальнейшего просмотра и анализа изображения. Получение изображений и их анализ — два важных шага в применении компьютерного зрения. Первый требует скрупулезного проектирования системы захвата изображений и аккуратного обращения для получения цифровых изображений высокого качества, а анализ изображений включает в себя многочисленные алгоритмы и методы, доступные для классификации и измерения.

Самая распространенная система компьютерного зрения по внешнему осмотру — это традиционная, которая основана на использовании цветных видеокамер RGB, имитирующих зрение человеческих глаз с помощью захвата изображений и использования трех фильтров с центром в красном (R, 700,0 нм), зеленом (G, 546,1 нм) и синем (B, 435,8 нм) диапазоне длин волн [20–22,61,62]. Внешние качественные характеристики, такие как цвет, текстура, размер, форма и дефекты растительных объектов, могут быть измерены или обнаружены с помощью данной системы компьютерного зрения. Однако некоторые невидимые дефекты достаточно сложно обнаружить с помощью традиционной системы компьютерного зрения из-за отсутствия спектральной и многокомпонентной информации в получаемых цветных изображениях. С этой целью были разработаны мультиспектральные и гиперспектральные системы компьютерного зрения как эффективные инструменты контроля качества и безопасности различных сельскохозяйственных продуктов за счет использования камер с высоким разрешением, устройств с дисперсией по длине волны, последних достижений в аппаратном и программном обеспечении компьютеров.

Стандартное спектральное изображение состоит из набора монохроматических изображений, соответствующих определенным длинам волн. Цифровое монохромное изображение — это двумерная (2-D) функция интенсивности света от $I(x, y)$. Интенсивность I , известная как уровень серого, в пространственных координатах (x, y) имеет пропорциональную зависимость от лучистой энергии, полученной датчиком или детектором в небольшой области вокруг точки (x, y) [28].

Гиперспектральные и многоспектральные системы компьютерного зрения имеют значительные преимущества по сравнению с традиционным компьютерным зрением. Они позволяют извлекать или обнаруживать особенности внешнего вида, которые достаточно сложно определить (к ним относятся ушибы, следы от переохлаждений и некоторые другие неочевидные дефекты) [28,43,63,64].

В отличие от традиционной системы компьютерного зрения, гиперспектральная система объединяет спектроскопические методы и методы визуализации в одну систему для получения набора монохроматических изображений на почти непрерывных сотнях тысяч длин волн. Следовательно, интегрированная система может предоставлять пространственную информацию, аналогичную обычной системе визуализации, наряду со спектральной информацией, такой же, как у спектроскопических устройств для каждого пикселя пространственного изображения. Структура данных гиперспектрального изображения обычно называется гиперкубом или кубом данных, и ее можно рассматривать, например, как последовательность двумерных изображений с разной длиной волны. Широко используемые методы для получения куба гиперспектрального изображения — точечное сканирование, линейное сканирование и сканирование по площади (Рисунок 1).

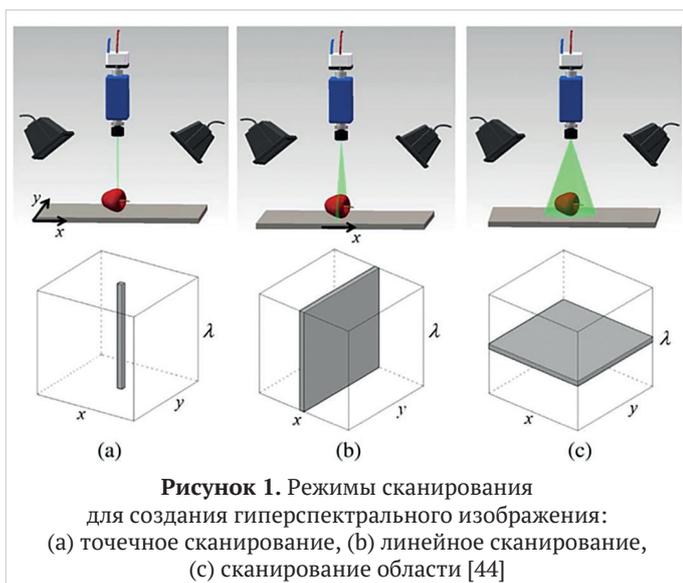


Рисунок 1. Режимы сканирования

для создания гиперспектрального изображения:

- (a) точечное сканирование, (b) линейное сканирование, (c) сканирование области [44]

Одним из преимуществ гиперспектральной системы компьютерного зрения является обширная информация, содержащаяся в получаемых изображениях. Информация о спектре обычных изображений формата RGB очень ограничена в сравнении с гиперспектральными изображениями, которые содержат сотни тысяч монохроматических изображений в спектральной области. Неочевидные символы внешнего качества, такие как гниль, ранние синяки и другие дефекты, могут быть четкими и легко обнаруживаемыми на одном или нескольких монохроматических изображениях.

Вместе с тем с многочисленностью информации связаны такие недостатки, как продолжительность получения изображений, а также сложность их обработки и анализа. В связи с этим гиперспектральная система компьютерного

зрения в большинстве случаев используется с целью получения изображений с высоким пространственным и спектральным разрешением. Это применяется для осуществления фундаментальных исследований, таких как выбор наиболее эффективных длин волн для разработки мультиспектрального компьютерного зрения, и системы контроля качества растительных объектов в режиме реального времени.

Многоспектральная система компьютерного зрения отличается от гиперспектральной количеством монохроматических изображений в спектральной области. Мультиспектральная система компьютерного зрения — это форма визуализации, которая включает в себя захват двух или более монохроматических изображений с разными диапазонами длин волн в спектре с помощью мультиспектральной камеры. Традиционная камера RGB может рассматриваться как частный случай многоспектральной системы построения изображений. Однако, в отличие от обычной цифровой камеры, улавливающей свет определенной частоты, падающий на детектор, мультиспектральная система компьютерного зрения позволяет захватывать два или более определенных монохроматических изображения в одном диапазоне с помощью узкополосных фильтров [2,65].

В большинстве случаев при исследовании качества поверхностных характеристик растительного сырья гиперспектральная система компьютерного зрения используется с целью фундаментальных исследований, а также выбора наиболее эффективных длин волн для обнаружения качественных признаков, неочевидных на изображениях RGB. После этого целесообразно использование многоспектральной системы компьютерного зрения со специальными фильтрами, которые регистрируют излучение на эффективных длинах волн для выполнения контроля исследуемых объектов в режиме реального времени. Однако данная система компьютерного зрения имеет ряд недостатков, которые заключаются в высокой стоимости самих мультиспектральных камер; дорогостоящей программе обеспечения; искажении и смещении изображений, возникающих из-за искажения объектива камеры; необходимости обладания навыками работы с камерой и получаемыми данными; многократной проверке, калибровке и отлаживании и т. д.

Определение цветовых характеристик с использованием систем компьютерного зрения имеет следующие преимущества [28,43]:

- Скорость, точность, объективность, эффективность и последовательность измерения цветовых данных без предварительной обработки образцов;
- Возможность обеспечения высокого пространственного разрешения, анализа каждого отдельного пикселя поверхности растительного сырья, извлечения большого количества цветовых характеристик с помощью пространственной информации, анализа всей поверхности исследуемого объекта (даже в том случае, если он имеет небольшую или неправильную форму и неоднородный цвет), а также выбор интересующей области объекта;
- Автоматизация многочисленных трудоемких операций: сокращение рутинного и субъективного визуального анализа;
- Возможность быстрого получения воспроизводимых результатов и долгосрочного хранения цветовых данных для последующего анализа с сохранением изображения. Однако система компьютерного зрения имеет некоторые недостатки [28,33,43]:
- Проблемы, связанные со сложностью отделения исследуемого объекта от фона и возникающие из-за перекрытия этого объекта другими; трудность заключается также в необходимости оценивать объект с нескольких сторон;

- Необходимость тщательной калибровки и настройки камеры, а также наличие постоянного и достаточно яркого освещения (например, фотобокс, в котором контролируются интенсивность, спектр и направление света);

- Возможное изменение интенсивности и спектра источника освещения с течением времени.

Примеры использования систем компьютерного зрения в пищевой промышленности с целью определения цветовых характеристик, степени зрелости, свежести, приемлемости, желательности, безопасности, наличия дефектов растительных объектов:

В статье [65] описана автоматизированная система сортировки одно- и двухцветных яблок, включающая следующие этапы: сегментация дефектной области, выделение признаков и классификация.

В работе [20] описан алгоритм автоматического обнаружения томатов путем анализа их цветных изображений, который позволяет уменьшить влияние освещения, цветового сходства, а также подавить эффект наложения объектов. В этом методе используется машина опорных векторов с гистограммами ориентированных градиентов для обнаружения томатов с последующим анализом цвета для удаления ложноположительных результатов, а также метод немаксимального подавления для объединения результатов обнаружения.

С целью автоматического выявления и классификации болезней цитрусовых на примере мандаринов сорта Kinnow в работе [52] представлен метод, описывающий алгоритм цветового различия для разделения пораженной болезнью области, далее цветовая гистограмма и текстурные особенности использовались для классификации болезней. Данный способ отличается точностью 99,9% и аналогичной чувствительностью.

Исследовано сочетание цветных и тепловых изображений для эффективного обнаружения незрелых зеленых цитрусовых в работе [19]. Был разработан метод совмещения цветных и тепловых изображений и сопоставления представленных на них фруктов, который достиг точности на уровне пикселей. Был создан новый алгоритм сочетания вероятности цвета и температуры для эффективного объединения информации из полученных изображений с целью классификации потенциальных областей изображения на растения с плодами и без. Также были разработаны алгоритмы для интеграции регистрации изображений, объединения информации, классификации и обнаружения фруктов в один этап для обработки в реальном времени с точностью определений 95,5%.

В статье [48] описан метод анализа и оптимизации изображений лиофилизированных шампиньонов с использованием программного обеспечения Photoshop в сочетании с генетическим алгоритмом. Выявлены их цветовые ха-

рактеристики (L^* , a^* , b^* , изменение цвета, оттенка и насыщенности). Разработаны математические модели для определения продолжительности сушки и условий обработки продукта до желаемого цвета.

Исследование изменения цветовых характеристик (цветовое различие, индекс потемнения) шампиньонов в процессе хранения с использованием модифицированной атмосферы (упаковка с высоким содержанием азота, с низким содержанием углекислого газа и с низким содержанием кислорода) с применением компьютерного зрения освещено в работе [46].

Качество гроздей свежих плодов масличной пальмы определяли по степени зрелости на основе цвета кожуры плода автоматически с помощью систем машинного зрения [22]. Предлагаемый метод основан на определении цветовых и текстурных особенностей с целью классификации признаков плодов (сырые, спелые, полуспелые). Результаты показали эффективность описанного метода с точностью 98,3%.

4. Заключение

Существует несколько способов определения цветовых характеристик по принципу сенсорного анализа:

- органолептический;
- спектрофотометрический;
- фотометрический.

Однако эти методы имеют некоторые недостатки. Так, например, первый способ является грубым, второй имеет ограниченную применимость (исследуемый объект должен иметь однородную среду), а последний — ограниченную площадь поверхности определения.

В качестве автоматизированного метода контроля пищевых продуктов широкое применение нашло компьютерное зрение. Данный способ является наиболее эффективным и надежным для измерения цвета, формы, размера, дефектов, степени зрелости и т. д., с возможностью анализа образцов пищевых продуктов с неоднородными цветом, формой и поверхностью. На основе комбинации этих характеристик компьютерное зрение дает возможность создания программ контроля для автоматической сортировки и определения качества растительного сырья, а также находит свое применение на предприятиях с высокой производительностью и точностью измерения; наряду с этим такой метод позволит специалистам, работающим на производстве, сосредоточиться на более значимых и квалифицированных работах, вместо того чтобы выполнять утомительные, трудоемкие задачи.

Тем не менее остается достаточное количество проблем для разработки системы компьютерного зрения, которая обладает гибкостью и адаптируемостью для обработки растительных объектов, поэтому требуются дальнейшие углубленные исследования в этой области.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Barrett, D. M., Beaulieu, J.C., Shewfelt, R. (2010). Color, flavor, texture and nutritional quality of fresh-cut fruits and vegetables: Desirable levels, instrumental and sensory measurement and the effects of processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(5), 369–389. <https://doi.org/10.1080/10408391003626322>
2. Lunadei, L., Galleguillos, P., Diezma, B., Lleó, L., Ruiz-Garcia, L. (2011). A multispectral vision system to evaluate enzymatic browning in fresh-cut apple slices. *Postharvest Biology and Technology*, 60(3), 225–234. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2011.02.001>
3. Bhargava, A., Bansal, A. (2020). Quality evaluation of Mono and bi-Colored Apples with computer vision and multispectral imaging. *Multimedia Tools and Applications*, 79(11–12), 7857–7874. <https://doi.org/10.1007/s11042-019-08564-3>
4. Li, J., Rao, X., Wang, F., Wu, W., Ying, Y. (2013). Automatic detection of common surface defects on oranges using combined lighting transform and image ratio methods. *Postharvest Biology and Technology*, 82, 59–69. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.02.016>
5. Li, J., Rao, X., Ying, Y. (2011). Detection of common defects on oranges using hyperspectral reflectance imaging. *Computers and Electronics in Agriculture*, 78(1), 38–48. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2011.05.010>
6. Leemans, V., Magein, H., Destain, M.-F. (2002). On-line fruit grading according to their external quality using machine vision. *Biosystems Engineering*, 83(4), 397–404. <https://doi.org/10.1006/bioe.2002.0131>
7. Kurita, M., Kondo, N., Yoshimaru, H., Ninomiya, K. (2006). Extraction methods of color and shape features for tomato grading. *Shokubutsu Kankyo Kogaku*, 18(2), 145–153. <https://doi.org/10.2525/shita.18.145>

8. Dhakshina Kumar, S., Esakkirajan, S., Bama, S., Keerthiveena, B. (2020). A microcontroller based machine vision approach for tomato grading and sorting using SVM classifier. *Microprocessors and Microsystems*, 76, Article 103090. <https://doi.org/10.1016/j.micpro.2020.103090>
9. Luna-Benoso, B., Martínez-Perales, J. C., Cortés-Galicia, J., Flores-Carapia, R., Silva-García, V. M. (2021). Detection of diseases in tomato leaves by color analysis. *Electronics*, 10(9), Article 1055. <https://doi.org/10.3390/electronics10091055>
10. Maldonado, W., Barbosa, J. C. (2016). Automatic green fruit counting in orange trees using digital images. *Computers and Electronics in Agriculture*, 127, 572–581. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2016.07.023>
11. Mendoza, F., Aguilera, J.M. (2006). Application of image analysis for classification of ripening bananas. *Journal of Food Science*, 69(9), E471–E477. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb09932.x>
12. Zhang, Y., Wu, L. (2012). Classification of fruits using computer vision and a multiclass support vector machine. *Sensors*, 12(9), 12489–12505. <https://doi.org/10.3390/s120912489>
13. Fan, F. H., Ma, Q., Ge, J., Peng, Q. Y., Riley, W. W., Tang, S. Z. (2013). Prediction of texture characteristics from extrusion food surface images using a computer vision system and artificial neural networks. *Journal of Food Engineering*, 118(4), 426–433. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.04.015>
14. Al Ohali, Y. (2011). Computer vision based date fruit grading system: Design and implementation. *Journal of King Saud University – Computer and Information Sciences*, 23(1), 29–36. <https://doi.org/10.1016/j.jksuci.2010.05.003>
15. Hasankhani, R., Navid, H. (2012). Potato sorting based on size and color in machine vision system. *Journal of Agricultural Science*, 4(5), Article 235. <https://doi.org/10.5539/jas.v4n5p235>
16. Costa, C., Menesatti, P., Paglia, G., Pallottino, F., Aguzzi, J., Rimatori, V. et al. (2009). Quantitative evaluation of tarocco sweet orange fruit shape using optoelectronic elliptic fourier based analysis. *Postharvest Biology and Technology*, 54(1), 38–47. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.05.001>
17. ElMasry, G., Cubero, S., Moltó, E., Blasco, J. (2012). In-line sorting of irregular potatoes by using automated computer-based machine vision system. *Journal of Food Engineering*, 112 (1–2), 60–68. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.03.027>
18. Kheiralipour, K., Pormah, A. (2017). Introducing new shape features for classification of cucumber fruit based on image processing technique and artificial neural networks. *Journal of Food Process Engineering*, 40(6), Article e12558. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12558>
19. Gan, H., Lee, W.S., Alchanatis, V., Ehsani, R., Schueller, J.K. (2018). Immature green citrus fruit detection using color and thermal images. *Computers and Electronics in Agriculture*, 152, 117–125. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2018.07.011>
20. Liu, G., Mao, S., Jin, H., Kim, J.H. (22–24 February 2019). A Robust mature tomato detection in greenhouse scenes using machine learning and color analysis. Proceedings of the 11th International Conference on Machine Learning and Computing – ICMLC, Zhuhai. <https://doi.org/10.1145/3318299.3318358>
21. Lana, M. M., Tijskens, L. M. M., Van Kooten, O. (2005). Effects of storage temperature and fruit ripening on firmness of fresh cut tomatoes. *Postharvest Biology and Technology*, 35(1), 87–95. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2004.07.001>
22. Septiarni, A., Sunyoto, A., Hamdani, H., Kasim, A.A., Utamingrum, F., Hatta, H.R. (2021). Machine vision for the maturity classification of oil palm fresh fruit bunches based on color and texture features. *Scientia Horticulturae*, 286, Article 110245. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110245>
23. Lal, S., Behera, S. K., Sethy, P. K., Rath, A. K. (4–5 May 2017). Identification and counting of mature apple fruit based on BP feed forward neural network. Proceedings of 2017 3rd IEEE International Conference on Sensing, Signal Processing and Security, ICSSS2017, Article 8071621. Chennai, Tamil Nadu. <https://doi.org/10.1109/ssps.2017.8071621>
24. Ayllon, M. A., Cruz, M. J., Mendoza, J. J., Tomas, M. C. (18–20 October 2019). Detection of overall fruit maturity of local fruits using convolutional neural networks through image processing. Proceedings of the 2nd International Conference on Computing and Big Data – ICCBD2019. <https://doi.org/10.1145/3366650.3366681>
25. Mazen, F. M. A., Nashat, A. A. (2019). Ripeness classification of bananas using an artificial neural network. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 44(8), 6901–6910. <https://doi.org/10.1007/s13369-018-03695-5>
26. Peter, A., Abdulkadir, S. (2–4 February, 2018). Application of image processing and neural networks in determining the readiness of maize. Proceedings of the 2nd International Conference on Machine Learning and Soft Computing – ICMLSC '18, Phu Quoc, Island. <https://doi.org/10.1145/3184066.3184068>
27. Harel, B., Parmet, Y., Edan, Y. (2020). Maturity classification of sweet peppers using image datasets acquired in different times. *Computers in Industry*, 121, Article 103274. <https://doi.org/10.1016/j.combind.2020.103274>
28. Wu, D., Sun, D.-W. (2013). Colour measurements by computer vision for food quality control – A review. *Trends in Food Science and Technology*, 29(1), 5–20. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2012.08.004>
29. Hunt, R.W.G. (2005). The reproduction of colour. John Wiley & Sons, 2005.
30. Петрова, Л.А., Климова, Д.О. (2013). Оценка качества свежих грибов и сроки хранения. *Вестник ОрелГИЭТ*, 2(24), 166–170.
31. Мухутдинова, С.М. (2006). Органолептическая оценка качества плодового тела белого гриба. *Современные наукоёмкие технологии*. 2, 67–69.
32. Lee, H. S. (2000). Objective measurement of red grapefruit juice color. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1507–1511. <https://doi.org/10.1021/jf9907236>
33. Balaban, M.O., Odabasi, A. Z. (2006). Measuring color with machine vision. *Food Technology*, 60(12), 32–36.
34. Leon, K., Mery, D., Pedreschi, F., Leon, J. (2006). Color measurement in L*a*b* units from RGB digital images. *Food Research International*, 39(10), 1084–1091. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.03.006>
35. Семенова, А. В., Морозова, А. А. (2021). Оценка качественных показателей картофеля для промышленной переработки. *Пищевые системы*, 4(3S), 261–265. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-3S-261-265>
36. Melendez-Martinez, A.J., Vicario, I.M., Heredia, F.J. (2005). Instrumental measurement of orange juice colour: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(6), 894–901. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2115>
37. Wu, D., Chen, X.J., Shi, P.Y., Wang, S.H., Feng, F.Q., He, Y. (2009). Determination of α -linolenic acid and linoleic acid in edible oils using near-infrared spectroscopy improved by wavelet transform and uninformative variable elimination. *Analytica Chimica Acta*, 634(2), 166–171. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.12.024>
38. Wu, D., He, Y., Nie, P. C., Cao, F., Bao, Y.D. (2010). Short-wave near-infrared spectroscopy analysis of major compounds in milk powder and wavelength assignment. *Analytica Chimica Acta*, 610(2), 232–242. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.01.056>
39. Wu, D., He, Y., Nie, P. C., Cao, F., Bao, Y.D. (2010). Hybrid variable selection in visible and near-infrared spectral analysis for non-invasive quality determination of grape juice. *Analytica Chimica Acta*, 659(1–2), 229–237. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.11.045>
40. Patel, K. K., Kar, A., Jha, S. N., Khan, M. A. (2011). Machine vision system: a tool for quality inspection of food and agricultural products. *Journal of Food Science and Technology*, 49(2), 123–141. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0321-4>
41. Lin, X. Sun, D.-W. (2019). Research advances in browning of button mushroom (*Agaricus Bisporus*): Affecting factors and controlling methods. *Trends in Food Science and Technology*, 90, 63–75. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.05.007>
42. Lu, Y., Zhang, J., Wang, X., Lin, Q., Liu, W., Xie, X. et al. (2016). Effects of UV-C irradiation on the physiological and antioxidant responses of button mushrooms (*Agaricus bisporus*) during storage. *International Journal of Food Science and Technology*, 51(6), 1502–1508. <https://doi.org/10.1111/ijfs.15100>
43. Zhang, K., Pu, Y.-Y., Sun, D.-W. (2018). Recent advances in quality preservation of postharvest mushrooms (*Agaricus bisporus*): A review. *Trends in Food Science and Technology*, 78, 72–82. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.05.012>
44. Nasiri, M., Barzegar, M., Sahari, M. A. Niakousari, M. (2019). Efficiency of Tragacanth gum coating enriched with two different essential oils for deceleration of enzymatic browning and senescence of button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Food Science and Nutrition*, 7(4), 1520–1528. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1000>
45. Huang, Q., Qian, X., Jiang, T., Zheng, X. (2019). Effect of chitosan and guar gum based composite edible coating on quality of mushroom (*Lentinus edodes*) during postharvest storage. *Scientia Horticulturae*, 253, 382–389. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.04.062>
46. Djekic, I., Vunduk, J., Tomašević, I., Kozarski, M., Petrovic, P., Niksic, M. et al. (2016). Total quality index of *Agaricus bisporus* mushrooms packed in modified atmosphere. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(9), 3013–3021. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8142>
47. Wang, H., Cui, G., Luo, M.R., Xu, H. (2011). Evaluation of colour-difference formulae for different colour-difference magnitudes. *Color Research and Application*, 37(5), 316–325. <https://doi.org/10.1002/col.20693>
48. Tarafdar, A., Shahi, N.C., Singh, A. (2020). Color assessment of freeze-dried mushrooms using Photoshop and optimization with genetic algorithm. *Journal of Food Process Engineering*, 43(1), Article e12920. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12920>
49. Nakilcioğlu-Taş, E., Ötleş, S. (2020). Kinetics of colour and texture changes of button mushrooms (*Agaricus bisporus*) coated with chitosan during storage at low temperature. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, 92(2), Article e20181387, 1–15. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202020181387>
50. Song, Y., Hu, Q., Wu, Y., Pei, F., Kimatu, B.M., Su, A. et al. (2018). Storage time assessment and shelf-life prediction models for postharvest *Agaricus bisporus*. *LWT*, 101, 360–365. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.11.020>
51. Pathare, P.B., Opara, U.L., Al-Said, F.A.-J. (2012). Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 6(1), 36–60. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0867-9>
52. Ali, H., Lali, M.I., Nawaz, M.Z., Sharif, M., Saleem, B.A. (2017). Symptom based automated detection of citrus diseases using color histogram and textural descriptors. *Computers and Electronics in Agriculture*, 138, 92–104. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2017.04.008>

53. Bhange, M., Hingoliwala, H.A. (2015). Smart farming: Pomegranate disease detection using image processing. *Procedia Computer Science*, 58, 280–288. <https://doi.org/10.1016/j.procs.2015.08.022>
54. Лисицын, А.Б., Козырев, И.В. (2016). Исследование цветowych характеристик мышечной и жировой тканей и мраморности говядины. *Теория и практика переработки мяса*. 1(4), 51–56. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2016-1-4-51-56>
55. Tomasevic, I.B. (2018). Computer vision system for color measurements of meat and meat products: A Review. *Theory and practice of meat processing*, 3(4), 4–15. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2018-5-4-4-15>
56. Насонова, В.В., Туниева, Е.К., Мотовилина, А.А., Милеенкова Е. В. (2020). Изменение цветowych характеристик кулинарных изделий из мяса индейки, изготовленных с применением низкотемпературной тепловой обработки. *Все о мясе*, 5, 22–24. <https://doi.org/10.21323/2071-2499-2020-5-22-24>
57. Zhang, Y., Wang, S., Ji, G., Phillips, P. (2014). Fruit classification using computer vision and feedforward neural network. *Journal of Food Engineering*, 143, 167–177. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.07.001>
58. Zhang, B., Huang, W., Li, J., Zhao, C., Fan, S., Wu, J. et al. (2014). Principles, developments and applications of computer vision for external quality inspection of fruits and vegetables: A review. *Food Research International*, 62, 326–343. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.03.012>
59. Smys S., Tavares J. M. R. S., Balas V. E., Iiyasu A. M. (September 25–26, 2019). Computational vision and bio-inspired computing. International Conference: Advances in Intelligent Systems and Computing. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-37218-7>
60. Sabzi, S., Abbaspour-Gilandeh, Y., García-Mateos, G. (2018). A new approach for visual identification of orange varieties using neural networks and metaheuristic algorithms. *Information Processing in Agriculture*, 5(1), 162–172. <https://doi.org/10.1016/j.inpa.2017.09.002>
61. Kwoopnaan Tetu, V.L., Olatubosun, A., Ovey, O. C. (10–12 December 2019). *The application of digital image processing in extracting the image features in maize samples that aid learning and classification*. 15th International Conference on Electronics, Computer and Computation (ICECCO), Abuja. Article 9043259. <https://doi.org/10.1109/ICECCO48375.2019.9043259>
62. Lorente, D., Aleixos, N., Gomez-Sanchis, J., Cubero, S., Garcia-Navarrete, O. L., Blasco, J. (2011). Recent advances and applications of hyperspectral imaging for fruit and vegetable quality assessment. *Food and Bioprocess Technology*, 5(4), 1121–1142. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0725-1>
63. Khan, S., Narvekar, M. (2020). Novel fusion of color balancing and superpixel based approach for detection of tomato plant diseases in natural complex environment. *Journal of King Saud University – Computer and Information Sciences*. <https://doi.org/10.1016/j.jksuci.2020.09.006> (unpublished data)
64. Yogesh, Dubey, A. K., Ratan, R., Rocha, A. (2019). Computer vision based analysis and detection of defects in fruits causes due to nutrients deficiency. *Cluster Computing*, 23(3), 1817–1826. <https://doi.org/10.1007/s10586-019-03029-6>
65. Bhargava, A., Bansal, A. (2020). Quality evaluation of Mono & bi-Colored Apples with computer vision and multispectral imaging. *Multimedia Tools and Applications*, 79 (11–12), 7857–7874. <https://doi.org/10.1007/s11042-019-08564-3>

REFERENCES

1. Barrett, D. M., Beaulieu, J.C., Shewfelt, R. (2010). Color, flavor, texture and nutritional quality of fresh-cut fruits and vegetables: Desirable levels, instrumental and sensory measurement and the effects of processing. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 50(5), 369–389. <https://doi.org/10.1080/10408391003626322>
2. Lunadei, L., Galleguillos, P., Diezma, B., Lleó, L., Ruiz-Garcia, L. (2011). A multispectral vision system to evaluate enzymatic browning in fresh-cut apple slices. *Postharvest Biology and Technology*, 60(3), 225–234. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2011.02.001>
3. Bhargava, A., Bansal, A. (2020). Quality evaluation of Mono and bi-Colored Apples with computer vision and multispectral imaging. *Multimedia Tools and Applications*, 79(11–12), 7857–7874. <https://doi.org/10.1007/s11042-019-08564-3>
4. Li, J., Rao, X., Wang, F., Wu, W., Ying, Y. (2015). Automatic detection of common surface defects on oranges using combined lighting transform and image ratio methods. *Postharvest Biology and Technology*, 82, 59–69. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2013.02.016>
5. Li, J., Rao, X., Ying, Y. (2011). Detection of common defects on oranges using hyperspectral reflectance imaging. *Computers and Electronics in Agriculture*, 78(1), 38–48. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2011.05.010>
6. Leemans, V., Magein, H., Destain, M.-F. (2002). On-line fruit grading according to their external quality using machine vision. *Biosystems Engineering*, 83(4), 397–404. <https://doi.org/10.1006/bioe.2002.0131>
7. Kurita, M., Kondo, N., Yoshimaru, H., Ninomiya, K. (2006). Extraction methods of color and shape features for tomato grading. *Shokubutsu Kanryo Kogaku*, 18(2), 145–155. <https://doi.org/10.2525/shita.18.145>
8. Dhakshina Kumar, S., Esakkirajan, S., Bama, S., Keerthiveena, B. (2020). A microcontroller based machine vision approach for tomato grading and sorting using SVM classifier. *Microprocessors and Microsystems*, 76, Article 103090. <https://doi.org/10.1016/j.micpro.2020.103090>
9. Luna-Benoso, B., Martínez-Perales, J. C., Cortés-Galicia, J., Flores-Carapia, R., Silva-García, V. M. (2021). Detection of diseases in tomato leaves by color analysis. *Electronics*, 10(9), Article 1055. <https://doi.org/10.3390/electronics10091055>
10. Maldonado, W., Barbosa, J. C. (2016). Automatic green fruit counting in orange trees using digital images. *Computers and Electronics in Agriculture*, 127, 572–581. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2016.07.025>
11. Mendoza, F., Aguilera, J.M. (2006). Application of image analysis for classification of ripening bananas. *Journal of Food Science*, 69(9), E471–E477. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2004.tb09932.x>
12. Zhang, Y., Wu, L. (2012). Classification of fruits using computer vision and a multiclass support vector machine. *Sensors*, 12(9), 12489–12505. <https://doi.org/10.3390/s120912489>
13. Fan, F. H., Ma, Q., Ge, J., Peng, Q. Y., Riley, W. W., Tang, S. Z. (2013). Prediction of texture characteristics from extrusion food surface images using a computer vision system and artificial neural networks. *Journal of Food Engineering*, 118(4), 426–433. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2013.04.015>
14. Al Ohali, Y. (2011). Computer vision based date fruit grading system: Design and implementation. *Journal of King Saud University – Computer and Information Sciences*, 23(1), 29–36. <https://doi.org/10.1016/j.jksuci.2010.03.003>
15. Hasankhani, R., Navid, H. (2012). Potato sorting based on size and color in machine vision system. *Journal of Agricultural Science*, 4(5), Article 235. <https://doi.org/10.5539/jas.v4n5p235>
16. Costa, C., Menesatti, P., Paglia, G., Pallottino, F., Aguzzi, J., Rimatori, V. et al. (2009). Quantitative evaluation of tarocco sweet orange fruit shape using optoelectronic elliptic fourier based analysis. *Postharvest Biology and Technology*, 54(1), 38–47. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2009.05.001>
17. ElMasry, G., Cubero, S., Moltó, E., Blasco, J. (2012). In-line sorting of irregular potatoes by using automated computer-based machine vision system. *Journal of Food Engineering*, 112 (1–2), 60–68. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2012.03.027>
18. Kheiralipour, K., Pormah, A. (2017). Introducing new shape features for classification of cucumber fruit based on image processing technique and artificial neural networks. *Journal of Food Process Engineering*, 40(6), Article e12558. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12558>
19. Gan, H., Lee, W.S., Alchanatis, V., Ehsani, R., Schueller, J.K. (2018). Immature green citrus fruit detection using color and thermal images. *Computers and Electronics in Agriculture*, 152, 117–125. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2018.07.011>
20. Liu, G., Mao, S., Jin, H., Kim, J.H. (22–24 February 2019). *A Robust mature tomato detection in greenhouse scenes using machine learning and color analysis*. Proceedings of the 11th International Conference on Machine Learning and Computing – ICMLC, Zhuhai. <https://doi.org/10.1145/3318299.3318358>
21. Lana, M. M., Tijsskens, L. M. M., Van Kooten, O. (2005). Effects of storage temperature and fruit ripening on firmness of fresh cut tomatoes. *Postharvest Biology and Technology*, 35(1), 87–95. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2004.07.001>
22. Septiarini, A., Sunyoto, A., Hamdani, H., Kasim, A.A., Utamingrum, F., Hatta, H.R. (2021). Machine vision for the maturity classification of oil palm fresh fruit bunches based on color and texture features. *Scientia Horticulturae*, 286, Article 110245. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110245>
23. Lal, S., Behera, S. K., Sethy, P.K., Rath, A. K. (4–5 May 2017). *Identification and counting of mature apple fruit based on BP feed forward neural network*. Proceedings of 2017 3rd IEEE International Conference on Sensing, Signal Processing and Security, ICSSS2017, Article 8071621. Chennai, Tamil Nadu. <https://doi.org/10.1109/ssps.2017.8071621>
24. Ayllon, M. A., Cruz, M. J., Mendoza, J. J., Tomas, M. C. (18–20 October 2019). *Detection of overall fruit maturity of local fruits using convolutional neural networks through image processing*. Proceedings of the 2nd International Conference on Computing and Big Data – ICCBD2019. <https://doi.org/10.1145/3366650.3366681>
25. Mazen, F. M. A., Nashat, A. A. (2019). Ripeness classification of bananas using an artificial neural network. *Arabian Journal for Science and Engineering*, 44(8), 6901–6910. <https://doi.org/10.1007/s13369-018-03695-5>
26. Peter, A., Abdulkadir, S. (2–4 February, 2018). *Application of image processing and neural networks in determining the readiness of maize*. Proceedings of the 2nd International Conference on Machine Learning and Soft Computing – ICMLSC '18, Phu Quoc, Island. <https://doi.org/10.1145/3184066.3184068>
27. Harel, B., Parmet, Y., Edan, Y. (2020). Maturity classification of sweet peppers using image datasets acquired in different times. *Computers in Industry*, 121, Article 103274. <https://doi.org/10.1016/j.compind.2020.103274>
28. Wu, D., Sun, D.-W. (2013). Colour measurements by computer vision for food quality control – A review. *Trends in Food Science and Technology*, 29(1), 5–20. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2012.08.004>
29. Hunt, R.W.G. (2005). *The reproduction of colour*. John Wiley & Sons, 2005.
30. Petrova, L.A., Klimova, D.O. (2015). Quality estimation of fresh mushrooms and storage periods. *OrelSIET bulletin*, 2(24), 166–170. (In Russian)

31. Mukhutdinova, S.M. (2006). Organoleptic assessment of the quality of the fruiting body of the porcini mushroom. *Modern high technologies*, 2, 67–69. (In Russian)
32. Lee, H. S. (2000). Objective measurement of red grapefruit juice color. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(5), 1507–1511. <https://doi.org/10.1021/jf9907236>
33. Balaban, M.O., Odabasi, A. Z. (2006). Measuring color with machine vision. *Food Technology*, 60(12), 32–36.
34. Leon, K., Mery, D., Pedreschi, F., Leon, J. (2006). Color measurement in L*a*b* units from RGB digital images. *Food Research International*, 39(10), 1084–1091. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2006.03.006>
35. Semenova, A.V., Morozova, A.A. (2021). Assessment of quality indicators of potatoes for industrial processing. *Food systems*, 4(3S), 261–265. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-3S-261-265> (In Russian)
36. Melendez-Martinez, A.J., Vicario, I.M., Heredia, F.J. (2005). Instrumental measurement of orange juice colour: a review. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 85(6), 894–901. <https://doi.org/10.1002/jsfa.2115>
37. Wu, D., Chen, X.J., Shi, P.Y., Wang, S.H., Feng, F.Q., He, Y (2009). Determination of α -linolenic acid and linoleic acid in edible oils using near-infrared spectroscopy improved by wavelet transform and uninformative variable elimination. *Analytica Chimica Acta*, 634(2), 166–171. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.12.024>
38. Wu, D., He, Y., Feng, S. (2008). Short-wave near-infrared spectroscopy analysis of major compounds in milk powder and wavelength assignment. *Analytica Chimica Acta*, 610(2), 232–242. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2008.01.056>
39. Wu, D., He, Y., Nie, P. C., Cao, F., Bao, Y.D. (2010). Hybrid variable selection in visible and near-infrared spectral analysis for non-invasive quality determination of grape juice. *Analytica Chimica Acta*, 659(1–2), 229–237. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2009.11.045>
40. Patel, K. K., Kar, A., Jha, S. N., Khan, M. A. (2011). Machine vision system: a tool for quality inspection of food and agricultural products. *Journal of Food Science and Technology*, 49(2), 123–141. <https://doi.org/10.1007/s13197-011-0321-4>
41. Lin, X. Sun, D.-W. (2019). Research advances in browning of button mushroom (*Agaricus Bisporus*): Affecting factors and controlling methods. *Trends in Food Science and Technology*, 90, 63–75. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.05.007>
42. Lu, Y, Zhang, J, Wang, X, Lin, Q., Liu, W., Xie, X. et al. (2016). Effects of UV-C irradiation on the physiological and antioxidant responses of button mushrooms (*Agaricus bisporus*) during storage. *International Journal of Food Science and Technology*, 51(6), 1502–1508. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13100>
43. Zhang, K., Pu, Y.-Y., Sun, D.-W. (2018). Recent advances in quality preservation of postharvest mushrooms (*Agaricus bisporus*): A review. *Trends in Food Science and Technology*, 78, 72–82. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.05.012>
44. Nasiri, M., Barzegar, M., Sahari, M. A. Niakousari, M. (2019). Efficiency of Tragacanth gum coating enriched with two different essential oils for deceleration of enzymatic browning and senescence of button mushroom (*Agaricus bisporus*). *Food Science and Nutrition*, 7(4), 1520–1528. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1000>
45. Huang, Q., Qian, X., Jiang, T., Zheng, X. (2019). Effect of chitosan and guar gum based composite edible coating on quality of mushroom (*Lentinus edodes*) during postharvest storage. *Scientia Horticulturae*, 253, 382–389. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.04.062>
46. Djekic, I., Vunduk, J., Tomašević, I., Kozarski, M., Petrovic, P., Niksic, M. et al. (2016). Total quality index of *Agaricus bisporus* mushrooms packed in modified atmosphere. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97(9), 3013–3021. <https://doi.org/10.1002/jsfa.8142>
47. Wang, H., Cui, G., Luo, M.R., Xu, H. (2011). Evaluation of colour-difference formulae for different colour-difference magnitudes. *Color Research and Application*, 37(5), 316–325. <https://doi.org/10.1002/col.20693>
48. Tarafdar, A., Shahi, N.C., Singh, A. (2020). Color assessment of freeze-dried mushrooms using Photoshop and optimization with genetic algorithm. *Journal of Food Process Engineering*, 43(1), Article e12920. <https://doi.org/10.1111/jfpe.12920>
49. Nakilcioğlu-Taş, E., Ötleş, S. (2020). Kinetics of colour and texture changes of button mushrooms (*Agaricus bisporus*) coated with chitosan during storage at low temperature. *Anais da Academia Brasileira de Ciencias*, 92(2), Article e20181387, 1–15. <https://doi.org/10.1590/0001-3765202020181387>
50. Song, Y., Hu, Q., Wu, Y., Pei, F., Kimatu, B.M., Su, A. et al. (2018). Storage time assessment and shelf-life prediction models for postharvest *Agaricus bisporus*. *LWT*, 101, 360–365. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.11.020>
51. Pathare, P.B., Opara, U.L., Al-Said, F.A.-J. (2012). Colour measurement and analysis in fresh and processed foods: A Review. *Food and Bioprocess Technology*, 6(1), 36–60. <https://doi.org/10.1007/s11947-012-0867-9>
52. Ali, H., Lali, M.I., Nawaz, M.Z., Sharif, M., Saleem, B.A. (2017). Symptom based automated detection of citrus diseases using color histogram and textural descriptors. *Computers and Electronics in Agriculture*, 138, 92–104. <https://doi.org/10.1016/j.compag.2017.04.008>
53. Bhange, M., Hingoliwala, H.A. (2015). Smart farming: Pomegranate disease detection using image processing. *Procedia Computer Science*, 58, 280–288. <https://doi.org/10.1016/j.procs.2015.08.022>
54. Lisitsyn A. B., Kozyrev, I.V. (2016). Researching of meat and fat colour and marbling in beef. *Theory and practice of meat processing*, 1(4), 51–56. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2016-1-4-51-56> (In Russian)
55. Tomasevic, I.B. (2018). Computer vision system for color measurements of meat and meat products: A Review. *Theory and practice of meat processing*, 3(4), 4–15. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2018-3-4-4-15>
56. Nasonova, V.V., Tunieva, E.K., Motovilina, A.A., Mileenkova, E.V. (2020). Changes in color characteristics of culinary products from turkey meat produced with the use of low-temperature heat treatment. *Vsyo o myase*, 5, 22–24. <https://doi.org/10.21323/2071-2499-2020-5-22-24> (In Russian)
57. Zhang, Y., Wang, S., Ji, G., Phillips, P. (2014). Fruit classification using computer vision and feedforward neural network. *Journal of Food Engineering*, 143, 167–177. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2014.07.001>
58. Zhang, B., Huang, W., Li, J., Zhao, C., Fan, S., Wu, J. et al. (2014). Principles, developments and applications of computer vision for external quality inspection of fruits and vegetables: A review. *Food Research International*, 62, 326–343. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.03.012>
59. Smys S., Tavares J. M. R. S., Balas V. E., Iliyasu A. M. (September 25–26, 2019). Computational vision and bio-inspired computing. International Conference: Advances in Intelligent Systems and Computing. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-37218-7>
60. Sabzi, S., Abbaspour-Gilandeh, Y., Garcia-Mateos, G. (2018). A new approach for visual identification of orange varieties using neural networks and metaheuristic algorithms. *Information Processing in Agriculture*, 5(1), 162–172. <https://doi.org/10.1016/j.inpa.2017.09.002>
61. Kwoopnaan Tetu, V. I., Olatubosun, A., Ovey, O. C. (10–12 December 2019). The application of digital image processing in extracting the image features in maize samples that aid learning and classification. 15th International Conference on Electronics, Computer and Computation (ICECCO), Abuja. Article 9043259. <https://doi.org/10.1109/ICECCO48375.2019.9043259>
62. Lorente, D., Aleixos, N., Gomez-Sanchis, J., Cubero, S., Garcia-Navarrete, O. L., Blasco, J. (2011). Recent advances and applications of hyperspectral imaging for fruit and vegetable quality assessment. *Food and Bioprocess Technology*, 5(4), 1121–1142. <https://doi.org/10.1007/s11947-011-0725-1>
63. Khan, S., Narvekar, M. (2020). Novel fusion of color balancing and super-pixel based approach for detection of tomato plant diseases in natural complex environment. *Journal of King Saud University – Computer and Information Sciences*. <https://doi.org/10.1016/j.jksuci.2020.09.006> (unpublished data)
64. Yogesh, Dubey, A. K., Ratan, R., Rocha, A. (2019). Computer vision based analysis and detection of defects in fruits causes due to nutrients deficiency. *Cluster Computing*, 23(3), 1817–1826. <https://doi.org/10.1007/s10586-019-03029-6>
65. Bhargava, A., Bansal, A. (2020). Quality evaluation of Mono & bi-Colored Apples with computer vision and multispectral imaging. *Multimedia Tools and Applications*, 79 (11–12), 7857–7874. <https://doi.org/10.1007/s11042-019-08564-3>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p>Федянина Наталья Игоревна — старший научный сотрудник, Лаборатория технологии консервирования, Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования 142703, Московская обл. г. Видное, ул. Школьная, 78 Тел.: +7-495-541-08-92 E-mail: shatalova@vniitek.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1665-5445 * автор для контактов</p>	<p>Natalia I. Fedyanina, Senior researcher, Laboratory of canning technology, All-Russian Scientific Research Institute of Technology of Preservation Shkolnaia str. 78, 142703, Vidnoe, Moscow region, Russia Tel.: +7-495-541-08-92 E-mail: shatalova@vniitek.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1665-5445 * corresponding author</p>
<p>Карастоянова Ольга Вячеславовна — старший научный сотрудник, Лаборатория технологии консервирования, Всероссийский научно-исследовательский институт технологии 142703, Московская обл., г. Видное, ул. Школьная, 78 Тел.: +7-495-541-08-92 E-mail: okarastoyanova@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7247-7519</p>	<p>Olga V. Karastoyanova, Senior researcher, Laboratory of canning technology All-Russian Scientific Research Institute of Technology of Preservation Shkolnaia str. 78, 142703, Vidnoe, Moscow region, Russia Tel.: +7-495-541-08-92 E-mail: okarastoyanova@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7247-7519</p>
<p>Коровкина Надежда Вячеславовна — младший научный сотрудник, Лаборатория технологии консервирования, Всероссийский научно-исследовательский институт технологии консервирования 142703, Московская обл., г. Видное, ул. Школьная, 78 Тел.: +7-495-541-08-92 E-mail: corowkinanadya@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4108-5835</p>	<p>Nadezhda V. Korovkina, Junior researcher, Laboratory of canning technology All-Russian Scientific Research Institute of Technology of Preservation Shkolnaia str. 78, 142703, Vidnoe, Moscow region, Russia Tel.: +7-495-541-08-92 E-mail: corowkinanadya@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4108-5835</p>
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

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-4-239-245>

Поступила 25.10.2021

Поступила после рецензирования 30.11.2021

Принята в печать 06.12.2021

© Козин А. В., Абрамова Л. С., Гусева Е. С., Дерунец И. В., 2021



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

Научная статья

Open access

УСТАНОВЛЕНИЕ МЕТРОЛОГИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ МЕТОДИКИ ИЗМЕРЕНИЙ МАССОВОЙ ДОЛИ БЕЛКА МЕТОДОМ КЪЕЛЬДАЛЯ В ПИЩЕВОЙ РЫБНОЙ ПРОДУКЦИИ

Козин А. В.*, Абрамова Л. С., Гусева Е. С., Дерунец И. В.

Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

аналитический метод, азот, автоматический анализатор, контроль качества, подготовка образцов, отбор проб, приборы

АННОТАЦИЯ

В лабораторной практике существует множество методов определения количества белка и все они имеют свои преимущества и недостатки. Наиболее распространенным и широко используемым методом анализа белка в пищевой продукции, в том числе рыбной, является метод Кьельдаля. Однако при определении содержания белка в пищевой рыбной продукции действующие стандарты на методы измерений не предусматривают использование приборов, отвечающих современному уровню технического развития, а также не содержат метрологические показатели, гарантирующие достоверность полученных результатов. Целью исследования являлось обоснование методики измерений массовой доли белка методом Кьельдаля на автоматическом анализаторе и установление метрологических параметров. Проведена оценка показателей качества методики измерений методом Кьельдаля с использованием анализатора азота Kjeltec System 2300 (Foss Analytical AB, Sweden) в виде характеристики погрешности измерений и ее составляющих, что позволит получать результаты с заданной точностью.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность заместителю главного врача Гарбузовой А. А., инженеру С. А. Мокренской и инженеру М. М. Дудареву ФБУЗ ФЦГиЭ Роспотребнадзора за помощь в проведении работ по установлению метрологических параметров и аттестации методики измерений массовой доли белка методом Кьельдаля.

Received 25.10.2021

Accepted in revised 30.11.2021

Accepted for publication 06.12.2021

© Kozin A. V., Abramova L. S., Guseva, E. S., Derunets I. V., 2021

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

Original scientific article

Open access

ESTABLISHMENT OF METROLOGICAL PARAMETERS OF THE METHOD FOR MEASURING THE PROTEIN MASS FRACTION IN FISH FOOD PRODUCTS BY THE KJELDAHL METHOD

Andrei V. Kozin*, Liubov S. Abramova, Elena S. Guseva, Ilya V. Derunets

Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography («VNIRO»), Moscow, Russia

KEY WORDS:

analytical method, nitrogen, automatic analyzer, quality control, sample preparation, sampling, instruments

ABSTRACT

In laboratory practice, there are many protein quantification methods, and all of them have their own advantages and disadvantages. The most common and widely used method for the protein analysis in food products, including fish, is the Kjeldahl method. However, the current standards for measurement methods for the determination of the protein content in fish food products do not provide for the use of devices that meet the modern level of technical development, and also do not contain metrological indicators that guarantee the reliability of the results obtained. The aim of the study was to substantiate the method for measuring the protein mass fraction in fish food products by the Kjeldahl method on an automatic analyzer and to establish metrological parameters. The assessment of the quality indicators of the Kjeldahl measuring method was carried out using a Kjeltec System 2300 Nitrogen Analyzer (Foss Analytical AB, Sweden) in the form of a characteristic of the measurement error and its components, which will provide results with the required accuracy.

ACKNOWLEDGMENT

The authors wish to thank deputy chief medical officer Garbuzova A. A., engineer Mokrenskaya S. A. and engineer Dudarev M. M. (FBHI FCH&E of the Inspectorate for Customers Protection) for their help in carrying out the work on the establishment of metrological parameters and certification of the method for measuring the protein mass fraction by the Kjeldahl method.

1. Введение

Белки в пищевых продуктах являются важным компонентом, определяющим пищевую ценность и функциональное назначение продукции. Количественное определение

содержания белка в пищевой продукции необходимо для расчета энергетической ценности (калорийности), которая в обязательном порядке наносится на маркировку. Информация о содержании белка необходима при составлении ра-

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Козин, А. В., Абрамова, Л. С., Гусева, Е. С., Дерунец, И. В. (2021). Установление метрологических параметров методики измерений массовой доли белка методом Кьельдаля в пищевой рыбной продукции. *Пищевые системы*, 4(4), 239-245. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-4-239-245>

FOR CITATION: Kozin, A. V., Abramova, L. S., Guseva, E. S., Derunets, I. V. (2021). Establishment of metrological parameters of the method for measuring the protein mass fraction in fish food products by the Kjeldahl method. *Food systems*, 4(4), 239-245. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-4-239-245>

циона питания; в процессе оценки соответствия заявленных данных спецификации или нормативным требованиям; для установления подлинности пищевых продуктов и пищевых ингредиентов на основе белка. Надежные количественные методы определения содержания этого нутриента в пищевых продуктах и ингредиентах важно для обеспечения их качества, безопасности, а также для цели предотвращения фальсификации, которая может нанести существенный вред здоровью потребителей. Примером может служить наличие меламина в молочных продуктах. Исследования его токсичности показали, что длительное потребление меламина может привести к образованию камней в почках или даже к смерти [1].

В мировой практике существует множество методов определения белка, и все они имеют свои преимущества и недостатки [2,3]. Для быстрого контроля пищевой продукции, в том числе качества рыбы и рыбных продуктов, все более широкое применение находят экспрессные неинвазивные методы, например, инфракрасная спектроскопия [4]. Однако из-за большого количества времени и затрат, необходимых для разработки внешних калибровок, а также ввиду отсутствия возможности переноса калибровок между приборами, применение данного метода очень ограничено [5].

В случае лабораторного анализа образцов на практике чаще всего используют традиционные способы определения белка, такие как метод Кьельдаля или метод Дюма. Однако установлено, что метод Дюма, по сравнению с методом Кьельдаля, при анализе пищевой рыбной продукции и кормовой муки дает завышенные результаты содержания общего азота [6–9].

Наиболее адаптированным в лабораторной практике является метод Кьельдаля, основы которого разработаны более 135 лет назад датским химиком Йоханом Кьельдалем. Он широко используется в качестве стандартного метода, как для градуировки, так и для проверки альтернативных методов определения белка в пищевой и сельскохозяйственной промышленности, в клинической химии, в анализе почв, удобрений, поверхностных и сточных вод [10,11]. За годы, прошедшие с момента своего появления, метод Кьельдаля существенно усовершенствован в части модификации отдельных стадий, таких как минерализация, автоматизированное титрование, регистрация результатов [12]. Кроме того, постоянное внимание уделяется новым техническим решениям, которые связаны с совершенствованием и автоматизацией анализа такими известными фирмами, как Buchi (Швейцария), C. Gerhardt, Behr Labor-Technik GmbH и FoodALYT GmbH (Германия), Foss Tecator (Дания, Швеция), VELP Scientifica (Италия), J. P. Selecta (Испания), Nanon Instruments (Китай), MRC (Израиль), ООО ВПК «Сибгагроприбор» и ООО «Вилитек» (Россия) [12].

В соответствии с требованиями технического регламента Евразийского экономического союза «О безопасности рыбы и рыбной продукции» (ТР ЕАЭС 040/2016) [13], для определения содержания белка в пищевой продукции, значения которого необходимо наносить на маркировку, предусмотрен перечень стандартов, содержащих правила и методы исследований (испытаний) и измерений, в том числе правила отбора образцов [14]. Данный перечень содержит следующие стандарты:

- ГОСТ 7636–85 «Рыба, морские млекопитающие, морские беспозвоночные и продукты их переработки. Методы анализа» [15];
- ГОСТ 31795–2012 «Рыба, морепродукты и продукция из них. Метод определения массовой доли белка, жира, воды, фосфора, кальция и золы спектроскопией в ближней инфракрасной области» [16].

Необходимо отметить, что методы, изложенные в ГОСТ 7636–85 [15], не предусматривают использование приборов, отвечающих современному уровню технического развития, а также не содержат метрологические показатели, гарантирующие достоверность полученных результатов. ГОСТ 31795–2012 [16] требует перед определением проводить градуировку средства измерений, которая заключается в выборе набора образцов для градуировки и в выборе набора образцов для проверки градуировки; а также в анализе образцов обоих наборов по ГОСТ 7636–85 [15].

В соответствии с требованиями приказа Министерства промышленности и торговли РФ от 15 декабря 2015 г. N4091 «Об утверждении Порядка аттестации первичных референтных методик (методов) измерений, референтных методик (методов) измерений и методик (методов) измерений и их применения» [17] и ГОСТ Р 8.563–2009 «Государственная система обеспечения единства измерений (ГСИ). Методики (методы) измерений» [18], аттестацию методик (методов) измерений осуществляют путем теоретических и (или) экспериментальных исследований и подтверждения соответствия аттестуемой методики (метода) измерений установленным метрологическим требованиям к измерениям. Теоретические и (или) экспериментальные исследования аттестуемой методики (метода) измерений осуществляются для установления показателей точности результатов измерений, получаемых по аттестуемой методике (методу) измерений, и проводятся разработчиком данной методики (метода) измерений.

В связи с изложенным целью исследования являлось обоснование методики измерений массовой доли белка методом Кьельдаля с использованием автоматических анализаторов, а также установление метрологических параметров.

2. Материалы и методы

При проведении исследований за основу взяты методические подходы, изложенные в ГОСТ 7636–85 (п. 8.9) [15]. Так как метод Кьельдаля предусматривает определение массовой доли белка в рыбе, морских беспозвоночных, морских млекопитающих, а также изготовленной из них продукции, предназначенной для пищевых, кормовых и технических целей, из перечисленных объектов при обосновании методики и установлении метрологических параметров были выбраны образцы продукции, характеристика которых представлена в Таблице 1. Информация о диапазонах содержания белка в Таблице 1 приведена согласно литературным данным [19,20].

Отбор проб проводили в соответствии с ГОСТ 31339–2006 [21], подготовку средней пробы осуществляли по ГОСТ 7636–85 [15]. При подготовке образца для обеспечения однородности использовали механические методы обработки, такие как перемешивание, измельчение или гомогенизация. Применяемый метод зависел от состава и консистенции обрабатываемого образца. Размер частиц был не более 1 мм.

В каждую пробирку для минерализации помещали исходную навеску исследуемого образца (с точностью до 0,01 г), 1 таблетку катализатора, используемого для сульфатной минерализации, а также 12,5 см³ концентрированной серной кислоты.

Образцы подвергали минерализации в деминерализаторе Digester 2020 (Foss Analytical AB, Sweden), после чего охлаждали. Окончание процесса минерализации определяли по отсутствию темных включений и изменению цвета жидкости в пробирке до прозрачного бесцветного (или зеленовато-голубого). Одновременно аналогичным образом проводили контрольный (холостой) анализ без навески.

Таблица 1

Характеристика объектов исследований, использованных для метрологической аттестации методики измерений массовой доли белка методом Кьельдаля

Анализируемый объект	Диапазон содержания белка, %	Наименование исследуемой продукции	Сокращенное наименование
Рыба	16–25	Треска атлантическая. Филе без кожи мороженое	Филе трески
		Сельдь тихоокеанская жирная неразделанная мороженая	Сельдь мороженая
Морские млекопитающие	16–26	Мясо нерпы мороженое	Мясо нерпы
Морские беспозвоночные	12–25	Королевская креветка варено-мороженая (Категория «А»)	Креветка
Кормовая рыбная мука	35–70	Кормовая рыбная мука	Кормовая мука
Икра	8–39	Икра кеты зернистая соленая	Икра соленая
Полуфабрикаты (соленые и др.)	15–35	Сельдь тихоокеанская соленая	Сельдь соленая
Кулинарные изделия	1–30	Рыбное кулинарное изделие: Паста с антарктическим крилем «Антарктик-криль сливочно-чесночный»	Кулинарное изделие
Сублимированный продукт. Рыба сушеная, вяленая	12–60	Рыба сушеная	Рыба сушеная
Рыбный фарш	12–25	Фарш сурими	Фарш сурими
Белковая масса	3–25	Крабовые палочки	Крабовые палочки

Для определения содержания азота использовали анализатор азота Kjeltac System 2300 (Foss Analytical AB, Sweden). Пробирку с образцом устанавливали в дистилляционный блок и закрывали защитную дверцу. Введение щелочи, а также циклы дистилляции и титрования прибор контролировал автоматически. Результат содержания азота в образце выводился на дисплей после завершения титрования.

3. Результаты и обсуждение

Для обоснования и утверждения методики измерений массовой доли белка методом Кьельдаля и установления метрологических параметров определены показатели качества методики: показатели точности, правильности, повторяемости, воспроизводимости.

На первом этапе исследований проводили проверку правильности работы оборудования. Так как все образцы после сжигания образуют сульфат аммония, который, как правило, рекомендуется в качестве стандарта для проверки работы оборудования.

Навеску 0,15 г сульфата аммония $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ с чистотой 99,5%, взвешенную с точностью 0,01 г, помещали в пробирку для минерализации. Добавляли 75 см³ дистиллированной воды и проводили дистилляцию. Принцип дистилляции заключается в превращении сульфата аммония $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ в аммиак (NH_3) с помощью щелочи, дальнейшей отгонке паром в приемный сосуд, содержащий борную кислоту, и титровании стандартным раствором соляной кислоты. Рассчитывали процент восстановления, результаты которого приведены в Таблице 2. Процентное содержание азота в сульфате аммония (чистотой 99,5%) составляет 21,09%.

В соответствии с полученными данными сделано заключение, что анализатор азота пригоден к эксплуатации (для проведения исследований), так как согласно инструкции рекомендуемое значение степени извлечения должно составлять не менее 99%.

В образцах продукции, перечень которых приведен в Таблице 1, определяли содержание азота в условиях повторяемости (параллельные определения) согласно требованиям программы метрологической аттестации.

С целью подтверждения правильности выбора массы навески построены зависимости содержания азота от массы навески, приведенные на Рисунке 1.

Согласно рекомендациям к прибору, необходимая масса образца зависит от содержания азота и от однородности анализируемого продукта, и чем меньше масса образца, тем

быстрее будет завершена минерализация. Ниже приведены ориентировочные правила выбора массы образца:

- однородные образцы (исключая воду) 0,1–1,0 г;
- неоднородные образцы 1,0–3,0 г или больше. Кроме того, существует еще один методический подход, в соответствии с которым для однородных образцов массу образца рассчитывают по формуле:

$$M = 1000 / X,$$

где M — минимальная масса образца, мг;

X — ожидаемое примерное процентное содержание азота.

Таблица 2

Результаты определения содержания азота в сульфате аммония по методу Кьельдаля на автоматическом анализаторе

Наименование показателя	Значение
Масса навески, г	0,1500
Содержание азота, %	20,93 20,90 20,82 20,90 20,87 20,98 20,97 20,93
Среднее содержание азота, % ($n = 8, P = 0,95, t_{cr} = 2,36$)	20,91 ± 0,04
Относительное среднеквадратичное отклонение, s_r , %	0,26
Относительная погрешность, %	0,76 0,90 1,30 0,90 1,04 0,52 0,59 0,74
Предел допускаемой относительной погрешности, %	± 1,5
Степень извлечения, %	99,24 99,10 98,70 99,10 98,96 99,48 99,41 99,26

На основании приведенных данных можно сделать вывод, что для всех образцов выбранные интервалы массы навески укладываются в допустимые пределы отклонений. Полученные данные содержания азота в исследованных образцах были использованы для расчета содержания белка, значения которых приведены в Таблице 3.

Результаты определения содержания белка в пищевой рыбной продукции использованы для установления метрологических показателей методики.

Оценку точности методики (погрешности) измерения содержания белка определяли на основе процедур контроля погрешности в соответствии с нормативными документами: РМГ 61–2010 и РМГ 76–2014 [22,23].

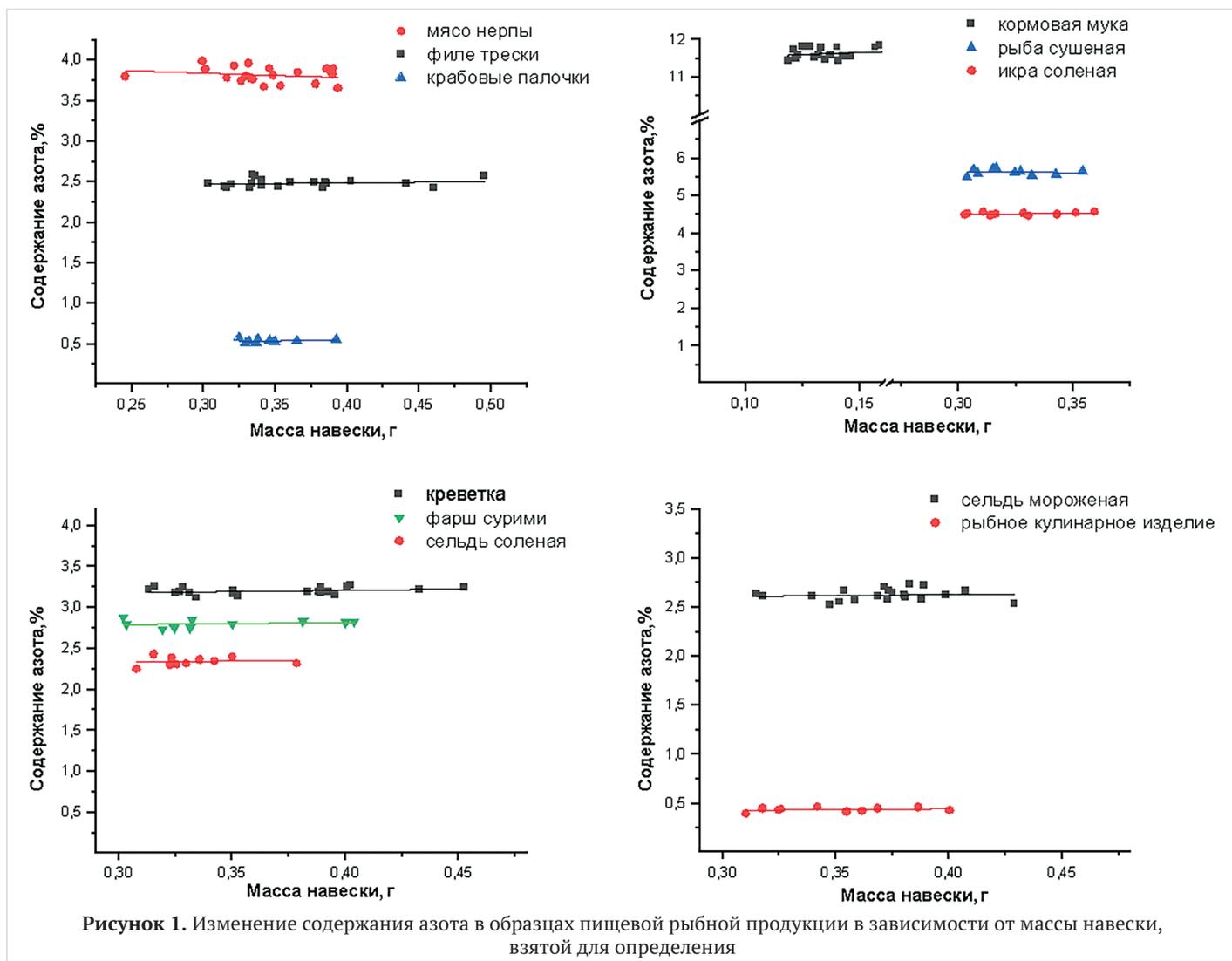


Таблица 3

Значения содержания белка в определяемых образцах (ОО)

№ ОО (m)	Объект исследований	n	Минимальное значение, %	Максимальное значение, %	Размах	Медиана	\bar{X}_l , среднее значение, %	Относительное среднеквадратичное отклонение, S_r
1	Филе трески	20	15,15	16,21	1,06	15,50	15,52	2,0
2	Мясо нерпы	20	22,87	24,96	2,09	23,82	23,86	2,5
3	Сельдь мороженая	20	15,80	17,09	1,28	16,36	16,40	2,3
4	Кормовая мука	20	71,46	74,03	2,57	72,37	72,71	1,2
5	Креветка	20	19,49	20,43	0,94	19,97	20,02	1,3
6	Икра соленая	10	27,95	28,59	0,64	28,26	28,27	0,8
7	Сельдь соленая	10	14,06	15,20	1,14	14,58	14,64	2,3
8	Кулинарное изделие	10	2,49	2,90	0,41	2,75	2,74	4,7
9	Рыба сушеная	10	34,41	35,90	1,49	35,21	35,21	1,4
10	Фарш сурими	10	17,07	18,00	0,93	17,56	17,52	1,7
11	Крабовые палочки	10	3,20	3,61	0,40	3,36	3,38	3,8

Оценка показателя повторяемости выполнена в соответствии с РМГ 61–2010 (п. 5.2.1., С. 11–14) [22] и РМГ 76–2014 (Приложение Б, п. Б.3.2.3., С. 66–67) [23]. Рассчитано среднее арифметическое значение содержания белка и выборочная дисперсия результатов единичного анализа содержания белка в образце, полученного в условиях повторяемости (параллельные определения), по формулам:

$$\bar{X}_{ml} = \left(\sum_{i=1}^n X_{mli} \right) / n \quad (1)$$

$$S_{ml}^2 = \left(\sum_{i=1}^n (X_{mli} - \bar{X}_{ml})^2 \right) / n - 1 \quad (2)$$

где $m = 1, \dots, M$ (число образцов); $l = 1, \dots, L$ (число контрольных измерений); \bar{X}_{ml} – среднее арифметическое значение белка; S_{ml}^2 – выборочная дисперсия.

На основе полученных значений выборочной дисперсии проверяли гипотезу о равенстве генеральных дисперсий, используя критерий Кохрена.

Показатель повторяемости результатов анализа содержания азота в образцах в виде среднего квадратичного (стандартного) отклонения повторяемости (СКО, $\sigma_{r,n}$) рассчитывали по формуле:

$$\sigma_r = S_r = \sqrt{\sum_{m=1}^M (S_{m1}^2) / M} \quad (3)$$

Предел повторяемости (r_n) рассчитывали в соответствии с РМГ 61–2010 (п. 5.2.1.5, С. 12) [21] и РМГ 76–2014 (Приложение Б, п. Б.3.2.3.6) [22] по формуле:

$$r_n = Q(P, n) \times \sigma_r \quad (4)$$

где $Q(P, n)$ — коэффициент, зависящий от числа контрольных определений и доверительной вероятности P . При двух параллельных определениях ($n = 2$) и $P = 0,95$, $Q(P, n) = 2,8$, т. е. $r_2 = 2,8 \sigma_r$; σ_r — значение СКО повторяемости.

Показатель воспроизводимости в виде среднего квадратичного отклонения воспроизводимости (σ_R) рассчитан теоретически, исходя из предположения симметричности и одномодальности (равенства нижней и верхней границ) распределения погрешности результатов анализа и при условии $|\Delta_H| = |\Delta_B| = |\Delta|$ (РМГ 61–2010, п. 4.8., примечание 2). $\sigma_R = \xi \cdot \sigma_r$, где ξ — коэффициент, зависящий от объекта анализа и методики, составляющий 1,4–2,2. В нашем случае рассчитан по формуле (5):

$$\sigma_R = 1,4 \times \sigma_r \quad (5)$$

Показатели качества методики анализа в виде характеристики погрешности и ее составляющих оценены с применением расчетно-экспериментального метода (РМГ 61–2010, приложение В) [22].

Погрешность измерения концентраций складывается из суммы систематической (δ) и случайной составляющей погрешностей (σ_R). Показатель точности δ определяли согласно РМГ 61–2010 п. 5.4 по формуле (6):

$$\delta = 1,96 \sqrt{\sigma_c^2 + \sigma_R^2} \quad (6)$$

Полученные метрологические параметры методики приведены в Таблице 4.

За результат анализа принимали среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, расхождение между которыми не должно превышать предела повторяемости в соответствии с формулой (7):

$$\frac{2 \times |X_1 - X_2| \times 100}{(X_1 + X_2)} \leq r \quad (7)$$

где X_1, X_2 — результаты параллельных определений, %; r — значение предела повторяемости (Таблица 4), при этом $r = 2,8 \sigma_r$.

Результат анализа при вероятности $P = 0,95$ представлен в виде:

$$(\bar{X} \pm \Delta), \% \quad (8)$$

где \bar{X} — среднее арифметическое результатов определений, признанных приемлемыми, %; Δ — граница абсолютной погрешности, %.

$$\Delta = \delta \times \bar{X} / 100, \% \quad (9)$$

где δ — граница относительной погрешности методики (показатель точности в соответствии с диапазоном концентраций (Таблица 4), %.

На основании проведенных исследований разработана и аттестована методика измерений массовой доли белка методом Кьельдаля. Свидетельство об аттестации № 0147/ROCC RU.0001.310430/2020.

4. Заключение

В результате исследований по измерению массовой доли белка в рыбной продукции методом Кьельдаля на автоматическом анализаторе обоснованы и установлены метрологические параметры для различных объектов, что позволит представлять полученные данные с установленными показателями точности и достоверности.

Таблица 4

Метрологические параметры методики измерений массовой доли белка методом Кьельдаля

Анализируемый объект	Диапазон измерений массовой доли белка, %	Показатель точности (границы относительной погрешности, $P = 0,95$), $\pm \delta$, %	Показатель повторяемости (относительное средне-квадратичное отклонение повторяемости), σ_r , %	Показатель воспроизводимости (относительное средне-квадратичное отклонение воспроизводимости), σ_R , %	Предел повторяемости (значение допустимого расхождения между двумя результатами параллельных определений), r , %	Предел воспроизводимости (значение допустимого расхождения между двумя результатами измерений, полученных в разных лабораториях), R , % ($P = 0,95$)
Рыбная продукция	1–60	14	4,7	6,5	13	18
Морские млекопитающие	8–30	10	2,6	3,6	7	10
Кормовая мука рыбная	45–80	6	1,2	1,6	3	5
Беспозвоночные	1–25	6	1,3	1,8	4	5

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Lu, Y., Xia, Y., Liu, G., Pan, M., Li, M., Lee, N. A., Wang, S. (2017). A review of methods for detecting melamine in food samples. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 47(1), 51–66. <https://doi.org/10.1080/10408347.2016.117688>
- Mæhre, H. K., Dalheim, L., Edvinsen, G. K., Elvevoll, E. O., Jensen, I. -J. (2018). Protein determination — method matters. *Foods*, 7(1), Article 5. <https://doi.org/10.3390/foods7010005>
- Hayes, M. (2020). Measuring protein content in food: An overview of methods. *Foods*, 9(10), 1340. <https://doi.org/10.3390/foods9101340>
- He, H. -J., Wu, D., Sun, D. -W. (2015). Nondestructive spectroscopic and imaging techniques for quality evaluation and assessment of fish and fish products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(6), 864–886. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.746638>
- Manley, M. (2014). Near-infrared spectroscopy and hyperspectral imaging: non-destructive analysis of biological materials. *Chemical Society Reviews*, 43(24), 8200–8214. <https://doi.org/10.1039/c4cs00062e>
- Simonne, A.H., Simonne, E.H., Eitenmiller, R.R., Mills, H.A. and Cresman, C.P., III. (1997). Could the Dumas method replace the Kjeldahl digestion for nitrogen and crude protein determinations in foods? *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 73(1), 39–45. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199701\)73:1<39::AID-JSFA717>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199701)73:1<39::AID-JSFA717>3.0.CO;2-4)
- Thompson, M., Owen, L., Wilkinson, K., Wood, R., Damant, A. (2002). A comparison of the Kjeldahl and Dumas methods for the determination of protein in foods, using data from a proficiency testing scheme. *Analyst*, 127(12), 1666–1668. <https://doi.org/10.1039/b208973b>
- Kubota, T., Oshida, T., Yanai, K., Inoue, Y., Matsui, S., Matsumoto, T. et al. (2011). Improvement of the conditions for the determination of total nitrogen in fish meal in Kjeldahl method and its comparison with Dumas method. *Bunseki Kagaku*, 60(1), 67–74. <https://doi.org/10.2116/bunseki-kagaku.60.67>
- Miller, E.L., Bimbo, A.P., Barlow, S.M., Sheridan, B. (2007). Repeatability and reproducibility of determination of the nitrogen content of fishmeal

- by the combustion (Dumas) method and comparison with the Kjeldahl method: interlaboratory study. *Journal of AOAC International*, 90(1), 6–20. <https://doi.org/10.1093/jaoac/90.1.6>
10. Saez-Plaza, P., Michalowski, T., Navas, M. J., Asuero, A. G., Wybraniec, S. (2013). An overview of the Kjeldahl method of nitrogen determination. Part I. Early history, chemistry of the procedure, and titrimetric finish. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 43(4), 178–223. <https://doi.org/10.1080/10408347.2012.751786>
 11. Sáez-Plaza, P., Navas, M. J., Wybraniec, S., Michałowski, T., Asuero, A. G. (2013). An overview of the Kjeldahl method of nitrogen determination. Part II. Sample preparation, working scale, instrumental finish, and quality control. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 43(4), 224–272. <https://doi.org/10.1080/10408347.2012.751787>
 12. Зауэр, Е.А., Ершов, А.Б. (2019). Современные анализаторы для определения азота методом Кьельдаля. *Аналитика и контроль*, 23(2), 168–192. <https://doi.org/10.15826/analitika.2019.23.2.002>
 13. Технический регламент Евразийского экономического союза ТР ЕАЭС 040/2016 «О безопасности рыбы и рыбной продукции». Утвержден решением Совета Евразийской экономической комиссии от 18 октября 2016 года № 162 Электронный ресурс: <http://docs.cntd.ru/document/420394425/> Дата обращения 13.06.2021 г.
 14. О перечне стандартов, содержащих правила и методы исследований (испытаний) и измерений, в том числе правила отбора образцов, необходимые для применения и исполнения требований технического регламента Евразийского экономического союза «О безопасности рыбы и рыбной продукции» (ТР ЕАЭС 040/2016) и осуществления оценки соответствия объектов технического регулирования: решение Коллегии Евразийской экономической комиссии от 29 августа 2017 года № 106 Электронный ресурс: <http://docs.cntd.ru/document/456089790/> Дата обращения 14.06.2021 г.
 15. ГОСТ 7636–85 «Рыба, морские млекопитающие, морские беспозвоночные и продукты их переработки. Методы анализа». — Москва: Стандартинформ, 2010. — 85 с.
 16. ГОСТ 31795–2012 «Рыба, морепродукты и продукция из них. Метод определения массовой доли белка, жира, воды, фосфора, кальция и золь спектроскопией в ближней инфракрасной области». — Москва: Стандартинформ, 2014. — 8 с.
 17. Порядок аттестации первичных референтных методик (методов) измерений, референтных методик (методов) измерений и методик (методов) измерений и их применения. Утвержден приказом Минпромторга России от 15 декабря 2015 года № 4091. Электронный ресурс: <http://docs.cntd.ru/document/420327948/> Дата обращения 18.06.2021 г.
 18. ГОСТ Р 8.563–2009 «Государственная система обеспечения единства измерений (ГСИ). Методики (методы) измерений». — Москва: Стандартинформ, 2019. — 16 с.
 19. Скурихин, И. М., Тутельян, В. А. (2002). Химический состав российских пищевых продуктов: Справочник. Москва: ДеЛи принт, 2002. — 236 с.
 20. Вафина, Л.Х., Бакштанский, Э.Л., Копыленко, Л.Р., Рубцова, Т.Е. (2013). Качество, безопасность и методы анализа продуктов из гидробионтов. Информационные сведения о пищевой ценности рыбы и рыбной продукции. Москва. Издательство ВНИРО. — 97 с.
 21. ГОСТ 31339–2006 «Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Правила приемки и методы отбора проб». — Москва: Стандартинформ, 2010. — 18 с.
 22. РМГ 61–2010 «Государственная система обеспечения единства измерений. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки». — Москва: Стандартинформ, 2012. — 59 с.
 23. РМГ 76–2014 «Государственная система обеспечения единства измерений. Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа». — Москва: Стандартинформ, 2016. — 111 с.

REFERENCES

1. Lu, Y., Xia, Y., Liu, G., Pan, M., Li, M., Lee, N. A., Wang, S. (2017). A review of methods for detecting melamine in food samples. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 47(1), 51–66. <https://doi.org/10.1080/10408347.2016.117688>
2. Mæhre, H. K., Dalheim, L., Edvinsen, G. K., Elvevoll, E. O., Jensen, I. -J. (2018). Protein determination — method matters. *Foods*, 7(1), Article 5. <https://doi.org/10.3390/foods7010005>
3. Hayes, M. (2020). Measuring protein content in food: An overview of methods. *Foods*, 9(10), 1340. <https://doi.org/10.3390/foods9101340>
4. He, H. -J., Wu, D., Sun, D. -W. (2015). Nondestructive spectroscopic and imaging techniques for quality evaluation and assessment of fish and fish products. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 55(6), 864–886. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.746638>
5. Manley, M. (2014). Near-infrared spectroscopy and hyperspectral imaging: non-destructive analysis of biological materials. *Chemical Society Reviews*, 43(24), 8200–8214. <https://doi.org/10.1039/c4cs00062e>
6. Simonne, A.H., Simonne, E.H., Eitenmiller, R.R., Mills, H.A. and Cresman, C.P., III. (1997). Could the Dumas method replace the Kjeldahl digestion for nitrogen and crude protein determinations in foods? *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 73(1), 39–45. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0010\(199701\)73:1<39::AID-JSFA717>3.0.CO;2-4](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0010(199701)73:1<39::AID-JSFA717>3.0.CO;2-4)
7. Thompson, M., Owen, L., Wilkinson, K., Wood, R., Damant, A. (2002). A comparison of the Kjeldahl and Dumas methods for the determination of protein in foods, using data from a proficiency testing scheme. *Analyst*, 127(12), 1666–1668. <https://doi.org/10.1039/b208973b>
8. Kubota, T., Oshida, T., Yanai, K., Inoue, Y., Matsui, S., Matsumoto, T. et al. (2011). Improvement of the conditions for the determination of total nitrogen in fish meal in Kjeldahl method and its comparison with Dumas method. *Bunseki Kagaku*, 60(1), 67–74. <https://doi.org/10.2116/bunsekikagaku.60.67>
9. Miller, E.L., Bimbo, A.P., Barlow, S.M., Sheridan, B. (2007). Repeatability and reproducibility of determination of the nitrogen content of fishmeal by the combustion (Dumas) method and comparison with the Kjeldahl method: interlaboratory study. *Journal of AOAC International*, 90(1), 6–20. <https://doi.org/10.1093/jaoac/90.1.6>
10. Saez-Plaza, P., Michalowski, T., Navas, M. J., Asuero, A. G., Wybraniec, S. (2013). An overview of the Kjeldahl method of nitrogen determination. Part I. Early history, chemistry of the procedure, and titrimetric finish. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 43(4), 178–223. <https://doi.org/10.1080/10408347.2012.751786>
11. Sáez-Plaza, P., Navas, M. J., Wybraniec, S., Michałowski, T., Asuero, A. G. (2013). An overview of the Kjeldahl method of nitrogen determination. Part II. Sample preparation, working scale, instrumental finish, and quality control. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 43(4), 224–272. <https://doi.org/10.1080/10408347.2012.751787>
12. Zauer, E.A., Ershov, A.B. (2019). Modern analyzers for the determination of nitrogen by the Kjeldahl method. *Analytics and Control*, 23(2), 168–192. <https://doi.org/10.15826/analitika.2019.23.2.002> (In Russian)
13. Technical regulation of the Eurasian Economic Union TR EAEU040/2016 “On the safety of fish and fish products”. (Adopted by The decision of the Council of the Eurasian economic Commission of October 18, 2016 No 163). Moscow, 2016. Retrieved from <http://docs.cntd.ru/document/420394425/>. Accessed June 13, 2021. (In Russian)
14. On the list of standards containing rules and methods of research (testing) and measurements, including sampling rules necessary for the application and implementation of the requirements of the Technical regulations of the Eurasian Economic Union «On the safety of fish and fish products» (TR EAEU040/2016) and implementation conformity assessment of objects of technical regulation: decision of the Board of the Eurasian Economic Commission of 29 August, 2017 N106. Retrieved from <http://docs.cntd.ru/document/456089790/> Accessed June 14, 2021. (In Russian)
15. GOST 7636–85 “Fish, marine mammals, invertebrates and products of their processing. Methods of analysis”. — Moscow: Standartinform, 2010. 85 p. (In Russian)
16. GOST 31795–2012 “Fish, marine products and products of them. Method of determining the fraction of total mass of protein, fat, water, phosphorus, calcium and ash by the near-infra-red spectrometry”. — Moscow: Standartinform, 2014. — 8 p. (In Russian)
17. The procedure for attestation of primary reference measurement techniques (methods), reference measurement techniques (methods) and measurement techniques (methods) and their application. (Adopted by The Ministry of Industry and Trade of Russia of December 15, 2015 No 4091. Retrieved from <http://docs.cntd.ru/document/420327948/> Accessed June 18, 2021.
18. GOST R 8.563–2009 “State system for ensuring the uniformity of measurements. Procedures of measurements”. — Moscow: Standartinform, 2019. — 16 p. (In Russia)
19. Skurihin, I. M., Tutel’yan, V. A. (2002). *Chemical composition of Russian food products*. Moscow: DeLi print, 2002. (In Russian)
20. Vafina, L.H., Bakstanskij, E.L., Kopylenko, L.R., Rubcova, T.E. (2013). Quality, safety and methods of analysis of aquatic products. Information about the nutritional value of fish and fish products. Moscow. VNIRO Publishing House, 2013. (In Russian)
21. GOST 31339–2006 “Fish, non-fish objects and products of their processing. Acceptance rules and sampling methods”. — Moscow: Standartinform, 2010. — 18 p. (In Russian)
22. RMG 61–2010 “State system for ensuring the uniformity of measurements. Accuracy, trueness and precision measures of the procedures for quantitative chemical analysis. Methods of evaluation”. — Moscow: Standartinform, 2012. — 59 p. (In Russian)
23. RMG 76–2014 “State system for ensuring the uniformity of measurements. Internal control of quantitative chemical analysis result’s accuracy”. — Moscow: Standartinform, 2016. — 111 p. (In Russian)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p>Козин Андрей Валерьевич — кандидат химических наук, старший научный сотрудник, Отдел Качества пищевой рыбной продукции, Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии 107140, Москва, ул. Верхняя Красносельская, 17 Тел. +7-916-102-93-87 E-mail: kozin82a@vniro.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8507-3548 * автор для контактов</p>	<p>Andrey V. Kozin, Candidate of chemical sciences, Senior Researcher, Fish Food Quality Department, Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography Verkhnyaya Krasnoselskaya Street, 17, 107140, Moscow, Russia Tel.: +7-916-102-93-87 E-mail: kozin82a@vniro.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8507-3548 * corresponding author</p>
<p>Абрамова Любовь Сергеевна — доктор технических наук, профессор, заместитель руководителя департамента по вопросам качества пищевой рыбной продукции, Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии 107140, Москва, ул. Верхняя Красносельская, 17 Тел. +7-915-064-77-04 E-mail: abramova@vniro.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8278-2760</p>	<p>Liubov S. Abramova, Doctor of technical sciences, professor, Deputy Head of the Department for the Quality of Fish Food Products, Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography Verkhnyaya Krasnoselskaya Street, 17, 107140, Moscow, Russia Tel.: +7-915-064-77-04 E-mail: abramova@vniro.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8278-2760</p>
<p>Гусева Елена Сергеевна — специалист, Отдел Качества пищевой рыбной продукции, Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии 107140, Москва, ул. Верхняя Красносельская, 17 Тел.: +7-917-505-92-06 E-mail: quality@vniro.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1377-1838</p>	<p>Elena S. Guseva, specialist, Fish Food Quality Department, Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography Verkhnyaya Krasnoselskaya Street, 17, 107140, Moscow, Russia Tel.: +7-917-505-92-06 E-mail: quality@vniro.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1377-1838</p>
<p>Дерунец Илья Вадимович — специалист, Отдел Качества пищевой рыбной продукции, Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии 107140, Москва, ул. Верхняя Красносельская, 17 Тел.: +7-985-745-70-29 E-mail: quality@vniro.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7931-2602</p>	<p>Ilya V. Derunets, specialist, Fish Food Quality Department, Russian Federal Research Institute of Fisheries and Oceanography Verkhnyaya Krasnoselskaya Street, 17, 107140, Moscow, Russia Tel.: +7-985-745-70-29 E-mail: quality@vniro.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7931-2602</p>
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

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-4-246-254>

Поступила 12.11.2021

Поступила после рецензирования 03.12.2021

Принята в печать 10.12.2021

© Крюченко Е. В., Кузлякина Ю. А., Чернуха И. М., Замула В. С., 2021

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

Обзорная статья

Open access

ПИЩЕВЫЕ АЛЛЕРГЕНЫ: ПОРОГОВЫЕ ЗНАЧЕНИЯ И МЕТОДОЛОГИИ УПРАВЛЕНИЯ РИСКАМИ

Крюченко Е. В., Кузлякина Ю. А.* , Чернуха И. М., Замула В. С.

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

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

пищевая аллергия, аллергены, пороговые дозы, маркировка, оценка риска

АННОТАЦИЯ

Пищевая аллергия и управление аллергенами — важные проблемы здравоохранения и пищевой промышленности. Идея определения концентраций аллергенов в пищевых ингредиентах и продуктах питания, способных вызывать тяжелые аллергические реакции, представляет большой интерес регулирующих органов, а также ассоциаций потребителей и промышленности по всему миру. В связи с этим учеными были предложены различные подходы к определению основы для оценки тяжести риска пищевых аллергенов для здоровья людей, страдающих пищевой аллергией, наподобие методов оценки риска других опасностей, связанных с пищевыми продуктами (например, химических, микробиологических). Для оценки риска аллергенов было предложено три различных подхода: (i) традиционная оценка риска с использованием уровня отсутствия наблюдаемых побочных эффектов (the no observed adverse effect level (NOAEL)) и факторов неопределенности; (ii) подход, основанный на контрольной дозе (the Bench Mark Dose (BMD)) и марже воздействия (Margin of Exposure (MoE)); и (iii) вероятностные модели. Эти подходы могут использоваться в управлении рисками при производстве пищевой продукции, а также при разработке предупредительной маркировки о наличии аллергенов. Надежность оценок риска будет зависеть от типа, качества и количества данных, используемых для определения как популяционных пороговых значений (или пороговых распределений), так и воздействия аллергенного продукта/ингредиента на конкретного индивидуума.

Received 12.11.2021

Accepted in revised 03.12.2021

Accepted for publication 10.12.2021

© Kryuchenko E. V., Kuzlyakina Yu. A., Chernukha I. M., Zamula V. S., 2021

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

Review article

Open access

FOOD ALLERGENS: THRESHOLD LEVELS AND METHODOLOGIES FOR RISK MANAGEMENT

Elizaveta V. Kryuchenko, Yuliya A. Kuzlyakina*, Irina M. Chernukha, Valentina S. Zamula

V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems, Moscow, Russia

KEY WORDS:

food allergy, allergens, thresholds doses, food labelling, risk assessment

ABSTRACT

Food allergies and allergen management are important problems of the public health and food industry. The idea of determining allergen concentrations in food ingredients and food products that are capable of causing severe allergic reactions is of great interest for regulatory bodies as well as consumer associations and the industry all over the world. In this connection, scientists proposed different approaches to determining the basis for assessment of severity of risks of food allergens for health of patients suffering from food allergy similar to methods of risk assessment for other hazards associated with food products (for example, chemical, microbiological). To assess risk of allergens, three different approaches were proposed: i) traditional risk assessment using the no observed adverse effect level (NOAEL) and uncertainty factors; (ii) approach based on the benchmark dose (BMD) and margin of exposure (MoE); and (iii) probability models. These approaches can be used in risk management in food production and in the development of warning marking about the presence of allergens. The reliability of risk assessment will depend on a type, quality and quantity of data used for determining both population threshold levels (or threshold distributions) and an impact of an allergenic product/ingredient on a particular individual.

1. Введение

По данным [1], до 10% взрослых и 8% детей во всем мире страдают от диагностированной пищевой аллергии. Можно предположить, что в действительности их число гораздо больше. Поскольку данное заболевание может наносить существенный вред здоровью и даже угрожать жизни, пищевая аллергия и борьба с аллергенами — важные проблемы общественного здравоохранения во всем мире. Лица, страдающие аллергией на пищевую продукцию, должны придерживаться определенных диет, чтобы предотвратить возникновение аллергических реакций [2] поэтому регулирующие органы многих стран, признавших серьезность данной про-

блемы, приняли ряд законов, постановлений, стандартов, включающих требования по нормированию содержания аллергенов в пищевой продукции, а также требования к наличию предупредительной маркировки, информирующей о возможном присутствии аллергенов в пищевой продукции, с целью защиты уязвимых потребителей [3]. Известно 14 групп пищевых аллергенов (ПА), попадающих в организм человека с пищевой продукцией, информация о присутствии которых должна быть вынесена на этикетку. Однако контроль аллергенов при производстве пищевой продукции и по всей цепочке поставок ингредиентов является сложной задачей для производителей в условиях глобализированной

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Крюченко, Е. В., Кузлякина, Ю. А., Чернуха, И. М., Замула, В. С. (2021). Пищевые аллергены: пороговые значения и методологии управления рисками. *Пищевые системы*, 4(4), 246-254. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-4-246-254>

FOR CITATION: Kryuchenko, E. V., Kuzlyakina, Yu. A., Chernukha, I. M., Zamula, V. S. (2021). Food allergens: threshold levels and methodologies for risk management. *Food systems*, 4(4), 246-254. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-4-246-254>

экономики [3]. В случае, если сырье и вспомогательные материалы закупаются у поставщиков из разных стран мира, сложность контроля аллергенов при производстве пищевой продукции возрастает. Это увеличивает вероятность непреднамеренного присутствия аллергенов в готовом продукте, в связи с чем увеличивается риск потенциального ущерба репутации и экономическому благополучию предприятия. Это подтверждается данными Управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов США (Food and Drug Administration (FDA)), Службы безопасности и контроля пищевых продуктов США (Food Safety and Inspection Service (FSIS)), Агентства по инспекции продуктов питания Канады (Canadian Food Inspection Agency (CFIA)), а также Системы быстрого оповещения для пищевых продуктов и кормов Европейского союза (Rapid Alert System for Food and Feed (RASFF)). Перечисленные организации располагают информацией о возросшем в последнее время числе крупномасштабных отзывов продукции из-за непреднамеренного присутствия в ней аллергенов. Подобное явление затронуло большое количество компаний из разных отраслей пищевой промышленности [4]. Развитие нормативного регулирования в области защиты потребителей, страдающих пищевой аллергией, а также стремление производителей обезопасить таких потребителей, привело к распространению предупредительной маркировки о возможном содержании аллергенов в пищевых продуктах [5].

Существует несколько путей попадания пищевых аллергенов в продукт. Это прямой путь — внесение в качестве ингредиента рецептуры, умысленная фальсификация продукции и внесение аллергена в качестве функциональной добавки, попадание аллергена в пищевой продукт при его производстве вместе с продуктами, содержащими этот аллерген, а также, как указывалось выше, возможно присутствие аллергена в составе комплексной добавки от ненадежного поставщика. В двух последних случаях содержание аллергена будет в следовых трудно определяемых концентрациях.

У покупателей, страдающих пищевой аллергией, бывают разные уровни аллергической чувствительности (так называемая минимальная вызывающая аллергию доза индивидуума). Поэтому присутствие даже незначительного количества аллергенных компонентов, не указанных на этикетках продуктов, может представлять угрозу для лиц с пищевой аллергией [6,7]. Как правило, предупредительная маркировка о возможном содержании аллергенов (например, фраза «может содержать») используется для информирования потребителей о продуктах с потенциальным непреднамеренным присутствием аллергенов. Однако, как показывает практика, чрезмерное использование предупредительной маркировки приводит к снижению доверия к данной маркировке и игнорированию предупреждений [5]. Для определения необходимости нанесения предупредительной маркировки о наличии аллергенов необходима количественная оценка уровня риска содержания аллергенов. После проведения такой оценки предприятия пищевой промышленности смогут разработать стратегии управления рисками, которые в достаточной мере защитят здоровье потребителей, страдающих пищевой аллергией. Предупредительная маркировка о непреднамеренном наличии аллергенов будет конечной точкой управления рисками. Использование количественной оценки содержания аллергенов позволит сделать предупредительную маркировку более легко читаемой и точной, а ее нанесение на этикетку обоснованным, что позволит повысить качество жизни лиц, страдающих пищевой аллергией.

1. Оценка риска аллергенов и определение «пороговых значений» для аллергенных продуктов/ингредиентов

Идея определения концентраций аллергенных ингредиентов в пищевых продуктах, способных привести к развитию тяжелых аллергических реакций у уязвимых потребителей, привлекла большое внимание регулирующих органов, ассоциаций потребителей и промышленности по всей Европе. К сожалению, в Российской Федерации в настоящее время данная концепция находится на ранней стадии развития, и работы в этой области ведутся недостаточно активно.

В странах ЕС был проведен ряд исследований с целью определения основы для оценки риска наличия пищевых аллергенов. В данных исследованиях за основу были взяты методы оценки других опасностей, связанных с пищевой продукцией, например, химический и микробиологический риски [8].

Уровень отсутствия наблюдаемых побочных эффектов (the no observed adverse effect level (NOAEL)) — это самая высокая доза употребленной аллергенной пищи, которая не вызывает побочных реакций у аллергиков. Термины наименьший наблюдаемый уровень побочных эффектов (the lowest observed adverse effect level (LOAEL)) и минимальная вызывающая доза (minimum eliciting dose (MED)) использовались для описания индивидуальных уровней воздействия аллергена на организм (дозировки ниже определенного уровня не нанесут вреда организму человека, страдающего аллергией). MED, используемый для аллергенных пищевых продуктов, аналогичен LOAEL, применяемому для химических веществ [9]. Истинный (а не проверенный) индивидуальный MED для аллергенной пищи, который является индивидуальным (определенным) порогом выявления (the individual (elicitation) threshold), находится между NOAEL и MED. Термины индивидуальный порог и MED, которые иногда используются как синонимы, имеют разные значения.

Анализ выживаемости с интервальной цензурой (Interval-censoring survival analysis (ICSA)) — метод, используемый для определения индивидуальных пороговых значений, когда точная доза, вызывающая аллергическую реакцию в организме человека, неизвестна, но выявлено, что она попадает в определенный интервал. Лица, реагирующие на первую дозу в контрольном испытании, подвергаются цензуре слева: NOAEL устанавливается на ноль, а LOAEL определяется как первая доза. Лица, не испытывающие реакции после самой большой контрольной дозы, подвергаются цензуре справа: NOAEL устанавливается на эту самую большую контрольную дозу, а LOAEL — на бесконечность. Во всех остальных случаях интервальная цензура ограничивается NOAEL и LOAEL.

Объективная аллергическая реакция (an objective allergic reaction) характеризуется по крайней мере одним признаком, который может различить клинический наблюдатель (например, рвота, крапивница, сыпь, ангионевротический отек). Субъективная аллергическая реакция (a subjective allergic reaction) определяется как возникновение симптомов (например, боли в животе, головные боли, першение в горле), которые не заметны для клинического наблюдателя.

Минимальная наблюдаемая вызывающая доза (a minimum observed eliciting dose (MOED)) определяется как самый низкий уровень воздействия, при котором у человека возникла объективная аллергическая реакция и ниже которого не ожидается объективного побочного эффекта. Субъективные аллергические симптомы, такие как боль в животе, головные боли, першение в горле и т. п., могут возникать при более низких дозах [10]. Минимальная вызывающая доза (a minimum eliciting dose (MED)) — это наименьшая

протестированная доза аллергена, вызывающая аллергическую реакцию у человека, объективную или субъективную. В этом контексте термин «аллергическая реакция» ограничивается IgE-опосредованными побочными эффектами, обычно возникающими в течение двух часов после употребления вызывающего аллергию пищевого продукта.

Контрольная доза (the Bench Mark Dose (BMD)) — это доза аллергена, которая может вызвать аллергическую реакцию у определенного процента аллергиков. Нижний предел контрольной дозы (BMD lower limit (BMDL)) — это нижний 95% доверительный интервал (ДИ) (Confidence interval (CI) контрольной дозы (BMD). Термин вызывающая доза (eliciting dose (ED_p)) обозначает дозу аллергена, при которой процент p от аллергической популяции, вероятно, отреагирует. ED₁₀ эквивалентен BMD₁₀.

Пороговое значение для популяции (population threshold) — это доза аллергена, при получении которой ни у одного подверженного аллергии человека не возникнет патологической реакции (например, NOAEL) или при которой реакция может возникнуть у определенного процента в популяции. BMD и ED_p можно рассматривать как пороговые значения для популяции.

При оценке риска химических веществ эталонная доза (a reference dose) — это суточная доза, которая может не вызывать побочных эффектов, даже если воздействие данного аллергена продолжается в течение всей жизни. При оценке риска воздействия аллергена эталонная доза относится к количеству аллергена, которое при однократном употреблении или в течение короткого периода времени вряд ли вызовет нежелательную реакцию у большинства аллергиков, и, таким образом, данный уровень риска является приемлемым. Уровни действия (action levels) обозначают концентрации (количество аллергенного пищевого продукта/ингредиента, обычно выражаемое как количество белка на количество пищи), информация о которых может быть внесена на предупредительную маркировку (пороговые концентрации каждого аллергена в пищевых продуктах, обеспечивающие приемлемый уровень защиты потребителей из группы риска). Уровни действий также включают суждение об уровне риска, который считается приемлемым.

Определение индивидуальных и популяционных пороговых значений является вопросом научной оценки, который становится определяющим в стратегии управления рисками. К ним относятся мероприятия по управлению аллергенами при производстве, маркировка пищевой продукции, содержащей аллергены, а также предупредительная маркировка о непреднамеренно присутствующих в продукции аллергенах.

2. Определение пороговых значений для индивидуума

Стандартизированные двойные слепые плацебо-контролируемые пищевые провокации (double-blind placebo-controlled food challenges (DBPCFC)) являются стандартом для анализа индивидуальных пороговых уровней аллергенной пищи у пациентов с пищевой аллергией [11], за исключением младенцев и детей. Однако выбор субъектов, проверяемые дозы аллергена и интерпретация результатов варьируются от исследования к исследованию. Вариативность, в частности, связана с особенностями пациента и клинических проявлений аллергических реакций, а также их серьезностью для здоровья. Кроме того, медики, как правило, исключают из исследований тех пациентов, которые могут иметь наиболее тяжелые реакции, исходя из индивидуального анамнеза [12]. DBPCFC не рассматривают в общей популяции пациентов, которые справляются с пищевой аллергией вне клинических условий.

Дозы аллергенного продукта питания/ингредиента, вызывающие побочные реакции в контролируемых исследованиях, варьируются от микрограммов до миллиграммов, а иногда и граммов [13]. Не всегда указывается, относятся ли NOAEL или MED к дискретным или кумулятивным дозам, или же указанные дозы относятся к введенному эквиваленту аллергенного белка или к аллергенному пищевому продукту/ингредиенту. В некоторых исследованиях аллергенная пища не вводится в той форме, в которой ее обычно принимают (например, сублимационная сушка, вводимая в виде муки или модифицированная другими способами) [14]. Несмотря на то, что такие пищевые продукты необходимы для выполнения строгих критериев DBPCFC, они могут влиять на LOAEL и MED, полученных в результате конкретного исследования, для определенной аллергенной пищи [15].

На точность определения индивидуальных MED в DBPCFC оказывают влияние множество факторов. Среди них вид пищи (сырая или обработанная), вид обработки, географические и генетические параметры, образ жизни пациента (например, занятия спортом, употребление алкоголя), хронические и острые заболевания (предусматривающие использование медикаментов и снижение иммунитета), способ попадания аллергена в организм. Среди медицинского сообщества нет единого мнения, какие симптомы считать тяжелым проявлением аллергической реакции, а какие средней и меньшей тяжести.

Большинство DBPCFC, проводимых у пациентов с пищевой аллергией, были разработаны для диагностических целей, а не для установления индивидуальных пороговых значений аллергенов [16]. В некоторых случаях разрыв между NOAEL и MED может быть значительным, в зависимости от используемых интервалов доз, и эти исследования не обеспечивают научной основы для установки NOAEL или для рекомендации приемлемых уровней потребления аллергенного пищевого продукта/ингредиента для индивидуума [17]. В некоторых других случаях нельзя установить ни MED (например, лица, страдающие аллергией, не реагирующие на более высокую протестированную дозу), ни NOAEL (например, лица, страдающие аллергией, реагирующие на первую протестированную дозу).

Для повышения сопоставимости результатов между исследованиями разработаны руководства по стандартизации DBPCFC, а также отчетности DBPCFC для целей определения пороговых значений, которые обычно требуют более низких начальных доз аллергена и более широких диапазонов доз [18].

3. Стратегии определения пороговых значений

Было предложено два различных подхода для определения пороговых значений для аллергенных продуктов питания/ингредиентов на уровне популяции [8]: (i) подход, основанный на NOAEL (или LOAEL); и (ii) подход, основанный на контрольных дозах (The Bench Mark Dose (BMD)).

3.1. Подход, основанный на уровне отсутствия наблюдаемых побочных эффектов (NOAEL) и наименьшем наблюдаемом уровне побочных эффектов (LOAEL)

При традиционной оценке токсикологического риска для определения NOAEL или LOAEL обычно используются экспериментальные исследования различных доз вещества, а затем применяются факторы неопределенности (часто от 100 до 1000) для учета экстраполяции данных с животных на человека [15]. Таким образом, NOAEL, а также LOAEL, представляет собой точечную оценку, полученную на основе значения наихудшего случая.

Стоит отметить, что самый высокий уровень воздействия аллергенных пищевых продуктов/ингредиентов, которые не вызывают побочные аллергические реакции (или самый низкий уровень воздействия, при котором наблюдаются реакции), широко варьируется, что может вызвать трудности при установлении данного показателя для аллергической популяции в целом [8].

3.2. Подход, основанный на контрольной дозе (the Bench Mark Dose (BMD))

Подход BMD использовался в проекте EFSA (Европейское агентство по безопасности пищевых продуктов) при оценке токсикологической безопасности [19]. По этой методологии учитываются все, а не одно-два, все доступные экспериментальные данные с помощью различных математических моделей. Затем BMD может быть определена как доза, которая вызывает нежелательное явление в данном проценте исследуемого образца, например, 10% (BMD_{10}). Доза, используемая для дальнейших расчетов (отправная точка), обычно является нижним 95% доверительным интервалом BMD или нижним пределом BMD ($BMDL$). Важно, чтобы BMD находилась в пределах (или очень близко) к точкам экспериментальных данных, чтобы сделать модель менее чувствительной к выбору математической модели для соответствия данным.

При пищевой аллергии статистическое моделирование распределения доз отдельных пороговых значений (NOAELs и MED, полученные в DBPCFC) позволяет рассчитывать BMD, $BMDL$ и вызывающие дозы (обычно ED_{01} , ED_{05} или ED_{10}) [8]. Однако многие DBPCFC не позволяют устанавливать MED или NOAEL для определенных индивидуумов. Статистическая методология, анализ выживаемости с интервальной цензурой (the interval censoring survival analysis (ICSA)), была применена для определения индивидуальных пороговых значений с учетом этих неопределенностей [10]. Если наивысшая контрольная доза — это NOAEL, то LOAEL устанавливается на бесконечность, и субъекты подвергаются цензуре справа; если самая низкая контрольная доза (первая испытанная доза) — это LOAEL, то NOAEL устанавливается на ноль, и субъекты подвергаются цензуре слева. Надежность BMD и ED_p оценки зависят от типа, качества и количества используемых данных, в частности, для описания нижнего предела порогового распределения (например, от количества подвергшихся цензуре лиц слева), а также от степени, в которой выборка, использованная для получения распределения, является репрезентативной для всего населения, страдающего аллергическими заболеваниями.

Ниже (Таблица 1) систематизированы результаты литературного поиска по значениям ED_p для приоритетных аллергенов.

Ballmer-Weber et al. [23] получили ED_{01} , равный 37,2 мг общего аллергенного белка для сои на основе кумулятивных пороговых доз для 30 детей, которые участвовали в DBPCFC по определению пороговых значений. Использовались два пороговых распределения: одно для объективных реакций и одно для субъективных. ED_{01} по субъективным реакциям более чем в 10 раз ниже по сравнению с ED_{01} для объективных. Blom et al. [9] рассчитали ED_{01} , ED_{05} , и ED_{10} для коровьего молока, куриного яйца, арахиса, фундука и ореха кешью на основе дискретных пороговых доз с использованием двух пороговых распределений: одно для объективных реакций и одно для любой реакции (объективной и субъективной, в зависимости от того, что произойдет раньше). Индивидуальные пороговые данные были получены из DBPCFCs, проведенных у детей, регулярно тестируе-

мых для диагностики пищевой аллергии. Имеющиеся данные для сои ($n = 10$) и грецкого ореха ($n = 13$) были сочтены недостаточными для получения пороговых распределений. ED_p для любой реакции были в среднем от двух до шести раз ниже, чем для объективных реакций.

ED_p (выраженные в миллиграммах арахиса, а не в миллиграммах белка, не включенные в Таблицу 1) были рассчитаны теми же авторами для арахиса с использованием двух разных наборов данных [24,25]. В первом исследовании данные были получены от 185 субъектов, участвовавших в DBPCFCs для диагностических целей, поскольку они были включены в испытания иммунотерапии, или для целей определения пороговых значений. ED_{10} были рассчитаны на основе кумулятивных пороговых доз с использованием пороговых распределений для любой реакции. Наблюдалось недостаточное количество точек данных для ED_{01} или ED_{05} . ED_{10} 17,6 мг (95% доверительный интервал (ДИ): 9,19, 33,7 мг), 17,0 мг (95% доверительный интервал: 8,10, 35,8 мг) и 14,6 мг (95% доверительный интервал: 5,97–35,5 мг) были оценены с использованием модели логарифмически нормального распределения, модели логарифмически-логистического распределения, модели распределения Вейбулла в соответствии с данными из трех типов DBPCFC.

Используя модель логарифмически нормального распределения вероятностей, значительно более высокие ED_{10} были оценены на основе испытаний иммунотерапии (65,5 мг; 95% ДИ: 18,7–229 мг), чем из диагностических серий (18,0 мг; 95% ДИ: 5,8–55,8 мг) или пороговых исследований (11,9 мг; 95% ДИ: 4,8–29,8 мг). Во втором исследовании [25] использовались данные диагностических DBPCFCs серии из 286 лиц с аллергией на арахис, собранные в течение 14 лет в тех же клинических условиях. ED_{05} (7,3 мг, 95% ДИ: 5,2–10,4 мг) и ED_{10} (14,4 мг, 95% ДИ: 10,7–19,6 мг) были основаны на кумулятивных пороговых дозах с использованием пороговых распределений для объективных реакций. Когда данные были проанализированы на основе истории болезни пациента, порогового распределения и ED_{10} , распределение пациентов с более тяжелыми реакциями в анамнезе существенно не отличалось от пороговых распределений пациентов с менее тяжелыми реакциями в анамнезе.

Eller et al. [22] рассчитали ED_{05} и ED_{10} для коровьего молока, куриного яйца, арахиса и фундука на основе непрерывных пороговых доз с использованием логарифмически нормальных пороговых распределений для объективных реакций. Индивидуальные пороговые данные были получены из DBPCFCs, проведенных у взрослых и детей (48% субъектов в возрасте до четырех лет), обычно тестируемых для диагностики пищевой аллергии. Пороговые данные испытуемых, у которых на первую дозу всех четырех аллергенных продуктов возникла реакция, были относительно высокими по сравнению с другими исследованиями (5 мг яичного белка, 1 мг фундука и арахисового белка и 5 мл молока). Более половины пациентов прошли курс OFC вместо DBPCFC для повышения комплаентности. Тяжесть реакций (по шкале от 1 до 5) коррелировала с возрастом пациента (у пожилых людей были более тяжелые реакции) и типом тестируемой пищи (у пациентов, которым вводили арахис, реакции были значительно более тяжелыми).

Комплексная оценка ED_p была проведена в работе [20]. В ней были проанализированы данные всех вышеупомянутых исследований, за исключением информации, опубликованной Eller et al. [22]. В приведенной работе также рассматривались данные из других опубликованных и неопубликованных DBPCFC, проведенных у взрослых и детей

Пороговые значения, рассчитанные для приоритетных аллергенов в проанализированных публикациях^(a)

Аллерген	Количество пациентов	ED ₀₁ (95% CI)	Объективные реакции ED ₀₅ (95% CI)	ED ₁₀ (95% CI)	ED ₀₁ (95% CI)	Любые реакции ED ₀₅ (95% CI)	ED ₁₀ (95% CI)	Ссылка на источник
Куриное яйцо	53 (дети)	0,07 (0,01–0,79)	1,51 (0,3–7,7)	5,82 (1,6–21,4)	0,04 (0,005–0,35)	0,75 (0,2–3,3)	2,75 (0,8–9,2)	[9]
	206 (в основном дети)	0,0043–0,056 ^(b) (NA)	0,21–0,44 ^(b) (NA)	1,2–1,6 ^(b) (NA)	–	–	–	[20]
	120 (≤ 3,5 лет)	–	–	0,6–1,3 (0,1–4,8)	–	–	–	[21]
	21 (> 3,5 лет)	–	–	20,4–27 (4,4–134,5)	–	–	–	[21]
155 (в основном дети)	–	2,08 (1,1–4,0)	5,36 (3,0–9,6)	–	–	–	[22]	
Коровье молоко	93 (дети)	0,05 (0,01–0,30)	1,07 (0,3–3,8)	4,24 (1,6–11,6)	0,04 (0,005–0,35)	0,75 (0,2–3,3)	2,75 (0,8–9,2)	[9]
	351 (в основном дети)	0,016–0,14 ^(b) (NA)	0,57–1,9 ^(b) (NA)	2,8–5,1 ^(b) (NA)	–	–	–	[20]
	80 (≤ 3,5 лет)	–	–	0,1–0,2 (0,02–1,1)	–	–	–	[21]
	13 (> 3,5 лет)	–	–	5,3–7,6 (0,1–269,0)	–	–	–	[21]
42 (в основном дети)	–	59,3 (29,1–109,9)	100,2 (52,7–190,5)	–	–	–	[22]	
Арахис	135 (дети)	0,15 (0,04–0,51)	1,56 (0,7–3,6)	4,42 (2,3–8,5)	0,007 (0,002–0,03)	0,14 (0,1–0,4)	0,52 (0,2–1,2)	[9]
	750 (взрослые/дети)	0,015–0,13 ^(b) (NA)	0,5–1,5 ^(b) (NA)	2,3–4,1 ^(b) (NA)	–	–	–	[20]
	51 (взрослые/дети)	–	–	2,8–6,6 (0,2–51,7)	–	–	–	[21]
	149 (в основном дети)	–	18,9 (13,0–27,6)	32,9 (23,6–45,9)	–	–	–	[22]
41 (дети)	–	–	87 (31,4–NR)	–	–	–	[13]	
Лесной орех	28 (дети)	0,01 (0,00–0,56)	0,29 (0,0–4,6)	1,38 (0,2–12,0)	0,001 (0–0,05)	0,05 (0,0–0,6)	0,22 (0,0–1,8)	[9]
	–	0,038–0,42 ^(b) (NA)	1,2–2,6 ^(b) (NA)	5,2–7,9 ^(b) (NA)	–	–	–	[20]
	90 (в основном взрослые)	–	–	8,5–10,1 (2,1–51,0)	–	–	–	[21]
	59 (в основном дети)	–	8,7 (4,5–16,8)	15,9 (8,9–28,4)	–	–	–	[22]
Кешью	31 (дети)	1,30 (0,18–9,57)	7,41 (1,9–28,7)	16,0 (5,4–47,4)	0,02 (0,002–0,25)	0,32 (0,1–1,8)	1,07 (0,3–4,5)	[9]
	–	1,4–2,8 ^(b) (NA)	8,9–11,5 ^(b) (NA)	16,8–22,7 ^(b) (NA)	–	–	–	[20]
Соя	80 (взрослые/дети)	0,078–3,1 ^(b) (NA)	4,7–22,2 ^(b) (NA)	28,2–63,4 ^(b) (NA)	–	–	–	[20]
	23 (взрослые/дети)	37,2 (NR)	–	–	0,21 (NR)	–	–	[23]
Глютен	40 (взрослые/дети)	0,14–1,1 ^(b) (NA)	2,0–4,3 ^(b) (NA)	6,6–10,2 ^(b) (NA)	–	–	–	[20]
Горчица	33 (взрослые/дети)	0,022–0,097 ^(b) (NA)	0,32–0,46 ^(b) (NA)	1,0–1,2 ^(b) (NA)	–	–	–	[20]
Люпин	24 (взрослые/дети)	0,83–3,7 ^(b) (NA)	7,8–19,1 ^(b) (NA)	20,8–33 ^(b) (NA)	–	–	–	[20]
Кунжут	21 (взрослые/дети)	0,10–0,67 ^(b) (NA)	2,1–3,8 ^(b) (NA)	7,6–10,6 ^(b) (NA)	–	–	–	[20]
Креветки	48 (взрослые)	3,7–6,1 ^(b) (NA)	73,6–127 ² (NA)	284–500 ^(b) (NA)	–	–	–	[20]
	28 (в основном взрослые)	–	–	~2 500 (1 100–6 300)	–	–	–	[21]
Рыба	34 (взрослые/дети)	–	–	25,8–32,6 (4,8–203,8)	–	–	–	[21]
Сельдерей	41 (в основном взрослые)	–	–	1,6–2,8 (0,2–30,0)	–	–	–	[21]

(a) — выражается в миллиграммах общего аллергенного белка, если не указано иное;

(b) — в зависимости от используемой модели распределения (например, модели логарифмически нормального распределения, модели логарифмически-логистического распределения, модели распределения Вейбулла);

NR — не сообщается;

NA — числовые данные отсутствуют, в оригинальной публикации представлены только графические данные;

CI — доверительный интервал.

в диагностических и испытательных целях для оценки индивидуальных пороговых значений. ED_{01} , ED_{05} и ED_{10} были оценены для 11 аллергенных продуктов (куриное яйцо, коровье молоко, арахис, лесной орех, кешью, соя, пшеница, горчица, люпин, кунжут и креветки) с использованием нормального логарифмического распределения, логарифмически-логистического распределения и модели распределения Вейбулла для объективных реакций (Таблица 1). Оценки были получены как для дискретных, так и для кумулятивных доз. Для сельдерея и рыбы не было обнаружено индивидуальных пороговых данных ниже прогнозируемого ED_{30} , поэтому оценка более низкого ED_p путем экстраполяции для данных аллергенов была признана нецелесообразной.

Был проведен анализ чувствительности, чтобы оценить, влияют ли тип аллергена, возраст, пол, популяция пациентов, географический регион и тестируемый материал (т. е. пищевая матрица, используемая для пероральных проблем) на расчетную ED_p . Горчица и яйцо были самыми сильнодействующими аллергенными продуктами, за ними следовали арахис и молоко, тогда как соя и креветки были наименее сильными аллергенами. Только данные по арахису и фундуку позволили провести анализ чувствительности по возрасту (как и ожидалось, данные о коровьем молоке и яйцах были в основном у детей, поскольку аллергия на эти продукты, как правило, чаще встречается в детском возрасте и с годами почти исчезает). ED_{05} и ED_{10} были сопоставимыми для арахиса у взрослых и детей, но разными для фундука (ED_{05} оценивает 1,2 мг и 4,0 мг белка фундука соответственно).

Только данные по арахису и молоку позволяют проводить анализ по географическим регионам. Согласно исследованиям, проведенным в Великобритании, ED_{05} и ED_{10} оценки для арахиса в Соединенном Королевстве значительно более низкие по сравнению с другими регионами (США, Франция, Нидерланды) [20,26]. Неясно, связано ли это различие с различиями в отборе пациентов, а не с географическими различиями в реактивности пациентов. Подобный ED_{05} и ED_{10} были оценены для Италии и Нидерландов для молока, которые были значительно ниже, чем оценки для Австралии, где первоначальные пероральные проблемы начинались с более высоких доз молочного белка. Использование измельченного арахиса по сравнению с арахисовой мукой или использование жидкого молока по сравнению с обезжиренным сухим молоком при пероральных проблемах не повлияло на нижний предел порогового распределения. Однако для точной оценки минимальной пороговой дозы, вызывающей аллергическую реакцию, для сырых, вареных, жареных, запеченных куриных яиц понадобилось больше клинических данных [20,26].

Также ED_{10} были оценены для молока, яйца, арахиса, фундука, сельдерея, рыбы и креветок с использованием данных о пероральном заражении из проекта EuroPrevall с применением стандартизированных низких доз DBPCFC, специально разработанных для оценки индивидуальных пороговых значений [21]. Распределение кумулятивной дозы индивидуальных пороговых значений с учетом либо LOAEL, либо метода ICSA было рассчитано при помощи модели логарифмически нормального распределения, модели логарифмически-логистического распределения, модели распределения Вейбулла. Распределение доз моделировалось с использованием объективных реакций (признаков), субъективных реакций (симптомов) или любых реакций (в зависимости от того, что наступило раньше). В то время как примененная математическая модель не повлияла на ED_{10} значительно, они обычно были ниже при использо-

вании метода ICSA, чем LOAEL (порог, который вызывает реакцию, по сравнению с более низкой дозой, при которой наблюдается реакция), и значительно ниже при использовании субъективных реакций или любых реакций по сравнению только с объективными реакциями. ED_{10} , оцененные на основе объективных реакций с использованием метода ICSA для вышеупомянутых аллергенов, приведены в Таблице 2.

Имитационное исследование было проведено для изучения влияния размера выборки, модели распределения (модели логарифмически нормального распределения, модели логарифмически-логистического распределения, модели распределения Вейбулла) и четырех схем дозирования для оценки ED_{01} , ED_{05} , ED_{10} и ED_{50} [27]. Для моделирования были выбраны арахис, яйца и соя, поскольку аллергенные белки, содержащиеся в них, обладают разной активностью. Систематическая ошибка и точность оценки в этих условиях испытаний улучшались с каждым шагом в размере выборки от $n = 20$ до $n = 60$, предполагая, что $n = 60$ или больше потребуется для получения стабильных оценок пороговых распределений для вышеупомянутых аллергенных продуктов. По сравнению с обычной схемой дозирования EuroPrevall, все другие схемы дозирования снижали точность расчета ED_p , особенно для небольших выборок. Однако для менее сильнодействующих аллергенов (например, сои) может потребоваться адаптация стандартной схемы дозирования EuroPrevall.

4. Оценка воздействия

Показатель, необходимый для оценки риска аллергена, представляет собой количество аллергенного пищевого продукта/ингредиента, потребляемого субъектами, страдающими аллергией, на этот аллергенный пищевой продукт/ингредиент за один прием пищи. Данные исследований об употреблении продуктов питания, проведенных среди всего населения или отдельных его подгрупп (например, детей, подростков, пожилых людей), доступны в различных зарубежных источниках. Однако эти исследования проводились, как правило, не с целью дальнейшей оценки риска аллергенов (информация о пищевом аллергическом статусе участников обычно отсутствует; данные о потреблении пищи сообщаются за целый день, а не за каждый прием пищи). Кроме того, в информации о составе пищевых продуктов не учитываются конкретные аллергены, присутствующие во всей употребленной пище [8].

Исследования потребления пищевых продуктов должны быть адаптированы для получения данных о моделях потребления продуктов питания у лиц с пищевой аллергией и для изучения того, как компоненты этих продуктов проявляют себя в организме здорового человека.

4.1. Подходы к оценке риска для определения референтных доз

Для оценки риска аллергенов было предложено три различных подхода: (i) традиционная оценка риска с использованием NOAEL и факторов неопределенности; (ii) подход BMD и маржи воздействия (Margin of Exposure (MoE)); и (iii) вероятностные модели. Эти подходы могут использоваться для принятия различных решений по управлению рисками при маркировке аллергенов. Преимущества и недостатки каждого подхода к оценке риска аллергенов подробно рассматривались в других источниках [8,28].

4.2. Традиционная оценка риска с использованием NOAEL и учетом факторов неопределенности

Этот подход допускает низкий уровень риска. Он применяет NOAEL/LOAEL и учитывает различные факторы нео-

пределенности — например, фактор постоянно меняющихся потребностей общества, настроений и желаний потребителя. При помощи традиционной оценки риска определяется степень неблагоприятного воздействия на здоровье человека в случае возникновения наиболее сильной аллергической реакции. Это нужно для выявления референтных доз для определенного аллергенного пищевого продукта/ингредиента. При таком методе оценки риска возможно получение значений уровней действия возбудителя (action levels), которые находятся ниже пределов обнаружения некоторых аллергенов по имеющимся данным.

4.3. Подход, основанный на контрольной дозе и марже воздействия

Маржа воздействия (MoE) — это нижний доверительный предел эталонной дозы $BMDL_{10}$ (benchmark dose (lower confidence limit)) индивидуального порогового распределения для аллергенного пищевого продукта/ингредиента, деленная на оценку воздействия такого аллергенного пищевого продукта/ингредиента. Чем выше MoE, тем ниже вероятность аллергической реакции у аллергиков. MoE сильно зависит от оценки воздействия аллергена, выбранной для данного подхода (например, ожидаемое максимальное воздействие, 95-й процентиль всего населения, 95-й процентиль страдающего аллергией населения, 95-й процентиль только потребителей и т. д.). Был опубликован пример того, как подход BMD и MoE можно использовать для определения уровней действия арахиса в пищевых продуктах [28].

ED_p можно использовать для получения референтных доз путем определения уровня риска, который может быть приемлемым (т. е. процент аллергической популяции, которая будет защищена). Референтные дозы, основанные на оценках ED_p , рассчитанные Remington [20], были получены для использования в пищевой промышленности для добровольной маркировки аллергенов, непреднамеренно присутствующих в пищевых продуктах [29]. ED_{01} (для арахиса и молока), комбинация ED_{01} и 95% более низких доверительных интервалов ED_{05} (для яиц и фундука) или 95% более низких доверительных интервалов ED_{05} (для сои, пшеницы, кешью, горчицы, люпина, кунжута и креветок) были использованы для определения референтных доз. Выбор зависел от того, насколько надежными (на основе количества и качества имеющихся данных) оказались оценки низкого ED_p для каждого аллергенного продукта питания.

Наименьшие референтные дозы были определены для горчицы (0,05 мг общего аллергенного белка) и яиц (0,03 мг общего аллергенного белка), затем следовали молоко и лесной орех (0,1 мг общего аллергенного белка), а также арахис и семена кунжута (0,2 мг общего аллергенного белка). Более высокие референтные дозы были предложены для сои и пшеницы (1 мг общего аллергенного белка), кешью (2 мг общего аллергенного белка) и люпина (4 мг общего аллергенного белка), а самые высокие — для креветок (10 мг общего аллергенного белка) [26, 29]. Уровни действия, рассчитанные на основе референтных доз, должны учитывать количество пищевого продукта, потребляемого за один прием пищи, концентрацию аллергенного пищевого продукта/ингредиента в пищевом продукте и совместное потребление с другими продуктами питания, также содержащими аллергенный пищевой продукт/ингредиент.

5. Вероятностные модели

Был предложен вероятностный подход к оценке риска возникновения пищевой аллергии [28,30]. Этот подход оценивает распределение вероятности потребления аллергенной пищи (например, арахиса) в данной популяции (исходя из наличия и концентрации аллергенной пищи в пищевом продукте, вероятности того, что человек, страдающий аллергией, потребляет эту пищу, и количества потребляемой пищи за один раз) и порогового распределения вероятности для этого аллергенного продукта питания (например, арахиса) в той же популяции (на основе индивидуальных MED, представленных в DBPCFC или рассчитанных на их основе). Путем сравнения распределения пороговых значений вероятности с распределением вероятностей потребления аллергенной пищи предсказывается вероятность возникновения аллергической реакции при контакте с аллергенными пищевыми продуктами.

Поскольку входные переменные могут быть изменены независимо, методика вероятностной оценки риска может использоваться для определения доли аллергического населения, которое может пострадать от реакции организма из-за наличия определенного уровня аллергена в пищевом продукте. Также данная методика оценки риска применяется для прогнозирования влияния снижения концентрации аллергенов в пищевых продуктах или для прогнозирования аналитической чувствительности, необходимой для определенного уровня защиты. Однако из-за отсутствия фактических данных о частоте возникновения аллергических реакций среди населения в условиях, определенных в вероятностных моделях, формальная проверка надежности этих моделей в настоящее время отсутствует [28].

Был проведен анализ чувствительности, чтобы определить, как изменения входных переменных (как MED, так и компонентов воздействия) влияют на выходные данные. По результатам исследования был сделан вывод о том, что как расположение распределения MED, так и доля населения, потребляющего пищу, имеют большое влияние на количество аллергических реакций [31]. Вероятностная модель была эффективно использована для оценки влияния присутствия молочных белков в горьком шоколаде после сообщения об аллергической реакции у потребителя [32].

6. Заключение

Для оценки риска воздействия аллергенов были предложены различные подходы, которые можно использовать для принятия обоснованных решений по управлению рисками при маркировке аллергенов. В научном мире нет единого мнения о количествах и тяжести воздействия аллергенов. Различия в методиках оценки концентрации аллергена, методологиях оценки риска, разбросы пороговых значений аллергенов, способных нанести значительный вред здоровью потребителя, свидетельствует как об активном поиске решений, так и о необходимости надлежащей идентификации и управления этим риском. Надежность оценок угрозы будет зависеть от типа, качества и количества данных, используемых для определения как популяционных пороговых значений (или пороговых распределений), так и степени воздействия аллергенного пищевого продукта/ингредиента на конкретного индивидуума. Целью такой оценки является поиск решений по управлению рисками непреднамеренного попадания аллергенов при производстве пищевой продукции.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК/ REFERENCES

- Messina, M., Venter, C. (2020). Recent surveys on food allergy prevalence. *Nutrition Today*, 55(1), 22–29. <https://doi.org/10.1097/nt.0000000000000389>
- Muraro, A., Werfel, T., Hoffmann-Sommergruber, K., Roberts, G., Beyer, K., Bindslev-Jensen, C. et al. (2014). EAACI food allergy and anaphylaxis guidelines: Diagnosis and management of food allergy. *Allergy: European Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 69(8), 1008–1025. <https://doi.org/10.1111/all.12429>
- Yeung, J., Robert, M. — C. (2018). Challenges and path forward on mandatory allergen labeling and voluntary precautionary allergen labeling for a global company. *Journal of AOAC International*, 101(1), 70–76. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.17-0391>
- Gendel, S.M. (2018) Food allergen recalls: The past as prologue. Chapter in a book: Food allergens. Food microbiology and food safety. Springer, Cham, 2018. https://doi.org/10.1007/978-3-319-66586-3_5
- Allen, K. J., Taylor, S. L. (2018). The consequences of precautionary allergen labeling: Safe haven or unjustifiable burden? *Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*, 6(2), 400–407. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2017.12.025>
- Blom, W. M., Michelsen-Huisman, A. D., van Os-Medendorp, H., van Duijn, G., de Zeeuw-Brouwer, M. -L., Versluis A. et al. (2018). Accidental food allergy reactions: Products and undeclared ingredients. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 142(3), 865–875. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2018.04.041>
- Zurzolo, G. A., Allen, K. J., Peters, R. L., Dharmage, S. C., Tang, M. L. K., Said, M. et al. (2019). Self-reported anaphylaxis to packaged foods in Australia. *Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*, 7(2), 687–689. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2018.09.006>
- Crevel, R. W. R., Baumert, J. L., Baka, A., Houben, G. F., Knulst, A. C., Kruizinga, A. G. et al. (2014). Development and evolution of risk assessment for food allergens. *Food and Chemical Toxicology*, 67, 262–276. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.01.032>
- Blom, W. M., Vlieg-Boerstra, B. J., Kruizinga, A. G., Van Der Heide, S., Houben, G. F., Dubois, A. E. J. (2013). Threshold dose distributions for 5 major allergenic foods in children. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 131(1), 172–179. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2012.10.034>
- Taylor, S. L., Gendel, S. M., Houben, G. F., Julien, E. (2009). The key events dose-response framework: A foundation for examining variability in elicitation thresholds for food allergens. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49(8), 729–739. <https://doi.org/10.1080/10408390903098707>
- Vandekerckhove, M., Van Droogenbroeck, B., De Loose, M., Coudijzer, K., Van Winckel, M., Gevaert, P. et al. (2019). A novel double-blind, placebo-controlled food challenge matrix for milk and raw egg. *International Archives of Allergy and Immunology*, 179(1), 1–9. <https://doi.org/10.1159/000494622>
- Taylor, S. L., Hefle, S. L., Bindslev-Jensen, C., Bock, S. A., Burks Jr., A. W., Christie, L. et al. (2002). Factors affecting the determination of threshold doses for allergenic foods: How much is too much? *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 109(1), 24–30. <https://doi.org/10.1067/mai.2002.120564>
- Wensing, M., Penninks, A. H., Hefle, S. L., Koppelman, S. J., Bruijnzeel-Koomen, C. A. F. M., Knulst, A. C. (2002). The distribution of individual threshold doses eliciting allergic reactions in a population with peanut allergy. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 110(6), 915–920. <https://doi.org/10.1067/mai.2002.129235>
- Houhane, J. O. 'B., Kilburn, S. A., Nordlee, J. A., Hefle, S. L., Taylor, S. L., Warner, J. O. (1997). An evaluation of the sensitivity of subjects with peanut allergy to very low doses of peanut protein: A randomized, double-blind, placebo-controlled food challenge study. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 100(5), 596–600. [https://doi.org/10.1016/S0091-6749\(97\)70161-1](https://doi.org/10.1016/S0091-6749(97)70161-1)
- Grimshaw, K. E. C., King, R. M., Nordlee, J. A., Hefle, S. L., Warner, J. O., Hourihane, J. O. (2003). Presentation of allergen in different food preparations affects the nature of the allergic reaction — A case series. *Clinical and Experimental Allergy*, 33(11), 1581–1585. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2222.2003.01795.x>
- Moneret-Vautrin, D. A., Kanny, G. (2004). Update on threshold doses of food allergens: Implications for patients and the food industry. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology*, 4(3), 215–219. <https://doi.org/10.1097/00130832-200406000-00014>
- Morisset, M., Moneret-Vautrin, D. A., Kanny, G., Guénard, L., Beaudouin, E., Flabbée, J. et al. (2003). Thresholds of clinical reactivity to milk, egg, peanut and sesame in immunoglobulin E-dependent allergies: Evaluation by double-blind or single-blind placebo-controlled oral challenges. *Clinical and Experimental Allergy*, 33(8), 1046–1051. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2222.2003.01734.x>
- Sampson, H. A., Gerth Van Wijk, R., Bindslev-Jensen, C., Sicherer, S., Teuber, S. S., Burks, A. W. et al. (2012). Standardizing double-blind, placebo-controlled oral food challenges: American academy of allergy, asthma & immunology-european academy of allergy and clinical immunology PRACTALL consensus report. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 130(6), 1260–1274. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2012.10.017>
- EFSA NDA Panel (EFSA Panel on dietetic products, nutrition and allergies) (2014). Scientific opinion on the evaluation of allergenic foods and food ingredients for labelling purposes. *EFSA Journal*, 12(11), 3894. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2014.3894>
- Remington, B. (2013). Risk assessment of trace and undeclared allergens in processed foods. Dissertations & Theses in Food Science and Technology, Paper 32. Retrieved from <https://digitalcommons.unl.edu/foodscidiss/32> Accessed September 25, 2021
- Pacholek, B., Sady, S., Kupińska-Adamczyk, E. (2018). Management of food allergens in the food industry. *Journal of Agribusiness and Rural Development*, 47(1), 73–80 <https://doi.org/10.17306/j.jard.2018.00388>
- Eller, E., Hansen, T. K., Bindslev-Jensen, C. (2012). Clinical thresholds to egg, hazelnut, milk and peanut: Results from a single-center study using standardized challenges. *Annals of Allergy, Asthma and Immunology*, 108(5), 332–336. <https://doi.org/10.1016/j.anaai.2012.03.010>
- Ballmer-Weber, B. K., Holzhauser, T., Scibilia, J., Mittag, D., Zisa, G., Ortolani, C. et al. (2007). Clinical characteristics of soybean allergy in Europe: A double-blind, placebo-controlled food challenge study. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 119(6), 1489–1496. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2007.01.049>
- Taylor, S. L., Crevel, R. W. R., Sheffield, D., Kabourek, J., Baumert, J. (2009). Threshold dose for peanut: Risk characterization based upon published results from challenges of peanut-allergic individuals. *Food and Chemical Toxicology*, 47(6), 1198–1204. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.02.011>
- Taylor, S. L., Moneret-Vautrin, D. A., Crevel, R. W. R., Sheffield, D., Morisset, M., Dumont, P. et al. (2010). Threshold dose for peanut: Risk characterization based upon diagnostic oral challenge of a series of 286 peanut-allergic individuals. *Food and Chemical Toxicology*, 48(3), 814–819. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.12.013>
- Allen, K. J., Remington, B. C., Baumert, J. L., Crevel, R. W. R., Houben, G. F., Brooke-Taylor, S. et al. (2014). Allergen reference doses for precautionary labeling (VITAL 2.0): Clinical implications. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 133(1), 156–164. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2013.06.042>
- Klein Entink, R. H., Remington, B. C., Blom, W. M., Rubingh, C. M., Kruizinga, A. G., Baumert, J. L. et al. (2014). Food allergy population thresholds: An evaluation of the number of oral food challenges and dosing schemes on the accuracy of threshold dose distribution modeling. *Food and Chemical Toxicology*, 70, 134–143. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2014.05.001>
- Madsen, C. B., Hattersley, S., Buck, J., Gendel, S. M., Houben, G. F., Hourihane, J. O. et al. (2009). Approaches to risk assessment in food allergy: Report from a workshop “developing a framework for assessing the risk from allergenic foods”. *Food and Chemical Toxicology*, 47(2), 480–489. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.12.001>
- Taylor, S. L., Baumert, J. L., Kruizinga, A. G., Remington, B. C., Crevel, R. W. R., Brooke-Taylor, S. et al. (2014). Establishment of reference doses for residues of allergenic foods: Report of the VITAL expert panel. *Food and Chemical Toxicology*, 63, 9–17. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2013.10.032>
- Spanjersberg, M. Q. I., Kruizinga, A. G., Rennen, M. A. J., Houben, G. F. (2007). Risk assessment and food allergy: The probabilistic model applied to allergens. *Food and Chemical Toxicology*, 45(1), 49–54. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2006.07.018>
- Kruizinga, A. G., Briggs, D., Crevel, R. W. R., Knulst, A. C., Bosch, L. M. C. v. d., Houben, G. F. (2008). Probabilistic risk assessment model for allergens in food: Sensitivity analysis of the minimum eliciting dose and food consumption. *Food and Chemical Toxicology*, 46(5), 1437–1443. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.109>
- Spanjersberg, M. Q. I., Knulst, A. C., Kruizinga, A. G., van Duijn, G., Houben, G. F. (2010). Concentrations of undeclared allergens in food products can reach levels that are relevant for public health. *Food Additives and Contaminants — Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 27(2), 169–174. <https://doi.org/10.1080/19440040903317513>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p>Крюченко Елизавета Вячеславовна — ведущий инженер, Отдел «Технического регулирования и систем управления качеством», Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, г. Москва, ул. Талалихина, д. 26 Тел.: +7-495-676-61-21 E-mail: l.kryuchenko@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5805-3055</p>	<p>Elizaveta V. Kryuchenko, Lead Engineer, Department of technical regulation and food safety systems, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems Talalikhina str., 26, 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-61-21 e-mail: l.kryuchenko@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5805-3055</p>
<p>Кузлякина Юлия Алексеевна — кандидат технических наук, старший научный сотрудник, Отдел «Технического регулирования и систем управления качеством», Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-61-21 E-mail: yu.kuzlyakina@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2152-620X * автор для контактов</p>	<p>Yulya A. Kuzlyakina, Candidate of Technical Sciences, Chief Researcher, Department of technical regulation and food safety systems, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-61-21 e-mail: yu.kuzlyakina@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2152-620X * corresponding author</p>
<p>Чернуха Ирина Михайловна — доктор технических наук, профессор, академик РАН, главный научный сотрудник, Экспериментальная клиника-лаборатория биологически активных веществ животного происхождения, Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, г. Москва, ул. Талалихина, 26 Тел.: +7-495-676-95-11 доб. 109 E-mail: imcher@inbox.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4298-0927</p>	<p>Irina M. Chernukha, Doctor of technical sciences, Professor, Academician of RAS, Principal Researcher, Experimental clinic-laboratory of biologically active substances of animal origin V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-95-11 (109) E-mail: imcher@inbox.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0003-4298-0927</p>
<p>Замула Валентина Святославовна — кандидат технических наук, ведущий инженер, Отдел «Технического регулирования и систем управления качеством», Федеральный научный центр пищевых систем им. В. М. Горбатова 109316, г. Москва, ул. Талалихина, д. 26 Тел.: +7-495-676-61-21 E-mail: v.zamula@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1634-1486</p>	<p>Valentina S. Zamula, Candidate of technical sciences, lead engineer, Department of technical regulation and food safety systems, V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems 26, Talalikhina str., 109316, Moscow, Russia Tel.: +7-495-676-61-21 e-mail: v.zamula@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1634-1486</p>
Критерии авторства	Contribution
<p>Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат</p>	<p>Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism</p>
Конфликт интересов	Conflict of interest
<p>Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов</p>	<p>The authors declare no conflict of interest</p>

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-4-255-258>

Received 06.10.2021

Accepted in revised 08.11.2021

Accepted for publication 25.11.2021

© Abdalla S. Ammar, Wael A. Bazaraa, 2021

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

Review article

Open access

JUICE NANOTECHNOLOGY: A MINI REVIEW

Abdalla S. Ammar*, Wael A. Bazaraa

Cairo University, Faculty of Agriculture, Giza, Egypt

KEY WORDS:

green synthesis, nanojuice, nanomilling, nanofiltration, nanopackaging, regulation

ABSTRACT

In the past two decades, nano-science is widely used in different applications and the increased interest in the utilization of nanoparticles in food processing is clear. Such applications include processing, packaging, development of functional food, safety, foodborne pathogens detection, and shelf-life extension. In this article, the essential facts and the latest uses of nano-science in fruit and vegetable juices were described. The green synthesis of nanoparticles with antioxidant, antibacterial and antifungal characteristics is of great interest in food preservation. These nanoparticles such as metals, oxidized metals and its bioactivity in juice were reviewed. The current procedures to prepare nanojuice including nanofiltration and the most recent nanomilling were presented. Beside the preparation, special emphasis has also been given to the chemical as well as the biological (microbial and enzymatic) quality of the produced nanojuice. The role of nanotechnology in the development of the smart and the active food packaging systems for the improvement of food shelf- life and quality was also discussed. Since the physical and chemical characteristics of nanoparticles are completely different from those of macro-size. Therefore, special and urgent attention by responsible authorities should be given and effective policies should be applied for food products to ensure product quality, customer health and safety as well as the environmental protection.

Поступила 06.10.2021

Поступила после рецензирования 08.11.2021

Принята в печать 25.11.2021

© Аммар А. С., Базараа В. А., 2021

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

Обзорная статья

Open access

НАНОТЕХНОЛОГИЯ СОКА: МИНИ-ОБЗОР

Аммар А. С. *, Базараа В. А.

Каирский Университет, Гиза, Египет

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

зеленый синтез, нано-сок, нано-измельчение, нано-фильтрация, нано-упаковка, регулирование

АННОТАЦИЯ

В последние два десятилетия нанонаука широко используется в различных областях и очевиден повышенный интерес к применению наночастиц при переработке пищевых продуктов. Такие области включают переработку, упаковку, разработку функциональных продуктов, безопасность, обнаружение пищевых патогенов и продление сроков хранения. В данной статье описаны важнейшие факты и современное применение нанонауки для фруктовых и овощных соков. Большой интерес вызывает зеленый синтез наночастиц с антиоксидантными, антибактериальными и противогрибковыми свойствами для увеличения сроков хранения пищевых продуктов. Сделан обзор наночастиц, таких как металлы, некоторых видов их оксидов и окислов, и их биологическая активность в соке. Приведены современные процедуры для производства нано-соков, включая нано-фильтрацию и самое современное нано-измельчение. Помимо производства, особый акцент в обзоре сделан на химических, а также биологических (микробиологических и ферментативных) качественных характеристиках произведенных нано-соков. Также обсуждена роль нанотехнологии в развитии систем «разумной» и активной упаковки для увеличения сроков хранения и улучшения качества пищевых продуктов. Показано, что физические и химические характеристики наночастиц полностью отличаются от характеристик частиц макроразмера. Сделан вывод о том, что производителям пищевой продукции при использовании новых технологий должно уделяться особое внимание обеспечению ее качества для сохранения доверия потребителей. При этом контролирующими и регулирующими организациями должна проводиться эффективная политика по обеспечению безопасности пищевой продукции, сохранности здоровья потребителей и защиты окружающей среды.

1. Introduction

Nanotechnology is a field of science that concerned with controlling the material on the scale of atoms and molecules. Such small particles ranged from 1 to 100 nm in diameter with a high surface-to-volume ratio, which essentially allows them to be more active and dispersed than their larger one. They provide a lot of food implementations i. e., processing, packing, storing, handling, bioactivity as well as food safety [1]. Nanoparticles (NP) are usually produced by crushing molecules into nano-scale particles (top-down) or rearranging it (bottom-up) to produce nano-sized particles with new proper-

ties [2]. Low fat, sugar and salt diets could be produced using nanotechniques [3].

Any food cultivated, produced, processed or packed using nanotechniques as well as with added NP, is called nanofood [4, 5]. Nanojuice (NJ) aims to increase nutritional value and avoid the failure of juice quality. NJ possesses unique characteristics such as crossing the body's natural barriers, entering into cells or the bloodstream and even through the cell wall surrounding the brain. As a result NJ constituents i. e., antioxidants, antimicrobials, natural pigments, biomolecules and other bioactive compounds will be more nutritious and active inside the body.

FOR CITATION: Ammar, A.S., Bazaraa, W.A. (2021). Juice nanotechnology: A mini review. *Food systems*, 4(4), 255-258. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-4-255-258>

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Аммар, А. С., Базараа, В. А. (2021). Нанотехнологии сока. Мини-обзор. *Пищевые системы*, 4(4), 255-258. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-4-255-258>

NP improved taste, flavor, consistency, stability and texture of food products. Also, enhanced bioactivity of nano nutraceuticals was achieved [6,7,8]. Phyto-NP showed higher antioxidant activity than macromolecules. This may be due to the high surface area of NP that resulted in increasing chemical activity [9]. NJ minerals (i. e., Fe, Ca, K, Cu, Zn...etc.) could be better absorbed by the body to tackle deficiency. Due to the limited knowledge concerning NJ, therefore, this article aims to provide the basic facts regarding the recent uses of nanotechniques in juice processing and packing as well as safety, health concerns and regulation.

2. Juice nano-processing

Literature revealed the use of filtration or milling techniques to achieve nanoparticles juice (NPJ). Nanofiltration utilizing filters with pores of nano-size was used by many authors for clarification, concentration, stabilization, discoloration and pigments separation of juices (Table 1). Nanofiltration was successfully used in concentrating strawberry juice maintaining of its bioactive phenolic compounds [10] and in improving the quality of pear juices [11]. De-coloration of dark apple and grape juices was carried out by physical separation of melanoidins using nanofiltration membranes and the color characteristics of the only apple juice became closer to the non-browned juice [12]. Procyanidin was separated from grape juice utilizing nanofilters and the main advantages were: rapid separation, energy efficient, and with no oxidization loss [13]. The Korean dongchimi nanojuice (alternative health soft drink) was prepared via fermentation followed by nanofiltration instead of using heat treatment and the nanofiltered juice used as anti-adipogenic agent [14]. Nanomilling was utilized for the first time [15] in the preparation of NP orange juice (NPOJ) (Figure 1). The prepared juice exhibited high sensory scores, lower pectin methylesterase activity and as a result lower juice separation as well as higher microbiological quality (Table 2).

Table 1

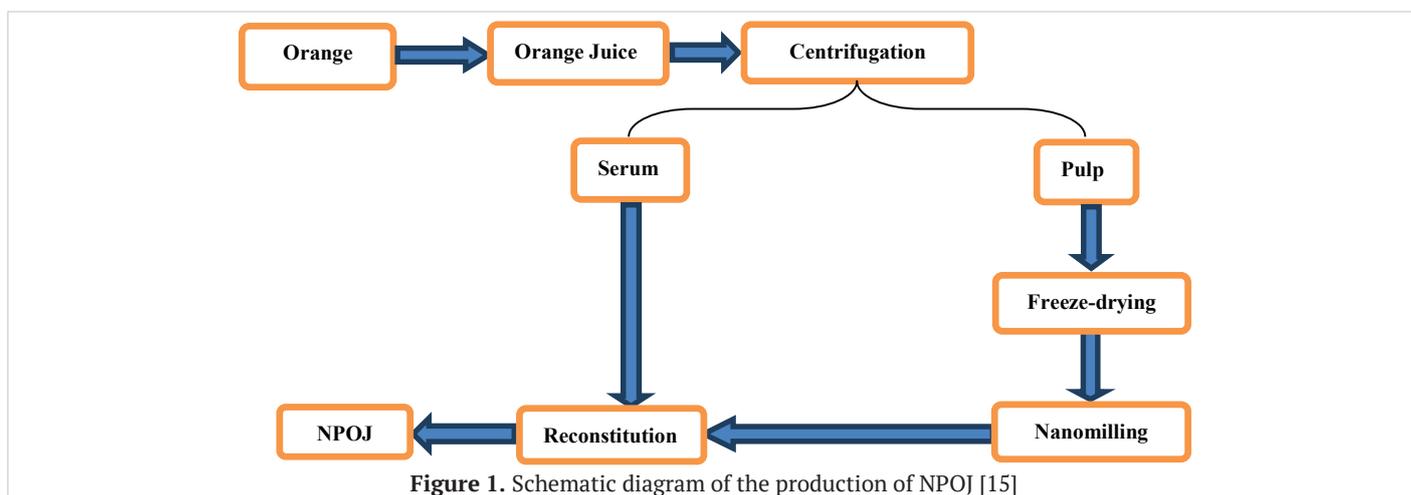
Juice nanofiltration		
Juice type	Action	References
Apple and Pear	higher concentration	[16]
Apple and Grape	melanoidins separation	[12]
Pear	enhance stability and shelf life	[11]
Amla	improve color, clarity and valuable component.	[17]
Grape	procyanidin separation	[13]
Strawberry	efficient concentration with maintenance of phenolic compounds	[10]
Apple	juice with 30% less sugar	[18]

Table 2
pH values, ascorbic acid content, pectin methylesterase activity (PME), psychrotrophs and yeast and mold counts of fresh OJ, pasteurized OJ and NPOJ with freeze dried kiwi (0.3%, w/w) [15]

Parameter	Fresh OJ	Pasteurized OJ (70 °C/5 min)	NPOJ
pH	3.67±0.18	3.70±0.07	3.71±0.12
Ascorbic acid (mg/100g)	44.00±0.80	18.97±0.08	28.50±0.24
PME (U ml ⁻¹ min ⁻¹)	4.49±0.00	0.34±0.30	0.26±0.14
Psychrotrophs (log ₁₀ CFU ml ⁻¹)	3.01±0.04	2.08±0.06	1.63±0.18
Yeasts & Molds (log ₁₀ CFU ml ⁻¹)	2.70±0.02	1.50±0.08	1.61±0.30

3. Green synthesis of NP

Green synthesis of NPs with antioxidant, antibacterial and antifungal characteristics is of great interest in food preservation [19]. In general, various synthetic methods include physical, chemical and biochemical (green) techniques were used for the production of nano-sized silver particles (AgNPs). The reduction by chemical procedures is widely used since it generates AgNPs on large scale under gentle conditions. However, it exhibited side toxic compounds which may have adverse impact in the medical uses and environment. Therefore, the synthesis of AgNPs by green method has many advantages over those obtained by physical and chemical means as it is eco-friendly, cost effective, and generated under mild conditions [19]. The metal such as silver nitrate was used as the silver precursor, while the fruit juices were used as reducing and stabilizing agents. Green synthesized AgNPs, as an antimicrobial agent, were used in lime, lemon, orange and grape juices against *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis* [20]. Zirconium nitrate NPs (ZrNPs) were prepared using orange juice and orange peel extract, as green reducing agent and stabilizer [19]. They studied the antimicrobial, anti-inflammatory and antioxidant activities of the synthesized ZrNPs. Recently, nano-sized iron particles (zero valent) encapsulated in carbon were synthesized and used for destroying patulin in apple juice [21]. More recent, fresh apple juice was clarified using nano powders of both silicon dioxide (SiO₂) and titanium dioxide (TiO₂) [22]. Their clarifying abilities were higher than that of bentonite clay. Commercially SiO₂ and TiO₂ are widely utilized as food additives in many food products (E551 and E171, respectively) [23].



4. Juice nano-packaging

Good packing substances should be gas and moisture impermeable in addition to accepted mechanical strength and biodegradability. Nanotechnology has a great role in the development of the smart (contains specific sensor to indicate about the internal condition of the product in form of signals) and the active (contains specific system such as antioxidant or antimicrobial agents to modify the environmental conditions for extending shelf life and improving food safety) food packaging systems. Both types exhibit several benefits over the traditional packaging methods since they can provide better packaging characteristics such as enhanced mechanical strength, barrier characteristics, antimicrobial activity, and ability to specific pathogenic bacteria detection and alerting consumer's attention to product safety [24]. Incorporating NPs of inorganic metals and metal oxides (i. e. Ag, Fe, TiO₂, ZnO, MgO, SiO₂) and carbon within packaging materials, a novel packaging material with potent antimicrobial activity could be performed with more stability in extreme conditions [25]. Several AgNPs based packaging materials with high antimicrobial activities are available in markets [26]. Packages containing nanosilver effectively increased the quality of fresh orange juice [27]. Nanocomposite and nanolaminates also give an extra protection against extreme thermal and mechanical conditions leading to the improvement in food quality [28].

5. Nanojuice safety and regulation

There are several benefits of the applied nanotechniques in food processing. However, safety of the NP should be well considered since the physical and chemical characteristics in nano-size are completely different from those of macro-size. For example issues such as: the partitioning of NPs from packaging materi-

als into food [29], and the bioaccumulation of these small size particles within human body [30] should be carefully evaluated. Each NP type has its own characteristic and therefore, toxicity research should be separately founded [31]. Therefore, responsible authorities should apply effective guidelines and policies for food products to ensure product quality, customer health and safety as well as the environmental protection. In the USA, the US-FDA is involved in the regulation of nanofoods, while the Food Standards Australia and New Zealand (FSANZ), a regulatory body under the Food Standards Code actively participates in the regulation of nanofood additives and ingredients in Australia [26]. Risk assessment of nanotechnology in the European Union is performed by the Scientific Committee on Emerging and Newly Identified Health Risks (SCENIHR). The nanofood or food ingredients are completely covered by the European Union Novel Foods Regulation (EC258–97) [32]. Japan and China are the major nano-size materials producing countries. However, they do not have the proper needed legislations [33]. The lack of nanojuice and nanofood legislations in many countries is due to knowledge gap concerning exposure, availability, and toxicity of these materials to human body. Therefore, urgent need of accepted international regulatory system for the regulation of the use of NPs in food processing [26].

6. Conclusion and future perspectives

Currently, nanotechniques play an important role in food industry. It well contributes to the texture, taste, appearance, shelf life and the bioavailability of nutrients of the Food. Although the advances in nanotechnology are clear, however, the current level of research concerning nanojuice is still at research and development stage. Many challenges to improve such technology and to assess its safety are needed to establish customer trust.

REFERENCES

- Bajpai, V. K., Kamle, M., Shukla, S., Mahato, D. K., Chandra, P., Hwang, S. K. et al. (2018). Prospects of using nanotechnology for food preservation, safety and security. *Journal of Food and Drug Analysis*, 26(4), 1201–1214. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.06.011>
- Peters, R. J. B., Bouwmeester, H., Gottardo, S., Amenta, V., Arena, M., Brandhoff, P. et al. (2016). Nanomaterials for products and application in agriculture, feed and food. *Trends in Food Science and Technology*, 54, 155–164. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.06.008>
- Berekaa, M.M. (2015). Nanotechnology in food industry; advances in food processing, packaging and food safety. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 4(5), 345–357.
- Mousavi, S.R., Rezaei, M. (2011). Nanotechnology in Agriculture and Food Production. *Journal of Applied Environmental and Biological Science*, 1(10), 414–419.
- Gilligan, B.K. (2008). Nanny, Nano, Boo, Boo Food? Retrieved from <http://www.towerofbabel.com/blog/2008/08/28/nanny-nano-boo-boo-food/>. Accessed September 05, 2021
- Chaudhry, Q., Scotter, M., Blackburn, J., Ross, B., Boxall, A., Castle, L. et al. (2008). Applications and implications of nanotechnologies for the food sector. *Food Additives and Contaminants – Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment*, 25(3), 241–258. <https://doi.org/10.1080/02652030701744538>
- Chaudhry, Q., Castle, L., Watkins, R. (2010). *Nanotechnologies in Food*. Royal Society of Chemistry Publishers, Cambridge, UK. <https://doi.org/10.1039/9781847559883>
- Momin, J.K., Jayakumar, C., Prajapati, J.B. (2013). Potential of nanotechnology in functional foods. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 25(1), 10–19. <https://doi.org/10.9755/ejfa.v25i1.9368>
- Mohsen, S.M., Ammar, A.S.M., El-Amry, H.G., Abd El-Salam, R.S. (2020). Nano polyphenols and nano tocopherols from wheat bran extract. *Singapore Journal of Scientific Research*, 10(1), 16–22. <https://doi.org/10.3923/sjsres.2020.16.22>
- Arend, G.D., Rezzadori, K., Soares, L.S., Petrus, J.C.C. (2019). Performance of nanofiltration process during concentration of strawberry juice. *Journal of Food Science and Technology*, 56(4), 2312–2319. <https://doi.org/10.1007/s13197-019-03659-z>
- Vivekanand, V., Iyer, M., Ajlouni, S. (2012). Clarification and stability enhancement of pear juice using loose nanofiltration. *Journal of Food Processing and Technology*, 3(6), Article 1000162. <https://doi.org/10.4172/2157-7110.1000162>
- Carrín, M. E., Buglione, M. B., Lozano, J. E. (16–20 September 2007). Removal of dark compounds from fruit juices by membrane separation. *Proceedings of European Congress of Chemical Engineering (ECCE-6)* Copenhagen, 2007.
- Li, C., Ma, Y., Li, H., Peng, G. (2019). Exploring the nanofiltration mass transfer characteristic and concentrate process of procyanidins from grape juice. *Food Science and Nutrition*, 7(5), 1884–1890. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1045>
- Kong, C. S., Lee, S. H., Seo, J. O., Park, K.Y., Rhee, S. H. (2006). Anti-adipogenic effect of *Dongchimi* nano juice in mouse 3T3-L1 adipocytes. *Journal of Food Science and Nutrition*, 11(4), 285–288. <https://doi.org/10.3746/jfn.2006.11.4.285>
- Bazaraa, W.A., Ammar, A.S., Aqlan, A.M. (2020). Effects of kiwi's pectin methylesterase inhibitor, nanomilling and pasteurization on orange juice quality. *Food Science and Nutrition*, 8(12), 6367–6379. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1886>
- Warczok, J. Ferrando, M. Lopez, F., Guell, C. (2004). Concentration of apple and pear juices by nanofiltration at low pressures. *Journal of Food Engineering*, 63(1), 63–70. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(03\)00283-8](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(03)00283-8)
- Dawale, S.A., Jawade, N.R. (2014). Using nanofiltration and ultrafiltration for the concentration of Amla (*Phyllanthus Emblica*) Juice. *International Journal of NanoScience and Nanotechnology*, 5(1), 59–65.
- Pruksasri, S., Lanner, B., Novalin, S. (2020). Nanofiltration as a potential process for the reduction of sugar in apple juices on an industrial scale. *LWT*, 133, Article 110118. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110118>
- Patil, S., Hosapete, S., Irkal, S., Rajput, S. (2019). Synthesis and characterization of zirconium nano particles from orange juice and orange peel. *Journal of Applied Chemistry (IOSR-JAC)*, 12(7 Ser.I), 29–37. <https://doi.org/10.9790/5736-1207012937>
- Jackson, T.C., Uwah, T.O., Ifekpolugo, N.L., Emmanuel, N.A. (2018). Comparison of antimicrobial activities of Silver nanoparticles biosynthesized from some citrus species. *American Journal of Nano Research and Applications*, 6(2), 54–59. <https://doi.org/10.11648/j.nano.20180602.12>
- Silwana, N., Calderón, B., Ntwampe, S., Fullana, A. (2020). Heterogeneous fenton degradation of patulin in apple juice using carbon-encapsulated nano zero-valent iron (CE-nZVI). *Foods*, 9, Article foods9050674. <https://doi.org/10.3390/foods9050674>

22. Sachko, A., Kobasa, I., Moysyura, O., Vorobets, M. (2020). Efficiency of apple juice clarification with using of nano-sized mineral oxides. *Ukrainian Food Technology*, 9(2), 361–372. <https://doi.org/10.24263/2304-974X-2020-9-2-8>
23. EFSA. (2009). The potential risks arising from nanoscience and nanotechnologies on food and feed safety. *The EFSA Journal*, 7(3), 1–39. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2009.958>
24. Mihindukulasuriya, S. D. F., Lim, L. T. (2014). Nanotechnology development in food packaging: a review. *Trends in Food Science and Technology*, 40(2), 149–167. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.09.009>
25. He, X., Deng, H., Hwang, H. M. (2019). The current application of nanotechnology in food and agriculture. *Journal of Food and Drug Analysis*, 27(1), 1–21. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.12.002>
26. Nile, S., H., Baskar, V., Selvaraj, D., Nile, A., Xiao, J., Kai, G. (2020). Nanotechnologies in food science: applications, recent trends, and future perspectives. *Nano-Micro Letters*, 12(1), Article 45. <https://doi.org/10.1007/s40820-020-0383-9>
27. Emamifar, A., Kadivar, M., Shahedi, M., Soleimanian-Zad, S. (2010). Evaluation of nanocomposite packaging containing Ag and ZnO on shelf life of fresh orange juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11(4), 742–748. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2010.06.003>
28. Singh, T., Shukla, S., Kumar, P., Wahla, V., Bajpai, V.K. (2017). Application of nanotechnology in food science: perception and overview. *Frontiers in Microbiology*, 8(AUG), Article 1501. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2017.01501>
29. Jain, A., Ranjan, S., Dasgupta, N., Ramalingam C. (2016). Nanomaterials in food and agriculture: an overview on their safety concerns and regulatory issues. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(2), 297–317. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1160363>
30. Savolainen, K., Pykkänen, L., Norppa, H., Falck, G., Lindberg, H., Tuomi, T. et al. (2010). Nanotechnologies, engineered nanomaterials and occupational health and safety — A review. *Safety Science*, 48(8), 957–963. <https://doi.org/10.1016/j.ssci.2010.03.006>
31. Mahler, G. J., Esch, M. B., Tako, E., Southard, T. L., Archer, S. D., Glahn, R. P. et al. (2012). Oral exposure to polystyrene nanoparticles affects iron absorption. *Nature Nanotechnology*, 7(4), 264–271. <https://doi.org/10.1038/nnano.2012.5>
32. EC258–97 (1997). Regulation (EC) No. 258/97 of the European Parliament and of the Council concerning novel foods and novel food ingredients. CELEX-EUR Official Journal L 43, 14 February 1997, pp. 1–7. Retrieved from <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=celex%3A31997R0258> Accessed: 15.09.2021.
33. Brien, N.O., Cummins, E. (2010). Ranking initial environmental and human health risk resulting from environmentally relevant nanomaterials. *Journal of Environmental Science and Health — Part A Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 45(8), 992–1007. <https://doi.org/10.1080/10934521003772410>

AUTHOR INFORMATION	СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
Affiliation	Принадлежность к организации
<p>Abdalla S. Ammar, Professor, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Cairo University Gamaa Street, Giza, 12613, Egypt Tel.: +2-0101-997-17-99 E-mail: abdallaammar@agr.cu.edu.eg ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9919-8760 * corresponding author</p> <p>Wael A. Bazaraa, Professor, Department of Food Science, Faculty of Agriculture, Cairo University Gamaa Street, Giza, 12613, Egypt Tel.: +2-0100-415-49-49 E-mail: waelbazaraa@agr.cu.edu.eg ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4696-9848</p>	<p>Аммар Абдалла С. — профессор, Кафедра науки о питании, Сельскохозяйственный факультет, Каирский Университет 12613, Египет, Гиза, ул. Гамаа Тел.: +2-0101-997-17-99 E-mail: abdallaammar@agr.cu.edu.eg ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9919-8760 * автор для контактов</p> <p>Базараа Вазэль А. — профессор, Кафедра науки о питании, Сельскохозяйственный факультет, Каирский Университет 12613, Египет, Гиза, ул. Гамаа Тел.: +2-0100-415-49-49 E-mail: waelbazaraa@agr.cu.edu.eg ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4696-9848</p>
Contribution	Критерии авторства
Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism	Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат
Conflict of interest	Конфликт интересов
The authors declare no conflict of interest	Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-4-259-268>

Поступила 29.10.2021

Поступила после рецензирования 20.11.2021

Принята в печать 01.12. 2021

© Свириденко Г. М., Захарова М. Б., Иванова Н. В., 2021

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

Научная статья

Open access

ОЦЕНКА МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИХ РИСКОВ В СЛИВКАХ КАК СЫРЬЕ ДЛЯ МАСЛОДЕЛИЯ

Свириденко Г. М.*, Захарова М. Б., Иванова Н. В.

Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия, Углич, Ярославская область, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

сливки-сырье, масло, хранимоспособность, тест-культура, БГКП, лактококки, термофильный стрептококк, дрожжи, споровые микроорганизмы

АННОТАЦИЯ

В статье представлены результаты исследований по изучению влияния различных групп микроорганизмов: БГКП, молочнокислых микроорганизмов, дрожжей, споровых бактерий на качество и хранимоспособность сливок-сырья для маслоделия. В качестве объектов исследования служили: сливки-сырье до и после пастеризации, а также сливки пастеризованные, контаминированные тест-культурами различных видов микроорганизмов порчи. Хранение образцов осуществляли при температурных режимах 30 ± 1 °C, 10 ± 1 °C и 4 ± 2 °C. Для оценки качества и хранимоспособности сливок-сырья стандартизованными методами определяли их микробиологические и физико-химические показатели: бактериальную обсемененность, титруемую кислотность, показатели окислительной порчи жировой фазы. Органолептические показатели оценивали по вкусу, консистенции и внешнему виду. Результаты исследований показали, что наибольшие микробиологические риски при хранении сырых сливок связаны с лактококками, БГКП и дрожжами. Микробиологические риски, обусловленные обсеменением сливок термофильным стрептококком, споровыми бактериями рода *Bacillus* и споровыми анаэробными микроорганизмами рода *Clostridium*, менее значимы, что связано с отсутствием развития и метаболизма данных групп микроорганизмов при температурах хранения 10 ± 1 °C и 4 ± 2 °C. При этом основанием для забраковки сливок, контаминированных данными тест-культурами, при температуре хранения 4 ± 2 °C в первую очередь является снижение органолептических показателей, а при температуре 10 ± 1 °C — превышение по бактериальной обсемененности.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию № 0585–2019–0012 Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук.

Received 29.10.2021

Accepted in revised 20.11.2021

Accepted for publication 01.12.2021

© Свириденко Г. М., Захарова М. Б., Иванова Н. В., 2021

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

Original scientific article

Open access

EVALUATION OF MICROBIOLOGICAL RISKS IN CREAM AS A RAW MATERIAL FOR BUTTERMAKING

Galina M. Sviridenko*, Marina B. Zakharova, Nina V. Ivanova

All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking, Uglich, Yaroslavl Region, Russia

KEY WORDS:

cream as raw material, butter, storage capacity, testing culture, coliform bacteria, lactococci, thermophilic streptococcus, yeast, spore microorganisms

ABSTRACT

The article presents the research results of studying the influence of various groups of microorganisms — coliform bacteria, lactic acid microorganisms, yeast, and spore bacteria — on the quality and storage capacity of cream used as a raw material for buttermaking. The objects of study were the following: cream as a raw material before and after pasteurization, as well as pasteurized cream seeded with testing cultures of various types of spoilage microorganisms. The samples were stored at temperature conditions of 30 ± 1 °C, 10 ± 1 °C, and 4 ± 2 °C. To evaluate the quality and storage capacity of cream used as a raw material, its microbiological and physicochemical indicators were determined by standardized methods: bacterial number, titratable acidity, indicators of oxidative spoilage of the fat phase. Organoleptic characteristics were evaluated in terms of taste, consistency and appearance. Research results have shown that the greatest microbiological risks during storage of cream used as a raw material are associated with lactococci, coliform bacteria and yeast. Microbiological risks caused by seeding of cream with thermophilic streptococcus, spore bacteria of the genus *Bacillus* and spore anaerobic microorganisms of the genus *Clostridium* are less significant, which is associated with the lack of development and metabolism of these groups of microorganisms at storage temperatures of 10 ± 1 °C and 4 ± 2 °C. At the same time, the reason for the rejection of cream contaminated with these testing cultures, at a storage temperature of 4 ± 2 °C, is primarily a decrease in organoleptic indicators, and at a temperature of 10 ± 1 °C — an excess in bacterial number.

FUNDING: The article was published as part of the research topic No. 0585–2019–0012 of the state assignment of the V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS.

1. Введение

Использование высокотемпературной пастеризации сливок при производстве продуктов маслоделия существенно снижает уровень микробиологических рисков,

приводящих к потере качества и хранимоспособности готового продукта, однако многолетний опыт контроля микробиологических показателей масла свидетельствует о том, что риски микробиологической порчи, связанные

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Свириденко, Г. М., Захарова, М. Б., Иванова, Н. В. (2021). Оценка микробиологических рисков в сливках как сырье для маслоделия. *Пищевые системы*, 4(4), 259–268. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-4-259-268>

FOR CITATION: Sviridenko, G. M., Zakharova, M. B., Ivanova, N. V. (2021). Evaluation of microbiological risks in cream as a raw material for buttermaking. *Food systems*, 4(4), 259–268. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-4-259-268>

с микрофлорой первичного обсеменения сливок-сырья, остаются значимыми. К числу микроорганизмов, составляющих бактериальный пейзаж микрофлоры порчи, следует отнести молочнокислые микроорганизмы, в том числе лактококки и термофильный стрептококк, БГКП, дрожжи, споровые бактерии рода *Bacillus* и споровые анаэробные микроорганизмы рода *Clostridium*, однако до настоящего времени уровень рисков, связанный с конкретными видами микрофлоры порчи для продуктов маслоделия, системно не изучен [1–6].

Отличительная особенность молочнокислых бактерий — это способность в качестве главного продукта брожения образовывать молочную кислоту, что при хранении или созревании сливок-сырья может привести к появлению порока «кислый вкус» различной степени выраженности [7–9]. «Дикие» штаммы молочнокислых бактерий имеют широкий температурный диапазон развития (от +5 °С для лактококков до +55 °С для термофильного стрептококка). Общей характеристикой этой группы микроорганизмов является отсутствие спорных форм, что минимизирует риски при производстве продуктов маслоделия, изготавливаемых с применением высокотемпературной пастеризации сливок-сырья. Однако термофильные микроорганизмы, как правило, отличаются устойчивостью к высоким температурам. Ограничивающим фактором для возможного развития термофильных молочнокислых микроорганизмов в сливках после высокотемпературной пастеризации являются низкотемпературные режимы хранения и отсутствие у представителей данной группы микроорганизмов значительной психротрофности [10,11].

Дрожжи, являясь психрофильной микрофлорой порчи, могут развиваться в молоке и молочных продуктах как в аэробных, так и в анаэробных условиях при любых низких положительных температурах. Многие виды дрожжей обладают протеолитической и липолитической активностью, их размножение в сливках, а в последующем в масле может приводить к появлению дрожжевого, горького, мыльного, металлического, салитого и прогорклого привкусов. Дрожжи в молоке и сливках при хранении вызывают изменение вкуса, связанное с процессом спиртового брожения, а также консистенции и внешнего вида за счет избыточного газообразования. Вегетативные клетки дрожжей погибают уже при низкотемпературной пастеризации. Высокотемпературные режимы пастеризации, принятые для термической обработки сливок в маслоделии, должны обеспечивать уничтожение всех жизнеспособных форм дрожжевых клеток, в том числе и спор, однако при значительной обсемененности исходного молока-сырья гарантия полного освобождения сливок от спорообразующих дрожжей отсутствует [12–15].

Вегетативные клетки БГКП, обсеменяющие исходное молоко-сырье, полностью уничтожаются при пастеризации сливок, в то же время данная микрофлора выявляется в пастеризованных сливках в процессе хранения. Источником вторичного обсеменения сливок БГКП является оборудование [16–17]. БГКП в настоящее время преимущественно проявляют выраженную психротрофность и способны метаболизировать сливки в процессе низкотемпературного хранения, сбраживая остаточную лактозу с образованием кислоты и газа, а также гидролизуют белок и жир. Основные органолептические пороки, связанные с развитием в сливках в процессе хранения БГКП, — появление посторонних запахов, идентифицируемых как «нечистый», «затхлый», «тухлый», возможное появление горечи, а также ухудшение консистенции, связанное с излишним газообразованием [18,19].

Споровые микроорганизмы, как представители рода *Bacillus*, так и рода *Clostridium*, широко распространены в почве, воде, кормах, откуда попадают в молоко-сырье. Данные микроорганизмы имеют ряд особенностей, определяющих возможность их развития и создание рисков снижения качества и хранимостоспособности продуктов маслоделия, являясь спорообразующими бактериями, выдерживающими режимы высокотемпературной пастеризации, применяемые в маслоделии [20]. Споровые микроорганизмы могут расти в широком температурном диапазоне: от 3–5 °С до 55 °С, в том числе в анаэробных условиях. Метаболизм споровых микроорганизмов очень разнообразен, поэтому предсказать характер органолептических пороков, связанных с их развитием, крайне трудно. Обычно разложение белка и жира при хранении сливок в результате процессов липолиза и протеолиза приводит к формированию таких пороков, как горький, прогорклый, окисленный, неспецифический вкусы [21–24].

Таким образом, комплексная оценка рисков снижения качества и хранимостоспособности сливок-сырья, используемых для производства масла, в зависимости от уровня обсеменения, условий хранения и видовой принадлежности микроорганизмов порчи, имеет как научное, так и практическое значение.

2. Материалы и методы

При выполнении исследований объектами служили сливки, полученные из молока с использованием молочного сепаратора ОСБ-1000 в экспериментальном сыродельном цехе ВНИИМС.

Сырые сливки пастеризовали при 95 ± 1 °С, охлаждали до 20–25 °С и мерно разливали по стерильным емкостям. В подготовленные сливки вносили тест-культуры исследуемых микроорганизмов для создания концентрации жизнеспособных клеток на уровне 10^3 – 10^5 кл./см³. Как опытные образцы сливок, инокулированные тест-культурами, так и контрольные образцы пастеризованных сливок, не обсемененные тест-культурами, расфасовали по 900 см³ в стерильную тару достаточного объема. Подготовленные образцы сливок хранили при 4 ± 2 °С, 10 ± 1 °С и 30 ± 1 °С.

В качестве тест-культур для оценки микробиологических рисков использовали:

- смесь штаммов лактококков *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*;
- смесь штаммов термофильных молочнокислых микроорганизмов *Streptococcus thermophilus*, дающих вязкий и невязкий сгусток;
- тест-культуру *Escherichia coli* ВКМВ-125 как типичного представителя БГКП;
- тест-культуру дрожжей *Saccharomyces lactis* СК 22;
- тест-культуру споровых аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов *Bacillus subtilis* В-3120;
- смесь тест-культур протеолитических и сахаролитических споровых анаэробных бактерий *Clostridium sporogenes* 532 и *Clostridium tyrobutyricum* Г₁.

Хранение сливок осуществляли до перевода их в брак по комплексу органолептических, микробиологических и физико-химических показателей.

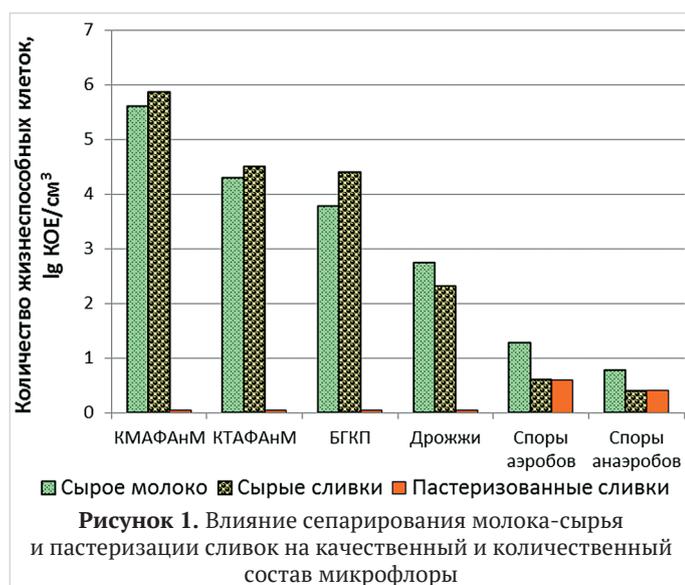
В исследуемых образцах сливок в процессе хранения при разных температурных режимах стандартизованными методами определяли физико-химические показатели: титруемую кислотность жировой фазы и молочной плазмы по ГОСТ Р 55361 [25]; окисленность жировой фазы по перекисному числу в соответствии с ГОСТ ISO 3960 [26] и пробе с 2-ТБК [27,28]. Микробиологический контроль проводили,

определяя в пробах количество жизнеспособных клеток соответствующих тест-культур в сравнении с контрольными пробами, используя стандартизованные методы: количество жизнеспособных клеток мезофильных (КМАФАнМ), термофильных (КТАФАнМ) и споровых аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, а также БГКП — по ГОСТ 32901 [29], количество жизнеспособных клеток дрожжей — по ГОСТ 33566 [30], количество жизнеспособных клеток и спор споровых анаэробных микроорганизмов — по ГОСТ 32012 [31]. Органолептическую оценку качественных показателей сливок (вкус и запах, консистенция, внешний вид) проводили по условной шкале в соответствии с ГОСТ 28283 [32].

3. Результаты и обсуждение

На I этапе проведены исследования изменения бактериального пейзажа, т. е. качественного и количественного состава микрофлоры после сепарирования сырого молока и пастеризации полученных сливок.

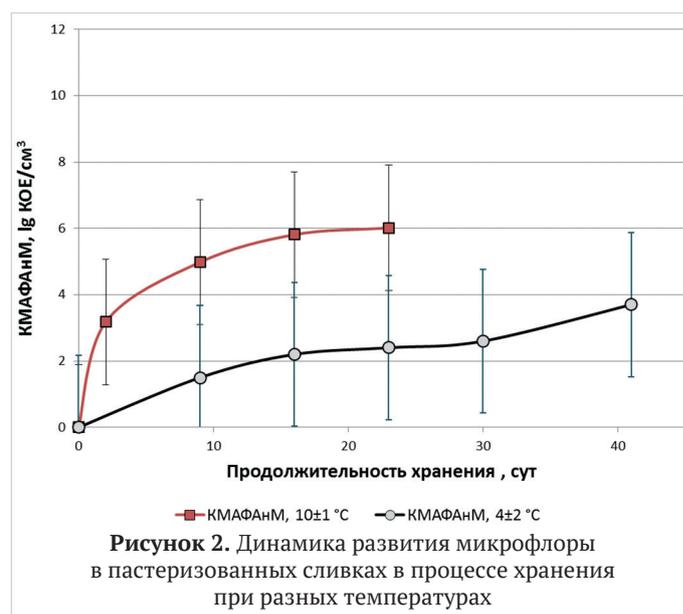
Анализ результатов, представленных на Рисунке 1, показывает, что при сепарировании сырого молока количество жизнеспособных клеток как мезофильных, так и термофильных микроорганизмов, относящихся к вегетативным формам, имеет тенденцию к увеличению. С другой стороны, количество дрожжей и споровых микроорганизмов в сливках уменьшается в сравнении с количеством данных микроорганизмов в исходном молоке.



Режимы высокотемпературной пастеризации сливок, принятые в маслоделии, эффективно уничтожают вегетативные клетки бактерий и дрожжей: в 1 см³ сливок после пастеризации данные микроорганизмы не выявляются. Оста-

точная микрофлора пастеризованных сливок представлена исключительно споровыми формами.

В результате хранения пастеризованных сливок при 10±1 °С и 4±2 °С происходит видимое развитие микрофлоры, что связано, с одной стороны, с реактивацией клеток, получивших термошок после пастеризации, но не потерявших целостность клеточной оболочки, а с другой стороны — с развитием остаточной микрофлоры (Рисунок 2). Возможность реактивации и развития микроорганизмов в процессе низкотемпературного хранения свидетельствует не только о термостойкости клеток, но и о существенной их психротрофности. При микроскопировании колоний, выросших в посевах третьего разведения пастеризованных сливок, хранившихся при 4±2 °С 40 суток, выявлены кокки в скоплениях (А, Б), а также споровые и неспоровые палочки (В, Г) (Рисунок 3), что свидетельствует о развитии остаточной микрофлоры.



Таким образом, показано, что высокотемпературная пастеризация сливок-сырья не гарантирует полную ликвидацию микробиологических рисков сырьевого происхождения при производстве масла.

Дальнейшие исследования были посвящены оценке степени рисков снижения качества и хранимостепени сливок, обсемененных конкретным видом микроорганизмов порчи.

На Рисунках 4 и 5 представлены результаты исследований возможности развития мезофильных молочнокислых лактококков и термофильного стрептококка в сливках, обсемененных соответствующими тест-культурами, при низкотемпературных режимах хранения, а также

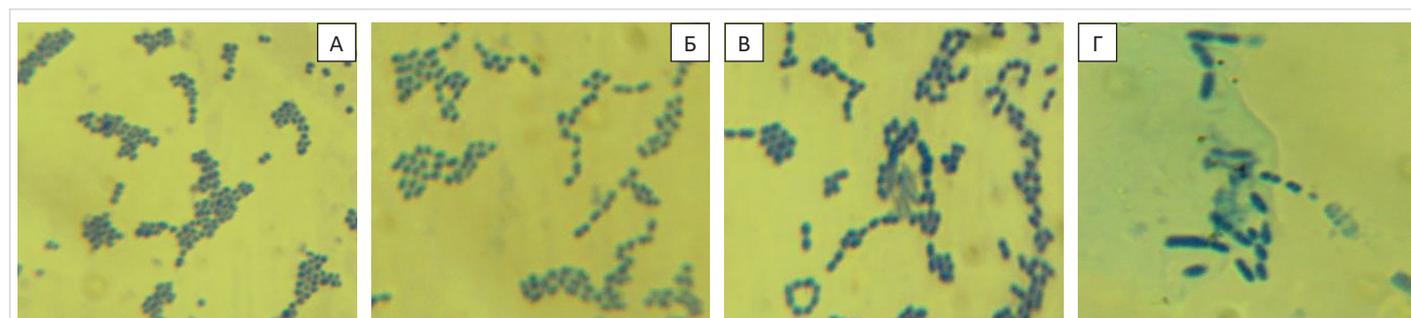
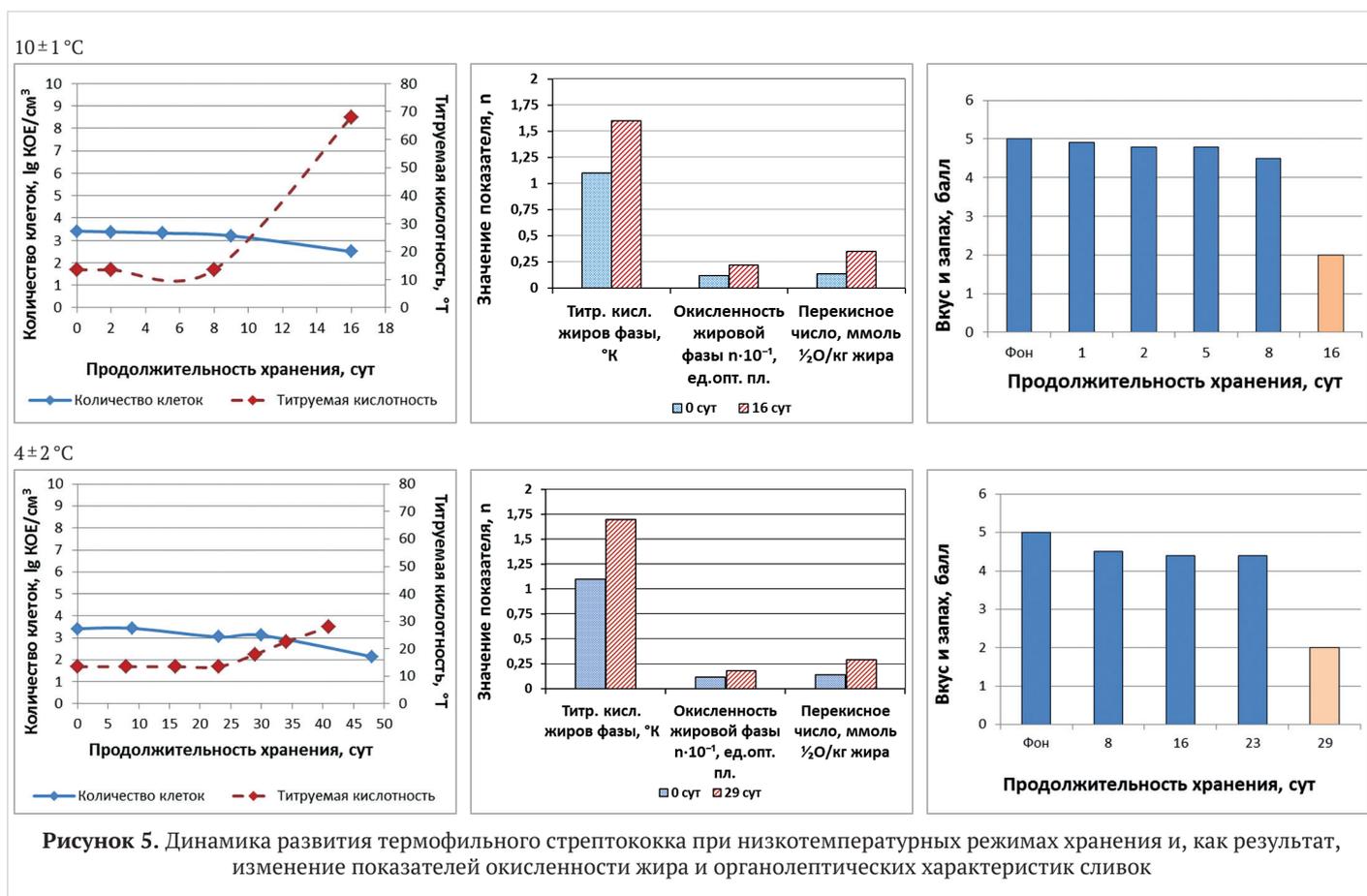
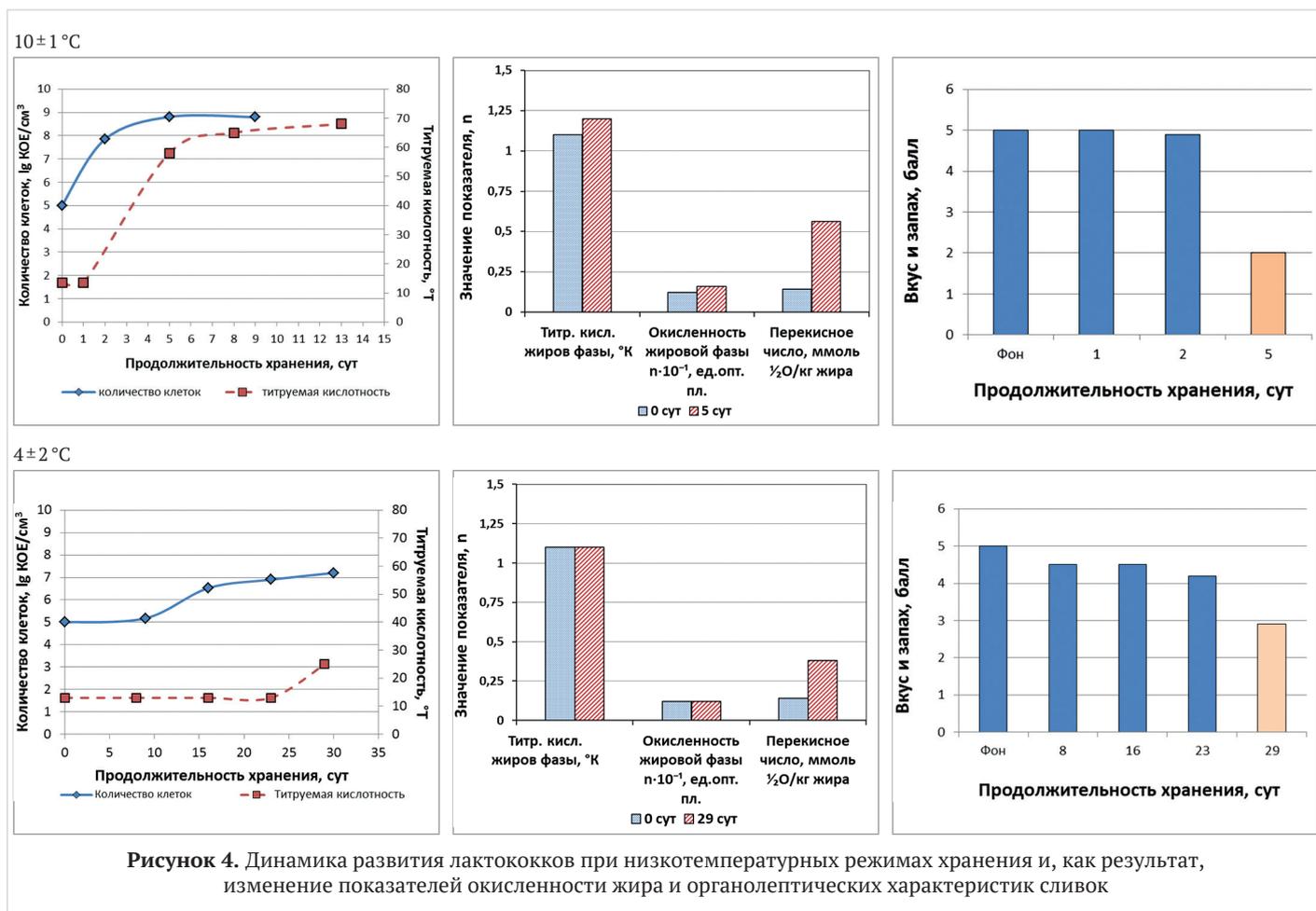


Рисунок 3. Микроскопическая картина господствующих колоний из посевов пастеризованных сливок, хранившихся при 4±2 °С в течение 40 суток



продemonстрировано влияние их развития на показатели окислительной порчи и органолептические характеристики сливок.

Полученные экспериментальные данные подтверждают существенную психротрофность мезофильных лактококков, о чем свидетельствует увеличение количества жизнеспособных клеток в сливках при $10 \pm 1^\circ\text{C}$ за 5 суток хранения на четыре порядка относительно исходной обсемененности, а при $4 \pm 2^\circ\text{C}$ за 15 суток хранения на два порядка. Развитие молочнокислых лактококков в сливках приводит к росту титруемой кислотности сливок и молочной плазмы, а также к повышению показателей окисленности жира и забраковке сливок по органолептическим показателям. Закономерно процессы развития лактококков и одновременная порча сливок происходят интенсивнее при $10 \pm 1^\circ\text{C}$, что приводит к их забраковке уже на пятые сутки хранения. При температуре хранения $4 \pm 2^\circ\text{C}$ сливки уходят в брак только через 29 суток.

В отличие от мезофильных лактококков, термофильный стрептококк не обладает психротрофными свойствами и не способен развиваться при низкотемпературных режимах хранения. Однако при значительной исходной обсемененности наблюдаются процессы метаболизма и, как результат, происходит порча за счет гидролиза лактозы и разложения жира под действием экзоферментов, выделившихся клетками термофильного стрептококка при внесении тест-культуры в сливки. При этом хранимоспособность сливок при $10 \pm 1^\circ\text{C}$ составляет 16 суток, а при $4 \pm 2^\circ\text{C}$, как и в случае с лактококками, — 29 суток.

На Рисунках 6 и 7 представлены результаты исследований динамики развития БГКП на примере тест-культуры *Escherichia coli* и дрожжей в сливках, а также возможное влияние

процессов метаболизма под действием данных групп микроорганизмов на качество и хранимоспособность сливок при низкотемпературных режимах хранения.

Как бактерии вида *Escherichia coli*, так и дрожжи проявляют относительную психротрофность, т. е. способность размножаться и проявлять определенную метаболическую активность при $10 \pm 1^\circ\text{C}$. При этом при данной температуре хранения в результате обсеменения сливок БГКП сливки уходят в брак по снижению органолептических показателей качества уже через 5 суток хранения, а при обсеменении дрожжами — через 5–8 суток.

Хранимоспособность сливок, обсемененных тест-культурой *Escherichia coli*, при температурных режимах хранения $4 \pm 2^\circ\text{C}$ значительна и составляет более 30 суток, что связано с отсутствием как признаков развития, так и метаболизма клеток при данной температуре. Однако среди представителей БГКП встречаются «дикие» штаммы, проявляющие выраженную психротрофность и способные развиваться при температурах ниже $4 \pm 2^\circ\text{C}$, что неизбежно приведет к снижению качественных показателей сливок за значительно более короткие сроки хранения.

Что касается влияния дрожжей на качество и хранимоспособность сливок при $4 \pm 2^\circ\text{C}$, следует отметить их способность к развитию при данных температурах, аналогичную процессам, проходящим при развитии лактококков. При этом хранимоспособность сливок значительна, но не превышает 23–29 суток.

При анализе влияния споровой микрофлоры на качество и хранимоспособность сливок при низкотемпературных режимах хранения необходимо отметить, что споры данных групп бактерий не участвуют в процессах метаболизма и их следует рассматривать в качестве микробиологических

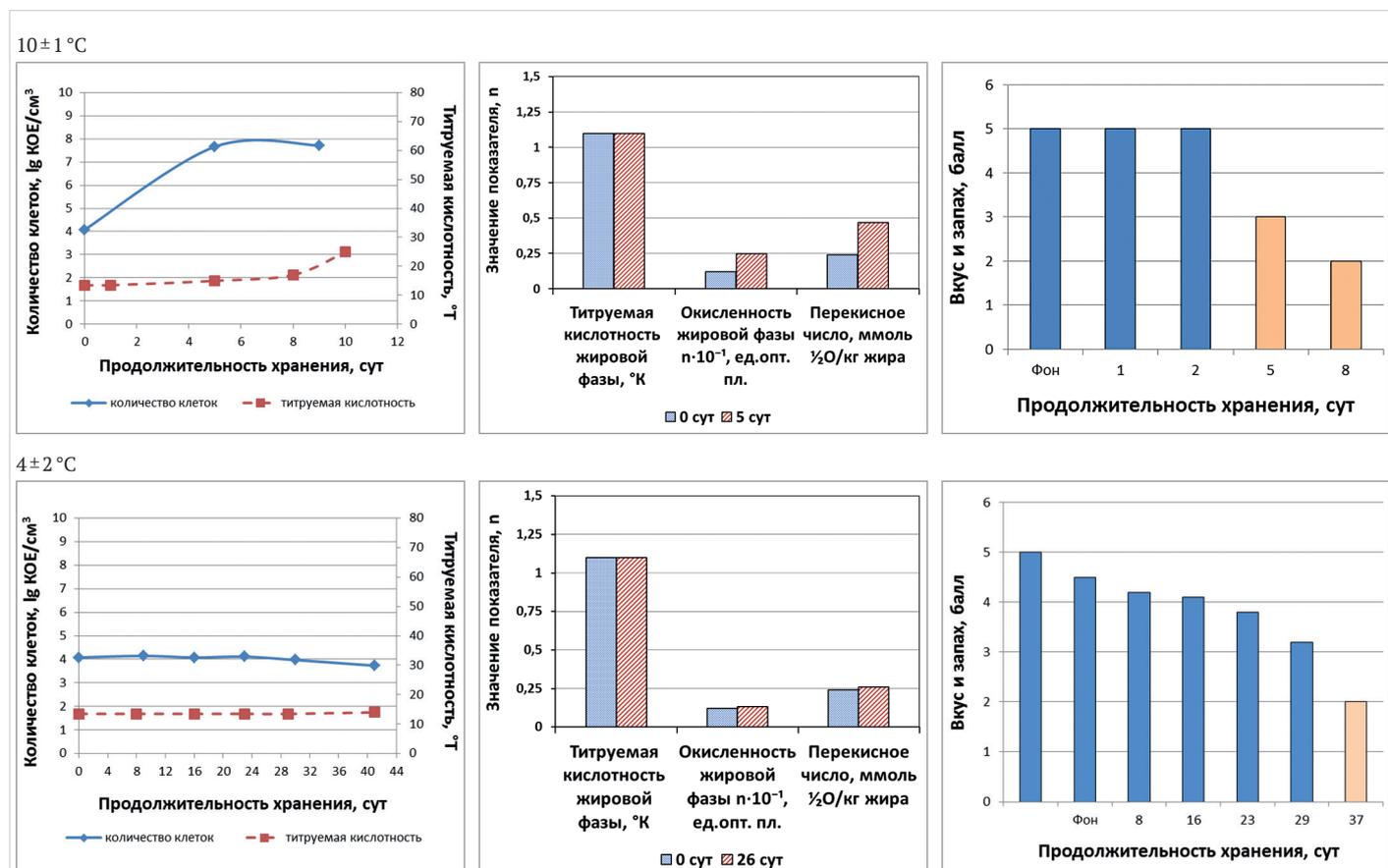
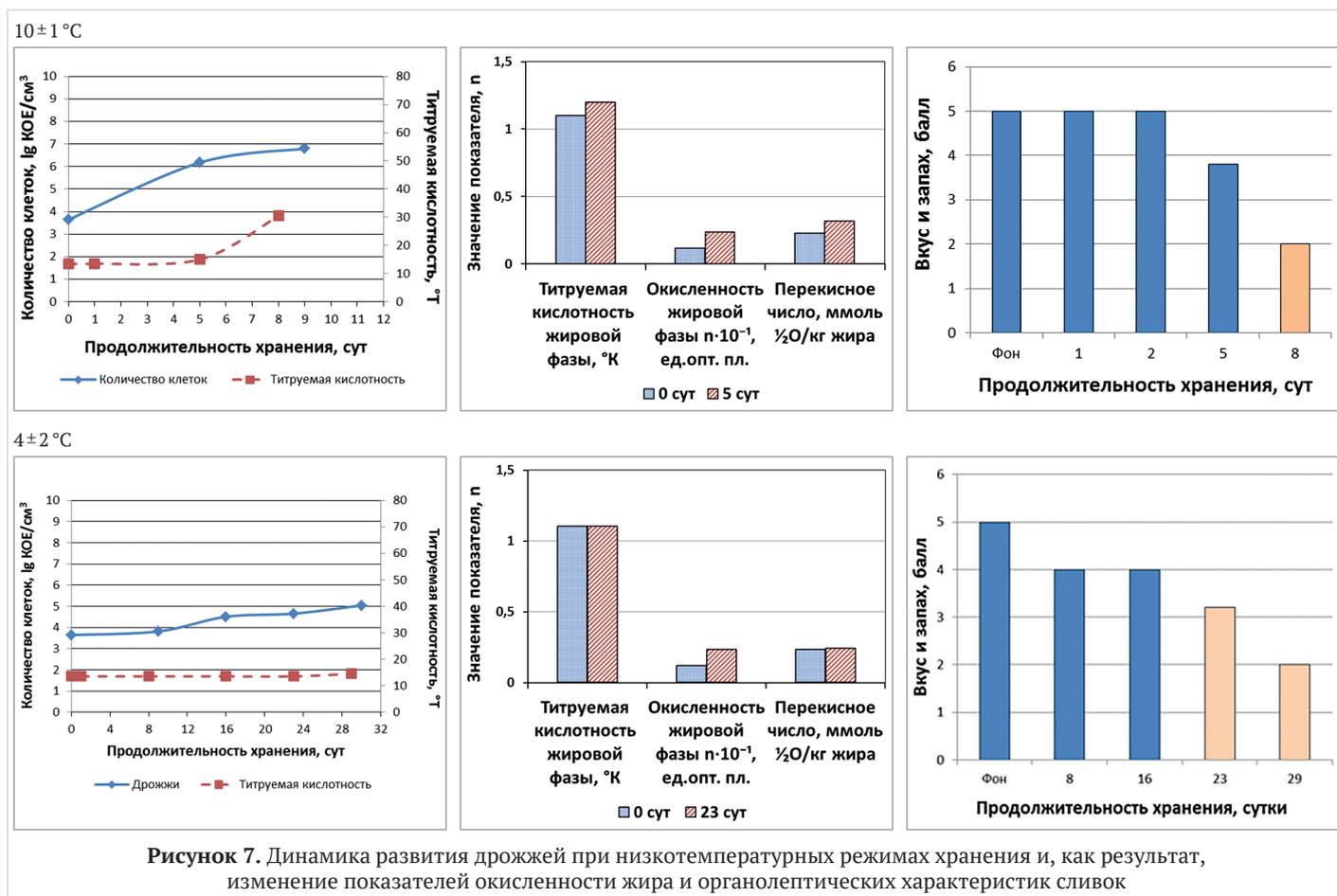


Рисунок 6. Динамика развития *Escherichia coli* при низкотемпературных режимах хранения и, как результат, изменение показателей окисленности жира и органолептических характеристик сливок



рисков, оценивая только возможность их прорастания в вегетативные формы. Данные исследований возможного развития спорных форм при низкотемпературных режимах хранения сливок, представленные на Рисунках 8 и 9, показывают отсутствие видимого роста как тест-культуры *Bacillus subtilis*, так и смеси культур *Clostridium sporogenes* 532 и *Clostridium tyrobutyricum* Г₁ при обоих температурных режимах. Однако при температуре 10 ± 1 °C отмечен незначительный метаболизм, который приводит к снижению хранимоспособности до 16–23 суток, в то время как при 4 ± 2 °C хранимоспособность превышает 40 суток.

Хранение сливок в провокационных условиях при 30 ± 1 °C в течение 1 суток сопровождается развитием всех исследованных групп микроорганизмов, повышением титруемой кислотности выше допустимого уровня (для сливок жирностью $32 \pm 2\%$ допустимая титруемая кислотность составляет от 12 °T до 16 °T) (Рисунок 10). Такие условия хранения предполагают ускоренное снижение органолептических показателей и забраковку.

При развитии в сливках исследованных групп микроорганизмов в процессе хранения при разных температурных режимах наблюдается постепенное усиление выраженности органолептических пороков, характерных для той или иной группы. Так, лактококки и термофильный стрептококк как представители мезофильной и термофильной молочнокислой микрофлоры дают резко кислый вкус. При развитии дрожжей формируется кислый, спиртовой, щиплющий вкус с наличием дрожжевого, броженного запаха. Споровые анаэробные бактерии рода *Clostridium* приводят к забраковке сливок с такими пороками вкуса, как кислый и горький, а споровые бактерии рода *Bacillus* образуют кислый, горький, нечистый, посторонний вкус; кишечная палочка приводит к появлению кислотного вкуса с нечистым тухловатым привкусом. Забраковка образцов сливок в течение 1 суток при температуре хранения 30 ± 1 °C показывает, что все исследованные группы микроорганизмов при нарушении температурных условий хранения являются микрофлорой порчи и создают микробиологические риски для качества и хранимоспособности сливок-сырья.

Таблица 1

Влияние различных групп микроорганизмов на формирование органолептических пороков и хранимоспособность сливок-сырья для производства масла

Микробиологический риск	Максимальная хранимоспособность при разных температурах хранения, сут, не более		
	30 ± 1 °C	10 ± 1 °C	4 ± 2 °C
Остаточная микрофлора пастеризованных сливок		10	40–45
Лактококки		5	29
Термофильный стрептококк		16	29
БГКП	хранимоспособность менее суток	5	37
Дрожжи		5–8	23–29
Споровые микроорганизмы рода <i>Bacillus</i>		16	41–48
Споровые анаэробные микроорганизмы рода <i>Clostridium</i>		23	41

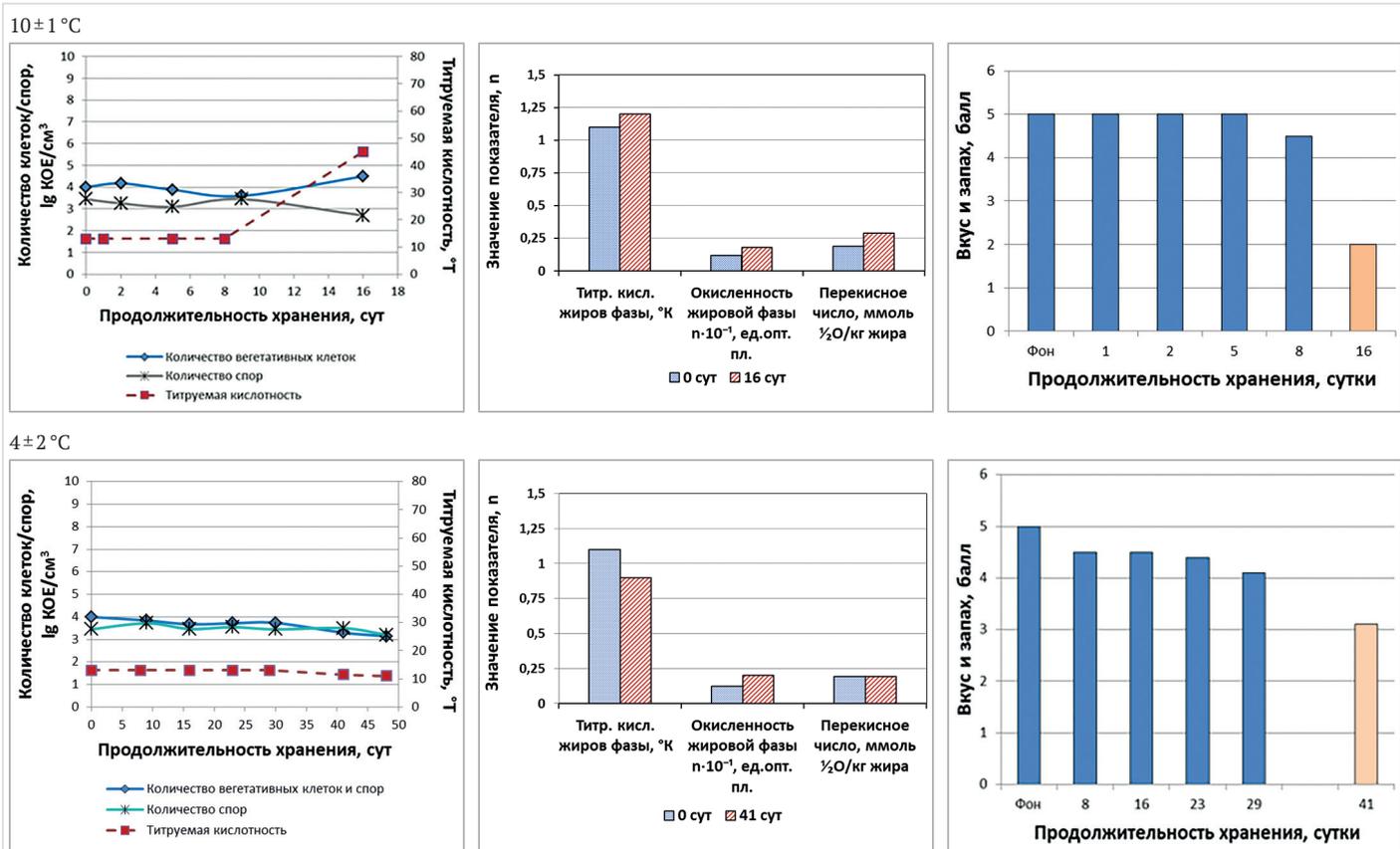


Рисунок 8. Динамика развития тест-культуры споровых микроорганизмов *Bacillus subtilis* B-3120 при низкотемпературных режимах хранения и, как результат, изменение показателей окисленности жира и органолептических характеристик сливок

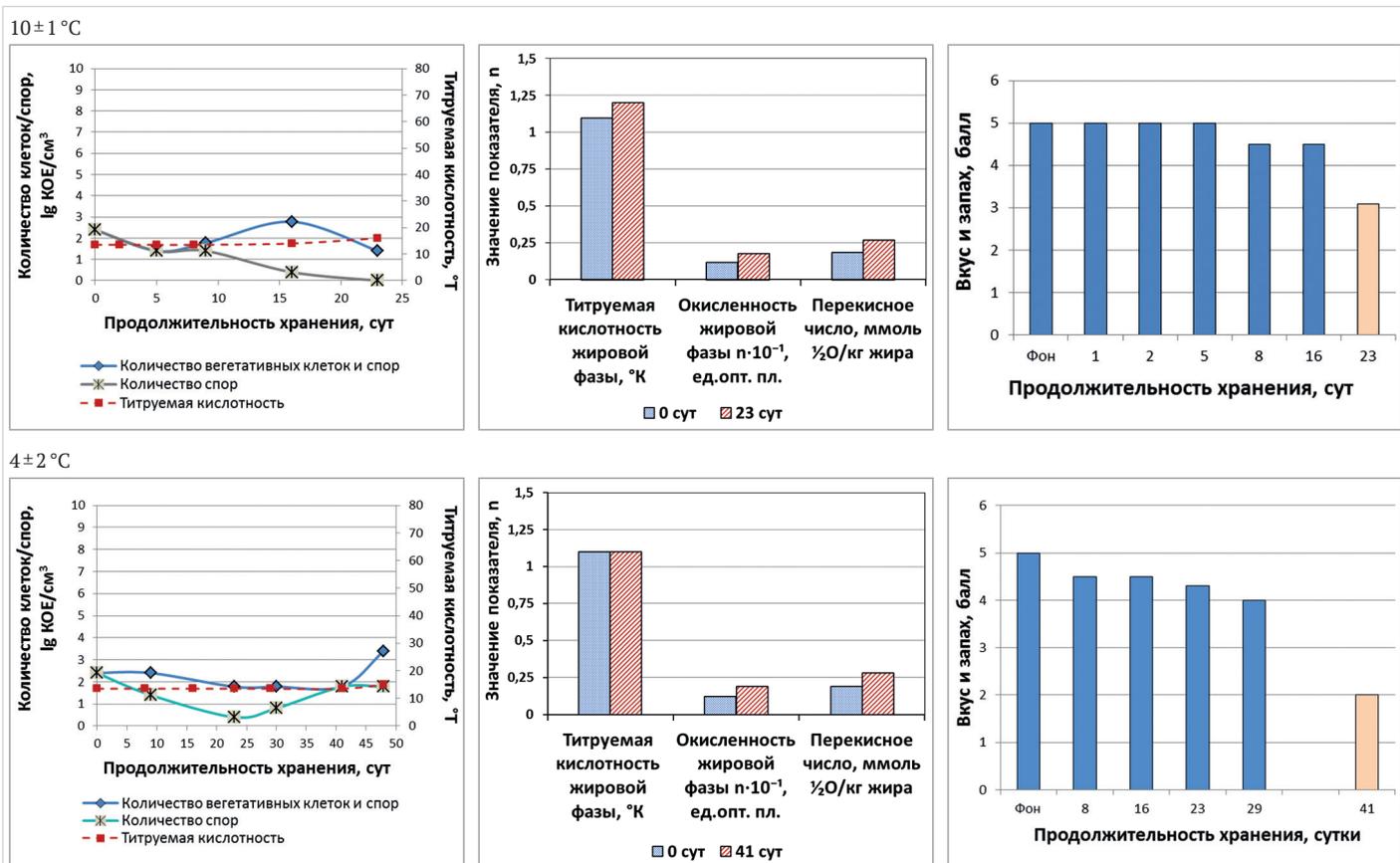


Рисунок 9. Динамика развития смеси тест-культур протеолитических и сахаролитических споровых анаэробных бактерий *Clostridium sporogenes* 532 и *Clostridium tyrobutyricum* Г₁ при низкотемпературных режимах хранения и, как результат, изменение показателей окисленности жира и органолептических характеристик сливок

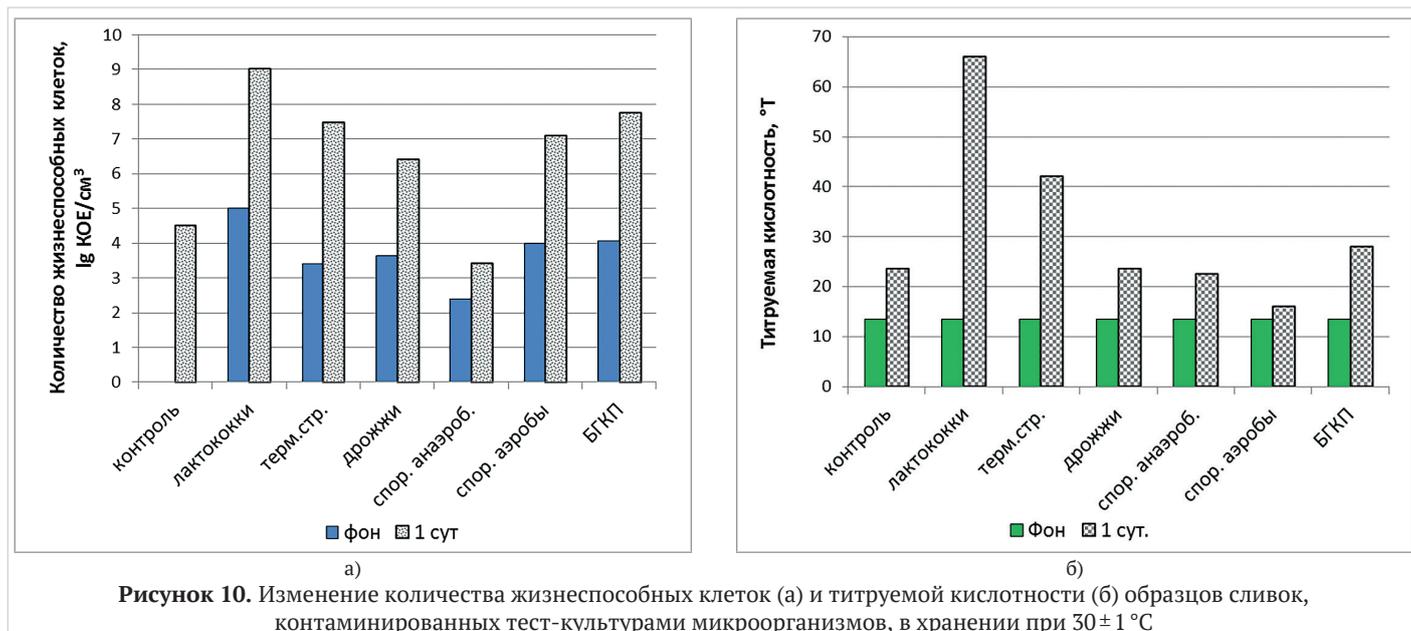


Рисунок 10. Изменение количества жизнеспособных клеток (а) и титруемой кислотности (б) образцов сливок, контаминированных тест-культурами микроорганизмов, в хранении при $30 \pm 1 \text{ } ^\circ\text{C}$

Данные, представленные в Таблице 1, показывают, что хранимоспособность сливок во многом определяется как температурными режимами хранения, так и бактериальным пейзажем остаточной микрофлоры.

4. Заключение

В условиях проведенных исследований были оценены микробиологические риски снижения качества и хранимоспособности сливок-сырья для маслоделия, связанные с раз-

личными группами микроорганизмов порчи. Установлено, что высокотемпературная пастеризация сливок не гарантирует полной ликвидации рисков из-за возможного выхода клеток из термошока и восстановления их жизнедеятельности. Полученные результаты позволяют сделать заключение о том, что наиболее значимые риски снижения качества и хранимоспособности сливок обусловлены развитием лактококков, БГКП и дрожжей, связанным с их относительной психротрофностью.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Delgado, S., Rachid, C.T.C.C., Fernandez, E., Rychlik, T., Alegria, A., Peixoto, R.S., Mayo, B. (2013). Diversity of thermophilic bacteria in raw, pasteurized and selectively-cultured milk, as assessed by culturing, PCR-DGGE and pyrosequencing. *Food Microbiology*, 36(1), 103–111. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.04.015>
- Coorevits, A., Jonghe, V. D., Vandroemme, J., Reekmans, R., Heynman, J., Messens, W., Vos, P.D., Heyndrickx, M. (2008). Comparative analysis of the diversity of aerobic spore-forming bacteria in raw milk from organic and conventional dairy farms. *Systematic and Applied Microbiology*, 31(2), 126–140. <https://doi.org/10.1016/j.syam.2008.03.002>
- Doyle, C. J., Gleeson, D., Jordan, K., Beresford, T. P., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., Cotter, P. D. (2015). Anaerobic sporeformers and their significance with respect to milk and dairy products. *International Journal of Food Microbiology*, 197, 77–87. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.12.022>
- Jonghe, V.D., Coorevits, A., Block, J. D., Coillie, E.V., Grijspeerd, K., Herman, L. et al (2010). Toxinogenic and spoilage potential of aerobic sporeformers isolated from raw milk. *International Journal of Food Microbiology*, 136(3), 318–325. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.11.007>
- Buehner, K.P., Anand, S., Garcia, A. (2014). Prevalence of thermophilic bacteria and spores on 10 Midwest dairy farms. *Journal of Dairy Science*, 97(11), 6777–6784. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8342>
- Holliday, S.L., Adler, B.B., Beuchat, L.R. (2003). Viability of *Salmonella*, *Escherichia coli* O157: H7, and *Listeria monocytogenes* in butter, yellow fat spreads, and margarine as affected by temperature and physical abuse. *Food Microbiology*, 20(2), 159–168. [https://doi.org/10.1016/S0740-0020\(02\)00127-2](https://doi.org/10.1016/S0740-0020(02)00127-2)
- Свириденко, Г.М., Захарова, М.Б., Иванова, Н.В., Смирнова, О.И. (2021). Влияние молочнокислых бактерий на качество и хранимоспособность сливок-сырья для продуктов маслоделия. *Молочная промышленность*, 1, 50–52. <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2021-01-50-52>
- Hou, Q., Xu, H., Zheng, Y., Xi, X., Kwok, L.-Y., Sun, Z. et al. (2015). Evaluation of bacterial contamination in raw milk, ultra-high temperature milk and infant formula using single molecule, real-time sequencing technology. *Journal of Dairy Science*, 98(12), 8464–8472. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9886>
- Свириденко, Г.М., Шухалова, О.М. (2019). Молочные лактококки как основной кислотообразующий компонент. *Молочная промышленность*, 4, 30–33. <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2019-4-30-33>
- Свириденко, Г.М., Шухалова, О.М. (2019). Исследование свойств производственных штаммов *Streptococcus thermophilus* с целью оценки возможности их использования в составе заквасок для сыроделия. *Молочная промышленность*, 6, 28–31. <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2019-6-28-31>
- Quigley, L., O'Sullivan, O., Stanton, C., Beresford, T.P., Ross, R.P., Fitzgerald, G.F. et al. The complex microbiota of raw milk. (2013). *FEMS Microbiology Reviews*, 37(5), 664–698. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12030>
- Свириденко, Г.М., Иванова, Н.В., Захарова, М.Б., Смирнова, О.И. (2019). Влияние дрожжей на качество и хранимоспособность сливок-сырья для продуктов маслоделия. *Сыроделие и маслоделие*, 3, 54–56
- Рябцева, С.А., Анисимов, Г.С., Скрипнюк, А.А. (2013). Дрожжи в молочной промышленности: причина порчи, нормирование, определение. *Молочная промышленность*, 5, 67–68.
- Deak, T. (1991). Foodborn yeasts. *Advances in Applied Microbiology*, 36, 179–278. [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(08\)70454-4](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)70454-4)
- Блэкберн, К. де В. (ред.). Микробиологическая порча пищевых продуктов. (2011). СПб: Профессия, 2011.
- Martin, N., Boor, K., Wiedmann, M. (2017). Effect of post-pasteurization contamination on fluid milk quality. *Journal of Dairy Science*. 101(1), 861–870. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13339>
- Cherif-Antar, A., Moussa-Boudjemâa, B., Didouh, N., Medjahdi, K., Mayo, B., Florez, A.B. (2016). Diversity and biofilm-forming capability of bacteria recovered from stainless steel pipes of a milk-processing dairy plant. *Dairy Science Technology*, 96, 27–38. <https://doi.org/10.1007/s13594-015-0235-4>
- Мюнх, Г.-Д., Заупе, Х., Шрайтер, М., Вагнер, К., Цикрик, К. (1985). Микробиология продуктов животного происхождения. М.: Агропромиздат, 1985
- Свириденко, Г.М., Иванова, Н.В., Захарова, М.Б., Смирнова, О.И. (2019). Влияние БГКП на качество и хранимоспособность сливок-сырья для продуктов маслоделия. *Сыроделие и маслоделие*, 2, 46–49. <https://doi.org/10.31515/2073-4018-2019-2-46-49>
- Taylor, R.N., Dunn, M.L., Ogden, L.V., Jefferies, L.K., Eggert, D.L., Steele, F.M. (2013). Conditions associated with *Clostridium sporogenes* growth as a surrogate for *Clostridium botulinum* in nonthermally processed canned butter. *Journal of Dairy Science*, 96(5), 2754–2764. <https://dx.doi.org/10.3168/jds.2012-6209>

21. Meer R. R., Baker, J., Bodyfelt, F. W., Griffiths, M. W. Psychrotrophic *Bacillus* spp. in fluid milk products: a review. (1991). *Journal of Food Protection*, 54(12), 969–979. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-54.12.969>
22. Carlin, F. (2011). Origin of bacterial spores contaminating foods. *Food Microbiology*, 28(2), 177–182. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.07.008>
23. Phillips, J. D., Griffiths, M. W., Muir, D. D. (1981). Growth and associated enzymatic activity of spoilage bacteria in pasteurized double cream. *Journal of the Society of Dairy Technology*, 34(3), 113–118. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.1981.tb02602.x>
24. Свириденко, Г.М., Захарова, М.Б., Иванова, Н.В., Смирнова, О.И. (2019). Влияние спорных микроорганизмов на качество сырья для производства продуктов маслоделия. *Сырделие и маслоделие*, 5, 42–45
25. ГОСТ Р 55361–2012 «Жир молочный, масло и паста масляная из коровьего молока. Правила приемки, отбор проб и методы контроля». — Москва: Стандартинформ, 2014. — 85 с.
26. ГОСТ ISO 3960–2013 «Жиры и масла животные и растительные. Определение перекисного числа. Йодометрическое (визуальное) определение по конечной точке». — Москва: Стандартинформ, 2014. — 10 с.
27. Pokorny, J., Dieffenbacher, A. (1989). Determination of 2-thiobarbituric acid value: direct method — results of a collaborative study and the standardised method. *Pure and Applied Chemistry*, 61(6), 1165–1170. <https://doi.org/10.1351/pac198961061165>
28. Guzmán-Chozas, M., Vicario-Romero, I.M., Guillén-Sans, R. (1998). 2-thiobarbituric acid test for lipid oxidation in food: Synthesis and spectroscopic study of 2-thiobarbituric acid-malonaldehyde adduct. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(12), 1711–1715. <https://doi.org/10.1007/s11746-998-0321-3>
29. ГОСТ 32901–2014 «Молоко и молочная продукция. Методы микробиологического анализа». — Москва: Стандартинформ, 2015. — 24 с.
30. ГОСТ 33566–2015 «Молоко и молочная продукция. Определение дрожжей и плесневых грибов». — Москва: Стандартинформ, 2016. — 13 с.
31. ГОСТ 32012–2012 «Молоко и молочная продукция. Методы определения содержания спор мезофильных анаэробных микроорганизмов» — Москва: Стандартинформ, 2013. — 11 с.
32. ГОСТ 28283–2015 «Молоко коровье. Метод органолептической оценки вкуса и запаха». — Москва: Стандартинформ, 2015. — 9 с.

REFERENCES

1. Delgado, S., Rachid, C.T.C.C., Fernandez, E., Rychlik, T., Alegria, A., Peixoto, R.S., Mayo, B. (2013). Diversity of thermophilic bacteria in raw, pasteurized and selectively-cultured milk, as assessed by culturing, PCR-DGGE and pyrosequencing. *Food Microbiology*, 36(1), 103–111. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2013.04.015>
2. Coorevits, A., Jonghe, V. D., Vandroemme, J., Reekmans, R., Heyrman, J., Messens, W., Vos, P.D., Heyndrickx, M. (2008). Comparative analysis of the diversity of aerobic spore-forming bacteria in raw milk from organic and conventional dairy farms. *Systematic and Applied Microbiology*, 31(2), 126–140. <https://doi.org/10.1016/j.syam.2008.03.002>
3. Doyle, C. J., Gleeson, D., Jordan, K., Beresford, T. P., Ross, R. P., Fitzgerald, G. F., Cotter, P. D. (2015). Anaerobic sporeformers and their significance with respect to milk and dairy products. *International Journal of Food Microbiology*, 197, 77–87. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.12.022>
4. Jonghe, V.D., Coorevits, A., Block, J. D., Collie, E.V., Grijspeerd, K., Herman, L. et al (2010). Toxinogenic and spoilage potential of aerobic sporeformers isolated from raw milk. *International Journal of Food Microbiology*, 136(3), 318–325. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.11.007>
5. Buehner, K.P., Anand, S., Garcia, A. (2014). Prevalence of thermophilic bacteria and spores on 10 Midwest dairy farms. *Journal of Dairy Science*, 97(11), 6777–6784. <https://doi.org/10.3168/jds.2014-8342>
6. Holliday, S.L., Adler, B.B., Beuchat, L.R. (2003). Viability of *Salmonella*, *Escherichia coli* O157: H7, and *Listeria monocytogenes* in butter, yellow fat spreads, and margarine as affected by temperature and physical abuse. *Food Microbiology*, 20(2), 159–168. [https://doi.org/10.1016/S0740-0020\(02\)00127-2](https://doi.org/10.1016/S0740-0020(02)00127-2)
7. Свириденко, Г.М., Захарова, М.Б., Иванова, Н.В., Смирнова, О.И. (2021). The influence of lactic acid bacteria on the quality and storage capacity of raw cream for buttermaking products. *Dairy Industry*, 1, 50–52. <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2021-01-50-52> (In Russian)
8. Hou, Q., Xu, H., Zheng, Y., Xi, X., Kwok, L.-Y., Sun, Z. et al. (2015). Evaluation of bacterial contamination in raw milk, ultra-high temperature milk and infant formula using single molecule, real-time sequencing technology. *Journal of Dairy Science*, 98(12), 8464–8472. <https://doi.org/10.3168/jds.2015-9886>
9. Свириденко, Г.М., Шухалова, О.М. (2019). Lactic acid lactococci as a main acid forming component. *Dairy Industry*, 4, 30–33. <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2019-4-30-33> (In Russian)
10. Свириденко, Г.М., Шухалова, О.М. (2019). Study of the production strains of the *Streptococcus thermophilus* properties to evaluate possibility to apply them in the composition of the starters for cheesemaking. *Dairy Industry*, 6, 28–31. <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2019-6-28-31> (In Russian)
11. Quigley, L., O'Sullivan, O., Stanton, C., Beresford, T.P., Ross, R.P., Fitzgerald, G.F. et al. The complex microbiota of raw milk. (2013). *FEMS Microbiology Reviews*, 37(5), 664–698. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12030>
12. Свириденко, Г.М., Иванова, Н.В., Захарова, М.Б., Смирнова, О.И. (2019). Effects of yeast on the quality and keepability of cream — raw material for the products of cheese making. *Cheese- and Buttermaking*, 3, 54–56 (In Russian)
13. Ryabtseva, S.A., Anisimov, G.S., Skripnyuk, A.A. (2013). Yeasts in the dairy sector this is a review containing data about taxonomy and existing methods of yeasts identification. *Dairy Industry*, 5, 67–68 (In Russian)
14. Deak, T. (1991). Foodborn yeasts. *Advances in Applied Microbiology*, 36, 179–278. [https://doi.org/10.1016/S0065-2164\(08\)70454-4](https://doi.org/10.1016/S0065-2164(08)70454-4)
15. Blackburn, C. de W. (ed.). Microbiological spoilage of food. (2011). St. Petersburg: Profession, 2011. (In Russian)
16. Martin, N., Boor, K., Wiedmann, M. (2017). Effect of post-pasteurization contamination on fluid milk quality. *Journal of Dairy Science*. 101(1), 861–870. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-13339>
17. Cherif-Antar, A., Moussa-Boudjemâa, B., Didouh, N., Medjahdi, K., Mayo, B., Florez, A.B. (2016). Diversity and biofilm-forming capability of bacteria recovered from stainless steel pipes of a milk-processing dairy plant. *Dairy Science Technology*, 96, 27–38. <https://doi.org/10.1007/s13594-015-0235-4>
18. Münch, G.-D., Saupe, H., Schreiter, M., Wagner, K., Zikrick, K. (1985). Microbiology of animal products. Moscow: Agropromizdat, 1985. (In Russian)
19. Свириденко, Г.М., Иванова, Н.В., Захарова, М.Б., Смирнова, О.И. (2019). Effects of the coli-bacteria on the quality and keepability of cream-raw material for the products of butter making. *Cheese- and Buttermaking*, 2, 46–49. <https://doi.org/10.31515/2073-4018-2019-2-46-49> (In Russian)
20. Taylor, R.N., Dunn, M.L., Ogden, L.V., Jefferies, L.K., Eggett, D.L., Steele, F.M. (2013). Conditions associated with *Clostridium sporogenes* growth as a surrogate for *Clostridium botulinum* in nonthermally processed canned butter. *Journal of Dairy Science*, 96(5), 2754–2764. <https://dx.doi.org/10.3168/jds.2012-6209>
21. Meer R. R., Baker, J., Bodyfelt, F. W., Griffiths, M.W. (1991). Psychrotrophic *Bacillus* spp. in fluid milk products: a review. *Journal of Food Protection*, 54(12), 969–979. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-54.12.969> (In Russian)
22. Carlin, F. (2011). Origin of bacterial spores contaminating foods. *Food Microbiology*, 28(2), 177–182. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2010.07.008>
23. Phillips, J. D., Griffiths, M. W., Muir, D. D. (1981). Growth and associated enzymatic activity of spoilage bacteria in pasteurized double cream. *Journal of the Society of Dairy Technology*, 34(3), 113–118. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.1981.tb02602.x>
24. Свириденко, Г.М., Захарова, М.Б., Иванова, Н.В., Смирнова, О.И. (2019). Effects of the spore microorganisms on the quality of raw materials for manufacturing of the products of butter making. *Cheese- and Buttermaking*, 5, 42–45. (In Russian)
25. ГОСТ Р55361–2012 “Milk fat, butter and butter paste made from cow milk. The rules of tests acceptance, sampling and control methods”. — Moscow: Standartinform, 2014. — 85 p. (In Russian)
26. ГОСТ ISO 3960–2013 “Animal and vegetable fats and oils. Determination of peroxide value. Iodometric (visual) endpoint determination”. — Moscow: Standartinform, 2014. — 10 p. (In Russian)
27. Pokorny, J., Dieffenbacher, A. (1989). Determination of 2-thiobarbituric acid value: direct method — results of a collaborative study and the standardised method. *Pure and Applied Chemistry*, 61(6), 1165–1170. <https://doi.org/10.1351/pac198961061165>
28. Guzmán-Chozas, M., Vicario-Romero, I.M., Guillén-Sans, R. (1998). 2-thiobarbituric acid test for lipid oxidation in food: Synthesis and spectroscopic study of 2-thiobarbituric acid-malonaldehyde adduct. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 75(12), 1711–1715. <https://doi.org/10.1007/s11746-998-0321-3>
29. ГОСТ 32901–2014 “Milk and milk products. Methods of microbiological analysis”. — Moscow: Standartinform, 2015. — 24 p. (In Russian)
30. ГОСТ 33566–2015 “Milk and dairy products. Determination of yeast and mould” — Moscow: Standartinform, 2016. — 13 p. (In Russian)
31. ГОСТ 32012–2012 “Milk and milk product. Methods for determination of the spores content of mesophilic anaerobic microorganisms” — Moscow: Standartinform, 2013. — 11 p. (In Russian)
32. ГОСТ 28283–2015 “Cow's milk. Method of the organoleptic determination of odour and taste”. — Moscow: Standartinform, 2015. — 9 p. (In Russian)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p>Свириденко Галина Михайловна — доктор технических наук, главный научный сотрудник, руководитель направления микробиологических исследований молока и молочной продукции, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская обл., Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7–48532–5–48–64 E-mail: sg_microbiology@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9586-3786 * автор для контактов</p>	<p>Galina M. Sviridenko, Doctor of technical sciences, Chief researcher, Head of the department of microbiological studies of milk and dairy products, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, 152613, Yaroslavl Region, Uglich, Russia Tel.: +7–48532–5–48–64 E-mail: sg_microbiology@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9586-3786 * corresponding author</p>
<p>Захарова Марина Борисовна — кандидат технических наук, старший научный сотрудник, Отдел микробиологии, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская обл., Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7–48532–9–81–18 E-mail: marina-zaharova-2015@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2537-4522</p>	<p>Marina B. Zakharova, Candidate of technical sciences, Senior researcher, Department of microbiology, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, 152613, Yaroslavl Region, Uglich, Russia Tel.: +7–48532–9–81–18 E-mail: marina-zaharova-2015@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2537-4522</p>
<p>Иванова Нина Васильевна — кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник, руководитель направления исследований по технологии продуктов маслоделия, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская обл., Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7–48532–9–81–08 E-mail: n. w. i.uglich@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6070-3478</p>	<p>Nina V. Ivanova, Candidate of technical sciences, Leading researcher, Head of research on the technology of buttermaking products, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, 152613, Yaroslavl Region, Uglich, Russia Tel.: +7–48532–9–81–08 E-mail: n. w. i.uglich@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6070-3478</p>
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

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-4-269-277>

Поступила 13.10.2021

Поступила после рецензирования 23.11.2021

Принята в печать 06.12.2021

© Папахин А. А., Бородина З. М., 2021

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

Научная статья

Open access

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ ПУЛЛУЛАЗЫ В КАЧЕСТВЕ БИОКАТАЛИЗАТОРА ПРОЦЕССА ГИДРОЛИЗА КРАХМАЛА: ЧАСТЬ 1. ИЗУЧЕНИЕ ДЕЙСТВИЯ ПУЛЛУЛАЗЫ НА АМИЛОПЕКТИНОВЫЙ КУКУРУЗНЫЙ КРАХМАЛ

Папахин А. А.*, Бородина З. М.

Всероссийский научно-исследовательский институт крахмалопродуктов, Московская область, Красково, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

амилолитические ферменты,
амилоза, амилопектин,
структурные свойства,
редуцирующие вещества,
углеводный состав

АННОТАЦИЯ

Использование разветвляющихся ферментов при гидролизе крахмала является актуальным направлением для получения новых видов крахмалопродуктов с контролируемыми свойствами и потенциалом для дальнейшего использования. Целью работы являлось изучение действия пуллулазы (EC 3.2.1.41) на кукурузный амилопектиновый крахмал в нативном и клейстеризованном состоянии. Объектами исследований являлись амилопектиновый кукурузный крахмал и ферментный препарат Promozyme D6 (Novozymes, Дания). Для определения углеводного состава гидролизатов применяли метод высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ), массовую долю редуцирующих веществ (РВ) определяли методом Лейна и Эйнона, для измерения динамической вязкости продуктов гидролиза крахмала был использован ротационный вискозиметр. Выявлено, что в нативном состоянии испытуемый крахмал проявил невысокую ферментативную восприимчивость к действию пуллулазы с незначительными изменениями вязкости, растворимости и йодсвязывающей способности образцов. Показано, что наибольшую активность на клейстеризованный крахмал пуллулаза проявляла в первые 8 часов инкубации. Установлено, что максимальная степень гидролиза крахмала пуллулазой через 8 часов при дозе 10 ед/г сухого вещества (СВ) составила 4,7% по СВ, йодсвязывающая способность гидролизата $D_{600}-0,343$, при этом в контрольном опыте она составила $D_{600}-0,154$, а вязкость гидролизата снизилась с 7887 мПа·с до 4,3 мПа·с. Гидролизаты, охлажденные до 8 °С и выдержанные в течение 20 часов наряду с охлажденными, проявили высокую атакуемость глюкоамилазой на 97–98% при 60 °С и 24 часа осахаривания, что указывало на отсутствие их резистентности к действию глюкоамилазы в условиях опыта. Использование пуллулазы при декстринизации клейстеризованного и частично гидролизованного α -амилазой (РВ 6,1%) испытуемого крахмала позволяло получать гидролизаты с массовой долей редуцирующих веществ в пределах 10–24% по СВ при продолжительности процесса от 2 до 24 часов и дозировке фермента 2–10 ед., которые содержали в основном мальтотриозу, мальтогексозу и мальтогептозу с их суммарным количеством 45–60% по СВ. Результаты свидетельствуют о необходимости продолжения исследований биокаталитического действия пуллулазы для разработки новых способов ферментативной модификации крахмала.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию № 0585–2019–033–С-01 Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук.

Received 13.10.2021

Accepted in revised 23.11.2021

Accepted for publication 06.12.2021

© Papakhin A. A., Borodina Z. M., 2021

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

Original scientific article

Open access

USE OF PULLULANASE AS A BIOCATALYST FOR STARCH HYDROLYSIS: PART 1. STUDY OF THE EFFECT OF PULLULANASE ON MAIZE AMYLOPECTIN STARCH

Alexander A. Papakhin*, Zinaida M. Borodina

All-Russian Scientific Research Institute for Starch Products, Moscow region, Kraskovo, Russia

KEY WORDS:

amylolytic enzymes, amylose,
amylopectin, structural properties,
reducing substances, carbohydrate
composition

ABSTRACT

The use of debranching enzymes in starch hydrolysis is a topical direction for obtaining new types of starch products with controlled properties and a potential for the further use. The aim of the work was to study an effect of pullulanase (EC3.2.1.41) on maize amylopectin starch in the native and gelatinized state. The objects of the research were maize amylopectin starch and enzyme preparation Promozyme D6 (Novozymes, Denmark). High-performance liquid chromatography (HPLC) was used to determine the carbohydrate composition of hydrolysates. The mass fraction of reducing substances (RS) was determined by the Lane and Eynon method. A rotational viscometer was used to measure dynamic viscosity of the starch hydrolysis products. It was found that analyzed starch in the native state showed low enzymatic sensitivity to the action of pullulanase with insignificant changes in viscosity, solubility and iodine binding capacity of the samples. Pullulanase showed the highest effect on gelatinized starch during the first eight hours of incubation. After eight hours, the maximum degree of starch hydrolysis by pullulanase at a dose of 10 units/g dry matter (DM) was 4.7% on DM basis, iodine binding capacity

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Папахин, А. А., Бородина, З. М. (2021). Использование пуллулазы в качестве биокатализатора процесса гидролиза крахмала. Часть 1. Изучение действия пуллулазы на амилопектиновый кукурузный крахмал. *Пищевые системы*, 4(4), 269–277. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-4-269-277>

FOR CITATION: Papakhin, A.A., Borodina, Z.M. (2021). Use of pullulanase as a biocatalyst for starch hydrolysis: Part 1. Study of the effect of pullulanase on maize amylopectin starch. *Food systems*, 4(4), 269–277. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-4-269-277>

of the hydrolysate was $D_{600} = 0.343$ (in the control experiment $D_{600} = 0.154$), and the viscosity of the hydrolysate decreased from 7887 mPa·s to 4.3 mPa·s. Hydrolysates cooled to 8 °C and held for 20 hours along with hydrolysates that were not cooled showed high susceptibility to attack by glucoamylase (97–98%) at 60 °C and 24 hours of saccharification, which suggested the absence of their resistance to the action of glucoamylase in the conditions of the experiment. The use of pullulanase in dextrinization of the analyzed starch, which was gelatinized and partly hydrolyzed by α -amylase (RS6.1%), enabled obtaining hydrolysates with the mass fraction of reducing substances in a range of 10–24% on DM basis with the process duration of 2 to 24 hours and the enzyme dose of 2–10 units, which contained mainly maltotriose, maltohexose and maltoheptose with their total amount of 45–60% on DM basis. The results indicate a need for further research of the biocatalytic action of pullulanase to develop new methods for enzymatic modification of starch.

FUNDING: The article was published as part of the research topic No. 0585–2019–033-C-01 of the state assignment of the V. M. Gorbatoev Federal Research Center for Food Systems of RAS.

1. Введение

Мировые достижения в развитии биохимии, микробиологии и энзимологии послужили основой для развития промышленности ферментных препаратов, эффективно используемых в различных отраслях пищевой и перерабатывающей промышленности, и, соответственно, для проведения научных исследований [1,2]. В последние годы на рынок поступают новые поколения препаратов ферментов, в том числе амилолитических, используемых в качестве катализаторов реакции гидролиза крахмала [3]. Гидролиз, который может быть полным или частичным, является одним из основных способов изменения физико-химических и функциональных свойств крахмала с целью получения различных сахаристых продуктов и модифицированных крахмалов. Наиболее используемые в производстве крахмалопродуктов в качестве сырья крахмалы на 75–85% состоят из амилопектина — разветвленного полисахарида, содержащего, наряду с α -1,4-глюкозидными связями остатков D-глюкозы, 4–5% α -1,6-глюкозидных связей в точках ветвления [4,5].

В качестве биокатализаторов процесса гидролиза крахмала используют амилолитические ферменты класса гидролаз. Наиболее востребованные ферменты, используемые в процессе гидролиза крахмала в научных и промышленных масштабах: альфа-амилаза (бактериальная и грибная), бета-амилаза (бактериальная и растительная), глюкоамилаза (грибная) [3]. Альфа- и бета-амилазы расщепляют α -1,4-глюкозидные связи в крахмале, но не действуют на α -1,6-связи, а глюкоамилаза, помимо α -1,4-связей, расщепляет и α -1,6-связи, но со скоростью во много раз меньшей, чем α -1,4. В научном и практическом плане все более возрастающий интерес вызывает использование ферментов альфа-1,6-гликозидаз, в частности пуллулаказы (EC3.2.1.41-пуллулан-6-глюканогидролаза), способной расщеплять α -1,6-глюкозидные связи в молекулах пуллулана, крахмала, амилопектина и родственных олигосахаридов [6]. Каталитическое действие пуллулаказы обеспечивает полное и эффективное преобразование разветвленных полисахаридов в олигосахариды с линейной структурой, хорошо ферментируемые в процессе дальнейшего осахаривания, в частности, при получении глюкозы.

Пуллулаза известна в литературе как деразветвляющий фермент прямого действия под наименованиями: α -декстрин-6-глюканогидролаза, пуллулан-6-глюканогидролаза, конечная декстриназа и амилопектин-6-глюканогидролаза [7,8]. О применении пуллулаказы в крахмалоперерабатывающей промышленности известно и в России, и за рубежом. Она играет ключевую роль в полном деразветвлении и гидролизе крахмала, улучшая тем самым качество продукции, повышая производительность и снижая производственные затраты при изготовлении резистентного крахмала, глюкозного сиропа и пива [9]. Применение ферментных препаратов данного вида является перспективным направлением в производстве сахаристых крахмалопродуктов. Было установлено, что использование пуллулаказы

в процессе осахаривания клейстеризованного и разжиженного α -амилазой крахмала в композиции с осахаривающими ферментами (глюкоамилазой, бета-амилазой и др.) позволяет повысить скорость процесса, снизить количество осахаривающих ферментов, увеличить степень гидролиза и, соответственно, выход готовой продукции, а также увеличить концентрацию сухих веществ (СВ) субстрата, что приводит к снижению затрат на выпаривание [9–11]. Так, использование препарата Promozyme D2 (Novozymes, Дания) в композициях с глюкоамилазами и мальтогенными ферментами позволяет увеличить выходы глюкозы и мальтозы в конечных продуктах от 2,5 до 30% [10]. Двухстадийный процесс осахаривания с применением пуллулаказы при переходной температуре 50 °C на первой стадии, о котором сообщается в исследовании [11], резко увеличивал скорость гидролиза мальтодекстрина, продуцировал значительно больше мальтозы и меньше побочных продуктов. Данный процесс может представлять собой эффективную, экологически безопасную стратегию производства мальтозного сиропа в промышленности.

В последнее время большое внимание исследователей уделяется изучению действия пуллулаказы на крахмал в клейстеризованном и в нативном состоянии. Этот процесс может быть использован для получения модифицированных крахмалов и крахмалопродуктов с повышенной резистентностью к действию амилаз желудочно-кишечного тракта человека и животных [12–14]. Исследователи сообщали о получении декстринов с повышенной на 5–10% резистентностью путем одновременного деразветвления пуллулазой и кристаллизации восковидного кукурузного крахмала при 50 °C с последующим гидролизом серной кислотой или α -амилазой [12].

За счет использования циклической обработки нагреванием и охлаждением после стадии деразветвления пуллулазой клейстеризованного пшеничного крахмала получали резистентный крахмал типа R3 (ретроградный) с низким гликемическим индексом порядка 34% и низкой усвояемостью [13]. Последовательная обработка β -амилазой, трансглюкозидазой и пуллулазой нативного рисового крахмала позволяла получить модифицированный крахмал с сильной устойчивостью к ферментному гидролизу и более низким гликемическим индексом, причем наиболее устойчивые кристаллы образовывались из линейных цепей со степенью полимеризации 9–11 [14].

Установлено, что модификация свойств нативного крахмала пуллулазой зависит от вида крахмала и условий проведения процесса, а механизм гидролиза подобен таковому для амилаз, гидролизующих α -1,4-глюкозидные связи [15]. Кроме того, площадь поверхности, а также размер частиц гранул крахмала оказывают важное влияние на начальную скорость, с которой нативный крахмал расщепляется деразветвляющим ферментом. Li P. и др. [16] отмечали, что в нативном состоянии картофельный крахмал показал более

высокую восприимчивость к пуллулазае по сравнению с кукурузным, у которого наблюдалось незначительное изменение вязкостных и других свойств.

Исследования Hong Y. и др. [17] показали, что набухшие крахмалы после обработки пуллулазае могут образовывать гели, при этом кристалличность структуры гелей изменялась после гидролиза из А-типа до смеси В- и V-типа. Способность образовывать гели связана с полкой структурой кристаллитов V-типа, что является перспективой для доставки лекарств и биоматериалов.

Полученные данные в ходе изучения физико-химических и структурных свойств крахмалов различных видов, обработанных пуллулазае в клейстеризованном состоянии, показали значительные изменения в свойствах испытуемых крахмалов [5]. Так, деразветвленные крахмалы обладали большей йодсвязывающей способностью, чем нативные, а также более высокой растворимостью, но низкой вязкостью клейстеров. Комплексообразующая способность (в случае с жирными кислотами) зависела от длины отщепленных цепочек глюканов и, следовательно, от вида крахмала. Возможность образования стабильных гелей достигалась при высокой концентрации сухих веществ крахмала. Ряд исследователей сообщили о возможности использования деразветвляющих ферментов прямого действия (пуллулазае, изоамилазы) на крахмал как в клейстеризованном, так и в нативном состоянии при получении резистентных крахмалов, амилозы, циклодекстринов [18–20].

Путем деразветвления нормального кукурузного крахмала и автоклавирования в исследованиях Xu R. и др. [18] получали образцы, содержащие фракции амилозы со степенью полимеризации СП 22–260 и с резистентностью до 17%, увеличивающейся в диапазоне СП 22–75. Совместное действие пуллулазае с альфа-амилазой на кукурузный крахмальный гель при pH 5,5 и температуре 60 °C в течение 12 часов повышало содержание амилозы в геле на 17–28%, и при дальнейшей ретроградации увеличивало выход резистентного крахмала до 19% с изменением кристалличности от типа А до В [19]. При действии пуллулазае может быть деразветвлено более 80% клейстеризованного восковидного кукурузного крахмала при концентрации суспензии 25% с образованием высококристаллического крахмалопродукта типа В с содержанием резистентного крахмала до 70,7% [20]. Данный процесс происходит при последующей выдержке обработанного клейстеризованного восковидного кукурузного крахмала в течение 24 часов при 25 °C.

Таким образом, модифицированные крахмалы, получаемые с использованием пуллулазае, за счет линейной структуры с различной длиной цепей, высокой степени кристалличности, склонности к образованию комплексных соединений, имеют хорошую перспективу использования для получения резистентных крахмалопродуктов. Кроме того, они могут применяться в качестве защитных инкапсуляторов биологически активных соединений с повышенной антиоксидантной активностью, комплексообразователей, а также компонентов функциональных продуктов питания с низким гликемическим индексом для диетического питания и лечения диабета.

Цель работы — изучение действия пуллулазае, как индивидуального, так и в композиции с α -амилазой на амилопектиновый крахмал в нативном и клейстеризованном состоянии.

2. Объекты и методы

В работе использовали кукурузный амилопектиновый крахмал стандартного качества по ГОСТ 32159–2013 [21]. В качестве испытуемой пуллулазае применяли фермент-

ный препарат нового поколения Promozyme D6, предоставленный компанией Novozymes (Дания). Испытуемая пуллулазае является ферментом, катализирующим процесс гидролиза крахмала в нативном и клейстеризованном состоянии путем разрыва α -1,6-гликозидных связей. По данным производителя, пуллулазае активностью препарата составляет 4000 ед. Пул/г. Одна единица активности пуллулазае определяет количество фермента, который гидролизует пуллулан в стандартных условиях (при показателе pH 5,0, температуре 40 °C, времени инкубации 20 мин.), высвобождая 1 моль редуцирующего углевода в минуту. Оптимальные условия действия пуллулазае на крахмал: температура 60 °C и показатель pH = 5,0–5,5. Наряду с пуллулазае использовали препарат термостабильной бактериальной α -амилазы Liquazyme Supra 2.8 компании Novozymes (Дания). Амилолитическая активность α -амилазы, определенная методом, изложенным в ГОСТ 54330–2011 [22], составляла 2000 ед. АС/г препарата.

Химический состав и качественные показатели крахмала определяли по ГОСТ 7698–93 [23]. Содержание общих и растворимых сухих веществ (СВ) в крахмале и продуктах гидролиза выявляли методом высушивания и с использованием рефрактометра ИРФ-454Б2М («АналитЛаб», Россия); углеводный состав гидролизатов — методом ВЭЖХ на углеводном анализаторе Bischoff 8120 (Schmidt, Германия) с использованием хроматографической колонки Resex RSO Oligosaccharide [24]. Редуцирующие вещества (РВ, ГЭ) в гидролизатах определяли методом Лейна-Эйнона (ГОСТ Р 50549–93) [25]. Динамическую вязкость гидролизатов измеряли на ротационном вискозиметре Reotest-2 (Mettingen, Германия). Морфологию гранул крахмала определяли путем микроскопирования с использованием светового микроскопа Leica (Германия) при 500-кратном увеличении. Йодопоглощение образцов исходного и обработанного пуллулазае амилопектинового крахмала оценивали согласно методике, приведенной в ГОСТ ISO 6647–1–2015 [26], с некоторыми изменениями. Анализируемую пробу (100 ± 0,5) мг по СВ помещали в мерную колбу на 100 мл, доводили до метки водой и тщательно перемешивали. Отбирали пипеткой 5 мл полученного раствора в мерную колбу на 100 мл, содержащую 50 мл воды, затем вносили 1 мл 0,2 М ацетатного буфера с pH 5,0, добавляли 2 мл 0,02 н. раствора йода в йодистом калии, затем доводили до метки водой и перемешивали. После 10 мин. отстаивания измеряли оптическую плотность анализируемых растворов при длине волны 600 нм в сопоставлении с йодным раствором сравнения, используя спектрофотометр СФ-2000 (ОКБ СПЕКТР, Россия). Физико-химические показатели полученных продуктов определяли по принятым в крахмалопаточном производстве методикам [27]. Все реактивы, используемые для анализов, были аналитического качества. Математическую обработку результатов проводили с использованием пакета анализа Microsoft Office Excel 2007 (критерий наименьшей существенной разницы НСР при уровне значимости $\alpha = 0,05$).

Эксперименты по гидролизу нативного крахмала в присутствии пуллулазае проводили по схеме, ранее принятой для низкотемпературного биокатализа гидролиза кукурузного крахмала глюкоамилазой, с некоторыми изменениями [28]. Готовили крахмальную суспензию концентрацией 9–10% по СВ, доводили pH до значения $5,2 \pm 0,1$, вносили расчетную дозу пуллулазае и инкубировали с перемешиванием при 130 об/мин и температуре 60 ± 1 °C. Дозировку пуллулазае варьировали в пределах 0–50 ед. Пул/г СВ крахмала, продолжительность процесса составляла от 0 до 48 часов с отбором проб через 8, 22, 48 часов. Пробы реакционной смеси посредством вакуум-фильтрации разделяли на

жидкую фракцию — фильтрат, и твердую — осадок крахмала с последующей промывкой осадка дистиллированной водой при гидромодуле 1:4. Фильтрат смешивали с промывными водами и в смеси определяли массовую долю растворимых СВ крахмала. Осадок высушивали при температуре 50 °С до воздушно-сухого состояния. Результаты процесса гидролиза оценивали путем определения степени растворения (СРК) и степени гидролиза крахмала (СГК) согласно ранее разработанной методике [29].

Оценку индивидуального действия пуллулаказы на клейстеризованный крахмал проводили по следующей схеме: приготовление 10%-ной суспензии крахмала в 0,02 М ацетатном буфере со значением pH 5,0; нагревание и выдерживание при температуре 90–95 °С в течение 40 мин. при постоянном перемешивании; выдерживание клейстеризованной массы под давлением 0,1 МПа при температуре 110–115 °С в течение 10 мин. (для обеспечения полной клейстеризации); охлаждение клейстера до температуры 65 °С, внесение расчетной дозы пуллулаказы и выдерживание в шейкере-инкубаторе KS4000i (IKA, Германия) при температуре 62 ± 1 °С в течение 24 часов при 130 об/мин с периодическим отбором проб; подкисление отобранных проб до pH = 4,0 и нагревание в кипящей водяной бане в течение 10 мин. для инактивации пуллулаказы; охлаждение и анализ полученных гидролизатов.

Эксперименты по изучению действия пуллулаказы на клейстеризованный амилопектиновый крахмал, разжиженный и частично гидролизованный термостабильной α -амилазой, проводили по традиционной схеме получения низкосахаренных продуктов гидролиза крахмала (мальтодекстринов, низкосахаренной патоки), включающей стадии разжижения и декстринизации (осахаривания): приготовление суспензии крахмала с концентрацией СВ 10%, доведение pH до $5,4 \pm 0,1$; нагревание суспензии до температуры 60 °С при постоянном перемешивании, внесение термостабильной α -амилазы в количестве 0,2 ед. АС/г СВ крахмала, нагрев до температуры 93–95 °С и выдерживание в течение 30 мин.; обработка суспензии под давлением 0,1 МПа при температуре 110 °С в течение 10 мин. для полной клейстеризации; охлаждение гидролизата до температуры 65 °С, внесение расчетной дозы пуллулаказы и инкубация при температуре 62 ± 1 °С в течение 24 часов с периодическим отбором проб через 2, 8 и 24 часа; нагрев проб, подкисленных до pH = 4,0 в кипящей водяной бане в течение 10 мин. для инактивации ферментов, а также анализ полученных гидролизатов.

3. Результаты и обсуждение

Ранее авторами было установлено, что амилопектиновый (восковидный) кукурузный крахмал в нативном состоянии проявлял высокую восприимчивость к ферменту глюкоамилазе, по сравнению с другими видами крахмалов [30]. Амилопектиновый кукурузный крахмал, в отличие от нормального кукурузного крахмала, состоит почти исключительно из высокомолекулярных макромолекул амилопектина, разветвленных за счет внутримолекулярных α -1,6-гликопиранозных связей [31]. С применением дезактивирующих ферментов данные α -1,6-связи в амилопектине могут быть эффективно гидролизованы с высвобождением линейных α -1,4-связанных цепей с различной степенью полимеризации (СП), обуславливающих изменение структурных, физико-химических и функциональных свойств крахмала. В связи с этим было решено использовать амилопектиновый крахмал в качестве испытуемого для оценки его ферментативной восприимчивости к пуллулаказе в нативном и клейстеризованном состоянии.

Первый этап исследований посвящен изучению действия пуллулаказы на амилопектиновый крахмал в гетерогенной водной среде при температурных условиях, не превышающих начальную точку клейстеризации. Дозировку пуллулаказы варьировали в пределах 0–50 ед. Пул/г СВ крахмала, продолжительность процесса — от 0 до 48 часов с отбором проб через 8, 22, 48 часов. В полученных фильтратах после разделения проб определяли массовую долю СВ и, соответственно, степень растворения крахмала (СРК, % на СВ). Результаты действия испытуемой пуллулаказы на нативный амилопектиновый крахмал представлены в Таблице 1.

Таблица 1

Влияние дозировки пуллулаказы и продолжительности гидролиза на степень растворения (СРК) нативного кукурузного амилопектинового крахмала

Доза пуллулаказы, ед. Пул/г СВ крахмала	Продолжительность гидролиза, ч				НСР _{0,05}
	0	8	22	48	
0 (ВТО)	0,23	0,23	0,28	0,35	0,06
5	0,23	1,70	1,94	2,12	0,09
10	0,23	2,61	2,97	3,01	0,15
15	0,23	3,11	3,47	3,40	0,07
20	0,23	3,96	4,52	3,89	0,10
25	0,23	4,25	5,00	3,94	0,07
35	0,23	4,24	4,15	3,85	0,09
50	0,23	4,06	4,09	3,67	0,08

При анализе результатов проведенных опытов отмечено, что контрольный опыт (без пуллулаказы) представляет собой влаготермическую обработку (ВТО) крахмала в данных условиях. При внесении пуллулаказы в опытах осуществляются два процесса: ВТО и гидролиз крахмала, что необходимо учитывать при анализе результатов. В целом, с увеличением дозировки пуллулаказы степень растворения образцов крахмала повышалась (Таблица 1), достигнув максимума 4,5–5,0% при дозировках 20–25 ед. Пул/г СВ крахмала, выше которых она начинала снижаться. Отмечено, что при дозировках 20–50 ед. Пул/г СВ с увеличением продолжительности инкубации степень растворения амилопектинового крахмала быстро нарастала к 8 часам инкубации, но после 22 часов снижалась на 0,3–1,0% в зависимости от дозировки. Вероятно, это связано с частичной набухаемостью гранул амилопектинового крахмала в ходе продолжительной влаготермообработки в течение 48 часов.

В образцах обработанного пуллулаказой амилопектинового крахмала установлено незначительное снижение динамической вязкости 3%-ных клейстеров полученных образцов и водоудерживающей способности, а также повышение степени растворения, обусловленные его структурными свойствами. Йодсвязывающая способность образцов, определяемая при 600 нм, оставалась практически неизменной — $D_{600} - 0,200$, что можно объяснить небольшой длиной отщепленных линейных цепочек, не образующих комплексов с йодом. Морфология гранул испытуемых крахмалов, определяемая путем микроскопирования, не претерпевала видимых изменений при действии пуллулаказы. Некоторое увеличение объемов гранул происходило по всей вероятности из-за их набухания в ходе влаготермической обработки при температуре 60 °С. В целом, амилопектиновый крахмал проявил невысокую ферментативную восприимчивость к действию пуллулаказы в указанных условиях низкотемпературного биокатализа, что можно объяснить его структурными свойствами и экзо-механизмом действия пуллулаказы.

На следующем этапе работы изучалось действие пуллулазы на испытуемый крахмал в клейстеризованном состоянии.

Дозировка пуллулазы в опытах составляла: 0, 2, 6, 10 ед. Пул/г СВ крахмала. Действие пуллулазы на клейстеризованный крахмал оценивали путем определения степени гидролиза крахмала и показателей вязкости и йодсвязывающей способности, характеризующих степень разветвления и свойства получаемых гидролизатов.

Визуально отмечено, что гидролизаты амилопектинового крахмала при охлаждении после инактивации фермента до температуры 25 °С, а также хранении при данной температуре в течение 8 часов, оставались подвижными и достаточно прозрачными, т. е. доступными к проведению анализов. При хранении гидролизатов в течение 16–20 часов при температуре 25 °С они становились белыми мягкими гелями, и для проведения анализов их подвергали нагреванию до температуры 60–70 °С с последующим охлаждением до температуры 25 °С. Восстановительная способность гелей указывала на низкую способность полученных разветвленных гидролизатов амилопектинового крахмала в заданных условиях к ретроградации. В подобных исследованиях сообщалось о повышении резистентности клейстеризованного амилопектинового крахмала в среднем до 20% после обработки пуллулазой [32,33].

С целью определения степени резистентности гидролизатов разветвленного амилопектинового крахмала к действию глюкоамилазы гидролизаты, полученные через 24 часа обработки пуллулазой с дозировками 2, 6, 10 ед. Пул/г СВ крахмала, прокипятили в кипящей водяной бане в течение 15 мин. для инактивации пуллулазы. Затем гидролизаты разделили на 2 части: первую охладили до температуры 62 °С, довели рН до 4,2, внесли раствор глюкоамилазы 3,0 ед. ГлС/г СВ гидролизата и инкубировали на термостойке ИКА при температуре 60 °С в течение 24 часов. Полученный осадочный гидролизат взвешивали, фильтровали и гравиметрически определяли количество фильтра, степень гидролиза и количество негидролизованного осадка в процентах по СВ гидролизата и анализировали. Вторую часть 24-х часовых гидролизатов после охлаждения до температуры 30 °С поместили в холодильник и выдержали при температуре 8 °С в течение 20 часов, затем нагрели до температуры 60 °С, довели рН до 4,2, внесли раствор глюкоамилазы 3,0 ед. ГлС/г СВ и также инкубировали при 60 °С в течение 24 часов, затем фильтровали и обрабатывали так же, как первую часть.

В фильтрах (глюкозных сиропах) определяли массовую долю РВ (ГЭ) и углеводный состав методом ВЭЖХ. Полученные результаты, представленные в Таблице 2, показали, что

застывшие гели, полученные при охлаждении гидролизатов в течение 20 часов при температуре 8 °С, осаживались глюкоамилазой так же, как и неохлажденные, т. е. повышения устойчивости амилопектиновых гидролизатов к действию глюкоамилазы в условиях опыта не было достигнуто.

Было установлено, что пуллулаза активно действовала на клейстеризованный амилопектиновый крахмал в первые часы инкубации при всех испытуемых дозах. С увеличением продолжительности процесса вязкость гидролизатов пуллулазы 2–6 ед. Пул/г СВ крахмала в период от 8 до 24 часов происходит заметное увеличение степени гидролиза, то при дозах 6–10 ед. Пул/г СВ процесс практически заканчивается через 8 часов инкубации при данных условиях опыта.

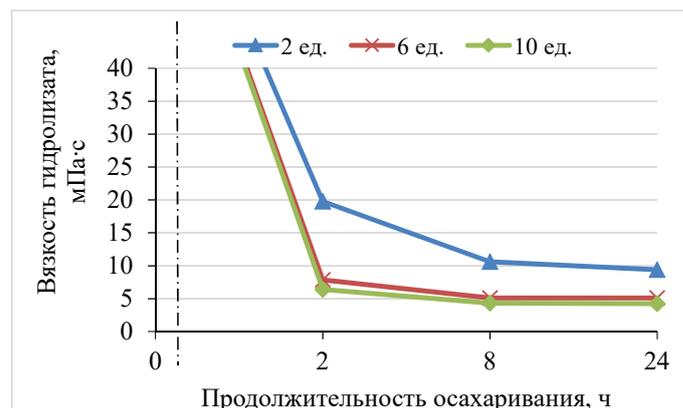


Рисунок 1. Зависимость вязкости гидролизатов амилопектинового крахмала от продолжительности осахаривания при различной дозировке пуллулазы

Это явление также отражалось и на йодсвязывающей способности (Рисунок 2). Максимальная степень гидролиза амилопектинового крахмала пуллулазой при дозе 10 ед. Пул/г СВ составила через 8 часов 4,7% по СВ, йодсвязывающая способность гидролизата — $D_{600} = 0,343$ против $D_{600} = 0,154$ в контрольном опыте (без пуллулазы), а вязкость гидролизата снизилась с 7887 мПа·с до 4,3 мПа·с.

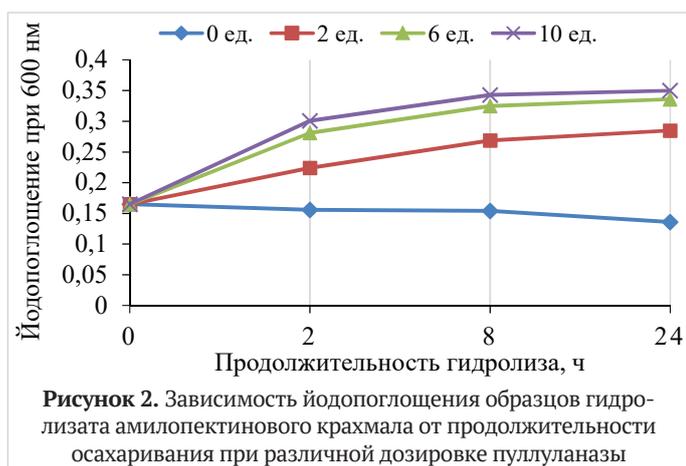
На следующем этапе исследований было изучено действие пуллулазы на клейстеризованный амилопектиновый крахмал, разжиженный и частично гидролизованный термостабильной α -амилазой.

В проведенных опытах варьировали дозировки пуллулазы и α -амилазы на стадии декстринизации. Контрольным был опыт 1, в котором на процесс декстринизации ферменты не дозировали, а полученные после разжижения гидролизаты также инкубировали при температуре 60 °С в течение 24 часов с отбором проб. В опыте 2 на стадии

Таблица 2

Результаты осахаривания пуллулазных гидролизатов клейстеризованного амилопектинового крахмала глюкоамилазой (при температуре 60 °С и продолжительности 24 часа)

Доза, ед. Пул/г СВ крахмала	РВ сиропа, % по СВ	СГК, % по СВ	Выход осадка, % по СВ	Углеводный состав сиропа, %			
				Глюкоза	Мальтоза	Мальтотриоза	ВМС
Без охлаждения перед осахариванием							
2,0	98,30	96,99	3,01	97,93	0,62	0,0	1,45
6,0	99,73	96,50	3,50	99,37	0,63	0,0	0,0
10,0	99,13	94,60	5,41	98,57	0,75	0,69	0,0
С охлаждением перед осахариванием							
2,0	99,20	96,23	3,70	98,73	0,65	0,0	0,61
6,0	99,21	96,60	3,40	98,70	0,65	0,0	0,64
10,0	99,18	96,70	3,30	98,64	0,74	0,62	0,0
НСП _{0,05}	1,95	2,44	0,95	2,57	0,30	0,20	0,34



декстринизации разжиженного крахмала в качестве катализатора использовали только α -амилазу в количестве 0,2 ед. АС/г СВ; в опытах 3, 5, 6 вносили только пуллулазу с дозировкой 2, 5 и 10 ед. Пул/г СВ соответственно, а в опыте 4 к 5,0 ед. Пул/г СВ добавляли 0,2 ед. АС/г СВ α -амилазы. Полученные результаты представлены в Таблице 3 и на Рисунке 3.

Таблица 3

Характеристика гидролизатов, полученных при действии пуллулаказы на разжиженный α -амилазой амилопектиновый крахмал индивидуально и в композиции с α -амилазой

№ опыта	Доза ферментов на декстринизацию:		Время осахаривания, ч	Показатели гидролизатов			
	Ед. АС/г СВ	Ед. Пул/г СВ		РВ, % по СВ	СГК, % по СВ	Иодопоглощение при 600 нм	Вязкость, мПа·с
1	-	-	0*	6,12	13,86	0,081	4,23
			2	8,90	18,90	0,048	3,64
			24	12,86	27,31	0,0	2,70
2	0,2	-	2	16,86	35,81	0,0	2,82
			24	24,80	56,20	0,0	1,70
3	-	2,0	2	10,6	43,0	0,065	3,41
			24	22,47		0,007	1,93
4	0,2	5,0	2	17,2	56,7	0,053	2,62
			24	30,68	57,46	0,0	1,57
5	-	5,0	2	11,95	14,3	0,077	3,23
			24	23,66	30,9	0,009	1,97
6	-	10,0	2	12,8	43,84	0,079	3,01
			24	22,07		0,014	1,72
НСР _{0,05}				0,47	0,62	0,01	0,35

Прим.: 0* – контрольный образец после разжижения.

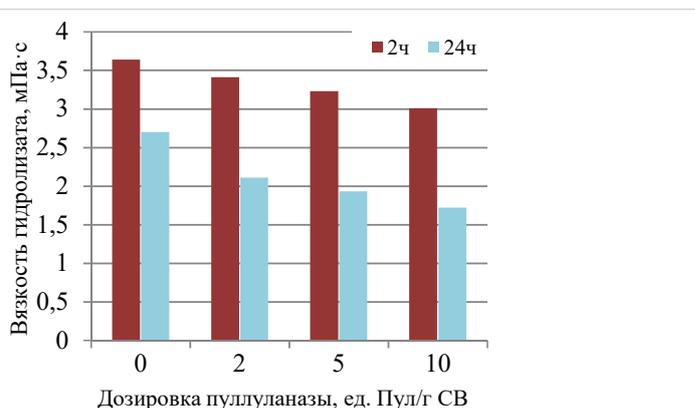
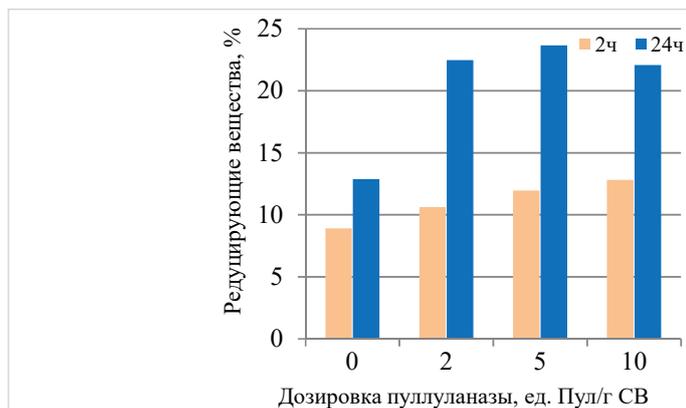


Рисунок 3. Влияние дозы пуллулаказы на накопление РВ в гидролизатах и на их вязкость после 2 и 24 часов декстринизации разжиженных крахмалов

При анализе результатов проведенных опытов отмечено, что индивидуальное использование пуллулаказы в процессе декстринизации клейстеризованного и частично гидролизованного α -амилазой (РВ 6,1%) испытуемого амилопектинового крахмала позволяет получать гидролизаты с массовой долей редуцирующих веществ (РВ) в пределах 10–24% по СВ. Это возможно при продолжительности процесса от 2 до 24 часов и дозировке фермента в интервале 2–10 ед. Пул/г СВ крахмала (Рисунок 3).

Результаты опытов, в которых для декстринизации использовали 0,2 ед. АС/г (опыт 2) и композицию 0,2 ед. АС/г и 5,0 Пул/г СВ (опыт 4), показали, что накопление РВ в гидролизатах в первые 2 часа интенсивнее проходит при биокатализе α -амилазой, чем смесью α -амилазы с пуллулазой. В конечных пробах (через 24 часа) максимальное накопление РВ (30,68%) получено в гидролизате амилопектинового крахмала при использовании смеси ферментов. Очевидно, пуллулаза как экзофермент действует медленнее, чем α -амилаза, и механизм ее действия на разжиженный крахмал близок к глюкоамилазе. Вязкость гидролизатов была значительно снижена после предварительного гидролиза (разжижения) клейстеризованного крахмала альфа-амилазой до 4,23 мПа·с. При действии пуллулаказы вязкость гидролизатов незначительно, но характерно снижалась с увеличением дозировки и с увеличением продолжительности инкубации на 0,3–1,25 мПа·с (Рисунок 3), что указывало на снижение длины и молекулярной массы расщепленных полисахаридных цепей гидролизата. На протяжении 24 часов инкубации йодсвязывающая способность контрольных образцов без пуллулаказы снижалась от 0,081 до полного исчезновения окрашивания к исходу 24 часов (Таблица 2), что указывает на действие исходной разжижающей альфа-амилазы, расщепляющей 1,4-связи, т. к. короткие расщепленные цепи амилопектина не дают комплексов с йодом. Однако с внесением пуллулаказы йодсвязывающая способность сохранялась, снижалась с продолжительностью инкубации, но повышалась с увеличением дозы внесенной пуллулаказы от 2 до 10 ед. Пул/г СВ крахмала после 24 часов инкубации от 0,007 до 0,014. Данное увеличение указывает на то, что пуллулаза, расщепляя α -1,6-гликозидные связи, приводит к образованию в гидролизатах большего количества линейных цепей, повышающих окрашивание с йодом, но не расщепляющихся α -амилазой, активно действующей на высокомолекулярные субстраты.

Анализ углеводного состава гидролизатов данных опытов, проведенный в конечных пробах после истечения 24 часов (Таблица 4), показал, что при индивидуальном действии пуллулаказы на разжиженный α -амилазой амилопектиновый крахмал в процессе осахаривания в гидролизатах обра-

Таблица 4

Углеводный состав гидролизатов

№	Доза ферментов на декстринизацию		Углеводный состав гидролизатов, % по СВ											НСР _{0,05}
	Ед Пул/г СВ	Ед АС/г СВ	Д ₁	Д ₂	Д ₃	Д ₄	Д ₅	Д ₆	Д ₇	Д ₈	Д ₉	Д ₁₀₊	РВ, % по СВ	
1 конт.	–	–	0,0	3,42	8,08	2,62	5,76	14,10	11,88	3,30	1,98	48,97	10,86	1,46
2	–	0,2	1,05	7,51	11,21	3,75	12,76	20,24	4,72	1,62	2,71	32,43	24,80	1,59
3	2,0	–	0,0	3,97	11,37	4,24	7,32	16,85	16,05	6,32	4,11	29,77	22,47	1,36
4	5,0	0,2	1,05	8,46	17,60	6,40	16,18	27,68	13,87	0,0	0,0	8,77	30,68	1,71
5	5,0	–	0,41	4,30	12,89	4,76	7,75	18,27	17,83	7,62	5,04	21,12	23,66	1,68
6	10,0	–	0,34	6,56	14,23	5,57	7,54	17,31	18,01	8,26	5,68	16,51	22,07	1,55

* Примечание: Д_n — количество молекул глюкозы (декстрозы) в данном компоненте углеводного состава.

зуется в основном мальтотриоза (Д₃), мальтогексоза (Д₆) и мальтогептоза (Д₇), их сумма составляет от 45 до 50% по СВ в зависимости от дозировки фермента.

При композиции 0,2 ед. АС/г СВ + 5,0 ед. Пул/г СВ массовая доля указанных сахаридов значительно увеличилась (до 60%). Возросло также содержание мальтозы (DP2), мальтопентозы (DP5) и снизилось содержание олигосахаридов DP8, DP9 и DP10+, что указывает на действие α -амилазы и подтверждается углеводным составом опыта 2, где вместо пуллулазы декстринизация производилась α -амилазой (0,2 ед. АС/г СВ). Полученные результаты согласуются с литературными данными [20,33] об изменении при действии пуллулазы структурных свойств крахмала и получении продуктов, представляющих собой смесь мальтоолигосахаридов с различной степенью полимеризации и низким содержанием глюкозы, мальтозы и высокомолекулярных декстринов. Мальтоолигосахариды, полученные из амилопектинового кукурузного крахмала, обладают пониженной способностью к ретроградации, а следовательно, пониженной устойчивостью к действию других гидролитических ферментов. Для повышения резистентности обработанного пуллулазой амилопектинового крахмала представляется необходимой дополнительная обработка получаемых гидролизатов с целью увеличения степени ретроградации крахмала. В целом, полученные результаты указывают на актуальность проведенной работы, а также научных исследований в области применения пуллулазы — как индивидуального, так и в композиции с другими амилолитическими ферментами при разработке новых способов ферментативной модификации крахмалов.)

4. Заключение

Проведены экспериментальные исследования процесса ферментативного гидролиза кукурузного амилопектинового крахмала в нативном и клейстеризованном состоянии

с применением в качестве биокатализатора пуллулазы (ЕС 3.2.1.41). При действии пуллулазы на крахмал в нативном состоянии отмечено незначительное снижение вязкости 3%-го клейстера и водосвязывающей способности, а также повышение растворимости полученных образцов. Йодсвязывающая способность образцов до и после обработки пуллулазой оставалась практически неизменной. Микроскопирование гранул крахмала тоже не показало видимых изменений до и после обработки, что указывало на низкую ферментативную восприимчивость крахмала в нативном состоянии. При действии на клейстеризованный крахмал пик активности пуллулазы приходился на первые часы инкубации с достижением максимальной степени гидролиза в 4,7% по СВ через 8 часов при дозе 10 ед. Пул/г СВ. При этом повышалась йодсвязывающая способность гидролизатов с D₆₀₀–0,154 в контроле до D₆₀₀–0,343 в конечном гидролизате со снижением вязкости с 7887 мПа·с до 4,3 мПа·с. Полученные при остывании гидролизатов гели с выдержкой при 8 °С в течение 20 часов и без нее не проявили резистентности к действию глюкоамилазы в условиях опыта, что указывает на необходимость дополнительной обработки гидролизатов для повышения степени ретроградации крахмала. При действии пуллулазы индивидуально и в композиции с α -амилазой на клейстеризованный и разжиженный до РВ 6,1% крахмал получали гидролизаты с РВ 10–30% при дозировке пуллулазы 2–10 ед. Пул./г СВ и продолжительности процесса 2–24 часов. При этом в гидролизатах основными продуктами являлись короткоцепочечные олигосахариды: мальтотриоза СП-3 мальтогексоза (СП-6) и мальтогептоза (СП-7) с суммарным количеством 45–60% в зависимости от дозировки ферментов при низком содержании глюкозы до 1,0%. Полученные результаты указывают на целесообразность продолжения исследований каталитического действия пуллулазы на крахмал для разработки новых способов его ферментативной модификации.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Raveendran, S., Parameswaran B., Ummalya, S. B., Abraham, A., Mathew, A.K., Madhavan, A. et al. (2018). Applications of microbial enzymes in food industry. *Food Technology and Biotechnology*, 56(1), 16–30. <https://doi.org/10.17113/ftb.56.01.18.5491>
- Shinde, V., Deshmukh, S., Bhojar, M.G. (2015). Applications of major enzymes in food industry. *Indian Farmer*, 2(6), 497–502.
- Hashim, S.O. (2020). Starch-modifying enzymes. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 172, 221–244. https://doi.org/10.1007/10_2019_91
- Tester, R.F., Karkalas J., Qi X. (2004). Starch structure and digestibility enzyme-substrate relationship. *World's Poultry Science Journal*, 60(2), 186–195+248+250. <https://doi.org/10.1079/WPS20040014>
- Klaochanpong, N., Puttanlek, C., Rungsardthong, V., Rungsardthong V., Pancha-arnon, S., Uttapap, D. (2015). Physicochemical and structural properties of debranched waxy rice, waxy corn and waxy potato starches. *Food Hydrocolloids*, 45, 218–226. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.11.010>
- Hii, S.L., Tan, J.S., Ling, T.C., Ariff, A.B. (2012). Pullulanase: role in starch hydrolysis and potential industrial application. *Enzyme research*, 2012, Article 921362. <https://doi.org/10.1155/2012/921362>
- Manners, D.J. (1997). Observations of the specificity and nomenclature of starch debranching enzymes. *Journal of Applied Glycoscience*, 44, 83–85.
- Xia, W., Zhang, K., Su, L., Wu, J. (2021). Microbial starch debranching enzymes: Developments and applications. *Biotechnology Advances*, 50, Article 107786. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2021.107786>
- Xu, P., Zhang, S.-Y., Luo, Z.-G., Zong, M.-H., Li, X.-X., Lou, W.-Y. (2021). Biotechnology and bioengineering of pullulanase: state of the art and perspectives. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 37(3), Article 43. <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03010-9>
- Соловьева, С.Ю. (2004). Разработка технологии биоконверсии крахмала при производстве патоки различного углеводного состава. Автореф. дис. канд. техн. наук. Москва, МГУПП. — 25 с.

11. Li, C., Kong, H., Yang, Q., Gu, Z., Ban, X., Cheng, L. et al. (2020). A temperature-mediated two-step saccharification process enhances maltose yield from high-concentration maltodextrin solutions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(9), 3742–3748. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11005>
12. Xie, A.-J., Lee, D.-J., Lim, S.-T. (2021). Characterization of resistant waxy maize dextrans prepared by simultaneous debranching and crystallization followed by acidic or enzymatic hydrolysis. *Food Hydrocolloids*, 121, Article 106942. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106942>
13. Arp, C. G., Correa, M. J., Ferrero, C. (2020). Production and characterization of type III resistant starch from native wheat starch using thermal and enzymatic modifications. *Food and Bioprocess Technology*, 13(7), 1181–1192. <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02470-5>
14. Li, H., Li, J., Xiao, Y., Cui, B., Fang, Y., Guo, L. (2019). In vitro digestibility of rice starch granules modified by β -amylase, transglucosidase and pullulanase. *International Journal of Biological Macromolecules*, 136, 1228–1236. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.111>
15. Li, P., He, X., Dhital, S., Zhang, B., Huang, Q. (2017). Structural and physicochemical properties of granular starches after treatment with debranching enzyme. *Carbohydrate Polymers*, 169, 351–356. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.04.036>
16. Jung, K.-H., Kim, M.-J., Park, S.-H., Hwang, H.-S., Lee, S., Shim, J.-H. et al. (2013). The effect of granule surface area on hydrolysis of native starches by pullulanase. *Starch – Stärke*, 65(9–10), 848–853. <https://doi.org/10.1002/star.201200226>
17. Hong, Y., Liu, G., Gu, Z. (2015). Preparation and characterization of hydrophilic debranched starch modified by pullulanase on swollen granule starch. *Food Research International*, 67, 212–218. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.11.020>
18. Xu, R, Xu, D.-H., Xu, H.-H. (2012). Effect of enzymatic hydrolysis on the resistant starch yield. *Italian Journal of Food Science*, 24(4), 367–375.
19. Gao, Q, Li, S., Jian, H., Liang, S. (2011). Preparation and properties of resistant starch from corn starch with enzymes. *African Journal of Biotechnology*, 10(7), 1186–1193.
20. Shi, J., Sweedman, M. C., Shi, Y.-C. (2018). Structural changes and digestibility of waxy maize starch debranched by different levels of pullulanase. *Carbohydrate Polymers*, 194, 350–356. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.04.053>
21. ГОСТ 32159–2013 «Крахмал кукурузный. Общие технические условия». — Москва: Стандартинформ, 2019. — 12 с.
22. ГОСТ 34440–2018 «Ферментные препараты для пищевой промышленности. Методы определения амилолитической активности». — Москва: Стандартинформ, 2018. — 18 с.
23. ГОСТ 7698–93 «Крахмал. Правила приемки и методы анализа». — Минск: Издательство стандартов, 2001. — 43 с.
24. ГОСТ 33917–2016 «Патока крахмальная. Общие технические условия». — Москва: Стандартинформ, 2017. — 52 с.
25. ГОСТ Р 50549–93 (ИСО 5377–81) «Продукты гидролиза крахмала. Определение восстанавливающей способности и эквивалента глюкозы. Метод постоянного титра Лейна и Эйнона». — Москва: Издательство стандартов, 1994. — 11 с.
26. ГОСТ ISO 6647–1–2015 «Рис. Определение содержания амилозы. Часть 1. Контрольный метод». — Москва: Стандартинформ, 2015. — 16 с.
27. Лукин, Н.Д., Ананских, В.В., Лапидус, Т.В., Хворова, Л.С. (2007). Технологический контроль производства сахаристых крахмалопродуктов. Москва: Россельхозакадемия, 2007. — 261 с.
28. Wasserman, L.A., Papachin, A.A., Borodina, Z.M., Krivandin, A.V., Sergeev, A.I., Tarasov, V.F. (2019). Some physico-chemical and thermodynamic characteristics of maize starches hydrolyzed by glucoamylase. *Carbohydrate Polymers*, 212, 260–269. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.01.096>
29. Папахин, А.А., Бородина, З.М., Лукин, Н.Д., Гулакова, В.А., Маннова И. Г. (2014). Методика оценки действия оценки действия амилолитических ферментов на нативный крахмал. *Хранение и переработка сельхозсырья*, 4, 14–17.
30. Папахин, А.А., Бородина, З.М. (28–30 октября 2020 года). Действие глюкоамилазы на различные виды крахмала в нативном состоянии. Материалы международного конгресса «Биотехнология: состояние и перспективы развития». Москва: ООО «Экспобιοхим-технологии», Россия, 2020. <https://doi.org/10.37747/2312-640X-2020-18-284-285>
31. Šárka, E., Dvořáček, V. (2017). Waxy starch as a perspective raw material (a review). *Food Hydrocolloids*, 69, 402–409. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.03.001>
32. Liu, W., Hong, Y., Gu, Z., Cheng, L., Li, Z., Li, C. (2017). In structure and in vitro digestibility of waxy corn starch debranched by pullulanase. *Food Hydrocolloids*, 67, 104–110. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.12.036>
33. Shi, M., Chen, Y., Yu, S., Gao, Q. (2013). Preparation and properties of RS III from waxy maize starch with pullulanase. *Food Hydrocolloids*, 33(1), 19–25. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.02.018>

REFERENCES

1. Raveendran, S., Parameswaran B., Ummalya, S. B., Abraham, A., Mathew, A.K., Madhavan, A. et al. (2018). Applications of microbial enzymes in food industry. *Food Technology and Biotechnology*, 56(1), 16–30. <https://doi.org/10.17113/ftb.56.01.18.5491>
2. Shinde, V., Deshmukh, S., Bhojar, M.G. (2015). Applications of major enzymes in food industry. *Indian Farmer*, 2(6), 497–502.
3. Hashim, S.O. (2020). Starch-modifying enzymes. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 172, 221–244. https://doi.org/10.1007/10_2019_91
4. Tester, R.F., Karkalas J., Qi X. (2004). Starch structure and digestibility enzyme-substrate relationship. *World's Poultry Science Journal*, 60(2), 186–195+248+250. <https://doi.org/10.1079/WPS20040014>
5. Klaohanpong, N., Puttanlek, C., Rungsardthong, V., Rungsardthong V., Pancha-arnon, S., Uttapap, D. (2015). Physicochemical and structural properties of debranched waxy rice, waxy corn and waxy potato starches. *Food Hydrocolloids*, 45, 218–226. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.11.010>
6. Hii, S.L., Tan, J.S., Ling, T.C., Ariff, A.B. (2012). Pullulanase: role in starch hydrolysis and potential industrial application. *Enzyme research*, 2012, Article 921362. <https://doi.org/10.1155/2012/921362>
7. Manners, D.J. (1997). Observations of the specificity and nomenclature of starch debranching enzymes. *Journal of Applied Glycoscience*, 44, 83–85.
8. Xia, W., Zhang, K., Su, L., Wu, J. (2021). Microbial starch debranching enzymes: Developments and applications. *Biotechnology Advances*, 50, Article 107786. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2021.107786>
9. Xu, P., Zhang, S.-Y., Luo, Z.-G., Zong, M.-H., Li, X.-X., Lou, W.-Y. (2021). Biotechnology and bioengineering of pullulanase: state of the art and perspectives. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 37(3), Article 43. <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03010-9>
10. Solovyova, S. Yu. (2004). Development of starch bioconversion technology in the production of molasses with various carbohydrate composition. Author's abstract of the dissertation for the scientific degree of Candidate of Technical Sciences. Moscow, MGUPP, 25 p. (In Russian)
11. Li, C., Kong, H., Yang, Q., Gu, Z., Ban, X., Cheng, L. et al. (2020). A temperature-mediated two-step saccharification process enhances maltose yield from high-concentration maltodextrin solutions. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(9), 3742–3748. <https://doi.org/10.1002/jsfa.11005>
12. Xie, A.-J., Lee, D.-J., Lim, S.-T. (2021). Characterization of resistant waxy maize dextrans prepared by simultaneous debranching and crystallization followed by acidic or enzymatic hydrolysis. *Food Hydrocolloids*, 121, Article 106942. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2021.106942>
13. Arp, C. G., Correa, M. J., Ferrero, C. (2020). Production and characterization of type III resistant starch from native wheat starch using thermal and enzymatic modifications. *Food and Bioprocess Technology*, 13(7), 1181–1192. <https://doi.org/10.1007/s11947-020-02470-5>
14. Li, H., Li, J., Xiao, Y., Cui, B., Fang, Y., Guo, L. (2019). In vitro digestibility of rice starch granules modified by β -amylase, transglucosidase and pullulanase. *International Journal of Biological Macromolecules*, 136, 1228–1236. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.06.111>
15. Li, P., He, X., Dhital, S., Zhang, B., Huang, Q. (2017). Structural and physicochemical properties of granular starches after treatment with debranching enzyme. *Carbohydrate Polymers*, 169, 351–356. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.04.036>
16. Jung, K.-H., Kim, M.-J., Park, S.-H., Hwang, H.-S., Lee, S., Shim, J.-H. et al. (2013). The effect of granule surface area on hydrolysis of native starches by pullulanase. *Starch – Stärke*, 65(9–10), 848–853. <https://doi.org/10.1002/star.201200226>
17. Hong, Y., Liu, G., Gu, Z. (2015). Preparation and characterization of hydrophilic debranched starch modified by pullulanase on swollen granule starch. *Food Research International*, 67, 212–218. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2014.11.020>
18. Xu, R, Xu, D.-H., Xu, H.-H. (2012). Effect of enzymatic hydrolysis on the resistant starch yield. *Italian Journal of Food Science*, 24(4), 367–375.
19. Gao, Q, Li, S., Jian, H., Liang, S. (2011). Preparation and properties of resistant starch from corn starch with enzymes. *African Journal of Biotechnology*, 10(7), 1186–1193.
20. Shi, J., Sweedman, M. C., Shi, Y.-C. (2018). Structural changes and digestibility of waxy maize starch debranched by different levels of pullulanase. *Carbohydrate Polymers*, 194, 350–356. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.04.053>
21. ГОСТ 32159–2013 “Maize starch. General specifications”. — Moscow: Standartinform, 2019. — 12 p. (In Russian)
22. GOST 34440–2018 “Enzyme preparations for food industry. Methods for the determination of amylase activity”. — Moscow: Standartinform, 2018. — 18 p. (In Russian)
23. GOST 7698–93 “Starch. Acceptance rules and methods of analysis”. — Minsk: Publishing House of Standards, 2001. — 43 p. (In Russian)
24. GOST 33917–2016 “Starch syrup. General specifications”. — Moscow: Standartinform, 2017. — 52 p. (In Russian)
25. GOST R50549–93 (ISO 5377–81) “Starch hydrolysis products. Determination of reducing power and dextrose equivalent Lane and Eynon constant titre method”. — Moscow: Publishing House of Standards, 1994. — 11 p. (In Russian)
26. ГОСТ ISO 6647–1–2015 “Rice. Determination of amylose content. Part 1. Reference method”. — Moscow: Standartinform, 2015. — 16 p. (In Russian)

27. Lukin, N.D., Ananskikh, V.V., Lapidus, T.V., Khvorova, L.S. (2007). Technological control of the production of sugary starch products. Moscow: Russian Agricultural Academy. 2007. — 261p. (In Russian)
28. Wasserman, L.A., Papachin, A.A., Borodina, Z.M., Krivandin, A.V., Sergeev, A.I., Tarasov, V.F. (2019). Some physico-chemical and thermodynamic characteristics of maize starches hydrolyzed by glucoamylase. *Carbohydrate Polymers*, 212, 260–269. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.01.096>
29. Papakhin, A.A., Borodina, Z.M., Lukin, N.D., Kulakova, V.A., Manova, I.G. (2014). Assessment methodology of amylolytic enzymes actions on native starch. *Storage and Processing of Farm Products*, 4, 14–17. (In Russian)
30. Papakhin, A.A., Borodina, Z.M. (28–30 Oktober, 2020). *The effect of glucoamylase on various types of starch in the native state*. Proceedings of international congress “Biotechnology: State of the art and perspectives”. Moscow: EXPO-Biohim-Technologies LLC, Russia, 2020. <https://doi.org/10.37747/2312-640X-2020-18-284-285> (In Russian)
31. Šárka, E., Dvořáček, V. (2017). Waxy starch as a perspective raw material (a review). *Food Hydrocolloids*, 69, 402–409. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2017.03.001>
32. Liu, W., Hong, Y., Gu, Z., Cheng, L., Li, Z., Li, C. (2017). In structure and in vitro digestibility of waxy corn starch debranched by pullulanase. *Food Hydrocolloids*, 67, 104–110. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2016.12.036>
33. Shi, M., Chen, Y., Yu, S., Gao, Q. (2013). Preparation and properties of RS III from waxy maize starch with pullulanase. *Food Hydrocolloids*, 33(1), 19–25. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2013.02.018>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p>Папахин Александр Алексеевич — кандидат технических наук, заведующий лабораторией Биотехнологии крахмалопаточного сырья, Всероссийский научно-исследовательский институт крахмалопродуктов 140051, Московская обл., г.о Люберцы, д. п. Красково, ул. Некрасова, д. 11 Тел.: +7–495–557–15–00 E-mail: papahin_aleksandr@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1178-8254 * автор для контактов</p>	<p>Alexander A. Papakhin, Candidate of Technical Sciences, Head of the Laboratory of Biotechnology of starch raw materials, All-Russian Research Institute of Starch Products Nekrasov Str., 11, item Kraskovo, Lyubertsy district, Moscow region, Russia Tel.: +7–495–557–15–00 E-mail: papahin_aleksandr@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1178-8254 * corresponding author</p>
<p>Бородина Зинаида Михайловна — кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория Биотехнологии крахмалопаточного сырья, Всероссийский научно-исследовательский институт крахмалопродуктов 140051, Московская обл., г.о Люберцы, д. п. Красково, ул. Некрасова, д. 11 Тел.: +7–495–557–15–00 E-mail: borodina7292@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9636-1537</p>	<p>Zinaida M. Borodina, Candidate of Technical Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Biotechnology of starch raw materials, All-Russian Research Institute of Starch Products Nekrasov Str., 11, item Kraskovo, Lyubertsy district, Moscow region, Russia Tel.: +7–495–557–15–00 E-mail: borodina7292@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9636-1537</p>
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

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-4-278-285>

Поступила 15.11.2021

Поступила после рецензирования 07.12.2021

Принята в печать 15.12.2021

© Кобелькова И. В., Коростелева М. М., Никитюк Д. Б., Кобелькова М. С., 2021



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

Обзорная статья

Open access

КОНЕЧНЫЕ ПРОДУКТЫ ГЛИКИРОВАНИЯ И ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ СНИЖЕНИЯ ИММУНОГЕННОСТИ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫХ ПИЩЕВЫХ ПРОДУКТОВ ДЛЯ ПИТАНИЯ СПОРТСМЕНОВ

Кобелькова И. В.^{1,2}, Коростелева М. М.*^{1,3}, Никитюк Д. Б.^{1,4}, Кобелькова М. С.⁵

¹ Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи, Москва, Россия

² Академия постдипломного образования, Москва, Россия

³ Российский университет дружбы народов, Москва, Россия

⁴ Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова, Москва, Россия

⁵ «Поликлиника № 2» Управления делами Президента Российской Федерации, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

реакция Майяра, конечные продукты гликации, пищевая сенсibilизация, спортсмены, выносливость, кишечный микробиом

АННОТАЦИЯ

Пищевая аллергия, которой страдают около 8% детей и 5% взрослых в мире, является одной из основных проблем мирового здравоохранения, а контроль аллергенов — важным аспектом безопасности пищевых продуктов. Согласно FALCPA (Food Allergen Labeling and Consumer Protection Act of 2004, FDA), более 160 продуктов питания могут вызывать аллергические реакции, при этом восемь из них ответственны за 90% всех случаев пищевой аллергии. К этим продуктам относятся молоко, яйцо, пшеница, арахис, соя, орех, ракообразные и рыба, также известные как «Большая восьмерка». Большинство пищевых продуктов, являющихся источником облигатных аллергенов, подвергается термической обработке перед употреблением. Это может вызывать инициацию реакции Майяра, в ходе которой образуются конечные продукты гликации. Известно, что симптомы пищевой сенсibilизации значительно влияют на качество жизни, разнообразие кишечного микробиома и адаптационный потенциал. В частности у спортсменов это может выражаться в снижении эффективности тренировочного процесса, что приводит к ухудшению показателей выносливости и спортивной производительности. В связи с этим представляется актуальным изучение влияния реакции Майяра и AGEs на иммуногенность белков и анализ возможной связи между этими соединениями и пищевой аллергией, а также разработка мероприятий по профилактике неблагоприятного воздействия аллергенов на организм профессионального спортсмена и любого другого потребителя.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Обзор подготовлен в рамках выполнения научно-исследовательской работы, выполненной на базе ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», по теме № 0529–2019–0059 «Разработка системы антропометрических и физиолого-биохимических методов оценки эффективности использования алиментарных факторов для повышения физической выносливости спортсменов различных видов спорта и выбор морфологических маркеров алиментарно-зависимых патологий».

Received 15.11.2021

Accepted in revised 07.12.2021

Accepted for publication 15.12.2021

© Kobelkova I. V., Korosteleva M. M., Nikityuk D. B., Kobelkova M. S., 2021

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

Review article

Open access

GLYCATION END PRODUCTS AND TECHNOLOGICAL ASPECTS OF REDUCING IMMUNOGENICITY OF SPECIALIZED FOOD PRODUCTS FOR NUTRITION OF ATHLETES

Irina V. Kobelkova^{1,2}, Margarita M. Korosteleva*^{1,3}, Dmitry B. Nikityuk^{1,4}, Maria S. Kobelkova⁵

¹ Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety, Moscow, Russia

² Academy of Postgraduate Education Moscow, Russia

³ Peoples' Friendship University of Russia, Moscow, Russia

⁴ I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia

⁵ "Polyclinic No. 2" of the Administrative Department of the President of the Russian Federation, Moscow, Russia

KEY WORDS:

Maillard reaction, glycation end products, food sensitization, athletes, endurance, gut microbiome

ABSTRACT

Food allergy, which affects about 8% of children and 5% of adults in the world, is one of the major global health problems, and allergen control is an important aspect of food safety. According to the FALCPA (Food Allergen Labeling and Consumer Protection Act of 2004 FDA), more than 160 foods can cause allergic reactions, with eight of them responsible for 90% of all food allergies in the United States, including milk, eggs, wheat, peanuts, soybeans, tree nuts, crustaceans and fish, also known as the Big 8. Most foods that are sources of obligate allergens are heat treated before consumption, which can trigger the Maillard reaction, which produces glycation end products. Symptoms of food sensitization are known to significantly affect the quality of life, gut microbial diversity and adaptation potential. In particular, in athletes, this can be expressed in a decrease in the effectiveness of the training process, which leads to poor endurance and athletic performance. In this regard, it seems relevant to study the

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Кобелькова, И. В., Коростелева, М. М., Никитюк, Д. Б., Кобелькова, М. С. (2021). Конечные продукты гликирования и технологические аспекты снижения иммуногенности специализированных пищевых продуктов для питания спортсменов. *Пищевые системы*, 4(4), 278–285. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-4-278-285>

FOR CITATION: Kobelkova, I. V., Korosteleva, M. M., Nikityuk, D. B., Kobelkova, M. S. (2021). Glycation end products and technological aspects of reducing immunogenicity of specialized food products for nutrition of athletes. *Food systems*, 4(4), 278–285. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-4-278-285>

effect of the Maillard reaction and AGEs on the immunogenicity of proteins and the possible relationship between these compounds and food allergy, as well as to develop measures to prevent the adverse effect of allergens on the body of a professional athlete and any other consumer.

FUNDING: The review was prepared as part of the research work carried out on the basis of the Federal State Budgetary Scientific Institution “Federal Research Center of Nutrition and Biotechnology”, on topic No. 0529–2019–0059 “Development of a system of anthropometric and physiological-biochemical methods for assessing the effectiveness of the use of alimentary factors to increase the physical endurance of athletes of various types of sports and the choice of morphological markers of alimentary-dependent pathologies”.

1. Введение

Нативные белки пищевых продуктов образуют специфические компактные 3D-структуры. Они определяются первичной (последовательность аминокислот), вторичной (образование α -спирали и β -листов) и третичной структурами. Образование α -спиралей и β -листов обусловлено взаимодействиями между полипептидными цепями, связанными гидрофобными и гидрофильными взаимодействиями, электростатическими силами и дисульфидными связями [1]. Этот комплекс химических взаимодействий создает уникальную белковую конформацию, которая при термической обработке подвергается реорганизации на всех структурных уровнях. Изменения α -спиральных и β -листовых структур отмечаются при температуре выше 55 °С, а полная потеря вторичной и третичной структур с расщеплением дисульфидных связей происходит при температурах выше 70–80 °С [2]. В то же время межмолекулярные взаимодействия из-за денатурации белка могут привести к агрегации белка и реакциям сшивания между аминокислотами и присутствующими сахарами. Эти термоиндуцированные конформационные изменения пищевых белков могут дополнительно влиять на переваривание и поглощение белков и пептидов эпителием кишечника, а также на их распознавание иммунными клетками. В частности, под воздействием термической обработки в пищевых продуктах инициируется реакция Майяра (PM) [3,4]. PM вызвана конденсацией карбонильной функциональной группы (альдегидной или кетонной), содержащейся в сахарах, и α -аминогруппы аминокислот (в лизине и/или аргинине), аминов, пептидов, белков и других химических соединений. Выделяют три стадии PM: начальную, промежуточную и продвинутую [5]. На начальной стадии карбонильные соединения реагируют с аминокислотами с образованием нестабильного основания Шиффа, что является обратимым процессом в PM. Затем формируются относительно стабильные продукты перегруппировки Амадори или Хейнса [3]. Промежуточная стадия MP включает в себя разложение продуктов перегруппировки Амадори, в первую очередь дегидратацию и деминерализацию сахаров. Эти процессы являются зависимыми от pH среды: при pH > 7 восстановленные кетонные продукты будут образовываться в результате реакции 2,3-енолизации, а при более низких значениях — по пути 1,2-енолизации. В дальнейшем промежуточные продукты подвергаются серии реакций, включая циклизацию, дегидратацию, изомеризацию с образованием высокомолекулярных полимеров, например, меланоидинов, которые являются основными соединениями, придающими характерный цвет продуктам при обжаривании кофе, солода, какао и выпечке хлебобулочных изделий. За появление специфических ароматов отвечают гидроксиметилфурфурол, мальтол, фурфуриловый спирт, фурфураль, 2-ацетилфуран и другие вещества, возникающие в результате PM [6].

Целями и задачами являлось изучение влияния реакции Майяра и AGEs на иммуногенность белков и анализ возможной связи между этими соединениями и степенью выраженности пищевой аллергии. Целесообразной представляется разработка мероприятий по профилактике неблагоприятного

воздействия аллергенов на организм профессионального спортсмена и любого другого потребителя.

2. Материалы и методы

Форма проведения исследований представляет собой анализ и обобщение научных статей, где объектами анализа являются антропометрические и физиолого-биохимические методы оценки эффективности использования алиментарных факторов для повышения физической выносливости спортсменов различных видов спорта и выбор морфологических маркеров алиментарно-зависимых патологий. Отбор актуальных научных статей, проводили в российских и иностранных электронных базах данных: Web of Science, Scopus, Научной электронной библиотеки РФ (elibrary.ru), Российской государственной библиотеки с глубиной поиска 15 лет. Подробный анализ каждой отобранной научно-исследовательской работы осуществляли на основе соответствия цели и задач представленного обзора, а также по критериям включения. Из каждой публикации были взяты следующие сведения: автор(ы), год публикации, страна, цель и задачи исследования, методология проведенного эксперимента и его результаты.

Критериями включения статей в обзор были выбраны ключевые слова: «реакция Майяра», «конечные продукты гликирования», «иммуногенность».

3. Результаты и обсуждение

Исследования показали, что некоторые соединения, образующиеся в ходе PM, могут улучшить антиоксидантные свойства продуктов с высоким содержанием жиров, которые легко окисляются. Введение этих веществ в продукты питания, по сравнению с синтетическими антиоксидантами, такими как трет-бутилгидрохинон, бутилированный гидроксизол, бутилированный гидрокситолуол, является более предпочтительным для потребителей. Эти антиоксидантные эффекты обусловлены различными механизмами, включая хелатирование ионов металлов, разрушение цепей свободных радикалов и перекиси водорода, а также связывание активных форм кислорода [7].

Исследования показали, что модификация пищевых белков с помощью PM может улучшить их функциональные свойства [8,9]. При изучении условий протекания реакции гликирования между сывороточным белком и декстраном установлено, что при концентрации белка более 4,2% гликозилированный сывороточный белок имел более высокую растворимость и термическую стабильность в широком диапазоне pH, чем нативный белок [10]. Конъюгат между изолятом сывороточного белка и κ -каррагинаном (1:1), полученный в ходе PM при температуре 60 °С в течение 24 ч, обладал оптимальными характеристиками эмульгатора и стабилизатора [11]. Гелеобразование является одним из важнейших функциональных свойств сывороточного белка. Холодные гели, полученные в процессе PM между изолятом сывороточного белка и мальтодекстрином в соотношении 1:1, отличались повышенной прочностью водородных связей, а также улучшенной упругостью и влагоудерживающей способностью [12]. PM улучшает пенообразующую способность

молочного белка. Дополнительные способы модификации гликирования белков включают сухой нагрев, влажную термическую обработку, обработку ультразвуком, импульсно-электрические поля, электроспиннинг, облучение, методы высокого давления, экструзию и другие.

Белки, модифицированные в ходе РМ, могут образовывать биомембраны с улучшенными гидрофильными и пластичными характеристиками. К-казеин — единственный гликозилированный казеин молока, который из-за пленкообразующих свойств может быть использован в качестве биоразлагаемого упаковочного материала пищевых продуктов. Конгломераты казеина-мальтодекстрина применяются в качестве нанокапсуляционных носителей биологически активных веществ в пищевой промышленности [13,14].

С другой стороны, РМ является одной из основных причин порчи пищевых продуктов. Так, при нагревании сыра до температуры 120 °С в течение 5 мин., возникает специфический запах, передаваемый фуранолом и мальтолом, образовавшимися в результате гликирования. Образование Nε-карбоксиметиллизина и Nε-карбоксиэтиллизина рассматривают как основную причину изменения цвета сырных продуктов. По мере увеличения их содержания цвет сыра постепенно меняется от белого до желтого [15]. РМ между лактозой и лизином в пищевых продуктах снижает усвояемость и биодоступность этой аминокислоты [16]. Кроме того, РМ также влияет на биодоступность некоторых микроэлементов (железа, фосфора, магния) [17]. Во время обработки и хранения пищевых продуктов РМ могут образовываться токсичные вещества, такие как акриламид, гетероциклические амины, фуран, 5-гидрокси-метилфурфурол и Nε-карбоксиметиллизин [18]. Доказана их нейро- и гепатотоксичность, канцерогенность, тератогенное действие. Таким образом, они оказывают негативное влияние на состояние здоровья человека [19].

Начальная фаза аллергической сенсibilизации представляет собой особую иммунную реакцию, приводящую к образованию аллерген-специфических антител Ig E. Антитела IgE могут сшивать соседние клеточные молекулы IgE на базофилах и тучных клетках при повторном воздействии аллергенов, что приводит к дегрануляции и высвобождению медиаторов, включая гистамин, простагландины, лейкотриены и тромбоксаны. Эти медиаторы вызывают типичные симптомы аллергии IgE-опосредованного типа, включая ринит, атопический дерматит, бронхоспазм, анафилаксию [20]. Данные симптомы могут значительно снизить эффективность тренировочного процесса и привести к снижению показателей выносливости и профессиональной производительности спортсменов. Биохимические и конформационные изменения белков, вызванные продуктами РМ, могут привести к маскировке существующих эпитопов, связывающих антитела, а также к созданию новых структур, которые являются более иммуногенными и, таким образом, инициируют IgE-опосредованную аллергию. Потенциальная способность гликированного белка оказывать иммунологическое действие *in vivo* зависит от скорости его всасывания в желудочно-кишечном тракте и поступления в кровь для последующего контакта с иммунной системой [21,22].

Для возникновения иммунного ответа пищевые белки должны быть устойчивы к процессу пищеварения и находиться в желудочно-кишечном тракте в течение определенного периода времени, достаточного для сенсibilизации [23–25]. Известно, что высокотемпературная обработка и гликирование могут изменять восприимчивость белков к желудочно-кишечному пищеварению. Повышение температуры вызывает нарушение пространственной структуры белка, в том числе увеличение доступности линей-

ных эпитопов, и приводит к лучшей восприимчивости ферментативного протеолиза, что показано на примере β-лактоглобулина, подвергнутого воздействию температуры 90 °С. С другой стороны, гликированные участки, образованные в процессе РМ, могут замедлять переваривание белков в желудочно-кишечном тракте *in vitro* [26–29].

Химическая структура продуктов РМ, образующихся на ее конечной стадии, очень разнообразна и включает Nε-карбоксиметил-лизин, Nε-карбоксиэтил-лизин, пирралин, глиоксаль, метилглиоксаль, акриламид, фуран, производные бис(лизил)имидазола, которые в совокупности называются конечными продуктами гликирования (AGEs). По происхождению их можно классифицировать на экзогенные и эндогенные. Рацион питания является основным источником экзогенных AGEs, тогда как эндогенные образуются в процессе физиологического гликирования белков в органах, тканях и средах организма. Nε-карбоксиметил-лизин, пирралин и пентозидин относятся к свободным формам AGEs; другие соединения представляют собой группу гетерогенных пептидно-/белково-связанных структур [30–32]. Nε-карбоксиметил-лизин был первым идентифицированным AGEs, полученным в результате окислительного расщепления продуктов перегруппировки Амадори. Nε-карбоксиэтил-лизин является его гомологом, который образуется в результате реакции метилглиоксаля с лизином. Пирралин, являющийся производным пиррола, содержащим Nε-аминогруппу лизина, предположительно преобладающий AGEs в пищевых продуктах. Альтернативным ключевым участком РМ может служить гуанидиновая группа аргинина. В ходе взаимодействия аргинина с оксоальдегидами, глиоксалем и 3-дезоксиглюкозоном синтезируются гидроимидазолы и дигидроксиимидазолин [33–35].

Было доказано, что некоторые продукты РМ могут функционировать как активаторы дендритных клеток (ДК). ДК рассматривают в качестве важных антиген-представляющих клеток в иммунной системе. ДК несут на себе несколько типов рецепторов, распознающих гликированные структуры, включая рецепторы для конечных продуктов гликирования (AGE-R1/OST-48, AGE-R2/80K-H, AGE-R3), рецепторы-мусорщики (SR-A и SR-B), рецепторы галектина-3 и CD-36. Действуя через эти рецепторы, гликированные структуры могут влиять на распознавание, поглощение и процессинг пищевых аллергенов в ДК [36,37]. Рецепторы AGEs (RAGEs) широко экспрессируются в клетках и тканях и представляют собой трансмембранный белок с мультилигандными связывающими свойствами, который принадлежит к суперсемейству иммуноглобулинов. Физиологически RAGE действует как рецептор не только для эндогенных лигандов, таких как белок группы с высокой подвижностью box 1 (HMGB1), белки S100 и β-амилоид, но и для экзогенных гликированных белков и пептидов. Связывание этих молекул с RAGE вызывает окислительный стресс, воспаление и адаптивные иммунные реакции через различные RAGE-зависимые клеточные сигналы. Сигнальные пути, опосредованные RAGE, включают митоген-активируемые протеинкиназы, контролируемые транскрипцию генов, метаболизм, пролиферацию и подвижность клеток, апоптоз (MAPK, в том числе киназы SAPK/JNK, ERK1/2 и p38 MAP), rho-GTPases, каскад JAK/STAT с участием киназы Януса (JAKs), преобразователя сигнала и активатора белков транскрипции (STATs) и фосфоинозитид-3-киназы (PI-3K). Взаимодействие AGEs-RAGEs вызывает генерацию активных форм кислорода через стимуляцию NADPH-оксидазы. Активированные пути приводят к усилению транскрипции генов, связанных с воспалительными реакциями и окислительным стрессом. В случае высокого

поступления AGEs с рационом питания, рецепторы AGE-R1 и SR связываются с продуктами PM путем рецептор-опосредованного эндоцитоза, что приводит к внутриклеточному поглощению и деградации избыточного количества AGEs [38–41].

Рецепторы-мусорщики класса А (SR-A) представляют собой трехмерные трансмембранные гликопротеины, которые регулируют эндоцитозное поглощение и лизис молекул AGEs. Сайты связывания SR-A1 с AGEs находятся в конкурентном взаимодействии с сайтами модифицированного липопротеина низкой плотности (ЛПНП), таким образом, вовлекая экзогенные AGEs в SR-A1-ассоциируемое развитие атеросклероза. С другой стороны, SR-B1 и CD-36 являются двумя представителями рецепторов-мусорщиков класса В (SR-B), отвечающими за распознавание модифицированных белков. Например, гликированная форма основного аллергена яйца — овалбумина (OVA) — связывается с классом рецепторов-мусорщиков SR-A, что приводит к более выраженному цитокиновому ответу Т-хелперов 2-го типа. Аналогичным образом комплекс AGEs и сывороточного альбумина (BSA) стимулировал созревание ДК, увеличивал их способность вызывать пролиферацию Т-клеток и усиливать секрецию цитокинов [42–44]. Однако в ряде работ были получены данные, показывающие снижение антигенности белка коровьего молока в ходе PM. Taheri-Kafrani et al. [45] показали, что степень снижения антигенности β -лактоглобулина была пропорциональна длительности PM. Аналогичные результаты получены Vu. G et al. [46], установившими, что комбинация глюкозы и α -лактальбумина может снизить антигенность последнего.

Heilmann et al. [47] стремились идентифицировать гликированные структуры, усиливающие иммуногенность Т-клеток пищевого аллергена путем модификации OVA различными AGEs, таким как пирралин. Для оценки иммуногенности гликированных OVA мышинные OVA-специфические CD4+ Т-клетки культивировали совместно с ДК, полученными из костного мозга. Установлено, что пирралин-модифицированный OVA наиболее выражено усиливал иммуногенность CD4+ Т-клеток, что проявлялось в увеличении синтеза IL-2, IFN- γ и IL-17A по сравнению с реакцией на другие гликированные формы и необработанный нативный OVA. Результаты исследования показали, что некоторые экзогенные AGEs могут связываться с рецепторами на антиген-представляющих клетках и изменять иммуногенность Т-клеток. Когда мембранно-связанный иммуноглобулин наивных В-клеток вступает в контакт со специфическими пищевыми антигенами и рецепторами CD40 на активированных Th2, В-клетки дифференцируются в активированные плазматические клетки, синтезируя антиген-специфический IgE [47]. Кроме того, продукты PM влияют на потенциал связывания специфического IgE с пищевыми аллергенами. Также возможно образование агрегатов, несущих большое количество эпитопов, вызывающих повышенную дегрануляционную способность базофилов или образование новых эпитопов — неоаллергенов, способных взаимодействовать с антигенпредставляющими клетками [27,29,32]. Это приводит к презентации антигена и последующей дифференцировке Т-клеток, а также к производству антиген-специфического Ig E.

Было доказано, что PM разнонаправленно влияет на IgE-связывающую способность некоторых пищевых аллергенов. На основе функционального теста активации базофилов Cusc et al. [48] показали, что у двух из шести пациентов с аллергией на фундук отмечена усиленная активация базофилов после экспозиции к модифицированному экстракту фундука. Другое исследование показало, что у 70%

пациентов, сенсibilизированных к сое, была повышенная активация базофилов при их инкубации с гликированными соевыми белками по сравнению с инкубацией с соевыми белками, модифицированными только нагреванием без добавления сахаров. Кроме того, выявлены повышенные уровни (в 3–8 раз) специфического IgE по отношению к обработанным пищевым антигенам у 31% пациентов по сравнению с антигенами нативных пищевых продуктов [31,32].

Большинство случаев пищевой аллергии являются IgE-опосредованными реакциями, в ходе которых специфические антитела IgE распознают короткие фрагменты аллергенов, называемые эпитопами, что приводит к реакциям гиперчувствительности немедленного типа. Гликирование изменяет как линейные, так и конформационные структуры аллергенных белков, что приводит либо к маскировке эпитопов, либо к образованию новых аллергенов, влияя на степень выраженности сенсibilизации к пищевым аллергенам. В частности, обжаривание арахиса приводит к увеличению уровня IgE у пациентов с аллергией, по сравнению с действием термически необработанного продукта; AGEs-гликированный Ara h 1 (основной аллергенный белок арахиса) показал повышенную способность к связыванию с рецепторами AGEs и более высокую устойчивость к перевариванию в ЖКТ, чем интактный аллерген. Сообщалось, что соевые бобы, в которых были накоплены продукты реакции Майяра, вызывают сильные аллергические реакции у сенсibilизированных к сое людей [23,26,29,31–33].

Однако, IgE-связывающие способности парвальбумина (основного аллергенного белка рыбы) были снижены после протекания PM. Гликированный тропомиозин (основной аллергенный белок креветок) вызывал более тяжелые клинические симптомы аллергии у мышей по сравнению с необработанным [49,50]. Таким образом, реакция Майяра может играть важную роль в иммуногенности Т-клеток пищевых аллергенов [51,52].

После нагревания в ходе PM гликированный Fag t3 (основной аллергенный белок гречихи *Fagopyrum tataricum*) ковалентно связывался с полисахаридами, при этом его IgE-связывающие свойства резко снижались, также наблюдались значительные изменения в электрофоретической подвижности, вторичной структуре и растворимости. Влияние гликирования на связывание IgE с Fag t3 коррелировало со значительным изменением структуры и эпитопов белка. Эти данные указывают на то, что конъюгация полисахаридов с Fag t3 заметно снижала реактивность аллергена, что может служить эффективным методом снижения его иммуногенности [53].

Эпидемиологические исследования выявили взаимосвязь между моделями пищевого поведения и пищевой аллергией. Частота встречаемости пищевой аллергии положительно коррелирует с количеством предприятий «быстрого питания», предлагающих блюда с высоким содержанием AGEs в Австралии и Соединенных Штатах, а также с потреблением сахара и подсластителей в США. Кроме того, у населения городских районов отмечается более высокая распространенность пищевой сенсibilизации, чем среди жителей сельских районов с пониженным социально-экономическим уровнем и структурой питания, в которой преобладают менее рафинированные продукты и щадящая термическая обработка [54–56].

Инструментальные методы детекции AGEs включают высокоэффективную жидкостную хроматографию, оснащенную детектором диодной решетки или флуоресцентным детектором, газовую хроматографию в сочетании с масс-спектрометрией, сверхэффективную жидкостную

хроматографию в сочетании с тандемной спектрометрией и жидкостную хроматографию в сочетании с тандемной масс-спектрометрией; иммуноферментный анализ [57]. Ряд исследований был посвящен определению уровней конечных продуктов РМ в традиционных пищевых продуктах. Максимальное содержание Nε-карбоксиметил-лизина установлено в зерновых и снековых продуктах (до 1003,8 мг/кг белка) в отличие от мяса (210,1 мг/кг белка), молока (205 мг/кг белка), овощей и фруктов (76,7 мг/кг белка). В другой работе были определены уровни Nε-карбоксиметил-лизина в 549 пищевых продуктах. Установлено, что самые высокие концентрации обнаружены в продуктах животного происхождения со значительным содержанием жира. Подсчитано, что типичный западный рацион содержит от 0,5 до 1,2 г продуктов Амадори и от 25 до 75 мг AGEs (Nε-карбоксиметил-лизина и пирралина), тогда как средиземноморская диета содержит значительно меньшее количество этих соединений [58–60].

Предполагают, что устойчивые к пищеварительным ферментам AGEs взаимодействуют с микробиомом кишечника, оказывая влияние на его видовое разнообразие и состояние здоровья хозяина [61–64]. В моделях экспериментов на грызунах, получающих рационы с высоким содержанием AGEs, наблюдалось увеличение числа *Firmicutes* на фоне сокращения *Bacteroidetes*. Отмечено сниженное содержание *Ruminococcaceae* и *Alloprevotella*, синтезирующих короткоцепочечные жирные кислоты, и увеличение уровней *Desulfovibrio* и *Bacteroides*, что приводило к усилению синтеза аммиака и жирных кислот с разветвленной цепью. Дальнейший метаболомный анализ выявил изменения обмена углеводов и белков. Напротив, у крыс, находившихся на высокожировом рационе, на фоне введения гликированного белка рыб, было отмечено уменьшение популяции родов *Helicobacter* и *Lachnospiraceae* NK4A136.

В исследовании состояния здоровья 20 мужчин, потреблявших в течение 2-х недель рацион с пищевыми продуктами, подвергнутыми высокотемпературной обработке, сокращение *Lactobacillus* было связано с поступлением Nε-карбоксиметил-лизина в продуктах перегруппировки Амадори; в то время как количество *Bifidobacterium* коррелировало только с потреблением соединений Амадори [65].

Сокращение количества экзогенных AGEs, поступающих с рационом, представляется эффективным и неинвазивным подходом к профилактике их неблагоприятных последствий для здоровья. У пациентов с диабетом 2 типа ограничение потребления этих соединений приводило как к снижению эндотелиальной дисфункции и уменьшению экспрессии провоспалительных цитокинов и маркеров, связанных с окислительным стрессом, так и к повышению резистентности к инсулину [66]. Аналогичные результаты в виде нормализации липидного профиля и уменьшения концентрации воспалительных цитокинов у лиц с преддиабетическими состояниями получены на фоне соблюдения 24-недельного потребления рациона с низким содержанием AGEs [67,68]. У пациентов с почечной недостаточностью через 4 недели такого нутритивного вмешательства снижались уровни Nε-карбоксиметил-лизина, метилглиоксала, ЛПНП и аполипопротеина В как в сыворотке, так и в диализате крови. В результате 12-недельного исследования, сочетавшего ограничение пищевых AGEs с комплексом физических упражнений, у мужчин с избыточным весом отмечено снижение уровня AGEs в сыворотке крови и количества жировой ткани [69,70].

Качественный состав рациона питания разнонаправленно влияет на содержание в нем AGEs. Nε-аминогруппа лизина и гуанидиновая группа аргинина являются двумя

основными активными сайтами протекания РМ. Молочные и мясные продукты с высоким содержанием лизина и аргинина, продукты с определенным количеством свободных аминокислот, например, соевый соус, склонны к образованию AGEs. С другой стороны, при нагревании сахара могут разлагаться на дикарбонильные соединения: глиоксаль, метилглиоксаль, которые являются высокореакционно-способными гликирующими молекулами и определяются как предшественники AGEs. Содержание этих соединений, полученных из глюкозы, достаточно высоко в нектарах, соках, безалкогольных напитках и кондитерских изделиях [69,70]. Перекисное окисление липидов также способствует образованию производных дикарбонила; богатые жирами продукты имеют более высокое содержание Nε-карбоксиметил-лизина по сравнению с их обезжиренными аналогами.

Ряд антиоксидантных соединений может заметно влиять на образование AGEs, блокируя протекание РМ. Значительное количество природных биологически активных веществ, в первую очередь полифенолов, олиго- и полисахаридов, выступает в качестве ингибиторов AGE в модельных системах или пищевых продуктах [9,71,72]. Более высокий процент ингибирования гликирования в модельных системах BSA-фруктозы/глюкозы отмечен для некоторых полифенолов по сравнению с амингуанидином (синтетическим ингибитором образования AGEs) [73–75]. При этом ингибирующая активность полифенолов в отношении РМ во многом зависит от их положения и количества гидроксигрупп, а у олиго-/полисахаридов она связана с их составом, молярным соотношением сахара и степенью разветвленности.

Для технологических факторов, продолжительность обработки, влажность, pH и наличие металлов переходных валентностей являются одними из наиболее значимых параметров. Наибольшая скорость реакции достигается, когда содержание влаги составляет от 30% до 75%; скорость реакции увеличивается с повышением pH (от 3 до 9) и температуры. Наибольшей реакционной активностью обладают моносахариды и амины, менее активны пентозы и аминокислотные последовательности, наименьшая реактогенность отмечена у белков и гексоз. Присутствие ионов металлов (железа, меди и цинка) может ускорить РМ. Начальный показатель pH и буферная способность системы пищевого продукта влияют как на скорость, так и на направление РМ: показано, что реакция протекает медленнее при низком pH, достигая максимума на уровне pH 10 [1,2,76]. В дополнение к параметрам обработки, условия хранения пищевых продуктов и упаковочный материал также влияют на РМ. В последние годы в пищевой промышленности появились технологии нетермической переработки с использованием действия электрических полей, генерируемых реакционно-способных форм (активных форм кислорода, образующихся при обработке холодной плазмой); в тоже время влияние этих новых методов на генерацию AGEs еще предстоит исследовать.

4. Заключение

Таким образом, реакция Майяра является неотъемлемой частью ряда традиционных технологических процессов в пищевой промышленности, продукты которой могут обладать разнонаправленной физиологической активностью: с одной стороны, они могут модифицировать иммунгенность пищевых антигенов и оказывать прямое токсическое действие и отдаленные канцерогенные, тератогенные эффекты, а с другой — усиливать антиоксидантные свойства продукта.

Учитывая высокую распространенность явлений пищевой непереносимости и сенсибилизации среди населения в целом и спортсменов в частности, целесообразно более глубокое исследование подходов к снижению иммуногенности продуктов — носителей облигатных пищевых аллергенов с помощью реакции гликирования, что будет способствовать оптимизации адаптационного потенциала к высоким психоэмоциональным и физическим нагрузкам.

Немаловажной представляется потенциальная возможность модификации микробиома с помощью конечных продуктов РМ.

Актуальным представляется более глубокое изучение влияния конечных продуктов РМ на функциональные свойства пищевой продукции, а также разработка инструментальных методов детекции AGEs и технологии нетермической переработки сырья, сокращающей образование токсичных соединений.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК / REFERENCES

- Somoza, V., Wenzel, E., Weiß, C., Clawin-Rädecker, I., Grübel, N., Erbersdobler, H. F. (2006). Dose-dependent utilisation of casein-linked lysino-alanine, N(epsilon)-fructoselysine and N(epsilon)-carboxymethyllysine in rats. *Molecular Nutrition and Food Research*, 50(9), 833–841. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200600021>
- Hellwig, M., Henle, T. (2014). Baking, ageing, diabetes: A short history of the maillard reaction. *Angewandte Chemie — International Edition*, 53(39), 10316–10329. <https://doi.org/10.1002/anie.201308808>
- de Oliveira, F. C., Coimbra, J. S. D. R., de Oliveira, E. B., Zuñiga, A. D. G., Rojas, E. E. G. (2016). Food protein-polysaccharide conjugates obtained via the Maillard reaction: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(7), 1108–1125. <https://doi.org/10.1080/10408398.2012.755669>
- Teodorowicz, M., Van Neerven, J., Savelkoul, H. (2017). Food processing: The influence of the Maillard reaction on immunogenicity and allergenicity of food proteins. *Nutrients*, 9(8), Article 835. <https://doi.org/10.3390/nu9080835>
- Xiang, J., Liu, F., Wang, B., Chen, L., Liu, W., Tan, S. (2021). A literature review on Maillard reaction based on milk proteins and carbohydrates in food and pharmaceutical products: Advantages, disadvantages, and avoidance strategies. *Foods*, 10(9), Article 1998. <https://doi.org/10.3390/foods10091998>
- Newton, A. E., Fairbanks, A. J., Golding, M., Andrewes, P., Gerrard, J. A. (2012). The role of the Maillard reaction in the formation of flavour compounds in dairy products — not only a deleterious reaction but also a rich source of flavour compounds. *Food and Function*, 3(12), 1231–1241. <https://doi.org/10.1039/c2fo30089c>
- Nooshkam, M., Varidi, M., Bashash, M. (2019). The Maillard reaction products as food-born antioxidant and antibrowning agents in model and real food systems. *Food Chemistry*, 275, 644–660. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.09.083>
- Oliver, C. M., Melton, L. D., Stanley, R. A. (2006). Creating proteins with novel functionality via the maillard reaction: A review. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 46(4), 337–350. <https://doi.org/10.1080/10408690590957250>
- Abd El-Salam, M. H., El-Shibiny, S. (2018). Glycation of whey proteins: Technological and nutritional implications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 112, 83–92. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.01.114>
- Sedaghat Doost, A., Nikbakht Nasrabadi, M., Wu, J., A'yun, Q., Van der Meer, P. (2019). Maillard conjugation as an approach to improve whey proteins functionality: A review of conventional and novel preparation techniques. *Trends in Food Science and Technology*, 91, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.06.011>
- Seo, C. W., Yoo, B. (2021). Preparation of milk protein isolate/κ-carrageenan conjugates by Maillard reaction in wet-heating system and their application to stabilization of oil-in-water emulsions. *LWT*, 139, Article 110542. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.110542>
- Meydani, B., Vahedifar, A., Askari, G., Madadlou, A. (2019). Influence of the Maillard reaction on the properties of cold-set whey protein and maltodextrin binary gels. *International Dairy Journal*, 90, 79–87. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.11.009>
- Andrade, M. A., Ribeiro-Santos, R., Guerra, M., Sanches-Silva, A. (2019). Evaluation of the oxidative status of salami packaged with an active whey protein film. *Foods*, 8(9), Article 387. <https://doi.org/10.3390/foods8090387>
- Spanneberg, R., Salzwedel, G., Glomb, M. A. (2012). Formation of early and advanced Maillard reaction products correlates to the ripening of cheese. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(2), 600–607. <https://doi.org/10.1021/jf204079f>
- Erbersdobler, H. F., Somoza, V. (2007). Forty years of furosine — forty years of using Maillard reaction products as indicators of the nutritional quality of foods. *Molecular Nutrition and Food Research*, 51(4), 423–430. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200600154>
- García, M. M., Seiquer, I., Delgado-Andrade, C., Galdó, G., Navarro, M. P. (2009). Intake of Maillard reaction products reduces iron bioavailability in male adolescents. *Molecular Nutrition and Food Research*, 53(12), 1551–1560. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200800330>
- Aljahlali, N., Carbonero, F. (2019). Impact of Maillard reaction products on nutrition and health: Current knowledge and need to understand their fate in the human digestive system. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 59(3), 474–487. <https://doi.org/10.1080/10408398.2017.1378865>
- Wang, Z., Jiang, Y., Liu, N., Ren, L., Zhu, Y., An, Y. et al. (2012). Advanced glycation end-product N^ε(open)-carboxymethyl-lysine accelerates progression of atherosclerotic calcification in diabetes. *Atherosclerosis*, 221(2), 387–396. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2012.01.019>
- Li, J., Liu, D., Sun, L., Lu, Y., Zhang, Z. (2012). Advanced glycation end products and neurodegenerative diseases: Mechanisms and perspective. *Journal of the Neurological Sciences*, 317(1–2), 1–5. <https://doi.org/10.1016/j.jns.2012.02.018>
- Rao, Q., Jiang, X., Li, Y., Samiwala, M., Labuza, T. P. (2018). Can glycation reduce food allergenicity? *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(17), 4295–4299. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.8b00660>
- Yang, S. -Y., Kim, S. -W., Kim, Y., Lee, S. -H., Jeon, H., Lee, K. -W. (2015). Optimization of Maillard reaction with ribose for enhancing anti-allergy effect of fish protein hydrolysates using response surface methodology. *Food Chemistry*, 176, 420–425. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.12.090>
- Liu, E. G., Yin, X., Swaminathan, A., Eisenbarth, S. C. (2021). Antigen-presenting cells in food tolerance and allergy. *Frontiers in Immunology*, 11, Article 616020. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.616020>
- Bøgh, K. L., Madsen, C. B. (2016). Food allergens: Is there a correlation between stability to digestion and allergenicity? *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 56(9), 1545–1567. <https://doi.org/10.1080/10408398.2015.779569>
- Teodorowicz, M., Hendriks, W. H., Wichers, H. J., Savelkoul, H. F. J. (2018). Immunomodulation by processed animal feed: The role of maillard reaction products and advanced glycation end-products (AGEs). *Frontiers in Immunology*, 9(SEP), Article 2088. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2018.02088>
- Bastos, D. H. M., Gugliucci, A. (2015). Contemporary and controversial aspects of the Maillard reaction products. *Current Opinion in Food Science*, 1(1), 13–20. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2014.08.001>
- Sanz, M. L., Corzo-Martinez, M., Rastall, R. A., Olano, A., Moreno, F. J. (2007). Characterization and in vitro digestibility of bovine β-lactoglobulin glycosylated with galactooligosaccharides. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55(19), 7916–7925. <https://doi.org/10.1021/jf0711111>
- Zhang, Z., Li, Z., Lin, H. (2021). Reducing the allergenicity of shrimp tropomyosin and allergy desensitization based on glycation modification. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c03953> (unpublished data)
- Xu, L., Gong, Y., Gern, J. E., Ikeda, S., Lucey, J. A. (2018). Glycation of whey protein with dextrans of different molar mass: Effect on immunoglobulin E-binding capacity with blood sera obtained from patients with cow milk protein allergy. *Journal of Dairy Science*, 101(8), 6823–6834. <https://doi.org/10.3168/jds.2017-14338>
- Maleki, S. J., Chung, S. -Y., Champagne, E. T., Raufman, J. -P. (2000). The effects of roasting on the allergenic properties of peanut proteins. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 106(4), 763–768. <https://doi.org/10.1067/mai.2000.109620>
- Liu, F., Teodorowicz, M., Van Boekel, M. A. J. S., Wichers, H. J., Hettinga, K. A. (2016). The decrease in the IgG-binding capacity of intensively dry heated whey proteins is associated with intense Maillard reaction, structural changes of the proteins and formation of RAGE-ligands. *Food and Function*, 7(1), 239–249. <https://doi.org/10.1039/c5fo00718f>
- De Martinis, M., Sirufo, M. M., Suppa, M., Ginaldi, L. (2020). New perspectives in food allergy. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(4), Article 1474. <https://doi.org/10.3390/ijms21041474>
- Gupta, R. K., Gupta, K., Sharma, A., Das, M., Ansari, I. A., Dwivedi, P. D. (2018). Maillard reaction in food allergy: Pros and cons. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 58(2), 208–226. <https://doi.org/10.1080/10408398.2016.1152949>
- Liang, Z., Chen, X., Li, L., Li, B., Yang, Z. (2019). The fate of dietary advanced glycation end products in the body: From oral intake to excre-

- tion. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 60(20), 3475–3491. <https://doi.org/10.1080/10408398.2019.1693958>
34. Hegele, J., Buetler, T., Delatour, T. (2008). Comparative LC–MS/MS profiling of free and protein-bound early and advanced glycation-induced lysine modifications in dairy products. *Analytica Chimica Acta*, 617(1–2), 85–96. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2007.12.027>
 35. Ling, B., Tang, J., Kong, F., Mitcham, E. J., Wang, S. (2015). Kinetics of food quality changes during thermal processing: A review. *Food and Bioprocess Technology*, 8(2), 343–358. <https://doi.org/10.1007/s11947-014-1398-3>
 36. Collin, M., Bigley, V. (2018). Human dendritic cell subsets: An update. *Immunology*, 154(1), 3–20 <https://doi.org/10.1111/imm.12888>
 37. Jaiswal, N., Agrawal, S., Agrawal, A. (2019). High fructose-induced metabolic changes enhance inflammation in human dendritic cells. *Clinical and Experimental Immunology*, 197(2), 237–249. <https://doi.org/10.1111/cei.13299>
 38. Uribarri, J., Woodruff, S., Goodman, S., Cai, W., Chen, X., Pyzik, R. et al. (2010). Advanced glycation end products in foods and a practical guide to their reduction in the diet. *Journal of the American Dietetic Association*, 110(6), 911–916.e12. <https://doi.org/10.1016/j.jada.2010.03.018>
 39. Ott, C., Jacobs, K., Haucke, E., Navarrete Santos, A., Grune, T., Simm, A. (2014). Role of advanced glycation end products in cellular signaling. *Redox Biology*, 2(1), 411–429. <https://doi.org/10.1016/j.redox.2013.12.016>
 40. Saleh, A., Smith, D. R., Tessler, L., Mateo, A. R., Martens, C., Schartner, E. et al. (2013). Receptor for advanced glycation end-products (RAGE) activates divergent signaling pathways to augment neurite outgrowth of adult sensory neurons. *Experimental Neurology*, 249, 149–159. <https://doi.org/10.1016/j.expneurol.2013.08.018>
 41. Cai, W., Ramdas, M., Zhu, L., Chen, X., Striker, G. E., Vlassara, H. (2012). Oral advanced glycation endproducts (AGEs) promote insulin resistance and diabetes by depleting the antioxidant defenses AGE receptor-1 and sirtuin 1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 109(39), 15888–15893. <https://doi.org/10.1073/pnas.1205847109>
 42. Ilchmann, A., Burgdorf, S., Scheurer, S., Waibler, Z., Nagai, R., Wellner, A. et al. (2010). Glycation of a food allergen by the Maillard reaction enhances its T-cell immunogenicity: Role of macrophage scavenger receptor class A type I and II. *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 125(1–3), 175–183.e11. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2009.08.013>
 43. Maillard-Lefebvre, H., Boulanger, E., Daroux, M., Gaxatte, C., Hudson, B. I., Lambert, M. (2009). Soluble receptor for advanced glycation end products: A new biomarker in diagnosis and prognosis of chronic inflammatory diseases. *Rheumatology (Oxford, England)*, 48(10), 1190–1196. <https://doi.org/10.1093/rheumatology/kep199>
 44. Jiménez-Saiz, R., Belloque, J., Molina, E., López-Fandiño, R. (2011). Human immunoglobulin e (IgE) binding to heated and glycated ovalbumin and ovomucoid before and after in vitro digestion. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(18), 10044–10051 <https://doi.org/10.1021/jf2014638>
 45. Taheri-Kafrani, A., Gaudin, J.-C., Rabesona, H., Nioi, C., Agarwal, D., Drouet, M. et al. (2009). Effects of heating and glycation of β -lactoglobulin on its recognition by ige of sera from cow milk allergy patients. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57(11), 4974–4982. <https://doi.org/10.1021/jf804038t>
 46. Bu, G., Lu, J., Zheng, Z., Luo, Y. (2009). Influence of maillard reaction conditions on the antigenicity of bovine α -lactalbumin using response surface methodology. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89(14), 2428–2434. <https://doi.org/10.1002/jsfa.3741>
 47. Heilmann, M., Wellner, A., Gadermaier, G., Ilchmann, A., Briza, P., Krause, M. et al. (2014). Ovalbumin modified with pyrrolidine, a maillard reaction product, shows enhanced T-cell immunogenicity. *Journal of Biological Chemistry*, 289(11), 7919–7928. <https://doi.org/10.1074/jbc.M113.523621>
 48. Cucu, T., De Meulenaer, B., Bridts, C., Devreese, B., Ebo, D. (2012). Impact of thermal processing and the maillard reaction on the basophil activation of hazelnut allergic patients. *Food and Chemical Toxicology*, 50(5), 1722–1728. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.02.069>
 49. Han, X.-Y., Yang, H., Rao, S.-T., Liu, G.-Y., Hu, M.-J., Zeng, B.-C. et al. (2018). The Maillard reaction reduced the sensitization of tropomyosin and arginine kinase from *Scylla paramamosain*, simultaneously. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 66(11), 2934–2943. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b05195>
 50. Zhang, Z., Li, X.-M., Xiao, H., Nowak-Wegrzyn, A., Zhou, P. (2020). Insight into the allergenicity of shrimp tropomyosin glycated by functional oligosaccharides containing advanced glycation end products. *Food Chemistry*, 302, Article 125348. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.125348>
 51. Zhao, Y.-J., Cai, Q.-F., Jin, T., Zhang, L.-J., Fei, D.-X., Liu, G.-M., Cao, M.-J. (2017). Effect of Maillard reaction on the structural and immunological properties of recombinant silver carp parvalbumin. *LWT – Food Science and Technology*, 75, 25–33. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.08.049>
 52. Kobelkova, M.S., Korosteleva, M.M., Kobelkova, I.V. (2021). Applied aspects of the use of Maillard reaction products in the development of specialized food products for the nutrition of athletes. *Food systems*, 4(3S), 137–141. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-3S-137-141>
 53. Yang, Z.-H., Li, C., Li, Y.-Y., Wang, Z.-H. (2013). Effects of maillard reaction on allergenicity of buckwheat allergen fag t 3 during thermal processing. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 93(6), 1510–1515. <https://doi.org/10.1002/jsfa.5928>
 54. Warren, C.M., Jiang, J., Gupta, R.S. (2020). Epidemiology and burden of food allergy. *Current Allergy and Asthma Reports*, 20(2), Article 6. <https://doi.org/10.1007/s11882-020-0898-7>
 55. Warren, C. M., Turner, P. J., Chinthrajah, R. S., Gupta, R. S. (2021). Advancing food allergy through epidemiology: Understanding and addressing disparities in food allergy management and outcomes. *Journal of Allergy and Clinical Immunology: In Practice*, 9(1), 110–118. <https://doi.org/10.1016/j.jaip.2020.09.064>
 56. Smith, P. K., Masilamani, M., Li, X.-M., Sampson, H. A. (2017). The false alarm hypothesis: Food allergy is associated with high dietary advanced glycation end-products and proglycating dietary sugars that mimic alarmins. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*, 139(2), 429–437. <https://doi.org/10.1016/j.jaci.2016.05.040>
 57. Wei, Q., Liu, T., Sun, D.-W. (2018). Advanced glycation end-products (AGEs) in foods and their detecting techniques and methods: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 82, 32–45. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.09.020>
 58. Takeuchi, M., Takino, J., Furuno, S., Shirai, H., Kawakami, M., Muramatsu, M. et al. (2015). Assessment of the concentrations of various advanced glycation end-products in beverages and foods that are commonly consumed in Japan. *Plos One*, 10(3), Article e0118652. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118652>
 59. Hull, G. L. J., Woodside, J. V., Ames, J. M., Cuskelly, G. J. (2012). N^ε-(carboxymethyl) lysine content of foods commonly consumed in a Western style diet. *Food Chemistry*, 131(1), 170–174. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.08.055>
 60. Pouillart, P., Mauprivez, H., Ait-Ameur, L., Cayzeele, A., Lecerf, J., Tessier, F. J. et al. (2008). Strategy for the study of the health impact of dietary Maillard products in clinical studies: The example of the ICARE clinical study on healthy adults. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1126, 173–176. <https://doi.org/10.1196/annals.1433.040>
 61. Zhang, Z., Li, D. (2018). Thermal processing of food reduces gut microbiota diversity of the host and triggers adaptation of the microbiota: Evidence from two vertebrates. *Microbiome*, 6(1), 99. <https://doi.org/10.1186/s40168-018-0471-y>
 62. Koliada, A., Syzenko, G., Moseiko, V., Budovska, L., Puchkov, K., Perederiy, V. et al. (2017). Association between body mass index and Firmicutes/Bacteroidetes ratio in an adult Ukrainian population. *BMC Microbiology*, 17(1), Article 120. <https://doi.org/10.1186/s12866-017-1027-1>
 63. Mao, Z., Ren, Y., Zhang, Q., Dong, S., Han, K., Feng, G. et al. (2019). Glycated fish protein supplementation modulated gut microbiota composition and reduced inflammation but increased accumulation of advanced glycation end products in high-fat diet fed rats. *Food and Function*, 10(6), 3439–3451. <https://doi.org/10.1039/c9fo00599d>
 64. Yacoub, R., Nugent, M., Cai, W., Nadkarni, G. N., Chaves, L. D., Abyad, S. et al. (2017). Advanced glycation end products dietary restriction effects on bacterial gut microbiota in peritoneal dialysis patients; a randomized open label controlled trial. *PLoS One*, 12(9), Article e0184789. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184789>
 65. Seiquer, I., Rubio, L. A., Peinado, M. J., Delgado-Andrade, C., Navarro, M. P. (2014). Maillard reaction products modulate gut microbiota composition in adolescents. *Molecular Nutrition and Food Research*, 58(7), 1552–1560. <https://doi.org/10.1002/mnfr.201300847>
 66. Luévano-Contreras, C., Garay-Sevilla, M. E., Wrobel, K., Malacara, J. M., Wrobel, K. (2012). Dietary advanced glycation end products restriction diminishes inflammation markers and oxidative stress in patients with type 2 diabetes mellitus. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*, 52(1), 12–40. <https://doi.org/10.5164/jcbs.12-40>
 67. Vlassara, H., Striker, G. E. (2011). AGE restriction in diabetes mellitus: A paradigm shift. *Nature Reviews Endocrinology*, 7(9), 526–539. <https://doi.org/10.1038/nrendo.2011.74>
 68. Di Pino, A., Currenti, W., Urbano, F., Mantegna, C., Purrazzo, G., Piro, S. et al. (2016). Low advanced glycation end product diet improves the lipid and inflammatory profiles of prediabetic subjects. *Journal of Clinical Lipidology*, 10(5), 1098–1108. <https://doi.org/10.1016/j.jacl.2016.07.001>
 69. Poulsen, M. W., Bak, M. J., Andersen, J. M., Monošík, R., Giraudi-Futina, A. C., Holst, J. J. et al. (2014). Effect of dietary advanced glycation end products on postprandial appetite, inflammation, and endothelial activation in healthy overweight individuals. *European Journal of Nutrition*, 53(2), 661–672. <https://doi.org/10.1007/s00394-013-0574-y>
 70. Macías-Cervantes, M. H., Rodríguez-Soto, J. M. D., Uribarri, J., Díaz-Cisneros, F. J., Cai, W., Garay-Sevilla, M. E. (2015). Effect of an advanced glycation end product-restricted diet and exercise on metabolic parameters in adult overweight men. *Nutrition*, 31(3), 446–451. <https://doi.org/10.1016/j.nut.2014.10.004>
 71. Munekata, P.E.S., Domínguez, R., Budaraju, S., Roselló-Soto, E., Barba, F.J., Mallikarjunan, K. et al. (2020). Effect of innovative food processing technologies on the physicochemical and nutritional properties and quality of non-dairy plant-based beverages. *Foods*, 9(3), Article 288. <https://doi.org/10.3390/foods9030288>
 72. Khan, M., Liu, H., Wang, J., Sun, B. (2019). Inhibitory effect of phenolic compounds and plant extracts on the formation of advanced glycation end products: A comprehensive review. *Food Research International*, 130, Article 108933. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.108933>
 73. Abdallah, H. M., El-Bassossy, H., Mohamed, G. A., El-Halawany, A. M., Alshali, K. Z., Banjar, Z. M. (2016). Phenolics from *Garcinia mangostana*

- inhibit advanced glycation endproducts formation: Effect on amadori products, cross-linked structures and protein thiols. *Molecules*, 21(2), Article 251. <https://doi.org/10.3390/molecules21020251>
74. Zhu, R., Wang, C., Zhang, L., Wang, Y., Chen, G., Fan, J. et al. (2019). Pectin oligosaccharides from fruit of *Actinidia arguta*: Structure-activity relationship of prebiotic and antiglycation potentials. *Carbohydrate Polymers*, 217, 90–97. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.04.032>
75. Sharma, C., Kaur, A., Thind, S. S., Singh, B., Raina, S. (2015). Advanced glycation end-products (AGEs): an emerging concern for processed food industries. *Journal of Food Science and Technology*, 52(12), 7561–7576. <https://doi.org/10.1007/s13197-015-1851-y>
76. Zhang, Q., Wang, Y., Fu, L. (2020). Dietary advanced glycation end-products: Perspectives linking food processing with health implications. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 19(5), 559–2587. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12593>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p>Кобелькова Ирина Витальевна — кандидат медицинских наук, ведущий научный сотрудник, лаборатория спортивной антропологии и нутрициологии, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи 109240, Москва Устьинский пр., 2/14с1 Доцент, Академия постдипломного образования 125371, Москва, Волоколамское ш., 91 Тел.: +7-910-406-40-31 E-mail: irinavit66@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1237-5147</p>	<p>Irina V. Kobelkova, Candidate of Medical Sciences, Leading Researcher, Laboratory of Sports Anthropology and Nutritionology, Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety Ustinsky pr., 2/14c1, 109240, Moscow, Russia Docent, Academy of Postgraduate Education Volokolamsk Highway, 91, 125371, Moscow, Russia Tel.: + 7-910-406-40-31 E-mail: irinavit66@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1237-5147</p>
<p>Коростелева Маргарита Михайловна — кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник, лаборатория спортивной антропологии и нутрициологии, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи 109240, Москва, Устьинский пр., 2/14с1 Доцент, Кафедра управления сестринской деятельностью Медицинского института, Российский университет дружбы народов, 117198, Москва, ул. Миклухо-Маклая, 6 Тел.: +7-985-567-78-22 E-mail: korosrel@bk.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2279-648X * автор для контактов</p>	<p>Margarita M. Korosteleva, Candidate of Medical Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Sports Anthropology and Nutritionology, Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety Ustinsky pr., 2/14c1, 109240, Moscow, Russia Docent, Department of Nursing Management, Medical Institute, Peoples' Friendship University of Russia Miklukho-Maclay str., 6, 117198, Moscow, Russia Tel.: +7-985-567-78-22 E-mail: korosrel@bk.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2279-648X * corresponding author</p>
<p>Никитюк Дмитрий Борисович — доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, директор, Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи 109240, Москва, Устьинский пр., 2/14с1 Профессор, кафедра оперативной хирургии и топографической анатомии, Первый Московский государственный медицинский университет имени И. М. Сеченова 119992, Москва, ул. Россолимо 15/13 с. 1 Тел.: +7-495-695-53-60 E-mail: nikitjuk@ion.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2259-1222</p>	<p>Dmitry B. Nikityuk, Doctor of Medical Sciences, Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Director, Federal Research Center for Nutrition, Biotechnology and Food Safety Ustinsky pr., 2/14c1, 109240, Moscow, Russia Professor, Department of Operative Surgery and Topographic Anatomy, I. M. Sechenov First Moscow State Medical University Rossolimo str., 15/13(1), 119992, Moscow, Russia Tel.: +7-495-695-53-60 E-mail: nikitjuk@ion.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2259-1222</p>
<p>Кобелькова Мария Сергеевна — врач, «Поликлиника № 2» Управления делами Президента Российской Федерации 119146, Москва, 2-я Фрунзенская улица, д. 4 Тел. +7-915-410-78-74 E-mail: kobelkovams@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6742-8528</p>	<p>Maria S. Kobelkova, Doctor, "Polyclinic No. 2" of the Administrative Department of the President of the Russian Federation 2nd Frunzenskaya street, 4, 119146, Moscow, Russia Tel. +7-915-410-78-74 E-mail: kobelkovams@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6742-8528</p>
<p>Критерии авторства</p> <p>Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат</p>	<p>Contribution</p> <p>Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism</p>
<p>Конфликт интересов</p> <p>Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов</p>	<p>Conflict of interest</p> <p>The authors declare no conflict of interest</p>

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-4-286-293>

Поступила 12.11.2021

Поступила после рецензирования 10.12.2021

Принята в печать 15.12.2021

© Мягконосов Д. С., Смыков И. Т., Абрамов Д. В., Делицкая И. Н., Овчинникова Е. Г., 2021

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

Научная статья

Open access

ВЛИЯНИЕ МОЛОКОСВЕРТЫВАЮЩИХ ФЕРМЕНТОВ ЖИВОТНОГО И МИКРОБНОГО ПРОИСХОЖДЕНИЯ НА КАЧЕСТВО И СРОК ХРАНЕНИЯ МЯГКИХ СЫРОВ

Мягконосов Д. С.*, Смыков И. Т., Абрамов Д. В., Делицкая И. Н., Овчинникова Е. Г.

Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия, Углич, Ярославская область, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

мягкие сыры,
молокосвертывающие
ферменты, протеолиз,
горький вкус, реология,
микроструктура

АННОТАЦИЯ

Было проведено сравнительное испытание молокоосвертывающих ферментов (МФ) животного происхождения (Naturen® Extra), микробного происхождения (Marzyme®) и МФ на основе рекомбинантного химозина верблюда (Chy-max® M) при производстве мягкого сыра «Любительский». К концу срока хранения сыров (12 сут при температуре $3 \pm 1^\circ\text{C}$) были отмечены различия по степени протеолиза (СП) и величине комплексного модуля сдвига G^* , которые составили для сыров, произведенных с использованием МФ марки: Naturen® — СП = $17,86 \pm 0,24\%$; $G^* = 4164 \pm 587$ Па; Marzyme® — СП = $17,98 \pm 0,49\%$; $G^* = 4581 \pm 786$ Па; Chy-max® M — СП = $9,85 \pm 0,63\%$; $G^* = 7949 \pm 1157$ Па. Сыры, произведенные с применением МФ Chy-max® M, обладали более плотной консистенцией, чем сыры, произведенные с использованием МФ Naturen или Marzyme, которые не имели существенных отличий в консистенции. В исследованных сырах степень выраженности горького вкуса была пропорциональна содержанию водорастворимых пептидов с массой 0,5–3 кДа. В сырах, произведенных с МФ Marzyme®, отмечалась более интенсивная горечь, чем в сырах, произведенных с МФ Naturen®. В сырах, произведенных с использованием Chy-max® M, не отмечалось горького вкуса. Были сделаны выводы, что при производстве мягких сыров рекомбинантный химозин верблюда может быть использован для увеличения срока хранения, а МФ микробного происхождения можно рекомендовать для замены более дорогостоящих МФ животного происхождения.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию № 0585–2019–0012 Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук.

Received 12.11.2021

Accepted in revised 10.12.2021

Accepted for publication 15.12.2021

© Myagkonosov D. V., Smykov I. T., Abramov D. V., Delitskaya I. N., Ovchinnikova E. G., 2021

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

Original scientific article

Open access

INFLUENCE OF MILK-CLOTTING ENZYMES OF ANIMAL AND MICROBIAL ORIGIN ON THE QUALITY AND SHELF LIFE OF SOFT CHEESES

Dmitriy S. Myagkonosov*, Igor T. Smykov, Dmitriy V. Abramov, Irina N. Delitskaya, Elena G. Ovchinnikova

All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking, Uglich, Yaroslavl Region, Russia

KEY WORDS:

soft cheese, milk-clotting enzymes,
proteolysis, bitter taste, rheology,
microstructure

ABSTRACT

A comparative test was carried out for milk-clotting enzymes (MCE) of animal origin (Naturen® Extra), microbial origin (Marzyme®) and MCE based on recombinant camel chymosin (Chy-max® M) in the production of soft cheese "Lyubitskiy". By the end of the shelf life of the cheeses (12 days at a temperature of $3 \pm 1^\circ\text{C}$), differences were noted in the degree of proteolysis (DP) and the value of the complex modulus G^* , which were the following ones for cheeses produced with MCE of the brands: Naturen® — DP = $17.86 \pm 0.24\%$; $G^* = 4164 \pm 587$ Pa; Marzyme® — DP = $17.98 \pm 0.49\%$; $G^* = 4581 \pm 786$ Pa; Chy-max® M — DP = $9.85 \pm 0.63\%$; $G^* = 7949 \pm 1157$ Pa. Cheeses made with Chy-max® M MCE had a denser texture than cheeses made with MCE of Naturen or Marzyme, which did not differ significantly in consistency. In the studied cheeses, the severity of the bitter taste was proportional to the content of water-soluble peptides with a mass of 0.5–3 kDa. Cheeses with Marzyme® MCE had a more intense bitterness than cheeses with Naturen® MCE. There was no bitter taste in cheeses produced with MCE of Chy-max® M. It was concluded that in the production of soft cheeses, recombinant camel chymosin can be used to increase the shelf life, and MCE of microbial origin can be recommended to replace more expensive MCE of animal origin.

FUNDING: The article was published as part of the research topic No. 0585–2019–0012 of the state assignment of the V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS.

1. Введение

Мягкие сыры сочетают в себе свойства как высококалорийного продукта, так и продукта здорового питания,

поэтому они широко представлены в ассортименте сыров в странах развитого сыроделия. Недостатком мягких сыров является их короткий срок хранения. В этих сырах с высокой

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Мягконосов, Д. С., Смыков, И. Т., Абрамов, Д. В., Делицкая, И. Н., Овчинникова, Е. Г. (2021). Влияние молокоосвертывающих ферментов животного и микробного происхождения на качество и срок хранения мягких сыров. *Пищевые системы*, 4(4), 286–293. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-4-286-293>

FOR CITATION: Myagkonosov, D. S., Smykov, I. T., Abramov, D. V., Delitskaya, I. N., Ovchinnikova, E. G. (2021). Influence of milk-clotting enzymes of animal and microbial origin on the quality and shelf life of soft cheeses. *Food systems*, 4(4), 286–293. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-4-286-293>

скоростью идет протеолиз, в результате которого они быстро перезревают, приобретая вязкую, липнущую к ножу консистенцию, а также порок вкуса — горечь.

Основным протеолитическим агентом в мягких сырах является молокосвертывающий фермент (МФ). Значительная часть МФ (до 30% от массы МФ, внесенной в молоко) удерживается в сырной массе [1]. Также в мягких сырах имеются условия, оптимальные для активности МФ: высокое содержание влаги, низкое содержание соли, кислотность около pH 5 [2]. Увеличить срок хранения сыров можно снизив скорость протеолитических процессов, что может быть достигнуто в т. ч. за счет использования МФ с низкой протеолитической активностью (ПА) [3,4,5].

Среди всех типов МФ, используемых в сыродельной промышленности, самым низким уровнем неспецифической ПА обладают рекомбинантные химозины [6]. Рекомбинантный химозин верблюда имеет низкий уровень неспецифической протеолитической активности. Полученные зарубежными исследователями результаты показывают отчетливое снижение уровня протеолиза и увеличение срока хранения сыров при использовании в производстве сыров рекомбинантных МФ на основе химозина верблюда [5,7,8].

В процессе проведенной работы было исследовано влияние типа использованного МФ на динамику протеолиза в мягких сырах и изучены связанные с этим изменения в структуре и вкусе сыров в процессе их хранения. Результаты работы представляют практический интерес в рамках совершенствования технологии мягких сыров и увеличения их срока хранения.

2. Материалы и методы

2.1. Материалы

В исследованиях использовали коровье молоко одного поставщика-производителя — ООО «АгриВолга» (Ярославская область, Угличский район, д. Бурмасово).

При производстве сыров использовали молочнокислую закваску на основе бактериальных концентратов БК-Углич-№ 4 и БК-Углич-№ 5А (ФГБНУ «Экспериментальная биофабрика», Россия), состоящую из набора культур *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*, с предварительной активизацией культуры на стерилизованном молоке. Для свертывания молока использовали МФ марок:

- Marzyme® MT 2200 на основе кислой протеазы, выделенной от *Rhizomucor miehei*. Номинальная МСА 2200 IMCU/г (Danisco SAS, Франция);
- Naturen® Extra 220 NB, представляющий собой натуральный сычужный фермент, выделенный из желудков телят с номинальным содержанием химозина не менее 95%, пепсина — не более 5%. Номинальная МСА 220 IMCU/см³ (Chr Hansen A/S, Дания);
- Chu-max® M 1000 на основе рекомбинантного химозина верблюда. Номинальная МСА 1000 IMCU/см³ (Chr Hansen A/S, Дания).

2.2. Методы

2.2.1. Методы исследования свойств молокосвертывающих ферментов

Определение общей протеолитической активности проводилось по ГОСТ 34430–2018¹, применительно к слабокислым протеазам (при pH 5,3).

¹ ГОСТ 34430–2018 «Ферментные препараты для пищевой промышленности. Метод определения протеолитической активности». Москва: Стандартинформ, 2018. — 12 с.

2.2.2. Методы исследования свойств сыров

Активную кислотность сыра определяли в суспензии сыра, для приготовления которой 10 г сыра растирали в ступке с 10 см³ деионизированной воды. Измерения активной кислотности проводили на pH-метре pH-150МИ («Измерительная техника», Россия).

Определение массовой доли влаги проводили методом высушивания при температуре 102 ± 2 °С по российскому государственному стандарту ГОСТ 3626–73².

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

Степень протеолиза в сырах выражали в процентах абсолютного содержания растворимого азота от абсолютного содержания общего азота.

Определение массовой доли общего и растворимого азота проводили методом Кьельдаля по российскому государственному стандарту ГОСТ Р 54662–2011⁴.

Экстракцию водорастворимого азота — по методу [9] в модификации [10]: 20 г натертого сыра смешивали с 40 см³ деионизированной воды, гомогенизировали на высокоскоростном гомогенизаторе FSH-2A (Jiangsu Jinyi Instrument Technology Company Limited, Китай) в течение 1 мин. Гомогенизированную смесь выдерживали при 40 °С в течение 1 ч при непрерывном перемешивании 100 мин⁻¹ на орбитальном шейкере SK-O180-E (DLAB Scientific Co., Ltd, Китай). Образцы охлаждали до температуры 4 °С и центрифугировали при 3000 г в течение 30 мин. Верхний жировой слой удаляли, а надосады фильтровали на фильтрах из ацетата целлюлозы с размером пор 0,45 мкм (Владипор, Россия).

Определение молекулярно-массового распределения растворимых белковых веществ осуществляли в водных экстрактах из сыров методом гель-фильтрации высокого разрешения с использованием колонки Superose 12 10/300 GL (GE Healthcare, Швеция). Элюент — водный раствор 0,05 М Na₂HPO₄ + 0,15 М NaCl, скорость подачи элюента — 0,5 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 кДа), α-La (14,4 кДа), цитохром С (12,3 кДа), триптофан (0,204 кДа). Калибровочный график был построен на основе логарифмической регрессионной модели [11].

2.2.3. Процесс производства и хранения сыров

Производили мягкий сыр типа «Любительский» с содержанием жира в сухом веществе 50%. Технологический регламент производства и хранения мягкого сыра типа «Любительский» приведен в нашей статье, опубликованной в предыдущем номере журнала «Пищевые системы» [12].

2.2.4. Методы исследования микроструктуры сыров

Микроструктуру сыров исследовали методом световой микроскопии в проходящем свете, на микросрезках сыров толщиной 100 ± 10 мкм. Коррекцию фотографий производили с помощью программного пакета Digital Photo Professional software v.4.5 (Canon Inc.).

² ГОСТ 3626–73 «Молоко и молочные продукты. Методы определения влаги и сухого вещества». Москва: Стандартинформ, 2009. — 11 с.

³ ГОСТ Р 55063–2012 «Сыры и сыры плавленные. Правила приемки, отбор проб и методы контроля». Москва: Стандартинформ, 2013. — 28 с.

⁴ ГОСТ Р 54662–2011 «Сыры и сыры плавленные. Определение массовой доли белка методом Кьельдаля». Москва: Стандартинформ, 2012. — 16 с.

2.2.5. Методы реологических исследований

Реологические показатели сыров исследовали с применением реогониометра Вайссенберга модели R-19 (Sangamo Weston Controls Limited, Великобритания). Режим испытаний: периодическое сдвиговое деформирование с заданной частотой и амплитудой колебаний. В качестве рабочих органов использовали сочетание «конус-плоскость» диаметром 25 мм. Угол при вершине конуса — 2°. Линейность периодического режима деформирования обеспечивалась при амплитуде угловых перемещений рабочих органов $1,1 \cdot 10^{-3}$ рад при частоте 3,16 Гц.

2.2.6. Методы статистического анализа

Математическая обработка данных проводилась с применением программных пакетов Microsoft Excel и Statsoft Statistica (v.5.5). Оценку влияния категориального фактора «тип МФ» на переменные отклика проводили с помощью однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) методом множественных сравнений Шеффе [13].

Эксперименты проводили с трехкратной повторностью.

3. Результаты и обсуждение

3.1. Состав и качество сыров, изготовленных с МФ разного типа

Изготовленные сыры были заложены на хранение. В процессе хранения, через 5, 10 и 12 сут, сыры извлекали из упаковки, отбирали пробы, упаковывали под вакуумом (давление $(0,96 \pm 0,01) \cdot 10^{-5}$ Па; продолжительность вакуумирования — 17 с) в пакеты из полимерной пленки Амивак СН-В («Атлантис-Пак», Россия). Упакованные сыры хранили при температуре 3 ± 1 °С. Оценивали физико-химические и органолептические показатели (консистенция и вкус) сыров. На момент начала хранения отсутствовали отличия по составу и органолептическими показателями между образцами свежих сыров, изготовленных с использованием разных типов МФ [12]. Свежие сыры характеризовались грубой, ломкой структурой со свободно отделяющейся на срезе сывороткой. В процессе хранения сформировались отличия в консистенции и во вкусе между вариантами сыров, про-

изведенных с разными типами МФ. Через 12 сут хранения, варианты сыров, изготовленные с МФ Naturen, приобретали мажущуюся, липнущую к ножу при разрезании консистенцию, что означало завершение срока годности. Сыры, произведенные с МФ Marzyme, характеризовались несколько более плотной консистенцией и обладали способностью к нарезанию. Сыры, изготовленные с МФ Chy-max® M, обладали к 12 сут хранения в меру пластичной консистенцией и имели возможность для дальнейшего хранения. Структура (внешний вид на срезе) сыров, произведенных с использованием МФ разного типа, в конце срока хранения приведена на Рисунке 1.

Физико-химические показатели сыров в конце срока хранения приведены в Таблице 1.

Таблица 1
Показатели сыров в конце срока хранения (12 сут)

Показатель состава сыров	Значение показателя для сыров, изготовленных с МФ марок		
	Marzyme MT 2200	Naturen Extra 220	Chy-max M 1000
Кислотность, ед. рН	4,97 ± 0,04 ^a	4,93 ± 0,03 ^a	4,98 ± 0,02 ^a
М.д. сухого вещества, %	44,58 ± 0,58 ^a	44,17 ± 0,45 ^a	44,97 ± 0,64 ^a
М.д. жира, %	23,47 ± 0,25 ^a	23,47 ± 0,44 ^a	22,73 ± 0,24 ^a
М.д. общего белка, %	16,14 ± 0,16 ^a	15,93 ± 0,20 ^a	16,25 ± 0,06 ^a
М.д. растворимого белка, %	2,91 ± 0,11 ^a	2,85 ± 0,06 ^a	1,60 ± 0,10 ^b
Степень протеолиза, %	17,98 ± 0,49 ^a	17,86 ± 0,24 ^a	9,85 ± 0,63 ^b
Комплексный модуль сдвига G*, Па	4581 ± 786 ^a	4164 ± 587 ^a	7949 ± 1157 ^b

Примечание:

Данные приведены в форме «среднее значение ± стандартное отклонение» (n = 3).

Данные внутри одной строки с одинаковыми надстрочными символами не имеют статистически достоверных отличий (p < 0,05, множественное сравнение с помощью теста Шеффе).

3.2. Обсуждение полученных результатов

3.2.1. Физико-химические показатели сыров

Содержание в сыре влаги, жира, белка и уровень рН оказывают определяющее влияние на консистенцию сыров [14]. При анализе полученных данных (Таблица 1) при помощи

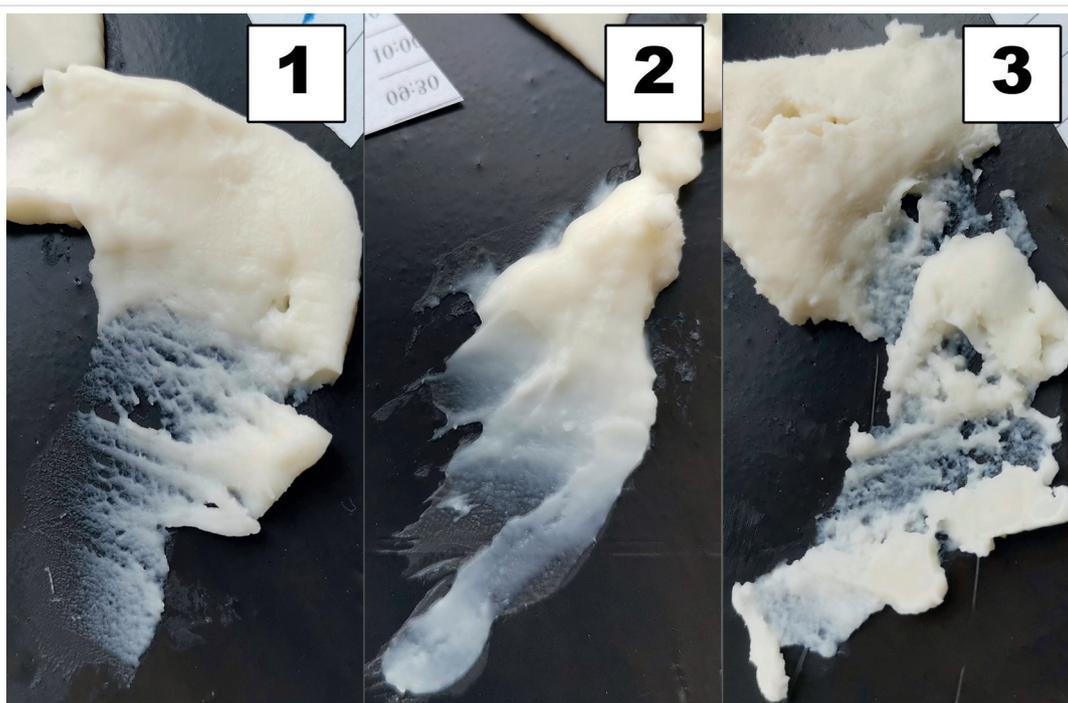


Рисунок 1. Структура образцов мягкого сыра «Любительский», изготовленных с МФ марок: 1 — Marzyme; 2 — Naturen Extra; 3 — Chy-max M

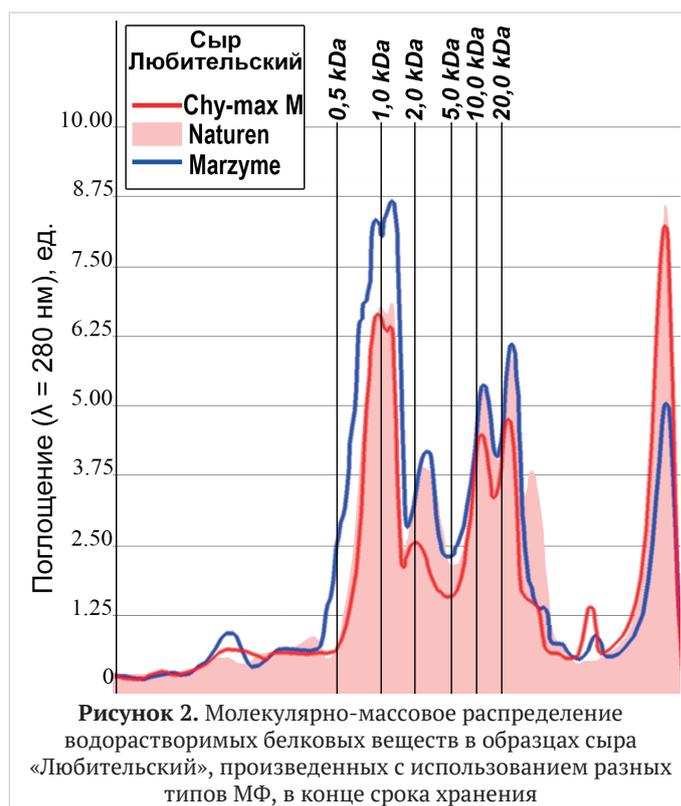
метода множественных сравнений Шеффе было установлено, что отсутствовало статистически значимое влияние ($p < 0,05$) типа МФ, использованного при производстве сыров, на содержание сухого вещества (влаги), жира, белка и на уровень pH в сырах в конце срока хранения. Следовательно, различия в консистенции сыров, изготовленных с использованием разных типов МФ, нельзя объяснить отклонением их физико-химических показателей.

3.2.2. Степень протеолиза

Анализ приведенных в Таблице 1 данных с помощью метода множественных сравнений Шеффе показывает, что имеется статистически значимое ($p < 0,05$) влияние типа МФ, использованного при производстве сыров, на степень протеолиза в сырах в конце срока хранения. В частности, степень протеолиза в сырах, произведенных с химозином верблюда (МФ Chy-max M), ниже, чем в сырах, произведенных с использованием МФ микробного происхождения (Marzume), и, чем в сырах, изготовленных с телячьим сычужным ферментом (Naturen).

Это объясняется низким уровнем неспецифической протеолитической активности (ПА) у МФ Chy-max M. Установлено, что уровень неспецифической ПА у препарата Chy-max M 1000 в ~7 раз ниже, чем у препарата Naturen Extra 220, и в ~50 раз ниже, чем у препарата Marzume MT 2200 [12]. При этом отсутствуют статистически достоверные отличия по степени протеолиза в конце срока хранения между сырами, произведенными с использованием МФ Marzume и сырами, изготовленными с применением МФ Naturen ($p < 0,05$, по критерию Шеффе). Это довольно неожиданно, учитывая тот факт, что МФ Marzume имеет в ~7 раз больший уровень неспецифической ПА, чем МФ Naturen [12]. Полученный результат можно объяснить различиями в количестве МФ разного типа, переходящих из молока в сырную массу. Количество МФ, перешедшего в состав сырной массы, оказывает влияние на степень расщепления казеина, а через это — на структуру и вкус сыра [15]. МФ на основе химозинов (телячий сычужный фермент, рекомбинантные химозины телянка и верблюда) лучше удерживаются в сырной массе. Установлено, что 30% и более от массы химозинов, внесенной в молоко, переходит в сыр [1,6,16]. Протеаза *R. miehei* слабо удерживается молочным сгустком. Менее 3% от количества МФ микробного происхождения переходит в сыр [1,17]. Таким образом, высокая активность протеазы *R. miehei* нивелируется ее низким количеством в сырной массе, а высокое количество химозина, перешедшего в сырную массу, компенсирует низкую протеолитическую активность химозина. Результатом этого является установленное в рамках данного эксперимента отсутствие статистически достоверных отличий ($p < 0,05$, по критерию Шеффе) по степени протеолиза между сырами, произведенными с использованием телячьего сычужного фермента (МФ Naturen) и сырами, произведенными с использованием протеазы *R. miehei* (МФ Marzume).

Другой причиной, объясняющей различия по степени протеолиза между вариантами сыров, изготовленными с разными типами МФ, является разная протеолитическая специфичность данных МФ. Сыры, произведенные с МФ микробного происхождения Marzume и сычужным ферментом Naturen, которые характеризовались одинаковой степенью протеолиза (Таблица 1), имели отличия в качественном составе водорастворимых продуктов протеолиза. Графики молекулярно-массового распределения водорастворимых белковых веществ, выделенных из сыров, которые были изготовлены с использованием разных типов МФ приведены на Рисунке 2.



Среди водорастворимых продуктов протеолиза в сырах, произведенных с МФ Marzume и Naturen, содержится примерно равное количество пептидов массой от 5 до 20 кДа, но Marzume образует большее количество пептидов массой < 5 кДа, чем Naturen, а Naturen образует большее количество пептидов массой > 20 кДа, чем Marzume.

Протеаза *R. miehei* способна расщеплять большее количество пептидных связей, в сравнении с химозином [18], и образовывать кроме крупных водорастворимых пептидов также малые пептиды и свободные аминокислоты. Свободные аминокислоты и пептиды с малой молекулярной массой обладают вкусом. Наличие гидрофобных аминокислот в составе пептидов служит причиной формирования их горького вкуса [19]. Пептиды с молекулярной массой свыше 6 кДа, даже содержащие в своем составе гидрофобные аминокислоты, не обладают горьким вкусом [20]. Избыточное накопление в сырах гидрофобных пептидов с молекулярной массой менее 6 кДа является причиной возникновения горького вкуса продукта. Наиболее выраженный горький вкус придают пептиды с молекулярной массой в диапазоне 0,5–3 кДа [21,22]. Гидрофобные пептиды образуются, в частности, при гидролизе бета-казеина. Подобные горькие пептиды были обнаружены в сырах, произведенных с использованием химозина телянка, но отсутствовали в сырах, изготовленных с использованием химозина верблюда [8].

В исследованных сырах степень выраженности горького вкуса была пропорциональна содержанию водорастворимых пептидов с массой 0,5–3 кДа. В сырах с МФ Marzume отмечалась более интенсивная горечь («умеренно выраженный горький вкус»), чем в сырах с МФ Naturen («легкая горчинка»). В сырах, произведенных с МФ Chy-max M, не отмечалось горького вкуса.

Однако оценка протеолиза по количеству водорастворимых продуктов не отражает степень протеолитического действия фермента на белковую матрицу сыра [23].

Молокосвертывающие ферменты расщепляют казеины в основном на крупные фрагменты, часть из которых не являются водорастворимыми. Это подтверждается при исследовании

довании протеолиза сырной массы методом электрофореза, позволяющего выявить наличие в т. ч. нерастворимых продуктов протеолиза [24,25,26].

Протеолиз, осуществляемый МФ, приводит к разрывам связей белковой матрицы сыра и ослаблению ее прочности, но не к появлению большого количества водорастворимых пептидов. При высокой интенсивности протеолиза в сырах из-за разрыва связей в белковой матрице, образующей силовой каркас сыра, происходит потеря связности сырной массы, что внешне проявляется в пластификации консистенции (излишне пластичная, вязкая, мажущаяся консистенция). Связь между протеолизом и структурой сырной массы подтверждается результатами исследований микроструктуры сыров, произведенных с использованием МФ разного типа [1,27,28].

3.2.3. Микроструктура

Фотоснимки, отображающие типичный вид микроструктуры сыров, произведенных с применением МФ разного типа, в начале и конце срока хранения, представлены на Рисунке 3.

Свежие сыры, произведенные с применением МФ разного типа, не имели отличий в микроструктуре. Свежие сыры обладали неоднородной структурой, состоящей из отдельных зерен, разделенных отчетливыми границами, с наличием пустот, которые заполнены влагой или пузырьками воздуха. На Рисунке 3.1 для примера приведен микропрепарат, типичный для свежего сыра «Любительский». В течение срока хранения сыра под действием протеолиза происходит гидратация белков сырной массы. Влага, содержащаяся в граничном слое между зёрнами, поглощается белковой

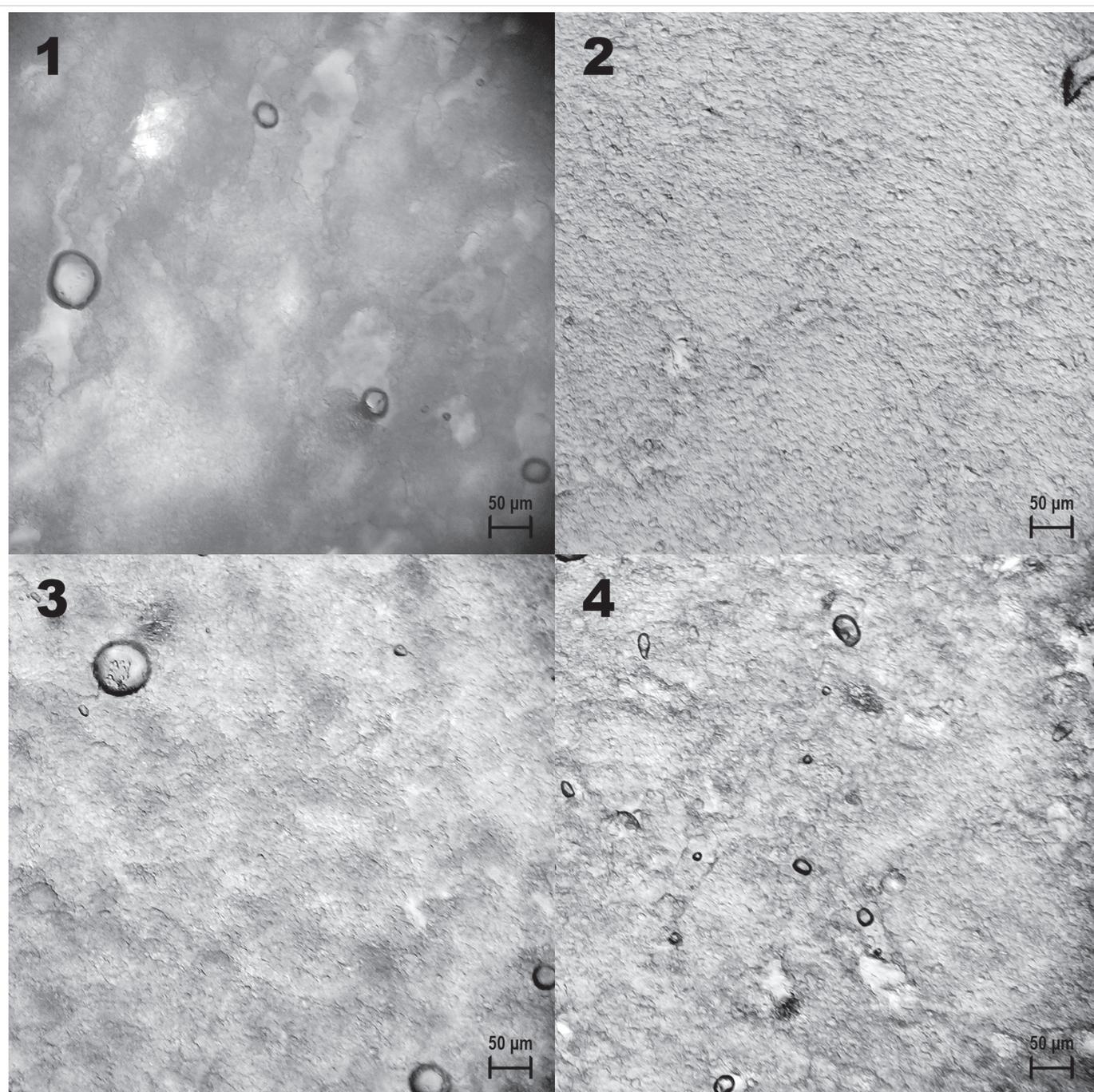


Рисунок 3. Микроструктура образцов сыра «Любительский», произведенных с использованием разных типов МФ: 1 — типичный вид для свежих сыров; типичный вид для сыров в конце срока хранения, произведенных с МФ марки: 2 — Marzyme®; 3 — Naturen® Extra; 4 — Chy-max® M

матрицей, В результате чего исчезают границы между зёрнами, формируется однородная структура сыра. Чем выше степень протеолиза в сыре, тем больше изменяется структура сыра с момента начала его созревания и хранения. Сыры с низкой степенью протеолиза характеризуются неоднородной структурой с наличием выраженных границ между сырными зёрнами. Сыры с высокой степенью протеолиза характеризуются более однородной, мелкодисперсной структурой, что связано с исчезновением крупных зёрен в результате их гидратации [1,7,29].

В исследованных образцах сыров в конце срока хранения отмечается зависимость микроструктуры от степени протеолиза. Сыры, произведенные с использованием МФ Chy-max M, которые имели наименьшую степень протеолиза (Таблица 1), обладали наиболее неоднородной структурой, имеющей сходство с микроструктурой свежих сыров (Рисунок 3.4). В имевших более высокую степень протеолиза сырах, изготовленных с применением МФ Marzume и Naturen, присутствовала более мелкодисперсная структура (Рисунки 3.2 и 3.3).

При равной степени протеолиза, сыры, произведенные с использованием МФ Naturen и МФ Marzume (Таблица 1), имели отличия в микроструктуре. Образцы сыров, изготовленные с применением МФ Naturen, имели однородную структуру, что свидетельствует о высокой степени гидратации белков сырной массы, в сравнении с образцами сыров, произведенных с применением МФ Marzume, которые имели менее однородную структуру со следами границ между зёрнами, что говорит о меньшей степени гидратации белков (Рисунки 3.2 и 3.3). Это можно объяснить спецификой расщепления белков телячьим химозином (главным компонентом МФ Naturen), который расщепляет казеины, в т. ч. с образованием нерастворимых продуктов протеолиза. Такой характер протеолиза не приводит к увеличению показателя «степень протеолиза», но сказывается на структуре сырной массы. Различия в микроструктуре привели к различиям в консистенции сыров (см. Рисунок 1).

3.2.4. Реологические показатели

Анализ данных, приведенных в Таблице 1, с помощью метода множественных сравнений Шеффе, показывает, что имеется статистически значимое ($p < 0,05$) влияние типа МФ, использованного при производстве сыров, на величину комплексного модуля сдвига G^* . Показатель G^* отражает суммарную реакцию сырной массы на приложение деформации и наиболее тесно коррелирует с органолептической оценкой консистенции. Сыры, имеющие твердую, упругую консистенцию, характеризуются высоким уровнем G^* , в то время для сыров с мягкой, пластичной консистенцией характерны низкие значения G^* [30,31].

Отмеченные различия по величине G^* между исследованными вариантами сыров подтверждают различия

в консистенции данных вариантов сыров, установленные органолептической оценкой. Сыры, произведенные с использованием МФ Chy-max M, характеризовались статистически достоверно более высоким уровнем G^* , чем сыры, изготовленные с применением МФ Marzume и Naturen, которые не имели статистически достоверных отличий по величине G^* ($p < 0,05$, по критерию Шеффе). Консистенция сыров, произведенных с применением МФ Marzume, характеризовалась как «мажущаяся, пластичная», с МФ Naturen — «нежная, мажущаяся, вязкая, липнущая к ножу при разрезании», с МФ Chy-max M — «в меру плотная, неоднородная, слегка мучнистая».

4. Заключение

На основании полученных данных можно сделать следующие выводы:

- 1) МФ разного типа (животного, микробного происхождения или рекомбинантные) обладают разным уровнем протеолитической активности и отличаются по специфике протеолитического действия, что приводит к получению разной степени протеолиза и отличающегося качественного состава продуктов протеолиза в конце срока хранения в сырах, изготовленных с разными типами МФ.
- 2) Чем выше уровень неспецифической ПА у МФ, применяемого в производстве сыров, тем выше степень протеолиза в сыре. Вследствие протеолиза, производимого МФ, происходит разрушение связей в белковой матрице, образующей силовую каркас сыра, в результате чего консистенция сыров становится менее упругой и более пластичной. Среди продуктов протеолиза, образуемых МФ на основе микробных протеаз, присутствуют продукты свободные аминокислоты и пептиды с малым молекулярным весом (<5 кДа), которые придают вкус сыру, в т. ч. и горький привкус. Химозин верблюда, обладающий уровнем неспецифической ПА в ~7 раз меньшим, чем у телячьего сычужного фермента, и в ~50 раз меньшим, чем у протеазы *R. miehei*, производит в сырах наиболее низкий уровень протеолиза среди исследованных МФ.
- 3) Использование при производстве мягких сыров МФ на основе рекомбинантного химозина верблюда позволяет увеличить срок хранения сыров за счет длительного сохранения кондиционной консистенции и вкуса без образования порока горечи. МФ микробного происхождения на основе протеазы *R. miehei*, в сравнении с телячьим сычужным ферментом, производит такой же протеолиз и обеспечивает равную продолжительность срока хранения сыров. При производстве мягких сыров МФ микробного происхождения могут служить экономически обоснованной заменой дорогостоящему сычужному ферменту.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Soodam, K., Ong, L., Powell, I. B., Kentish, S. E., Gras, S. L. (2015). Effect of rennet on the composition, proteolysis and microstructure of reduced-fat cheddar cheese during ripening. *Dairy Science and Technology*, 95(5), 665–686. <https://doi.org/10.1007/s13594-015-0250-5>
2. Johnson, M., Law, B.A. (2010). The origins, development and basic operations of cheesemaking technology. Chapter in a book: *Technology of cheesemaking*. (ed. Law B. A., Tamime A. Y.), 2nd Ed. Chichester: Blackwell Publishing Ltd. 2010.
3. Alinovi, M., Cordioli, M., Francolino, S., Locci, F., Ghiglietti, R., Monti, L. et al. (2018). Effect of fermentation-produced camel chymosin on quality of crescenza cheese. *International Dairy Journal*, 84, 72–78. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.04.001>
4. McCarthy, C.M., Wilkinson, M.G., Guinee, T.P. (2017). Effect of coagulant type and level on the properties of half-salt, half-fat Cheddar cheese made with or without adjunct starter: improving texture and functionality. *International Dairy Journal*, 75, 30–40. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2017.07.006>
5. Soltani, M., Sahingil, D., Gokce, Y., Hayaloglu, A. A. (2019). Effect of blends of camel chymosin and microbial rennet (*rhizomucor miehei*) on chemical composition, proteolysis and residual coagulant activity in Iranian Ultrafiltered White cheese. *Journal of Food Science and Technology*, 56(2), 589–598 <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3513-3>
6. Harboe, M., Broe, M. L. Qvist, K.B. (2010). The Production, action and application of rennet and coagulants. Chapter in a book: *Technology of cheesemaking*. (ed. Law B. A., Tamime A. Y.), 2nd Ed. Chichester: Blackwell Publishing Ltd., 2010.
7. Moynihan, A.C., Govindasamy-Lucey, S., Jaeggi, J.J., Johnson, M.E., Lucey, J.A., McSweeney, P.L.H. (2014). Effect of camel chymosin on the tex-

- ture, functionality, and sensory properties of low-moisture, part-skim Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*, 97(1), 85–96. <https://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7081>
8. Bansal, N., Drake, M.A., Piraino, P., Broe, M.L., Harboe, M., Fox, P.F. et al. (2009). Suitability of recombinant camel (*Camelus dromedarius*) chymosin as a coagulant for Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, 19(9), 510–517. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.03.010>
 9. Kuchroo, C.N., Fox, P.F. (1982). Soluble nitrogen in Cheddar cheese: Comparison of extraction procedures. *Milchwissenschaft*, 37, 331–335.
 10. Hayaloglu, A.A. (2007). Comparisons of different single-strain starter cultures for their effects on ripening and grading of Beyaz cheese. *International Journal of Food Science and Technology*, 42(8), 930–938. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01312.x>
 11. 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)
 12. Мягконосов, Д.С., Смыков, И.Т., Абрамов, Д. В., Делицкая, И.Н., Краюшкина, В. Н. (2021). Влияние различных молокосвертывающих ферментов на процесс изготовления мягких сыров. *Пищевые системы*, 4(3), 204–212. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-3-204-212>
 13. Тюрин Ю. Н., Макаров А. А. (1998). Статистический анализ данных на компьютере. — М.: ИНФРА-М, 1998
 14. Fox, P.F., Guinee, T.P., Cogan, T.M., McSweeney, P.L.H. (2017). Cheese: Enzymatic Coagulation of Milk. Chapter in a book: Fundamentals of Cheese Science, 2nd Ed. New York: Springer, 2017.
 15. Børsting, M.W., Qvist, K.B., Ardö, Y. (2014). Influence of pH on retention of camel chymosin in curd. *International Dairy Journal*, 38(2), 133–135. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2014.01.001>
 16. Wilkinson, M.G., Kilcawley, K.N. (2005). Mechanisms of incorporation and release of enzymes into cheese during ripening. *International Dairy Journal*, 15(6–9), 817–830. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.08.021>
 17. Moschopoulou, E. (2017). Microbial milk coagulants. Chapter in a book: Microbial enzyme technology in food applications (ed. Ray R. C., Rosell C. M.). Boca Raton: CRC Press, 2017.
 18. Jaros, D., Rohm, H. (2017). Rennets: Applied Aspects. Chapter in a book: Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. (Ed. by McSweeney, P.L.H., Fox, P.F., Cotter, P.D. and David W. Everett), 4th Ed. — Vol. 1. Elsevier: Academic Press, 2017.
 19. Lemieux, L., Simard, R.E. (1991). Bitter flavour in dairy products. I. A review of the factors likely to influence its development, mainly in cheese manufacture. *Lait*, 71(6), 599–636.
 20. Lemieux, L., Simard, R.E. (1992). Bitter flavour in dairy products. II. A review of bitter peptides from caseins: their formation, isolation and identification, structure masking and inhibition. *Lait*, 72(4), 335–385.
 21. Lee, K.-P. D., Warthesen, J.J. (1996). Preparative Methods of Isolating Bitter Peptides from Cheddar Cheese. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(4), 1058–1063. <https://doi.org/10.1021/jf950521j>
 22. Lee, K. D, Lo, C. G, Warthesen, J. J. (1996). Removal of bitterness from the bitter peptides extracted from cheddar cheese with peptidases from *Lactococcus lactis* sp. cremoris SK11. *Journal of Dairy Science*, 79(9), 1521–1528. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(96\)76512-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76512-8)
 23. Madadlou, A., Khosroshahi, A., Mousavi, M.E. (2005). Rheology, microstructure, and functionality of low-fat Iranian White cheese made with different concentrations of rennet. *Journal of Dairy Science*, 88(9), 3052–3062. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72986-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72986-6)
 24. Sheehan, J. J., O'Sullivan, K., Guinee, T. P. (2004). Effect of coagulant type and storage temperature on the functionality of reduced-fat mozzarella cheese. *Lait*, 84(6), 551–566. <https://doi.org/10.1051/lait:2004031>
 25. Yasar, K., Guzeler, N. (2011). Effects of coagulant type on the physicochemical and organoleptic properties of Kashar cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 64(5), 372–379. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2011.00679.x>
 26. García, V., Rovira, S., Teruel, R., Boutoal, K., Rodríguez, J., Roa, I. et al. (2012). Effect of vegetable coagulant, microbial coagulant and calf rennet on physicochemical, proteolysis, sensory and texture profiles of fresh goats cheese. *Dairy Science and Technology*, 92(6), 691–707. <https://doi.org/10.1007/s13594-012-0086-1>
 27. Soltani M., Boran O. S., Hayaloglu A. A. (2016). Effect of various blends of camel chymosin and microbial rennet (*Rhizomucor miehei*) on microstructure and rheological properties of Iranian UF White cheese. *LWT – Food Science and Technology*, 68, 724–728. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.01.028>
 28. Karami, M., Ehsani, M.R., Mousavi, S.M., Rezaei, K., Safari, M. (2009). Changes in the rheological properties of Iranian UF-Feta cheese during ripening. *Food Chemistry*, 112(3), 539–544. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.003>
 29. Jacob, M., Jaros, D., Rohm, H. (2010). The effect of coagulant type on yield and sensory properties of semihard cheese from laboratory-, pilot- and commercial-scale productions. *International Journal of Dairy Technology*, 63(5), 370–380. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2010.00598.x>
 30. Gunasekaran, S., Ak, M.M. (2000). Dynamic oscillatory shear testing of foods – selected applications. *Trends in Food Science and Technology*, 11(3), 115–127. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(00\)00058-3](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(00)00058-3)
 31. Piska I., Stětina J. (2004). Influence of cheese ripening and rate of cooling of the processed cheese mixture on rheological properties of processed cheese. *Journal of Food Engineering*, 61(4), 551–555. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(03\)00217-6](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(03)00217-6)

REFERENCES

1. Soodam, K., Ong, L., Powell, I. B., Kentish, S. E., Gras, S. L. (2015). Effect of rennet on the composition, proteolysis and microstructure of reduced-fat cheddar cheese during ripening. *Dairy Science and Technology*, 95(5), 665–686. <https://doi.org/10.1007/s13594-015-0250-5>
2. Johnson, M., Law, B.A. (2010). The origins, development and basic operations of cheesemaking technology. Chapter in a book: Technology of cheesemaking. (ed. Law B. A., Tamime A. Y.), 2nd Ed. Chichester: Blackwell Publishing Ltd, 2010.
3. Alinovi, M., Cordioli, M., Francolino, S., Locci, F., Ghiglietti, R., Monti, L. et al. (2018). Effect of fermentation-produced camel chymosin on quality of crescenza cheese. *International Dairy Journal*, 84, 72–78. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2018.04.001>
4. McCarthy, C.M., Wilkinson, M.G., Guinee, T.P. (2017). Effect of coagulant type and level on the properties of half-salt, half-fat Cheddar cheese made with or without adjunct starter: improving texture and functionality. *International Dairy Journal*, 75, 30–40. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2017.07.006>
5. Soltani, M., Sahingil, D., Gokce, Y., Hayaloglu, A. A. (2019). Effect of blends of camel chymosin and microbial rennet (*rhizomucor miehei*) on chemical composition, proteolysis and residual coagulant activity in Iranian Ultrafiltered White cheese. *Journal of Food Science and Technology*, 56(2), 589–598 <https://doi.org/10.1007/s13197-018-3513-3>
6. Harboe, M., Broe, M. L. Qvist, K.B. (2010). The Production, action and application of rennet and coagulants. Chapter in a book: Technology of cheesemaking. (ed. Law B. A., Tamime A. Y.), 2nd Ed. Chichester: Blackwell Publishing Ltd., 2010.
7. Moynihan, A.C., Govindasamy-Lucey, S., Jaeggi, J.J., Johnson, M.E., Lucey, J.A., McSweeney, P.L.H. (2014). Effect of camel chymosin on the texture, functionality, and sensory properties of low-moisture, part-skim Mozzarella cheese. *Journal of Dairy Science*, 97(1), 85–96. <https://dx.doi.org/10.3168/jds.2013-7081>
8. Bansal, N., Drake, M.A., Piraino, P., Broe, M.L., Harboe, M., Fox, P.F. et al. (2009). Suitability of recombinant camel (*Camelus dromedarius*) chymosin as a coagulant for Cheddar cheese. *International Dairy Journal*, 19(9), 510–517. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2009.03.010>
9. Kuchroo, C.N., Fox, P.F. (1982). Soluble nitrogen in Cheddar cheese: Comparison of extraction procedures. *Milchwissenschaft*, 37, 331–335.
10. Hayaloglu, A.A. (2007). Comparisons of different single-strain starter cultures for their effects on ripening and grading of Beyaz cheese. *International Journal of Food Science and Technology*, 42(8), 930–938. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2006.01312.x>
11. 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)
12. Myagkonosov, D.S., Smykov, I.T., Abramov, D.V., Delitskaya, I.N., Krayushkina, V. N. (2021). Influence of different milk-clotting enzymes on the process of producing soft cheeses. *Food systems*, 3(4), 204–212. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-3-204-212> (In Russian)
13. Tyurin, Yu. N., Makarov, A.A. (1998). Statistical analysis of data on a computer. (Ed. by Figurnov V. E.). Moscow: INFRA-M, 1998. (In Russian)
14. Fox, P.F., Guinee, T.P., Cogan, T.M., McSweeney, P.L.H. (2017). Cheese: Enzymatic Coagulation of Milk. Chapter in a book: Fundamentals of Cheese Science, 2nd Ed. New York: Springer, 2017.
15. Børsting, M.W., Qvist, K.B., Ardö, Y. (2014). Influence of pH on retention of camel chymosin in curd. *International Dairy Journal*, 38(2), 133–135. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2014.01.001>
16. Wilkinson, M.G., Kilcawley, K.N. (2005). Mechanisms of incorporation and release of enzymes into cheese during ripening. *International Dairy Journal*, 15(6–9), 817–830. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2004.08.021>
17. Moschopoulou, E. (2017). Microbial milk coagulants. Chapter in a book: Microbial enzyme technology in food applications (ed. Ray R. C., Rosell C. M.). Boca Raton: CRC Press, 2017.
18. Jaros, D., Rohm, H. (2017). Rennets: Applied Aspects. Chapter in a book: Cheese: Chemistry, Physics and Microbiology. (Ed. by McSweeney, P.L.H., Fox, P.F., Cotter, P.D. and David W. Everett), 4th Ed. — Vol. 1. Elsevier: Academic Press, 2017.
19. Lemieux, L., Simard, R.E. (1991). Bitter flavour in dairy products. I. A review of the factors likely to influence its development, mainly in cheese manufacture. *Lait*, 71(6), 599–636.
20. Lemieux, L., Simard, R.E. (1992). Bitter flavour in dairy products. II. A review of bitter peptides from caseins: their formation, isolation and identification, structure masking and inhibition. *Lait*, 72(4), 335–385.
21. Lee, K.-P. D., Warthesen, J.J. (1996). Preparative Methods of Isolating Bitter Peptides from Cheddar Cheese. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(4), 1058–1063. <https://doi.org/10.1021/jf950521j>

22. Lee, K. D., Lo, C. G., Warthesen, J. J. (1996). Removal of bitterness from the bitter peptides extracted from cheddar cheese with peptidases from *Lactococcus lactis* sp. cremoris SK11. *Journal of Dairy Science*, 79(9), 1521–1528. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(96\)76512-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(96)76512-8)
23. Madadlou, A., Khosroshahi, A., Mousavi, M.E. (2005). Rheology, microstructure, and functionality of low-fat Iranian White cheese made with different concentrations of rennet. *Journal of Dairy Science*, 88(9), 3052–3062. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(05\)72986-6](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(05)72986-6)
24. Sheehan, J. J., O'Sullivan, K., Guinee, T. P. (2004). Effect of coagulant type and storage temperature on the functionality of reduced-fat mozzarella cheese. *Lait*, 84(6), 551–566. <https://doi.org/10.1051/lait:2004031>
25. Yasar, K., Guzeler, N. (2011). Effects of coagulant type on the physicochemical and organoleptic properties of Kashar cheese. *International Journal of Dairy Technology*, 64(3), 372–379. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2011.00679.x>
26. García, V., Rovira, S., Teruel, R., Boutoia, K., Rodríguez, J., Roa, I. et al. (2012). Effect of vegetable coagulant, microbial coagulant and calf rennet on physicochemical, proteolysis, sensory and texture profiles of fresh goats cheese. *Dairy Science and Technology*, 92(6), 691–707. <https://doi.org/10.1007/s13594-012-0086-1>
27. Soltani M., Boran O. S., Hayaloglu A. A. (2016). Effect of various blends of camel chymosin and microbial rennet (*Rhizomucor miehei*) on microstructure and rheological properties of Iranian UF White cheese. *LWT — Food Science and Technology*, 68, 724–728. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.01.028>
28. Karami, M., Ehsani, M.R., Mousavi, S.M., Rezaei, K., Safari, M. (2009). Changes in the rheological properties of Iranian UF-Feta cheese during ripening. *Food Chemistry*, 112(3), 539–544. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.06.003>
29. Jacob, M., Jaros, D., Rohm, H. (2010). The effect of coagulant type on yield and sensory properties of semihard cheese from laboratory-, pilot- and commercial-scale productions. *International Journal of Dairy Technology*, 63(3), 370–380. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2010.00598.x>
30. Gunasekaran, S., Ak, M.M. (2000). Dynamic oscillatory shear testing of foods — selected applications. *Trends in Food science and Technology*, 11(3), 115–127. [https://doi.org/10.1016/S0924-2244\(00\)00058-3](https://doi.org/10.1016/S0924-2244(00)00058-3)
31. Piska I., Štětina J. (2004). Influence of cheese ripening and rate of cooling of the processed cheese mixture on rheological properties of processed cheese. *Journal of Food Engineering*, 61(4), 551–555. [https://doi.org/10.1016/S0260-8774\(03\)00217-6](https://doi.org/10.1016/S0260-8774(03)00217-6)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p>Мягконов Дмитрий Сергеевич — кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник, заведующий отделом прикладной биохимии и экзимологии, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, г. Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-915-973-63-13 E-mail: mds-mail@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4443-7573 * автор для контактов</p>	<p>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 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-915-973-63-13 E-mail: mds-mail@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-4443-7573 * corresponding author</p>
<p>Смыков Игорь Тимофеевич — доктор технических наук, главный научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, г. Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-48532-9-81-21 E-mail: i_smykov@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5663-3662</p>	<p>Igor T. Smykov, Doctor of Technical Sciences, Chief Research Scientist, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-48532-9-81-21 E-mail: i_smykov@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5663-3662</p>
<p>Абрамов Дмитрий Васильевич — кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, руководитель направления биохимических исследований по сыроделию и маслоделию, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, г. Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-910-970-42-97 E-mail: uglich.dva@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8326-1932</p>	<p>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 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-910-970-42-97 E-mail: uglich.dva@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8326-1932</p>
<p>Делицкая Ирина Николаевна — кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник, отдел сыроделия, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, г. Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-48532-98-1-28 E-mail: irina_delickaya@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3587-4050</p>	<p>Irina N. Delitskaya, Candidate of Technical Sciences, Leading Researcher, Department of Cheesemaking, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-48532-98-1-28 E-mail: irina_delickaya@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3587-4050</p>
<p>Овчинникова Елена Григорьевна — научный сотрудник, отдел биохимии, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 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</p>	<p>Elena G. Ovchinnikova, Researcher, Department of Biochemistry, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 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</p>
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

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-4-294-307>

Поступила 09.11.2021

Поступила после рецензирования 08.12.2021

Принята в печать 25.12.2021

© Канина К. А., Жижин Н. А., Каракулова Е. А., Атанасов П. Р., 2021

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

Научная статья

Open access

РЕЗУЛЬТАТЫ КОМПЛЕКСНОЙ ОЦЕНКИ СЫРА ТИПА БРЫНЗЫ И ПОБОЧНОГО СЫРЬЯ — МОЛОЧНОЙ СЫВОРОТКИ, С ПРИМЕНЕНИЕМ ФЕРМЕНТА МТГ И ЕГО СТЕПЕНИ АКТИВНОСТИ В ПРОЦЕССЕ ХРАНЕНИЯ

Канина К. А.^{1*}, Жижин Н. А.², Каракулова Е. А.¹, Атанасов П. Р.¹¹ Российский государственный аграрный университет —
Московская сельскохозяйственная академия имени К. А. Тимирязева, Москва, Россия² Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности», Москва, Россия**КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:***сыр брынза, коровье и козье
молоко, активность фермента,
микробная транглутаминаза
(мТГ), подсырная сыворотка***АННОТАЦИЯ**

В статье рассматривается вопрос применения фермента микробной транглутаминазы (мТГ) для производства сыров типа брынзы. Микробная транглутаминаза относится к семейству ферментов катализирующих образование связей между аминокетильными группами. Одной из проблем при производстве высокобелковых продуктов, в частности сыров из козьего молока является дряблость ступка. Использование мТГ в технологическом процессе позволило бы укрепить белковый матрикс продукта, тем самым улучшить его товарные характеристики. При проведении гистологических исследований сыров, которые характеризуют состояние белкового матрикса, с применением данного вида фермента установлено, что белковая структура продукта более сжата, что влияет на консистенцию сыров по сравнению с контрольными образцами (без применения мТГ). Консистенция становится резиновой, что плохо отражается на органолептической оценке продукта, которая является важной характеристикой при приобретении продукта покупателем. С помощью текстурного анализатора фирмы Brookfield показано, что структурно-механические характеристики с применением мТГ улучшились для образцов сыра выработанного из коровьего молока в 1,5 раза, тогда как для козьего сыра в 2 раза. Анализ каталитической активности фермента показал, что данный фермент сохраняет свою активность в течение всего срока хранения сыра, что несет потенциальную опасность для здоровья человека. По истечению срока хранения продукта установлено, что изменение активности фермента мТГ, составило не более 5% относительно исходных показателей. Активность фермента сохраняется не только в сыре, но и в побочном сырье — подсырной сыворотке, что в дальнейшем затрудняет ее переработку.

Received 09.11.2021

Accepted in revised 08.12.2021

Accepted for publication 25.12.2021

© Kanina K. A., Zhizhin N. A., Karakulova E. A., Atanasov P. R., 2021

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

Original scientific article

Open access

RESULTS OF THE COMPLEX EVALUATION OF BRYNDZA CHEESE AND THE BY-PRODUCT MILK WHEY WITH THE USE OF ENZYME MTG AND ITS ACTIVITY DEGREE DURING STORAGE

Ksenia A. Kanina^{1*}, Nikolay A. Zhizhin², Ekaterina A. Karakulova, Peter R. Atanasov¹¹ Russian State Agrarian University — Moscow Timiryazev Agricultural Academy, Moscow, Russia² All-Russian Research Institute of the Dairy Industry, Moscow, Russia**KEY WORDS:***bryndza cheese, cow and goat
milk, enzyme activity, microbial
transglutaminase (mTG), cheese
whey***ABSTRACT**

The paper examines the question of using the enzyme microbial transglutaminase (mTG) for bryndza cheese production. Microbial transglutaminase belongs to the enzyme family that catalyzes formation of bonds between amino groups. One of the problems in production of high-protein products, in particular, cheeses from goat milk is flabbiness of the clot. The use of mTG in the technological process would allow strengthening the product protein matrix, thereby improving its commercial characteristics. When performing the histological investigation of cheeses with this enzyme type to characterize the state of the protein matrix, the authors established that the product protein structure was more condensed compared to the control samples (without mTG), which affected cheese consistency. Consistency became more rubbery negatively influencing the product sensory properties, which are important traits for a consumer when buying a product. Using a Brookfield texture analyzer, it was shown that structural-mechanical characteristics were improved by 1.5 times for cheese samples produced from

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Канина, К.А., Жижин, Н.А., Каракулова, Е.А., Атанасов, П.Р. (2021). Результаты комплексной оценки сыра типа брынзы и побочного сырья — молочной сыворотки, с применением фермента мТГ и его степени активности в процессе хранения. *Пищевые системы*, 4(4), 294-307. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-4-294-307>

FOR CITATION: Kanina, K.A., Zhizhin, N. A. Karakulova, E.A., Atanasov, P.R. (2021). Results of the complex evaluation of bryndza cheese and the by-product milk whey with the use of enzyme MTG and its activity degree during storage. *Food systems*, 4(4), 294-307. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-4-294-307>

cow milk and by 2 times for goat cheese when mTG was used. Analysis of the enzyme catalytic activity showed that this enzyme retained its activity throughout the whole storage period, which is a potential hazard for human health. After shelf-life expiration, a change in the mTG activity was not more than 5% relative to the initial levels. The enzyme activity retained not only in cheese but also in the by-product — cheese whey, which made its processing more difficult.

1. Введение

Большое значение в питании человека занимают молоко и молочные продукты, они являются источниками различных видов питательных веществ, в том числе незаменимых, которые должны присутствовать в рационе человека. Качество молока-сырья и молочных продуктов зависит от многих факторов, которые стоит учитывать при производстве продуктов. Ведется поиск инновационных подходов по производству молочных продуктов, с целью минимизировать потерю составных частей молока-сырья, при этом сделать процесс экономически выгодным. Так известно, что при производстве сыра в сыворотку переходит около половины сухих веществ молока [1]. Она также обладает высокой биологической ценностью, так как в ней содержатся: минеральные вещества, витамины, ферменты, гормоны, иммунные тела, фосфолипиды, микроэлементы [2]. А сывороточные белки, на долю которых приходится 0,8–0,9%, служат дополнительным источником незаменимых аминокислот (цистин, триптофан и др.) [3]. В связи с этим, дополнительное связывание сывороточных белков, уменьшение потерь общего белка при производстве сыра позволило бы решить проблему перехода сухих веществ в сыворотку, увеличить выход продукта, а также повысить его биологическую ценность. Одним из способов решения этой задачи является применение ферментных препаратов, позволяющих интенсифицировать технологические процессы.

Применение ферментов, которые играют огромную роль при производстве молочных продуктов с целью улучшения качественных характеристик, является актуальным направлением.

Мировой рынок ферментных препаратов в 2019 году оценивают в 9,9 миллион долларов США. По прогнозам, данный сегмент будет и дальше расти на 7,1% с 2020 года по 2027 год. Российский рынок ферментных препаратов недостаточно развит в данном направлении, так как производители отдают свое предпочтение импортным продуктам [4].

Наибольшую популярность получили ферменты, синтезируемые из микроорганизмов: бактерий, грибов и дрожжей. Это связано с тем, они имеют ряд преимуществ перед ферментными препаратами растительного и животного происхождения, а именно: экологичность и высокую активность, доступную очистку; производство легко контролировать; устойчивы при экскретции; разнообразие микроорганизмов способствует производству препаратов с широким диапазоном специфичности; синтез препаратов возможно производить ежегодно [4].

Известно, свыше 2000 различных ферментов, из них около 125 находится в молоко-сырье. Из секреторных клеток молочной железы попадает около 80 ферментов [5]. Ферменты присутствуют в молоке в различных составных частях, так 25 ферментов находится в водной фазе, 56 связаны с белком и оболочкой жировых шариков [6]. Источниками попадания ферментов в молоко является в основном продукты жизнедеятельности микроорганизмов, попадающих экзогенным путем, так и эндогенным. Кроме того, ферменты попадают в молоко из эпителиальных клеток альвеол молочной железы. Ферментный спектр секреторных клеток многообразен, поэтому отмечаются адаптивные изменения активности и свойств ферментов, зависящие от различных процессов

жизнедеятельности живого организма, а также непосредственно от секреторных свойств получения молока-сырья. Продуцируемая ферментативная активность остается неизменной на протяжении долгого времени, в особенности если она получена от бактериальной клетки. Так называемые нативные ферменты выполняют различные функции в молоке сырье: катализируют процессы гликолиза, липолиза, протеолиза и т. д.

Кроме нативных ферментов присутствующих в молоке сырье, существует спектр ферментов, которые важны для технологических процессов производства молочных продуктов. К таким ферментам относятся: как пепсин, химозин, липаза и т. д. Ферментные препараты в молочной промышленности способствуют расширению ассортимента продукции, выводя производство на новый уровень за счет — экономии сырья, ускорения технологии, повышения выхода и качества продукции.

Повышение выхода и качественных характеристик продукта возможно добиться за счет введения фермента микробной трансглутаминазы (mTG), относящейся к подклассу аминотрансфераз [7]. Этот фермент катализирует реакцию переноса между аминокислотной группой лизинового остатка (акцептора ацила) и амидной группы глутаминовых остатков (донора ацила) с модификацией связей изопептидной сшивки [7,8,9,10]. Деамидированием можно получить высокобелковый продукт с улучшенными функциональными свойствами. Известно, что при добавлении к кисломолочным продуктам фермент уменьшает синерезис, тогда как в производстве высокобелковых продуктов приводит к повышению выхода белка. Кроме того, он применяется в мясной промышленности придавая прочность в колбасных изделиях малоценным остаткам мяса выполняя связующую функцию. Трансглутаминазу иногда называют «природным клеем», так как она участвует в процессах: свертываемости крови, синтезе кожи, модификации клеточного матрикса и других процессах. В 1989 году японскими учеными была получена трансглутаминаза из штамма почвенных бактерий *Streptovorticillium mobaraense*, которые в больших количествах синтезируют легко очищаемую TG [11,12,13,14].

В ходе изучения проведенных исследований было выяснено, что на действие фермента оказывают влияние различные факторы среды, в которых протекает реакция. К таким факторам относится: показатель pH в диапазоне от 5–9 и температура от 2 до 55 °C. Именно в этом диапазоне mTG проявляет наибольшую активность, например, а при температуре от 72 °C и выше происходит неполная денатурация белка с остатками пептидных связей [15].

Использование трансглутаминазы применительно для всех молочных продуктов. На основе информационных источников работ зарубежных и отечественных ученых установлено, что использование трансглутаминазы способствует лучшему формированию консистенции продукта. Связывание казеина, обусловленное взаимодействием молока и трансглутаминазы, приводит к уменьшению устойчивости мицелл казеина, образованию сгустка с повышенной прочностью, вязкостью и влагоудерживающей способностью. Это приводит к тому, что с помощью фермента, возможно уменьшить количество вносимого белка и стабилизатора в продукт.

Основными компонентами молока являются белки. Молочные белки отвечают за многие физико-химические свойства продукта, а именно: текстура, вязкость, устойчивость к термической обработке [8,9]. Белками молока являются — казеины (80%) и сывороточные белки (14%). Казеин состоит из трех фракций: α 1- (55%), β - (30%) и κ -казеин (15%). Сывороточные белки состоят из β -лактоглобулина (около 50% от СБ и 12% от всех белков молока), α -лактальбумина (20% от СБ и 3,5% от общего белка), иммуноглобулины [16].

Можно отметить, что наиболее быстрой связывающей способностью с транслугламиназой обладает казеин, имеющий доступную и гибкую четвертичную структуру цепи [17].

В отличие от казеина, в нативной форме у сывороточных белков не происходит реакции связывания, так как в их структуре присутствует большое количество дисульфидных связей, обеспечивающих прочные связи внутри молекулы белка. Для решения этой проблемы необходимо проведение тепловой обработки молока, в которой происходит денатурация белка, т.е. разворачивание белка и снижение количества дисульфидных мостиков. После чего становится возможным образование дополнительных ковалентных связей между сывороточными белками посредством ферментативной реакции, обеспеченной ферментом транслугламиназой.

Еще одним аспектом применения данного фермента может быть использование его в технологии переработки молока различных сельскохозяйственных животных, различающихся фракционным составом белка. Так в козьем молоке содержание сывороточного белка β -лактоглобулина, больше, чем в коровьем, поэтому при выработке сыра из такого молока, белковый матрикс сырного сгустка имеет более дряблую консистенцию. А применение фермента транслугламиназы в технологии сыров из козьего молока позволит получить устойчивый сгусток посредством усиленных связей между белковыми молекулами [18].

При этом существует и множество противоречий, связанных с использованием ТГ в пищевых продуктах. Одним из таких является, проявление аллергии и накопления трансжиров. Образуются новые связи, пищеварительные ферменты не справляются с расщеплением белков [19].

На территории РФ применение микробных ферментных препаратов в пищевой промышленности строго регламентируется в соответствии с ТР ТС 029/2012 «Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств». Использование мТГ решением Таможенного союза 029/2012 «О безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств» запрещено [20]. Известно, что активность ферментов зависит от различных факторов: температуры, pH, скорости протекания реакции и срока хранения продукта.

Целью данной работы является оценка применения фермента мТГ как способа улучшения качественных показателей сыра типа брынзы, изготовленного из козьего и коровьего молока. В том числе анализ экономической эффективности применения данного ферментного препарата.

Так же в связи с тем, что при применении микробной транслугламиназы ограничено за счет возможной остаточной ферментативной активности, будет проведена оценка этого показателя на протяжении срока хранения выработанного продукта. В том числе необходимо исследовать ферментативную активность мТГ в подсырной сыворотке, полученной в ходе технологического процесса, как источника сырья для дальнейшей переработки.

2. Материалы и методы

Исследования проведены на кафедре технологии хранения и переработки продуктов животноводства РГАУ-МСХА им. К. А. Тимирязева совместно со Всероссийским научно-исследовательским институтом молочной промышленности (ВНИМИ).

В качестве объектов исследования использовали молоко от коров черно-пестрой породы, полученное с Зоостанции РГАУ-МСХА им. К. А. Тимирязева и молоко от коз зааненской породы, полученное из фермерского хозяйства «Заповедь» Коломенского района Московской области.

Работа проведена в соответствии со следующей схемой исследования (Рисунок 1).

Для производства сыра использованы: хлорид кальция, сычужный фермент (пепсин) фирмы Hansen и фермент микробного происхождения транслугламиназа, TG-Maxilact» тип TG — B100, активностью в 100 единиц, мезофильная закваска Danisco CHOOZIT MM 101. Молоко подвергалось пастеризации при температуре 72 °С, в течение 20–30 с. Затем его охлаждали и вносили компоненты для выработки сыра типа брынзы. После внесения в молоко компонентов, его оставляли в термостате и наблюдали образование сгустка, при этом контролировали температуру и время свертывания молока. Сыр типа брынзы контрольных образцов свертывание проводили при температуре 33–38 °С. Технологическая особенность введения фермента мТГ при производстве сыра типа брынзы состоит в том, что фермент вводится непосредственно перед сычужным свертыванием молока и оставляется на 30 минут для образования геля при температуре 50 °С. Добавление хлористого кальция производили 40 мг на литр молока в контрольные и опытные образцы. Закваску вносили в соответствии с рекомендациями производителя. Добавление сычужного фермента производили из расчета пробы на крепости сычужного фермента. Посол (сухой) головки сыра осуществляли в течение нескольких дней.

В ходе проведенных исследований изучены следующие показатели.

Органолептические свойства молока:

- органолептические свойства коровьего молока в соответствии с ГОСТ Р 52054–2003 «Молоко коровье сырое. Технические условия» (с Изменениями № 1, 2) [21];
- органолептические свойства козьего молока в соответствии с ГОСТ 32940–2014 «Молоко козье сырое. Технические условия» [22].

Физико-химические показатели молока и сыра типа брынзы:

- титруемая кислотность, °Т — титриметрический метод в соответствии с ГОСТ 3624–92 «Молоко и молочные продукты. Титриметрические методы определения кислотности» [23];
- массовая доля жира, % — с помощью кислотного метода в соответствии с ГОСТ 5867–90 «Молоко и молочные продукты. Методы определения жира» [24];
- массовая доля влаги, % — определение с помощью прибора Чижовой в соответствии с ГОСТ 3626–73 «Молоко и молочные продукты. Методы определения влаги и сухого вещества» (с Изменениями N1,2,3) [25];
- масса сыра, г — путем взвешивания на аналитических весах с точностью до третьего знака

Гистологические показатели сыра (микроструктура сыра) проводили в соответствии со следующей методикой:

1. Подготовка препарата: из середины сыра вырезали кубик 1 см³, фиксировали его в 10%-ном формалине в течение 12–24 часов. Тонкие кусочки фиксированного и промытого препарата толщиной не более 0,5 см помещали в 12,5% раствор желатина на 6 ч, потом в 25% на 12 часов (при



Рисунок 1. Схема исследования

37 °С). Пропитанные кусочки помещали в часовые стекла, заливали желатином и быстро охлаждали на поверхности холодной воды в сосуде. Из застывшего желатина вырезали залитые кусочки и уплотняли в 20%-ном растворе формалина в течение 6 ч. Такие блоки хранили в 10%-ном формалине. После 10-минутной промывки уплотненные блоки разрезали на замораживающем микротоме.

2. Окрашивание: раствор гематоксилина-судана III окрашивает ядра клеток, некоторые белковые структуры и отложения фосфорнокислого кальция в темно-синий и голубой цвет. Полученные срезы (толщиной 10–20 мкм) из воды переносили на 2 мин в 50% спирт, а затем на 10 мин в насыщенный раствор судана III. Срезы ополаскивали дистиллированной водой и переносили на 5–10 мин в гематоксин Майера. Окрашенный срез помещали на предметное стекло, заливали каплей расплавленного глицерин-желатина и накрывали покровным стеклом. После застывания желатина препарат готов для исследования [26].

Структурно-механические показатели сыра типа брынзы определяли с помощью прибора фирмы Brookfield.

Для проведения исследования были установлены следующие параметры измерений: нагрузка — 5 г; скорость зонда — 2,5 мм/с; глубина погружения — 15 мм. В ходе проведения анализа измеряется усилие, которое необходимо произвести для деформации, вплоть до заданного момента окончания исследования. Заданная нагрузка, деформирует испытуемый образец, при этом производится измерение значения величины этой нагрузки. Измерение проводилось в трех точках (погружение зонда) [27].

В сыворотке определяли следующие показатели:

- массовая доля белка, % — с помощью прибора фирмы Kjeltac 8100 [28];
- массовая доля жира, % — с помощью кислотного метода в соответствии с ГОСТ 5867–90 «Молоко и молочные продукты. Методы определения жира» [29].

Определение пептидного состава проводили методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЖЭХ) по обращено-фазовому механизму разделения аналитов [30]. Для исследования пептидного состава образцов была подобрана хроматографическая колонка, отвечающая поставленным требованиям. В этом качестве была использована колонка ReproSil-Pur 300 ODS-3.5мкм, 250×4,6 мм. С химически привитой октодецилсалонольной фазой способной удерживать белки за счет гидрофобных связей и размером пор 300 Å позволяющим пептидам полноценно связываться с неподвижной фазой.

Разделение проводили при помощи хроматографической системы «Маэстро» (Россия) оборудованной двумя насосами и динамическим смесителем, которые позволяют проводить градиентное элюирование аналитов в программируемом составе подвижной фазы. В качестве компонентов подвижной фазы использованы бидистиллированная вода с добавлением в качестве ион-парного реагента трифторуксусной кислоты (ТФУ) в количестве 0,1% по объему и ацетонитрила, как органического растворителя также с добавкой ТФУ 0,1% по объему. Анализ образцов проводили при комнатной температуре со скоростью потока подвижной фазы 1мл/мин. Объем вводимой пробы составил 20 мкл. Долю ацетонитрила в процессе проведения анализа увеличивали с 5% до 60% в течение 30 мин. Обнаружение проводили при 214 нм с использованием спектрофотометрического детектора.

Объем сыворотки, мл, определяли мерным цилиндром. Определение каталитической активности фермента мТГ проводили с помощью набора фирмы «Хема», в сырах с помощью иммуноферментативного анализа (ИФА). В данной тест-системе используется принцип двухсайтового (сэндвич) иммуноферментативного анализа. Методика определения мТГ: проводили измельчение образцов до образования однородной массы. Экстракция микробной

транслугтаминазы из образца проводилась путем смешивания пробы с буфером для экстракции в соотношении 1:5. Далее проводили инкубирование в течение 15 мин при температуре 20–25 °С при периодическом встряхивании 400–600 об/мин. Затем проводили центрифугирование экстрактов при 10000g в течение 10 мин для удаления нерастворимых частиц и жира. Отбирали насадочную жидкость в чистую пробирку. Проводили разбавление экстракта в 2 раза ИФА-Буфером. Определение проводили при оптической плотности на планшетном фотометре для иммуноферментного анализа Ledetect 96 при длине волны 450 нм [31].

Анализ статистических данных проведен в трех проворностях, с применением пакета программ Excel-2011. Статистическое оценивание результатов проводили с помощью критерия Стьюдента и метода алгебраического анализа.

В дегустационной оценке образцов принимали участие эксперты технологического факультета.

Оценивание образцов проводилось по 5-ти балльной системе. Для обработки органолептических показателей применен алгебраический подход, в ходе которого рассчитаны следующие показатели: среднее арифметическое, средние геометрическое и нечеткая мера сходства.

3. Результаты и обсуждение

Качество производимого продукта находится в прямой зависимости от показателей молочного сырья, а именно физико-химических, органолептических и технологических показателей.

При органолептической оценке козьего и коровьего молока вкус и запах свойственны для данного вида животного, однако специфичность козьего молока была обусловлена содержанием в нем летучих жирных кислот. Консистенция молока однородная без слизи не тягучая, хлопьев и осадков.

Проведены исследования физико-химических показателей козьего и коровьего молока, результаты, которых представлены в Таблице 1.

Таблица 1

Физико-химические показатели коровьего и козьего молока

Показатели	Вид молока	
	Коровье	Козье
Массовая доля, %:		
– жира	3,35 ± 0,13	4,2 ± 0,05
– белка	3,08 ± 0,02	3,04 ± 0,02
– СОМО	8,1 ± 0,07	8,4 ± 0,03
Кислотность, °Т	16,0 ± 0,5	22,0 ± 0,7
Плотность, кг/м ³	1027,5 ± 0,5	1028,4 ± 0,5

Анализ полученных данных свидетельствует о том, что козье молоко отличается более высокими показателями содержания жира, на 0,85% выше, чем в коровьем молоке. Жир — является одним из важных показателей, так как он определяет пищевую ценность, консистенцию, структуру и вкус. В исследуемом молоке содержание жира для коровьего составило 3,35%, а для козьего молока — 4,2%; жировые частицы представлены более мелкими по размеру по сравнению с коровьим молоком (Рисунок 2). Также в нем отмечено, более высокое содержание белка 0,24%. Белок является одним из определяющих показателей питательной ценности и технологические свойства продукта. Содержание белка в коровьем молоке составило 3,08% и козьем 3,04%. Это достаточно высокие показатели, что характеризует данное сырье качественным и пригодным для производства сыра.

На плотность оказывает влияние содержание компонентов молока, так при повышении содержания жира плотность снижается, а при увеличении лактозы, белка и солей — повышается [32]. Относительно большая плотность наблюдалась у козьего молока.

После выработке опытных и контрольных образцов сыра, изучены их физико-химические показатели и выход. Полученные данные представлены в Таблице 2.

Таблица 2

Физико-химические показатели сыра типа брынзы

Показатели	Сыр — брынза из молока			
	Контроль коровье	Коровье + ТГ	Контроль козье	Козье + ТГ
Масса сыра, г	526,8 ± 19,16	647,2 ± 27,84	507,6 ± 20,07	629,4 ± 25,69
Массовая доля, %:				
– влаги	55,0 ± 1,00	55 ± 2,00	56 ± 1,00	56 ± 0,08
– жира	21,10 ± 0,25	21,76 ± 0,15	21,98 ± 0,20	21,80 ± 0,30
– белка	18,70 ± 0,37	19,05 ± 0,29	19,90 ± 0,15	20,10 ± 0,21

Примечание: Здесь и далее разность показателей достоверна: P ≤ 0,05.

При исследовании физико-химических показателей сыра, выработанного из коровьего и козьего молока, необходимо отметить, что при применении мТГ изменились показатели содержания общего белка, жира и влаги, что является следствием действия фермента мТГ, который приводит к образованию связи между глутамином и ε-аминой группой лизина, создавая ковалентные связи, при этом способствуя более прочной шивке белка, что в итоге снижает интенсивность синерезиса.

Кроме того, исследована молочная сыворотка, полученная в ходе выработки контрольных и опытных образцов сыров; изучены ее физико-химические показатели (Таблица 3).

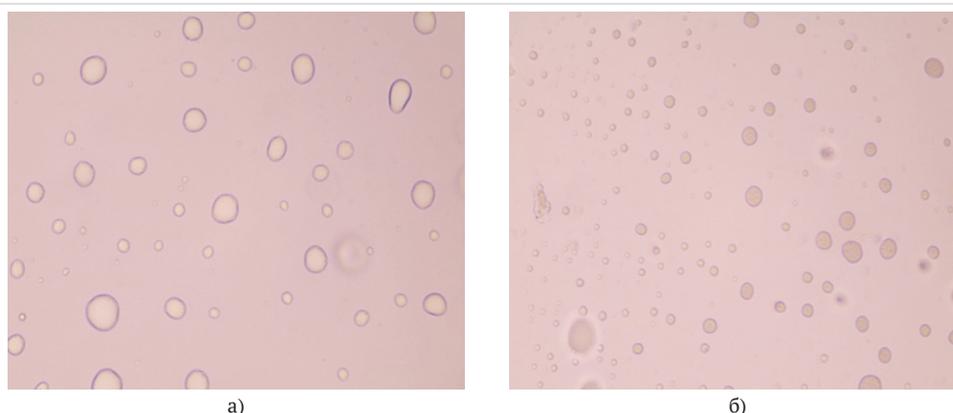


Рисунок 2. Жировые частицы: а) коровьего молока, б) козьего молока (увеличение 600 раз)

Таблица 3

Физико-химические показатели подсырной сыворотки

Показатель	Вид сыворотки			
	Коровье контроль	Коровье + ТГ	Козье контроль	Козье + ТГ
Количество сыворотки, мл	1800±3,02	1650±1,97	1950±4,19	1450±5,29
Массовая доля жира, %	0,55±0,19	0,35±0,14	0,60±0,17	0,40±0,13
Массовая доля белка, %	0,77±0,24	0,35±0,25	0,96±0,23	0,57±0,16
Кислотность, °Т	16±1,08	20±2,16	23±2,16	26±3,71
Плотность, кг/м ³	1022,5±0,001	1021,5 ±0,001	1023,5±0,001	1023,0±0,001

Как видно из таблицы, наибольшие потери белков и жира наблюдались у контрольных образцов.

На основе полученных данных можно сделать вывод о том, что изменение молочных сгустков в сыре под действием фермента трансглутаминазы приводит к снижению интенсивности синергизиса, а также уменьшению потери белка и жира в сыворотку.

По внешнему виду сыворотка (Рисунок 3, а, б) с применением мТГ имеет ярко-желтый цвет, в ней находится меньше белков из-за этого практически отсутствует осадок.

При анализе данных пептидного состава сыворотки (Рисунки 4,5,6,7), полученные в ходе выработки сыра-брынзы из коровьего молока с применением мТГ, установлено, что наблюдается уменьшение количества сывороточных белков: на 23% — альбумина, на 11% β-лактоглобулина. В подсырной сыворотке из козьего молока, получены следующие показатели: содержание альбумина снизилось на 8%, а β-лактоглобулина на 4,4%, при этом наблюдалось увеличение выхода сыра: на 18,7% из коровьего и 19,5% козьего молока, соответственно.

Одной из важнейшей характеристик сыра является консистенция, обуславливаемая совокупностью реологических (структурно-механических) и адгезионных свойств продукта [32].

Исследование консистенции продукта характеризуют структурообразующие свойства продукта. Полученные данные отображены в Таблице 4.

В процессе исследования образцов сыра-брынзы по реологическим характеристикам (СМХ), выработанного из коровьего молока установлено, что пенетрационное давление и работа разрушения составили, соответственно — 130,5 г/см² и 9,48 мДж (для контрольного образца из коровьего молока) и 207,5 г/см² и 12,70 мДж (для опытного образца с применением мТГ), т. е показатели улучшились в 1,5 раза;

Аналогичные исследования образца, выработанного из козьего молока, установили следующие показатели: 146,5 г/см² и 18,5 мДж (для контрольного образца из козьего молока); 288,0 г/см² и 18,54 (для опытного образца с применением трансглутаминазы, т. е показатели улучшились в 2 раза.

Таким образом, анализ изменения реологических характеристик контрольного и опытного образцов сыра показал зависимость от присутствия мТГ, что говорит об улучшении консистенции (повышении прочности) за счет образования дополнительных связей.

Микроструктура сыров формируется под влиянием процессов его изготовления и созревания, а также определяет их качественные характеристики. С ней тесно связаны его вязкость и пластичность.

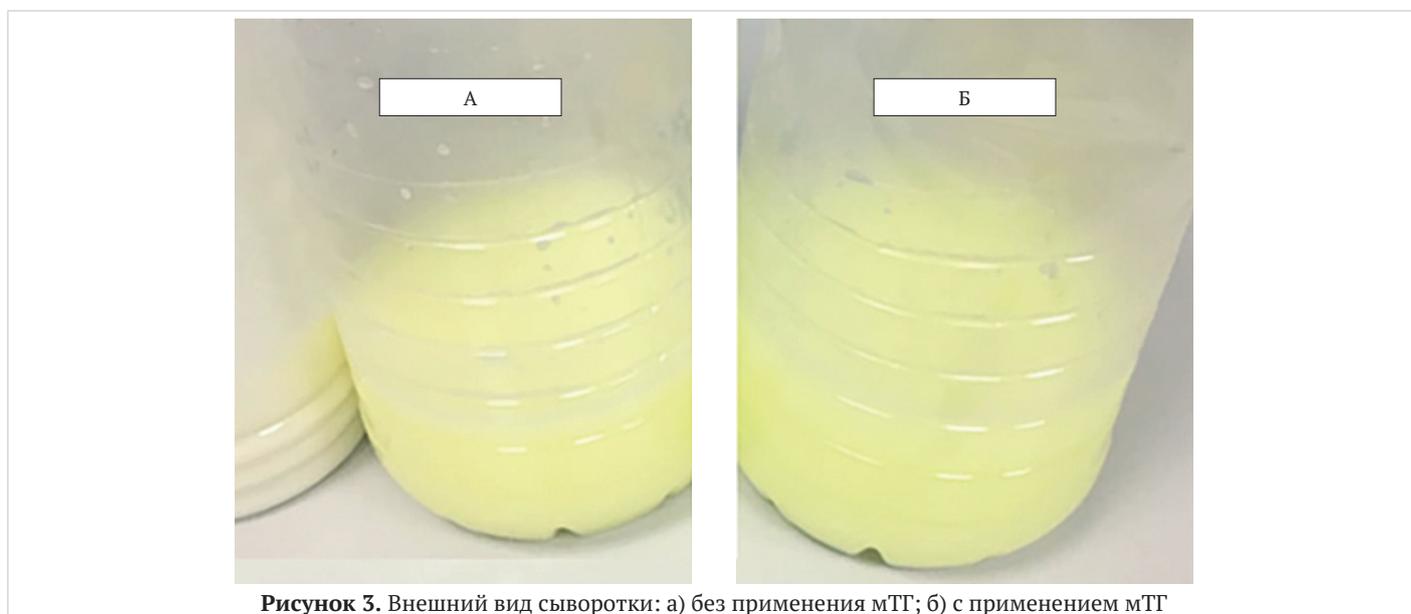


Рисунок 3. Внешний вид сыворотки: а) без применения мТГ; б) с применением мТГ

Таблица 4

Определение структурно-механических свойств сыра типа брынзы

Показатель	Контроль (коровье молоко)	Коровье молоко + ТГ	Контроль (козье молоко)	Козье молоко + ТГ
Пенетрационное давление, г	130,5±29	207,5±32	146,5±35	288,0±21
Работа разрушения, мДж	9,48	12,70	8,36	18,54

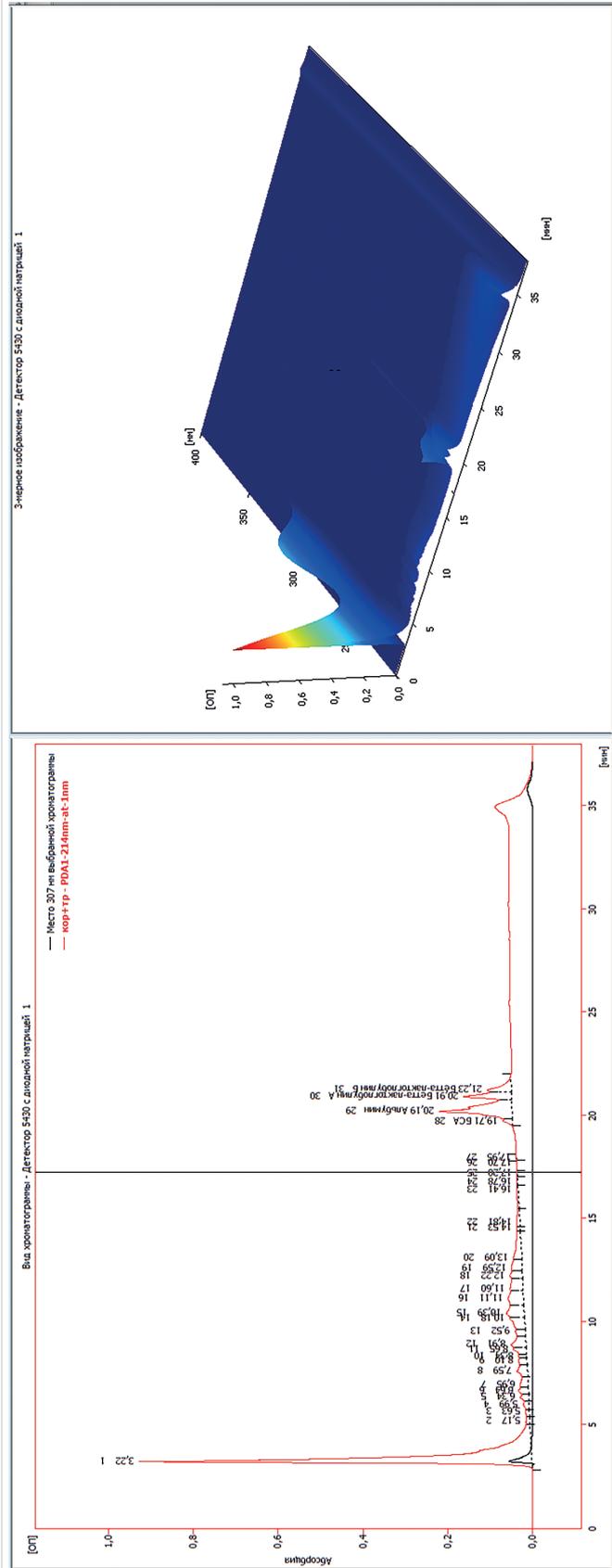


Рисунок 6. Хроматограмма определения сыровоточных белков в сыровотке из коровьего молока с применением МГТ

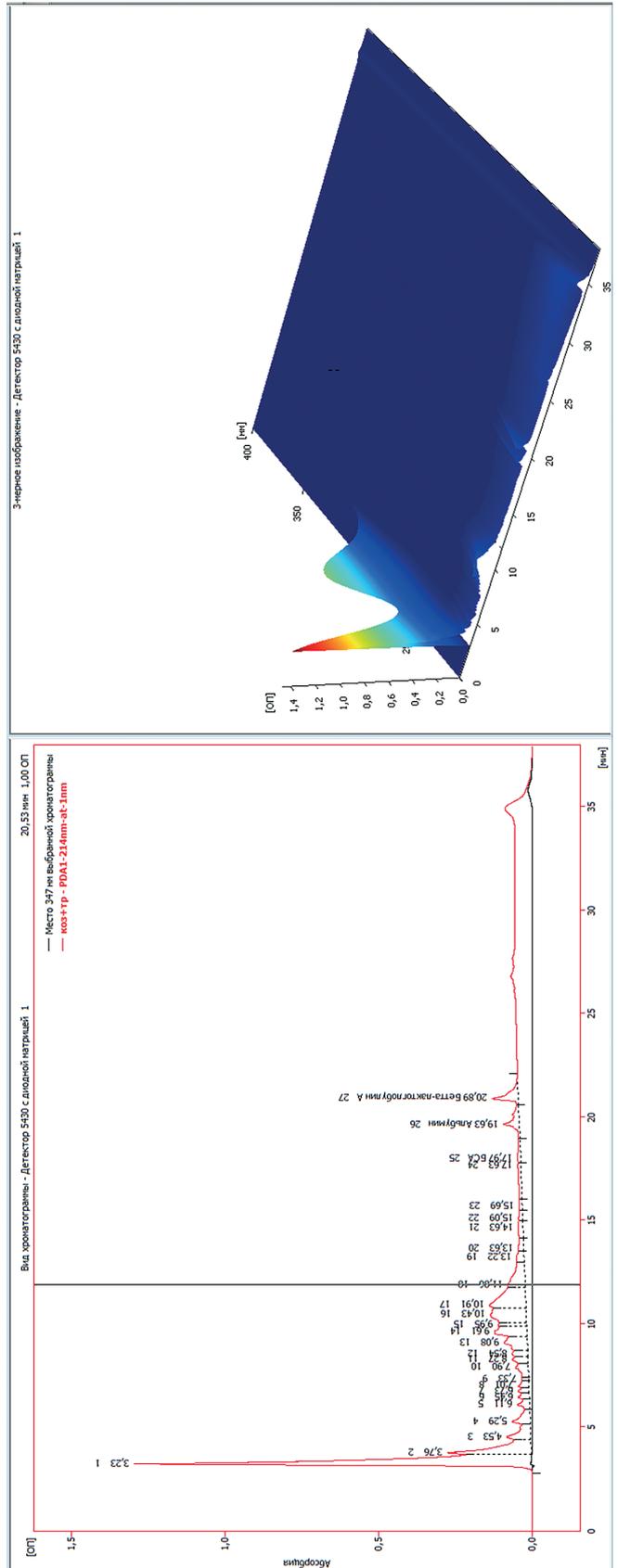


Рисунок 7. Хроматограмма определения сыровоточных белков в сыровотке из козьего молока с применением МГТ

Основными в микроструктуре сыра являются макро-структурные (макрозерна, прослойки между макроструктурными, микропустотки) и микроструктурные (жировые и липоидные частички, отслоения солей кальция и колонии микроорганизмов) элементы. Чем более развита поверхность, плотность и однородность имеет микроструктура продукта, тем более высокими значениями реологических показателей и лучшей влагоудерживающей способностью она обладает [33].

Для определения особенностей строения молочно-белкового сгустка сыра, выработанного с ферментом транслугтаминаза, проводили сравнительные исследования микроструктуры контрольных и опытных образцов свежевыработанного сыра (Рисунок 8, 9).

В результате проведенного исследования установлено, что микроструктура сыра с применением фермента мТГ, более однородная, белковая структура представляет собой «каркас», характерный для дисперсных систем и закрытую систему равномерно распределенных микропустот меньшего размера. В связи с чем, можно сделать вывод, что изучаемые образцы сыра-брынзы обладают большей прочностью, что в свою очередь, обеспечивает лучшие структурно — механические характеристики и влагоудерживающую способность по сравнению с контролем. Однако, необходимо отметить, что жировые глобулы в структуре с применением мТГ, менее выражены, сжаты в белковом матриксе сыра, что

может оказать негативное влияние на органолептическую оценку данного продукта.

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют, что образуемые дополнительные изопептидные связи, катализируемые мТГ, повышают устойчивость белкового сгустка к термомеханическим нагрузкам в процессе производства продукта и обеспечивают стабильность его в хранении.

Для определения изменения каталитической активности фермента транслугтаминазы в ходе жизненного цикла выработанных продуктов проведен иммуноферментный анализ сыров и сыворотки.

В процессе проведенного анализа выявлена активная форма мТГ как в сыре, так и в сыворотке. Анализируемые образцы заложены на хранение в течение 14 дней. По истечению срока хранения проведен ИФА анализ, в ходе которого установлено, что изменение активности фермента мТГ, относительно контрольных образцов, составило не более 5% (Таблица 5).

Одними из показателей качества продукта являются органолептические показатели. Образцы имели характерный вкус и запах, консистенция плотная, немного рыхловатая; образцы из козьего молока с применением транслугтаминазы обладали более резиновой консистенцией. Выработанные сыры представлены на Рисунках 10, 11, 12, 13.

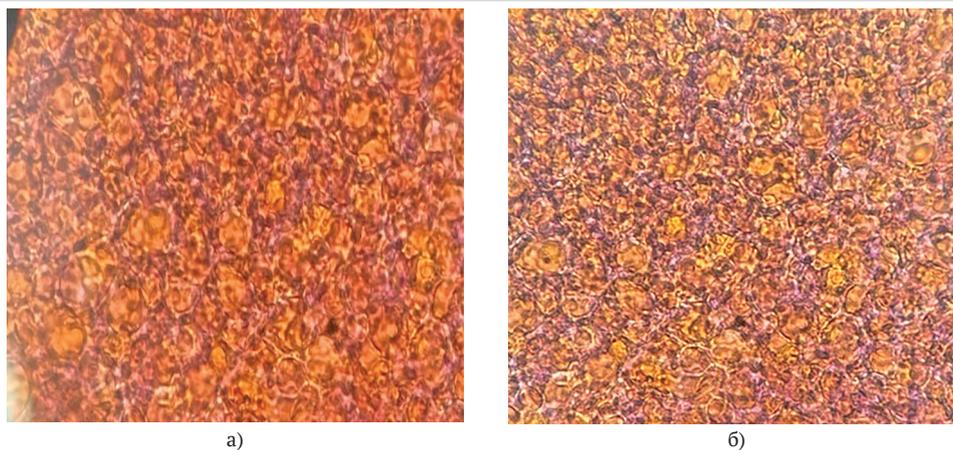


Рисунок 8. Микроструктура сыра-брынзы из коровьего (а) и козьего (б) молока без добавления фермента транслугтаминазы (увеличение 600 раз): 1) — глобулы жира (окрашены в желто-оранжевый цвет), 2) — структура белкового матрикса (окрашены красный цвет)

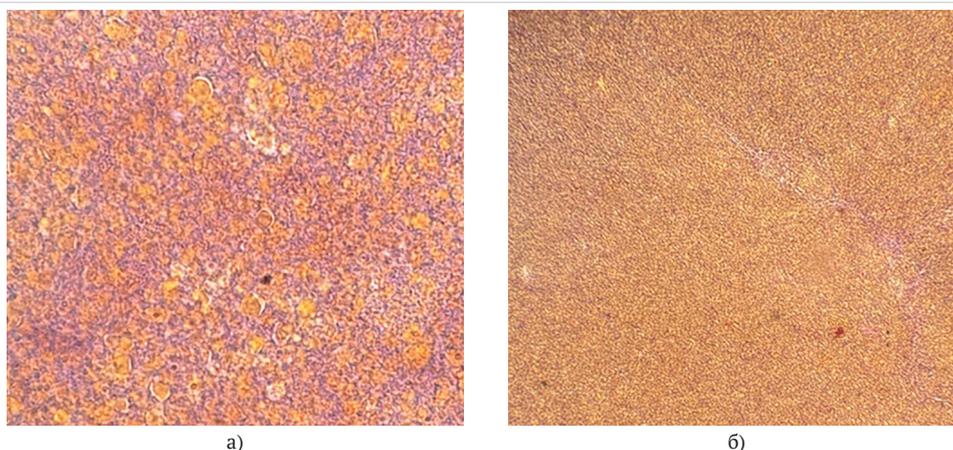


Рисунок 9. Микроструктура сыра-брынзы из коровьего и козьего молока с применением фермента транслугтаминазы (увеличение 600 раз): 1) — глобулы жира (окрашены в желто-оранжевый цвет); 2) — структура белкового матрикса (окрашены красный цвет)

Изменение активности мТГ в процессе хранения продукта

Показатель	Сыр типа брынзы, полученной из сырья (n=3)					
	Коровьего (контроль)	Коровьего +мТГ-(опыт)	Коровьего +мТГ (14 дней хранения)	Козьего-(контроль)	Козьего +мТГ-(опыт)	Козьего +мТГ (14 дней хранения)
Ед. активности	$\leq 0,018 \pm 0,001$	$0,611 \pm 0,049$	$0,586 \pm 0,047$	$\leq 0,018 \pm 0,001$	$0,738 \pm 0,059$	$0,728 \pm 0,058$
Подсырная сыворотка:						
	Коровьего (контроль)	Коровьего + мТГ-(опыт)	Коровьего +мТГ (14 дней хранения)	Козьего-(контроль)	Козьего +мТГ-(опыт)	Козьего +мТГ (14 дней хранения)
Ед. активности	$\leq 0,010 \pm 0,001$	$0,201 \pm 0,016$	$0,191 \pm 0,015$	$\leq 0,010 \pm 0,001$	$0,173 \pm 0,014$	$0,168 \pm 0,013$

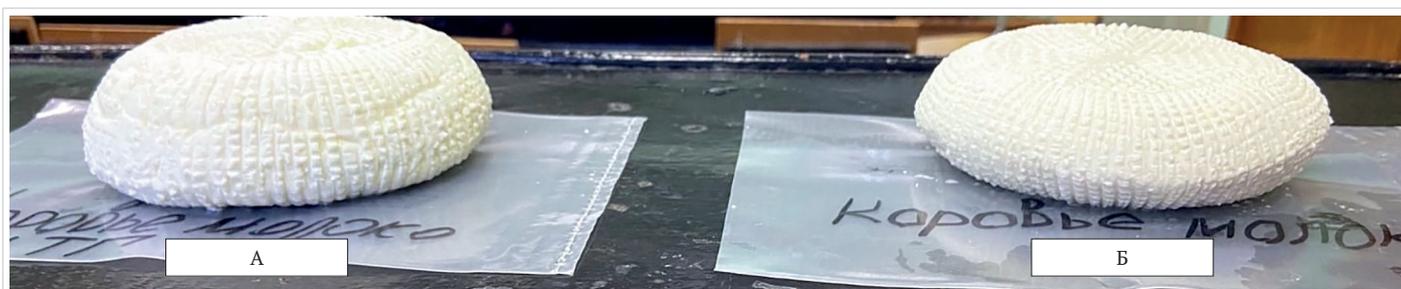


Рисунок 10. Сыр типа брынзы из коровьего молока (вид сбоку): а) с применением мТГ, б) без применения мТГ



Рисунок 11. Сыр типа брынзы из коровьего молока (вид сверху): а) с применением мТГ, б) без применения мТГ



Рисунок 12. Сыр типа брынзы из козьего молока (вид сверху): а) с применением мТГ, б) без применения мТГ

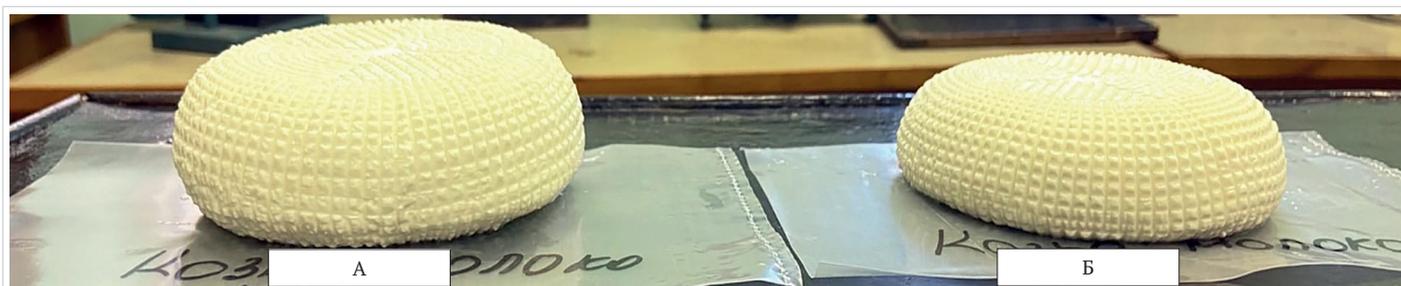


Рисунок 13. Сыр-брынза из козьего молока (вид сбоку): а) с применением мТГ, б) без применения мТГ

Результаты оценки органолептических показателей исследуемых образцов приведены в Таблице 6.

В результате полученных данных и их обработки было выявлено, что максимальным потребительскими характеристиками обладает сыр из коровьего молока без применения микробной трансглутаминазы, так как показатели среднегеометрической оценки и нечеткой меры сходства имели максимальные значения — 4,46 и 0,45 соответственно.

Экономическая эффективность является результатом экономической деятельности, которая характеризует эффективность использования основных элементов производственного процесса.

Повышение эффективности производства и ее оценка обуславливается совокупностью показателей (Рисунок 14) [33].

Эффективное использование ресурсного потенциала повышают производственно-финансовую устойчивость и обеспечивают конкурентные преимущества перед другими предприятиями. Расчет экономической эффективности определяет соотношение полученных экономических показателей и затрат по их достижению [34].

Для оценки экономической эффективности производства сыра типа брынзы необходимы конкретные показатели, отражающие влияние различных факторов на процесс производства. Исходным, безусловно, является такой показатель как выход продукта. Один и тот же выход может быть достигнут при различных затратах труда и средств. Более того, при одинаковом выходе может быть различное качество продукции, что оказывает влияние на эффективность производства.

В экспериментальной части были получены данные о выходе и качестве сыра в зависимости от вносимого ферментного препарата. Для характеристики и обоснования сделанных выводов по результатам опытов были рассчитаны показатели экономической эффективности производства сыра брынзы.

Проектная мощность цеха — 1т в смену. Продолжительность одной смены 8 часов. Количество человек в смене 6. Рыночная стоимость технологической линии для производства брынзы составляет 2 млн рублей.

Результаты расчетов экономической эффективности производства брынзы приведены в Таблице 7.

По результатам экономической эффективности производства сыра-брынзы видно, что рентабельность всех образцов находится на достаточном уровне. Рентабельность производства брынзы из коровьего молока составила 15,7%, из козьего 17,7%, с применением фермента трансглутаминазы (мТГ) — 16% и 19,4% соответственно. Эти данные позволяют сделать вывод, о том, что выгодно производить брынзу из любого вида молока, но максимальная рентабельность получена при производстве сыра из козьего молока с применением трансглутаминазы (мТГ).

4. Выводы

В результате проведенных исследований отмечены различия в физико-химических и технологических свойствах сыра — брынзы, выработанного на основе цельного козьего и коровьего молока, с применением фермента трансглутаминазы (мТГ), что отражается на качестве сыра, выработанного из этих видов молока.

Выход сыра, как из коровьего, так и из козьего молока, с применением фермента трансглутаминазы (мТГ), в целом, выше, по сравнению с контрольными образцами (без фермента), за счет связывания влаги и сывороточных белков в пищевом матриксе.

Выход контрольных образцов (без фермента) сыра-брынзы из коровьего и козьего молока составил — 526 г и 507 г, а в опытных образцах (с применением фермента) — 647,2 г и 629,4 г соответственно.

Структура сыра брынзы, выработанного с применением фермента трансглутаминазы (мТГ), из козьего молока была

Таблица 6

Дегустационная оценка сыров

Образец	Дегустационная оценка образцов				Сумма баллов	Среднее арифметическое	Среднее геометрическое	Нечет. мера сходств
	вкус	запах	цвет	консистенция				
1	4,3±0,19	4,4±0,0,15	5,0±0,0	4,2±0,26	17,9	4,48	4,46	0,45
2	4,2±0,25	4,2±0,17	5,0±0,0	4,1±0,29	17,5	4,38	4,35	0,37
3	4,0±0,26	4,15±0,20	5,0±0,0	3,93±0,26	17,08	4,27	4,23	0,31
4	3,8±0,23	4,07±0,22	5,0±0,0	3,8±0,28	16,67	4,17	4,12	0,25

1 образец — сыр типа брынзы из коровьего молока; 2 образец — сыр типа брынзы из козьего молока; 3 образец — сыр типа брынзы из коровьего молока с применением мТГ; 4 образец — сыр типа брынзы из козьего молока с применением мТГ.



Рисунок 14. Показатели экономической эффективности производства

Расчет экономической эффективности сыра брынзы

Вид затрат	Сумма затрат при производстве 1 т сыра из молока, руб. в смену			
	коровьего	коровьего + ТГ	козьего	козьего + ТГ
Затраты на сырье, руб.	192 700	312 700	384 700	504 700
Вспомогательные материалы, руб.			900	
Зарплата, руб.			3500	
На амортизацию оборудования, руб.			781,3	
Дополнительные затраты на переработку: — электроэнергия; — вода			831,5 155	
Итого:	198 867,8	318 867,8	390 867,8	510 867,8
Цена реализации, руб.	230	370	460	610
Выручка от реализации, руб.	230 000	370 000	460 000	610 000
Прибыль, руб.	31 132,2	51 132,2	69 132,2	99 132,2
Рентабельность, %	15,7	16,0	17,7	19,4

более резиновой, по сравнению с сыром-брынзой из коровьего молока, за счет более плотного (сжатого) белкового матрикса продукта, о чем свидетельствуют результаты гистологических исследований. Что в свою очередь негативно сказывается на органолептической оценке выработанного продукта. При оценке сенсорных показателей сыра-брынзы было установлено, что сыр из коровьего молока имеет более привычный для потребителей вкус, чем сыр, выработанный из козьего молока или с применением фермента транслугтаминазы (мТГ). Поэтому сыр из коровьего молока оценен более высоким баллом 17,9 баллов.

Установлено, что уровень рентабельности производства сыра типа брынзы из козьего молока с применением фермента мТГ составил 19,4%.

В ходе проведения иммуноферментативного анализа в процессе хранения продукта установлено, что каталитическая активность фермента остается неизменной. Это свидетельствует о том, что использование мТГ в производстве пищевой, и в том числе молочной продукции, может иметь потенциальную опасность для здоровья человека. Поэтому, применение мТГ фермента, без возможности его инактивации в готовой молочной продукции, недопустимо.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Попова Л. В. (2008). Влияние солей-стабилизаторов на содержание сухого вещества в сыворотке при выработке сыров. *Вестник Алтайского государственного университета*, 8(46), 56–58.
2. Тёпел, А. (2012) Химия и физика молока. Санкт-Петербург: *Профессия*, 2012.
3. МакСуини, П.Л., Фокс, П.Ф., Коттер, П.П., Эверетт, Д.У. (2019). Сыр. Научные основы и технологии, Санкт-Петербург: *Профессия*, 2019.
4. Ненюкова, Е.В., Мадосян, Г.Н. (2019). Состояние и перспективы развития производства молочной продукции в Российской Федерации. *Экономика и бизнес: теория и практика*, 11–2(57), 123–125. <https://doi.org/10.24411/2411-0450-2019-11367>
5. Толкачева, А.А., Черенков, Д.А., Корнеева, О.С., Пономарев, П.Г. (2017). Ферменты промышленного назначения — обзор рынка ферментных препаратов и перспективы его развития. *Вестник Воронежского Государственного Университета инженерных технологий*, 79(4(74)), 197–203. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2017-4-197-203>
6. Савинова, А.А., Луценко, А.В. (20 декабря 2019). Роль ферментов в пищевой промышленности. Материалы всероссийской (национальной) научно-практической конференции «Совершенствование технологий производства, переработки и экспертизы качества пищевой продукции». Персиановский, Россия, 2019.
7. D'Alessandro, A. G., Martemucci, G., Faccia, M. (2021). Effects of microbial transglutaminase levels on donkey cheese production. *Journal of Dairy Research*, 88(3), 351–356. <https://doi.org/10.1017/S0022029921000601>
8. He, C., Hu, Y., Woo, M. W., Xiong, H., Zhao, Q. (2021). Effect of microbial transglutaminase on the structural and rheological characteristics and in vitro digestion of rice glutelin-casein blends. *Food Research International*, 139, Article 109832. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109832>
9. Miwa, N. (2020). Innovation in the food industry using microbial transglutaminase: Keys to success and future prospects. *Analytical Biochemistry*, 597, Article 113638. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2020.113638>
10. García-Gómez, B., Vázquez-Odériz, M. L., Muñoz-Ferreiro, N., Romero-Rodríguez, M. A., Vázquez, M. (2020). Effect of the milk heat treatment on properties of low-fat yogurt manufactured with microbial transglutaminase. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 32(10), 739–749. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2020.v32.i10.2180>
11. Cadavid, A. M., Bohigas, L., Toldrà, M., Carretero, C., Parés, D., Sauer, E. (2020). Improving quark-type cheese yield and quality by treating semi-skimmed cow milk with microbial transglutaminase. *LWT*, 131, Article 109756. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109756>
12. Fotschki, J., Wróblewska, B., Fotschki, B., Kalicki, B., Rigby, N., Mackie, A. (2020). Microbial transglutaminase alters the immunogenic potential and cross-reactivity of horse and cow milk proteins. *Journal of Dairy Science*, 103(3), 2153–2166. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17264> <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.02.015>
13. Gaspar, A. L. C., De Góes-Favoni, S. P. (2015). Action of microbial transglutaminase (MTGase) in the modification of food proteins: A review. *Food Chemistry*, 171, 315–322. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.019>
14. Aaltonen, T., Huuonen, I., Myllärinen, P. (2014). Controlled transglutaminase treatment in edam cheese-making. *International Dairy Journal*, 38(2), 179–182. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.12.004>
15. Яшкин, А.И. (2019). Современные подходы к применению микробной транслугтаминазы в сыроделии (аналитический обзор). *Молочнохозяйственный вестник*, 1(33), 98–113. <https://doi.org/10.24411/2225-4269-2019-00010>
16. Моргунова, Е.М., Федоренко, Е.В., Журня, А.А. (2018). Химический состав и пищевая ценность молока и молочных продуктов, представленных на рынке республики Беларусь. *Пищевая промышленность: наука и технологии*, 11(4(42)), 6–20.
17. Lad, S.S., Aparnathi, K.D., Mehta, B. M., Velpula, S. (2017). Goat Milk in Human Nutrition and Health — A Review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(5), 1781–1792. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.605.194>
18. Зобкова, З.С., Фурсова, Т.П., Зенина, Д.В., Федулова, Л.В. (2017). Применение транслугтаминазы для повышения биологической ценности творога. *Пищевая промышленность*, 1, 38–40.
19. Лаврова, Т.Е., Ревакина, В.А., Боровик, Т.Э., Рославцева, Е.А. (2004). Современный взгляд на проблему пищевой непереносимости. *Вопросы современной педиатрии*, 3(6), 40–49.
20. Технический регламент таможенного союза ТР ТС 029/2012 «Требования безопасности пищевых добавок, ароматизаторов и технологических вспомогательных средств». Принят Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 20 июля 2012 года № 58.
21. ГОСТ Р 52054–2003 «Молоко коровье сырое. Технические условия» — Москва: Стандартинформ, 2008. — 16 с.
22. ГОСТ 3624–92 «Молоко и молочные продукты. Титриметрические методы определения кислотности». — Москва: Стандартинформ, 2009. — 8 с.

23. ГОСТ 33959–2016 «Сыры рассольные. Технические условия». — Москва: Стандартинформ, 2016. — 20 с.
24. ГОСТ 5867–90 «Молоко и молочные продукты. Методы определения жира». — Москва: Стандартинформ, 2009. — 13 с.
25. ГОСТ 3626–73 «Молоко и молочные продукты. Методы определения влаги и сухого вещества». — Москва: Стандартинформ, 2009. — 12 с.
26. Тиняков, Г.Г. (1972). Микроструктура молока и молочных продуктов. Москва: Пищевая промышленность, 1972.
27. Зяблицева, М.А. (30 апреля 2019). Сравнительный анализ химического состава и пищевой ценности козьего и коровьего молока. *Материалы XIV Международной научно-практической конференции: Качество продукции, технологий и образования*. Магнитогорск: Магнитогорский государственный технический университет им. Г. И. Носова, 2019.
28. ГОСТ Р 54662–2011 «Сыры и сыры плавленые. Определение массовой доли белка методом Кьельдаля». — Москва: Стандартинформ, 2012. — 20 с.
29. ГОСТ 5867–90 «Молоко и молочные продукты. Методы определения жира». — Москва: Стандартинформ, 2009. — 13 с.
30. Жижин, Н.А., Юрова, Е.А., Семенова, Е.С. (2015). Использование метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) для исследования пептидного состава молока и продуктов его пе-

реработки. В сборнике: *Научное обеспечение микробиологии молочной промышленности, биотехнологии, технологии, контроля качества и безопасности. Сборник научных трудов. Создание Всероссийского научно-исследовательского института молочной промышленности (ФГБНУ «ВНИМИ»)*. 2015, 54–60.

31. Трансглутаминаза. Электронный ресурс <https://tdbiopreparat.ru/transglutaminaza.html> Дата доступа 25.10.2021
32. Горлов, И. Ф., Сложенкина, М. И., Божкова, С. Е., Белова, Д. С., Воронцова, Е. С. (2020). Анализ сырпригодности молочного сырья и качества обогащённых сырных продуктов. *Известия Нижневолжского Агроуниверситетского Комплекса: наука и высшее профессиональное образование*, 3(59), 258–267. <https://doi.org/10.32786/2071-9485-2020-03-27>
33. Пастух, О.Н., Каракулова, Е. А. Канина, К.А., (2020). Применение трансглутаминазы в молочной промышленности. *Вопросы устойчивого развития общества*, 4–2, 596–599. <https://doi.org/10.34755/IROK.2020.51.77.250>
34. Жукова, Н.В., Сурай, Н.М., Майоров, А.А., Кудинов, Б.Д., Айдинов, Х.Т., Кудинова, М.Г. (2019). Отечественный и мировой опыт в развитии рынка сыров и сырных продуктов. *Экономические науки*, 180, 39–45. <https://doi.org/10.14451/1.180.39>

REFERENCES

1. Popova, L.V. (2008). Effect of salts-stabilizers on dry matter content in whey by cheese making. *Bulletin of the Altai State University*, 8(46), 56–58. (In Russian)
2. Tepel, A. (2012) Chemistry and physics of milk. Saint-Petersburg: Profession, 2012. (In Russian)
3. McSweeney, P.L., Fox, P.F., Cotter, P.P., Everett, D.U. (2019). Cheese. Scientific foundations and technologies. Saint-Petersburg: Profession, 2019.
4. Nenyukova, E.V., Madosyan, G.N. (2019). State and prospects for the development of production of dairy products in the Russian Federation. *Economics and Business: Theory and Practice*, No. 11–2(57), 123–125. <https://doi.org/10.24411/2411-0450-2019-11367> (In Russian)
5. Tolkacheva, A.A., Cherenkov, D.A., Korneeva, O.S., Ponomarev, P.G. (2017). Enzymes of industrial purpose — review of the market of enzyme preparations and prospects for its development. *Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*, 79(4(74)), 197–203. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2017-4-197-203> (In Russian)
6. Savinova, A.A., Lutsenko, A.V. (December 20, 2019). The role of enzymes in the food industry. *Improvement of technologies of production, processing and examination of the quality of food products*. Persianjvskiy, Russia, 2019. (In Russian)
7. D'Alessandro, A. G., Martemucci, G., Faccia, M. (2021). Effects of microbial transglutaminase levels on donkey cheese production. *Journal of Dairy Research*, 88(3), 351–356. <https://doi.org/10.1017/S0022029921000601>
8. He, C., Hu, Y., Woo, M. W., Xiong, H., Zhao, Q. (2021). Effect of microbial transglutaminase on the structural and rheological characteristics and in vitro digestion of rice glutenin–casein blends. *Food Research International*, 139, Article 109832. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109832>
9. Miwa, N. (2020). Innovation in the food industry using microbial transglutaminase: Keys to success and future prospects. *Analytical Biochemistry*, 597, Article 113638. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2020.113638>
10. García-Gómez, B., Vázquez-Odériz, M. L., Muñoz-Ferreiro, N., Romero-Rodríguez, M. A., Vázquez, M. (2020). Effect of the milk heat treatment on properties of low-fat yogurt manufactured with microbial transglutaminase. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 32(10), 739–749. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2020.v32.i10.2180>
11. Cadavid, A. M., Bohigas, L., Toldrà, M., Carretero, C., Parés, D., Sager, E. (2020). Improving quark-type cheese yield and quality by treating semi-skimmed cow milk with microbial transglutaminase. *LWT*, 131, Article 109756. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109756>
12. Fotschki, J., Wróblewska, B., Fotschki, B., Kalicki, B., Rigby, N., Mackie, A. (2020). Microbial transglutaminase alters the immunogenic potential and cross-reactivity of horse and cow milk proteins. *Journal of Dairy Science*, 103(3), 2153–2166. <https://doi.org/10.3168/jds.2019-17264> <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.02.015>
13. Gaspar, A. L. C., De Góes-Favoni, S. P. (2015). Action of microbial transglutaminase (MTGase) in the modification of food proteins: A review. *Food Chemistry*, 171, 315–322. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.09.019>
14. Aaltonen, T., Huuononen, I., Myllärinen, P. (2014). Controlled transglutaminase treatment in edam cheese-making. *International Dairy Journal*, 38(2), 179–182. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2013.12.004>
15. Yashkin A. I. (2019). Modern approaches to the use of microbial transglutaminase in cheese making (Analytical Review) *Molochnokhozaystvenny Vestnik*, 1(33), 98–113. <https://doi.org/10.24411/2225-4269-2019-00010> (In Russian)
16. Morgunova, H.M., Fedorenko, E.V., Zhurnia, H.A. (2018). Chemical composition and food value of milk and dairy products, presented in the market of the Republic of Belarus. *Food industry: Science and Technology*, 11(4(42)), 6–20. (In Russian)
17. Lad, S.S., Aparnathi, K.D., Mehta, B. M., Velpula, S. (2017). Goat Milk in Human Nutrition and Health — A Review. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 6(5), 1781–1792. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2017.605.194>
18. Zobkova, Z.S., Fursova, T.P., Zenina, D.V., Fedulova, L.V. (2017) The use of transglutaminase to increase the biological value of cottage cheese. *Food Industry*, 1, 38–40. (In Russian)
19. Lavrova, T.E., Reviakina, V.A., Borovik, T.E., Roslavtseva, E.A. (2004). Modern approach to the problem of food intolerance. *Current Pediatrics (Moscow)*, 3(6), 40–49. (In Russian)
20. TR CU029/2012 Technical Regulations of the Customs Union “Safety requirements for food additives, flavorings and process aids”, Decision of the Council of the Eurasian economic Commission of June 20, 2012, No. 58. Moscow, 2012. (In Russian)
21. ГОСТ R52054–2003 “Cow’s milk raw. Specifications” — Moscow: Standartinform, 2008. — 16 p. (In Russian)
22. ГОСТ 3624–92 “Milk and milk products. Titrimetric methods of acidity determination” — Moscow: Standartinform, 2009. — 8 p. (In Russian)
23. ГОСТ 33959–2016 “Salted cheeses. Specification” — Moscow: Standartinform, 2016. — 20 p. (In Russian)
24. ГОСТ 5867–90 “Milk and dairy products. Method of determination of fat” — Moscow: Standartinform, 2009. — 13 p. (In Russian)
25. ГОСТ 3626–73 “Milk and milk products. Methods for determination of moisture and dry substance” — Moscow: Standartinform, 2009. — 12 p. (In Russian)
26. Tinyakov, G.G. (1972). Microstructure of milk and dairy products. Moscow: Food Industry, 1972.
27. Zyblytseva, M.A. (April 30, 2019). *Comparative analysis of the chemical composition and nutritional value of goat’s and cow’s milk*. Materials of the XIV International Scientific and Practical Conference: Quality of products, technologies and education. Magnitogorsk: Magnitogorsk State Technical University named after G. I. Nosov, 2019. (In Russian)
28. ГОСТ R54662–2011 “Cheeses and processed cheeses. Determination of protein mass fraction by the Kjeldahl method”. — Moscow: Standartinform, 2012. — 20 p. (In Russian)
29. ГОСТ 5867–90 “Milk and dairy products. Method of determination of fat”. — Moscow: Standartinform, 2009. — 13 p. (In Russian)
30. Zhizhin, N.A., Yurova, E.A., E. Semenova, E.S. (2015). Using the method of high-performance liquid chromatography (HPLC) to study the peptide composition of milk and its processed products. *In the collection: Scientific support of microbiology of the dairy industry, biotechnology, technology, quality control and safety. Collection of scientific papers. Creation of the All-Russian Research Institute of Dairy Industry (VNIMI)*. 2015, 54–60. (In Russian)
31. Transglutaminase. Retrieved from <https://tdbiopreparat.ru/transglutaminaza.html> Дата доступа 25.10.2021 Accessed October 25, 2021 (In Russian)
32. Gorlov, I. F., Slozhenkina, M. I., Bozhkova, S. E., Belova, D. S., Vorontsova, E. S. (2020) analysis of the raw material suitability of dairy products and the quality of enriched cheese products. *Proceedings of Lower Volga Agro-University Complex: Science and Higher Education*, 3(59), 258–267. <https://doi.org/10.32786/2071-9485-2020-03-27> (In Russian)
33. Pastukh, O.N., Karakulova, E. A. Kaniina, K.A. (2020). Application of the transglutaminase enzyme in the dairy industry. *Issues of sustainable development of society*, 4–2, 596–599. <https://doi.org/10.34755/IROK.2020.51.77.250> (In Russian)
34. Zhukova, N.V., Suray N. M., Mayorov, A.A., Kudinov, B.D., Aydinov, H.T., Kudinova, M.G. (2019). Domestic and world experience in the development of the market for cheese and cheese products. *Economic Sciences*, 180, 39–45. <https://doi.org/10.14451/1.180.39> (In Russian)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
<p align="center">Принадлежность к организации</p> <p>Канина Ксения Александровна — кандидат технических наук, заведующий лабораторией, кафедра Технологии хранения и переработки продуктов животноводства, Российский государственный аграрный университет — Московская сельскохозяйственная академия имени К. А. Тимирязева 127434, Россия, г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 48 Тел.: +7-499-976-46-12 E-mail: kseniya.kanina.91@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8833-4915 * автор для контактов</p>	<p align="center">Affiliation</p> <p>Ksenia A. Kanina, Candidate of technical sciences, Head of the Laboratory, Department of Technology of storage and processing of animal products, Russian State Agrarian University — Moscow Timiryazev Agricultural Academy 48, Timiryazevskaya str., 127434, Moscow, Russia Tel.: +7-499-976-46-12 E-mail: kseniya.kanina.91@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8833-4915 * corresponding author</p>
<p>Жижин Николай Анатольевич — кандидат технических наук, научный сотрудник лаборатории технохимического контроля, Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности 115093, Россия, г. Москва, ул. Люсиновская, д. 35 Тел.: +7-499-976-46-12 E-mail: zhizhinmoloko@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6690-0488</p>	<p>Nikolay A. Zhizhin, Candidate of technical sciences, Researcher, Laboratory of Technochemical Control, All-Russian Research Institute of the Dairy Industry 35, Lyusinovskaya str., 115093, Moscow, Russia Tel.: +7-499-976-46-12 E-mail: zhizhinmoloko@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6690-0488</p>
<p>Каракулова Екатерина Андреевна — магистр, Российский государственный аграрный университет — Московская сельскохозяйственная академия имени К. А. Тимирязева 127434, Россия, г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 48 Тел.: +7-499-976-46-12 E-mail: tppj@rgau-msha.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0474-5144</p>	<p>Ekaterina, A. Karakulova, Master's degree, Russian State Agrarian University — Moscow Timiryazev Agricultural Academy 48, Timiryazevskaya str., 127434, Moscow, Russia Tel.: +7-499-976-46-12 E-mail: tppj@rgau-msha.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0474-5144</p>
<p>Атанасов Петр Руменов — студент, Российский государственный аграрный университет — Московская сельскохозяйственная академия имени К. А. Тимирязева 127434, Россия, г. Москва, ул. Тимирязевская, д. 48 Тел.: +7-499-976-46-12 E-mail: tppj@rgau-msha.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9392-6851</p>	<p>Peter R. Atanasov, Student, Russian State Agrarian University — Moscow Timiryazev Agricultural Academy 48, Timiryazevskaya str., 127434, Moscow, Russia Tel.: +7-499-976-46-12 E-mail: tppj@rgau-msha.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-9392-6851</p>
<p align="center">Критерии авторства</p> <p>Канина Ксения Александровна написала текст рукописи, корректировала её до подачи в редакцию; Жижин Николай Анатольевич предложил идею оценки активности фермента мТГ в течение срока годности продукта; Атанасов Петр Руменов обзор литературных источников по исследуемой проблеме; Каракулова Екатерина Андреевна получение данных для анализа, анализ полученных данных. Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.</p>	<p align="center">Contribution</p> <p>Ksenia A. Kanina wrote the text of the manuscript, corrected it before submitting it to the editor; Nikolay A. Zhizhin proposed the idea of assessing the activity of the mTG enzyme during the shelf life of the product; Peter R. Atanasov made review of literary sources on the problem under study; Ekaterina A. Karakulova obtained data for analysis, made analysis of the received data The authors are equally related to the writing of the manuscript and are equally responsible for plagiary.</p>
<p align="center">Конфликт интересов</p> <p>Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов</p>	<p align="center">Conflict of interest</p> <p>The authors declare no conflict of interest</p>

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-4-308-314>

Поступила 13.11.2021

Поступила после рецензирования 20.12.2021

Принята в печать 25.12.2021

© Рубан А. А., Новикова (Захарова) М. В., Лоскутов С. И., Костин А. А., 2021

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

Научная статья

Open access

ВЛИЯНИЕ ЭМУЛЬСИЙ ЖИРА ЛИЧИНОК ЧЕРНОЙ ЛЬВИНКИ (*HERMETIA ILLUCENS*) НА ВСХОЖЕСТЬ И ЭНЕРГИЮ ПРОРАСТАНИЯ СЕМЯН ГОРОХА ПОСЕВНОГО (*PISUM SATIVUM L.*)

Рубан А. А., Новикова (Захарова) М. В., Лоскутов С. И., Костин А. А.

Вероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок, Санкт-Петербург, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

всхожесть, энергия прорастания, горох, личинки Черной львинки (*Hermetia illucens*), жир насекомых, эмульсии

АННОТАЦИЯ

Различные масла, жиры и эмульгаторы в составе препаратов для обогащения почвы или защиты растений могут оказывать существенное влияние на всхожесть и развитие семян гороха. Жир личинок Черной львинки (*Hermetia illucens*) может быть использован в качестве носителя для пестицидов, а также с целью повышения устойчивости семян к заражению грибом и насекомыми в процессе хранения и прорастания. Исходя из этого, целью работы было определение влияния жира насекомых в виде эмульсии на прорастание семян гороха сорта «Родник», в зависимости от типа эмульгатора или стабилизатора. Было определено, что использование 0,3 масс.% ксантановой камеди в качестве стабилизатора эмульсии жира личинок Черной львинки (*Hermetia illucens*) значительно увеличивает количество взошедших семян и энергию прорастания всходов. Использование 1–5 масс.% Tween 20 в качестве эмульгатора жира личинок Черной львинки (*Hermetia illucens*) привело к ингибированию роста семян. Лецитин, казеинат натрия и микроцеллюлоза с добавкой жира личинок Черной львинки (*Hermetia illucens*) также снизили всхожесть и прорастание семян гороха (*Pisum sativum L.*)

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Работа выполнена в рамках проведения исследований по государственному заданию № 2585–2019–0044 Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук.

Received 13.11.2021

Accepted in revised 20.12.2021

Accepted for publication 25.12.2021

© Ruban A. A., Novikova (Zakharova) M. V., Loskutov S. I., Kostin A. A., 2021

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

Original scientific article

Open access

AN EFFECT OF FAT EMULSIONS OF BLACK SOLDIER FLY (*HERMETIA ILLUCENS*) LARVAE ON THE GERMINATION CAPACITY AND ENERGY OF SPROUTING OF PEA (*PISUM SATIVUM L.*) SEEDS

Albina A. Ruban, Mariia V. Novikova (Zakharova), Svyatoslav I. Loskutov, Anton A. Kostin

All-Russian Research Institute for Food Additives, Russia

KEY WORDS:

germination capacity, energy of sprouting, pea, black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae, insect fat, emulsions

ABSTRACT

Various oils, fats and emulsifiers in the composition of preparations for soil enrichment or plant protection can have a significant effect on the germination capacity and energy of sprouting of pea seeds. Fat of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae can be used as a pesticide carrier as well as for increasing seed resistance to contamination with fungi and insects during storage and sprouting. Therefore, the aim of the study was to determine an effect of insect fat in a form of an emulsion on sprouting of pea seeds of the variety "Rodnik" depending on a type of an emulsifier or stabilizer. It was found that the use of 0.3 weight% of xanthan gum as a stabilizer for fat emulsion of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae significantly increased the number of germinated seeds and the energy of seed sprouting. The use of 1–5 weight% of Tween 20 as an emulsifier for fat of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae led to inhibition of seed growth. Lecithin, sodium caseinate and microcellulose with addition of fat of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae also decreased the germination capacity and sprouting of pea seeds (*Pisum sativum L.*)

FUNDING: The article was published as part of the research topic foundation for scientific research No. 2585–2019–0044 of the state assignment of the V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS.

1. Введение

Объем сборов гороха в России, по данным экспертно-аналитического центра агробизнеса «АБ-центр», в 2019 году составил 2369,5 тыс. тонн и продолжает расти в среднем на 3–5% в год [1]. Более того, Россия является вторым по объ-

ему мировым экспортером гороха, занимая долю 10,4% от всех мировых поставок. Горох (*Pisum sativum L.*) выращивают не только как овощную, кормовую и зерновую культуру, но и используют в качестве сидерата, который улучшает структуру и состав почвы, тем самым подготавливая ее к посеву

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Рубан, А. А., Новикова (Захарова), М. В., Лоскутов, С. И., Костин, А. А. (2021). Влияние эмульсий жира личинок Черной львинки (*Hermetia illucens*) на всхожесть и энергию прорастания семян гороха посевного (*Pisum sativum L.*). *Пищевые системы*, 4(4), 308–314. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2020-4-4-308-314>

FOR CITATION: Ruban, A. A., Novikova (Zakharova), M. V., Loskutov, S. I., Kostin, A. A. (2021). An effect of fat emulsions of black soldier fly (*Hermetia illucens*) larvae on the germination capacity and energy of sprouting of pea (*Pisum sativum L.*) seeds. *Food systems*, 4(4), 308–314. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2021-4-4-308-314>

и посадке других сельскохозяйственных культур. Тем не менее урожайность гороха нестабильна и может сильно понижаться в зависимости от условий окружающей среды, по сравнению с другими сельскохозяйственными культурами, особенно зерновыми [2].

Одним из важнейших процессов, влияющих на количество и качество урожая, является прорастание семян, которое связано со многими метаболическими, клеточными и молекулярными процессами, координируемыми сложной регуляционной сетью. Исследование прорастания *in vitro* является полезным биотехнологическим инструментом для фундаментальных исследований, сохранения растений, создания модельных систем, необходимых для определения стратегии улучшения роста и развития культур. Модельные системы способны быть предиктором развития растений *in vivo*, так как на прорастание в этих системах оказывают влияние те же факторы.

Семена гороха (*Pisum sativum L.*) могут подвергаться различным негативным воздействиям, влияющим на их прорастание, например, заболеваемости грибками, атаке насекомых в процессе хранения, а также влиянию различных веществ, находящихся в почве, например, удобрений или пестицидов [3]. Для защиты семян во время прорастания могут быть использованы вещества, имеющие антимикробную и антигрибковую активность. Большинство химических пестицидов способны накапливаться в почве и органах растений, что приводит к возникновению негативных эффектов для окружающей среды, а из-за превышения допустимой концентрации веществ требуется ужесточение контроля за их использованием [4]. В качестве альтернативы химическим пестицидам может быть предложено применение природных антимикробных агентов, одним из которых является жир личинок Черной львинки (*Hermetia illucens*). Его основным компонентом является лауриновая кислота, которая обладает антимикробной активностью против большого количества бактерий и грибов [5]. По составу и качеству жир личинок Черной львинки имеет сходства с кокосовым и пальмовым маслами, а за счет антибактериального действия этого жира семя в процессе прорастания может быть защищено от негативного воздействия грибов, когда высокая влажность среды приводит к увеличению активности микроорганизмов [6,7].

Жиры и масла обладают более низкой плотностью по сравнению с водой, что может привести к образованию масляной пленки на поверхности жидкости. Более равномерного распределения жира в воде можно достичь с помощью приготовления эмульсий, которые являются термодинамически нестабильными системами и требуют применения эмульгатора или загустителя для повышения их стабильности. В качестве эмульгаторов могут использоваться различные химические и природные агенты, такие как лаурилсульфат натрия, полисорбат-20 (Tween 20), полисорбат-80 (Tween 80), лецитин, белки и полисахариды. Эмульгаторы могут приводить как к стимулированию, так и к ингибированию роста растений в зависимости от концентрации и вида эмульгатора. Поверхностно-активные вещества (ПАВ) могут увеличивать адсорбцию воды семенами и иметь специфические мембранные характеристики [8]. Из литературы известно, что анионные ПАВ (лаурилсульфат натрия) более токсичны, чем неионогенные (Tween 20) [9]. Использование Tween 20 или Tween 80 концентрацией до 0,4 масс.% привело к стимулированию роста семян [10]. Лецитин в небольшой концентрации 0,75–2 г/л может защищать растения как фунгицид [11]. Биополимеры, кроме своей способности к эмульгированию или стабилизации эмульсий, изменяют состав и плотность среды для проращивания, что может

привести к более эффективному захвату воды растениями, а также увеличить уровень всхожести и ускорить рост растений [12].

Анализ литературы показал, что большинство исследований посвящены нанесению масла на семена и определению влияния такого покрытия на хранение, всхожесть и развитие растений. Масла горчицы, нима, абрикоса или оливок снизили заболеваемость растений грибом в процессе прорастания [13]. Известно, что обработка различными растительными маслами защитила семена гороха от порчи насекомыми в процессе хранения [14]. Тем не менее такая обработка снизила всхожесть семян в среднем на 2%. Снижение всхожести на 4–6% так же наблюдалось при использовании кокосового, пальмового и арахисового масла, по сравнению с контрольной группой, где обработка маслом не проводилась. Обработка семян пшеницы может снизить всхожесть на 20–50%, по сравнению с семенами бобовых [15]. Это может быть связано с различием в строении зерна: семена пшеницы имеют зародыш снаружи семени, поэтому обработка маслом может влиять на зародышевый центр, снижая количество проросших семян. Ранее не было установлено, что масло проникает через оболочку семян бобовых [16]. В тоже время масла не влияют на паропроницаемость семян и не снижают поглощение ими влаги. Распыление рыбьего жира 1–2% на проросшие в течение недели месяца стебли манго привело к ускорению роста растений, по сравнению с контрольным образцом [17]. С другой стороны, рыбий жир повышает секрецию цитокинина — фермента, стимулирующего деление клеток и отвечающего за иммунитет растений, тем самым увеличивая сопротивляемость растения к заражению грибками [18].

С целью снижения негативного влияния масла, а также предотвращения образования масляной пленки на поверхности семени возможно приготовление прямой эмульсии масла для использования в качестве среды для проращивания. Исходя из этого, целью работы было определение влияния эмульсий жира личинок Черной львинки (*Hermetia illucens*) на всхожесть и энергию прорастания семян.

2. Материалы и методы

Для приготовления эмульсий использовали: жир личинок Черной львинки (*Hermetia illucens*) производства ООО «ЭКО-БЕЛОК» (Россия), лецитин производства ООО «ВИТАПРОМ» (Россия), Tween 20 производства Sigma-Aldrich (США), казеинат натрия производства ООО «Бригантина» (Россия), микроцеллюлоза производства СHEMAPOЛ (Чехия), ксантановая камедь производства «Кевико Интернешнл Лтд» (Китай), рыбий жир производства ООО «Тульская фармацевтическая фабрика» (Россия), фульвовая кислота, предоставленная ФГБНУ «Институт озероководения» РАН, семена гороха (*Pisum sativum L.*) сорта «Родник», предоставленные ФГБНУ «Федеральный научный центр зернобобовых и крупяных культур».

Составы растворов/эмульсий для обработки семян представлены в Таблице 1. В качестве растворителя/дисперсионной среды использовалась дистиллированная вода. Эмульсии TWBSFL1÷5, CNaBSFL, LBSFL, MBSFL готовили путем растворения эмульгатора или биополимера в дистиллированной воде при 60 °С в течение 10 минут, с последующим введением предварительно расплавленного жира личинок Черной львинки (*Hermetia illucens*). Далее смесь подвергали механической диспергации со скоростью 20 000 об/мин в течение 10 минут с помощью гомогенизатора DG-360, Stegler (Китай).

Растворы XG и XGBSFL были приготовлены растворением ксантановой камеди в дистиллированной воде при 80 °С. В раствор XG вводили жир личинок Черной львинки

(*Hermetia illucens*) и диспергировали при 20000 об/мин в течение 10 минут.

Растворы FA, FF и TW1÷4 готовили смешением активного компонента с дистиллированной водой при комнатной температуре.

Таблица 1

Обозначение растворов/эмульсий для обработки семян и их состав

Название эмульсии	Состав
H ₂ O	Дистиллированная вода
FA	Фульвовая кислота, 1 масс. %
TW1	Tween 20, 1 масс. %
TW5	Tween 20, 5 масс. %
TWBSFL1	Жир личинок Черной львинки (<i>Hermetia illucens</i>), 1 масс. % Tween 20, 1 масс. %
TWBSFL2	Жир личинок Черной львинки (<i>Hermetia illucens</i>), 2 масс. % Tween 20, 2 масс. %
TWBSFL3	Жир личинок Черной львинки (<i>Hermetia illucens</i>), 3 масс. % Tween 20, 3 масс. %
TWBSFL4	Жир личинок Черной львинки (<i>Hermetia illucens</i>), 4 масс. % Tween 20, 4 масс. %
TWBSFL5	Жир личинок Черной львинки (<i>Hermetia illucens</i>), 5 масс. % Tween 20, 5 масс. %
FF	Рыбий жир, 1 масс. %
TWFF1	Рыбий жир, 1 масс. % Tween 20, 1 масс. %
CNaBSFL	Казеинат Na, 1 масс. % Жир личинок Черной львинки (<i>Hermetia illucens</i>), 1 масс. %
LBSFL	Лецитин, 1 масс. % Жир личинок Черной львинки (<i>Hermetia illucens</i>), 1 масс. %
XG	Ксантановая камедь, 0,3 масс. %
XGBSFL	Ксантановая камедь, 0,3 масс. % Жир личинок Черной львинки (<i>Hermetia illucens</i>), 1 масс. %
MBSFL	Микроцеллюлоза, 1 масс. % Жир личинок Черной львинки (<i>Hermetia illucens</i>), 1 масс. %

Семена в количестве 15 шт. выкладывали на подложку из фильтровальной бумаги в стерильной чашке Петри и заливали 9 мл одного из растворов, указанных в Таблице 1. Семена закрывали крышкой от чашки Петри и оставляли прорасти в течение 9 дней при комнатной температуре. Для каждого состава были выполнены три повторности.

Всхожесть семян определяли через 120 ч согласно уравнению:

$$X = \frac{n_{\text{проросших}}}{n_{\text{общее}}} \cdot 100\%, \quad (1)$$

где $n_{\text{проросших}}$ — количество проросших семян, $n_{\text{общее}}$ — общее количество семян.

Для определения энергии прорастания измеряли среднюю длину суммы проросших стеблей и корешков, которые сравнивали с образцами, обработанными H₂O через каждые 72 часа:

$$l_{\text{cp}} = \frac{l_1 + l_2 + l_n}{n} \quad (2)$$

$$X = \frac{l_{\text{cp}}}{l_{\text{cp}/\text{вода}}} \cdot 100\%, \quad (3),$$

где l_n — длина проросшего стебля и корешка, n — общее количество проросших стеблей и корешков, $l_{\text{cp}} / l_{\text{cp}/\text{вода}}$ — средняя длина проросших стеблей и корешков для исследуемых и контрольных образцов соответственно.

Энергию прорастания семян, обработанных исследуемыми составами, определяли относительно энергии прорастания контрольных образцов, обработанных дистиллированной водой.

В качестве образцов сравнения кроме дистиллированной воды были приготовлены растворы и эмульсии состава FA, TW1, TW5, FF, TWFF1, XG.

3. Результаты и обсуждение

На Рисунке 1 представлена всхожесть семян, рассчитанная по уравнению (1), в зависимости от состава раствора/эмульсии.

Семена, обработанные дистиллированной водой (H₂O), были использованы в качестве контроля. Составы FF, TW1, TW5, CNaBSFL, TWBSFL1, TWBSFL2, TWBSFL3, TWBSFL4,

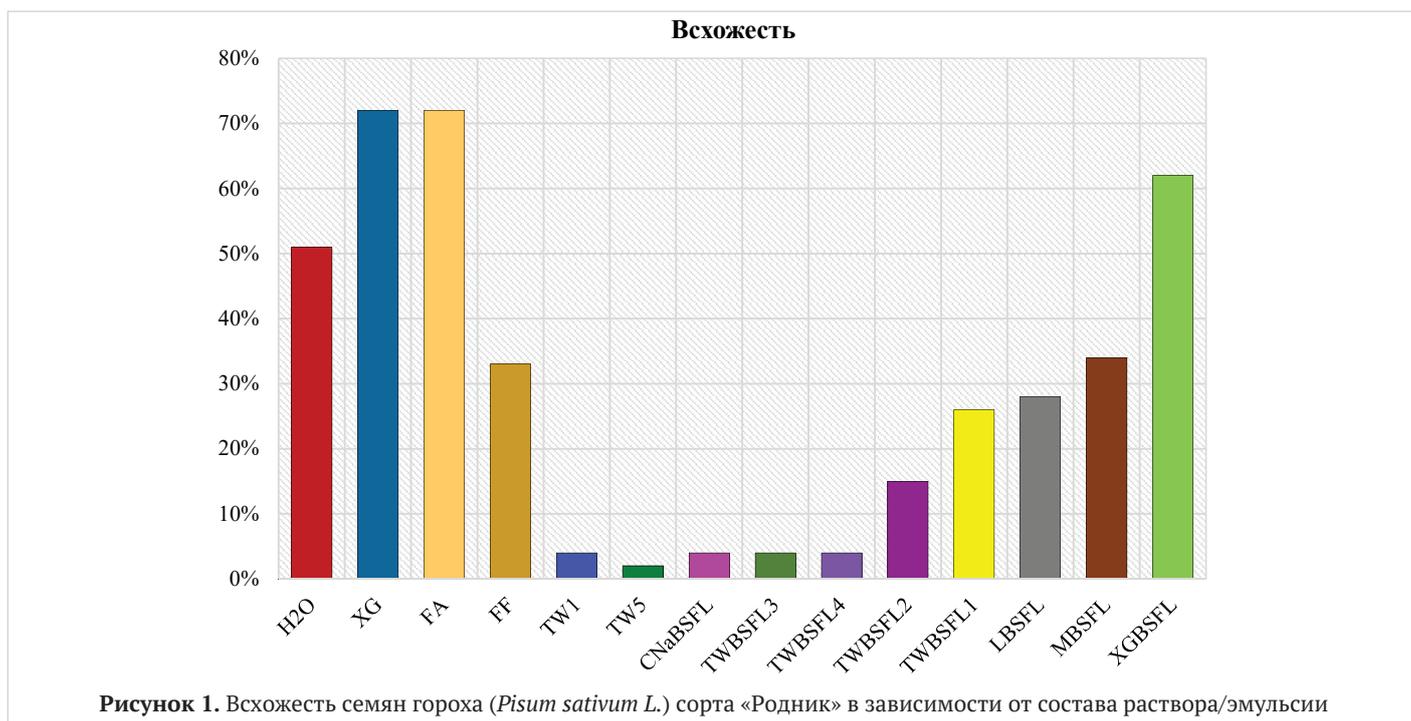


Рисунок 1. Всхожесть семян гороха (*Pisum sativum* L.) сорта «Родник» в зависимости от состава раствора/эмульсии

LBSFL, MBSFL, XGBSFL ингибировали прорастание семян, значительно снижая их всхожесть по сравнению с контрольным образцом. Более того, применение составов TWBSFL5 и TWFF1 привело к полному подавлению прорастания семян гороха (*Pisum sativum L.*), поэтому эти данные не представлены на Рисунках 1–4. Подавление роста может быть связано с высокой концентрацией (5 масс.%) Tween 20, который обладает токсичностью по отношению к развивающимся клеткам живых организмов, стимулируя апоптоз (разрушение) клеток [19]. Более того, всхожесть семян, обработанных эмульсией жира личинок Черной львинки (*Hermetia illucens*) (TWBSFL5), была ниже, чем у семян, обработанных только раствором Tween 20 (TW5). Высокая концентрация жира насекомых (5 масс.%), а также наличие олеиновой и линолевой кислот в его составе, могут подавлять активность гормона гиббереллина, влияющего на рост и развитие растений [16]. С другой стороны, небольшая добавка (1–2 масс.%) жира личинок Черной львинки (*Hermetia illucens*) снизила негативное воздействие Tween 20 на прорастание семян.

Наиболее высокой способностью к прорастанию обладали семена, обработанные составами XG и FA. По результатам эксперимента, всхожесть семян, обработанных данными составами, была на 22% выше, чем у контрольного образца. Обработка семян составом XGBSFL привела к увеличению всхожести на 12%, по сравнению с контрольным образцом. Фульвовая кислота в небольших концентрациях (0,3–0,9 масс.%) может оказывать стимулирующее воздействие на всхожесть и рост растений за счет увеличения активности фермента амилазы, содержащейся в семенах растений [20]. Амилаза оказывает влияние на дыхание растений, что приводит к ускорению метаболизма растений.

Стимулирующий эффект ксантановой камеди, вероятно, связан с влагоудерживающими свойствами ее растворов [21]. Снижение испарения влаги приводит к более эффективному обеспечению семян водой в процессе прорастания. Тем не менее добавление жира личинок Черной львинки (*Hermetia illucens*) привело к снижению всхожести семян на 10%, по сравнению с раствором ксантановой камеди без добавления жира насекомых.

Все составы показали снижение энергии прорастания на третьи сутки, по сравнению с контрольным образцом (данные не представлены).

На Рисунке 2 изображена гистограмма энергии прорастания семян на шестые сутки эксперимента, рассчитанная согласно уравнениям (2 и 3), в зависимости от состава раствора/эмульсии.

На шестой день эксперимента энергия прорастания семян, обработанных XGBSFL и XG, превысила энергию прорастания семян контрольного образца на 26–30%. Ксантановая камедь, входящая в состав этих растворов, способствует более эффективному поглощению питательных веществ растениями и увеличивает биомассу растений [22,23]. Фульвовая кислота (FF) усилила энергию прорастания на 14%, по сравнению с контрольным образцом. Энергия прорастания семян, обработанных MBSFL, имела такой же показатель, что и у контрольного образца.

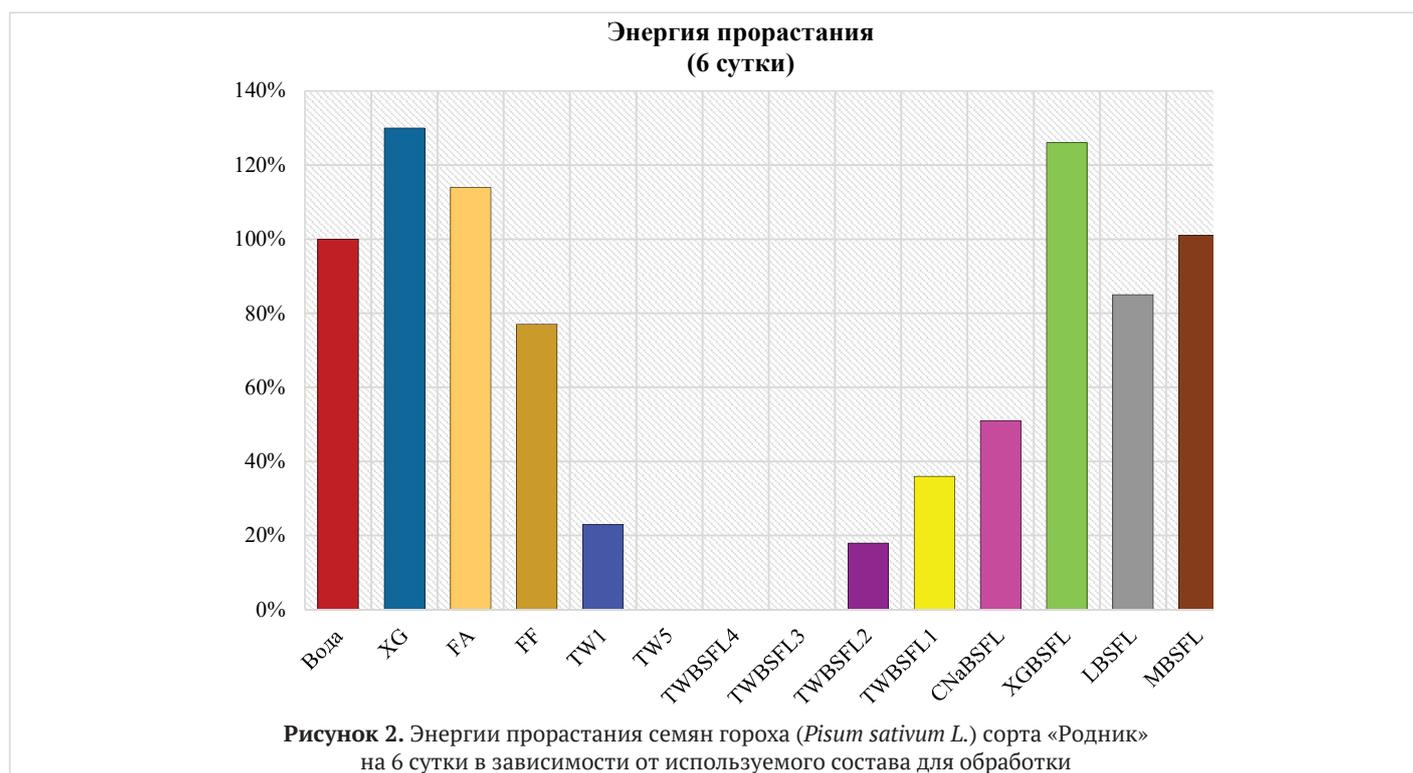
Все остальные составы показали ингибирование роста по сравнению с контрольным образцом.

На Рисунке 3 представлена гистограмма энергии прорастания семян на девятые сутки эксперимента, которая была рассчитана согласно уравнениям (2 и 3), в зависимости от состава раствора/эмульсии.

Обработка семян раствором, содержащим в своем составе ксантановую камедь, привела к увеличению энергии прорастания на 70%. Энергия прорастания семян, обработанных MBSFL, была выше контрольного образца на 10%. В работе [24] использование микроцеллюлозы в качестве связующего биополимера для гранулирования семян проса не оказало негативного влияния на всхожесть и энергию прорастания семян.

Все семена, обработанные растворами или эмульсиями, содержащими Tween 20, показали практически полное ингибирование роста. При этом выраженность эффекта зависела от концентрации Tween 20: энергия прорастания снижалась при увеличении его содержания в растворе/эмульсии для обработки семян.

Фульвовая кислота влияет на ключевые метаболические механизмы растений, увеличивая проницаемость клеток и поглощение ими питательных веществ [25]. В то же время



Энергия прорастания
(9 сутки)

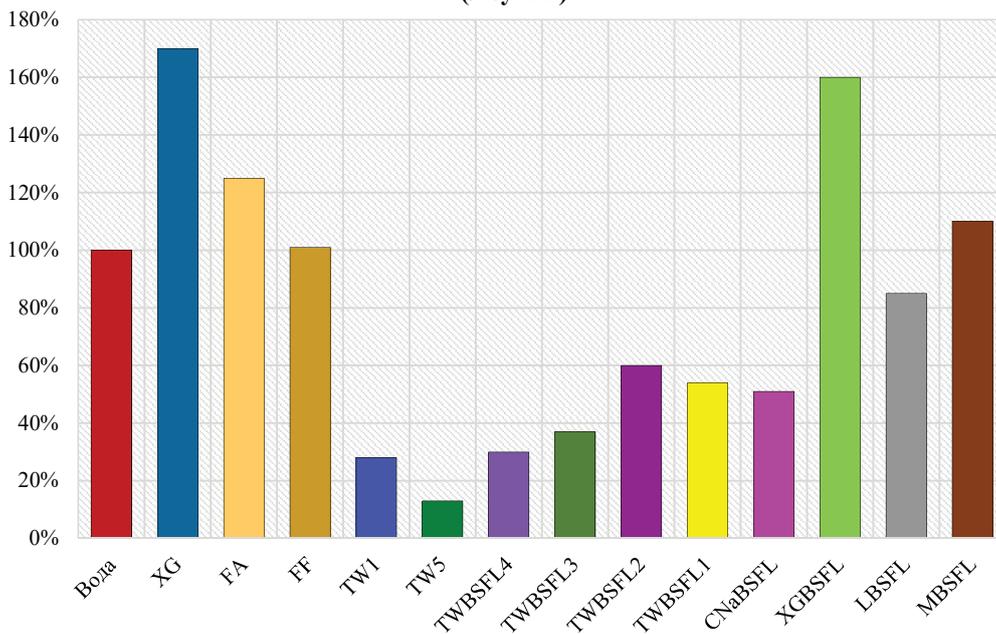


Рисунок 3. Энергии прорастания семян гороха (*Pisum sativum L.*) сорта «Родник» на 9 сутки в зависимости от используемого состава для обработки

фульвовая кислота содержит функциональные группы –ОН и –COOH, которые могут разрушать клеточную мембрану микроорганизмов [26]. В случае с семенами гороха (*Pisum sativum L.*) обработка 1 масс.% раствором фульвовой кислоты привела к увеличению энергии прорастания на 25%, по сравнению с контрольным образцом.

Эмульсии жира личинок Черной львинки и рыбьего жира с добавлением Tween 20 проявили ингибирующие свойства на всхожесть и развитие семян, снизив энергию прорастания до 0–18%. Выраженный ингибирующий эффект вероятнее всего связан с высокой концентрацией Tween 20 в составе эмульсии, который способен разрушать клеточную стенку семени, проявляя детергирующие свойства [19].

4. Заключение

В работе было определено влияние различных растворов и эмульсий на всхожесть и энергию прорастания семян го-

роха (*Pisum sativum L.*). Было установлено, что использование ксантановой камеди для проращивания семян приводит к увеличению всхожести и энергии прорастания семян на 25% и 70% соответственно. Добавка жира личинок Черной львинки (*Hermetia illucens*) несколько снижала стимулирующий эффект ксантановой камеди. Влияние ксантановой камеди на всхожесть и развитие семян было значительно выше по сравнению с фульвовой кислотой, которая является известным стимулятором роста растений.

С другой стороны, использование Tween 20 концентрацией 1–5 масс.% в качестве эмульгатора для жира личинок Черной львинки (*Hermetia illucens*) привело к полному подавлению развития семян. Лецитин, казеинат натрия и микроцеллюлоза, использованные как эмульгаторы и стабилизаторы эмульсий жира личинок Черной львинки (*Hermetia illucens*), также привели к снижению всхожести и энергии прорастания.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Российский рынок гороха — тенденции и прогнозы. Электронный ресурс <https://agrovesti.net/lib/industries/beans/rossijskij-rynok-gorokhatendentsii-i-prognozy.html> Дата доступа 30.10.2021
2. Давлетов, Ф. А. (2006). Влияние погодных условий на формирование урожая и качество зерна гороха. *Вестник Российской академии сельскохозяйственных наук*, 3, 24–25.
3. Li, Y., Gan, Y., Lupwayi, N., Hamel, C. (2019). Influence of introduced arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus sources on plant traits, soil properties, and rhizosphere microbial communities in organic legume-flax rotation. *Plant and Soil*, 443(1–2), 87–106. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04213-8>
4. Bai, L.-Y., Zeng, X.-B., Li, L.-F., Pen, C., Li, S.-H. (2010). Effects of land use on heavy metal accumulation in soils and sources analysis. *Agricultural Sciences in China*, 9(11), 1650–1658. [https://doi.org/10.1016/S1671-2927\(09\)60262-5](https://doi.org/10.1016/S1671-2927(09)60262-5)
5. Borrelli, L., Varriale, L., Dipineto, L., Pace, A., Menna, L. F., Fioretti, A. (2021). Insect derived lauric acid as promising alternative strategy to antibiotics in the antimicrobial resistance scenario. *Frontiers in Microbiology*, 12, Article 620798. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.620798>
6. Matthäus, B., Piofczyk, T., Katz, H., Pudiel, F. (2019). Renewable resources from insects: Exploitation, properties, and refining of fat obtained by cold-pressing from hermetia illucens (black soldier fly) larvae. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121(7), Article 1800376. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201800376>
7. Kitahara, T., Aoyama, Y., Hirakata, Y., Kamihira, S., Kohno, S., Ichikawa, N. et al. (2006). In vitro activity of lauric acid or myristylamine in combination with six antimicrobial agents against methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA). *International Journal of Antimicrobial Agents*, 27(1), 51–57. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.08.020>
8. Basu, S., Luthra, J., Nigam, K. D. P. (2002). The effects of surfactants on adhesion, spreading, and retention of herbicide droplet on the surface of the leaves and seeds. *Journal of Environmental Science and Health — Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 37(4), 331–344. <https://doi.org/10.1081/pfc-120004474>
9. Arechabala, B., Coiffard, C., Rivalland, P., L. J. M. Coiffard, L.J.M., de Roeck-Holtzhauer, Y. (1999). Comparison of cytotoxicity of various surfactants tested on normal human fibroblast cultures using the neutral red test, MTT assay and LDH release. *Journal of Applied Toxicology*, 19(3), 163–165. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1099-1263\(199905/06\)19:33.0.co;2-h](https://doi.org/10.1002/(sici)1099-1263(199905/06)19:33.0.co;2-h)
10. Hurtt, W., Hodgson, R. H. (1987). Effects of nonionic surfactants, temperature, and light on germination of weed seeds. *Weed Science*, 35(1), 52–57. <https://doi.org/10.1017/s0043174500026771>
11. Jolly, M., Vidal, R., Marchand, P. A. (2018). Lecithins: a food additive valuable for antifungal crop protection. *International Journal of Economic Plants*, 5(3), 104–107. <http://dx.doi.org/10.23910/ijep.2018.5.3.0243>
12. Patil, S. V., Salunke, B. K., Patil, C. D., Salunke, R. B. (2011). Studies on amendment of different biopolymers in sandy loam and their effect on

- germination, seedling growth of gossypium herbaceum L. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 163(6), 780–791. <https://doi.org/10.1007/s12010-010-9082-1>
13. Bhardwaj, A, Verma, S.C., Bharat, N. K., Thakur, M. (2013). Effect of vegetable oil seed treatment on seed mycoflora of pea, *Pisum sativum* L. *International Journal of Farm Sciences*, 3(2), 46–51.
 14. Hall, J. S., Harman, G. E. (1991). Efficacy of oil treatments of legume seeds for control of aspergillus and zabrotes. *Crop Protection*, 10(4), 315–319. [https://doi.org/10.1016/0261-2194\(91\)90012-G](https://doi.org/10.1016/0261-2194(91)90012-G)
 15. Singh, S. R., Luse, R. A., Leuschner, K., Nangju, D. (1978). Groundnut oil treatment for the control of callosobruchus maculatus (F.) during cowpea storage. *Journal of Stored Products Research*, 14(2–3), 77–80. [https://doi.org/10.1016/0022-474X\(78\)90001-2](https://doi.org/10.1016/0022-474X(78)90001-2)
 16. Klein, J. D., Hebbe, Y. (1995). Effect of the treatment of wheat seeds with vegetable oils on germination and emergence. *Experimental Agriculture*, 31(3), 291–298. <https://doi.org/10.1017/S0014479700025461>
 17. Saied, H. (2019). Effect of spraying fish oil and glutathione on fruiting of ewaise mango trees grown under sandy soil. *Hortscience Journal of Suez Canal University*, 8(1), 95–108. <https://doi.org/10.21608/hjsc.2019.69701>
 18. Martins De Lima-Salgado, T., Coccuzo Sampaio, S., Fernanda Cury-Boaventura, M., Curi, R. (2011). Modulatory effect of fatty acids on fungicidal activity, respiratory burst and TNF- α and IL-6 production in J774 murine macrophages. *British Journal of Nutrition*, 105(8), 1173–1179. <https://doi.org/10.1017/S0007114510004873>
 19. Eskandani, M., Hamishehkar, H., Dolatabadi, J.E.N. (2013). Cyto/Genotoxicity study of polyoxyethylene (20) sorbitan monolaurate (Tween 20). *DNA and Cell Biology*, 32(9), 498–503. <https://doi.org/10.1089/dna.2013.2059>
 20. Qin, Y., Zhu, H., Zhang, M., Zhang, H., Xiang, C., Li, B. (2016). GC–MS analysis of membrane-graded fulvic acid and its activity on promoting wheat seed germination. *Molecules*, 21(10), Article 1363. <https://doi.org/10.3390/molecules21101363>
 21. Jain, R., Babbar, S. B. (2006). Xanthan gum: An economical substitute for agar in plant tissue culture media. *Plant Cell Reports*, 25(2), 81–84., <https://doi.org/10.1007/s00299-005-0039-8>
 22. Coelho, N, Filipe A., Medronho, B., Magalhães, S., Vitorino, C., Alves, L. et al. (2021). Rheological and Microstructural Features of Plant Culture Media Doped with Biopolymers: Influence on the Growth and Physiological Responses of In Vitro-Grown Shoots of *Thymus lotocephalus*. *Polysaccharides*, 2(2), 538–553. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides2020032>
 23. Liu, Y., Zhu, Y., Wang, Y., Quan, Z., Zong, L., Wang, A. (2021). Synthesis and application of eco-friendly superabsorbent composites based on xanthan gum and semi-coke. *International Journal of Biological Macromolecules*, 179, 230–238. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.03.007>
 24. Peske, F. B., Novembre, A. D. L. C. (2011). Pearl millet seed pelleting. [Peletização de Sementes de Milheto] *Revista Brasileira De Sementes*, 33(2), 352–362. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222011000200018>
 25. Priya, B.N.V., Mahavishnan, K., Gurumurthy, D.S., Bindumadhava, H., Upadhyay, A.P., Sharma, N.K. (2014). Fulvic Acid (FA) for Enhanced Nutrient Uptake and Growth: Insights from Biochemical and Genomic Studies. *Journal of Crop Improvement*, 28(6), 740–757. <https://doi.org/10.1080/15427528.2014.923084>
 26. Wu, M., Song, M., Liu, M., Jiang, C., Li, Z. (2016). Fungicidal activities of soil humic/fulvic acids as related to their chemical structures in greenhouse vegetable fields with cultivation chronosequence. *Scientific Reports*, 6, Article 32858. <https://doi.org/10.1038/srep32858>

REFERENCES

1. The Russian pea market – trends and forecasts. Retrieved from <https://agrovesti.net/lib/industries/beans/rossijskij-rynok-gorokha-tendentsii-i-prognozy.html> Accessed October 30, 2021 (In Russian)
2. Davletov, F.A. (2006). The influence of weather conditions on the formation of the crop and the quality of pea grain. *Vestnik of the Russian agricultural sciences*, 3, 24–25. (In Russian)
3. Li, Y., Gan, Y., Lupwayi, N., Hamel, C. (2019). Influence of introduced arbuscular mycorrhizal fungi and phosphorus sources on plant traits, soil properties, and rhizosphere microbial communities in organic legume-flax rotation. *Plant and Soil*, 443(1–2), 87–106. <https://doi.org/10.1007/s11104-019-04213-8>
4. Bai, L. -Y., Zeng, X. -B., Li, L. -F., Pen, C., Li, S. -H. (2010). Effects of land use on heavy metal accumulation in soils and sources analysis. *Agricultural Sciences in China*, 9(11), 1650–1658. [https://doi.org/10.1016/S1671-2927\(09\)60262-5](https://doi.org/10.1016/S1671-2927(09)60262-5)
5. Borrelli, L., Varriale, L., Dipineto, L., Pace, A., Menna, L. F., Fioretti, A. (2021). Insect derived lauric acid as promising alternative strategy to antibiotics in the antimicrobial resistance scenario. *Frontiers in Microbiology*, 12, Article 620798. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.620798>
6. Matthäus, B., Piofczyk, T., Katz, H., Pudiel, F. (2019). Renewable resources from insects: Exploitation, properties, and refining of fat obtained by cold-pressing from hermetia illucens (black soldier fly) larvae. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 121(7), Article 1800376. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201800376>
7. Kitahara, T., Aoyama, Y., Hirakata, Y., Kamihira, S., Kohno, S., Ichikawa, N. et al. (2006). In vitro activity of lauric acid or myristylamine in combination with six antimicrobial agents against methicillin-resistant staphylococcus aureus (MRSA). *International Journal of Antimicrobial Agents*, 27(1), 51–57. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2005.08.020>
8. Basu, S., Luthra, J., Nigam, K. D. P. (2002). The effects of surfactants on adhesion, spreading, and retention of herbicide droplet on the surface of the leaves and seeds. *Journal of Environmental Science and Health – Part B Pesticides, Food Contaminants, and Agricultural Wastes*, 37(4), 331–344. <https://doi.org/10.1081/pfc-120004474>
9. Arechabala, B., Coiffard, C., Rivalland, P., L. J. M. Coiffard, L.J.M., de Roeck-Holtzhauer, Y. (1999). Comparison of cytotoxicity of various surfactants tested on normal human fibroblast cultures using the neutral red test, MTT assay and LDH release. *Journal of Applied Toxicology*, 19(3), 163–165. [https://doi.org/10.1002/\(sici\)1099-1263\(199905\)19:3:163::aid-jat1099-1263\(199905\)19:3:1.0.co;2-h](https://doi.org/10.1002/(sici)1099-1263(199905)19:3<163::aid-jat1099-1263(199905)19:3:1.0.co;2-h)
10. Hurtt, W., Hodgson, R. H. (1987). Effects of nonionic surfactants, temperature, and light on germination of weed seeds. *Weed Science*, 35(1), 52–57. <https://doi.org/10.1017/s0043174500026771>
11. Jolly, M., Vidal, R., Marchand, P. A. (2018). Lecithins: a food additive valuable for antifungal crop protection. *International Journal of Economic Plants*, 5(3), 104–107. <http://dx.doi.org/10.23910/ijep/2018.5.3.0243>
12. Patil, S. V., Salunke, B. K., Patil, C. D., Salunkhe, R. B. (2011). Studies on amendment of different biopolymers in sandy loam and their effect on germination, seedling growth of gossypium herbaceum L. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 163(6), 780–791. <https://doi.org/10.1007/s12010-010-9082-1>
13. Bhardwaj, A, Verma, S.C., Bharat, N. K., Thakur, M. (2013). Effect of vegetable oil seed treatment on seed mycoflora of pea, *Pisum sativum* L. *International Journal of Farm Sciences*, 3(2), 46–51.
14. Hall, J. S., Harman, G. E. (1991). Efficacy of oil treatments of legume seeds for control of aspergillus and zabrotes. *Crop Protection*, 10(4), 315–319. [https://doi.org/10.1016/0261-2194\(91\)90012-G](https://doi.org/10.1016/0261-2194(91)90012-G)
15. Singh, S. R., Luse, R. A., Leuschner, K., Nangju, D. (1978). Groundnut oil treatment for the control of callosobruchus maculatus (F.) during cowpea storage. *Journal of Stored Products Research*, 14(2–3), 77–80. [https://doi.org/10.1016/0022-474X\(78\)90001-2](https://doi.org/10.1016/0022-474X(78)90001-2)
16. Klein, J. D., Hebbe, Y. (1995). Effect of the treatment of wheat seeds with vegetable oils on germination and emergence. *Experimental Agriculture*, 31(3), 291–298. <https://doi.org/10.1017/S0014479700025461>
17. Saied, H. (2019). Effect of spraying fish oil and glutathione on fruiting of ewaise mango trees grown under sandy soil. *Hortscience Journal of Suez Canal University*, 8(1), 95–108. <https://doi.org/10.21608/hjsc.2019.69701>
18. Martins De Lima-Salgado, T., Coccuzo Sampaio, S., Fernanda Cury-Boaventura, M., Curi, R. (2011). Modulatory effect of fatty acids on fungicidal activity, respiratory burst and TNF- α and IL-6 production in J774 murine macrophages. *British Journal of Nutrition*, 105(8), 1173–1179. <https://doi.org/10.1017/S0007114510004873>
19. Eskandani, M., Hamishehkar, H., Dolatabadi, J.E.N. (2013). Cyto/Genotoxicity study of polyoxyethylene (20) sorbitan monolaurate (Tween 20). *DNA and Cell Biology*, 32(9), 498–503. <https://doi.org/10.1089/dna.2013.2059>
20. Qin, Y., Zhu, H., Zhang, M., Zhang, H., Xiang, C., Li, B. (2016). GC–MS analysis of membrane-graded fulvic acid and its activity on promoting wheat seed germination. *Molecules*, 21(10), Article 1363. <https://doi.org/10.3390/molecules21101363>
21. Jain, R., Babbar, S. B. (2006). Xanthan gum: An economical substitute for agar in plant tissue culture media. *Plant Cell Reports*, 25(2), 81–84., <https://doi.org/10.1007/s00299-005-0039-8>
22. Coelho, N, Filipe A., Medronho, B., Magalhães, S., Vitorino, C., Alves, L. et al. (2021). Rheological and Microstructural Features of Plant Culture Media Doped with Biopolymers: Influence on the Growth and Physiological Responses of In Vitro-Grown Shoots of *Thymus lotocephalus*. *Polysaccharides*, 2(2), 538–553. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides2020032>
23. Liu, Y., Zhu, Y., Wang, Y., Quan, Z., Zong, L., Wang, A. (2021). Synthesis and application of eco-friendly superabsorbent composites based on xanthan gum and semi-coke. *International Journal of Biological Macromolecules*, 179, 230–238. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.03.007>
24. Peske, F. B., Novembre, A. D. L. C. (2011). Pearl millet seed pelleting. [Peletização de Sementes de Milheto] *Revista Brasileira De Sementes*, 33(2), 352–362. <https://doi.org/10.1590/S0101-31222011000200018>
25. Priya, B.N.V., Mahavishnan, K., Gurumurthy, D.S., Bindumadhava, H., Upadhyay, A.P., Sharma, N.K. (2014). Fulvic Acid (FA) for Enhanced Nutrient Uptake and Growth: Insights from Biochemical and Genomic Studies. *Journal of Crop Improvement*, 28(6), 740–757. <https://doi.org/10.1080/15427528.2014.923084>
26. Wu, M., Song, M., Liu, M., Jiang, C., Li, Z. (2016). Fungicidal activities of soil humic/fulvic acids as related to their chemical structures in greenhouse vegetable fields with cultivation chronosequence. *Scientific Reports*, 6, Article 32858. <https://doi.org/10.1038/srep32858>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p>Рубан Альбина Алексеевна — лаборант-исследователь, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок 191014, Санкт-Петербург, Литейный пр., 55 Тел.: +7-931-252-83-55 E-mail: albinaruban98@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9289-4010 * автор для контактов</p>	<p>Albina A. Ruban, Laboratory assistant-researcher, All-Russian Research Institute for Food Additives 55, Liteiny pr., 191014, St. Petersburg, Russia Tel.: +7-931-252-83-55 E-mail: albinaruban98@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9289-4010 * corresponding author</p>
<p>Новикова (Захарова) Мария Вячеславовна — кандидат технических наук, младший научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок 191014, Санкт-Петербург, Литейный пр., 55 Тел.: +7-812-273-41-08 E-mail: mariazakharova@bk.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4195-0649</p>	<p>Mariia V. Novikova (Zakharova), Candidate of Technical Sciences, Research Senior, All-Russian Research Institute for Food Additives 55, Liteiny pr., 191014, St. Petersburg, Russia Tel.: +7-812-273-41-08 E-mail: mariazakharova@bk.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4195-0649</p>
<p>Лоскутов Святослав Игоревич — кандидат сельскохозяйственных наук, старший научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок 191014, Санкт-Петербург, Литейный пр., 55 Тел.: +7-812-273-41-08 E-mail: spbsl21@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8102-2900</p>	<p>Svyatoslav I. Loskutov, Candidate of Agricultural Sciences, Research Fellow, All-Russian Research Institute for Food Additives 55, Liteiny pr., 191014, St. Petersburg, Russia Tel.: +7-812-273-41-08 E-mail: spbsl21@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-8102-2900</p>
<p>Костин Антон Алексеевич — кандидат химических наук, старший научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт пищевых добавок 191014, Санкт-Петербург, Литейный пр., 55 Тел.: +7-812-273-41-08 E-mail: egresso@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4978-514X</p>	<p>Anton A. Kostin, Candidate of Chemical Sciences, Research Senior, All-Russian Research Institute for Food Additives 55, Liteiny pr., 191014, St. Petersburg, Russia Tel.: +7-812-273-41-08 E-mail: egresso@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4978-514X</p>
Критерии авторства	Contribution
<p>Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.</p>	<p>Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.</p>
Конфликт интересов	Conflict of interest
<p>Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.</p>	<p>The authors declare no conflict of interest.</p>