

Volume 5, Issue 4, 2022

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 28.12.2022.
Дата выхода в свет 30.12.2022.
Тираж 300 экз. Заказ № 446.

16+

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

© ФНЦПС, 2022
© Авторы, 2022

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, Адьюнкт-директор, Институт гигиены и технологии мяса, Белград, Сербия

Такеда Широ — Адьюнкт-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, химических 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@fncps.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 28.12.2022.

Released from press 30.12.2022.

Circulation — 300 copies. Order № 446.

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

© FNCPS, 2022
© Authors, 2022

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

Витол И. С., Мелешкина Е. П., Панкратов Г. Н. ОТРУБИ ИЗ КОМПОЗИТНОЙ ЗЕРНОСМЕСИ КАК ОБЪЕКТ ГЛУБОКОЙ ПЕРЕРАБОТКИ. ЧАСТЬ 1. БЕЛКОВО-ПРОТЕИНАЗНЫЙ КОМПЛЕКС.....	282
Долганюк В. Ф., Каширских Е. В., Буденкова Е. А., Андреева А. П., Сухих С. А. ИССЛЕДОВАНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ И ПАРАМЕТРОВ РОСТА ПСИХРОФИЛЬНЫХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ И ЦИАНОБАКТЕРИЙ	289
Крикунова Л. Н., Ульянова Е. В., Томгорова С. М., Андриевская Д. В., Трофимченко В. А. РАЗРАБОТКА ИДЕНТИФИКАЦИОННЫХ КРИТЕРИЕВ ПЛОДОВЫХ ВОДОК (ЧАСТЬ 1. СПОСОБЫ ПРОБОПОДГОТОВКИ)	298
Igor T. Smykov NEORNOBIA: SOCIO-ETHICAL PROBLEMS OF INNOVATIVE TECHNOLOGIES OF THE FOOD INDUSTRY	308
Абрамова Л. С., Козин А. В., Гусева Е. С. ПРОБЛЕМА ФАЛЬСИФИКАЦИИ ЗЕРНИСТОЙ ИКРЫ ЛОСОСЕВЫХ РЫБ И ПУТИ РЕШЕНИЯ	319
Bénédictine Paul URBAN AGRICULTURAL ACTIVITIES, A FOOD SYSTEM RESILIENCE STRATEGY DURING COVID-19 IN HAÏTI.....	327
Донская Г. А., Креккер Л. Г. ВЛИЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ НА АНТИОКСИДАНТНУЮ АКТИВНОСТЬ БИОМАССЫ СИМБИОТИЧЕСКОЙ ЗАКВАСКИ	337
Свириденко Г. М., Комарова Т. В., Ускова Е. Е. ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТАВА ОСТАТОЧНОЙ МИКРОФЛОРЫ МОЛОКА ПОСЛЕ ПАСТЕРИЗАЦИИ	344
Юрова Е. А., Ананьева Н. В. ПРАКТИКА ПРИМЕНЕНИЯ И ОСОБЕННОСТИ КОНТРОЛЯ ОЛИГОСАХАРИДОВ В ПРОИЗВОДСТВЕ ПРОДУКТОВ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОГО ПИТАНИЯ. ОБЗОР...	353
Мордвинова В. А., Топникова Е. В., Данилова Е. С., Остроухова И. Л. ВЛИЯНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ В ЖИРОВОЙ ФАЗЕ НА ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА ПОЛУТВЕРДЫХ И ТВЕРДЫХ СЫРОВ	361
Панасюк А. Л., Свиридов Д. А., Шилкин А. А. УСТАНОВЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ РАСТИТЕЛЬНЫХ МАСЕЛ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА ИЗОТОПНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ	369
Гуринович Г. В., Хренов В. А., Патракова И. С., Патшина М. В. ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СПОСОБОВ ТЕПЛОВОЙ ОБРАБОТКИ НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГОВЯДИНЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЕХНОЛОГИИ СОЗРЕВАНИЯ	376

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-282-288>



Поступила 28.06.2022

Поступила после рецензирования 05.10.2022

Принята в печать 10.10.2022

© Витол И. С., Мелешкина Е. П., Панкратов Г. Н., 2022

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

Научная статья

Open access

ОТРУБИ ИЗ КОМПОЗИТНОЙ ЗЕРНОСМЕСИ КАК ОБЪЕКТ ГЛУБОКОЙ ПЕРЕРАБОТКИ. ЧАСТЬ 1. БЕЛКОВО-ПРОТЕИНАЗНЫЙ КОМПЛЕКС

Витол И. С.*, Мелешкина Е. П., Панкратов Г. Н.

Всероссийский научно-исследовательский институт зерна и продуктов его переработки, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

пшеница, чечевица, лен, поликомпонентные отруби, белково-протеиназный комплекс, нейтральные и кислые протеиназы, белковые ингибиторы протеиназ

АННОТАЦИЯ

Глубокая переработка зерновых отрубей — важное, перспективное направление, позволяющее использовать побочные (вторичные) продукты мукомольного производства с целью получения ценных пищевых компонентов для создания обогащенных пищевых продуктов, а также специализированных продуктов на зерновой основе. Поликомпонентные отруби, полученные при совместной переработке зерновых (пшеница), бобовых (чечевица) и маслических (лен) культур, по своему химическому составу и состоянию белково-протеиназного комплекса представляют уникальное сырье, которое можно использовать для дальнейшей переработки. В частности, оно пригодно для применения с целью получения гидролизатов и других структурно-модифицированных продуктов с использованием методов ферментативного биокатализа. Оценка химического состава и биохимических особенностей новых видов отрубей показала высокое содержание белка, в котором преобладает доля альбумино-глобулиновой фракции (78,5–86%), при этом существенная часть белка (7,6–10%) прочно связана с другими биополимерами. Выделены и исследованы протеолитические ферменты отрубей, действующие в нейтральной (рН 6,8) и кислой (рН 3,8) зонах рН. Показано, что чечевично-льняные отруби характеризуются наибольшей протеолитической активностью, при этом активность нейтральных протеиназ превышает активность кислых протеиназ во всех трех вариантах: в 1,32; 1,37 и 1,56 раза соответственно. Установлено, что во всех исследуемых отрубях присутствуют белковые ингибиторы трипсина и собственных протеиназ. Они подавляют активность кислых протеиназ в большей степени, чем нейтральных (% ингибирования): 37,5 против 28,2 (вариант 1); 32,3 против 24,5 (вариант 2); 48,6 против 32,4 (вариант 3). Молекулярная масса, по данным гель-хроматографии, составила: нейтральные протеиназы 250 000 ÷ 200 000 Да, кислые протеиназы 100 000 ÷ 75 000 Да. Белковые ингибиторы, выделенные из поликомпонентных отрубей, имели молекулярную массу 25 000 ÷ 20 000 Да. Полученные данные будут использованы в экспериментальных исследованиях, по направленному биокатализу с целью получения продуктов заданного состава и свойств.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию № FGUS-2022-0006 Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук.

Received 28.06.2022

Accepted in revised 05.10.2022

Accepted for publication 10.10.2022

© Vitol I. S., Meleshkina E. P., Pankratov G. N., 2022

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

Original scientific article

Open access

BRAN FROM COMPOSITE GRAIN MIXTURE AS AN OBJECT OF DEEP PROCESSING. PART 1. PROTEIN-PROTEINASE COMPLEX

Irina S. Vitol*, Elena P. Meleshkina, Georgy N. Pankratov

All-Russian Scientific and Research Institute for Grain and Products of its Processing, Moscow, Russia

KEY WORDS:

wheat, lentil, flax, multicomponent bran, protein-proteinase complex, neutral and acid proteinases, protein inhibitors of proteinases

ABSTRACT

Deep processing of grain bran is an important, promising direction that allows the use of by-products (secondary products) of flour milling in order to obtain valuable food components for the creation of enriched food products, as well as specialized grain-based products. Polycomponent bran, obtained during the joint processing of cereals (wheat), legumes (lentils) and oilseeds (flax), in terms of its chemical composition and the state of the protein-proteinase complex, is a unique raw material that can be used for further processing. In particular, it is suitable for the use in producing hydrolysates and other structurally modified products using enzymatic biocatalytic methods. An assessment of the chemical composition and biochemical characteristics of new types of bran showed a high protein content, in which the proportion of the albumin-globulin fraction predominated (78.5–86%), while a significant part of the protein (7.6–10%) was strongly bonded to other biopolymers. The bran proteolytic enzymes acting in the neutral (pH 6.8) and acidic (pH 3.8) pH zones were isolated and studied. It was shown that lentil-flax bran was characterized by the highest proteolytic activity, while the activity of neutral proteinases exceeded the activity of acid proteinases in all three variants: 1.32, 1.37 and 1.56 times, respectively. It was established that protein inhibitors of trypsin and their own proteinases were present in all studied bran types. They inhibited the activity of acid proteinases to a greater extent than neutral ones (% inhibition): 37.5 versus 28.2 (option 1); 32.3 versus 24.5 (option 2); 48.6 versus 32.4 (option 3). The molecular weight, according to gel chromatography,

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Витол, И. С., Мелешкина, Е. П., Панкратов, Г. Н. (2022). Отруби из композитной зерносмеси — как объект глубокой переработки. Часть 1. Белково-протеиназный комплекс. *Пищевые системы*, 5(4), 282–288. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-282-288>

FOR CITATION: Vitol, I. S., Meleshkina, E. P., Pankratov, G. N., (2022). Bran from composite grain mixture as an object of deep processing. Part 1. Protein-proteinase complex. *Food Systems*, 5(4), 282–288. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-282-288>

was as follows: neutral proteinases 250,000 ÷ 200,000 Da, acid proteinases 100,000 ÷ 75,000 Da. Protein inhibitors isolated from multicomponent bran had a molecular weight of 25,000–20,000 Da. The data obtained will be used in experimental studies on targeted biocatalysis in order to obtain products of a given composition and properties.

FUNDING: The article was published as part of the research topic No. FGUS-2022–0006 of the state assignment of the V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS.

1. Введение

В последние годы отмечается возросший интерес с научной и практической точек зрения к вторичным продуктам переработки зерна как к доступным и возобновляемым сырьевым ресурсам — перспективным источникам дополнительного сырья для получения полезных ингредиентов продуктов питания как общего, так и специализированного назначения.

Зерновые отруби представляют собой ценный продукт, богатый белком, клетчаткой, витаминами, макро- и микроэлементами, биологически активными минорными соединениями [1–5]. В настоящее время их использование в пищевых технологиях достаточно ограничено. Различные зерновые отруби (преимущественно пшеничные и ржаные) используют для обогащения клетчаткой отдельных видов хлебобулочных изделий, мультизерновых видов хлеба, их включают в состав поликомпонентных мучных смесей [6–18]. Кроме того, на рынке зерновые отруби представлены в виде самостоятельного продукта как в чистом виде, так и с различными добавками — сухофруктами, орехами и т. п. Наряду с этим активно разрабатываются способы применения различных зерновых отрубей в технологии дистиллятов [19,20], а также изучается возможность их использования как объекта для дальнейшей глубокой переработки, в частности, для получения пищевых волокон [21–23] и структурно-модифицированных отрубей с использованием ферментных препаратов целлюлолитического и протеолитического действия и композиций на их основе [1,2,18]. Использование продуктов глубокой переработки зерновых отрубей в различных отраслях пищевой индустрии позволит повысить пищевую и биологическую ценность конечных изделий и придать им функциональные свойства [1,2,21,23–29].

Разработка способов ферментативной модификации [1,2,30–34] биополимеров отрубей требует предварительного изучения состояния самого субстрата, в частности его белково-протеиназного комплекса, которое способно оказывать существенное влияние на условия проведения ферментативных реакций с использованием ферментных препаратов микробного происхождения. Изучение белково-протеиназного комплекса зерновых и бобовых культур наиболее активно проводилось в конце 70-х — середине 80-х годов XX века. Этому способствовало развитие методики и техники инструментальных методов исследования. Необходимость изучения белково-протеиназного комплекса зерновых и бобовых культур была связана не только со значительной физиологической ролью протеолитических ферментов (участие в процессах деградации запасных белков, в посттрансляционном процессинге белков, активации неактивных предшественников физиологически активных белков, пептидов и др.), но и с их участием в процессах хранения и переработки растительного сырья. Установлено, что кислые протеазы преимущественно участвуют в деградации запасных белков при прорастании, а нейтральные протеиназы зерна участвуют в протеолизе собственных белков в процессе хранения муки, тестоведения, влияя тем самым на качество хлеба и хлебобулочных изделий. Бобовые культуры по своей протеолитической активности превосходят злаковые культуры, а также содержат комплекс высокоактивных белковых ингибиторов пищеварительных ферментов (трип-

сина, химотрипсина), которые способны взаимодействовать с эндогенными протеиназами. Белковые ингибиторы протеолитических ферментов с одной стороны участвуют в регуляции протеолитической активности зерна в покое и при прорастании, а с другой — относятся к антиалиментарным факторам питания [35,36].

Во ВНИИ зерна и продуктов его переработки разработана технология совместного размола зерновой смеси на основе зерновых (пшеница), бобовых (чечевица) и масличных (белый лен) культур, побочным продуктом которой являются поликомпонентные отруби, представляющие ценное сырье для дальнейшей глубокой переработки [1,2,21,37].

Цель исследований — оценка химического состава и белково-протеиназного комплекса поликомпонентных зерновых отрубей для их дальнейшей глубокой переработки с использованием ферментной модификации.

2. Материалы и методы

Объектом исследования служили три вида поликомпонентных отрубей, полученных в результате совместного помола зерносмеси:

Вариант 1 — отруби, полученные в результате лабораторного помола трехкомпонентной зерновой смеси: пшеница (85%), семена чечевицы (10%) и льна (5%);

Вариант 2 — отруби, полученные в результате лабораторного помола трехкомпонентной зерновой смеси: крупа пшеничная шлифованная (85%), семена чечевицы (10%) и льна (5%).

Вариант 3 — отруби, полученные в результате совместного помола семян чечевицы (67%) и белого масличного льна (33%).

Общее содержание белка определяли по методу Кьельдаля ($N \times 6,25$) (ГОСТ 10846–91¹); количество жира — по Сокслету (ГОСТ 29033–91²); содержание крахмала — по Эверсу (ГОСТ 31675–2012³); клетчатки — по Кушнеру и Ганеку [38]. Растворимый белок определяли по методу Лоури; фракционный состав быстрорастворимых белков — по Осборну; активность протеаз — модифицированным методом Ансона [38].

Молекулярную массу эндогенных протеолитических ферментов и их белковых ингибиторов определяли методом гель-хроматографии на колонке (2,3×35), заполненной гелем Тоуорепар! HW-55F. Гель этой марки позволяет разделять белки с молекулярной массой от 1000 до 700000 Да. Предварительно колонку откалибровали для определения свободного ($V_{св.}$) и общего ($V_{общ.}$) объема колонки. Свободный объем определяли по выходу декстрана синего (молекулярная масса — около 2 млн Да), который составил 44 мл). Общий объем — по выходу тирозина, он составил 140 мл. Для определения молекулярной массы белков графическим методом колонку маркировали стандартными метчиками с известной молекулярной массой фирмы Merck (Германия) [39].

¹ ГОСТ 10846–91 «Зерно и продукты его переработки. Метод определения белка». Москва: Стандартинформ, 2009. — 9 с.

² ГОСТ 29033–91 «Зерно и продукты его переработки. Метод определения жира». Москва: ИПК «Издательство стандартов», 2009. — 6 с.

³ ГОСТ 10845–98 «Зерно и продукты его переработки. Метод определения крахмала». Москва: ИПК «Издательство стандартов», 2001. — 4 с.

Химический состав исходных компонентов зерносеми: пшеница/чечевица/лен (%): белок — 13,43/28,00/24,68; жир — 1,83/2,00/39,80; крахмал — 66,8/50,3/5,2; клетчатка — 2,2/10,5/15,0.

3. Результаты и их обсуждение

Поликомпонентные зерновые отруби, полученные при совместной переработке зерновых, бобовых и масличных культур, характеризуются не только высоким содержанием белка и жира по сравнению с пшеничными отрубями, но и уникальным составом этих биополимеров.

В Таблице 1 представлен химический состав исследуемых зерновых отрубей, согласно указанным выше вариантам.

Таблица 1. Химический состав поликомпонентных зерновых отрубей

Table 1. Chemical composition of polycomponent grain bran

Образец	Белок, %	Жир, %	Крахмал, %	Клетчатка, %
Вариант 1	19,30	6,4	45,50	15,0
Вариант 2	17,52	6,0	52,42	14,6
Вариант 3	28,31	12,9	28,50	17,3

Изучение фракционного состава растворимых белков отрубей как объекта для ферментативной модификации (глубокая переработка) представляет значительный интерес с позиции доступности белков для действия ферментных препаратов протеолитического действия, а также для выбора условий проведения ферментативных реакций с целью направленного воздействия и получения продуктов протеолиза определенного состава и свойств.

Для фракционирования белков по Осборну альбумины выделяли дистиллированной водой, глобулины — 10%-ным раствором NaCl, проламины — 70%-ным этанолом, глютенины — 0,2%-ным раствором NaOH.

Соотношение фракций растворимых белков отрубей представлено на Таблице 2.

Таблица 2. Фракционный состав растворимых белков поликомпонентных отрубей

Table 2. Fractional composition of soluble proteins of polycomponent bran

Образец	Фракционный состав растворимых белков, % от общего количества				
	альбу-мины	глобу-лины	прола-мины	глоте-лины	нераст-воримый остаток
Вариант 1	40,3	38,2	2,1	9,8	9,6
Вариант 2	38,6	40,4	2,0	11,4	7,6
Вариант 3	41	45	0	4	10,0

Данные, представленные в Таблице 2, свидетельствуют о существенном преобладании альбумино-глобулиновой фракции растворимых белков во всех исследуемых вариантах отрубей (78,5%, 79,0% и 86% соответственно); низком содержании спирторастворимых белков (2,0%) и полном их отсутствии в чечевично-льняных отрубях (вариант 3). Содержание белка в нерастворимом остатке (от 7,6 до 10%) указывает, что достаточно существенная часть белка прочно связана с другими биополимерами: с некрахмальными полисахаридами, липидами. Именно эти белки и являются в первую очередь дополнительным резервом при глубокой переработке с использованием композиций ферментных препаратов целлюлолитического и протеолитического действия.

Протеолитические ферменты в семенах злаковых и бобовых культур, как отмечалось выше, имеют разную активность, но они сосредоточены преимущественно в периферийных частях (алеуроном слое и зародыше). В связи с этим

их активность в отрубях превосходит активность в муке и цельнозерновом зерне.

Исследование активности эндогенных протеиназ проводили модифицированным методом Ансона, по начальной скорости реакции, и выражали количеством продуктов реакции не осаждаемых ТХУ и поглощающих при длине волны 280 нм. В качестве стандартного субстрата использовали сывороточный бычий альбумин. Инкубационная смесь состояла из 5 мл 0,5% раствора альбумина, 4 мл соответствующего буфера (для нейтральных протеиназ — 0,1 М фосфатный буфер с pH 6,8; для кислых протеиназ 0,1 М цитратный буфер с pH 3,8); 1,0 мл фермента. Фермент выделяли экстракцией 0,35% раствором соды с последующим осаждением протеаз подкислением до pH 4,5 и перерастворением осадка в соответствующем буфере. Время прединкубации составляло 15 мин при температуре 40 °С, ферментативную реакцию проводили в течение 20 мин при температуре 40 °С. Ранее было установлено, что в течение этого времени реакция идет по нулевому порядку, что соответствует начальной скорости ферментативной реакции, а температура 40 °С является оптимальной как для нейтральных, так и для кислых протеиназ.

Анализ полученных экспериментальных данных по активности эндогенных нейтральных и кислых протеиназ, извлекаемых 0,35%-ным раствором Na₂CO₃, при гидролизе стандартного субстрата (бычий сывороточный альбумин) свидетельствует, что наибольшие значения активности протеиназ обнаружены в образце двухкомпонентных отрубей, полученных при помолке бинарной смеси, состоящей из 67% семян чечевицы и 33% семян льна (вариант 3) (в среднем 0,750 и 0,480 ΔA₂₈₀/мг белка для нейтральных и кислых протеиназ соответственно). Для образцов трехкомпонентных отрубей, полученных по вариантам 1 и 2, активность протеиназ, действующих как в нейтральной, так и в кислой среде, в среднем на 19% и 25% выше для отрубей, которые были получены при помолке зерносеми из 85% зерна пшеницы, 10% семян чечевицы и 5% семян льна (вариант 1) (Рисунок 1).

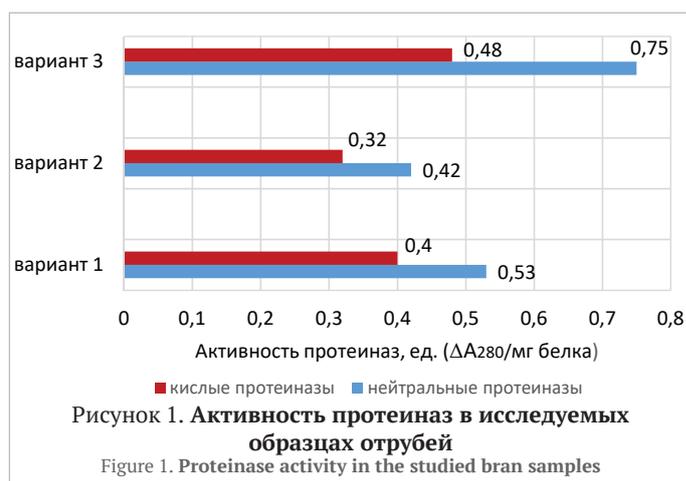


Рисунок 1. Активность протеиназ в исследуемых образцах отрубей

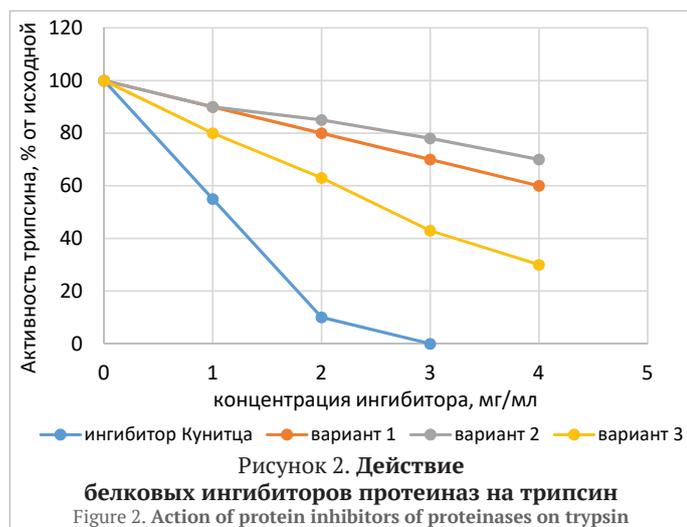
Figure 1. Proteinase activity in the studied bran samples

Белковые ингибиторы пищеварительных протеиназ (трипсина, химотрипсина) широко распространены в семенах злаковых (пшеница, рожь, тритикале, ячмень и др.) и особенно бобовых культур (соя, фасоль, горох, нут, чина и др.) [35,36,39,40]. В литературе имеются сведения о белковых ингибиторах протеиназ в семенах чечевицы, причем указывается на то, что в семенах чечевицы присутствует только ингибитор Кунитца (соевый ингибитор трипсина) и, что они не содержат белковых ингибиторов, подавляющих активность химотрипсина (ингибитор Баумана-Бирк). При этом активность белковых ингибиторов в семенах чече-

вицы значительно уступает их активности в семенах других бобовых культур, особенно соевых бобов [39,40].

Ингибирующую активность по отношению к трипсину определяли по остаточной активности трипсина. Белковые ингибиторы из исследуемых образцов отрубей выделяли водной экстракцией, подкислением до 4,5 (осаждение протеиназ); далее надосадочную жидкость подкисляли до pH 3,0, осаждая тем самым фракцию белковых ингибиторов. Исходную активность трипсина определяли модифицированным методом Ансона при pH 8,0, используя 0,1 М фосфатный буфер. Предынкубацию трипсина и предварительно нейтрализованной и разведенной с учетом конечной концентрации в инкубационной смеси надосадочной жидкости (белковые ингибиторы протеиназ) осуществляли в течение 20 мин при температуре 40 °С, затем вносили субстрат — 0,5% раствор бычьего сывороточного альбумина. Ингибирующую активность выражали в процентах от первоначальной активности трипсина.

Анализ представленных на Рисунке 2 данных свидетельствует о наличии в исследуемых отрубях белковых ингибиторов трипсина, однако они по своей активности значительно уступают соевому ингибитору трипсина (ингибитор Кунитца). Так, при концентрации 3,0 мг/мл ингибитор Кунитца полностью инактивирует трипсин, а белковые ингибиторы, выделенные из отрубей, соответственно на 28% (вариант 1), 30% (вариант 2) и 57% (вариант 3).



На следующем этапе были проведены аналогичные исследования по взаимодействию ингибиторов, выделенных из различных отрубей, с собственными протеолитическими ферментами. Данные, представленные в Таблице 3, свидетельствуют о том, что во всех исследуемых вариантах ингибиторы при концентрации 20,4 мг белка/мл более активно подавляют кислые протеиназы, по сравнению с нейтральными протеиназами. При этом наибольшая ингибирующая активность отмечена для чечевично-льняных отрубей (вариант 3). Однако во всех случаях ингибирующая активность не превышает 50%.

Таблица 4. Фракционирование эндогенных протеиназ и их белковых ингибиторов методом гель-хроматографии

Table 4. Fractionation of endogenous proteinases and their protein inhibitors by gel chromatography

Образец	Молекулярная масса, Дальтон				
	Протеиназы		Ингибиторы протеиназ		
	нейтральные	кислые	трипсина	нейтральных	кислых
Пшеница	75000÷50000	35000÷25000	15000÷10000	20000÷15000	25000÷15000
Чечевица	250000÷200000	100000÷75000	25000÷15000	25000÷20000	25000÷20000
Отруби	250000÷200000	100000÷75000	30000÷25000	25000÷20000	25000÷20000

Таблица 3. Активность белковых ингибиторов из поликомпонентных отрубей при действии на собственные протеиназы

Table 3. Activity of protein inhibitors from multicomponent bran when acting on their own proteinases

Фермент	Ингибирующая активность, %		
	Вариант 1	Вариант 2	Вариант 3
Кислые протеиназы	37,5	32,3	48,6
Нейтральные протеиназы	28,2	24,5	32,4

Оценка молекулярной массы исследуемых эндогенных протеиназ, действующих в нейтральной и кислой областях pH, а также из белковых ингибиторов из поликомпонентных отрубей, согласно представленным выше вариантам, проводилась с использованием методом гель-хроматографии на колонке с TSK-гелем Toyorearl HW-55F (Таблица 4). На колонку нанесли частично очищенные препараты протеиназ, полученных при подкислении до pH 4,5, и препараты белковых ингибиторов, полученные путем дальнейшего осаждения при pH 3,0.

Установлено, что молекулярная масса исследуемых протеиназ во всех вариантах варьируется в широких пределах от 250 000 до 25 000 Да. При этом данный метод позволяет разделить нейтральные протеиназы отрубей (молекулярная масса 250 000 ÷ 200 000 Да) и кислые протеиназы (молекулярная масса 100 000 ÷ 75 000 Да). Высокие значения молекулярной массы нейтральных и кислых протеиназ отрубей и собственных протеиназ семян чечевицы позволяет предположить, что они представляют собой олигомеры, состоящие из нескольких субъединиц.

Обращает внимание тот факт, что молекулярная масса протеолитических ферментов из поликомпонентных отрубей и семян чечевицы одинакова, и, следовательно, именно протеиназы чечевицы обнаруживаются в поликомпонентных отрубях вне зависимости от варианта их получения.

Фракция белковых ингибиторов собственных протеиназ и трипсина, выделенная из поликомпонентных отрубей, имеет молекулярную массу 30 000 ÷ 20 000 Да. Причем данная фракция белковых ингибиторов проявляет свою активность как по отношению к трипсину, так и по отношению к нейтральным и кислым протеиназам поликомпонентных отрубей. С одной стороны, это может свидетельствовать о том, что использование метода гель-хроматографии в данном случае не позволило разделить ингибитор трипсина и ингибиторы собственных ферментов. С другой стороны, это является дополнительным косвенным подтверждением того, что наибольший вклад в формирование ингибирующей активности вносят белковые ингибиторы из чечевицы, активно подавляющие собственные кислые и нейтральные протеиназы. Можно предположить, что нейтральные и кислые протеиназы чечевицы, как и трипсин, относятся к серновым протеиназам, поскольку ингибирование осуществляется по механизму конкурентного ингибирования (в образовании комплекса фермент-ингибитор участвуют активные центры изучаемых ферментов и ингибиторов), тогда как нейтральные и кислые протеиназы злаковых культур, как известно, являются тиоловыми ферментами.

4. Выводы

Поликомпонентные отруби, полученные при совместной переработке зерновых (пшеница), бобовых (чечевица) и масличных (лен) культур, по своему химическому составу и состоянию белково-протеиназного комплекса представляют ценное сырье для дальнейшей переработки, в частности для ферментативной модификации. Исследования показали высокое содержание белка, в котором преобладает доля альбумино-глобулиновой фракции (78,5; 79,0 и 86%), при этом существенная часть белка (7,6–10%) прочно связана с другими биополимерами.

Исследованы протеолитические ферменты отрубей, действующие в нейтральной (рН 6,8) и кислой (рН 3,8) зонах рН. Наибольшей протеолитической активностью характеризуются чечевично-льняные отруби, при этом активность нейтральных протеиназ превышает активность кислых протеиназ во всех вариантах: в 1,32; 1,37 и 1,56 раза соответственно.

Установлено, что во всех исследуемых отрубях присутствуют белковые ингибиторы трипсина и собственных протеолитических ферментов, которые подавляют активность кислых протеиназ в большей степени, чем нейтральных (% ингибирования): 37,5 против 28,2 (вариант 1); 32,3 против 24,5 (вариант 2); 48,6 против 32,4 (вариант 3).

Определена молекулярная масса исследуемых эндогенных протеиназ и их белковых ингибиторов. Нейтральные протеиназы имели молекулярную массу 250 000 ÷ 200 000 Да, кислые — 100 000 ÷ 75 000 Да. Белковые ингибиторы, выделенные из поликомпонентных отрубей, имели молекулярную массу 25 000 ÷ 20 000 Да во всех вариантах.

Полученные данные будут использованы при планировании и проведении дальнейших экспериментальных исследований, в том числе по использованию исследуемых видов отрубей, обладающих уникальным составом, как объекта для дальнейшей глубокой переработки.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Витол, И. С. (2022). Структурно-модифицированные отруби — инновационный продукт глубокой переработки зерна. *Пищевая промышленность*, 5, 27–29. <http://doi.org/10.52653/PPI.2022.5.5.008>
2. Витол, И. С., Мелешкина, Е. П. (2021). Ферментативная трансформация пшенично-льняных отрубей. *Пищевая промышленность*, 9, 20–22. <https://doi.org/10.52653/PPI.2021.9.9.004>
3. Никифорова, Т. А., Хон, И. А., Леонова, С. А., Вебер, А. Л., Краус, С. В. (2020). Рациональное использование побочных продуктов мукомольного и крупяного производств. *Хлебопродукты*, 11, 30–32. <http://doi.org/10.32462/0235-2508-2020-29-10-30-32>
4. Goyal, A., Sharma, V., Upadhyay, N., Gill, S., Sihag, M. (2014). Flax and flaxseed oil: an ancient medicine & modern functional food. *Journal Food Science Technology*, 51(9), 1633–1653. <http://doi.org/10.1007/s13197-013-1247-9>
5. Gutte, K. B., Sahoo, A. K., Ranveer, R. C. (2015). Bioactive components of flaxseed and its health benefits. *International Journal of Pharmaceutical Science Review and Research*, 31(1), 42–51, Article 09.
6. Типсина, Н. Н., Батура, Н. Г., Демидов, Е. Л., Белошапкин, М. С. (2020). Характеристика чечевицы и ее использование в пищевой промышленности. *Вестник Красноярского государственного аграрного университета*, 11, 225–231. <http://doi.org/10.36718/1819-4036-2020-11-225-231>
7. Ефремов, Д. П. (2021). Перспективные отечественные разработки в области производства мучных изделий с семенами льна и продуктами их переработки. *Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий*, 83(4(90)), 209–218. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2021-4-209-218>
8. Конева, С. И., Егорова, Е. Ю., Козубаева, Л. А., Резниченко, И. Ю. (2019). Влияние льняной муки на реологические свойства теста из пшеничной и льняной муки и качество хлеба. *Техника и технология пищевых производств*, 49(1), 85–96. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-1-85-96>
9. Пашенко, В. Л. (2006). Бобы чечевицы — перспективный белковый богатитель пищевых продуктов. *Успехи современного естествознания*, 12, 97–97.
10. Колпакова, В. Э., Уланова, Р. В., Куликов, Д. С., Гулакова, В. А., Кадиева, А. Т. (2019). Зерновые композиты с комплементарным аминокислотным составом для пищевых и кормовых целей. *Техника и технология пищевых производств*, 49(2), 301–311. <http://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-2-301-311>
11. Миневич, И. Э. (2019). Функциональная значимость семян льна и практика их использования в пищевых технологиях. *Health, Food & Biotechnology*, 1(2), 97–120. <https://doi.org/10.36107/hfb.2019.i2.s224>
12. Тюрина, И. А., Невская, Е. В., Тюрина, О. И., Борисова, А. Е., Пешкина И. П. (2019). Разработка хлебопекарной композитной смеси с высоким содержанием белка для обогащенных хлебобулочных изделий. *Хлебопродукты*, 9, 53–55. <https://doi.org/10.32462/0235-2508-2019-31-9-53-55>
13. Миневич, И. Э., Цыганова, Т. Б. (2020). Влияние добавок измельченных семян льна и льняной муки на технологические и потребительские свойства мучных изделий. *Известия высших учебных заведений. Пищевая технология*, 2–3, 88–91. <http://doi.org/10.26297/0579-3009.2020.2-3.23>
14. Шубина, Л. Н., Иванова, Е. Е., Косенко, О. В., Запорожская, С. П., Белоусова, С. В. (2019). Использование нетрадиционных видов сырья и биологически активных добавок для формирования технологических и потребительских свойств функциональных и обогащенных пищевых продуктов. *Известия высших учебных заведений. Пищевая технология*, 2–3, 9–12. <http://doi.org/10.26297/0579-3009.2019.2-3.2>
15. Антипова, Л. В., Родионова, Н. С., Попов, Е. С. (2018). Тенденции развития научных основ проектирования пищевых продуктов. *Известия высших учебных заведений. Пищевая технология*, 1, 8–11. <http://doi.org/10.26297/0579-3009.2018.1.2>
16. Чаканова, Ж. М., Махамбетова, А. А., Сарбасова, Г. Т., Шаймерденова, Д. А., Исакова, Д. М., Бекболтава, М. Б. (2020). Способ получения цельнозернового продукта из зерна гречихи и чечевицы. *Вестник Алматинского технологического университета*, 3, 20–25. <https://doi.org/10.48184/2304-568X-2020-3-20-25>
17. Плотникова, И. В., Магомедов, Г. О., Швяякова, Т. А., Писаревский, Д. С., Плотников, В. Е. (2020). Использование суспензии из бобов чечевицы в производстве кексов для постного и вегетарианского питания. *Хлебопродукты*, 6, 38–41. <http://doi.org/10.32462/0235-2508-2020-29-6-38-41>
18. Мистенева, С. Ю., Щербакоева, Н. А., Зайцева, Л. В., Баскаков, А. В. (2022). Развитие направления комплексной фортификации мучных кондитерских изделий. *Пищевая промышленность*, 4, 47–52. <http://doi.org/10.52653/PPI.2022.4.4.013>
19. Крикунова, Л. Н., Дубинина, Е. В., Песчанская, В. А., Ульянова, Е. В. (2022). Новый вид азотсодержащего сырья для использования в технологии дистиллятов. *Техника и технология пищевых производств*, 52(1), 123–132. <http://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-1-123-132>
20. Крикунова, Л. Н., Дубинина, Е. В. (2022). Инновационное направление использования зерновых отрубей в технологии дистиллятов. *Пищевая промышленность*, 5, 20–22. <http://doi.org/10.52653/PPI.2022.5.5.005>
21. Vitol, I. S., Igoryanova, N. A., Meleshkina, E. P. (2019). Bioconversion of secondary products of processing of grain cereals crops. *Food Systems*, 2(4), 18–24. <http://doi.org/10.21323/2618-9771-2019-2-4-18-24>
22. Gunenc, A., Alswiti, C., Hosseinian, F. (2017). Wheat bran dietary fiber: promising source of prebiotics with antioxidant potential. *Journal of Food Research*, 6(2), 1–10. <http://doi.org/10.5539/jfr.v6n2p1>
23. Barrett, E., Ray, S., Batterham, M., Beck, E. (2019). Whole grain, bran and cereal fibre consumption and cardiovascular disease: A systematic review. *The British Journal of Nutrition*, 121(8), 1–57. <https://doi.org/10.1017/S000711451900031X>
24. Kapreliants, L., Zhurlova, O. (2017). Technology of wheat and rye bran biotransformation into functional ingredients. *International Food Research Journal*, 24(5), 1975–1979.
25. Милорадова, Е. В. (2008). Некоторые аспекты создания импортозамещающих технологических продуктов переработки сои. *Хранение и переработка сельхозсырья*, 11, 65–67.
26. Chatterjee, C., Gleddie, S., Xiao, C.-W. (2018). Soybean bioactive peptides and their functional properties. *Nutrients*, 10(9), Article 1211. <https://doi.org/10.3390/nu10091211>
27. Попова, А. Ю., Тутельян, В. А., Никитюк, Д. Б. (2021). О новых (2021) нормах физиологических потребностей в энергии и пищевых веществах для различных групп населения Российской Федерации. *Вопросы питания*, 90(4), 6–19. <https://doi.org/10.33029/0042-8833-2021-90-4-6-19>
28. Тутельян, В. А., Никитюк, Д. Б., Батуринов, А. К., Васильев, А. В., Гаптаров, М. Г., Жилинская, Н. В. и др. (2020). Нутриом как направление «главного удара»: определение физиологических потребностей в макро- и микронутриентах, минорных биологически активных веществах пищи. *Вопросы питания*, 89(4), 24–34. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10039>

29. Verni, M., Rizzello, C. G., Coda, R. (2019). Fermentation biotechnology applied to cereal industry by-products: nutritional and functional insights. *Frontiers in Nutrition*, 6, Article 42. <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00042>
30. Римарева, Л. В., Серб, Е. М., Соколова, Е. Н., Борщева, Ю. А., Игнатова, Н. И. (2017). Ферментные препараты и биокаталитические процессы в пищевой промышленности. *Вопросы питания*, 86(5), 63–74.
31. Румянцев, Г. Н., Евсеичева, М. Н. (2005). Влияние ферментных препаратов протеолитического действия на белоксодержащее сырье. *Хранение и переработка сельхозсырья*, 2, 48.
32. Телишевская, Л. Я. (2000). Белковые гидролизаты: получение, состав, применение и их применение. М.: Аграрная наука. 2000.
33. 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), 197–203. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2017-4-197-203>
34. Мосолов, В. В. (1983). Белковые ингибиторы как регуляторы процесса протеолиза. 36-е Баховские чтения. М.: Наука, 1983.
35. Rugg, E. M., Galbusera, V., Scarafoni, A., Negri, A., Tedeschi, G., Consonni, A. et al. (2006). Inhibitory properties and structure of a solution of a potent Bowman-Birk protease inhibitor from lentil (*Lens culinaris*, L) seeds. *FEBS Journal*, 273(17), 4024–4039. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2006.05406.x>
36. Панкратов, Г. Н., Мелешкина, Е. П., Витол, И. С., Кечкин, И. А., Коломиец, С. Н. (2022). Белково-жировой концентрат для обогащения пшеничной муки. *Пищевые системы*, 5(2), 107–113. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-2-107-113>
37. Нечаев, А. П., Траубенберг, С. Е., Кочеткова, А. А., Колпакова, В. В., Витол, И. С., Кобелева, И. Б. (2006). Пищевая химия. Лабораторный практикум. СПб.: ГИОРД, 2006.
38. Остерман, Л. А. (1985). Хроматография белков и нуклеиновых кислот. М.: Наука, 1985.
39. Бенкен, И. И., Волузнева, Т. А., Мирошниченко, И. И. (1977). Активность ингибиторов трипсина и содержание белка в семенах чечевицы и чины. *Бюллетень ВИР*. Л:73, 29–34.
40. Кондыков, И. В. (2012). Культура чечевицы в мире и Российской Федерации (обзор). *Зернобобовые и крупяные культуры*, 2(2), 13–20.

REFERENCES

1. Vitol, I. S. (2022). Structurally modified bran is an innovative product of deep grain processing. *Food Industry*, 5, 27–29. <http://doi.org/10.52653/PPI.2022.5.5.008> (In Russian)
2. Vitol, I. S., Meleshkina, E. P. (2021). Enzymatic transformation of wheat-flax bran. *Food Industry*, 9, 20–22. <https://doi.org/10.52653/PPI.2021.9.9.004> (In Russian)
3. Nikiforova, T. A., Khon, I. A., Leonova, S. A., Weber, A. L., Kraus, S. V. (2020). Rational use of by-products of flour and cereal industries. *Bread products*, 11, 30–32. <http://doi.org/10.32462/0235-2508-2020-29-10-30-32> (In Russian)
4. Goyal, A., Sharma, V., Upadhyay, N., Gill, S., Sihag, M. (2014). Flax and flaxseed oil: an ancient medicine & modern functional food. *Journal of Food Science Technology*, 51(9), 1633–1653. <http://doi.org/10.1007/s13197-013-1247-9>
5. Gutte, K. B., Sahoo, A. K., Ranveer, R. C. (2015). Bioactive components of flaxseed and its health benefits. *International Journal of Pharmaceutical Science Review and Research*, 31(1), 42–51, Article 09.
6. Tipsina, N. N., Batura, N. G., Demidov, E. L., Beloshapkin, M. S. (2020). Characteristics of lentils and its use in the food industry. *Bulletin of the Krasnoyarsk State Agrarian University*, 11, 225–231. <http://doi.org/10.36718/1819-4036-2020-11-225-231> (In Russian)
7. Efremov, D. P. (2021). Promising domestic developments in the field of production of flour products with flax seeds and products of their processing. *Bulletin of the Voronezh State University of Engineering Technologies*, 85(4(90)), 209–218. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2021-4-209-218> (In Russian)
8. Koneva, S. I., Egorova, E. Yu., Kozubaeva, L. A., Reznichenko, I. Yu. (2019). Influence of flax flour on the rheological properties of wheat and flax flour dough and the quality of bread. *Food Processing: Techniques and Technology*, 49(1), 85–96. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-1-85-96> (In Russian)
9. Pashchenko, V. L. (2006). Lentil beans are a promising protein food fortifier. *Successes of Modern Natural Science*, 12, 97–97. (In Russian)
10. Kolpakova, V. V., Ulanova, R. V., Kulikov, D. S., Gulakova, V. A., Kadieva, A. T. (2019). Grain composites with complementary amino acid composition for food and fodder purposes. *Food Processing: Techniques and Technology*, 49(2), 301–311. <http://doi.org/10.21603/2074-9414-2019-2-301-311> (In Russian)
11. Minevich, I. E. (2019). The functional significance of flax seeds and the practice of their use in food technology. *Health, Food & Biotechnology*, 1(2), 97–120. <https://doi.org/10.36107/hfb.2019.i2.s224> (In Russian)
12. Tyurina, I. A., Nevskaya, E. V., Tyurina, O. I., Borisova, A. E., Peshkina, I. P. (2019). Development of a high protein baking composite for fortified bakery products. *Bread Products*, 9, 53–55. <https://doi.org/10.32462/0235-2508-2019-31-9-53-55> (In Russian)
13. Minevich, I. E., Tsyganova, T. B. (2020). Influence of additives of crushed flax seeds and flax flour on technological and consumer properties of flour products. *Izvestiya Vuzov. Food Technology*, 2–3, 88–91. <http://doi.org/10.26297/0579-3009.2020.2-3.25> (In Russian)
14. Shubina, L. N., Ivanova, E. E., Kosenko, O. V., Zaporozhskaya, S. P., Belousova, S. V. (2019). Use of non-traditional plant raw materials and biological active additives for the formation of technological and consumer properties of functional and enriched foods. *Izvestiya Vuzov. Food Technology*, 2–3, 9–12. <http://doi.org/10.26297/0579-3009.2019.2-3.2> (In Russian)
15. Antipova, L. V., Rodionova, N. S., Popov, E. S. (2018). Trends of development of scientific foundations for designing foodstuffs. *Izvestiya Vuzov. Food Technology*, 1, 8–10. <http://doi.org/10.26297/0579-3009.2018.1.2> (In Russian)
16. Chakanova, Zh. M., Makhambetova, A. A., Sarbasova, G. T., Shaimerdenova, D. A., Iskakova, D. M., Bekbolatova, M. B. (2020). A method for obtaining a whole grain product from buckwheat and lentil grains. *Bulletin of the Almaty Technological University*, 3, 20–25. <https://doi.org/10.48184/2304-568X-2020-3-20-25> (In Russian)
17. Plotnikova, I. V., Magomedov, G. O., Shevyakova, T. A., Pisarevskiy, D. S., Plotnikov, V. E. (2020). Use of lentil bean slurry in the production of lean and vegetarian muffins. *Bread products*, 6, 38–41. <http://doi.org/10.32462/0235-2508-2020-29-6-38-41> (In Russian)
18. Misteneva, S. Yu., Shcherbakova, N. A., Zaitseva, L. V., Baskakov, A. V. (2022). Development main direction of complex fortification of baked confectionery products. *Food Industry*, 4, 47–52. <http://doi.org/10.52653/PPI.2022.4.4.013> (In Russian)
19. Krikunova, L. N., Dubinina, E. V., Peschanskaya, V. A., Ulyanova, E. V. (2022). A new type of nitrogen-containing raw material for use in distillate technology. *Food Processing: Techniques and Technology*, 52(1), 123–132. <http://doi.org/10.21603/2074-9414-2022-1-123-132> (In Russian)
20. Krikunova, L. N., Dubinina, E. V. (2022). Innovative direction of using grain bran in distillate technology. *Food Industry*, 5, 20–22. <http://doi.org/10.52653/PPI.2022.5.5.005> (In Russian)
21. Vitol, I. S., Igoryanova, N. A., Meleshkina, E. P. (2019). Bioconversion of secondary products of processing of grain cereals crops. *Food Systems*, 2(4), 18–24. <http://doi.org/10.21323/2618-9771-2019-2-4-18-24>
22. Gunenc, A., Alswiti, C., Hosseinian, F. (2017). Wheat bran dietary fiber: promising source of prebiotics with antioxidant potential. *Journal of Food Research*, 6(2), 1–10. <http://doi.org/10.5539/jfr.v6n2p1>
23. Barrett, E., Ray, S., Batterham, M., Beck, E. (2019). Whole grain, bran and cereal fiber consumption and cardiovascular disease: A systematic review. *The British Journal of Nutrition*, 121(8), 1–57. <https://doi.org/10.1017/S000711451900031X>
24. Kapreliants, L., Zhurlova, O. (2017). Technology of wheat and rye bran biotransformation into functional ingredients. *International Food Research Journal*, 24(5), 1975–1979.
25. Miloradova, Ye. V. (2008). Some aspects of creation of importo-replacing technologies of product of processing of a soya. *Storage and Processing of Farm Products*, 11, 65–67. (In Russian)
26. Chatterjee, C., Gleddie, S., Xiao, C.-W. (2018) Soybean bioactive peptides and their functional properties. *Nutrients*, 10(9), Article 1211. <https://doi.org/10.3390/nu10091211>
27. Popova, A. Yu., Tutelyan, V. A., Nikityuk, D. B. (2021). On the new (2021) norms of physiological requirements in energy and nutrients of various groups of the population of the Russian Federation. *Problems of Nutrition*, 90(4), 6–19. <https://doi.org/10.33029/0042-8833-2021-90-4-6-19> (In Russian)
28. Tutelyan, V. A., Nikityuk, D. B., Baturin, A. K., Vasiliev, A. V., Gapparov, M. G., Zhilinskaya, N. V. et al. (2020). Nutriome as the direction of the “main blow”: Determination of physiological needs in macro and micronutrients, minor biologically active substances. *Problems of Nutrition*, 89(4), 24–34. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2020-10039> (In Russian)
29. Verni, M., Rizzello, C. G., Coda, R. (2019). Fermentation biotechnology applied to cereal industry by-products: nutritional and functional insights. *Frontiers in Nutrition*, 6, Article 42. <https://doi.org/10.3389/fnut.2019.00042>
30. Rimareva, L. V., Serba, E. M., Sokolova, E. N., Borshcheva, Yu. A., Ignatova, N. I. (2017). Enzyme preparations and biocatalytic processes in the food industry. *Problems of Nutrition*, 86(5), 63–74. (In Russian)
31. Rumyantseva, G. N., Evseicheva, M. N. (2005). Influence of enzyme preparations of proteolytic action on protein-containing raw materials. *Storage and Processing of Farm Products*, 2, 48. (In Russian)
32. Telishevskaya, L. Ya. (2000). Protein hydrolysates: preparation, composition, application and their application. Moscow: Agrarian science. 2000. (In Russian)
33. Tolкачева, А. А., Черенков, Д. А., Корнеева, О. С., Пonomarev, P. G. (2017). Enzymes of industrial purpose — review of the market of enzyme preparations and prospects for its development. *Proceeding of the Voronezh State University of Engineering Technologies*, 79(4), 197–203. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2017-4-197-203> (In Russian)
34. Mosolov, V. V. (1983). Protein inhibitors as regulators of the proteolysis process. 36th Bach Readings. Moscow: Nauka, 1983. (In Russian)

35. Rugg, E. M., Galbusera, V., Scarafoni, A., Negri, A., Tedeschi, G., Consonni, A. et al. (2006). Inhibitory properties and structure of a solution of a potent Bowman-Birk protease inhibitor from lentil (*Lens culinaris*, L) seeds. *FEBS Journal*, 273(17), 4024–4039. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2006.05406.x>
36. Pankratov, G. N., Meleshkina, E. P., Vitol, I. S., Kechkin, I. A., Kolomiets, S. N. (2022). Protein-fat concentrate for the enrichment of wheat flour. *Food systems*, 5(2), 107–113. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-2-107-113>. (In Russian)
37. Nechaev, A. P., Traubenberg, S. E., Kochetkova, A. A., Kolpakova, V. V., Vitol, I. S., Kobeleva, I. B. (2006). Food chemistry. Laboratory practice. St. Petersburg: GIOR, 2006. (In Russian)
38. Osterman, L. A. (1985). Chromatography of proteins and nucleic acids. Moscow: Science, 1985. (In Russian)
39. Benken, I. I., Voluzneva, T. A., Miroshnichenko, I. I. (1977). Activity of trypsin inhibitors and protein content in lentil and chinese seeds. *VIR Bulletin*. L: 73, 29–34. (In Russian)
40. Kondykov, I. V. (2012). Lentil culture in the world and the Russian Federation (review). *Legumes and Cereals*, 2(2), 13–20. (In Russian)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Витол Ирина Сергеевна — кандидат биологических наук, доцент, старший научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт зерна и продуктов его переработки 127434, Москва, Дмитровское шоссе, 11 Тел.: +7-926-709-02-07 E-mail: vitolis@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5362-8909 * автор для контактов	Irina S. Vitol , Candidate of Biological Sciences, Docent, Senior Researcher, All-Russian Scientific and Research Institute for Grain and Products of its Processing 11, Dmitrovskoye Shosse, Moscow, 127434, Russia Tel.: +7-926-709-02-07 E-mail: vitolis@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5362-8909 * corresponding author
Мелешкина Елена Павловна — доктор технических наук, директор, Всероссийский научно-исследовательский институт зерна и продуктов его переработки 127434, Москва, Дмитровское шоссе, 11 Тел.: +7-499-976-23-23 E-mail: mep5@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1339-7150	Elena P. Meleshkina , Doctor of Technical Sciences, Director, All-Russian Scientific and Research Institute for Grain and Products of its Processing 11, Dmitrovskoye Shosse, Moscow, 127434, Russia Tel.: +7-499-976-23-23 E-mail: mep5@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1339-7150
Панкратов Георгий Несторович — доктор технических наук, профессор, ведущий научный сотрудник, Всероссийский научно-исследовательский институт зерна и продуктов его переработки 127434, Москва, Дмитровское шоссе, 11 Тел.: +7-499-976-33-14 E-mail: pankratof.gn@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3000-8631	Georgy N. Pankratov , Doctor of Technical Sciences, Professor, Leading Researcher, All-Russian Scientific and Research Institute for Grain and Products of its Processing 11, Dmitrovskoye Shosse, Moscow, 127434, Russia Tel.: +7-499-976-33-14 E-mail: pankratof.gn@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-3000-8631
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/10.21323/2618-9771-2022-5-4-289-297>

Поступила 18.09.2022

Поступила после рецензирования 19.10.2022

Принята в печать 24.10.2022

© Долганюк В. Ф., Каширских Е. В., Буденкова Е. А., Андреева А. П., Сухих С. А., 2022

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

Научная статья

Open access

ИССЛЕДОВАНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ И ПАРАМЕТРОВ РОСТА ПСИХРОФИЛЬНЫХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ И ЦИАНОБАКТЕРИЙ

Долганюк В. Ф., Каширских Е. В., Буденкова Е. А., **Андреева А. П.**, Сухих С. А.*

Балтийский федеральный университет им. И. Канта

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

микроводоросли, цианобактерии, культуральная среда, морфологические признаки, экзополисахариды, параметры роста

АННОТАЦИЯ

В настоящее время широкий интерес приобрел вопрос получения комплекса биологически активных веществ из микроводорослей. Известно, что микроводоросли способны производить значительное количество экзополисахаридов. Целью данного исследования являлось изучение морфологических признаков и параметров роста психрофильных микроводорослей и цианобактерий для последующего получения экзополисахаридов. Морфологию микроводорослей рассматривали с помощью бинокулярной микроскопии. Параметры роста изучали с помощью спектрофотометрии, параметры культуральной среды выявляли с помощью pH-метрии. Были построены экспоненциальные графические зависимости, показывающие динамику и ожидаемую скорость роста микроводорослей. Определяли скорость роста и биосинтеза полисахаридов микроводорослей при изменении освещенности от 50 до 130 ммоль/м²/сек. Наибольший уровень количества клеток в фазе жизненного цикла — логарифмического роста составил до 0,8 для *Scenedesmus obtusiusculus* Chod IPPAS S-329. Уровень клеток варьировался также в фазе жизненного цикла — замедленного роста от 0,25 для *Ankistrodesmus acicularis* Korsch IPPAS A-218 до 1,8 для *Scenedesmus obtusiusculus* Chod IPPAS S-329. Микроводоросли показали высокий уровень накопления биомассы в алкалофильных условиях. Эукариотические водоросли активно фотосинтезировали с pH более 8,0 и температурой 30 °С. Максимальная активность на уровне лаг-фазы роста pH 3,0/3,2 для C-1509 *Nannochloris* sp. Naumann составляет 100%. Микроводоросль C-1509 *Nannochloris* sp. Naumann показала высокий уровень накопления биомассы в алкалофильных условиях, они фотосинтезировали при pH более 8,0 и температуре 30 °С. Доказано, что нейтрофилы могут расти при pH ниже 3,0, это соответствует результатам экспериментов с коллекционными штаммами микроводорослей, с продуктивностью по биомассе 27,3%. При щелочном pH 8,3–9,0 продуктивность по биомассе снижалась с 46,0 до 37,2%. Особый интерес представляет то, что при щелочных значениях pH 7,5 и 8,0 продуктивность микроводорослей по биомассе увеличилась, что указывает на оптимальные условия роста в этом узком диапазоне pH. Способность микроводорослей продуцировать экзополисахариды открывает перспективы их использования в практических целях.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и Высшего образования Российской Федерации (грант Президента Российской Федерации), проект № МК-484.2022.1.4 (соглашение № 075–15–2022–393).

Received 18.09.2022

Accepted in revised 19.10.2022

Accepted for publication 24.10.2022

© Dolganyuk V. F., Kashirskikh E. V., Budenkova E. A., Andreeva A. P., Sukhikh S. A., 2022

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

Original scientific article

Open access

STUDY OF MORPHOLOGICAL FEATURES AND GROWTH PARAMETERS OF PSYCHROPHILIC MICROALGAE AND CYANOBACTERIA

Vyacheslav F. Dolganyuk, Egor V. Kashirskikh, Ekaterina A. Budenkova,

Anna P. Andreeva, Stanislav A. Sukhikh*

Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia

KEY WORDS:

microalgae, cyanobacteria, culture medium, morphological features, exopolysaccharides, growth parameters

ABSTRACT

Recently, a question of producing a complex of biologically active substances from microalgae has aroused widespread interest. It is known that microalgae are able to produce a significant amount of exopolysaccharides. The aim of this work was to study morphological features and growth parameters of psychrophilic microalgae and cyanobacteria for the subsequent production of exopolysaccharides. The morphology of microalgae was observed using a binocular microscope. Growth parameters were studied by spectrophotometry; parameters of the culture medium were determined using a pH-meter. Exponential dependency graphs that show the dynamics and expected growth rate of microalgae were built. A rate of growth and polysaccharide biosynthesis in microalgae was determined upon changing the light intensity from 50 to 130 mmol/m²/s. The highest level of cell counts in the logarithmic growth phase was up to 0.8 for *Scenedesmus obtusiusculus* Chod IPPAS S-329. A level of cells also varied in the deceleration phase from 0.25 for *Ankistrodesmus acicularis* Korsch IPPAS A-218 to 1.8 for *Scenedesmus obtusiusculus* Chod IPPAS S-329. Microalgae showed a high level of biomass accumulation under alkaliphilic conditions. Eukaryotic algae actively photosynthesized at a pH of more than 8.0 and a temperature of 30 °C.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Долганюк, В. Ф., Каширских, Е. В., Буденкова Е. А., Андреева А. П., Сухих, С. А., (2022). Исследование морфологических признаков и параметров роста психрофильных микроводорослей и цианобактерий. *Пищевые системы*, 5(4), 289–297. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-289-297>

FOR CITATION: Dolganyuk, V. F., Kashirskikh, E. V., Budenkova E. A., Andreeva, A. P., Sukhikh, S. A., (2022). Study of morphological features and growth parameters of psychrophilic microalgae and cyanobacteria. *Food Systems*, 5(4), 289–297. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-289-297>

The maximum activity at the level of pH 3.0/3.2 in the lag phase was 100% in C-1509 *Nannochloris* sp. Naumann. Microalga C-1509 *Nannochloris* sp. Naumann showed a high level of biomass accumulation under alkaliphilic conditions; it photosynthesized at a pH of more than 8.0 and a temperature of 30 °C. It has been proved that neutrophiles can grow at pH lower than 3.0; this corresponds to the results of the experiments with the collection strains of microalgae with biomass productivity of 27.3%. At the alkaline pH values of 8.3–9.0, biomass productivity reduced from 46.0 to 37.2%. It is especially interesting that at the alkaline pH values of 7.5 and 8.0 biomass productivity of microalgae increased, which indicates the optimal growth conditions at this narrow pH range. An ability of microalgae to produce exopolysaccharides opens prospects of their use for practical purposes.

FUNDING: The work was supported financially by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (grant of the President of the Russian Federation), project no. MK-484.2022.1.4 (agreement no. 075–15–2022–393).

1. Введение

В настоящее время широкий интерес приобрел вопрос получения комплекса биологически активных веществ с антиоксидантной активностью из макро- и микроводорослей [1–3]. Несмотря на многие преимущества промышленного культивирования микроводорослей, мировое производство микроводорослей составляет менее 20 тыс. т/год. Стоимость производства — 3–5 евро на килограмм биомассы водорослей на площади 100 га, что довольно велико по сравнению с выращиванием высших растений (0,2–0,35 евро на килограмм). Учитывая разнообразный биохимический состав некоторых микроводорослей, можно утверждать, что технологии микроводорослей имеют высокий коммерческий потенциал. Промышленное получение продуктов на основе водорослей в настоящее время мало доступно, однако положение дел в рамках мирового рынка быстро меняется под воздействием различных факторов, включая экономический [4,5]. Например, большее значение могут приобрести вопросы использования не возобновляемых ресурсов (в том числе пищевых), таких как почва и пресная вода, а также проблема их воздействия на окружающую среду и здоровье человека.

Микроводоросли, являясь одноклеточными фотосинтезирующими микроорганизмами, преобразуют солнечную энергию в биомассу с более эффективно, чем наземные растения [6–8]. Основными производимыми видами микроводорослей являются *Arthrospira platensis*, *Aphanizomenon*; микроводорослей — *Chlorella vulgaris*, *Dunaliella salina*, *Isochrysis galbana*, *Bannochloropsis salina*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Porphyridium cruentum* и *Haematococcus pluvialis*. Они находят применение в производстве кормов для рыбы и сельскохозяйственных животных, органических удобрений, а также ценных экстрактов полиненасыщенных жирных кислот, пигментов, нутрицевтиков, антиоксидантов, противораковых и антимикробных агентов [9–12].

Микроводоросли рассматриваются как новый источник ценных химических веществ, что привело к развитию технологий производства (фотобиореакторы) и переработки биомассы микроскопических водорослей [13,14]. Возможности использования биомассы микроводорослей и их метаболитов, таких как полисахариды, в биотехнологических производствах приводят к стабильному снижению себестоимости продуктов биосинтеза. К эукариотическим и прокариотическим микроводорослям, продуцирующим и выделяющим большое количество полисахаридов в окружающую среду, относятся *Amphora rostrata*, *Amphora holsatica*, *Coscinodiscus nobilis*, *Cylindrotheca closterium*, *Melosira nummuloides*, *Navicula salinarum*, *Navicula subinflata*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Botryococcus braunii*, *Chlamydomonas sajabo*, *Dunaliella salina*, *Chlorella pyrenoidosa* и др. Экзополисахариды — это высокомолекулярные полимеры, состоящие из остатков сахаров, которые секретируются микроводорослями в окружающую среду и могут служить барьером между клетками и окружающей средой [15–17].

Экзополисахариды морских цианобактерий и микроводорослей выгодно отличаются от полисахаридов из наземных бактерий и от растений тем, что для морских цианобактерий и микроводорослей можно создать определенные воспроизводимые контролируемые параметры производства, в результате чего исключается экологическое воздействие и достигается высокое качество конечного продукта [18,19]. В последние годы исследования большинства ученых нацелены на изучение экзополисахаридов из цианобактерий и микроводорослей. Считается, что поскольку эти микробы выживают в сложных условиях высокой или низкой температуры, высокого атмосферного давления, то следует ожидать от экзополисахаридов, полученных из них, уникальных свойств. Такие экзополисахариды, в отличие от полисахаридов клеточной стенки и внутриклеточного крахмала или хризоламинарина, имеют сложную структуру, часто включая от 9 до 12 различных моносахаридов и несколько не углеводных составляющих [20]. Эта структурная сложность ограничивает их исследования, несмотря на интерес научного сообщества к их биологической активности и потенциалу использования в качестве гидроколлоидов в различных отраслях. Экзополисахариды редко рассматриваются авторами как ценные как ценные молекулы: скорее, как побочные продукты при получении пигментов или липидов. Хорошо изученный штамм *Porphyridium* фактически используется для получения β-фикоэритрина, и только небольшая часть биомассы штамма предназначена для обеспечения косметической отрасли экзополисахаридами [21–23].

Известно, что микроводоросли являются значительными производителями экзополисахаридов в диапазоне от около 0,5 г/л до 20 г/л, но очень немногие исследования изучали их производство [24–26]. Проводились некоторые исследования, посвященные выбору условий культивирования микроводорослей для оптимизации производства экзополисахаридов. Процесс экстракции экзополисахаридов из биомассы микроводорослей часто не приспособлен к обработке этих плохо растворимых полимеров, которые нередко образуются в среде с высоким содержанием солей [27–29]. Обнаружение продуцентов полисахаридов — трудоемкий процесс, поскольку они часто синтезируются микроводорослями только при специфических условиях культивирования (например, азотное голодание) или в специфических фазах роста, некоторые из них имеют статус вторичных метаболитов [30]. Качественная и количественная оценка вязкости культуральной среды при росте микроводорослей может служить хорошим индикатором высвобождения биополимеров клеткой и показателем их концентраций [31,32]. К выявленным биологическим активностям экзополисахаридов, продуцируемым микроводорослями, относят противовоспалительную, иммуномодулирующую, противоопухолевую, противовирусную, противопаразитарную, антиоксидантную, гипогликемическую и гипохолестеринемическую. Высокая стоимость и отсутствие понимания структур этих экзополисахаридов ограничивают их использование в меропр-

ятях терапии и профилактики, а также их применение в питании человека и животных. Одним из способов повышения экономической конкурентоспособности может стать накопление знаний о культивировании и характеристиках микроводорослей, о развитии технологий производства экзополисахаридов, способах их извлечения а также накопление информации об аналитических процедурах для описания их характеристик [33–35].

Целью данного исследования являлось изучение морфологических признаков и параметров роста психрофильных микроводорослей и цианобактерий для последующего получения экзополисахаридов.

2. Объекты и методы

Микроводоросли *Scenedesmus obtusiusculus* Chod, *Chlorella* sp. Beijerinck, *Nannochloris* sp. Naumann, *Ankistrodesmus acicularis* Korsch приобретали из стандартных образцов Коллекции микроводорослей и цианобактерий IPPAS ИФР РАН (УНУ КМЦ IPPAS ИФР РАН) Минобрнауки России и высевали на жидкие питательные среды.

Микроводоросли *Scenedesmus quadricauda* Chod культивировали на питательной среде Успенского, состав которой приведен в Таблице 1.

Таблица 1. Состав питательной среды Успенского — основные компоненты

Table 1. Composition of the Uspensky culture medium — the main components

№ п/п	Реактивы	Содержание в среде для культивирования, г/л
1	KNO ₃	0,025
2	MgSO ₄ × 7H ₂ O	0,025
3	KH ₂ PO ₄ × 3H ₂ O	0,025
4	K ₂ CO ₃	0,0345
5	Ca(NO ₃) ₂ × 4H ₂ O	0,144

Микроводоросли *Chlorella* sp. Beijerinck и *Nannochloris* sp. Naumann культивировали на среде Тамия, состав которой представлен в Таблице 2.

Таблица 2. Состав питательной среды Тамия — основные компоненты

Table 2. Composition of the Tamiya culture medium — the main components

№ п/п	Реактивы	Содержание в среде для культивирования, г/л
1	KNO ₃	5,0
2	MgSO ₄ × 7H ₂ O	2,5
3	KH ₂ PO ₄	1,25
4	ЭДТА	0,0345
5	FeSO ₄ × 7H ₂ O	0,009
6	раствор микроэлементов	1 мл
7	agar-agar	20,0

Микроводоросли *Ankistrodesmus acicularis* Korsch культивировали на среде Ben-Amotz. Состав данной среды представлен в Таблице 3.

Питательные среды приобретали в ООО «Биомедиа», Санкт-Петербург, Россия.

Далее проводили культивирование и скрининг микроводорослей-продуцентов по накоплению биомассы и целевых продуктов (углеводно-минеральный комплекс), пригодных для культивирования в лабораторных условиях. Для подсчета клеток микроскопических водорослей использовали бинокулярный микроскоп Micros (Австрия) с увеличением 40–1600 крат. На данном микроскопе можно изучать окрашенные и неокрашенные препараты в виде мазков

и гистологических срезов, а также биологических жидкостей в камере Горяева [36,37]. С помощью цифровой камеры для микроскопа TourCam U3CMOS03100KPA (max разрешение: 2048 x 1534 точек, скорость съемки 27,3–53,3 кадров/сек, Китай) производили фотосъемку клеток микроводорослей [36]. Данная камера позволила перенести фотографии в компьютер и для вывода на экран персонального компьютера цветного изображения, наблюдаемого в микроскоп при проведении лабораторных исследований. С помощью данного микроскопа с использованием камеры Горяева была построена калибровочная кривая — отношение количества клеток водорослей в суспензии от ее оптической плотности.

Таблица 3. Состав питательной среды Ben-Amotz — основные компоненты

Table 3. Composition of the Ben-Amotz culture medium — the main components

№ п/п	Реактивы	Содержание в среде для культивирования, г/л
1	KNO ₃	0,505
2	MgSO ₄ × 7H ₂ O	1,23
3	KH ₂ PO ₄	0,038
4	NaCl	58,5
5	CaCl ₂ × 2H ₂ O	0,147
6	Na ₂ ЭДТА	0,04
7	FeCl ₃ × 6H ₂ O	0,00054
8	MnCl ₂ × 4H ₂ O	0,0001
9	CuCl ₂ × H ₂ O	0,0001
10	ZnCl ₂ × H ₂ O	0,0001
11	CoCl ₂ × 6H ₂ O	0,0001
12	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ × 4H ₂ O	0,0012
13	NaHCO ₃	4,2

Для построения калибровочной кривой и подсчета оптической плотности в суспензии применялся спектрофотометр SolidSpec-3700/3700 DUV, (Shimadzu, Япония). Спектрофотометр SolidSpec-3700/3700 DUV предназначен для измерения спектральных коэффициентов пропускания жидких и твердых веществ в области спектра от 190 до 1100 нм. Использовали длину волны 750 нм. В качестве образцов сравнения использовали суспензии микроводорослей различных известных концентраций.

Микроводоросли культивировали в накопительном режиме — фотобиореакторе, заполненном питательной средой, содержащей необходимые для роста биогенные элементы. В среды вносили небольшое количество инокулята — 20% от объема питательной среды. Анализ скорости роста микроводорослей проводили с учетом времени и увеличения концентрации клеток до максимальной плотности культуры.

Биомасса микроводорослей в колбе в статическом положении, в колбе на шейкере и фотобиореакторе была выражена в единицах — число клеток и количество полисахаридов в г/л.

Штаммы микроводорослей культивировали на различных средах при регулируемом освещении 8/16 (свет/темнота) и при температуре 25–30 °С в конических колбах с объемом среды 250–5000 мл. Определяли скорость роста и биосинтеза полисахаридов микроводорослей при изменении освещенности от 50 до 130 ммоль/м²/сек. Продолжительность эксперимента — 7 сут. Микроэлементы (Mn, Cu, Zn, Co, Mo) в среды Тамия и Успенского добавляли в количестве 1 мл раствора на 1 л питательной среды; среду и микроэлементы стерилизовали при 1 атм. 20 мин. Диапазон pH измеряли лабораторным pH-метром модели Starter 300 (USA).

Сухую биомассу микроводорослей получали с помощью лиофильной сушилки «Иней-6» (ООО «Пушинские лаборатории», Пушкино, Россия), обеспеченной режимом ускоренного удаления замороженного льда. Скорость сушки составляла не менее 60 г/ч при полной загрузке, давление в вакуумной системе сушилки без высушиваемого образца не выше 6,66 Па, температура конденсирующей поверхности минус 40 +/- 5 °С.

Продуктивность полисахаридов при культивировании микроводорослей определяли методом спектрофотометрии. Предварительно полисахариды экстрагировали из биомассы микроводорослей. Наличие и количественную оценку полисахаридов из микроводорослей *Scenedesmus obtusiusculus* Chod, *Chlorella* sp. Beijerinck, *Nannochloris* sp. Naumann, *Ankistrodesmus acicularis* Korsch проводили антросульфатным методом. Для этого в каждую лунку микропланшета (ООО «ДВ-эксперт», Москва, Россия), содержащего 50 мкл образцов, вносили по 150 мкл антронового агента (0,1% раствор перекристаллизованного антрона в концентрированной серной кислоте). Затем планшеты помещали в холодильник Pozis RK-102 S (ООО «Даймонд Электрик», Москва, Россия) на 10 мин при температуре 4 °С. После охлаждения образцы инкубировали в термостате А-24 (ООО «Миллаб», Москва, Россия) в течение 20 мин при температуре 70 °С. После нагрева образцы охлаждали до комнатной температуры.

Оптическую плотность измеряли при 620 нм. Стандартную кривую строили с использованием растворов сахарозы [37]. Полисахариды экстрагировали из образцов культуральной жидкости изопропиловым спиртом в соотношении 1:2 при температуре минус 20 °С. После экстракции образцы центрифугировали при 3900 об/мин в течение 20 мин и собирали надосадочную жидкость. Суммарный выход полученных нами полисахаридов определяли гравиметрически. Полученный раствор лиофилизировали в течение 48 ч при температуре минус 20 °С, давлении 0,350 мбар.

Все химические реактивы, использованные в исследовании, были реагентами класса ACS (Sigma Aldrich, США). Все растворы были приготовлены с использованием очищенной деионизированной воды MilliQ (MilliporeSigma, США).

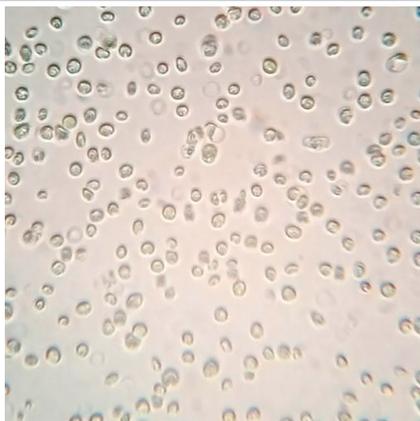
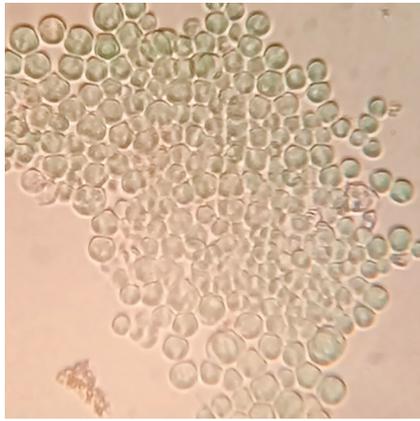
3. Результаты и обсуждение

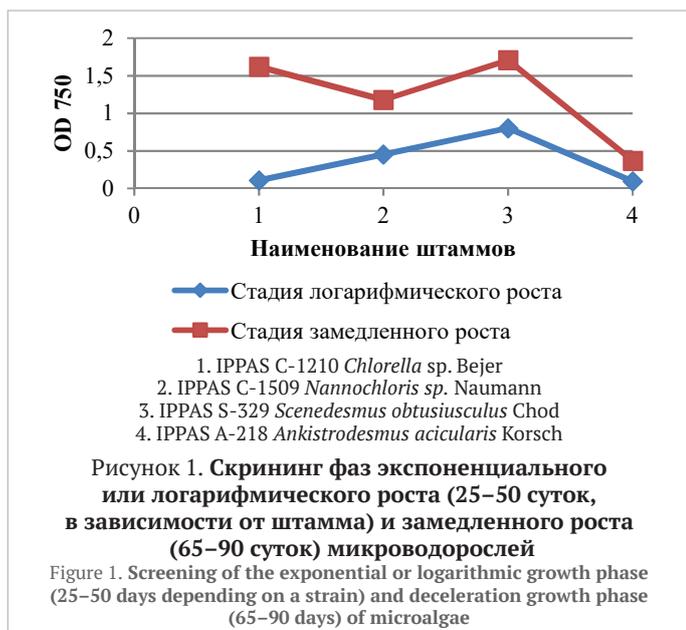
В Таблице 4 представлен морфологический скрининг штаммов микроводорослей.

Анализ экспоненциальных графических зависимостей показывал динамику и ожидаемую скорость роста микроводорослей и цианобактерий во время тестирования. На Рисунке 1 представлены экспоненциальные зависимости скорости роста микроводорослей от значений оптической плотности биомассы.

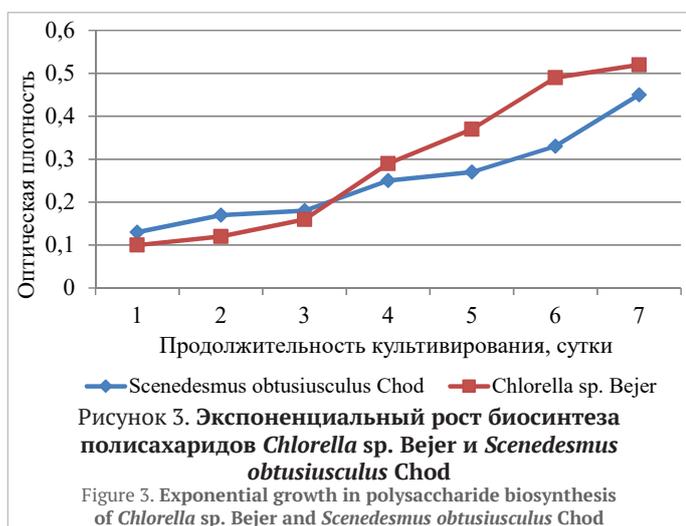
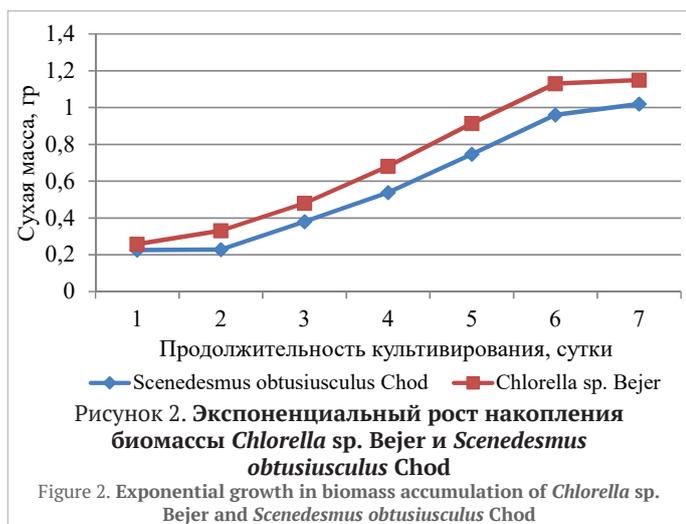
Таблица 4. Морфологический скрининг штаммов микроводорослей

Table 4. Morphological screening of microalga strains

1. <i>Nannochloris</i> sp. Naumann; IPPAS C-1509	2. <i>Chlorella</i> sp. Beijerinck; IPPAS C-1210
	
<p>Форма: одиночная, сферическая или эллипсоидальная; Размер: 2–3 μm; Цвет: зеленый; Особенности: одиночный хлоропласт, занимает более половины объема клетки и содержит хлорофилл а, полностью лишен хлорофилла b и хлорофилла c</p>	<p>Форма: одиночная, сферическая; Размер: 3–5 μm; Цвет: зеленый; Особенности: хлоропласты содержат хлорофилл а и хлорофилл b; хроматофор крупный, до 90% от объема клетки</p>
3. <i>Scenedesmus obtusiusculus</i> Chod; IPPAS S-329	4. <i>Ankistrodesmus acicularis</i> Korsch IPPAS A-218
	
<p>Форма: округлая или эллипсоидная с заостренными концами, частицы образуют ценобии; Размер: 5–40 μm; Цвет: зеленый</p>	<p>Форма — одиночные, имеют шаровидную форму, неподвижные Размер — 2–6 μm; Цвет — голубовато-зеленые; Особенности — содержат фотосинтетический пигмент фикоэритрин в дополнение к хлорофиллу</p>



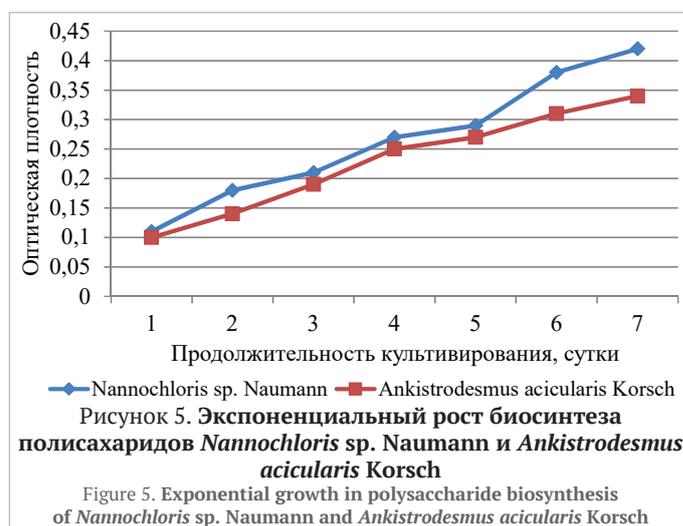
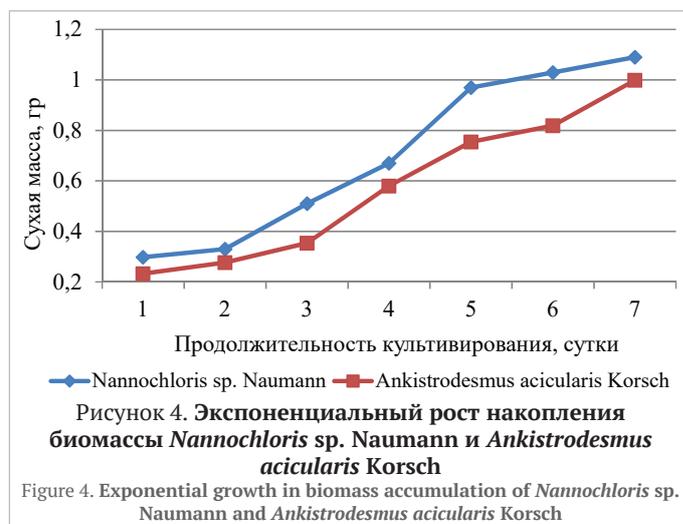
Установлено, что в лабораторных условиях рост микроводорослей ограничен. Особенно наглядно это проявляется при изучении ростовых значений микроводорослей – среднего значения количества клеток на 1 мл питательной среды (OD-750). Наибольший уровень количества клеток в фазе жизненного цикла – логарифмического роста составил до 0,8 для *Scenedesmus obtusiusculus* Chod IPPAS S-329.



Уровень клеток варьировался также в фазе жизненного цикла – замедленного роста от 0,25 для *Ankistrodesmus acicularis* Korsch IPPAS A-218 до 1,8 для *Scenedesmus obtusiusculus* Chod IPPAS S-329.

Экспоненциальный рост показывал прямую линию при использовании логарифмической шкалы, и наклон линии указывал на определенную скорость роста и биосинтеза полисахаридов микроводорослей и (или) цианобактерий (Рисунки 2–5).

Рассматривая рост штамма в общем случае, необходимо учитывать процессы, происходящие в клетке микроводоросли, которые не связаны напрямую с биосинтезом полисахаридов. К таким процессам относится механизм поддержания структуры таллома. Этот механизм у микроводорослей мало изучен. Известно, что при низких интенсивностях света в клетках явно наблюдается так называемое «темновое» дыхание, сопровождающееся поглощением кислорода и уменьшением биомассы клеток. Выделение кислорода и рост микроводорослей начинаются только после увеличения интенсивности света выше некоторой величины (соответствующей компенсационной фазе фотосинтеза), при которой скорости выделения и поглощения кислорода равны. В общем случае рост и биосинтез компонентов клетки являются результатом двух процессов: собственно фотосинтеза и дыхания. Расходы на дыхание, связанные с ростом («фотодыхание»), пропорциональны «чистому» фотосинтезу, их трудно вычленить из общего процесса; обычно во время моделирования микроклимата при выращивании микроводорослей подразумевается, что «чистый» фотосинтез уже



включает этот процесс. Поэтому рост можно рассматривать как разность двух процессов: «чистого» фотобиосинтеза и «темнового» дыхания.

Ранее было отмечено [38,39], что в условиях культивирования на шейкере, валовая продуктивность микроводорослей линейно возрастала с ростом освещенности в диапазоне плотность потока фотонов (ППФ) 50–80 ммоль/м²/сек, однако при сверхвысоких ППФ 130 ммоль/м²/сек продуктивность отклонялась от линейной зависимости из-за возможной фотодеструкции пигментов и ингибирования фотосинтеза в данных условиях. В вариантах с освещенностью 50–130 ммоль/м²/сек на 7 сутки эксперимента начиналась фаза отмирания. Наиболее резкое снижение плотности культуры наблюдалось в варианте с наибольшей освещенностью 130 ммоль/м²/сек. В вариантах с меньшими значениями освещенности 50 ммоль/м²/сек снижение скорости роста происходило медленнее, с выраженной фазой замедления роста на накопительной кривой. Максимальная плотность культуры не различалась существенно при нескольких вариантах освещенности, при этом время достижения максимальной биомассы отличалось.

Культивирование штаммов фототрофных микроводорослей сопровождается активным массообменом. Питательная среда характеризуется электрохимическими показателями: рН и окислительно-восстановительным потенциалом (Eh). Активный транспорт протонов в электрохимической цепочке ведет к защелачиванию среды с выделением низкопотенциального тионеина, снижающего редокс-потенциал среды, особенно в лаг-фазный период развития штаммов микроводорослей, что связано с подготовкой популяции к клеточному делению и активному накоплению биомассы [40]. Микроводоросли показали высокий уровень накопления биомассы (продуктивность) при рН — 8,5/8,1 (рН — начало/завершение культивирования). Продуктивность C-1509 *Nannochloris* sp. Naumann — 72,61%. Эти эукариотические водоросли активно фотосинтезировали с рН более 8,0 и при температуре 30 °С (Рисунок 1).

Максимальная активность на уровне лаг-фазы роста имеет показатель рН 3,0/3,2 и составляет 100%. Микроводоросль C-1509 *Nannochloris* sp. Naumann с оптимальным рН для роста между 2,0 и 3,0 приспособилась к низкой интенсивности освещения 50 ммоль/м²/сек за счет увеличения концентрации зеленого пигмента. Фотосинтез адаптирован к пониженной интенсивности света и ингибировал активность при высокой интенсивности света. При добавлении глюкозы (1г/л) в «темновой» фазе культивирования концентрация хлорофилла снижалась. При дальнейшем культивировании в условиях освещения 50 ммоль/м²/сек в присутствии глюкозы хлорофилл не синтезировался и продолжался гетеротрофный рост; при исклечении глюкозы происходил синтез пигмента и возобновлялся автотрофный рост.

Таким образом, при культивировании в ацидофильных условиях с добавлением глюкозы уровень хлорофилла не увеличивался, что сопровождалось снижением продуктивности по биомассе. Физический параметр рН является важным фактором в питательных средах. Помимо химических свойств питательной среды, рН связан с гидролизом CO₂ и биодеграцией водорастворимых серосодержащих загрязнителей. Обычно низкий уровень рН подавляет рост микроводорослей. Принимая во внимание, что изменение рН из-за CO₂ имеет лишь незначительное значение, то серосодержащие ионы значительно меняют показатель рН и снижают продуктивность по биомассе. Корреляция значений рН с достижением необходимого уровня проводили забуференной средой.

Известно, что Maeda и др. [41] добавили CaCO₃ в питательную среду для корректировки уровня рН и с целью гибели микроводорослей [42]. Большинство видов микроводорослей имеют собственные оптимальные диапазоны рН, при которых они растут. У исследованных коллекционных штаммов микроводорослей из группы нейтрофилов обнаружена возможность адаптации к разному значению рН от экстремально кислых до щелочных условий. После привыкания к изменившимся условиям культивирования некоторые штаммы микроводорослей перенесли низкие значения рН. Ученые Баретто и Майер доказали [43], что нейтрофилы могут расти при рН ниже 3,0, это соответствует полученным нами результатам с коллекционными штаммами микроводорослей, с продуктивностью по биомассе 27,3%. Кавита и др. [44] измерили влияние рН на рост микроводорослей, они обнаружили, что крайние значения кислого (3,0–6,2) и щелочного (8,3–9,0) рН угнетают рост и биосинтез культур [45]. Оптимальный рост и накопление биомассы возможны при нейтральных значениях рН 7,5 и 8,0. Анализ полученных результатов показывает, что при рН 6,9 C-1210 *Chlorella* sp. Beijer., увеличивались до 100% роста. При этом в кислых условиях (рН 3–5) их рост снижался до 27,3–55,0% (Рисунок 1). Кроме того, при щелочном рН 8,3–9,0 продуктивность по биомассе снижалась с 46,0 до 37,2%. Особый интерес представляет то, что при щелочных значениях рН 7,5 и 8,0 продуктивность по биомассе увеличилась, что указывает на оптимальные условия роста в этом узком диапазоне рН [46].

4. Выводы

В результате проведенных исследований были изучены морфологические признаки и параметры роста психрофильных микроводорослей и цианобактерий для последующего получения экзополисахаридов. Для этого микроводоросли из стандартных образцов Коллекции микроводорослей и цианобактерий IPPAS ИФР РАН (УНУ КМЦ IPPAS ИФР РАН) Минобрнауки России (*Scenedesmus obtusiusculus* Chod, *Chlorella* sp. Beijer, *Nannochloris* sp. Naumann, *Ankistrodesmus acicularis* Korsch) высевали на жидкие питательные среды. Морфологический скрининг показал, что все клетки, исследуемых микроводорослей, имеют сферическую или эллипсоидальную формы, способны образовывать колонии и накапливать хлорофилл. Наибольший уровень количества клеток в фазе жизненного цикла — логарифмического роста составил до 0,8 для *Scenedesmus obtusiusculus* Chod IPPAS S-329.

Уровень клеток варьировался также в фазе жизненного цикла — замедленного роста от 0,25 для *Ankistrodesmus acicularis* Korsch IPPAS A-218 до 1,8 для *Scenedesmus obtusiusculus* Chod IPPAS S-329 (Рисунок 1).

Микроводоросли показали высокий уровень накопления биомассы в алкалофильных условиях. Эукариотические водоросли активно фотосинтезировали с рН более 8,0 и температурой 30 °С. Максимальная активность на уровне лаг-фазы роста рН 3,0/3,2 для C-1509 *Nannochloris* sp. Naumann составляет 100%. Микроводоросль C-1509 *Nannochloris* sp. Naumann показала высокий уровень накопления биомассы в алкалофильных условиях, они фотосинтезировали при рН более 8,0 и температуре 30 °С. Данная микроводоросль приспособилась к низкой интенсивности освещения 50 ммоль/м²/сек за счет увеличенной концентрации зеленого пигмента. Установлено, что при рН 6,9 C-1210 *Chlorella* sp. Beijer., увеличивались до 100% роста. При этом в кислых условиях (рН 3–5) их рост снижался до 27,3–55,0%

Установлено, что микроводоросли способны продуцировать экзополисахариды, что открывает перспективы их использования в практических целях.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Rizwan, M., Mujtaba, G., Memon, S. A., Lee, K., Rashid, N. (2018). Exploring the potential of microalgae for new biotechnology applications and beyond: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 92, 394–404. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.04.034>
- Villarruel-Lopez, A., Ascencio, F., Nuno, K. (2017). Microalgae, a potential natural functional food source — A review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 67(4), 251–263. <https://doi.org/10.1515/pjfn-2017-0017>
- Sprague, M., Betancor, M. B., Tocher, D. R. (2017). Microbial and genetically engineered oils as replacements for fish oil in aquaculture feeds. *Biotechnology Letters*, 39(11), 1599–1609. <https://doi.org/10.1007/s10529-017-2402-6>
- Ferreira, G. F., Ríos Pinto, L. F., Maciel Filho, R., Fregolente, L. V. (2019). A review on lipid production from microalgae: Association between cultivation using waste streams and fatty acid profiles. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 109, 448–466. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.04.052>
- Scharff, C., Domurath, N., Wensch-Dorendorf, M., Schröder, F.-G. (2017). Effect of different photoperiods on the biochemical profile of the green algae *C. vulgaris* and *S. obliquus*. *Acta Horticulturae*, 1170, 1149–1156. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1170.148>
- Borowitzka, M. A. (2013). High-value products from microalgae — their development and commercialization. *Journal of Applied Phycology*, 25(3), 743–756. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-9983-9>
- Suganya, T., Varman, M., Masjuki, H. H., Renganathan, S. (2016). Macroalgae and microalgae as a potential source for commercial applications along with biofuels production: A biorefinery approach. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 55, 909–941. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.11.026>
- Santiago-Morales, I. S., Trujillo-Valle, L., Márquez-Rocha, F. J., Hernández, J.F.L. (2018). Tocopherols, phycocyanin and superoxide dismutase from microalgae: As potential food antioxidants. *Applied Food Biotechnology*, 5(1), 19–27. <https://doi.org/10.22037/afb.v5i1.17884>
- Hu, J., Nagarajan, D., Zhang, Q., Chang, J.-S., Lee, D.-J. (2018). Heterotrophic cultivation of microalgae for pigment production: A review. *Biotechnology Advances*, 36(1), 54–67. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.09.009>
- Mazumdar, N., Novis, P. M., Visnovsky, G., Gostomski, P. A. (2019). Effect of nutrients on the growth of a new alpine strain of *Haematococcus* (Chlorophyceae) from New Zealand. *Phycological Research*, 67(1), 21–27. <https://doi.org/10.1111/pre.12344>
- Mantzorou, A., Ververidis, F. (2019). Microalgal biofilms: A further step over current microalgal cultivation techniques. *Science of the Total Environment*, 651, 3187–3201. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.355>
- Nguyen, H. C., Su, C.-H., Yu, Y.-K., Huang, D. T. M. (2018). Sugar cane bagasse as a novel carbon source for heterotrophic cultivation of oleaginous microalga *Schizochytrium* sp. *Industrial Crops and Products*, 121, 99–105. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.05.005>
- Lafarga, T. (2019). Cultured microalgae and compounds derived thereof for food applications: Strain selection and cultivation, drying, and processing strategies. *Food Reviews International*, 36(6), 559–583. <https://doi.org/10.1080/87559129.2019.1655572>
- Li, Z., Li, Y., Zhang, X., Tan, T. (2015). Lipid extraction from non-broken and high water content microalgae *Chlorella* spp. by three-phase partitioning. *Algal Research*, 10, 218–223. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.04.021>
- Zhao, G., Chen, X., Wang, L., Zhou, S., Feng, H., Chen, W. N. et al. (2013). Ultrasound assisted extraction of carbohydrates from microalgae as feedstock for yeast fermentation. *Bioresour Technology*, 128, 337–344. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.038>
- Bleakley, S., Hayes, M. (2017). Algal proteins: extraction, application, and challenges concerning production. *Foods*, 6(5), Article 33, 1–34. <https://doi.org/10.3390/foods6050033>
- Chen, J., Li, J., Dong, W., Zhang, X., Tyagi, R. D., Drogui, P. et al. (2018). The potential of microalgae in biodiesel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 90, 336–346. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.03.073>
- Su, Y., Song, K., Zhang, P., Su, Y., Cheng, J., Chen, X. (2017). Progress of microalgae biofuel's commercialization. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 74, 402–411. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.12.078>
- Amorim, M. L., Soares, J., Coimbra, J. S. D. R., Leite, M. D. O., Albino, L. F. T., Martins, M. A. (2020). Microalgae proteins: Production, separation, isolation, quantification, and application in food and feed. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(12), 1976–2002. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1768046>
- Phong, W. N., Show, P. L., Ling, T. C., Juan, J. C., Ng, E.-P., Chang, J.-S. (2018). Mild cell disruption methods for bio-functional proteins recovery from microalgae — Recent developments and future perspectives. *Algal Research*, 31, 506–516. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.04.005>
- Zielinski, D., Fraczyk, J., Debowski, M., Zielinski, M., Kaminski, Z., Kregiel, D. et al. (2020). Biological activity of hydrophilic extract of *Chlorella vulgaris* grown on post-fermentation leachate from a biogas plant supplied with stillage and maize silage. *Molecules*, 25(8), Article 25081790. <https://doi.org/10.3390/molecules25081790>
- Frazzini, S., Scaglia, E., Dell'anno, M., Reggi, S., Panseri, S., Giromini, C. et al. (2022). Antioxidant and antimicrobial activity of algal and cyanobacterial extracts: An in vitro study. *Antioxidants*, 11, Article 992. <https://doi.org/10.3390/antiox11050992>
- Селиванова, Е. А., Игнатенко, М. Е., Немцева, Н. В. (2014). Антагонистическая активность новых штаммов зеленых микроводорослей. *Журнал микробиологии эпидемиологии и иммунобиологии*, 4, 72–76.
- Pina-Pérez, M. C., Rivas, A., Martínez, A., Rodrigo, D. (2017). Antimicrobial potential of macro and microalgae against pathogenic and spoilage microorganisms in food. *Food Chemistry*, 235, 34–44. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.033>
- Singh, M., Singh, S., Prasad, S., Gambhir, I. (2008). Nanotechnology in medicine and antibacterial effect of silver nanoparticles. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 3(3), 115–122.
- Ru, I. T. K., Sung, Y. Y., Jusoh, M., Wahid, M. E. A., Nagappan, T. (2020). *Chlorella vulgaris*: a perspective on its potential for combining high biomass with high value bioproducts. *Applied Phycology*, 1(1), 1–10. <https://doi.org/10.1080/26388081.2020.1715256>
- Mostafa, S. M. S. (2012). Microalgal biotechnology: Prospects and applications. Chapter in a book: *Plant Science*. London, UK: IntechOpen Ltd, 2012. <https://doi.org/10.5772/53694>
- Ahmad, M. T., Shariff, M., Yusoff, F. M., Goh, Y. M., Banerjee, S. (2018). Applications of microalga *Chlorella vulgaris* in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 1, 1–19. <https://doi.org/10.1111/raq.12320>
- Safi, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P.-Y., Vaca-Garcia, C. (2014). Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 35, 265–278. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.007>
- Tabarsa, M., Shin, I. S., Lee, J. H., Surayot, U., Park, W., You, S. (2015). An immune-enhancing water-soluble α glucan from *Chlorella vulgaris* and structural characteristics. *Food Science and Biotechnology*, 24(6), 1933–1941. <https://doi.org/10.1007/s10068-015-0255-0>
- Scott, A. M., Beller, E., Glasziou, P., Clark, J., Ranakusuma, R. W., Byambasuren, O. et al. (2018). Is antimicrobial administration to food animals a direct threat to human health? A rapid systematic review. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 52(3), 316–323. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.04.005>
- Sharma, C., Rokana, N., Chandra, M., Singh, B. P., Gulhane, R. D., Gill, J. P. S. et al. (2018). Antimicrobial resistance: Its surveillance, impact, and alternative management strategies in dairy animals. *Frontiers in Veterinary Science*, 4(JAN), Article 237. <https://doi.org/10.3389/fvets.2017.00237>
- Caprarulo, V., Hejna, M., Giromini, C., Liu, Y., Dell'Anno, M., Sotira, S. et al. (2020). Evaluation of dietary administration of chestnut and quebracho tannins on growth, serum metabolites and fecal parameters of weaned piglets. *Animals*, 10(11), Article 1945. <https://doi.org/10.3390/ani10111945>
- Ricky, R., Chiampo, F., Shanthakumar, S. (2022). Efficacy of ciprofloxacin and amoxicillin removal and the effect on the biochemical composition of *Chlorella vulgaris*. *Bioengineering*, 9(4), Article 134. <https://doi.org/10.3390/bioengineering9040134>
- Rathi Bhuvaneshwari, G., Shukla, S. P., Makesh, M., Thirumalaiselvan, S., Arun Sudhagar, S., Kothari, D. C. et al. (2013). Antibacterial activity of spirulina (*Arthrospira platensis* Geitler) against bacterial pathogens in aquaculture. *The Israeli Journal of Aquaculture — Bamidgah*, 932(8), 1–8.
- Salido, J., Sánchez, C., Ruiz-Santaquiteria, J., Cristóbal, G., Blanco, S., Bueno, G. (2020). A low-cost automated digital microscopy platform for automatic identification of diatoms. *Applied Sciences*, 10, Article 6033. <https://doi.org/10.3390/app10176033>
- Mu, P., Plummer, D.T. (2001). Introduction to practical biochemistry. Chapter in a book: *Tata McGraw-Hill Education*: New York, NY, USA, 2001.
- Erbland, P., Caron, S., Peterson, M., Alyokhin, A. (2020). Design and performance of a low-cost, automated, large-scale photobioreactor for microalgae production. *Aquacultural Engineering*, 90, Article 102103. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2020.102103>
- Eilertsen, H. C., Eriksen, G. K., Bergum, J.-S., Strømholth, J., Elvevoll, E., Eilertsen, K.-E. et al. (2022). Mass cultivation of microalgae: I. Experiences with vertical column airlift photobioreactors, diatoms and CO₂ sequestration. *Applied Sciences*, 12, Article 3082. <https://doi.org/10.3390/app12063082>
- Барский, Е. Л., Лебедева, А. Ф., Саянина, Я.В. (1999). Изменения окислительно-восстановительного потенциала среды культивирования бактерий *Pseudomonas diminuta*, устойчивых к тяжелым металлам: связь с высвобождением металлотрионеиноподобных белков из клеток. *Вестник Московского Университета. Серия 16: Биология*, 2, 11–15.
- Maeda, K., Owada, M., Kimura, N., Omata, K., Karube, I. (1995). CO₂ fixation from flue gas on coal fired thermal power plant by microalgae. *Energy Conversion and Management*, 36(6–9), 717–720. [https://doi.org/10.1016/0196-8904\(95\)00105-M](https://doi.org/10.1016/0196-8904(95)00105-M)
- Darias, J., Roviro, J., San Martín, A., Díaz, A.-R., Dorta, E., Cueto, M. (2001). Furoplacamioids A–C, novel polyhalogenated furanoid monoterpenes from *Plocamium cartilagineum*. *Journal of Natural Products*, 64(11), 1383–1387. <https://doi.org/10.1021/mp101297u>
- Barreto, M., Meyer, J. J. M. (2006). Isolation and antimicrobial activity of a lanosol derivative from *osmundaria* (rhodophyta) and a visual exploration of its biofilm covering. *South African Journal of Botany*, 72(4), 521–528. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2006.01.006>

44. Kavita, K., Singh, V. K., Jha, B. (2014). 24-Branched Δ^5 sterols from *laurencia papillosa* red seaweed with antibacterial activity against human pathogenic bacteria. *Microbiological Research*, 169(4), 301–306. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.07.002>
45. dos Santos Amorim, R.N., Rodrigues, J.A.G., Holanda, M.L., Quinderé, A. L. G., de Paula, R. C. M., Melo, V. M. M. et al. (2012). Antimicrobial effect of a crude sulfated polysaccharide from the red seaweed *gracilaria ornata*. *Brazilian*

- Archives of Biology and Technology*, 55(2), 171–181. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132012000200001>
46. Abdel-Moneim, A.-M. E., El-Saadony, M. T., Shehata, A. M., Saad, A. M., Aldhumri, S. A., Ouda, S.M. et al. (2022). Antioxidant and antimicrobial activities of spirulina platensis extracts and biogenic selenium nanoparticles against selected pathogenic bacteria and fungi. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(2), 1197–1209. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.09.046>

REFERENCES

1. Rizwan, M., Mujtaba, G., Memon, S. A., Lee, K., Rashid, N. (2018). Exploring the potential of microalgae for new biotechnology applications and beyond: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 92, 394–404. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.04.034>
2. Villarruel-Lopez, A., Ascencio, F., Nuno, K. (2017). Microalgae, a potential natural functional food source — A review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 67(4), 251–263. <https://doi.org/10.1515/pjfn-2017-0017>
3. Sprague, M., Betancor, M. B., Tocher, D. R. (2017). Microbial and genetically engineered oils as replacements for fish oil in aquaculture feeds. *Biotechnology Letters*, 39(11), 1599–1609. <https://doi.org/10.1007/s10529-017-2402-6>
4. Ferreira, G. F., Rios Pinto, L. F., Maciel Filho, R., Fregolente, L. V. (2019). A review on lipid production from microalgae: Association between cultivation using waste streams and fatty acid profiles. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 109, 448–466. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.04.052>
5. Scharff, C., Domurath, N., Wensch-Dorendorf, M., Schröder, F.-G. (2017). Effect of different photoperiods on the biochemical profile of the green algae *C. vulgaris* and *S. obliquus*. *Acta Horticulturae*, 1170, 1149–1156. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1170.148>
6. Borowitzka, M. A. (2013). High-value products from microalgae — their development and commercialization. *Journal of Applied Phycology*, 25(3), 743–756. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-9983-9>
7. Suganya, T., Varman, M., Masjuki, H. H., Renganathan, S. (2016). Macroalgae and microalgae as a potential source for commercial applications along with biofuels production: A biorefinery approach. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 55, 909–941. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.11.026>
8. Santiago-Morales, I. S., Trujillo-Valle, L., Márquez-Rocha, F. J., Hernández, J.F.L. (2018). Tocopherols, phycocyanin and superoxide dismutase from microalgae: As potential food antioxidants. *Applied Food Biotechnology*, 5(1), 19–27. <https://doi.org/10.22037/afb.v5i1.17884>
9. Hu, J., Nagarajan, D., Zhang, Q., Chang, J.-S., Lee, D.-J. (2018). Heterotrophic cultivation of microalgae for pigment production: A review. *Biotechnology Advances*, 36(1), 54–67. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.09.009>
10. Mazumdar, N., Novis, P. M., Visnovsky, G., Gostomski, P. A. (2019). Effect of nutrients on the growth of a new alpine strain of *Haematococcus* (Chlorophyceae) from New Zealand. *Phycological Research*, 67(1), 21–27. <https://doi.org/10.1111/pre.12344>
11. Mantzorou, A., Ververidis, F. (2019). Microalgal biofilms: A further step over current microalgal cultivation techniques. *Science of the Total Environment*, 651, 3187–3201. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.355>
12. Nguyen, H. C., Su, C.-H., Yu, Y.-K., Huong, D. T.M. (2018). Sugarcane bagasse as a novel carbon source for heterotrophic cultivation of oleaginous microalga *Schizochytrium* sp. *Industrial Crops and Products*, 121, 99–105. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.05.005>
13. Lafarga, T. (2019). Cultured microalgae and compounds derived thereof for food applications: Strain selection and cultivation, drying, and processing strategies. *Food Reviews International*, 36(6), 559–583. <https://doi.org/10.1080/87559129.2019.1655572>
14. Li, Z., Li, Y., Zhang, X., Tan, T. (2015). Lipid extraction from non-broken and high water content microalgae *Chlorella* spp. by three-phase partitioning. *Algal Research*, 10, 218–223. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.04.021>
15. Zhao, G., Chen, X., Wang, L. Zhou, S., Feng, H., Chen, W. N. et al. (2013). Ultrasound assisted extraction of carbohydrates from microalgae as feedstock for yeast fermentation. *Bioresource Technology*, 128, 337–344. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.038>
16. Bleakley, S., Hayes, M. (2017). Algal proteins: extraction, application, and challenges concerning production. *Foods*, 6(5), Article 33, 1–34. <https://doi.org/10.3390/foods6050033>
17. Chen, J., Li, J., Dong, W., Zhang, X., Tyagi, R. D., Drogui, P. et al. (2018). The potential of microalgae in biodiesel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 90, 336–346. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.03.073>
18. Su, Y., Song, K., Zhang, P. Su, Y., Cheng, J., Chen, X. (2017). Progress of microalgae biofuel's commercialization. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 74, 402–411. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.12.078>
19. Amorim, M. L., Soares, J., Coimbra, J. S. D. R., Leite, M. D. O., Albino, L. F. T., Martins, M. A. (2020). Microalgae proteins: Production, separation, isolation, quantification, and application in food and feed. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(12), 1976–2002. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1768046>
20. Phong, W. N., Show, P. L., Ling, T. C., Juan, J. C., Ng, E.-P., Chang, J.-S. (2018). Mild cell disruption methods for bio-functional proteins recovery from microalgae — Recent developments and future perspectives. *Algal Research*, 31, 506–516. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.04.005>
21. Zielinski, D., Fraczyk, J., Debowski, M., Zielinski, M., Kaminski, Z., Kręgiel, D. et al. (2020). Biological activity of hydrophilic extract of *Chlorella vulgaris* grown on post-fermentation leachate from a biogas plant supplied with stillage and maize silage. *Molecules*, 25(8), Article 25081790. <https://doi.org/10.3390/molecules25081790>
22. Frazzini, S., Scaglia, E., Dell'anno, M., Reggi, S., Panseri, S., Giromini, C. et al. (2022). Antioxidant and antimicrobial activity of algal and cyanobacterial extracts: An in vitro study. *Antioxidants*, 11, Article 992. <https://doi.org/10.3390/antiox11050992>
23. Selivanova, E. A., Ignatenko, M. E., Nemtseva, N. V. (2014). Antagonistic activity of novel green microalgae strains. *Zhurnal Mikrobiologii Epidemiologii Immunobiologii*, 4, 72–76. (In Russian)
24. Pina-Pérez, M. C., Rivas, A., Martínez, A., Rodrigo, D. (2017). Antimicrobial potential of macro and microalgae against pathogenic and spoilage microorganisms in food. *Food Chemistry*, 235, 34–44. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.033>
25. Singh, M., Singh, S., Prasad, S., Gambhir, I. (2008). Nanotechnology in medicine and antibacterial effect of silver nanoparticles. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 3(3), 115–122.
26. Ru, I. T. K., Sung, Y. Y., Jusoh, M., Wahid, M. E. A., Nagappan, T. (2020). *Chlorella vulgaris*: a perspective on its potential for combining high biomass with high value bioproducts. *Applied Phycology*, 1(1), 1–10. <https://doi.org/10.1080/26388081.2020.1715256>
27. Mostafa, S. M. S. (2012). Microalgal biotechnology: Prospects and applications. Chapter in a book: Plant Science. London, UK: IntechOpen Ltd, 2012. <https://doi.org/10.5772/53694>
28. Ahmad, M. T., Shariff, M., Yusoff, F. M., Goh, Y. M., Banerjee, S. (2018). Applications of microalga *Chlorella vulgaris* in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 1, 1–19. <https://doi.org/10.1111/raq.12320>
29. Safi, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P.-Y., Vaca-Garcia, C. (2014). Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 35, 265–278. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.007>
30. Tabarsa, M., Shin, I. S., Lee, J. H., Surayot, U., Park, W., You, S. (2015). An immune-enhancing water-soluble α glucan from *Chlorella vulgaris* and structural characteristics. *Food Science and Biotechnology*, 24(6), 1933–1941. <https://doi.org/10.1007/s10068-015-0255-0>
31. Scott, A. M., Beller, E., Glaszio, P., Clark, J., Ranakusuma, R. W., Byambasuren, O. et al. (2018). Is antimicrobial administration to food animals a direct threat to human health? A rapid systematic review. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 52(3), 316–323. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.04.005>
32. Sharma, C., Rokana, N., Chandra, M., Singh, B. P., Gulhane, R. D., Gill, J. P. S. et al. (2018). Antimicrobial resistance: Its surveillance, impact, and alternative management strategies in dairy animals. *Frontiers in Veterinary Science*, 4(JAN), Article 237. <https://doi.org/10.3389/fvets.2017.00237>
33. Caprarulo, V., Hejna, M., Giromini, C., Liu, Y., Dell'Anno, M., Sotira, S. et al. (2020). Evaluation of dietary administration of chestnut and quebracho tannins on growth, serum metabolites and fecal parameters of weaned piglets. *Animals*, 10(11), Article 1945. <https://doi.org/10.3390/ani10111945>
34. Ricky, R., Chiampo, F., Shanthakumar, S. (2022). Efficacy of ciprofloxacin and amoxicillin removal and the effect on the biochemical composition of *Chlorella vulgaris*. *Bioengineering*, 9(4), Article 134. <https://doi.org/10.3390/bioengineering9040134>
35. Rathi Bhuvaneshwari, G., Shukla, S.P., Makesh, M., Thirumalaiselvan, S., Arun Sudhagar, S., Kothari, D. C. et al. (2013). Antibacterial activity of spirulina (*arthospira platensis*) against bacterial pathogens in aquaculture. *The Israeli Journal of Aquaculture — Bamidex*, 932(8), 1–8.
36. Salido, J., Sánchez, C., Ruiz-Santaquiteria, J., Cristóbal, G., Blanco, S., Bueno, G. (2020). A low-cost automated digital microscopy platform for automatic identification of diatoms. *Applied Sciences*, 10, Article 6033. <https://doi.org/10.3390/app10176033>
37. Mu, P., Plummer, D.T. (2001). Introduction to practical biochemistry. Chapter in a book: Tata McGraw-Hill Education: New York, NY, USA, 2001.
38. Erbland, P., Caron, S., Peterson, M., Alyokhin, A. (2020). Design and performance of a low-cost, automated, large-scale photobioreactor for microalgae production. *Aquacultural Engineering*, 90, Article 102103. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2020.102103>
39. Eilertsen, H. C., Eriksen, G. K., Bergum, J.-S., Strømsholt, J., Elvevoll, E., Eilertsen, K.-E. et al. (2022). Mass cultivation of microalgae: I. Experiences with vertical column airlift photobioreactors, diatoms and CO₂ sequestration. *Applied Sciences*, 12, Article 3082. <https://doi.org/10.3390/app12063082>

40. Barsky, E. L., Lebedeva, A. F., Savanina, Ya. V. (1999). Changes in the redox potential of the cultivation medium of the bacterium *Pseudomonas diminuta* resistant to heavy metals: relationship with the release of metallothionein-like proteins from cells. *Vestnik Moskovskogo Universiteta. Seriya 16. Biologiya*, 2, 11–15. (In Russian)
41. Maeda, K, Owada, M, Kimura, N, Omata, K, Karube, I. (1995). CO₂ fixation from flue gas on coal fired thermal power plant by microalgae. *Energy Conversion and Management*, 36(6–9), 717–720. [https://doi.org/10.1016/0196-8904\(95\)00105-M](https://doi.org/10.1016/0196-8904(95)00105-M)
42. Darias, J., Roviroso, J., San Martin, A., Díaz, A.-R., Dorta, E., Cueto, M. (2001). Furoprocamioids A–C, novel polyhalogenated furanoid monoterpenes from *Plocamium cartilagineum*. *Journal of Natural Products*, 64(11), 1383–1387. <https://doi.org/10.1021/np010297u>
43. Barreto, M., Meyer, J. J. M. (2006). Isolation and antimicrobial activity of a lanosol derivative from *osmundaria serrata* (rhodophyta) and a visual exploration of its biofilm covering. *South African Journal of Botany*, 72(4), 521–528. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2006.01.006>
44. Kavita, K., Singh, V. K., Jha, B. (2014). 24-Branched $\Delta 5$ sterols from *laurencia papillosa* red seaweed with antibacterial activity against human pathogenic bacteria. *Microbiological Research*, 169(4), 301–306. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.07.002>
45. dos Santos Amorim, R. N., Rodrigues, J. A. G., Holanda, M. L., Quinderé, A. L. G., de Paula, R. C. M., Melo, V. M. M. et al. (2012). Antimicrobial effect of a crude sulfated polysaccharide from the red seaweed *gracilaria ornata*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 55(2), 171–181. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132012000200001>
46. Abdel-Moneim, A.-M. E., El-Saadony, M. T., Shehata, A. M., Saad, A. M., Aldhumri, S. A., Ouda, S. M. et al. (2022). Antioxidant and antimicrobial activities of spirulina platensis extracts and biogenic selenium nanoparticles against selected pathogenic bacteria and fungi. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(2), 1197–1209. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.09.046>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Долганюк Вячеслав Федорович — кандидат технических наук, научный сотрудник, Институт живых систем, Балтийский Федеральный университет им. И. Канта 236041, Калининград, ул. А. Невского, 14 Тел.: +7-961-707-24-53 E-mail: dolganuk_vf@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0003-0603-7456	Vyacheslav F. Dolganyuk , Candidate of Technical Sciences, Researcher, Institute of Living Systems, Immanuel Kant Baltic Federal University 14, A. Nevsky str., 236041, Kaliningrad, Russia Tel.: +7-961-707-24-53 E-mail: dolganuk_vf@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0003-0603-7456
Каширских Егор Владимирович — кандидат технических наук, научный сотрудник, Институт живых систем, Балтийский Федеральный университет им. И. Канта 236041, Калининград, ул. А. Невского, 14 Тел.: +7-923-504-23-23 E-mail: egorkah@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0003-0442-5471	Egor V. Kashirskikh , Candidate of Technical Sciences, Researcher, Institute of Living Systems, Immanuel Kant Baltic Federal University 14, A. Nevsky str., 236041, Kaliningrad, Russia Tel.: +7-923-504-23-23 E-mail: egorkah@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0003-0442-5471
Буденкова Екатерина Александровна — инженер, Институт живых систем, Балтийский Федеральный университет им. И. Канта 236041, Калининград, ул. А. Невского, 14 Тел.: +7-4012-595-595 E-mail: abudenkova@kantiana.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0003-4854-5459	Ekaterina A. Budenkova , Engineer, Institute of Living Systems, Immanuel Kant Baltic Federal University 14, A. Nevsky str., 236041, Kaliningrad, Russia Tel.: +7-4012-595-595 E-mail: abudenkova@kantiana.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0003-4854-5459
Андреева Анна Петровна — кандидат биологических наук, заведующий лабораторией, Балтийский Федеральный университет им. И. Канта 236041, г. Калининград, ул. А. Невского, 14 Тел.: +7-921-854-98-62 E-mail: andreewa.anyuta2010@yandex.kz ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5521-6907	Anna P. Andreeva , Candidate of Biological Sciences, Head of Laboratory, Immanuel Kant Baltic Federal University 14, A. Nevsky str., 236041, Kaliningrad, Russia Tel.: +7-921-854-98-62 E-mail: andreewa.anyuta2010@yandex.kz ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5521-6907
Сухих Станислав Алексеевич — доктор технических наук, доцент, заведующий лабораторией, Балтийский Федеральный университет им. И. Канта 236041, г. Калининград, ул. А. Невского, 14 Тел.: +7-960-903-62-81 E-mail: stas-asp@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0001-7910-8388 * автор для контактов	Stanislav A. Sukhikh , Doctor of Technical Sciences., Docent, Head of Laboratory, Immanuel Kant Baltic Federal University 14, A. Nevsky str., 236041, Kaliningrad, Russia Tel.: +7-960-903-62-81 E-mail: stas-asp@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0001-7910-8388 * corresponding author
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.	Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare no conflict of interest.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-298-307>

Поступила 28.09.2022

Поступила после рецензирования 20.10.2022

Принята в печать 24.10.2022

© Крикунова Л. Н., Ульянова Е. В., Томгорова С. М., Андриевская Д. В., Трофимченко В. А., 2022

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

Обзорная статья

Open access

РАЗРАБОТКА ИДЕНТИФИКАЦИОННЫХ КРИТЕРИЕВ ПЛОДОВЫХ ВОДОК (ЧАСТЬ 1. СПОСОБЫ ПРОБОПОДГОТОВКИ)

Крикунова Л. Н., Ульянова Е. В., Томгорова С. М.*, Андриевская Д. В., Трофимченко В. А.

Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

жидкостная экстракция, твердофазная экстракция, сверхкритическая флюидная экстракция, плодовые водки, минорные соединения, полярности летучих компонентов

АННОТАЦИЯ

Разработка надежных идентификационных критериев для различных видов пищевых продуктов, в том числе плодовых водок, является одним из приоритетных направлений научных исследований в области контроля качества. В обзоре рассматриваются различные подходы к решению проблемы поиска идентификационных критериев для плодовых водок, позволяющих дифференцировать продукцию по виду фруктового сырья, его сорту и региону происхождения. С этой целью использовались инструментальные методы анализа, в том числе спектральные, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) и газовая хроматография в сочетании с масс-спектрометрией (ГХ-МС) в качестве основного метода. При использовании последнего, в первую очередь для обнаружения минорных ароматобразующих соединений, необходимо проводить специальную подготовку пробы анализируемого образца, включающую выделение и концентрирование целевых веществ. В настоящем обзоре рассмотрены 3 основных вида пробоподготовки (жидкостная экстракция, твердофазная экстракция, сверхкритическая флюидная экстракция) и модификации данных методов. Проведен их сравнительный анализ с точки зрения трудоемкости, эффективности выделения, значительно различающихся по полярности летучих ароматобразующих компонентов, воспроизводимости и экологичности. Показано, что вид пробоподготовки влияет на воспроизводимость и чувствительность инструментального метода анализа, что особенно важно при определении некоторых минорных соединений, концентрации которых можно рассматривать в качестве показателей для идентификации вида фруктового сырья. Сделано заключение о том, что среди рассмотренных методов пробоподготовки наиболее перспективным при разработке идентификационных критериев плодовых водок является твердофазная экстракция из паровой фазы (HS-SPME), так как этот метод обладает высокой эффективностью извлечения целевых компонентов, в том числе минорных.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Работа выполнена в рамках выполнения исследований по государственному заданию FGUS-2022-0004 Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова РАН.

Received 28.09.2022

Accepted in revised 20.10.2022

Accepted for publication 24.10.2022

© Krikunova L. N., Ulyanova E. V., Tomgorova S. M., Andrievskaya D. V., Trofimchenko V. A., 2022

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

Review article

Open access

DEVELOPMENT OF IDENTIFICATION CRITERIA FOR FRUIT VODKAS (PART 1. SAMPLE PREPARATION WAYS)

Lyudmila N. Krikunova, Ekaterina V. Ulyanova, Svetlana M. Tomgorova,*
Darya V. Andrievskaya, Vladimir A. Trofimchenko

All-Russian Scientific Research Institute of Brewing, Beverage and Wine Industry, Moscow, Russia

KEY WORDS:

liquid extraction, solid-phase extraction, supercritical fluid extraction, fruit vodkas, minor compounds, polarities of volatile components

ABSTRACT

The development of reliable identification criteria for various types of foods, including fruit vodkas, is one of the top-priority directions of scientific research in the field of quality control. The review examines different approaches to solution to a problem of searching identification criteria for fruit vodkas that will allow differentiating products by a type of fruit raw materials, their grade and region of origin. To this end, instrumental methods of analysis were used, including spectral, high performance liquid chromatography (HPLC) and gas chromatography coupled to mass spectrometry (GC-MS) as the main method. When detecting minor aroma-forming substances using the latter method, it is necessary, first of all, to carry out the special sample preparation that includes extraction and concentration of target substances. The present review examines three main types of sample preparation (liquid extraction, solid-phase extraction, supercritical fluid extraction) and modifications of these methods. Their comparative analysis was carried out with respect to labor intensity, extraction effectiveness, volatile aroma-forming compounds significantly different by polarity, reproducibility and sustainability. It has been shown that a type of sample preparation affects reproducibility and sensitivity of an instrumental analytic method, which is especially important for identification of some minor compounds, which concentration can be regarded as indicators for identification of fruit raw materials. It has been concluded that among the examined

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Крикунова, Л. Н., Ульянова, Е. В., Томгорова, С. М., Андриевская, Д. В., Трофимченко В. А. (2022). К вопросу разработки идентификационных критериев плодовых водок (Часть 1. Способы пробоподготовки). Пищевые системы, 5(4), 298-307. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-297-307>

FOR CITATION: Krikunova, L. N., Ulyanova, E. V., Tomgorova, S. M., Andrievskaya, D. V., Trofimchenko, V.A. (2022). Development of identification criteria for fruit vodkas (Part 1. Sample preparation ways). *Food Systems*, 5(4), 298-307. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-298-307>

methods of sample preparation, the most promising for the development of identification criteria for fruit vodkas is headspace solid-phase microextraction (HS-SPME) as this method is highly effective in terms of extraction of target components including minor.

FUNDING: The article was published as part of the research topic No. FGUS-2022-0004 of the state assignment of the V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS.

1. Введение

В соответствии с требованиями действующей нормативной документации (ГОСТ Р 52135–2003), плодовая водка представляет собой винодельческий продукт с объемной долей этилового спирта не менее 37,5%, изготовленный из одного или нескольких наименований плодовых дистиллятов с добавлением или без добавления плодового спирта и имеющий вкус и аромат используемого сырья. Органолептические характеристики этого вида алкогольной продукции определяются в первую очередь составом и концентрацией летучих компонентов фруктовых (плодовых) дистиллятов, на основе которых они произведены, а также минеральным комплексом подготовленной воды [1–3]. Взаимодействие данных веществ может оказать как положительное, так и отрицательное влияние на качественные показатели готового продукта [4,5].

Одной из наиболее важных органолептических характеристик дистиллированных алкогольных напитков, в том числе и плодовых водок, является их аромат [1,6]. Он формируется в процессе производства и зависит от множества факторов, в том числе от вида используемого сырья, особенностей технологии производства и др. Следует отметить, что при восприятии запаха ароматной смеси имеет место феномен перцептивного смешивания запахов, который приводит к появлению нового запаха, отличного от запаха каждого отдельного компонента. Кроме того, для всех ароматобразующих соединений зависимость между воспринимаемой интенсивностью их запаха и концентрацией не линейная, и это важно учитывать при попытке представить вклад отдельных одорантов в аромат смеси [7]. Таким образом, индивидуальный аромат плодовой водки зависит от качественного и количественного содержания и соотношения ароматобразующих соединений, в том числе и от наличия характерных компонентов для данного сырья. К тому же, композиция летучих соединений фруктового сырья переходит во фруктовые (плодовые) дистилляты и плодовые водки со значительными изменениями качественного и количественного состава, что существенно затрудняет идентификацию напитка по виду сырья [8].

Следовательно, при разработке идентификационных критериев необходимо изучать полный качественный и количественный состав летучих компонентов непосредственно плодовых водок, а не сырья, включая минорные соединения, концентрация которых не превышает предел восприятия их запаха.

В ряде работ были сделаны попытки установления аутентичности образцов плодовых водок, определения вида фруктов, используемых в качестве сырья, а также выявления их сорта [9–11] и региона происхождения [8,12–13] с использованием современных инструментальных методов исследования (спектральные методы, ВЭЖХ, ГХ–МС). В современных литературных источниках можно найти ряд обзоров, посвященных проблеме идентификации плодовых водок и определения фальсифицированной продукции [12,14–17]. Так, для установления аутентичности плодовых водок предложено использовать спектры в ИК-, УФ- и видимой областях, спектры синхронной флуоресценции [10] и спектры комбинационного рассеяния [8]. Однако главная роль в идентификации дистиллированных спиртных

напитков из фруктового сырья отводится газовой хроматографии, которая в сочетании с масс-спектрометрическим детектированием (ГХ–МС) традиционно используется для определения качественного и количественного состава летучих соединений [13,18–22]. Применение такой комбинации предпочтительно, поскольку позволяет одновременно обнаруживать как основные (мажорные), так и минорные компоненты. Благодаря высокой селективности МС детектирования, обычно не возникает проблем с измерением аналитического сигнала компонентов, содержание которых необходимо установить в образце, даже на фоне больших количеств соэлюирующихся компонентов.

Перед проведением инструментального анализа в случае необходимости выделения и концентрирования целевых веществ, в первую очередь минорных, необходимо проведение специальной пробоподготовки [20]. В то же время в ряде публикаций [23–28], посвященных разработке идентификационных критериев плодовых водок, описаны инструментальные методики, не предусматривающие данную стадию, что в целом упрощает процесс. Так, авторы работы [23] прямым вводом в газовый хроматограф с пламенно-ионизационным детектором определяли концентрацию высших спиртов с использованием внешнего стандарта и рассчитывали величину соотношения «1-пропанол/сумма изобутанола и изоамилола» в образцах плодовых водок. Результаты исследования позволили рекомендовать данную величину в качестве показателя для идентификации дистиллятов из алычи, сливы, вишни, абрикосов и других видов сырья.

В работах [24–28] применялся метод количественного определения летучих компонентов в этанолсодержащей продукции, в том числе и для плодовых водок, основанный на использовании этанола, который заведомо присутствует во всех спиртосодержащих продуктах, в качестве внутреннего стандарта. В целом, метод внутреннего стандарта является более предпочтительным по сравнению с методом внешнего стандарта, потому что в этом случае нет необходимости точно определять объем анализируемой пробы. Кроме того, исключается также влияние изменения скорости газа-носителя и температуры колонок. При газохроматографическом определении таких летучих соединений, как ацетальдегид, метилацетат, этилацетат, метанол, 2-пропанол, этанол, 1-пропанол, 2-метил-1-пропанол, 2-пентанол, 1-бутанол, 3-метил-1-бутанол, пробоподготовка сводилась к следующему. В образцы вводили рассчитанные количества одного из изомеров изоамилового спирта — 2 пентанола [29, 30], или 3-пентанола [31], используемых в качестве внутреннего стандарта. В данном случае можно также использовать простые детекторы — пламенно-ионизационный или катарометр.

В работе [11] методом прямого ввода образцов сливовых водок проведен анализ по определению содержания производных фенола и анизолола методом ВЭЖХ с диодно-матричным и флуоресцентным детектированием. Авторы предложили рассматривать данные соединения, отслеживаемые как второстепенные компоненты в сливовых водках, в качестве маркеров происхождения для 30 сортов сливы (*Prunus domestica* L.). Пять производных фенола и анизолола (эвгенол, 4-этилфенол, 4-виниланизол, 4-аллиланизол, 4-пропениланизол) обнаружены и количественно определены в сливовых бренди из разных регионов происхождения. Кроме

того, количественные профили эвгенола, 4-виниланизола и 4-этилфенола значительно различались для образцов сливовых водок, изготовленных из летних и осенних сортов слив. Следует также отметить, что метод ВЭЖХ очень редко используется для анализа плодовых водок. Так, в работе [1] сообщается об использовании ВЭЖХ для определения фурфурола в плодовых водках. Водки из косточковых плодов отличаются относительно высоким содержанием фурфурола, что может, по мнению авторов, послужить одним из критериев для их идентификации.

Для дифференциации образцов сливовых водок по группам сортов слив, из которых изготовлены напитки (летние или осенние), были впервые использованы спектры синхронной флуоресценции, а также спектральный анализ в ближней ИК- и УФ-видимой областях в сочетании с хемометрикой [32]. Флуоресценция сливовых водок возникает из-за различных соединений, таких как эвгенол, цимолы, 2-фенилэтанол, 4-этилфенол, 1-фенилэтанол, о-, м-/п-крезол, гваякол, анисолы и др. В методе синхронной флуориметрии спектры флуоресценции регистрируются в условии одновременного изменения длины волны возбуждающего и регистрируемого излучений. При этом разница между ними $\otimes\lambda$ сохраняется постоянной, ее значение подбирается для конкретного анализа. В работе [32] синхронные спектры флуоресценции показали сходные характеристики для всех сливовых бренди и продемонстрировали наличие двух

или трех основных максимумов. Все ИК-спектры образцов характеризовались присутствием полос поглощения при 4407 см^{-1} и 4340 см^{-1} . В УФ диапазоне от 200 до 320 нм регистрировали 3 характерные области, где поглощение достигает максимальных значений: 200–220 нм, 230–265 нм и 270–300 нм, что соответствует полосам поглощения производных фенола и анизола (Рисунок 1).

Таким образом, все спектры имеют характерный вид, позволяющий авторам установить аутентичность плодовых водок. Преимуществом данных спектральных методов является отсутствие длительной стадии пробоподготовки. Однако использование предложенного подхода затруднено вследствие необходимости применения специфического дорогостоящего оборудования.

В случае необходимости выделения и концентрирования целевых веществ, в первую очередь минорных, для корректной оценки состава смеси ароматобразующих веществ в плодовых водках необходимо проводить пробоподготовку. Следует отметить, что среди данных компонентов присутствуют как гидрофильные, например, этанол ($\log P = -0,3$), так и гидрофобные вещества — лимонен ($\log P = 4,46$), где $\log P$ — коэффициент распределения в системе октанол/вода. Вследствие этого они имеют очень разную растворимость в воде и экстрагирующихся растворителях [7]. Кроме того, плодовые водки могут содержать вещества, сильно различающиеся по кислотности и давлению насыщенных паров, наконец,

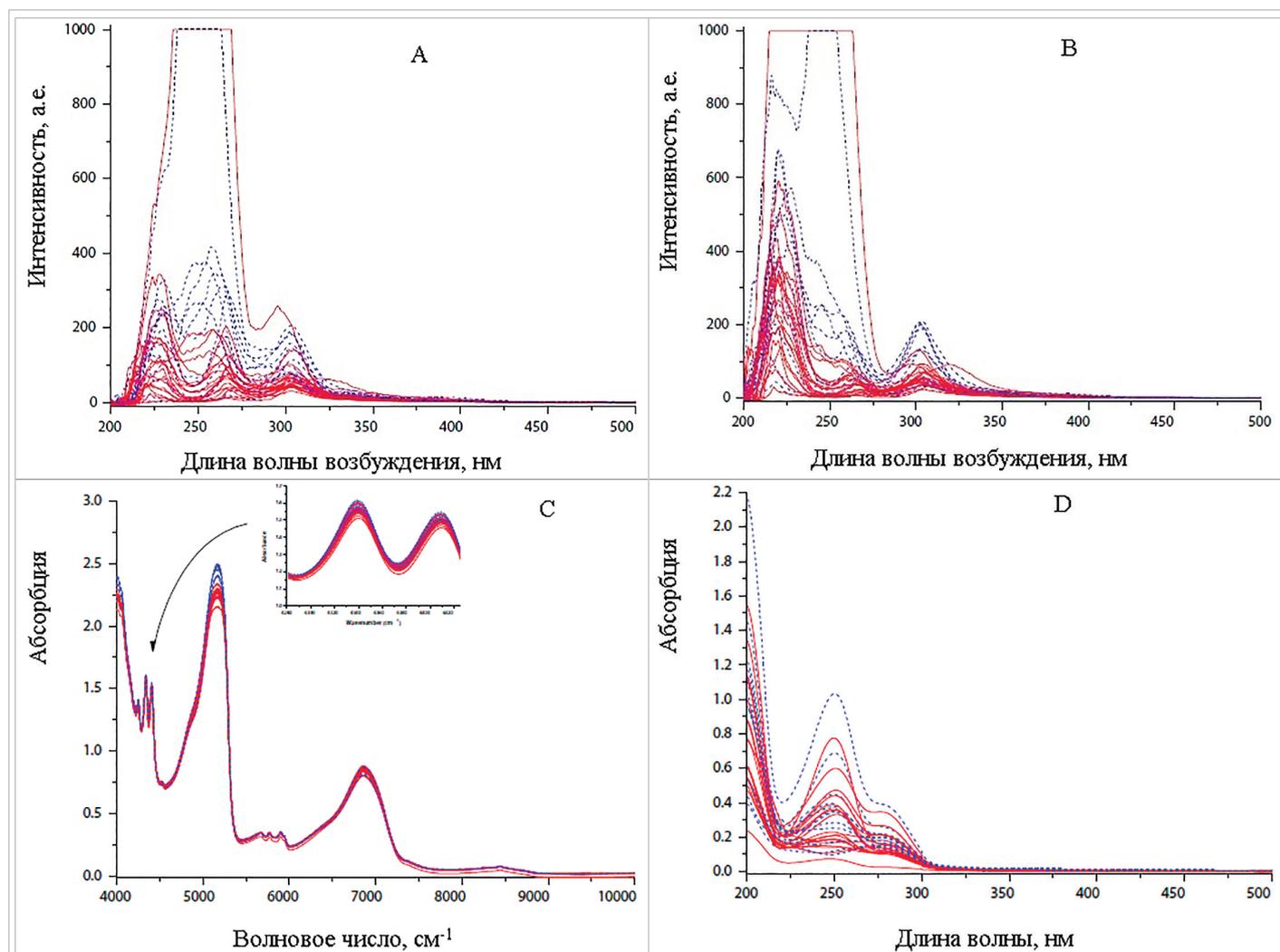


Рисунок 1. Спектры образцов сливовых водок: А, В — синхронные спектры флуоресценции при значениях $\otimes\lambda = 80\text{ nm}$ (А) и $\otimes\lambda = 100\text{ nm}$ (В); С — спектры в ближней ИК-области; D — спектры в УФ-видимой областях [32]
Figure 1. Spectra of plum vodka samples: A, B — synchronous fluorescence spectra at values $\otimes\lambda = 80\text{ nm}$ (A) and $\otimes\lambda = 100\text{ nm}$ (B); C — spectra in the near-IR region; D — spectra in the UV-visible regions [32]

их концентрации в матрице колеблются от нескольких десятков частей на миллиард до нескольких процентов. Необходимо учитывать это огромное разнообразие свойств при выборе подходящего метода пробоподготовки и условий метода исследования в целом.

2. Методы пробоподготовки

Проведенный анализ научных публикаций, посвященных исследованию состава летучих компонентов дистиллированных спиртных напитков из фруктового сырья, в том числе плодовых водок, позволил установить, что основными методами пробоподготовки при определении в них целевых ароматобразующих компонентов с использованием ГХ-МС являются (Рисунок 2): жидкостная экстракция (liquid extraction, LE), твердофазная экстракция (solid phase extraction, SPE), твердофазная микроэкстракция (solid phase microextraction, SPME), твердофазная микроэкстракция из паровой фазы (head space solid phase microextraction, HS-SPME), сверхкритическая флюидная экстракция (supercritical fluid extraction, SFE) и сорбционная экстракция на мешалке (stir bar sorptive extraction, SBSE) [21,33–34].



2.1. Жидкостная экстракция

При анализе фруктовых (плодовых) дистиллятов на стадии пробоподготовки ряд авторов [22,35–38] использовали метод жидкостной экстракции (LE) для выделения и концентрирования целевых компонентов. Такой метод характеризуется высокой эффективностью, позволяя выделять в мягких условиях ароматобразующие летучие вещества. В качестве экстрагирующих компонентов в данных работах было предложено применять *n*-гексан [35], дихлорметан [22,36,38] или пентан [37].

Техника выполнения жидкостной экстракции целевых компонентов включает смешивание образца плодовой водки с водой в соотношении 1:1, а также добавление в него хлорида натрия. Цель данной стадии заключается в увеличении разницы значений полярностей анализируемой пробы (водно-спиртовой раствор) и органического экстрагента, что позволяет повысить степень извлечения целевых органических веществ из водно-спиртовой фазы. После перемешивания слои разделяют в делительной воронке и органический

слой высушивают над безводным сульфатом натрия. Затем органическую вытяжку можно сконцентрировать в атмосфере азота [36] или в приборе Кудерна-Даниша [37]. Полученный концентрат в дальнейшем используют для анализа методом газовой хроматографии с масс-спектрометрическим детектором (ГХ-МС). В работе [36] приводятся данные анализа кизилового дистиллята, полученные с использованием данного метода пробоподготовки и метода детектирования. Авторами было идентифицировано 84 соединения, среди которых наиболее распространенными были жирные кислоты с прямой цепью, этиловые эфиры карбоновых кислот C6–C18, лимонен, 2-фенилэтанол и 4-этилфенол. Большинство соединений, обнаруженных в исследованных образцах кизиловых дистиллятов, не являются уникальными, все они присутствуют и в других алкогольных напитках. В работе [35] пробоподготовку образцов сливовых дистиллятов осуществляли аналогичным образом, используя другие соотношения водно-спиртовой фазы и экстрагента, а также применяли меньшую степень концентрирования целевых компонентов, чем в предыдущей работе. Было идентифицировано и количественно определено содержание 34 летучих соединений. Пределы обнаружения отдельных компонентов составили 6–98 мкг/л. Авторы работы [37] помимо хлорида натрия добавляли к 30 мл анализируемой пробы 100 мкл бензофенона, используемого в качестве внутреннего стандарта, после чего проводили экстракцию тремя порциями пентана по 10 мл в делительной воронке. Количество выделенных соединений с применением жидкостной экстракции в качестве пробоподготовки достигло в этом случае 94, причем 34 из них не удавалось выделить другими методами. Отдельные образцы исследованных в работе сливовых водок, изготовленных из разных сортов слив, различались по содержанию ненасыщенных сивушных спиртов (3-метил-3-бутен-1-ол, транс-3-гексенол), ненасыщенных альдегидов (2-бутеналь, 2-ноненаль), производных монотерпена (ацетат линалоола, ацетат гераниола) и лактонов.

В целом отмечено, что использование метода жидкостной экстракции характеризуется простотой выполнения операций, не требует дорогостоящего оборудования, использует дешевые и доступные реактивы. Однако данный метод пробоподготовки не позволяет обнаружить и количественно определить содержание некоторых минорных ароматобразующих соединений, используемых в качестве маркеров при оценке соответствия плодовой водки заявленному сырью. Кроме того, данный метод предполагает применение редных органических растворителей.

2.2. Сверхкритическая флюидная экстракция

Сверхкритическая флюидная экстракция (SFE) — это передовой метод извлечения биоактивных соединений с использованием сверхкритических жидкостей в качестве растворителей. Он привлекает большое внимание по сравнению с традиционными методами из-за его значительных преимуществ, так как обладает более высокой селективностью, диффузионностью и экологичностью [39,40]. Основным используемым растворителем — диоксид углерода CO₂ в сверхкритическом состоянии (SCCO₂). Диоксид углерода (критические условия: температура 30,9 °C и давление 7380 кПа) имеет низкую стоимость и его применение безопасно для экологии. SCCO₂ также привлекателен из-за его высокой диффузионной способности в сочетании с легко регулируемой растворяющей способностью. Это значительно упрощает извлечение целевых компонентов. Также важным для пробоподготовки образцов плодовых водок данным методом считается то, что он позволяет извлекать термически лабильные или легко окисляемые соединения. В работе [40]

указывается, что основным недостаток метода заключается в низкой степени извлечения полярных компонентов, к которым относятся многие ароматобразующие вещества плодовых водок (спирты, эфиры и др.). С целью повышения эффективности их экстракции в $SCCO_2$ предложено добавлять различные полярные модификаторы (сорастворители). Их применение позволяет изменить полярность сверхкритической жидкости, результатом чего является увеличение ее сольватирующей способности по отношению к целевым компонентам. Однако данный прием усложняет процесс идентификации и количественного определения ароматобразующих компонентов плодовых водок. Широкого применения этот метод пробоподготовки не получил в связи с необходимостью использования сложного дорогостоящего оборудования.

2.3. Твердофазная экстракция

Преимуществом извлечения веществ методом твердофазной экстракции (SPE) считается обеспечение эффективного контакта пробы образца с равномерно упакованным внутри колонки для сорбции адсорбентом. Наиболее полное выделение целевых летучих компонентов достигается при условии оптимального выбора твердой фазы с учетом их химической природы и полярности, а также подходящего растворителя, контактирующего с образцом [14,34,41].

2.4. Твердофазная микроэкстракция (SPME)

Представляет собой миниатюрный, недорогой, простой и быстрый в исполнении вариант SPE для извлечения летучих веществ из пробы. Данный метод обладает хорошей воспроизводимостью, легко поддается автоматизации, обеспечивает высокую чувствительность последующего определения целевых веществ и использует минимальные количества растворителей и образцов [41]. Метод SPME подходит для образцов, которые содержат соединения, чувствительные к термическому разложению и окислению, и подразумевает взаимодействие образца с поверхностью, покрытой сорбирующим материалом. Последний представляет собой диоксид кремния с покрытием. К примеру, метод SPME с успехом был использован при анализе оптических изомеров ароматобразующих компонентов алкогольной продукции. В работе [42] определяли соотношения оптических изомеров некоторых летучих хиральных соединений в различных фруктовых (плодовых) дистиллятах, в том числе из слив, абрикосов, кислой и сладкой вишни. Данные соотношения определены методом газовой хроматографии с использованием твердофазной микроэкстракции (SPME). Полученные хроматограммы содержали от 50 до 102 пиков в зависимости от типа фруктового дистиллята. Например, в дистиллятах из вишни было идентифицировано 48–51 соединений, в дистиллятах из абрикоса — 40–56, из сливы — 38–54. Соотношения оптических изомеров отдельных ароматобразующих компонентов плодовых водок из косточкового сырья приведены в Таблице 1.

Было показано, что лимонен встречался в нерацемических, оптически активных, смесях с избытком R-энантиомера над S-энантиомером в дистиллятах из черешни. Другой терпеноид (β -цитронеллол) во фруктовых бренди из абрикосов и черешни обнаружен только в виде чистого (R)-энантиомера. Между тем, данный ароматобразующий компонент в других видах плодовых водок (из сливы и вишни) представляет собой практически рацемическую, оптически неактивную смесь изомеров R и S. β -цитронеллол представляет собой пример вещества с различными органолептическими свойствами энантиомерных форм. (R)-цитронеллол пахнет цитронеллой (пряный лимонный аромат), в то время

как (S)-стереоизомер обладает запахом герани. Оптически активные изомеры оксидов цис- и транс-линалоола выявлены только в образцах плодовых водок из абрикосов. Изомеры γ -додекалктона не выявлены во фруктовых бренди из черешни, в то время как в образцах из других видов плодового сырья данное вещество представлено исключительно в виде R-изомера.

Таблица 1. Соотношения оптических изомеров отдельных ароматобразующих компонентов плодовых водок из косточкового сырья

Table 1. Ratio of optic isomers of certain aroma-forming components of fruit vodkas from stone raw materials

Наименование ароматобразующего компонента	Оптические изомеры	Процентное соотношение изомеров в ароматобразующем компоненте, %			
		Черешня	Абрикос	Слива	Вишня
линалоол	R	47	40	51	47
	S	53	60	49	53
оксид транслиналоола	2R, 5R	–	21	–	–
	2S, 5S	–	79	–	–
оксид ислиналоола	2R, 5S	–	19	–	–
	2S, 5R	–	81	–	–
лимонен	R	70	47	–	51
	S	30	53	–	49
α -терпинеол	R	35	41	–	40
	S	65	59	–	60
Неролидол	R	47	46	44	47
	S	53	54	56	53
β -цитронеллол	R	100	100	51	51
	S	0	0	49	49
γ -декалктон	R	100	93	69	93
	S	0	7	31	7
γ -додекалктон	R	–	100	100	100
	S	–	0	0	0

Таким образом, авторы работы пришли к заключению, что оценка соотношения оптически активных изомеров отдельных ароматобразующих веществ в плодовых водках может быть использована для идентификации вида фруктового косточкового сырья.

Другим вариантом твердофазной микроэкстракции является метод тонкопленочной микроэкстракции (TF-SPME). Применение TF-SPME к широкому спектру матриц, таких как промышленные материалы, вода, продукты питания и напитки, показало его расширенные возможности по сравнению с классической SPME. В данном методе можно оптимизировать процесс экстракции за счет обеспечения высокого отношения площади поверхности к объему пробы. Это позволяет сократить время, необходимое для достижения равновесия, при этом увеличивая мощность экстракционного устройства [43].

Следует отметить, что оба варианта твердофазной микроэкстракции (классический и тонкопленочный) можно использовать как для прямой экстракции соединений, находящихся в жидкой фазе образца, в который непосредственно погружают сорбирующее микроволокно, так и для твердофазной микроэкстракции из паровой фазы (HS-SPME), в которую предварительно переводят целевые ароматобразующие компоненты. HS-SPME — один из самых распространенных современных методов пробоподготовки для дальнейшего газохроматографического анализа летучих ароматобразующих соединений в плодовых водках (фруктовых бренди), он был использован во многих работах [14,34,41,44–48]. Например,

авторы работы [45], изучая химический состав фруктовых дистиллятов, изготовленных из различных видов фруктов, добились определенных успехов в разработке идентификационных критериев для установления их аутентичности. Двадцать четыре образца семи видов фруктовых дистиллятов (сливовый, яблочный, грушевый, вишневый, мирабельный, абрикосовый и малиновый) были проанализированы для изучения их хроматографических профилей. Использованный метод пробоподготовки позволил выделить и установить концентрации отдельных сесквитерпенов, что позволило различать фруктовые дистилляты из семечковых и косточковых плодов. Так, в профилях фруктовых (плодовых) дистиллятов из семечковых фруктов было определено относительно высокое содержание (Е, Е)- α -фарнезена, а также присутствие α -зингиберена и (Е)- α -бисаболена. Только в спиртах из косточковых фруктов обнаружены пропилдеcanoат и этилсалицилат. Установлено также, что некоторые другие соединения были характерны для отдельных видов анализируемых фруктовых дистиллятов, например, γ -декалактон — для абрикосовых, (Е)- β -фарнезен — для яблочных, (Z)-9-тетрадецен-1-ол — для дистиллятов из мирабели, а некоторые апокаротиноиды — для малиновых. Эта работа потенциально может быть основой для проверки фруктового происхождения дистиллятов или плодовых водок.

Параметрами, которые имеют решающее значение при использовании SPME, являются выбор сорбента (его полярность и толщина слоя), время и температура экстракции, добавление растворимых солей (хлорид натрия, гидрокарбонат натрия, карбонат калия), перемешивание образца и концентрация аналита в образце. При проведении как SPE, так и SPME ароматобразующие летучие соединения фруктовых (плодовых) дистиллятов обычно извлекают с использованием комплексных сорбентов, в состав которых входят дивинилбензол (DVB), карбоксен (CAR) и полидиметилсилоксан (PDMS), в течение 20–30 минут при температуре в диапазоне от 35 до 45 °C [34,41–42,49]. Наиболее важными параметрами при выборе сорбента являются толщина его слоя и полярность, зависящая от соотношения входящих в его состав компонентов. Волокна, покрытые более толстой пленкой, требуют более продолжительного времени для достижения равновесия экстракции, но могут обеспечить высокую чувствительность из-за большей массы извлекаемых целевых компонентов. Кроме того, признано, что легколетучие соединения требуют толстого покрытия, а для менее летучих соединений более эффективно тонкое покрытие [41]. Некоторые авторы [34] рекомендуют предварительно кондиционировать волокно для HS-SPME в течение 5 минут перед первым ежедневным анализом при температуре ниже максимально допустимой производителем.

В работе [50] протестировали три типа сорбирующих покрытий разной полярности и толщины: 100 мкм PDMS, 65 мкм PDMS/DVB и 75 мкм CAR/PDMS. Их совместное применение при пробоподготовке образцов позволило идентифицировать 148 летучих соединений. Каждый тип сорбирующего покрытия был специфичен к определенному классу ароматобразующих веществ. Например, на 100 мкм PDMS эффективно выделялось большинство летучих соединений исходного фруктового сырья, включая альдегиды, эфиры, кетоны, лактоны, терпены. Для выделения полярных соединений, таких как спирты, летучие кислоты, фенольные вещества, авторы использовали два других типа сорбирующих покрытий. Отдельные вещества, например, пентадекановую кислоту, гексилсалицилат, удалось выделить только на 75 мкм CAR/PDMS.

В работе [51] с целью оптимизации пробоподготовки методом твердофазной микроэкстракции (SPME) перед проведением газохроматографического анализа равновес-

ной паровой фазы исследовали влияние на концентрацию целевых летучих компонентов различных факторов. Среди них разбавление исходных образцов водочной продукцией раствором сульфата аммония концентрацией 4,05 М; продолжительность процесса экстрагирования; температура термостатирования. Было установлено, что концентрация большинства определяемых летучих микрокомпонентов в паровой фазе зависит от степени разбавления образца. В среднем наилучшие результаты, то есть максимальные равновесные концентрации целевых компонентов в паровой фазе, достигались при разбавлении исходных образцов в 5 раз и термостатировании при 65 °C в течение 10 минут.

В другой работе [41] использование метода ГХ–МС в сочетании с HS-SPME позволило определить летучие соединения серы во фруктовых бренди, влияющие на ароматический профиль напитков, в крайне низких концентрациях — от 0,001 до 0,183 мкг/дм³. Авторам указанной работы удалось разделить и количественно определить 19 летучих соединений серы в плодовых водках из слив, груш и яблок. Показано, что наиболее эффективная сорбция целевых компонентов происходит на сорбенте, содержащем в своем составе дивинилбензол, карбоксен и полидиметилсилоксан (DVB/CAR/PDMS), при температуре 35 °C в течение 30 мин. Установлено, что снижение крепости образцов с исходных 40–45% об., характерных для плодовых водок, до 2,5% об. путем разбавления водным раствором, который содержит 20% NaCl и 1% этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА), значительно повышает чувствительность метода в целом.

Следует отметить, что традиционные процедуры SPME всегда включают нагревание и/или перемешивание матрицы образца, что может увеличить скорость массопереноса. Для еще большего ускорения кинетики экстракции предлагается использовать различные вспомогательные технологии, которые позволяют также повысить эффективность и специфичность экстракции [52]. Так, существуют методики, включающие использование вакуума [53], ультразвуковых волн [54], микроволн [55], ЭДС [56], магнетизма [57], и некоторые другие синергетические подходы.

В последние несколько десятилетий при исследовании ароматобразующих компонентов плодовых водок находят применение метод *сорбционной экстракции на мешалке* (SBSE) [58,59]. Данный метод так же, как и классический метод твердофазной микроэкстракции (SPME), прост в применении, не требует дополнительных стадий концентрирования, безвреден для окружающей среды (не требуются органических растворителей), но при этом он существенно быстрее, чем SPME. В вышеуказанных работах показано, что использование метода SBSE позволяет повысить чувствительность почти в 1000 раз по сравнению с классическим методом SPME, поскольку магнитный якорь мешалки имеет значительно большую площадь поверхности, на которую можно нанести большее количество сорбента. Следовательно, такой объем сорбента позволяет извлекать и концентрировать целевые компоненты из гораздо большего объема пробы. Мешалка для SBSE выглядит, как обычная магнитная мешалка, но имеет магнитный якорь с нанесенным на него сорбирующим покрытием, обычно на основе PDMS. Данный метод пробоподготовки технически позволяет одновременно экстрагировать целевые компоненты из нескольких образцов, что обеспечивает высокую производительность и пропускную способность анализа в целом. Аналиты обычно десорбируются с магнитного якоря с помощью термической десорбции. Жидкостную десорбцию с использованием растворителя в случае анализа плодовых водок проводят, когда отдельные целевые компоненты термически неустойчивы.

Особенность сорбирующего покрытия на основе PDMS заключается в его низком сродстве к спиртам, что позволяет определять минорные концентрации летучих компонентов в алкогольных напитках. С другой стороны, полидиметилсилоксановая (PDMS) фаза имеет низкое сродство и к другим соединениям средней и высокой полярности ($\log K_{OW} < 3$), например, к спиртам, сложным эфирам, которые являются целевыми при анализе плодовых водок. Это несколько ограничивает применение данного метода пробоподготовки для определения таких соединений.

Напротив, метод пробоподготовки TF-SPME за счет использования различных сорбирующих покрытий с высоким сродством к полярным соединениям позволяет извлекать более широкий спектр ароматобразующих веществ [59], но при этом уступает по чувствительности методу SBSE.

Авторы работы [59] провели сравнение разных экстракционных методов и установили, что метод SBSE был проще в выполнении по сравнению с другими, занимал по времени менее двух часов и демонстрировал самую высокую воспроизводимость. Среди испытанных методов пробоподготовки только метод SBSE позволил идентифицировать в плодовых водках н-додекановую, н-тетрадекановую, н-пентадекановую и н-гексадекановую кислоты и оказался наиболее эффективным для извлечения таких ароматобразующих соединений, как, например, нооткатон.

В целом, методы пробоподготовки, основанные на твердофазной экстракции, характеризуются простотой исполнения, незначительными временными затратами, хорошей

воспроизводимостью, низкими пределами обнаружения и возможностью автоматизации. К недостаткам этих методов экстракции можно отнести необходимость использования дополнительного дорогостоящего аппаратного оснащения.

3. Выводы

Анализ литературных источников позволил сделать следующие выводы:

1. Существует большое разнообразие методов пробоподготовки для исследования состава фруктовых (плодовых) дистиллятов и плодовых водок. Выбор метода пробоподготовки зависит от: решаемой задачи, наличия соответствующего оборудования и учитывает содержание в анализируемых образцах разных классов веществ, имеющих различную полярность и концентрацию.
2. Используемый вид пробоподготовки для определения качественного и количественного состава летучих веществ в плодовых водках влияет на воспроизводимость и чувствительность метода в целом, что особенно важно при определении минорных соединений.
3. Среди рассмотренных методов пробоподготовки одним из наиболее перспективных при разработке идентификационных критериев плодовых водок можно считать твердофазную экстракцию из паровой фазы (HS-SPME) за счет высокой эффективности извлечения целевых компонентов, в том числе минорных.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Оганесянц, Л. А., Песчанская, В. А., Осипова, В. П., Дубинина, Е. В., Алиева, Г. А. (2013). Качественный и количественный состав летучих компонентов плодовых водок. *Виноделие и виноградарство*, 6, 22–24.
2. Дубинина, Е. В., Алиева, Г. А. (2015). Исследование корреляционной зависимости между органолептической оценкой и содержанием летучих компонентов плодовых водок. *Виноделие и виноградарство*, 3, 29–34.
3. Оганесянц, Л. А., Лорян, Г. В. (2015). Летучие компоненты шелковичных дистиллятов. *Виноделие и виноградарство*, 2, 17–20.
4. Трофимченко, В. А., Севостьянова, Е. М., Осипова, В. П., Преснякова, О. П. (2019). Критерии оценки подготовленной воды при производстве плодовых водок. *Пиво и напитки*, 4, 10–14. <https://doi.org/10.24411/2072-9650-2019-10011>
5. Дубинина, Е. В., Севостьянова, Е. М., Крикунова, Л. Н., Ободеева, О. Н. (2021). Влияние минерального состава умягченной воды на качественные показатели спиртных напитков из растительного сырья. *Ползуновский вестник*, 1, 11–19. <https://doi.org/10.25712/ASTU.2072-8921.2021.01.002>
6. Белкин, Ю. Д., Пастухова, В. О. (20 января 2018). *Новые подходы к идентификации и экспертизе качества плодовых водок*. Инновационные технологии в науке и образовании. Сборник статей VII Международной научно-практической конференции: в 2 частях. Пенза, 2018.
7. Baldovini, N., Chaintreau, A. (2020). Identification of key odorants in complex mixtures occurring in nature. *Natural Product Reports*, 37(12), 1589–1626. <https://doi.org/10.1039/d0np00020e>
8. Magdas, D. A., David, M., Berghian-Grosan, C. (2022). Fruit spirits fingerprint pointed out through artificial intelligence and FT-Raman spectroscopy. *Food Control*, 133, Article 108630. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108630>
9. Popović, B. T., Mitrović, O. V., Leposavić, A. P., Paunović, S. A., Jevremović, D. R., Nikićević, N. J. et al. (2019). Chemical and sensory characterization of plum spirits obtained from cultivar Čačanska Rodna and its parent cultivars. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 84(12), 1381–1390. <https://doi.org/10.2298/JSC190307061P>
10. Jakubíková, M., Sádecká, J., Kleinová, A. (2018). On the use of the fluorescence, ultraviolet-visible and near infrared spectroscopy with chemometrics for the discrimination between plum brandies of different varietal origins. *Food Chemistry*, 239, 889–897. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.008>
11. Jakubíková, M., Sádecká, J., Hroboňová, K. (2019). Classification of plum brandies based on phenol and anisole compounds using HPLC. *European Food Research and Technology*, 245(8), 1709–1717. <https://doi.org/10.1007/s00217-019-03291-3>
12. Kamiloglu, S. (2019). Authenticity and traceability in beverages. *Food Chemistry*, 277, 2–24. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.10.091>
13. Coldea, T. E., Socaciu, C., Moldovan, Z., Mudura, E. (2014). Minor volatile compounds in traditional homemade fruit brandies from Transylvania-Romania, as determined by GC-MS analysis. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 42(2), 530–537. <https://doi.org/10.15835/nbha4229607>
14. Bajer, T., Hill, M., Ventura, K., Bajerova, P. (2020). Authentication of fruit spirits using HS-SPME/GC-FID and OPLS methods. *Scientific Reports*, 10(1), Article 18965. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-75939-0>
15. Winterová, R., Mikulicova, R., Mazac, J., Havelec, P. (2008). Assessment of the authenticity of fruit spirits by gas chromatography and stable isotope ratio. *Czech Journal of Food Sciences*, 26(5), 368–375. <https://doi.org/10.17221/1610-CJFS>
16. Śliwińska, M., Wisniewska, P., Dymerski, T., Wardencki, W., Namiesnik, J. (2015). The flavour of fruit spirits and fruit liqueurs: A review. *Flavour and Fragrance Journal*, 30(3), 197–207. <https://doi.org/10.1002/ffj.3237>
17. Coldea, T. E., Mudura, E., Socaciu, C. (2017). Advances in distilled beverages authenticity and quality testing. Chapter in a book: Ideas and Applications Toward Sample Preparation for Food and Beverage Analysis. IntechOpen, United Kingdom, 2017. <http://doi.org/10.5772/intechopen.72041>
18. Zhang, X., Wang, C., Wang, L., Chen, S., Xu, Y. (2020). Optimization and validation of a head space solid-phase microextraction-arrow gas chromatography-mass spectrometry method using central composite design for determination of aroma compounds in Chinese liquor (Baijiu). *Journal of Chromatography A*, 1610, Article 460584. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.460584>
19. Wiśniewska, P., Śliwińska, M., Dymerski, T., Wardencki, W., Namiesnik, J. (2016). The analysis of raw spirits — A review of methodology. *Journal of the Institute of Brewing*, 122(1), 5–10. <https://doi.org/10.1002/jib.288>
20. Egea, M. B., Bertolo, M. R. V., Filho, J. G. O., Lemes, A. C. (2021). A narrative review of the current knowledge on fruit active aroma using gas chromatography — olfactometry (GC-O) analysis. *Molecules*, 26(17), Article 5181. <https://doi.org/10.3390/molecules26175181>
21. Guillot, S., Peytavi, L., Bureau, S., Boulanger, R., Lepoutre, J.-P., Crouzet, J. et al. (2006). Aroma characterization of various apricot varieties using head-space-solid phase microextraction combined with gas chromatography-mass spectrometry and gas chromatography-olfactometry. *Food Chemistry*, 96(1), 147–155. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.04.016>
22. Wang, H., Ma, Y., Li, M., Shi, L., Zhang, S., Wang, W. et al. (2018). Volatiles of ripe fruit *Prunus salicina* L. cv. Friar as determined by gas chromatography-mass spectrophotometry as developed during cold storage. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 2622–2631. <https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1536149>

23. Дубинина, Е. В., Крикунова, Л. Н., Песчанская, В. А., Тришканева, М. В. (2021). Научные аспекты разработки идентификационных критериев дистиллятов из фруктового сырья. *Техника и технология пищевых производств*, 51(3), 480–491. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-3-480-491>
24. Charapitsa, S., Sytova, S., Kavalenko, A., Sobolenko, L., Shauchenka, Y., Kostyk, N. et al. (2021). The method for direct gas chromatographic determination of acetaldehyde, methanol, and other volatiles using ethanol as a reference substance: Application for a wide range of alcoholic beverages. *Food Analytical Methods*, 14(10), 2088–2100. <https://doi.org/10.1007/s12161-021-02047-8>
25. Черепица, С. В., Сытова, С. Н., Корбан, А. Л., Соболенько, Л. Н., Егоров, В. В., Лещев, С. М. и др. (2020). Метод определения содержания летучих компонентов в алкогольной продукции с использованием этанола в качестве внутреннего стандарта: результаты межлабораторных испытаний. *Журнал Белорусского государственного университета. Химия*, 1, 74–87. <https://doi.org/10.335581/2520-257X-2020-1-74-87>
26. Charapitsa, S. V., Sytova, S. N., Korban, A. L., Sobolenko, L. N. (2019). Single-laboratory validation of a gas chromatographic method of direct determination of volatile compounds in spirit drinks: need for an improved interlaboratory study. *Journal of AOAC International*, 102(2), 669–672. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.18-0258>
27. Charapitsa, S., Sytova, S., Korban, A., Sobolenko, L., Egorov, V., Leshev, S. et al. (October 23, 2019). Interlaboratory study of ethanol usage as an internal standard in direct determination of volatile compounds in alcoholic products. *Web of Conferences*, 15, Article 02030. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20191502030>
28. Черепица, С. В., Сытова, С. Н., Егорова, В. В., Лещев, С. М., Корбан, А. Л., Соболенько, Л. Н. и др. (2019). Валидация метода прямого определения количественного содержания летучих компонентов в спиртосодержащей продукции. *Пиво и напитки*, 4, 41–45. <https://doi.org/10.24411/2072-9650-2019-10005>
29. Charapitsa, S., Sytova, S., Kavalenko, A., Sobolenko, L., Kostyuk, N., Egorov, V. et al. The study of the matrix effect on the method of direct determination of volatile compounds in a wide range of alcoholic beverages. *Food Control*, 120, Article 107528. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107528>
30. Charapitsa, S., Sytova, S., Kavalenko, A., Sobolenko, L., Shauchenka, Ya., Kostyuk, N. et al. (2021). Development of a quality control material for the analysis of volatile compounds in alcoholic beverages. *Journal of Chemical Metrology*, 15(2), 113–123. <http://doi.org/10.25135/jcm.66.2111.2259>
31. Черепица, С. В., Сытова, С. Н., Коваленко, А. Н. (2021, 24–25 июня). Референтный метод определения количественного содержания летучих компонентов в алкогольной продукции. *Наука, питание и здоровье: Сборник научных трудов в 2 частях*. Минск: Издательский дом «Беларуская навука», 2021.
32. Tomková, M., Sádecká, J., Hrobonová, K. (2015). Synchronous fluorescence spectroscopy for rapid classification of fruit spirits. *Food Analytical Methods*, 8(5), 1258–1267. <https://doi.org/10.1007/s12161-014-0010-9>
33. Feng, J.-R., Xi, W.-P., Li, W.-H., Liu, H.-N., Liu, X.-F., Lu, X.-Y. (2015). Volatile characterization of major apricot cultivars of southern Xinjiang region of China. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 140(5), 466–471. <https://doi.org/10.21273/JASHS.140.5.466>
34. Fratianni, F., Cozzolino, R., d’Acerno, A., Ombra, M. N., Spigno, P., Riccardi, R. et al. (2022). Biochemical characterization of some varieties of apricot present in the Vesuvius area, Southern Italy. *Frontiers in Nutrition*, 9, Article 854868. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.854868>
35. Coldea, T. E., Socaciu, C., Moldovan, Z., Mudura E. (2014). Minor volatile compounds in traditional homemade fruit brandies from Transylvania-Romania, as determined by GC–MS analysis. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 42(2), 530–537. <https://doi.org/10.15835/nbha4229607>
36. Tesevic, V., Nikicevic, N., Milosavljevic, S., Bajic, D., Vajs, V., Vuckovic, I. et al. (2009). Characterization of volatile compounds of “Drenja”, an alcoholic beverage obtained from the fruits of cornelian cherry. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 74(2), 117–128. <https://doi.org/10.2298/JSC0902117T>
37. Vyviurska, O., Matura, F., Furdiková, K., Špáňik, I. (2017). Volatile fingerprinting of the plum brandies produced from different fruit varieties. *Journal of Food Science and Technology*, 54(13), 4284–4301. <https://doi.org/10.1007/s13197-017-2900-5>
38. Puškaš, V., Miličić, U., Vučurović, V., Muzalevski, A. (2017). Aromatic compounds of brandies produced from three apricot varieties cultured in Serbia. *Journal on Processing and Energy in Agriculture*, 21(2), 101–103. <https://doi.org/10.5937/jpea1702101p>
39. Uwineza, P. A., Waškiewicz, A. (2020). Recent advances in supercritical fluid extraction of natural bioactive compounds from natural plant materials. *Molecules*, 25(17), Article 25173847. <https://doi.org/10.3390/molecules25173847>
40. Hererro, M., Mendiola, J. A., Cifuentes, A., Ibanez, E. (2010). Supercritical fluid extraction: Recent advances and applications. *Journal of Chromatography A*, 1217(16), 2495–2511. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.12.019>
41. Dziekońska-Kubczak, U., Pielech-Przybylska, K., Patelski, P., Balcerek M. (2020). Development of the method for determination of volatile sulfur compounds (VSCs) in fruit brandy with the use of HS–SPME/GC–MS. *Molecules*, 25(5), Article 1232. <https://doi.org/10.3390/molecules25051232>
42. Vyviurska, O., Zvršková, H., I. Špáňik, I. (2017). Distribution of enantiomers of volatile organic compounds in selected fruit distillates. *Chirality*, 29(1), 14–18. <https://doi.org/10.1002/chir.22669>
43. Stuff, J., Whitecavage, J. A., Linthicum, S. J., Pawliszyn, J. (2018). Analysis of beverage samples using Thin Film Solid Phase Microextraction (TF–SPME) and Thermal Desorption GC/MS. *GERSTEL Application Note*, 200, 1–9.
44. Muñoz-Redondo, J. M., Valcárcel-Muñoz, M. J., Rodríguez Solana, R., Puertas, B., Cantos-Villar, E., Moreno-Rojas, J. M. (2022). Development of a methodology based on headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry for the analysis of esters in brandies. *Journal of Food Composition and Analysis*, 108, Article 104458. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104458>
45. Bajer, T., Bajerová, P., Surmová, S., Kremr, D., Ventura, K., Eisner, A. (2017). Chemical profiling of volatile compounds of various home-made fruit spirits using headspace solid-phase microextraction. *Journal of the Institute of Brewing*, 123(1), 105–112. <https://doi.org/10.1002/jib.386>
46. Cvetković, D., Stajilcovic, P., Zvezdanovich, J.B., Stanojevic, J., Stanojevic, L., Karabegovic-Stanisavljevic, I. T. (2020). The identification of volatile aroma compounds from local fruit based spirits using a headspace solid-phase microextraction technique coupled with the gas chromatography-mass spectrometry. *Advanced Technologies*, 9(2), 19–28. <https://doi.org/10.5937/savteh2002019C>
47. Pour Nikfardjam, M., Schäfer, L., Schips, C., Farr, T., Endres, A., Hirn, S. et al. (2022). Ethyl carbamate and aroma compounds in distilled spirits from different stone fruits. *Mitteilungen Klosterneuburg*, 72(1), 37–50.
48. Pati, S., Tufariello, M., Crupi, P., Coletta, A., Grieco, F., Losito, I. (2021). Quantification of volatile compounds in wines by HS–SPME–GC/MS: critical issues and use of multivariate statistics in method optimization. *Processes*, 9(4), Article 662. <https://doi.org/10.3390/pr9040662>
49. Niimi, J., Guixer, B., Splivallo, R. (2020) Odour active compounds determined in the headspace of yellow and black plum wines (Prunus domestica L.). *LWT*, 150, Article 109702. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109702>
50. Pino, J. A., Quijano, C. E. (2012). Study of the volatile compounds from plum (Prunus domestica L. cv. Horvin) and estimation of their contribution to the fruit aroma. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, 32(1), 76–83. <http://doi.org/10.1590/S0101-20612012005000006>
51. Заяц, М. Ф., Юрченко, Р. А., Лещев, С. М., Винирский, В. А., Зубкевич, А. Л. (2012). Об основных принципах пробоподготовки водочной продукции при определении ее подлинности путем газохроматографического анализа равновесной паровой фазы. *Вестник БГУ. Серия 2: Химия. Биология. География*, 1, 23–28.
52. Liu, S., Huang, Y., Qian, C., Xiang, Z., Ouyang, G. (2020). Physical assistive technologies of solid-phase microextraction: Recent trends and future perspectives. *TrAC – Trends in Analytical Chemistry*, 128, Article 115916. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.115916>
53. Zhakupbekova, A., Baimatova, N., Kenessov, B. (2019). A critical review of vacuumassisted headspace solid-phase microextraction for environmental analysis. *Trends in Environmental Analytical Chemistry*, 22, Article e00065. <https://doi.org/10.1016/j.teac.2019.e00065>
54. Sajid, M., Plotka-Wasyłka, J. (2018). Combined extraction and microextraction techniques: recent trends and future perspectives. *TrAC – Trends in Analytical Chemistry*, 103, 74–86. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.03.013>
55. Wang, H., Ding, J., Ren, N. (2016). Recent advances in microwave-assisted extraction of trace organic pollutants from food and environmental samples. *TrAC – Trends in Analytical Chemistry*, 75, 197–208. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.05.005>
56. Fernández-Amado, M., Prieto-Blanco, M. C., López-Mahía, P., Muniategui-Lorenzo, S., Prada-Rodríguez, D. (2016). Strengths and weaknesses of in-tube solidphase microextraction: A scoping review. *Analytica Chimica Acta*, 906, 41–57. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.12.007>
57. Mei, M., Huang, X., Luo, Q., Yuan, D. (2016). Magnetism-enhanced monolith-based in-tube solid phase microextraction. *Analytical Chemistry*, 88(3), 1900–1907. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b04328>
58. Zhou, Q., Qian, Y., Qian, M. C. (2015). Analysis of volatile phenols in alcoholic beverage by ethylene glycol-polydimethylsiloxane based stir bar sorptive extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1390, 22–27. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.02.064>
59. Barba, C., Thomas-Danguin, T., Guichard, E. (2017). Comparison of stir bar sorptive extraction in the liquid and vapour phases, solvent-assisted flavour evaporation and headspace solid-phase microextraction for the (non)-targeted analysis of volatiles in fruit juice. *LWT*, 85, 334–344. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.09.015>

REFERENCES

1. Oganiesiants, L. A., Peschanskaia, V. A., Osipova, V. P., Dubinina, E. V., Alieva, G. A. (2013). Qualitative and quantitative composition of volatile components of fruit vodkas. *Winemaking and Viticulture*, 6, 22–24. (In Russian)
2. Dubinina, E. V., Alieva, G. A. (2015). Correlation study between organoleptic evaluation and the content of volatile components of fruit vodkas. *Winemaking and Viticulture*, 3, 29–34. (In Russian)
3. Oganiesiants, L. A., Lorian, G. V. (2015). Volatile components of mulberry distillates. *Winemaking and Viticulture*, 2, 17–20. (In Russian)
4. Trofimchenko, V. A., Sevost'ianova, E. M., Osipova, V. P., Presniakova, O. P. (2019). The criteria for evaluation of prepared water in the production of fruit brandies. *Beer and Drinks*, 4, 10–14. <https://doi.org/10.24411/2072-9650-2019-10011> (In Russian)

5. Dubinina, E. V., Sevostyanova, E. M., Krikunova, L. N., Obodeeva, O. N. (2021). Influence of mineral composition of softwater water for qualitative indicators of alcoholic drinks from vegetable raw materials. *Polzunovskiy Vestnik*, 1, 11–19. <https://doi.org/10.25712/ASTU.2072–8921.2021.01.002> (In Russian)
6. Belkin, Yu. D., Pastukhova, V. O. (January 20, 2018). *New approaches to the identification and examination of the fruit vodkas quality*. Abstracts of the VII International Scientific and Practical Conference “Innovative Technologies in Science and Education. Penza, Russia, 2018. (In Russian)
7. Baldovini, N., Chaintreau, A. (2020). Identification of key odorants in complex mixtures occurring in nature. *Natural Product Reports*, 37(12), 1589–1626. <https://doi.org/10.1039/d0np00020e>
8. Magdas, D. A., David, M., Berghian-Grosan, C. (2022). Fruit spirits fingerprint pointed out through artificial intelligence and FT-Raman spectroscopy. *Food Control*, 133, Article 108630. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108630>
9. Popović, B. T., Mitrović, O. V., Leposavić, A. P., Paunović, S. A., Jevremović, D. R., Nikičević, N. J. et al. (2019). Chemical and sensory characterization of plum spirits obtained from cultivar Čačanska Rodna and its parent cultivars. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 84(12), 1381–1390. <https://doi.org/10.2298/JSC190307061P>
10. Jakubíková, M., Sádecká, J., Kleinová, A. (2018). On the use of the fluorescence, ultraviolet–visible and near infrared spectroscopy with chemometrics for the discrimination between plum brandies of different varietal origins. *Food Chemistry*, 239, 889–897. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.008>
11. Jakubíková, M., Sádecká, J., Hroboňová, K. (2019). Classification of plum brandies based on phenol and anisole compounds using HPLC. *European Food Research and Technology*, 245(8), 1709–1717. <https://doi.org/10.1007/s00217–019–03291–3>
12. Kamiloglu, S. (2018). Authenticity and traceability in beverages. *Food Chemistry*, 277, 12–24. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.10.091>
13. Coldea, T. E., Socaciu, C., Moldovan, Z., Mudura, E. (2014). Minor volatile compounds in traditional homemade fruit brandies from Transylvania-Romania, as determined by GC–MS analysis. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 42(2), 530–537. <https://doi.org/10.15835/nbha4229607>
14. Bajer, T., Hill, M., Ventura, K., Bajerová, P. (2020). Authentication of fruit spirits using HS–SPME/GC–FID and OPLS methods. *Scientific Reports*, 10(1), Article 18965. <https://doi.org/10.1038/s41598–020–75959–0>
15. Winterová, R., Mikulíková, R., Mazáč, J., Havelec, P. (2008). Assessment of the authenticity of fruit spirits by gas chromatography and stable isotope ratio analyses. *Czech Journal of Food Sciences*, 26(5), 368–375. <https://doi.org/10.17221/1610–CJFS>
16. Śliwińska, M., Wiśniewska, P., Dymerski, T., Wardencki, W., Namieśnik, J. (2015). The flavour of fruit spirits and fruit liqueurs: A review. *Flavour and Fragrance Journal*, 30(3), 197–207. <https://doi.org/10.1002/ffj.3237>
17. Coldea, T. E., Mudura, E., Socaciu, C. (2017). Advances in distilled beverages authenticity and quality testing. Chapter in a book: Ideas and Applications Toward Sample Preparation for Food and Beverage Analysis. IntechOpen, United Kingdom, 2017. <http://doi.org/10.5772/intechopen.72041>
18. Zhang, X., Wang, C., Wang, L., Chen, S., Xu, Y. (2020). Optimization and validation of a head space solid-phase microextraction-arrow gas chromatography-mass spectrometry method using central composite design for determination of aroma compounds in Chinese liquor (Baijiu). *Journal of Chromatography A*, 1610, Article 460584. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2019.460584>
19. Wiśniewska, P., Śliwińska, M., Dymerski, T., Wardencki, W., Namieśnik, J. (2016). The analysis of raw spirits – A review of methodology. *Journal of the Institute of Brewing*, 122(1), 5–10. <https://doi.org/10.1002/jib.288>
20. Egea, M. B., Bertolo, M. R. V., Filho, J. G. O., Lemes, A. C. (2021). A narrative review of the current knowledge on fruit active aroma using gas chromatography – olfactometry (GC–O) analysis. *Molecules*, 26(17), Article 5181. <https://doi.org/10.3390/molecules26175181>
21. Guillot, S., Peytavi, L., Bureau, S., Boulanger, R., Lepoutre, J.-P., Crouzet, J. et al. (2006). Aroma characterization of various apricot varieties using headspace–solid phase microextraction combined with gas chromatography–mass spectrometry and gas chromatography–olfactometry. *Food Chemistry*, 96(1), 147–155. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2005.04.016>
22. Wang, H., Ma, Y., Li, M., Shi, L., Zhang, S., Wang, W. et al. (2018). Volatiles of ripe fruit *Prunus salicina* L. cv. Friar as determined by gas chromatography-mass spectrophotometry as developed during cold storage. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 2622–2631. <https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1536149>
23. Dubinina, E. V., Krikunova, L. N., Peschanskaja, V. A., Trishkaneva, M. V. (2021). Scientific aspects of identification criteria for fruit distillates. *Food Processing: Techniques and Technology*, 51(3), 480–491. <http://doi.org/10.21603/2074–9414–2021–3–480–491> (In Russian)
24. Cherepica, S., Sytova, S., Kavalenka, A., Sobolenko, L., Shauchenka, Y., Kostyuk, N. et al. (2021). The method for direct gas chromatographic determination of acetaldehyde, methanol, and other volatiles using ethanol as a reference substance: application for a wide range of alcoholic beverages. *Food Analytical Methods*, 14(10), 2088–2100. <https://doi.org/10.1007/s12161–021–02047–8>
25. Cherepica, S. V., Sytova, S. N., Korban, A. L., Sobolenko, L. N., Egorov, V. V., Leshchev, S. M. et al. (2020). Interlaboratory study of the method for direct determination of volatile compounds in alcoholic products using ethanol as internal standard. *Journal of the Belarusian State University. Chemistry*, 1, 74–87. <https://doi.org/10.33581/2520–257X-2020–1–74–87> (In Russian)
26. Charapitsa, S. V., Sytova, S. N., Korban, A. L., Sobolenko, L. N. (2019). Single-laboratory validation of a gas chromatographic method of direct determination of volatile compounds in spirit drinks: need for an improved interlaboratory study. *Journal of AOAC International*, 102(2), 669–672. <https://doi.org/10.5740/jaoacint.18–0258>
27. Charapitsa, S., Sytova, S., Korban, A., Sobolenko, L., Egorov, V., Leshchev, S. et al. (October 23, 2019). Interlaboratory study of ethanol usage as an internal standard in direct determination of volatile compounds in alcoholic products. *Web of Conferences*, 15, Article 02030. <https://doi.org/10.1051/bioconf/20191502030>
28. Cherepitsa, S. V., Sytova, S. N., Egorov, V. V., Leshchev, S. M., Korban, A. L., Sobolenko, L. N. et al. (2019). Validation of the method of direct determination of the quantitative content of volatile components in alcohol containing products. *Beer and Drinks*, 4, 41–45. <https://doi.org/10.24411/2072–9650–2019–10005> (In Russian)
29. Charapitsa, S., Sytova, S., Kavalenka, A., Sobolenko, L., Kostyuk, N., Egorov, V. et al. (2021). The study of the matrix effect on the method of direct determination of volatile compounds in a wide range of alcoholic beverages. *Food Control*, 120, Article 107528. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2020.107528>
30. Charapitsa, S., Sytova, S., Kavalenka, A., Sobolenko, L., Shauchenka, Ya., Kostyuk, N. et al. (2021). Development of a quality control material for the analysis of volatile compounds in alcoholic beverages. *Journal of Chemical Metrology*, 15(2), 113–123. <http://doi.org/10.25135/jcm.66.2111.2259>
31. Cherepica, S. V., Sytova, S. N., Kovalenko, A. N. (2021). Reference method for determining the quantitative content of volatile components in alcoholic products. Science, nutrition and health: Collection of scientific papers in 2 parts. Minsk, 2021. (In Russian)
32. Tomková, M., Sádecká, J., Hroboňová, K. (2015). Synchronous fluorescence spectroscopy for rapid classification of fruit spirits. *Food Analytical Methods*, 8(5), 1258–1267. <https://doi.org/10.1007/s12161–014–0010–9>
33. Feng, J.-R., Xi, W.-P., Li, W.-H., Liu, H.-N., Liu, X.-F., Lu, X.-Y. (2015). Volatile characterization of major apricot cultivars of southern Xinjiang region of China. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 140(5), 466–471. <https://doi.org/10.21273/JASHS.140.5.466>
34. Fratianni, F., Cozzolino, R., d’Acerno, A., Ombra, M. N., Spigno, P., Riccardi, R. et al. (2022). Biochemical characterization of some varieties of apricot present in the Vesuvius area, Southern Italy. *Frontiers in Nutrition*, 9, Article 854868. <https://doi.org/10.3389/fnut.2022.854868>
35. Coldea, T., Socaciu, C., Moldovan, Z., Mudura, E. (2014). Minor volatile compounds in traditional homemade fruit brandies from Transylvania-Romania, as determined by GC–MS analysis. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 42(2), 530–537. <https://doi.org/10.15835/nbha4229607>
36. Tesević, V., Nikicevic, N., Milosavljevic, S., Bajic, D., Vajs, V., Vuckovic, I. et al. (2009). Characterization of volatile compounds of “Drenja”, an alcoholic beverage obtained from the fruits of cornelian cherry. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 74(2), 117–128. <https://doi.org/10.2298/JSC0902117T>
37. Vyviurska, O., Matura, F., Furdíková, K., Špánik, I. (2017). Volatile fingerprinting of the plum brandies produced from different fruit varieties. *Journal of Food Science and Technology*, 54(13), 4284–4301. <https://doi.org/10.1007/s13197–017–2900–5>
38. Puškaš, V., Miljić, U., Vučurović, V., Muzalevski, A. (2017). Aromatic compounds of brandies produced from three apricot varieties cultured in Serbia. *Journal on Processing and Energy in Agriculture*, 21(2), 101–103. <https://doi.org/10.5937/jpea1702101p>
39. Uwineza, P. A., Waškiewicz, A. (2020). Recent advances in supercritical fluid extraction of natural bioactive compounds from natural plant materials. *Molecules*, 25(17), Article 25173847. <https://doi.org/10.3390/molecules25173847>
40. Herrero, M., Mendiola, J. A., Cifuentes, A., Ibanez, E. (2010). Supercritical fluid extraction: Recent advances and applications. *Journal of Chromatography A*, 1217(16), 2495–2511. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2009.12.019>
41. Dziekońska-Kubczak, U., Pielech-Przybylska, K., Patelski, P., Balcerak, M. (2020). Development of the method for determination of volatile sulfur compounds (VSCs) in fruit brandy with the use of HS–SPME/GC–MS. *Molecules*, 25(5), Article 1232. <https://doi.org/10.3390/molecules25051232>
42. Vyviurska, O., Zvrškovcova, H., I. Špánik, (2017). Distribution of enantiomers of volatile organic compounds in selected fruit distillates. *Chirality*, 29(1), 14–18. <https://doi.org/10.1002/chir.22669>
43. Stuff, J. R., Whitecavage, J. A., Linthicum, S. J., Pawliszyn, J. (2018). Analysis of beverage samples using Thin Film Solid Phase Microextraction (TF-SPME) and Thermal Desorption GC/MS. *GERSTEL Application Note*, 200, 1–9.
44. Muñoz-Redondo, J. M., Valcárcel-Muñoz, M. J., Rodríguez Solana, R., Puertas, B., Cantos-Villar, E., Moreno-Rojas, J. M. (2022). Development of a methodology based on headspace solid-phase microextraction coupled to gas chromatography-mass spectrometry for the analysis of esters in brandies. *Journal of Food Composition and Analysis*, 108, Article 104458. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104458>
45. Bajer, T., Bajerová, P., Surmová, S., Kremr, D., Ventura, K., Eisner, A. (2017). Chemical profiling of volatile compounds of various home-made fruit spirits using headspace solid-phase microextraction. *Journal of the Institute of Brewing*, 123(1), 105–112. <https://doi.org/10.1002/jib.386>
46. Cvetković, D., Stajilcovic, P., Zvezdanovich, J. B., Stanojevic, J., Stanojevic, L., Karabegovic-Stanisavljevic, I. T. (2020). The identification of volatile aroma compounds from local fruit based spirits using a headspace solid-phase microextraction technique coupled with the gas chromatography-mass spectrometry. *Advanced Technologies*, 9(2), 19–28. <https://doi.org/10.5937/savteh2002019C>

47. Pour Nikfardjam, M., Schäfer, L., Schips, C., Farr, T., Endres, A., Hirn, S. et al. (2022). Ethyl carbamate and aroma compounds in distilled spirits from different stone fruits. *Mitteilungen Klosterneuburg*, 72(1), 37–50.
48. Pati, S., Tufariello, M., Crupi, P., Coletta, A., Grieco, F., Losito, I. (2021). Quantification of volatile compounds in wines by HS-SPME-GC/MS: critical issues and use of multivariate statistics in method optimization. *Processes*, 9(4), Article 662. <https://doi.org/10.3390/pr9040662>
49. Niimi, J., Guixer, B., Splivallo, R. (2020). Odour active compounds determined in the headspace of yellow and black plum wines (*Prunus domestica* L.). *LWT*, 130, Article 109702. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109702>
50. Pino, J. A., Quijano, C. E. (2012). Study of the volatile compounds from plum (*Prunus domestica* L. cv. Horvin) and estimation of their contribution to the fruit aroma. *Ciencia e Tecnologia de Alimentos*, 32(1), 76–83. <http://doi.org/10.1590/S0101-20612012005000006>
51. Zaiats, M. F., Yurchenko, R. A., Leshev, S.M., Vinarskiy, V.A., Zubkevich, A.L. (2012). About basic principles vodka products sample preparation in determining its authenticity by gas chromatographic analysis of the equilibrium vapor phase. *Bulletin of BSU. Series 2: Chemistry. Biology. Geography*, 1, 23–28. (In Russian)
52. Liu, S., Huang, Y., Qian, C., Xiang, Z., Ouyang, G. (2020). Physical assistive technologies of solid-phase microextraction: Recent trends and future perspectives. *TrAC — Trends in Analytical Chemistry*, 128, Article 115916. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2020.115916>
53. Zhakupbekova, A., Baimatova, N., Kenessov, B. (2019). A critical review of vacuumassisted headspace solid-phase microextraction for environmental analysis. *Environmental Analytical Chemistry*, 22, Article e00065. <https://doi.org/10.1016/j.teac.2019.e00065>
54. Sajid, M., Plotka-Wasyłka, J. (2018). Combined extraction and microextraction techniques: recent trends and future perspectives. *TrAC — Trends in Analytical Chemistry*, 103, 74–86. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.03.013>
55. Wang, H., Ding, J., Ren, N. (2015). Recent advances in microwave-assisted extraction of trace organic pollutants from food and environmental samples. *TrAC — Trends in Analytical Chemistry*, 75, 197–208. <https://doi.org/10.1016/j.trac.2015.05.005>
56. Fernández-Amado, M., Prieto-Blanco, M.C., López-Mahía, P., Muniategui-Lorenzo, S., Prada-Rodríguez, D. (2016). Strengths and weaknesses of in-tube solidphase microextraction: a scoping review. *Analytica Chimica Acta*, 906, 41–57. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.12.007>
57. Mei, M., Huang, X., Luo, Q., Yuan, D. (2016). Magnetism-enhanced monolith-based in-tube solid phase microextraction. *Analytical Chemistry*, 88(3), 1900–1907. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.5b04328>
58. Zhou, Q., Qian, Y., Qian, M. C. (2015). Analysis of volatile phenols in alcoholic beverage by ethylene glycol-polydimethylsiloxane based stir bar sorptive extraction and gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1590, 22–27. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2015.02.064>
59. Barba, C., Thomas-Danguin, T., Guichard, E. (2017). Comparison of stir bar sorptive extraction in the liquid and vapour phases, solvent-assisted flavour evaporation and headspace solid-phase microextraction for the (non)-targeted analysis of volatiles in fruit juice. *LWT*, 85, 334–344. <http://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.09.015>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Крикунова Людмила Николаевна — доктор технических наук, профессор, ведущий научный сотрудник, отдел технологии крепких напитков, Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности 119021, Россия, Москва, ул. Россолимо, 7 Тел.: +7-910-465-95-88 E-mail: oltiv@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7335-0453	Ludmila N. Krikunova , Doctor of Technical Sciences, Professor, Leading Researcher, Department of Spirits, All-Russian Scientific Research Institute of Brewing, Beverage and Wine Industry 7, Rossolimo str., 119021, Moscow, Russia Tel.: +7-910-465-95-88 E-mail: oltiv@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7335-0453
Ульянова Екатерина Владимировна — кандидат химических наук, младший научный сотрудник, отдел технологии крепких напитков, Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности 119021, Россия, Москва, ул. Россолимо, 7 Тел.: +7-903-228-31-27 E-mail: k.uljanova@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7112-1614	Ekaterina V. Uljanova , Candidate of Chemical sciences, Junior Researcher, All-Russian Scientific Research Institute of Brewing, Beverage and Wine Industry 7, Rossolimo str., 119021, Moscow, Russia Tel.: +7-903-228-31-27 E-mail: k.uljanova@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-7112-1614
Томгорова Светлана Михайловна — кандидат технических наук, научный сотрудник, отдел технологии крепких напитков, Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности 119021, Москва, ул. Россолимо, 7 Тел.: +7-916-771-58-97 E-mail: tomgorovasm@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6913-9006 * автор для переписки	Svetlana M. Tomgorova , Candidate of Technical Sciences, Researcher, All-Russian Scientific Research Institute of Brewing, Beverage and Wine Industry 7, Rossolimo str., 119021, Moscow, Russia Tel.: +7-916-771-58-97 E-mail: tomgorovasm@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0002-6913-9006 * corresponding author
Андриевская Дарья Владиславовна — кандидат технических наук, младший научный сотрудник, отдел технологии крепких напитков, Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности 119021, Россия, Москва, ул. Россолимо, 7 Тел.: +7-906-753-84-28 E-mail: dashaand-mail@rambler.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5167-9074	Darya V. Andrievskaya , Candidate of Technical Sciences, Junior Researcher, Department of Spirits, All-Russian Scientific Research Institute of Brewing, Beverage and Wine Industry 7, Rossolimo str., 119021, Moscow, Russia Tel.: +7-906-753-84-28 E-mail: dashaand-mail@rambler.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-51679074
Трофимченко Владимир Александрович — кандидат технических наук, научный сотрудник, отдел технологии крепких напитков, Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности — филиал ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН. 119021, Россия, г. Москва, ул. Россолимо, 7 Тел.: +7-499-246-66-12 E-mail: labcognac@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8856-9768	Vladimir A. Trofimchenko , Candidate of Technical Sciences, Researcher, Department of Spirits, All-Russian Scientific Research Institute of Brewing, Beverage and Wine Industry 7, Rossolimo str., 119021, Moscow, Russia. Tel.: +7-499-246-66-12 E-mail: labcognac@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8856-9768

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/10.21323/2618-9771-2022-5-4-308-318>



Received 12. 10. 2022
 Accepted in revised 25.10.2022
 Accepted for publication 01.11. 2022
 © Smykov I. T., 2022

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>
 Review paper
 Open access

NEOPHOBIA: SOCIO-ETHICAL PROBLEMS OF INNOVATIVE TECHNOLOGIES OF THE FOOD INDUSTRY

Igor T. Smykov

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

KEY WORDS:
food systems, innovative technologies, neophobia, nanotechnologies, genetic modification, 3D printing, safety, risks

ABSTRACT

The purpose of this review work is to consider the impact of socio-ethical problems on the acceptance of new food products by potential consumers and the issues of manufacturers of these products when introducing innovative technologies. The causes of neophobia of innovative technologies in the food industry are considered on specific examples of the use of nanotechnology, genetic modification technologies, ionization and processing by electromagnetic fields, as well as 3D food printing. It is noted that the public is little aware of innovative food technologies, while its attitude depends on how these technologies are used and promoted. Proper public information is critical to the long-term success of introducing and developing innovative technologies in the food industry. It is shown that the modern intensive development of information technologies, together with a synergistic set of innovative food technologies, allows making a gradual transition to the production of personalized digital food systems that have functionality, good taste, and safety with minimal negative impact on the environment.

FUNDING: The article was published as part of the research topic No. FNEN-2019-0010 of the state assignment of the V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS.

Поступила 12.10.2022
 Поступила после рецензирования 25.10.2022
 Принята в печать 01.11.2022
 © Смыков И. Т., 2022

<https://www.fsjour.com/jour>
 Обзорная статья
 Open access

НЕОФОБИЯ: СОЦИАЛЬНО-ЭТИЧЕСКИЕ ПРОБЛЕМЫ ИННОВАЦИОННЫХ ТЕХНОЛОГИЙ ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

СМЫКОВ И. Т.

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

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:
пищевые системы, инновационные технологии, неофобия, нанотехнологии, генная модификация, ионизирующее излучение, 3D-печать, безопасность, риски

АННОТАЦИЯ

Цель этой обзорной работы состоит в рассмотрении влияния социально-этических проблем на принятие потенциальными потребителями новых пищевых продуктов и проблем производителей этих продуктов при внедрении инновационных технологий. Рассмотрены причины возникновения неопобий инновационных технологий пищевой промышленности на конкретных примерах использования нанотехнологий, технологий генной модификации, обработки ионизирующим излучением и электромагнитными полями, а также пищевой 3D-печати. Отмечено, что общественность, мало осведомлена об инновационных пищевых технологиях, в то время как её отношение зависит от того, как эти технологии используются и пропагандируются. Надлежащее информирование общества имеет решающее значение для долгосрочного успеха внедрения и развития инновационных технологий в пищевой промышленности. Показано что современное интенсивное развитие информационных технологий совместно с синергетической совокупностью инновационных пищевых технологий, позволяет совершить постепенный переход к производству персонализированных цифровых пищевых систем, обладающих функциональностью, хорошим вкусом, безопасностью при минимальном отрицательном воздействии на окружающую среду.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию № FNEN-2019-0010 Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук.

1. Introduction

The development and commercial use of innovative technologies in industry always encounters various kinds of problems and is constantly accompanied by them. There are objective problems: technical, technological, economic, etc., but there are also subjective problems — socio-ethical, and neophobia, first of all, belongs to them.

Neophobia, by definition, is the fear of everything new, unusual. This feeling, sometimes developing into a problem, is in-

herent in any person to some extent. The consumer, having seen a new product, doubts its safety, quality and the need to purchase, and this creates problems for the manufacturer, who needs a good sale of the product. In turn, the manufacturer of a new product or when switching to a new production technology also develops neophobia at a certain stage, due to the uncertainty of the success of mastering a new technology or marketing a new product.

New food technologies are essential for food security and sustainable development. However, manufacturers and consum-

FOR CITATION: **Smykov, I.T.** (2022). Neophobia: socio-ethical problems of innovative technologies of the food industry. *Food Systems*, 5(4), 308-318. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-308-318>

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: **СМЫКОВ, И.Т.** (2022). Неофобия: социально-этические проблемы инновационных технологий пищевой промышленности. *Пищевые системы*, 5(4), 308-318. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-308-318>

ers are often hesitant to accept them. Review paper [1] describes how heuristics and individual differences among consumers affect the adoption of agrifood technologies. The associations evoked by food technology, its perceived naturalness, and the credibility of the industry using it affect consumer acceptance. Food neophobia, disgust sensitivity, and cultural values are crucial personality factors to explain individual differences. Using gene technologies, nanotechnology, cultured meat, and food irradiation as examples, the authors explore factors that may explain consumer acceptance or rejection of these technologies.

The food neophobia also influence the commercialization of innovative food technologies. People differ in the degree of their food neophobia – this is an unwillingness to try and consume new foods [2]. Some people take great pleasure in eating new foods, while others show a strong aversion to them. Food neophobia is considered a kind of defense mechanism to prevent the consumption of potentially hazardous foods [3] because the toxicological nature of the hazard, the probability of impact, and the risk to consumers from some new food technologies are largely unknown.

For consumers, food production is increasingly becoming a black box. The prevalence of highly processed foods and declining cooking skills further alienate many consumers from how food is produced and how meals are prepared. If a technology is seen as unnatural, terrible, and uncontrollable, and if people don't voluntarily become familiar with it, its acceptance tends to be low. Factors associated with a particular personality further influence the perception of technology. However, the factors that are most important for food unacceptability vary depending on the food technology used. In many developed countries, natural food is highly valued because food safety is considered guaranteed. The “natural is better” heuristic is particularly relevant to people's acceptance of new food technologies and their appreciation of food products.

Moving towards a more sustainable, more reliable and safer food system is hard to imagine without more and more new food technologies. Thus, general skepticism about innovative food technologies will remain a long-term problem. The main question is for what purpose the technology is applied, and not whether the innovative technology is used. Society needs to move towards healthier eating, but food technology needs to be part of this trend, not seen as a barrier.

The goal of the food industry today is to produce safer, more nutritious and tastier foods, and to extend their shelf-life. Consumers are suspicious of food production, preparation and processing methods, especially those with potential contaminants or chemical residues from production. Frequently, food manufacturers are not considered reliable sources. Partially, this may be due to the reluctance of manufacturers to share all information about the manufacture of products and protect intellectual property through patents and thus maintain a competitive advantage. To increase confidence, it is necessary to better inform the consumer about what procedures the ingredients involved are subjected to and why.

Innovative food processing technologies face implementation challenges, and factors affecting consumer and other stakeholder acceptance must be considered in the decision-making process when introducing these technologies. It should be borne in mind that the perception of risks by consumers differs from the risk assessments made by experts. Consumer fears about the introduction of more and more new technologies are causing the industry to be cautious, bordering on neophobia, even if these technologies produce higher quality products with less environmental impact.

The sophistication of food processing enhances consumer convenience, expands diet choices, and offers a variety of organoleptic properties to meet consumer desires and needs. However,

consumer confidence in the food industry remains extremely low, which, according to some authors [4], is due to a lack of transparency regarding how food is prepared and processed. The introduction of technologies where, due to a lack of knowledge, consumers cannot weigh the risks versus the benefits (e. g. exposure to radiation) undermines the credibility of the food industry, contributing to the positioning of consumers of “over-processed” foods as unhealthy. Any claim that the use of food processing and/or improvement of palatability through the application of innovative technologies raises consumer concerns about food safety. Such claims must be scientifically proven, and food manufacturers must make efforts to ensure that consumers know how their products are processed within the facility.

Work [5] considers the influence level of neophobia of food technologies, socio-economic variables, information about new food products and applied technologies on the attitude of consumers to the use of food products in relation to the positive impact on the environment and consumer health. It is emphasized that education and, above all, neophobia of food technologies and information are critical factors hindering the widespread introduction of new food technologies and preventing the failure of innovations in marketing strategies.

Important determinants of risk perception associated with new foods are dichotomous assessments of potential hazards: technological or natural origin; acute or chronic manifestation [6]. This paper presents an analysis of the results of a case study that examines how hazard ratings affect people's perceptions of risks and benefits, as well as related attitudes and behaviors. Analysis of acute and chronic cases shows that quantifying the relationship between risk perception and consequences is important for both acute and chronic food safety. Technologies used in food production tend to be potentially associated with a higher level of risk perception connected with its perception as unnatural. However, for some risks (such as those associated with biological irreversibility), moral or ethical considerations may be more important determinants of consumer response than the perception of risk or benefit.

The main purpose of this review paper is to study the socio-ethical problems and resulting neophobia on specific examples of innovative food processing technologies that may be more important for consumer acceptance of new foods.

2. Innovative technologies

2.1. Nanotechnologies

Food nanotechnology is developing as a rapidly growing industry with its wide application from primary food production at the agricultural level, to food production, packaging and transportation of finished products [7,8]. Nanotechnology is constantly evolving as a broad area of research in the efficient processing of raw materials, the development of functional products, food preservation, packaging and storage. Food producers, with the proper use of advances in nanotechnology, can gain a competitive position in the markets.

Trends in the field of nanotechnology are discussed in [9], as well as challenges and promising opportunities in the food industry, identified in recent studies. The toxicological basis and risk assessment of the use of nanomaterials in new food products are discussed. The potential prospect of using biosynthesized and bioinspired nanomaterials for the sustainable development of the industry is emphasized.

Various forms of nanoengineering structures used in food nanotechnologies to regulate the characteristics of ingredients and finished products and their application are considered in [10]. It is noted that purposefully created nanostructures improve the solubility of food ingredients in vivo, as well as increase their bioavailability and controlled release at the target

site. Such nanostructures can also serve as anti-caking agents, nutraceutical delivery systems, etc.

The characteristics of modern food nanotechnologies, as well as their existing and possible future applications, are highlighted in a review paper [11]. It is stated that as research in the field of food nanotechnologies develops, public concern about the safety of such products intended for human consumption and use is increasing. As a result, before the commercialization of products made using nanotechnology, a careful assessment of potential risks to human health and the environment is required.

Work [12] briefly outlines the features of “green” nanomaterials, their impact on the environment, legal issues, health and safety issues, and their purpose in the agricultural sector. Socio-ethical and environmental concerns, health and safety risks, issues related to obtaining goods through intermediate consumers, and market demands may prevail in the production and creation of green nanomaterials.

Review [13] examines the current applications of nanotechnologies for packaging, processing and improving the nutritional value and shelf-life of food products. Recent advances in nanotechnology are designed to provide innovative applications in the food industry. These nanomaterial devices play an important role in the food industry, including food packaging, processing and storage. Nanomaterials also increase the shelf-life of foods by protecting them from moisture, gases and lipids. Nanotechnology still has great potential and new applications are being explored in various areas of the food industry. It is clear that security issues are emerging and will need to be carefully considered and addressed in the future.

Paper [14] discusses the issues of understanding and supporting efforts aimed at the implementation of “responsible innovations”. It is noted that “responsible innovation” is characterized by four integrated aspects: anticipation, reflexivity, inclusion and response.

The general concern of researchers regarding the potential negative consequences of the use of food nanotechnologies for human health and the environment [15] attracts public attention. Publications related to such research have led to media sensational reports about the possible negative health effects of nanotechnologies and, as a result, their negative perception by potential consumers. It is obvious that this social problem must be solved before the commercial operation of the planned food nanotechnology and the market entry of finished products.

Indeed, the negative impact of nanomaterials can be harmful to the product manufacturer, its consumer and the environment and may increase potential risks. For this reason, it is necessary to assess the potential risks arising from the interaction of nanomaterials with biological systems, people, and the environment [16,17,18].

The use of nanofertilizers and nanopesticides in agricultural production can provide targeted and controlled release of agrochemicals to achieve their maximum biological effectiveness without overdosing. However, this is of concern to agricultural workers who may be exposed to such xenobiotics during their work. The limited knowledge of workers about the biosafety of nanomaterials, adverse effects, their fate, acquired biological reactivity after dissemination in the environment does not provide the necessary protection, and requires a careful assessment of possible nanoagricultural risks. Therefore, the determination of the danger of nanomaterials and the levels of their impact is necessary throughout the entire life cycle of products, as well as the assessment of those physicochemical characteristics that affect the toxicity of nanomaterials and possible interactions with accompanying agents of agricultural systems [19,20].

Food nanotechnologies can allow the modification of many food characteristics such as appearance, taste, aroma, texture, color fastness, processability and shelf-life stability, leading to the creation of a large number of new food products. Nanotechnology can also improve the water solubility of product, thermal stability, and oral bioavailability of various functional compounds [21,22,23,24]. Realizing the potential of nanotechnology, the world’s leading food companies are increasingly interested in research and development in the field of nanotechnology, which is realized through their large investments in nanotechnology.

At the same time, there is growing concern that the use of nanomaterials in the food industry may lead to nanoparticles gaining access to tissues in the human body, leading to the accumulation of toxic contaminants and therefore adversely affecting human health [25]. In the production of food of animal origin, there are several possibilities for the use of nanotechnology – in animal husbandry, processing of animal products, and manufacture of food products, their packaging and storage. The direct use of nanomaterials in various stages of food production, as well as uptake from the environment, can lead to the presence of such nanomaterials in the final product. Aerosol nanomaterials can enter the human body through the lungs, and nanomaterials in the form of liquids and gels can enter the body through the skin and mucous membranes, which represent possible long-term risks to the health of consumers and workers in occupational situations.

As long as the nanoparticles remain bound, their impact is limited or very low. However, the migration of nanoparticles included in the food material is a high risk for humans. Studies have shown that nanoparticles, characterized by increased reactivity and greater ability to cross membrane barriers and capillaries, can lead to various toxicokinetic and toxicodynamic disorders. Some nanoparticles interact with proteins and enzymes, which leads to the destruction of mitochondria and induces apoptosis after the introduction of nanoparticles [26]. Intermediates formed in the dynamic process of transformation of nanomaterials increase the complexity of assessing their toxicity [27].

Research [28] attempts to link the level of food neophobia, a personality trait by which people can be divided in terms of their propensity to accept or avoid new foods, to the acceptance of nanotechnologies applied to food production. It is noted that consumers show a certain reluctance to buy products made using nanotechnology. Food nanotechnologies are extremely complex and, with indecisive consumers, this may be enough to prevent their benefits from being realized [29,30].

Although the proposed applications of nanotechnologies are wide and varied, all developments are met with some caution, while progress in the use of nanotechnologies can be hampered by a lack of effective management and potential risks [31]. In this regard, to assess the risks of producers and consumers, analytical methods for the detection and characterization of nanomaterials in complex food matrices and their toxicological data are needed [32].

The problem of the methodology for assessing the safety of nanomaterials is in the focus of attention of many international and national organizations, including the Commission of the European Union. At the end of 2018, the European Food Safety Authority developed a new “Guidelines for Risk Assessment of Nanoscience and Nanotechnology in the Food and Feed Chains: Part 1, Human and Animal Health” [33]. This guide takes into account new developments that have occurred since the publication of the previous guide in 2011.

The risk assessment of the use of nanomaterials and nanotechnologies contains four main components: hazard identification, hazard characterization, exposure assessments and risk characterization. A nanomaterial can be extremely hazardous

but have a small potential risk at low exposure, and the risk can be large when the nanomaterial has limited hazard but high exposure.

The risks of nanotechnology commercialization in the food industry are not limited to risks to human health and the environment. Equally important are the socio-cultural and historical conditions that determine the attitude of people to new technologies and their applications and are important determinants of the successful implementation and commercialization of nanotechnologies [34]. It is important to pay attention to public opinion regarding nanotechnologies in the food business at the stage of product development in order to avoid some of the pitfalls that occurred during the development of the technology of gene modification of organisms [35,36].

Only careful consideration of the implications of their use in each specific case at the development stage before products are placed on the market can provide a basis for assessing the conceptual risks, including socio-ethical ones, when using nanomaterials and nanotechnologies in food production.

The widespread use of nanotechnologies and nanomaterials in the food industry should be viewed as the development of modern technologies with further significant growth. It is expected that food products and their packaging obtained using nanotechnology will be increasingly available and in demand by consumers around the world in the coming years.

2.2. Technologies of genetic modification

The food industry is increasingly using agricultural products, raw materials and various ingredients obtained using genetic modification technologies. The use of such technologies in Russia is regulated by federal law No. 86-FZ¹, 1996 “On state regulation in the field of genetic engineering activities”, adopted in 1996. However, at present, gene editing technologies that are not regulated by this law are becoming more widespread.

Genome editing technology is rapidly spreading and revolutionizing the fields of agriculture and the food industry. Unlike traditional GM technology, which adds foreign DNA to the recipient’s body, genome editing replaces mutated or otherwise unwanted DNA bases, thereby altering the overall suitability, productivity, quality, and utility of the recipient as necessary. At the same time, it is almost impossible to determine whether the DNA of a plant or an animal has been edited, because the changes that occur are indistinguishable from natural mutations.

Various regulatory authorities declare these “edited” organisms and foods safe, and they are exempt from testing and labeling requirements. However, opponents of GM technologies speak out against these forms of genetic modification. Review [37] discusses the current data on the global and European introduction of GE crops, as well as the potential impact of a new wave of crop development on agriculture. It assesses how the European Union (EU) views GM crops and looks at the future of both genetic modification (GM) and genome editing (GE) in the EU.

Genome editing technologies can help address the challenges of sustainable development, global food security and climate change. However, despite their potential, the adoption of these new technologies has been slowed down by the uncertainty surrounding the regulation of genome edited crops. Misleading online articles questioning the safety and ethics of these “new” biotechnological foods can also lead consumers to be reluctant to take them. Consequently, Europe’s ambivalent attitude towards biotechnological crops may hinder their adoption by potential growers who could benefit greatly from the technology.

Article [38] analyzes the grounds and consequences of the decision of the Court of Justice of the European Union. The Council of State of France has asked the Court of Justice of the European Union to determine, in substance, whether organisms obtained by mutagenesis (that is, gene editing) are genetically modified organisms (GMOs). The Court held that the existing Directive also applied to organisms produced by mutagenesis techniques that appeared after its adoption.

However, in response to the Court’s decision, the US Secretary of Agriculture issued a statement criticizing the decision. The statement, in particular, says, that “public policy should encourage scientific innovation without creating unnecessary barriers or unduly stigmatizing new technologies. Unfortunately, this decision of the Court is a failure in this regard, as it narrowly views new genome editing techniques as subject to regressive and outdated European Union rules governing genetically modified organisms.”

Papers [39,40] provide an overview of the complexity of the study and interpretation of global public opinion about GM foods, in which the authors noted a negative attitude towards genetically modified foods in Europe. Surveys conducted in recent years have found that the percentage of respondents opposed to GM foods was on the rise, and significant efforts were needed to reverse this trend.

Paper [41] presents the results of a sociological study of the perception by the Chinese population of the use of genetic modification of a wide range of agricultural crops in food production. As a result of the survey, 11.9% of respondents gave a positive answer, 41.4% — neutral one and 46.7% have a negative attitude towards genetically modified foods. 13.8% of respondents considered GM technologies to be a form of bioterrorism directed against China. A minority of respondents (11.7%) stated that they understood the basic principles of GM technology, while the majority of them were either “neutral” or “unfamiliar with GM technology”. The percentage of respondents who trust the government and scientists was only 11.7% and 23.2%, respectively. It is noted that until public doubts about GM foods are addressed in a balanced and evidence-based manner, it will be difficult for China to develop sound policies and programs that will benefit the agribusiness and consumers.

The use of enzyme preparations (EP) in the food industry is constantly growing. These EPs are mainly obtained by microbial fermentation, for which both wild-type and genetically modified strains are used. The yield of EP production can be increased by optimizing the fermentation process, either using genetically modified strains of microorganisms, or through the production of recombinant enzymes. Work [42] provides a general overview of the various methods used for the EP production and how the use of GM can increase production yield. The need to develop appropriate methods for detecting and identifying the presence of a gene modification in enzyme preparations that are used in food production is emphasized.

Study [43] was conducted to examine the factors of the conceptual model that influence the perception of social risks of acquiring GM foods by consumers. Confirmatory factor analysis and reliability tests (Cronbach’s alpha test) were used to identify the most cost-effective models that are best suited for social risk perception of GM foods. It is noted that the psychological attributes of risk, the perception of social benefits, attitudes towards the use of technology, the level of religiosity and moral and ethical beliefs were the most powerful predictors of the perception of social risk. The perception of social benefit also had an indirect impact on the social risk assessment of GM foods [44].

Only time will tell if GM foods or genome-edited organisms are the best solution to achieving food safety, security and sustainability. At least for GM foods, the absence of any credible, documented side effects is reassuring.

¹ Federal law No. 86-FZ, 1996 “On state regulation in the field of genetic engineering activities”, Retrieved from <https://fsvps.gov.ru/tu/fsvps/laws/4311.html> Accessed September 15, 2022.

2.3. Non-thermal technologies for inactivation of microorganisms

Thermal processing technologies have historically been the most common microorganism inactivation method used in the food industry to ensure food safety and extend shelf-life. Traditional thermal food decontamination technologies have certain limitations and disadvantages, such as changing product quality, environmental impact, carcinogenicity, potential and/or lower consumer acceptance. However, due to the increased consumer demand for more natural and healthier food products, the possibilities of using non-thermal processing technologies are being intensively explored.

The most common non-thermal food processing technologies for the purpose of inactivation of microorganisms usually include [45] the following methods: high hydrostatic pressure, pulsed electric fields, high-intensity ultrasound, cold atmospheric plasma, ultraviolet radiation, pulsed light, ionizing radiation and oscillating magnetic fields, which have the ability to inactivate microorganisms to varying degrees. These innovative technologies have recently become industrial methods for pasteurizing meat products and semi-finished products, fish and seafood, dairy and vegetable products, as well as ready meals.

The studies, the results of which are given in [46], show that among non-thermal methods of pasteurization of products, the use of high hydrostatic pressure in the USA is 35.6%, pulsating electric field – 20%, cold atmospheric plasma – 14.1%, oscillating magnetic fields – 14.0%. There are also technologies that are still under development and are currently being applied to extend the shelf-life of certain foods while preserving their natural nutrients.

Work [47] considers the recent use of non-thermal disinfection technologies in the food industry, as well as the mechanism of their action. In addition, it analyzes the potential prospects for a combination of non-thermal processings used in the food industry, which can not only overcome the disadvantage of one technology, but also provide processing efficiency at a lower intensity.

2.3.1. High hydrostatic pressure processing

The use of high hydrostatic pressure in food production technologies was proposed a long time ago, at the end of the 19th century [48]. Even then, it was noted that milk processing at a pressure of 670 MPa for 10 minutes at room temperature sharply reduces its bacterial contamination. Moreover, in meat processed at a pressure of 530 MPa for 1 hour, there was a slight increase in the number of microorganisms only after three weeks. Despite the positive results obtained, interest in this technology faded for almost a hundred years, mainly due to the lack of suitable equipment until that time and the very high cost of its development, manufacture and operation. The general development of mechanical engineering and electronic technology has made it possible to develop and introduce into commercial operation various types of specialized equipment for processing food products with high hydrostatic pressure (HHP). However, its wide distribution is still delayed, more studies of the mechanism of action (HHP) on foods are being carried out.

Initially, it was noted that high (HHP) is detrimental to microorganisms, and therefore the focus of the study was to use this effect for non-thermal pasteurization and/or sterilization of products. Similar studies, but in finer detail, continue today. Work [49] is devoted to the analysis of the impact of this innovative non-thermal processing technology on the quality of food products. It is shown that this technology is currently the most popular, as it allows one to simultaneously preserve the nutritional and organoleptic characteristics of products and inactivate microorganisms in them, thereby extending the shelf-life of products.

Article [50] reviewed recent research results on the use of HHP to improve food safety by non-thermal inactivation of *Salmonella* spp. It is noted that there are certain limitations when using this technology. The composition and condition of food significantly affect the effectiveness of HHP. A reduced exposure effect has been observed for some foods high in fat, protein and sugar. In addition to ensuring the microbiological safety of food products, HHP technology can also be used to improve their techno-functional properties. A review study [51] considers the prospects for the use of HHP in the development and manufacture of products for a healthy diet. It has been shown that HHP promotes the biosynthesis of γ -aminobutyric acid in food materials, preserves immunoglobulin components in dairy products, increases the content of resistant starch in cereals and reduces the glycemic index. Because HHP causes physical damage to the structure of foods, it can also be used as a synergistic extraction technology to improve the extraction efficiency of functional components, thereby reducing their extraction time. Potential synergistic effects of the use of HHP for the processing of various foods are also reported in [52]. The ability to use three parameters at the same time: pressure, temperature and time can be optimized for the development of food products with special properties.

The focus of [53] is on the use of HHP for gelling, high-pressure infusion, and high-pressure impregnation, methods with great potential for improving food quality. High pressure processing still has many unexplored opportunities for improving food quality. As noted in [54], one of the reasons for the lack of widespread use of HHP for the processing of liquid dairy products may be that this processing adversely affects many components of milk, especially protein and mineral balance, and causes changes in the functional properties of such products. At the same time, HHP processing is a potential technology in the dairy industry for cheese production due to its positive impact on rennet coagulation time, cheese yield, ripening characteristics, cheese shelf-life, cheese functionality and development of new textures. In some cases, such as for air-cured meat products, HHP is the only possible pasteurization process that has minimal impact on appearance, taste, texture, and nutritional value.

The current commercial success of HHP processing can mainly be attributed [55] to the ability to provide food products with superior organoleptic quality, high nutritional value and biofunctional properties with extended shelf-life compared to corresponding thermally processed food products. In general, it was noted that HHP – food processing technology has a significant impact on the environment, its implementation in the production process can lead to significant water and energy savings, efficient use of packaging material and can significantly reduce food waste due to the increased shelf-life of processed products.

2.3.2. Electromagnetic processing

Pulsed electric fields (PEFs) are a new and promising non-thermal food processing technology that is evolving from laboratory and pilot plant levels to industrial levels. As work [56] shows, the use of PEFs for food pasteurization is an attractive and effective non-thermal technology that can increase the functionality and efficiency of microorganism inactivation.

Work [57] provides a systematic review of PEF-based technologies used in China for food processing. It has been shown that PEF effect on products in isolation or in combination with other methods allows not only inactivating microorganisms and promoting the extraction of active components, but also modifying biomacromolecules, enhancing chemical reactions and accelerating the maturation of fermented foods. The effect of an electric field is manifested mainly in the permeabilization of biomembranes, the occurrence of electrochemical and elec-

trolytic reactions, the polarization and rearrangement of molecules, as well as a decrease in the activation energy of chemical reactions. It is noted that there are conflicting results using this technology, in particular when acting on enzymes.

The use of PEFs in the manufacture of food products attracts considerable attention as an environmentally friendly technology for improving the technofunctional properties of dairy and vegetable proteins. Work [58] discusses the effect of PEF processing on the structure of milk and vegetable proteins, as well as protein-polysaccharide complexes, and changes in their technofunctional properties (solubility, gelation, emulsification, and foaming). This paper also presents the main problems and possible trends in the use of PEFs in the food industry.

Work [59] reviewed the use of PEFs for the processing of proteins and bioactive peptides in foods, including protein extraction, hydrolysis, inactivation or activation of enzymes, and enhancement of the biological activity of peptides. It is noted that the effect of PEFs on proteins is mainly associated with changes in their secondary and tertiary structures.

Study [60] is aimed at evaluating the effect of preprocessing with a pulsed electric field on mass transfer, microstructure, and palatability of beef during marinating. It is shown that such processing allowed reducing the pickling time by 33% while improving the tenderness of the finished product.

At the same time, the rejection of traditional thermal methods of food processing and their replacement with innovative technologies leads to consumer distrust in the quality of the finished product and the product compliance with expectations. In addition, PEF technologies require the development, creation and qualified maintenance of complex and high-tech equipment using very high electrical voltage.

Many researchers carry out the study of the mechanisms of PEF action on food products and the results of such studies are increasingly used in the food industry. Much less work is devoted to studying the effect of a pulsed magnetic field on food products. As work [61] shows, the bactericidal ability of a pulsed magnetic field is provided by the effects of electromagnetic induction, the effects of Lorentz forces, and the effects of ionization. Compared to the use of PEFs, this technology is less dangerous for personnel.

Electromagnetic food processing methods can be part of other, more complex, combined methods. Work [62] critically reviews and summarizes research on decontamination of dry food surfaces using cold atmospheric plasma excited by an electric field and low-energy electron beam irradiation of foods, which have demonstrated the potential to solve certain processing problems.

Of greatest interest is irradiation with an electron beam with an energy of more than 10 MeV, as well as bremsstrahlung generated by electron accelerators with an energy of not more than 5 MeV. Electron accelerators also have advantages over other methods. This is a short exposure time (a few seconds compared to minutes and even hours in some cases). Higher efficiency, which, depending on the material being irradiated, is 40–80%. In addition, they are more economical and are subject to less stringent requirements for radiation protection of service personnel [63]. Furthermore, microorganism inactivation mechanisms using these technologies, product-process interactions, current limitations and scaling-up potentials are proposed, and research trends and needs for both technologies are discussed.

2.3.3. Irradiation technologies

The use of various types of radiation for the disinfection of products has been known for a long time and, apparently, goes back to the use of direct sunlight for these purposes. Ultraviolet (UV) radiation is still widely used in the food industry to inac-

tivate microorganisms. This is an effective method of inactivating microorganisms in food products, damaging their DNA and/or disrupting the activity of cellular enzymes and the integrity of the cytoplasmic membrane. Along with the use and improvement of known methods of UV processing of products, new methods are being developed. The development of new methods is aimed at eliminating the main drawback of the use of UV processing — the change and often deterioration of the physicochemical and organoleptic properties of products. However, research in this direction continues. Work [64] shows that the processing efficiency depends on the process parameters (exposure time, UV dose, wavelength), product type (chemical composition, viscosity, turbidity, opacity and roughness), equipment (shape and geometry) and characteristics microorganisms (species, strain, growth phase and recovery conditions). Under optimal conditions, UV processing has minimal effect on product properties. The use of UV processing of products in most cases does not cause negative emotions in the consumer due to its wide distribution, but when using it in production, caution and careful observance of safety regulations are required.

However, UV radiation is not able to penetrate deeply into the product and inactivate microorganisms inside the product; most often, only its surface is treated. Therefore, as numerous studies conducted over many years show [65], the use of other types of radiation is more effective both in terms of inactivation of microorganisms in products and in terms of production efficiency. These types include irradiation processes using ^{60}Co or ^{137}Cs radionuclides, as well as electron and X-ray beam generators (GOST ISO 14470–2014²).

One of the first works on the use of ionizing radiation in the food industry was published in 1950 [66] and already in the Soviet Union in 1958, and the use of ionizing radiation to prevent the sprouting of potatoes was officially allowed in Canada in 1959.

Work [67] emphasizes that any new food processing that includes the procedure of irradiation presents a serious problem in the response of potential buyers. To increase the acceptability of these technologies by consumers, not only strong scientific evidence demonstrating the safety of irradiated food is needed, but also information, labeling and explanation of this particular technology. New marketing strategies based on positive reports of food irradiation may encourage consumers to be more receptive to safety-oriented high-quality irradiated products.

A review article [68] discusses the various implications of food irradiation in terms of nutritional value, shelf-life extension, toxicological aspects, food irradiation legislation and global acceptability. It is noted that not all food products are suitable for irradiation. Certain food components, such as vitamins and enzymes, are affected by radiation exposure. Therefore, recent trends in food irradiation research show an increase in work on radiolytic products formed after food irradiation.

Numerous studies contribute significantly to the understanding of the complex nature of irradiated foods, the growing importance and conflicting opinions of consumers. Thus, study [69] extends the theory of prerequisites for planned behavior to analyze independent determinants and the impact of risk and trust on consumer perception of irradiated products using the example of Australia. This study as a whole made a significant contribution to the identification of areas of preference for irradiated foods. It is one of the first to assert and show the importance of such inputs as risk and trust. It also defines the moderating role of concerns about the need to disclose information

² GOST ISO 14470–2014 “Food irradiation. Requirements for the development, validation and routine control of the process of irradiation using ionizing radiation for the treatment of food”. Moscow: Standartinform, 2015. — 22 c.

that is key to making informed decisions about irradiated food.

Work [70] noted that consumers often exhibit a strong aversion to highly processed foods and unfamiliar and artificial-sounding innovative food technologies. This study highlights the importance of terminology when communicating with consumers about the use of innovative food decontamination strategies. Therefore, food irradiation is a prime example of how important it is to take into account the consumer's perspective before implementing a particular food processing technology, in addition to evaluating cost-effectiveness and efficiency. This study also highlights the importance of consulting social scientists before implementing innovative food technology.

Another problem with irradiation technologies is the current lack of an analytical method that can be used to control all types of food and detect the use of irradiation. It is noted in [71] that the determination of the difference between irradiated and non-irradiated food products remains an unsolved analytical problem. In fact, most chemical compounds resulting from irradiation processing are not unique products of radiolysis and therefore are not adequate markers for detecting ionizing radiation applications. The possibility of detecting food products irradiated with low doses is still doubtful, and research efforts can be directed to the detection of ingredients irradiated at doses below 1 kGy and included in non-irradiated foods.

The aim of the papers [72,73] was to investigate the willingness of consumers to accept irradiated food and to identify the main factors associated with both socio-ethical characteristics and the perceived risk of consumers in relation to food processed using irradiation technologies. As a result of these studies, it was determined that the acceptability of irradiated foods for consumers depends mainly on the perceived health risk resulting from their consumption. Equally important are socio-economic factors such as age, monthly income of consumers and the geographic area in which they live. These studies present some interesting proposals for both policy makers and managers. First of all, it is the need for an effective advertising campaign aimed at educating consumers about the principles, goals and benefits of irradiation technology, as a new method of food processing, offering consumers greater guarantees in terms of food safety and food safety. It is also proposed to replace the term "food irradiation" with "cold pasteurization". Being the same technology, it could change consumer attitudes towards processed foods, increasing the propensity to accept or buy irradiated foods. (Similar to the replacement in medicine of the term "X-ray tomography" with the term "Computed tomography".)

Most ordinary consumers still consider irradiation to be a dangerous method of food processing. People associate ionizing radiation with cancer and consider irradiated food no less dangerous. This is a delusion that must be eradicated by proper education. All international agencies such as the WHO and the IAEA have endorsed food irradiation as a safe and effective method of ensuring food safety. In addition, the use of this technology can help to solve the ethical problem associated with food waste, which can be eliminated by processing with ionizing radiation. In fact, food waste is an issue of great importance for global food security and natural resource use that is directly connected to environmental, economic and social impacts.

2.4. Additive technologies

Additive technologies are methods of layer-by-layer addition of materials during the manufacturing process of a product, which make it possible to create different types of layers with different compositions, properties, and topologies. Additive technologies are increasingly used in the industrial manufacture of food products and this is due, primarily, to the general digitalization of technological equipment. Different combinations of

ingredients and the design of the food layers used can impart new tastes, aromas and textures not found in conventional food preparation processes. At the same time, one of the main goals of using additive technologies in the food industry is not just a new industrial processing, but adaptation to the concept of personalized nutrition in accordance with the needs of various consumer groups.

The most rapidly developing and promising additive technology for the food industry is 3D food printing. A food product made using 3D printing is a random (at the choice of the product designer) food system created from discrete elementary miniportions of various fats, proteins, carbohydrates, and other components arranged in the order established by the designer. At its core, the use of 3D printing in the food industry marks its gradual transition to the development and production of **digital food systems**. Understanding this transition stimulates fundamental and applied research in this direction.

The state of science in the field of applied methods of additive technology for food production is considered in work [74]. It was noted that the main task for the coming years would be use of 3D printing for the manufacture of meat products or products containing alternative protein sources that retain the desired structure without the need for additives. It also considers the use of alternative protein sources, such as animal by-products, to address food sustainability and industry sustainability issues.

In addition, the possibilities of 3D printing technology for meat products are considered in works [75, 76]. These reviews assess the potential of 3D printing for meat processing and the elementary aspects that affect the printability and post-processing capability of 3D printed meat products. It is noted that the combination of nutrient-balanced ingredients and internal structures allows the creation of three-dimensional products from several components that meet the individual characteristics of consumers, such as difficulties with chewing and swallowing.

An important factor in consumer acceptability, in addition to appearance and taste, is the texture of foods. A review article [77] studied the existing work on 3D printing of food products and discussed developments related to the design of food textures. The advantages and limitations of 3D printing in the food industry, the possibilities of printing from various materials and textures based on mathematical models, as well as future trends in 3D printing, including numerical simulation, are discussed. The key issues for the mass adoption of 3D printing are also discussed in detail. It is emphasized that existing studies of consumer perception and sensory analysis of printed food products give conflicting results. Resistance has been reported by many consumers of 3D printed food products due to their appearance, the source of the food material, the visually perceived sensory characteristics, and the perceived unnatural origin of the printed structures. Most study participants showed better susceptibility to familiar foods. The authors noticed a positive change in opinion with the increase in the amount of information provided to consumers of these products. An exception was observed in people who already had a prejudice against 3D printing and suffered from food neophobia, where communication was ineffective and even strengthened their opinion.

Review articles [78,79] deal with the results of 3D food printing and recent developments in food texture design. The advantages and limitations of 3D printing in the food industry are discussed, as well as trends in 3D printing, including cooking technologies with food printers. It also discusses in detail the key problems hindering the mass adoption of 3D printing. It is noted that the acceptance of 3D printing by the widest consumer depends on people's awareness of this technology and its

benefits. Further information dissemination about the potential of 3D printing could help increase consumer acceptance of this new technology.

Paper [80] provides an overview of the properties of consumables for 3D printing and their impact on printing processes. It also highlights the wide range of applications of 3D printing in the food industry and some of the challenges that arise when implementing into production. A specific feature of the use of 3D printing is noted — this is the possibility of piracy of digital recipes and computer control programs, which will become a problem as the technology and its applications expand. 3D food printing could become as disruptive as the personal computer and the Internet.

A wide variety of options for 3D printing, preparation of initial components, composition and shape of the finished product are considered. Thus, in work [81], the focus is on the relationship between the properties of starch-containing food materials and 3D printing by hot extrusion. It also discusses the influence of material properties (rheology, adhesiveness, thermal properties, microstructure and component interaction) on printability. In addition, the influence of additives (hydrocolloids, lipids, fiber, protein, salt, etc.), processing methods and process parameters on printing is considered.

A brief critical assessment of methods for improving the characteristics of 3D printed products is presented in review [82]. It also provides recommendations for future research and development in the processing of 3D printed products, including their post-processing, such as drying, frying, baking, cooling, sterilization, etc., which is critical for wider industrial applications of this rapidly developing technology.

In work [83], it is noted that 3D food printing technology, as a new intelligent technology, due to its built-in capabilities, can support a sustainable supply chain. At the same time, stakeholders need technical know-how regarding 3D printing technology, well-supported by the legal framework for clear ownership of intellectual property rights. In addition, manufacturers must have focused and clear strategic planning in a sustainable supply chain.

The possibilities of using components with a high protein content and biological value, a good amino acid profile and functionality based on algae, insects, plants, fungi, and microbial proteins in 3D food printing technologies are being actively explored [84]. It is noted that the use of 3D printing of food products and artificial intelligence in combination allows the development and manufacture of personalized products with high nutritional value and a wide demand potential.

Various technologies used in food 3D printing are discussed in work [85] from a commercial point of view, i. e. their use, availability and reliability should be considered from a business point of view. In addition, 3D printed food products, their position in the market, demand for them, as well as supply in the conditions of large-scale and medium-scale production are considered.

People's attitudes towards new technology, critical factors influencing consumer behavior, and, finally, the impact of 3D printing on social, economic and environmental changes are constantly in the field of research. 3D food printing technology is fundamentally redesigning food production, thereby influencing many areas of everyday life. Study [86] attempts to determine the behavior of people in relation to 3D printing technology, to assess their awareness and how familiar they are with this new technological innovation. According to the authors, in the near future, a desktop 3D printer will be necessary for every home and office.

With the development of additive technologies, 3D printing is gradually transforming into 4D/5D/6D food printing technologies. In essence, 4D printing adds a temporal dimension to 3D

printing due to the programmed change in the properties of a food product over time or under the influence of initiating external factors. 4D printed products undergo some programmed structural changes over time. Usually, some environmental factors are required to trigger this transformation. For example, moistening or heating, some products may change shape, others may change texture, and some products may allow consumers to customize them to their liking [87]. This paper critically discusses aspects of the recombination of various food materials and the reasons for the change in color, shape, taste, and nutritional properties through 4D food printing. The key to the success of 4D food printing and various solutions to related problems are identified and analyzed. 4D food printing is fully consistent with the concept of “flat packaging”, i. e. in production, an initially heavily deformed product is printed and packaged, which, after removing the packaging and some processing, and takes the desired form. This 4D printing capability reduces shipping costs and storage space.

In recent years, there has been a significant increase in research in the field of 4D, as well as 5D and 6D printing of food products [88–96]. The current applications, advantages, limitations and challenges of 4D food printing are reviewed and summarized. In addition, the principles, current and potential applications of the latest additive manufacturing technologies (5D and 6D printing) are reviewed and discussed. Moreover, it is noted that 5D and 6D printing can in principle print very complex structures with increased strength and less material than 3D and 4D printing. In the future, these new technologies are expected to lead to significant innovations in all areas, including the manufacture of high-quality food products that cannot be made using existing processing technologies.

Recent advances in the field of 2D/3D/4D/5D printing with rheologically stable components for food products, including food decoration, food personalization, and food analytics, are summarized [89]. In addition, perspectives (such as 6D printing) and key issues (rheology with interdisciplinary integration) for printing with food components for creative food production are proposed and solved.

The perception of new food technologies is fluid. Future research should explore how consumers perceive different innovative technologies and what aspects of these technologies most strongly influence their adoption. The final step will be to gain consumer acceptance of food products that are complex digital food systems printed using multidimensional printing. If consumers are properly informed about the methods used and the benefits offered, then we see no real barriers to wider acceptance of these technologies, especially among future generations.

When food products begin to enter the market using innovative technologies in their manufacture, the media actively begin to discuss their benefits and potential dangers. This has been the case with the use of ionizing radiation, nanotechnology, genetic modification, 3D printing, etc. At the same time, mass consumers mainly rely on cognitive sensations or heuristics, rather than scientific knowledge, to understand problems on which they have a low level of knowledge. This heuristic may include predisposing factors such as ideological beliefs or value systems, as well as short-term reference points provided by the media or other sources of information. Religious filters are also an important heuristic for food nanotechnologies — this is the level of personal perception of new scientific achievements directly related to the consumer, associated with the level of his/her religiosity. The positive attitude towards innovative technologies among less religious respondents is higher than for religious consumers. Such moral views are directly correlated with the levels of religiosity in each country. Thus, when commercializing innovative food technologies, it is necessary to consider the risks

associated with the socio-cultural and historical characteristics of the potential market [90].

The commercialization of innovative food technologies is also complicated by dynamic sociocultural shifts in societal values. For example, emerging consumer preferences for environmentally friendly production systems [91], localized foods [92], or improved animal welfare standards [93]. All this makes it difficult to create a long-term commercialization program for innovative food technologies.

The future of innovative food technologies largely depends on the opinion of consumers. This is due to the fact that if consumers do not accept the proposed food product using a particular technology, then it ceases to be used in manufacture after some time. It is obvious that consumer expectations are not only in terms of safety and health benefits, but also in such requirements as improved taste of the product, consistency, appearance, aroma, etc. Consumers have many expectations, but in general they are mainly expected to be fully sustainable not only with respect to human health, the environment or production methods, but also with regard to animal welfare. For this reason, companies or products that will win in the food industry in the future are likely to come close to these requirements or expectations.

3. Conclusion

While developments in innovative food technologies are breaking new ground every day, there are still many challenges and opportunities to improve existing technologies, as well as concerns about the potential impacts of new technologies. The more global, dynamic and complex food systems become, the more innovative technologies are used in the production of food, the more various problems arise that need to be addressed to

allay consumer fears. Even with the advent of new food technologies, the challenges of creating a healthy and sustainable food sector remain. Transparency of safety and environmental impact issues should be a priority when developing and using innovative technologies in the production of food systems, so mandatory testing of new products before they are released to the market is of the critical importance.

The public is often less aware of innovative food technologies, while attitudes change depending on how these technologies are used and promoted. The conflict seems to be that the public wants to be informed about the status of food technologies being used (especially the development of related new products); while food manufacturers prefer the opposite, as their technology is confidential. Proper public information is critical to the long-term success of introducing and developing innovative technologies in the food industry. Not only the development of innovative technologies and the release of new products are important, but also the legislative regulation at the state level of the use of these technologies, which ensures food safety with minimal environmental impact.

It is to be hoped that the intensive development of information technologies, together with a synergistic set of innovative food technologies, some of which are considered in this paper, will allow making a gradual transition to the production of **personalized digital food systems** that have functionality, good taste, and safety with minimal negative impact on the environment.

Future research should aim to quantify the links between the economic impacts of innovative technologies and health and environmental risk factors, considering the preferences of different consumer categories.

REFERENCES

- Siegrist, M., Hartmann, C. (2020). Consumer acceptance of novel food technologies. *Nature Food*, 1(6), 343–350. <https://doi.org/10.1038/s43016-020-0094-x>
- Pliner, P., Hobden, K. (1992). Development of a scale to measure the trait of food neophobia in humans. *Appetite*, 19(2), 105–120. [https://doi.org/10.1016/0195-6663\(92\)90014-W](https://doi.org/10.1016/0195-6663(92)90014-W)
- Cooke, L. J., Haworth, C. M. A., Wardle, J. (2007). Genetic and environmental influences on children's food neophobia. *American Journal of Clinical Nutrition*, 86(2), 428–433. <https://doi.org/10.1093/ajcn/86.2.428>
- Meijer, G. W., Lähteenmäki, L., Stadler, R. H., Weiss, J. (2020). Issues surrounding consumer trust and acceptance of existing and emerging food processing technologies. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(1), 97–115. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1718597>
- Cattaneo, C., Lavelli, V., Proserpio, C., Laureati, M., Pagliarini, E. (2018). Consumers' attitude towards food by-products: the influence of food technology neophobia, education and information. *International Journal of Food Science and Technology*, 54(3), 679–687. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13978>
- Kaptan, G., Fischer, A. R. H., Frewer, L. J. (2017). Extrapolating understanding of food risk perceptions to emerging food safety cases. *Journal of Risk Research*, 21(8), 996–1018. <https://doi.org/10.1080/13669877.2017.1281330>
- Lamba, A., Garg, V. (2018). Nanotechnology approach in food science: A review. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 3(2), 183–186.
- Ramkumar, C., Vishwanatha, A., Saini, R. (2019). Regulatory Aspects of Nanotechnology for Food Industry. Chapter in a book: *Nanotechnology Applications in Dairy Science: Packaging, Processing, and Preservation*, Dasarahally-Huligowda, L. K., Goyal M. R., Suleria H. A. R. (Eds.) pp. 168–184. Apple Academic Press, New York. <https://doi.org/10.1201/9780429425370>
- 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>
- Sahani, S., Sharma, Y. C. (2020). Advancements in applications of nanotechnology in global food industry. *Food Chemistry*, 342, Article 128318. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.128318>
- Rizvi, S. S. H., Moraru, C. I., Bouwmeester, H., Kampers, F. W. H., Cheng, Y. (2022). Nanotechnology and food safety, pp. 325–340. Chapter in book: *Ensuring Global Food Safety*, A. Martinović, S. Oh, H. Lelieveld (Eds.), Academic Press, P. 541. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816011-4.00016-1>
- Chelliah, R., Madar, I. H., Sultan, G., Begum, M., Pahi, B., Tayubi, I. A. et al. (2023). Risk assessment and regulatory decision-making for nanomaterial use in agriculture. Chapter in a book: *Engineered Nanomaterials for Sustainable Agricultural Production, Soil Improvement and Stress Management: Plant Biology, sustainability and climate change*, A. Husen (Ed.), Academic Press, pp. 413–430. <https://doi.org/10.1016/B978-0-325-91933-3.00009-X>
- Shafiq, M., Anjum, S., Hano, C., Anjum, I., Abbasi, B. H. (2020). An overview of the applications of nanomaterials and nanodevices in the food industry. *Foods*, 9(2), Article 148. <https://doi.org/10.3390/foods9020148>
- Stilgoe, J., Owen, R., Macnaghten, P. (2020). Developing a framework for responsible innovation. Chapter in a book: *The Ethics of Nanotechnology, Geoengineering and Clean Energy*, A. Maynard, J. Stilgoe (Eds.). Routledge, London, P. 544. <https://doi.org/10.4324/9781003075028>
- Smykov, I. T. (2020). Nanotechnology in the Dairy Industry: Benefits and Risks, pp. 277–332. Chapter in a book: *The ELSI Handbook of Nanotechnology: Risk, Safety, ELSI and Commercialization*, Hussain C. M. (Ed.) Scrivener Publishing LLC. <https://doi.org/10.1002/9781119592990.ch11>
- Sadeghi, R., Rodriguez, R. J., Yao, Y., Kokini, J. L. (2017). Advances in nanotechnology as they pertain to food and agriculture: Benefits and risks. *Annual Review of Food Science and Technology*, 8, 467–492. <https://doi.org/10.1146/annurev-food-041715-033338>
- Augustin, M. A., Riley, M., Stockmann, R., Bennett, L., Kahl, A., Lockett, T. et al. (2016). Role of food processing in food and nutrition security. *Trends in Food Science and Technology*, 56, 115–125. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2016.08.005>
- Martirosyan, A., Schneider, Y.-J. (2014). Engineered nanomaterials in food: implications for food safety and consumer health. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 11(6), 5720–5750. <https://doi.org/10.3390/ijerph110605720>
- Iavicoli, I., Leso, V., Beezhold, D. H., Shvedova, A. A. (2017). Nanotechnology in agriculture: opportunities, toxicological implications, and occupational risks. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 329, 96–111. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2017.05.025>
- 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.
- Radha, K., Thomas, A., Sathian, C. T. (2014). Application of nanotechnology in dairy industry: prospects and challenges – A Review. *Indian Journal of Dairy Science*, 67(5), 367–374.

22. Huang, Q., Yu, H., Ru, Q. (2010). Bioavailability and delivery of nutraceuticals using nanotechnology. *Journal of Food Sciences*, 75(1), R50–R57. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2009.01457.x>
23. McClements, D. J., Decker, E. A., Weiss, J. (2007). Emulsion-based delivery systems for lipophilic bioactive components. *Journal of Food Sciences*, 72(8), R109–R124. <https://doi.org/10.1111/j.1750-3841.2007.00507.x>
24. McClements, D. J., Decker, E. A., Park, Y., Weiss, J. (2009). Structural design principles for delivery of bioactive components in nutraceuticals and functional foods. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49(6), 577–606. <https://doi.org/10.1080/10408390902841529>
25. Chau, C. –F., Wu, S.-H., Yen, G.-C. (2007). The development of regulations for food nanotechnology. *Trends in Food Science and Technology*, 18(5), 269–280. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2007.01.007>
26. Hajipour, M. J., Fromm, K. M., Akbar Ashkarran, A., Jimenez de Aberasturi, D., de Larramendi, I. R., Rojo, T. et al. (2012). Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends in Biotechnology*, 30(10), 499–511. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.06.004>
27. He, X., Fu, P., Aker, W. G., Hwang, H.-M. (2018). Toxicity of engineered nanomaterials mediated by nano–bio–eco interactions. *Journal of Environmental Science and Health, Part C Environmental Carcinogenesis and Ecotoxicology Reviews*, 36(1), 21–42. <https://doi.org/10.1080/10590501.2017.1418793>
28. Sodano, V., Gorgitano, M. T., Verneau, F. (2016). Consumer acceptance of food nanotechnology in Italy. *British Food Journal*, 118(3), 714–733. <https://doi.org/10.1108/BFJ-06-2015-0226>
29. Schnettler, B., Crisóstomo, G., Sepúlveda, J., Mora, M., Lobos, G., Miranda H. et al. (2013). Food neophobia, nanotechnology and satisfaction with life. *Appetite*, 69, 71–79. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2013.05.014>
30. Damsbo-Svendsen, M., BomFrøst, M., Olsen, A. (2017). Development of novel tools to measure food neophobia in children. *Appetite*, 113, 255–263. <https://doi.org/10.1016/j.appet.2017.02.035>
31. Cushen, M., Kerry, J., Morris, M., Cruz-Romero, M., Cummins, E. (2012). Nanotechnologies in the food industry – Recent developments, risks and regulation. *Trends in Food Science and Technology*, 24(1), 30–46. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2011.10.006>
32. Galocchio, F., Belluco, S., Ricci, A. (2015). Nanotechnology and food: Brief overview of the current scenario. *Procedia Food Science*, 5, 85–88. <https://doi.org/10.1016/j.profoo.2015.09.022>
33. More, S., Bampidis, V., Benford, D., Bragard, C., Halldorsson, T., Hernández-Jerez, A. (2021). Guidance on risk assessment of the application of nanoscience and nanotechnologies in the food and feed chain: Human and animal health. *EFSA Journal*, 19(8), Article e06768. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2021.6768>
34. Frewer, L. J., Gupta, N., George, S., Fischer, A. R. H., Giles, E. L., Coles, D. (2014). Consumer attitudes towards nanotechnologies applied to food production. *Trends in Food Science and Technology*, 40(2), 211–225. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.06.005>
35. Gupta, N., Fischer, A. R. H., George, S., Frewer, L. J. (2013). Expert views on societal responses to different applications of nanotechnology: a comparative analysis of experts in countries with different economic and regulatory environments. *Journal of Nanoparticle Research*, 15(8), Article 1838. <https://doi.org/10.1007/s11051-013-1838-4>
36. Lopez-Vazquez, E., Brunner, T. A., Siegrist, M. (2012). Perceived risks and benefits of nanotechnology applied to the food and packaging sector in Mexico. *British Food Journal*, 114(2), 197–205. <https://doi.org/10.1108/00070701211202586>
37. Hundley, P. A. C., Harwood, W. A. (2019). Impacts of the EU GMO regulatory framework for plant genome editing. *Food and Energy Security*, 8(2), Article e00161. <https://doi.org/10.1002/fes3.161>
38. Carreño, I., Dolle, T. (2019). The Court of justice of the European Union's Judgment on mutagenesis and international trade: A Case of GMO, mutagenesis and international trade. *Global Trade and Customs Journal*, 14(3), 91–101. <https://doi.org/10.54648/gtcj2019010>
39. Van Eenennaam, A.L., Young, A.E. (2018). Public Perception of Animal Biotechnology. Chapter in a book: *Animal Biotechnology*. Niemann, H., Wrenzycki, C. (Eds.), pp. 275–303. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-92348-2_13
40. Van Eenennaam, A. L., Young, A. E. (2018). Gene editing in livestock: promise, prospects and policy. *CAB Reviews: Perspectives in Agriculture, Veterinary Science, Nutrition and Natural Resources*, 13, Article 027. <https://doi.org/10.1079/PAVSNR201813027>
41. Cui, K., Shoemaker, S. P. (2018). Public perception of genetically-modified (GM) food: A nationwide Chinese consumer study. *npj Science of Food*, 2(1), 3–12. <https://doi.org/10.1038/s41538-018-0018-4>
42. Deckers, M., Deforce, D., Fraiture, M.-A., Roosens, N. H. C. (2020). Genetically modified micro-organisms for industrial food enzyme production: An overview. *Foods*, 9(3), Article 326. <https://doi.org/10.3390/foods9030326>
43. Brookes, G., Barfoot, P. (2020). Environmental impacts of genetically modified (GM) Crop use 1996–2016: Impacts on pesticide use and carbon emissions. *GM Crops & Food*, 11(4), 215–241. <https://doi.org/10.1080/21645698.2018.147679>
44. Ghasemi, S., Ahmadvand, M., Karami, E., Karami, A. (2020). Social risk perceptions of genetically modified foods of engineers in training: Application of a comprehensive risk model. *Science and Engineering Ethics*, 26, 641–665. <https://doi.org/10.1007/s11948-019-00110-6>
45. Sunil, Chauhan, N., Singh, J., Chandra, S., Chaudhary, V., Kumar, V. (2018). Non-thermal techniques: Application in food industries. A review. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(5), 1507–1518.
46. Khouryieh, H. (2020). Novel and emerging technologies used by the U.S. food processing industry. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 67, Article 102559. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2020.102559>
47. Zhang, Z.-H., Wang, L.-H., Zeng, X.-A., Han, Z., Brennan, C. S. (2018). Non-thermal technologies and its current and future application in the food industry: a review. *International Journal of Food Science and Technology*, 54(1), 1–13. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13903>
48. Hite, B. H. (1899). The effect of high pressure in the preservation of milk. *West Virginia Agricultural Experimental Station Bulletin*, 58, 15–35.
49. Fam, S. N., Khosravi-Darani, K., Massoud, R., Massoud, A. (2021). High-pressure processing in food. *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 11(4), 11553–11561. <https://doi.org/10.33263/BRIAC11.1155311561>
50. Agregán, R., Munekata, P. E. S., Zhang, W., Zhang, J., Pérez-Santaescolástica, C., Lorenzo, J. M. (2021). High-pressure processing in inactivation of Salmonella spp. in food products. *Trends in Food Science and Technology*, 107, 31–37. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.11.025>
51. Huang, H.-W., Hsu, C.-P., Wang, C.-Y. (2020). Healthy expectations of high hydrostatic pressure treatment in food processing industry. *Journal of Food and Drug Analysis*, 28(1), 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.jfda.2019.10.002>
52. Jolvis Pou, K. R. (2021). Applications of high pressure technology in food processing. *International Journal of Food Studies*, 10, 248–281. <https://doi.org/10.7455/ijfs/10.1.2021.a10>
53. Balakrishna, A.K., Abdul Wazed, M., Farid, M. (2020). A review on the effect of high pressure processing (HPP) on gelatinization and infusion of nutrients. *Molecules*, 25(10), Article 2369. <https://doi.org/10.3390/molecules25102369>
54. Khan, S., Keshavalu, Ghosh, S., Amaresh, Maurya, R. P., Badhautiya, S. et al. (2017). High pressure processing in food industry. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Sciences*, 6(11), 28–31.
55. Tsevdou, M., Gogou, E., Taoukis, P. (2019). High hydrostatic pressure processing of foods. Chapter in a book: *Green Food Processing Techniques: Preservation, Transformation and Extraction*, 87–137. Academic Press, 2019. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-815353-6.00004-5>
56. Arshad, R. N., Abdul-Malek, Z., Munir, A., Buntat, Z., Ahmad, M. H., Jusoh, Y. M. M. et al. (2020). Electrical systems for pulsed electric field applications in the food industry: An engineering perspective. *Trends in Food Science and Technology*, 104, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.07.008>
57. Niu, D., Zeng, X.-A., Ren, E.-F., Xu, F.-Y., Li, J., Wang, M.-S. et al. (2020). Review of the application of pulsed electric fields (PEF) technology for food processing in China. *Food Research International*, 137, Article 109715. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109715>
58. Taha, A., Casanova, F., Šimonis, P., Stankevič, V., Gomaa, M.A.E., Stirkė, A. (2022). Pulsed electric field: Fundamentals and effects on the structural and techno-functional properties of dairy and plant proteins. *Foods*, 11, Article 1556. <https://doi.org/10.3390/foods11111556>
59. Zhang, S., Sun, L., Ju, H., Bao, Z., Zeng, X.-A., Lin, S. (2021). Research advances and application of pulsed electric field on proteins and peptides in food. *Food Research International*, 139, Article 109914. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2020.109914>
60. Zhang, Y., Wang, R., Wen, Q.-H., Rahaman, A., Zeng, X.-A. (2022). Effects of pulsed electric field pretreatment on mass transfer and quality of beef during marination process. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 80, Article 103061. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2022.103061>
61. Guo, L., Azam, S. M. R., Guo, Y., Liu, D., Ma, H. (2021). Germicidal efficacy of the pulsed magnetic field against pathogens and spoilage microorganisms in food processing: An overview. *Food Control*, 136(1), Article 108496. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2021.108496>
62. Hertwig, C., Meneses, N., Mathys, A. (2018). Cold atmospheric pressure plasma and low energy electron beam as alternative nonthermal decontamination technologies for dry food surfaces: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 77, 131–142. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2018.05.011>
63. Report from the commission to the European parliament and the council on food and food ingredients treated with ionizing radiation for the year 2018–2019, European Commission, Brussels, 24.2.2021 COM (2021) 79 final. Retrieved from <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX%3A52021DC0079> Accessed September 20, 2022.
64. Delorme, M. M., Guimarães, J. T., Coutinho, N. M., Balthazar, C. F., Rocha, R. S., Silva, R. et al. (2020). Ultraviolet radiation: An interesting technology to preserve quality and safety of milk and dairy foods. *Trends in Food Science and Technology*, 102, 146–154. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.06.001>
65. Josephson, E. S., Peterson, M. S. (Eds.). (1982). *Preservation of food by ionizing radiation: Volume I (1st ed.)*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781351076005>
66. Sparrow, A. H., Christensen, E. (1950). Effects of X-ray, neutron and chronic gamma irradiation on growth and yield of potatoes. *American Journal of Botany*, 37, 667.
67. Nishihira, J. (2020). Safety of irradiated food. Chapter in book: *Genetically Modified and Irradiated Food*. V. Andersen (Ed.), Academic Press, Vienna. pp. 259–267. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-817240-7.00016-4>

68. Ravindran, R., Jaiswal, A. K. (2019). Wholesomeness and safety aspects of irradiated foods. *Food Chemistry*, 285, 363–368. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.02.002>
69. D'Souza, C., Apaolaza, V., Hartmann, P., Brouwer, A. R., Nguyen, N. (2021). Consumer acceptance of irradiated food and information disclosure – A retail imperative. *Journal of Retailing and Consumer Services*, 63, Article 102699. <https://doi.org/10.1016/j.jretconser.2021.102699>
70. Bearth, A., Siegrist, M. (2019). “As long as it is not irradiated” – Influencing factors of US consumers’ acceptance of food irradiation. *Food Quality and Preference*, 71, 141–148. <https://doi.org/10.1016/j.foodqual.2018.06.015>
71. Zanardi, E., Caligiani, A., Novelli, E. (2017). New insights to detect irradiated food: An overview. *Food Analytical Methods*, 11(1), 224–235. <https://doi.org/10.1007/s12161-017-0992-1>
72. Galati, A., Moavero, P., Crescimanno, M. (2019). Consumer awareness and acceptance of irradiated foods: the case of Italian consumers. *British Food Journal*, 121(6), 1398–1412. <https://doi.org/10.1108/bfj-05-2018-0336>
73. Galati, A., Tulone, A., Moavero, P., Crescimanno, M. (2019). Consumer interest in information regarding novel food technologies in Italy: The case of irradiated foods. *Food Research International*, 119, 291–296. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2019.01.065>
74. Portanguen, S., Tournayre, P., Sicard, J., Astruc, T., Mirade, P.-S. (2019). Toward the design of functional foods and biobased products by 3D printing: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 86, 188–198. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.02.023>
75. Dick, A., Bhandari, B., Prakash, S. (2019). 3-D printing of meat. *Meat Science*, 153, 35–44. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2019.03.005>
76. Gorbunova, N.A. (2020). Possibilities of additive technologies in the meat industry. A review. *Theory and Practice of Meat Processing*, 5(1), 9–16. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2020-5-1-9-16>
77. Pereira, T., Barroso, S., Gil, M. M. (2021). Food texture design by 3D printing: A review. *Foods*, 10(2), Article 320. <https://doi.org/10.3390/foods10020320>
78. Ulrikh, E.V., Verkhoturov, V.V. (2022). Features of food design on a 3D printer. A review. *Food Systems*, 5(2), 100–106. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-2-100-106> (In Russian)
79. Kornienko, V. Yu., Minaev, M. Yu. (2022). Trends in the development of 3d food printing. *Food Systems*, 5(1), 23–29. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-1-23-29> (In Russian)
80. Nachal, N., Moses, J. A., Karthik, P., Anandharamkrishnan, C. (2019). Applications of 3D printing in food processing. *Food Engineering Reviews*, 11(3), 123–141. <https://doi.org/10.1007/s12593-019-09199-8>
81. Zhang, J., Li, Y., Cai, Y., Ahmad, I., Zhang, A., Ding, Y. et al. (2022). Hot extrusion 3D printing technologies based on starchy food: A review. *Carbohydrate Polymers*, 294, Article 119763. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2022.119763>
82. Demei, K., Zhang, M., Phuhongsung, P., Mujumdar, A. S. (2022). 3D food printing: Controlling characteristics and improving technological effect during food processing. *Food Research International*, 156, Article 111120. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2022.111120>
83. Panghal, A., Vern, P., Mor, R. S., Panghal, D., Sindhu, S., Dahiya, S. (2022). A study on adoption enablers of 3D printing technology for sustainable food supply chain. *Management of Environmental Quality*. <https://doi.org/10.1108/MEQ-03-2022-0056> (unpublished data)
84. Bedoya, M. G., Montoya, D.R., Tabilo-Munizaga, G., Pérez-Won, M., Lemus-Mondaca, R. (2022). Promising perspectives on novel protein food sources combining artificial intelligence and 3D food printing for food industry. *Trends in Food Science and Technology*, 128, 38–52. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.05.013>
85. Singh, H., Kour, R. (2022). Commercial market of food printing technologies. Chapter in a book: *Food Printing: 3D Printing in Food Industry*, Sandhu, K., Singh, S. (Eds). Springer, Singapore, pp. 155–176. https://doi.org/10.1007/978-981-16-8121-9_9
86. Mavri, M., Fronimaki, E., Kadrefi, A. (2021). Survey analysis for the adoption of 3D printing technology: consumers’ perspective. *Journal of Science and Technology Policy Management*. <https://doi.org/10.1108/JSTPM-02-2020-0023> (unpublished data)
87. Teng, X., Zhang, M., Mujumdar, A. S. (2021). 4D printing: Recent advances and proposals in the food sector. *Trends in Food Science and Technology*, 110, 349–363. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.076>
88. Ghazal, A. F., Zhang, M., Mujumdar, A. S., Ghamry, M. (2022). Progress in 4D/5D/6D printing of foods: applications and R&D opportunities. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. <https://doi.org/10.1080/10408398.2022.2045896> (unpublished data)
89. Cheng, Y., Fu, Y., Ma, L., Yap, P. L., Losic, D., Wang, H. et al. (2022). Rheology of edible food inks from 2D/3D/4D printing, and its role in future 5D/6D printing. *Food Hydrocolloids*, 32, Article 107855. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2022.107855>
90. Scheufele, D. A., Corley, E.A., Shih, T. -J., Dalrymple, K. E., Ho, S.S. (2009). Religious beliefs and public attitudes toward nanotechnology in Europe and the United States. *Nature Nanotechnology*, 4(2), 91–94. <https://doi.org/10.1038/nnano.2008.361>
91. Kriwy, P., Mecking, R.-A. (2012). Health and environmental consciousness, costs of behaviour and the purchase of organic food. *International Journal of Consumer Studies*, 36(1), 30–37. <http://doi.org/10.1111/j.1470-6431.2011.01004.x>
92. Hingley, M., Mikkola, M., Canavari, M., Asioli, D. (2012). Local and sustainable food supply: The role of European retail consumer cooperatives. *International Journal on Food System Dynamics*, 2(4), 340–347. <http://doi.org/10.18461/ijfsd.v2i4.241>
93. Harvey, D., Hubbard, C. (2013). Reconsidering the political economy of farm animal welfare: An anatomy of market failure. *Food Policy*, 38(1), 105–114. <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2012.11.006>

AUTHOR INFORMATION	СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
Affiliation	Принадлежность к организации
Igor T. Smykov, Doctor of Technical Sciences, Chief Researcher, Department of Physical Chemistry, 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	Смыков Игорь Тимофеевич — доктор технических наук, главный научный сотрудник, Отдел физической химии, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-48532-9-81-21 E-mail: i_smykov@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5663-3662
Contribution	Критерии авторства
Completely prepared the manuscript and is responsible for plagiarism.	Автор самостоятельно подготовил рукопись и несет ответственность за плагиат.
Conflict of interest	Конфликт интересов
The author declares no conflict of interest.	Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-319-326>



Поступила 18.10.2022

Поступила после рецензирования 08.11.2022

Принята в печать 14.11.2022

© Абрамова Л. С., Козин А. В., Гусева Е. С., 2022

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

Научная статья

Open access

ПРОБЛЕМА ФАЛЬСИФИКАЦИИ ЗЕРНИСТОЙ ИКРЫ ЛОСОСЕВЫХ РЫБ И ПУТИ РЕШЕНИЯ

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

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

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

имитированная продукция, пищевая ценность, белок, органолептический анализ, тест на варку

АННОТАЦИЯ

В статье рассмотрена проблема фальсификации пищевой рыбной продукции, которая беспокоит производителей и потребителей во всем мире. Фальсификация пищевых продуктов чаще всего осуществляется путем придания продуктам отдельных наиболее типичных признаков — например, внешнего вида при общем ухудшении или утрате остальных наиболее значимых свойств пищевой ценности, в том числе безопасности. Анализ рынка показал, что наблюдается тенденция подмены натуральной икры имитированной путем реализации ее в металлических и стеклянных банках с указанием адреса Дальневосточного производителя. Установлено, что при производстве имитированной икры по современным технологиям содержание белка не превышает одного процента. Для установления подлинности продукции разработана методика измерений массовой доли белка в зернистой икре лососевых рыб методом Кьельдаля. Представлена метрологическая характеристика разработанной методики в трех диапазонах концентраций. Исползованные значения могут служить для идентификации заявленных свойств с установленными показателями точности, правильности, повторяемости и воспроизводимости. В дополнении к методике предложены органолептические показатели продукции, включающие оценку внешнего вида, консистенции, вкуса, запаха, а также особенности пробы на варку, которые могут служить в качестве отличительных признаков и учитываться при проведении идентификации икры зернистой лососевых видов рыб.

БЛАГОДАРНОСТИ: Авторы выражают благодарность сотрудникам лаборатории метрологии влагометрии и стандартных образцов (241) УНИИМ — филиал ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева» — Гольянец О. С., Медведевских М. Ю., Сергеевой А. С. за помощь в проведении работ по обоснованию и аттестации методики измерений массовой доли белка в зернистой икре лососевых рыб методом Кьельдаля и использование этих значений для идентификации заявленных свойств.

Received 18.10.2022

Accepted in revised 08.11.2022

Accepted for publication 14.11.2022

© Abramova L. S., Kozin A. V., Guseva, E.S., 2022

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

Original scientific article

Open access

THE PROBLEM OF GRAINED SALMONID ROE FALSIFICATION AND WAYS FOR ITS SOLUTION

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

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

KEY WORDS:

imitated products, nutritional value, protein, organoleptic analysis, cooking test

ABSTRACT

The paper examines the problem of falsification of edible fish products, which concerns producers and consumers worldwide. Food products are most often falsified by imparting them some of the most typical features, for example appearance, upon the overall worsening or losing the other most significant properties of nutritional value, including safety. Market analysis shows that there is a tendency of replacing natural roe with imitated roe by its selling in metal and glass jars with indication of the address of the Far Eastern producer. It has been established that the protein content is not higher than one percent upon imitated roe production using modern technologies. To establish product authenticity, a methodology for measuring the protein mass fraction in grained salmonid roe by the Kjeldahl method was developed. The metrological characteristic of the developed methodology in three concentration ranges is presented. The used values can serve for identification of claimed properties with the specified indicators of accuracy, trueness, repeatability and reproducibility. In addition to the methodology, product organoleptic indicators are proposed, including assessment of appearance, consistency, taste, odor, as well as specific features of the cooking test that can serve as distinctive features and are taken into consideration in identification of grained salmonid roe.

ACKNOWLEDGEMENTS: The authors thank the researchers of the Laboratory of Metrology of Moisture Measurement and Reference Materials (241) of UNIIM — Affiliated Branch of the D. I. Mendeleev Institute for Metrology — O. S. Golynets, M. Yu. Medvedevskiy, A. S. Sergeeva for the help in performing the work on substantiation and certification of the methodology for measuring the protein mass fraction in grained salmonid roe by the Kjeldahl method and the use of these values for identification of claimed properties.

1. Введение

Одной из наиболее важных проблем является обеспечение потребителя безопасной продукцией гарантированного качества. Не последнюю роль в этом вопросе играет фаль-

сификация, так как в широком смысле она может рассматриваться как действия, направленные на ухудшение потребительских свойств пищевой продукции. Самым большим риском из-за применения такой продукции подвергаются

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Абрамова, Л. С., Козин, А. В., Гусева, Е. С. (2022). Проблема фальсификации зернистой икры лососевых рыб и пути решения. *Пищевые системы*, 4(4), 319-326. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-319-326>

FOR CITATION: Abramova, L. S., Kozin, A. V., Guseva, E. S. (2022). The problem of grained salmonid roe falsification and ways for its solution. *Food Systems*, 4(4), 319-326. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-319-326>

в первую очередь потребители: некачественный фальсифицированный продукт может представлять угрозу для здоровья человека.

Неоднократные исследования показывают, что повышенное внимание следует уделить проблеме оценки качества и подлинности икры рыб семейства лососевых как дорогостоящего продукта [1–3].

Для решения проблемы подделывания пищевой продукции в Федеральном законе от 01.03.2020 № 47-ФЗ дано определение: «фальсифицированные пищевые продукты, материалы и изделия — пищевые продукты, материалы и изделия, которые являются умышленно измененными (поддельными) и (или) имеют скрытые свойства и качество и (или) информация о которых является заведомо неполной и (или) недостоверной» [4]. Пищевые продукты, в отношении которых установлен факт фальсификации, признаются некачественными и подлежат экспертизе, утилизации или уничтожению в порядке, устанавливаемом правительством Российской Федерации.

Особое место среди пищевой продукции занимает имитированная продукция, которая может официально производиться согласно определению, данному в техническом регламенте Евразийского экономического союза «О безопасности рыбы и рыбной продукции» (ТР ЕАЭС 040/2016): «имитированная пищевая рыбная продукция» — пищевая рыбная продукция, воспроизводящая органолептические показатели заданного имитируемого продукта (например, «аналоги икры», «изделия структурированные», «крабовые палочки») [5]. Тогда встает вопрос: может ли эта продукция являться фальсифицированной, когда она по органолептическим показателям близка к натуральной, но по пищевой и биологической ценности в большинстве случаев не соответствует ожиданиям потребителя? Например, крабовые палочки высокого качества могут создавать ощущение крабового мяса, но по содержанию белка они отличаются от оригинала в 2–3 раза, не говоря уже о микро- и макроэлементном составе. Еще серьезнее выглядит проблема с имитированной икрой. Существующая на рынке икра, за исключением внешнего вида, по показателям пищевой ценности не соответствует натуральной икре. Кроме того, в последнее время наблюдается тенденция упаковки искусственной икры в металлические и стеклянные банки, на которых нанесена маркировка с адресом производителя Дальнего Востока. Встает вопрос о целесообразности существования понятия «имитированная икра» или «аналог икры» как объекта технического регулирования ТР ЕАЭС 040/2016 [5], так как это понятие дает возможность выпуска подделанной продукции, которая вводит в заблуждение потребителя и по содержанию нутриентов не может быть отнесена к пищевой рыбной продукции.

Для борьбы с фальсифицированной продукцией необходимы современные и доступные методы идентификации, учитывающие специфику анализируемой пищевой продукции, в особенности икорной, которая становится все более доступной среднему потребителю [6].

В настоящее время продолжают совершенствоваться методы идентификации, основанные на морфологических признаках [7], с использованием анализа ДНК [8,9], а также на анализе жирнокислотного состава и на содержании токсичных элементов с использованием хемометрических методов обработки полученных данных. У исследованных образцов икры наблюдалась тенденция к кластерной классификации в соответствии с репродуктивными особенностями видов рыб и средой их обитания [10–12].

Проблеме обеспечения подлинности икорных продуктов уделяется большое внимание, о чем свидетельствуют науч-

но обоснованные различные методологические подходы, которые широко освещены в современных обзорах [13–15]. Для идентификации икорной продукции используются, как правило, дорогостоящие генетические исследования, поэтому разработка простых в исполнении и доступных методов определения подлинности икры является важной практической задачей.

Нами проведен анализ технологии изготовления имитированной продукции для выявления маркеров зернистой икры лососевых рыб и сделан вывод, что содержание белка в зернистой икре лососевых рыб может являться основным показателем при сличении признаков исследуемого объекта с регламентированными характеристиками показателей натуральной икры горбуши, кеты, нерки и кижуча [16]. В связи с этим целью работы было обоснование и разработка методики измерений массовой доли белка в зернистой икре лососевых рыб методом Кьельдаля и использование этих значений для идентификации заявленных свойств.

2 Материалы и методы

При разработке методики измерений массовой доли белка в зернистой икре лососевых рыб методом Кьельдаля и использовании этих значений для идентификации заявленных свойств за основу взята методика определения содержания белка методом Кьельдаля (далее — методика), согласно ФР.1.31.2020.38483 [17,18]. В качестве средства измерений содержания азота и, соответственно, белка использовали Анализатор азота Kjeltac System 2300 (Foss Analytical AB, Швеция).

Метрологическую аттестацию методики осуществляли в соответствии с требованиями программы проведения исследований, разработанной в рамках договора с Уральским научно-исследовательским институтом метрологии — филиалом Федерального государственного унитарного предприятия «Всероссийский научно-исследовательский институт метрологии им. Д. И. Менделеева» (УНИИМ — филиалом ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева»). Для аттестации методики измерений массовой доли белка в пробах зернистой икры лососевых рыб и зернистой икры имитированной методом Кьельдаля было разработано техническое задание. Оно устанавливало исходные данные для проведения испытаний, по результатам которых определялись и оценивались показатели точности методики измерений и норматив контроля:

- среднее квадратическое отклонение и предел повторяемости;
- среднее квадратическое отклонение и предел воспроизводимости;
- границы неисключенной систематической погрешности (показатель правильности) при доверительной вероятности $P = 0,95$;
- границы погрешности измерений при доверительной вероятности $P = 0,95$;
- норматив контроля точности при оперативном контроле процедуры измерений.

Экспериментальные исследования по оценке показателей точности проводились в ходе межлабораторного исследования в соответствии с положениями РМГ 61–2010 по п. 10 с применением метода варьирования навески [19].

Для исследований использовали образцы продукции, перечень которых приведен в Таблице 1.

Проверку систематической составляющей погрешности осуществляли по стандартному образцу утвержденного типа, который был разработан, утвержден и предоставлен для исследований УНИИМ — филиалом ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева». Стандартный образец ГСО 10272–2013

представлял собой аминокислоту с массовой долей основного вещества не менее 99,0% в виде белого порошка (Таблица 2).

Таблица 1. Характеристика образцов икры лососевых рыб зернистой и имитированной
Table 1. Characteristics of the samples of grained salmonid roe and imitated roe

Номер образца	Характеристика образца	Происхождение икры
1	Икра имитированная	Конфискованная без маркировки Фальсифицированная
1-2 1-2а	Икра имитированная	Конфискованная без маркировки Фальсифицированная
2 2а	Икра горбуши зернистая пастеризованная	Натуральная
3 3а	Икра нерки зернистая пастеризованная	Натуральная
4 4а	Икра кеты зернистая пастеризованная	Натуральная
5	Икра горбуши	Фальсифицированная
6	Икра лососевая	Фальсифицированная
7	Икра кеты зернистая	Натуральная
8	Икра лососевая	Фальсифицированная
9	Икра лососевая	Фальсифицированная
10	Икра горбуши зернистая	Натуральная развесная
11	Икра кеты зернистая	Натуральная развесная
12	Икра кеты зернистая	Натуральная

Таблица 2. Метрологические характеристики стандартного образца утвержденного типа ГСО 10272–2013

Table 2. Metrological characteristics of the reference material of the approved type SRM 10272–2013

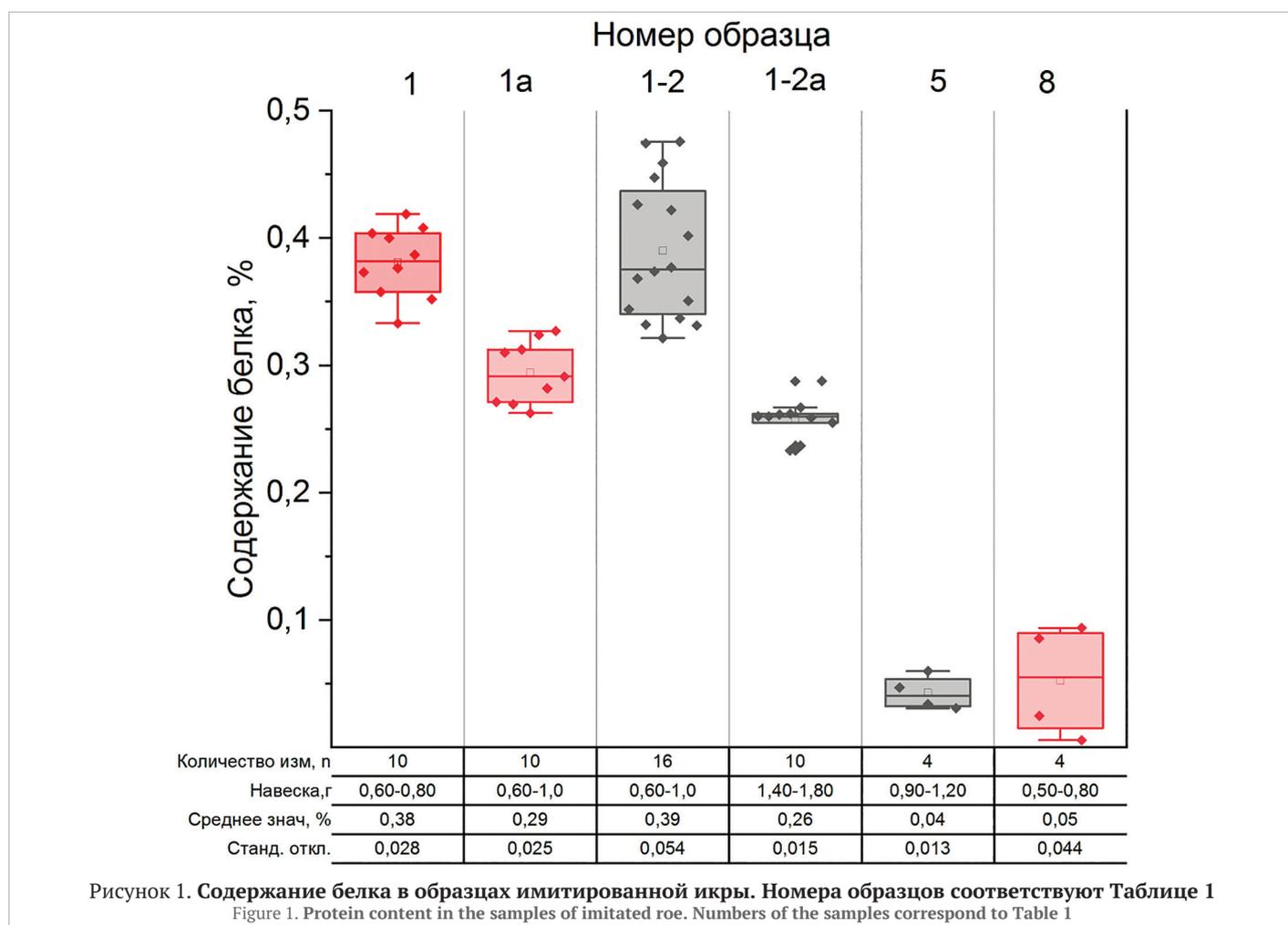
Аттестуемая характеристика	Значение аттестуемой характеристики CO*, %	Границы относительной погрешности аттестованного значения CO при P = 0,95, %
Массовая доля азота	18,50	± 0,6
Массовая доля основного вещества	99,14	± 0,6

* в расчете на материал, высушенный при (105 ± 5) °C в течение 2-х часов.

3. Результаты и обсуждение

Для научного обоснования методики в образцах икры лососевых рыб зернистой и имитированной, приведенных в Таблице 1, определено содержание азота и рассчитано содержание белка в соответствии с требованиями программы метрологической аттестации в условиях повторяемости (параллельные определения), с изменяющимися навесками, в различные дни и разными операторами. Полученные результаты представлены на Рисунках 1 и 2, исходя из которых видно, что в имитированной икре содержание белка колеблется в интервале от 0 до 0,5%, в то время как в натуральной икре его количество составляет 27–34%.

В связи с тем, что возможны случаи смешения образцов икры натуральной и имитированной, принято решение обосновать метрологические показатели для всего интервала возможного содержания белка от 0 до 34%. С этой целью были приготовлены модельные смеси, содержащие около 4, 10, 15 и 20% белка путем смешивания рассчитанного количества икры горбуши имитированной с содержанием белка



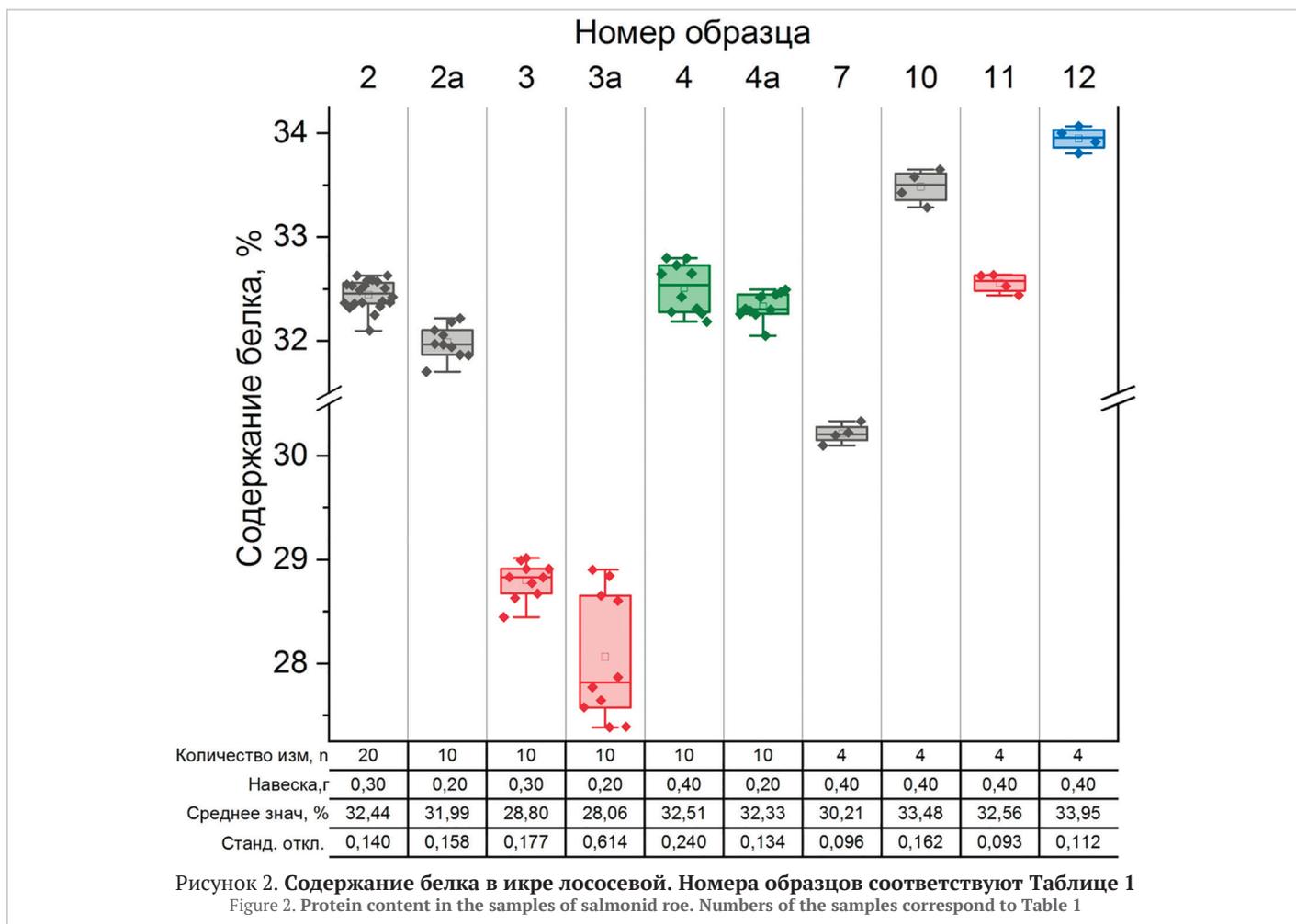


Рисунок 2. Содержание белка в икре лососевой. Номера образцов соответствуют Таблице 1
 Figure 2. Protein content in the samples of salmonid roe. Numbers of the samples correspond to Table 1

0,05% (образец № 5) и икры кеты зернистой натуральной, содержащей 33,95% белка (образец № 12). В модельных образцах определяли содержание азота и рассчитывали количество белка (Рисунок 3).

Данные о содержании белка в смесях были статистически обработаны, и средние значения использовались для построения кривой зависимости содержания белка от соотношения икры горбуши зернистой натуральной в смеси с имитированной икрой (Рисунок 4). Установлена прямая зависимость, которая рекомендована для определения количественного содержания икры лососевой натуральной в смеси с имитированной. Аналогично может быть построена прямая зависимости для смеси имитированной икры и лососевой натуральной с другим исходным содержанием белка.

Для проверки систематической составляющей погрешности метода определяли содержание азота в стандартном образце. Данные исследований, приведенные в Таблице 3, свидетельствуют о хорошей воспроизводимости между параллельными определениями.

Таблица 3. Результаты определения содержания азота в стандартном образце ГСО 10272–2013

Table 3. Results of measuring the nitrogen content in the reference material SRM 10272–2013

№ п/п	Содержание азота, %		Навеска, г	
	X ₁	X ₂	m ₁	m ₂
1	18,45	18,66	0,0706	0,1036
2	18,57	18,57	0,0586	0,1112
3	18,75	18,63	0,0959	0,1200
4	18,58		0,1193	

В соответствии с программой исследований выполнены межлабораторные сличительные испытания образцов икры кеты зернистой (образец № 12) в четырех лабораториях. Результаты исследований представлены в Таблице 4.

Таблица 4. Результаты межлабораторных сличительных испытаний по измерению массовой доли белка в икре кеты зернистой

Table 4. Results of the interlaboratory comparison tests for measuring the protein mass fraction in grained salmon roe

№ п/п	Наименование лаборатории	Массовая доля белка, %
1	Отдел качества пищевой рыбной продукции ФГБНУ «ВНИРО»	33,95
2	Лабораторный центр «АтлантНИРО»	33,80
3	Научно-исследовательский испытательный центр ФГБНУ «ФНЦ пищевых систем им. В. М. Горбатова» РАН (НИИЦ)	33,48
4	Отдел кормов и кормовых компонентов Департамента аквакультуры ФГБНУ «ВНИРО»	33,81

Данные по содержанию белка были получены в условиях повторяемости при проверке систематической составляющей погрешности метода и межлабораторных сличительных испытаний. Они использовались для расчета и обоснования метрологических параметров методики специалистами УНИИМ – филиала ФГУП «ВНИИМ им. Д. И. Менделеева» в соответствии с нормативными документами: РМГ 61–2010 и РМГ 76–2014 [19,20]. Диапазоны измерений, значения показателей точности, правильности, повторяемости и воспроизводимости методики приведены в Таблице 5.

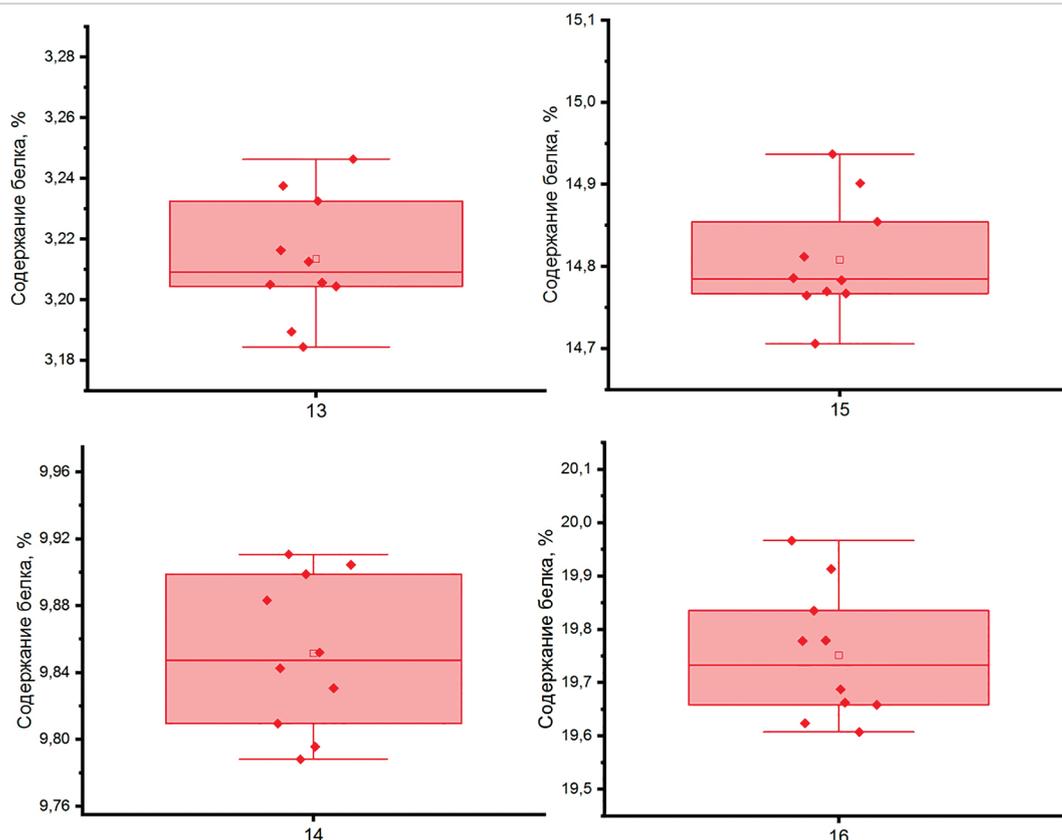


Рисунок 3. Содержание белка в модельных смесях, приготовленных из фальсифицированной икры № 5 и зернистой натуральной № 12. Номера образцов соответствуют Таблице 1
 Figure 3. Protein content in the model mixtures prepared from falsified roe No. 5 and grained natural roe No.12. Numbers of the samples correspond to Table 1

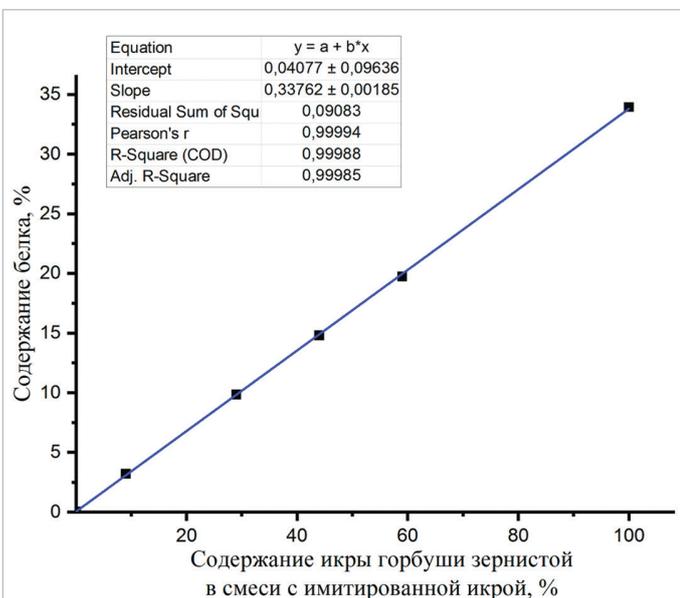


Рисунок 4. Изменение содержания белка в модельной смеси, приготовленной из фальсифицированной икры № 5 и зернистой натуральной № 12. Номера образцов соответствуют Таблице 1.

Figure 4. Change in the protein content in the model mixture prepared from falsified roe No. 5 and grained natural roe No.12. Numbers of the samples correspond to Table 1

По результатам проведенных исследований и расчетов метрологических параметров получено Свидетельство об аттестации методики (метода) измерений № 241.0085/RA.RU.311866/2022 от 15.08.2022 г.

Таблица 5. Диапазоны измерений, значения показателей точности, правильности, повторяемости и воспроизводимости (в процентах)

Table 5. Measurement ranges, values of accuracy, trueness, repeatability and reproducibility (in %)

Диапазон измерений массовой доли белка	Показатель повторяемости (абсолютное среднее квадратическое отклонение повторяемости), σ_r	Показатель воспроизводимости (абсолютное среднее квадратическое отклонение воспроизводимости), σ_R	Показатель правильности (границы неисключенной систематической абсолютной погрешности, $P = 0,95$), $\pm \Delta_c$	Показатель точности (границы абсолютной погрешности, $P = 0,95$), $\pm \Delta$
от 0,20 до 3,00 включ.	0,05	0,10	0,05	0,20
св. 3,0 до 27,0 включ.	0,10	0,20	0,10	0,4
св. 27,0 до 40,0 включ.	0,3	0,4	0,20	0,8

При выполнении методики определения содержания белка необходимо проводить проверку приемлемости результатов параллельных определений. За результат анализа принимают среднее арифметическое результатов двух параллельных определений, расхождение между которыми не должно превышать предела повторяемости:

$$|X_1 - X_2| \leq r \quad (1),$$

где

X_1, X_2 – результаты параллельных определений, %;
 r – значение предела повторяемости, приведенное в Таблице 6; при этом $r = 2,8 \cdot \sigma_r$.

Таблица 6. Пределы повторяемости и воспроизводимости при доверительной вероятности $P = 0,95$ (в процентах)Table 6. Limits of repeatability and reproducibility at the confidence probability $P = 0.95$ (in %)

Диапазон измерений массовой доли белка	Предел повторяемости (значение абсолютного допускаемого расхождения между двумя результатами параллельных определений), г	Предел воспроизводимости (значение допускаемого абсолютного расхождения между двумя результатами измерений, полученных в разных лабораториях), R
от 0,20 до 3,00 включ.	0,14	0,28
св. 3,0 до 27,0 включ.	0,3	0,6
св. 27,0 до 40,0 включ.	0,8	1,1

При невыполнении условия (1) выясняют причины превышения предела повторяемости, устраняют их и вновь выполняют анализ.

Разработанные методические подходы позволяют достоверно определять содержание белка и использовать эти значения в качестве количественного маркера идентификации зернистой икры лососевых видов рыб. Кроме того, дополнительно необходимо учитывать органолептические показатели продукции, включающие оценку внешнего вида, консистенции, вкуса, запаха, а также особенностей пробы на варку. Предложенные отличительные признаки рекомендованы для внесения в методику идентификации икры зернистой лососевых видов рыб.

Процедура идентификации заключается в сличении признаков исследуемого объекта с характеристиками показателей, приведенных в определительной Таблице 7 для икры лососевой зернистой.

Идентификацию икры лососевой зернистой по органолептическим признакам (внешний вид, консистенция, вкус и запах) проводят в соответствии с ГОСТ 7631–2008 [21].

Проба на варку осуществляется путем погружения икры в горячую воду с температурой около 60 °C и выдерживания в течение 2–3 минут. У натуральной икры наблюдается образование белого налета на поверхности, помутнение воды вследствие денатурации белка.

Результаты идентификации проб образцов сопоставляют с характеристиками показателей, приведенных в Таблице 7, и оформляют протоколы в установленном порядке.

На основании метрологической экспертизы утверждена в установленном порядке ФР.1.31.2022.44107. МИ 005–2022 «Методика измерений массовой доли белка в зернистой икре лососевых рыб методом Кьельдаля и использование этих значений для идентификации заявленных свойств».

Таблица 7. Характеристика показателей, их определений и значений для идентификации икры лососевой зернистой

Table 7. Characteristics of indicators, their definitions and values for identification of grained salmonid roe

Наименование показателя	Характеристика показателя и его значение
Внешний вид	Икра одного вида рыб. Икринки чистые, целые, однородные по цвету, без сгустков крови и пленок. Допускаются икринки неоднородного цвета; незначительное количество оболочек икринок-лопанца и отстоя.
Консистенция	Икринки упругие, с влажной поверхностью, отделяющиеся одна от другой. Допускаются слабые икринки, вязкость икры в пределах сохранения зернистой структуры.
Вкус и запах	Свойственные данному виду продукта, без посторонних привкуса и запаха. Допускается слабый привкус горечи для икры нерки (красной) и кижуча.
Проба на варку	Денатурация белка на поверхности икринок с образованием белого налета на поверхности.
Массовая доля белка, %, не менее	27,0
Наличие посторонних примесей	Не допускается

4. Заключение

Разработаны методические подходы к идентификации икры лососевых рыб, которые основаны на количественном определении белка в образце и на сличении признаков исследуемого объекта с характеристиками показателей для икры лососевой зернистой по органолептическим признакам. К ним относятся внешний вид, консистенция, вкус и запах, проба на варку и массовая доля белка.

Научно обоснованы метрологические показатели методики измерений массовой доли белка в зернистой икре лососевых рыб методом Кьельдаля. Получено свидетельство об аттестации методики (метода) измерений № 241.0085/RA.RU.311866/2022 от 15.08.2022 г.

На основании метрологической экспертизы утверждена в установленном порядке ФР.1.31.2022.44107. МИ 005–2022 «Методика измерений массовой доли белка в зернистой икре лососевых рыб методом Кьельдаля и использование этих значений для идентификации заявленных свойств».

Результаты измерений содержания белка в исследуемых объектах, полученные по методу Кьельдаля, показали достаточно высокую воспроизводимость и правильность методики. Предложенный подход аналитического контроля образцов по разработанной методике позволяет оценить образец, дать заключение о его подлинности и дальнейшем использовании.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Чугунова, Е. О. (2019). Оценка качества и микробиологической безопасности икры рыб семейства лососевых. *Пермский аграрный вестник*, 3(27), 139–145.
- Кундина, Л. Ю. (2020). Идентификация и выявление фальсификации икорных товаров на региональном продовольственном рынке. *Вестник СамГУПС*, 1(47), 9–18.
- Калужная, Т. В., Орлова, Д. А., Родак, Г. Н. (2021). Ветеринарно-санитарная экспертиза икорных продуктов. *Вопросы нормативно-правового регулирования в ветеринарии*, 2, 135–136. <https://doi.org/10.17238/issn2072-6023.2021.2.133>
- Федеральный закон от 1 марта 2020 г. № 47-ФЗ «О внесении изменений в Федеральный закон «О качестве и безопасности пищевых продуктов» и статью 37 Федерального закона «Об образовании в Российской Федерации». Электронный ресурс: http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_346666/ Дата доступа 18.09.2022
- 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 13.09.2022 г.
- Sicuro, B. (2019). The future of caviar production on the light of social changes: A new dawn for caviar? *Reviews in Aquaculture*, 11(1), 204–216. <https://doi.org/10.1111/raq.12235>
- Vilgis, T. A. (2020). The physics of the mouthfeel of caviar and other fish roe. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 19, Article 100192. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2019.100192>
- Калужная, Т. В., Орлова, Д. А., Родак, Г. Н. (2021). Идентификация икры лососевых пород рыб с помощью полимеразной цепной реакции с наблюдением в реальном времени. *Международный вестник ветеринарии*, 4, 88–92. <https://doi.org/10.52419/issn2072-2419.2021.4.88>
- Pappalardo, A. M., Petraccioli, A., Capriglione, T., Ferrito, V. (2019). From fish eggs to fish name: Caviar species discrimination by Coibar-RFLP, an efficient molecular approach to detect fraud in the caviar trade. *Molecules*, 24(13), Article 2468. <https://doi.org/10.3390/molecules24132468>

10. Ma, S., Li, L. H., Hao, S. X., Yang, X. Q., Huang, H., Cen, J. W. et al. (2020). Fatty-acid profiles and fingerprints of seven types of fish roes as determined by chemometric methods. *Journal of Oleo Science*, 69(10), 1199–1208. <https://doi.org/10.5650/jos.ess20061>
11. Vasconi, M., Tirloni, E., Stella, S., Coppola, C., Lopez, A., Bellagamba, F. et al. (2020). Comparison of chemical composition and safety issues in fish roe products: Application of chemometrics to chemical data. *Foods*, 9(5), Article foods9040540. <https://doi.org/10.3390/foods9050540>
12. Nędzarek, A., Formicki, K., Kowalska-Górska, M., Dobrzański, Z. (2022). Concentration and risk of contamination with trace elements in acipenserid and salmonid roe. *Journal of Food Composition and Analysis*, 110, Article 104525. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104525>
13. Farag, M. A., Abib, B., Tawfik, S., Shafik, N., Khattab, A. R. (2021). Caviar and fish roe substitutes: Current status of their nutritive value, biochemical diversity, authenticity and quality control methods with future perspectives. *Trends in Food Science and Technology*, 110, 405–417. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.015>
14. Tavakoli, S., Luo, Y., Regenstein, J. M., Daneshvar, E., Bhatnagar, A., Tan, Y. et al. (2021). Sturgeon, caviar, and caviar substitutes: From production, gastronomy, nutrition, and quality change to trade and commercial mimicry. *Reviews in Fisheries Science and Aquaculture*, 29(4), 753–768. <https://doi.org/10.1080/23308249.2021.1873244>
15. Fiorino, G. M., Garino, C., Arlorio, M., Logrieco, A. F., Losito, I., Monaci, L. (2018). Overview on untargeted methods to combat food frauds: A focus on fishery products. *Journal of Food Quality*, 2018, Article 1581746. <https://doi.org/10.1155/2018/1581746>
16. 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.
17. ФР.1.31.2020.38483. МИ 002–2020 «Методика измерений массовой доли белка методом Кьельдаля», М. — 2020. — 11 с.
18. 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>
19. РМГ 61–2010 «Государственная система обеспечения единства измерений. Показатели точности, правильности, прецизионности методики количественного химического анализа. Методы оценки». — М.: Стандартинформ, 2012. — 59 с.
20. РМГ 76–2014 «Государственная система обеспечения единства измерений. Внутренний контроль качества результатов количественного химического анализа». — Москва: Стандартинформ, 2016. — 111 с.
21. ГОСТ 7631–2008 «Рыба, нерыбные объекты и продукция из них. Методы определения органолептических и физических показателей». — М.: Стандартинформ, 2011. — 11 с.

REFERENCES

1. Chugunova, E. O. (2019). Quality and microbiological safety assessment of salmon caviar. *Perm Agrarian Journal*, 3(27), 139–145. (In Russian)
2. Kundina, L. Yu. (2020). Identification and detection of falsification of caviar products in the regional food market. *Vestnik SamGUPS*, 1(47), 9–18. (In Russian)
3. Kalyuzhnaya, T. V., Orlova, D. A., Rodak, G. N. (2021). Veterinary and sanitary expertise of caviar products. *Issues of Regulatory Regulation in Veterinary Medicine*, 2, 133–136. <https://doi.org/10.17238/issn2072-6023.2021.2.133> (In Russian)
4. The law of the Russian Federation of Marche 01, 2020 No 47-FZ “On Amendments to the Federal Law “On the Quality and Safety of Food Products” and Article 37 of the Federal Law “On Education in the Russian Federation”. Retrieved from http://www.consultant.ru/document/cons_doc_LAW_346666/ Retrieved from September 18, 2022. (In Russian)
5. 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 September 13, 2022. (In Russian)
6. Sicuro, B. (2019). The future of caviar production on the light of social changes: A new dawn for caviar? *Reviews in Aquaculture*, 11(1), 204–216. <https://doi.org/10.1111/raq.12235>
7. Vilgis, T. A. (2020). The physics of the mouthfeel of caviar and other fish roe. *International Journal of Gastronomy and Food Science*, 19, Article 100192. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2019.100192>
8. Kalyuzhnaya, T. V., Orlova, D. A., Rodak, G. N. (2021). Identification of salmon caviar using PCR-RV. *International Bulletin of Veterinary Medicine*, 4, 88–92. <https://doi.org/10.52419/issn2072-2419.2021.4.88> (In Russian)
9. Pappalardo, A. M., Petraccioli, A., Capriglione, T., Ferrito, V. (2019). From fish eggs to fish name: Caviar species discrimination by Coibar-RFLP, an efficient molecular approach to detect fraud in the caviar trade. *Molecules*, 24(13), Article 2468. <https://doi.org/10.3390/molecules24132468>
10. Ma, S., Li, L. H., Hao, S. X., Yang, X. Q., Huang, H., Cen, J. W. et al. (2020). Fatty-acid profiles and fingerprints of seven types of fish roes as determined by chemometric methods. *Journal of Oleo Science*, 69(10), 1199–1208. <https://doi.org/10.5650/jos.ess20061>
11. Vasconi, M., Tirloni, E., Stella, S., Coppola, C., Lopez, A., Bellagamba, F. et al. (2020). Comparison of chemical composition and safety issues in fish roe products: Application of chemometrics to chemical data. *Foods*, 9(5), Article foods9040540. <https://doi.org/10.3390/foods9050540>
12. Nędzarek, A., Formicki, K., Kowalska-Górska, M., Dobrzański, Z. (2022). Concentration and risk of contamination with trace elements in acipenserid and salmonid roe. *Journal of Food Composition and Analysis*, 110, Article 104525. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2022.104525>
13. Farag, M. A., Abib, B., Tawfik, S., Shafik, N., Khattab, A. R. (2021). Caviar and fish roe substitutes: Current status of their nutritive value, biochemical diversity, authenticity and quality control methods with future perspectives. *Trends in Food Science and Technology*, 110, 405–417. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.02.015>
14. Tavakoli, S., Luo, Y., Regenstein, J.M., Daneshvar, E., Bhatnagar, A., Tan, Y. et al. (2021). Sturgeon, caviar, and caviar substitutes: From production, gastronomy, nutrition, and quality change to trade and commercial mimicry. *Reviews in Fisheries Science and Aquaculture*, 29(4), 753–768. <https://doi.org/10.1080/23308249.2021.1873244>
15. Fiorino, G. M., Garino, C., Arlorio, M., Logrieco, A.F., Losito, I., Monaci, L. (2018). Overview on untargeted methods to combat food frauds: A focus on fishery products. *Journal of Food Quality*, 2018, Article 1581746. <https://doi.org/10.1155/2018/1581746>
16. Vafina, L. H., Bakshtanskij, 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)
17. ФР.1.31.2020.38483. МИ 002–2020 «Method of measuring the mass fraction of protein by the Kjeldahl method», Moscow. — 2020. — 11 p.
18. 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> (In Russian)
19. РМГ 61–2010 «The state system of ensuring the uniformity of measurements. Indicators of accuracy, correctness, precision of quantitative chemical analysis techniques. Evaluation methods». — Moscow: Standartinform, 2012. — 59 p.
20. РМГ 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)
21. ГОСТ 7631–2008 «Fish, non fish objects and products from them. Methods of sensory and physical characteristics identification». — Moscow: Standartinform, 2011. — 11 p.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p>Абрамова Любовь Сергеевна — доктор технических наук, профессор, заместитель директора департамента по вопросам качества пищевой рыбной продукции, Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии 105187, Москва, Окружной проезд, 19 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 19, Okruzhnoy proezd, 105187, Moscow, Russia Tel.: +7-915-064-77-04 E-mail: abramova@vniro.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8278-2760</p>
<p>Козин Андрей Валерьевич — кандидат химических наук, старший научный сотрудник, Отдел Качества пищевой рыбной продукции, Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии 105187, Москва, Окружной проезд, 19 Тел.: +7-916-102-93-87 E-mail: quality@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 19, Okruzhnoy proezd, 105187, Moscow, Russia Tel.: +7-916-102-93-87 E-mail: quality@vniro.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8507-3548 * corresponding author</p>
<p>Гусева Елена Сергеевна — специалист, Отдел Качества пищевой рыбной продукции, Всероссийский научно-исследовательский институт рыбного хозяйства и океанографии 105187, Москва, Окружной проезд, 19 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 19, Okruzhnoy proezd, 105187, Moscow, Russia Tel.: +7-917-505-92-06 E-mail: quality@vniro.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1377-1838</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/10.21323/2618-9771-2022-5-4-327-336>



Received 07.10.2022

Accepted in revised 03.11.2022

Accepted for publication 10.11. 2022

© Paul B., 2022

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

Original scientific article

Open access

URBAN AGRICULTURAL ACTIVITIES, A FOOD SYSTEM RESILIENCE STRATEGY DURING COVID-19 IN HAITI

Bénédique Paul^{1,2}

¹ CHIBAS, Quisqueya University, Port-au-Prince, Haiti

² UMR ART-Dev', Montpellier University, Montpellier, France

KEY WORDS:

*urban agriculture,
food system resilience,
COVID-19, lockdown, Haiti*

ABSTRACT

The COVID-19 crisis is impacting the reconfiguration of food systems at different scales. In poor countries where food insecurity had already been a major problem, the urban population under the lockdown often had to cope alone with shortages of food and access to it. In the poorest country in the Americas, the urban population adapted the food system by intensifying the practice of urban agricultural activities. In this exploratory research, using a sample including urban dwellers that were engaged in urban agriculture and those who were not, we investigated the following question: Did urban agriculture linked to COVID-19 represent an appropriate and innovative strategy for the urban food system resilience? Our results confirm that the Haitian urban population used urban agriculture as an innovative and appropriate food resilience strategy. They produced varieties chosen for their very rapid production character and were able to cope successfully with the crisis, and also have lessons to share with other actors and countries.

ACKNOWLEDGMENTS: The author would like to thank Claudel Mombeuil and Ludovic Temple for helpful remarks on the first draft of this article.

Поступила 07.10.2022

Поступила после рецензирования 03.11.2022

Принята в печать 10.11.2022

© Поль Б., 2022

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

Научная статья

Open access

ГОРОДСКАЯ СЕЛЬСКОХОЗЯЙСТВЕННАЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТЬ – СТРАТЕГИЯ ЖИЗНЕСПОСОБНОСТИ ПИЩЕВОЙ СИСТЕМЫ ВО ВРЕМЯ COVID-19 В ГАИТИ

Поль, Б.^{1,2}

¹ Университет Кискейя, Порт-о-Пренс, Гаити

² Университет Монпелье, Монпелье, Франция

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

*городское сельское хозяйство,
жизнеспособность пищевой
системы, COVID-19, локдаун,
Гаити*

АННОТАЦИЯ

Вызванный COVID-19 кризис оказывает влияние на реконфигурацию пищевых систем различного масштаба. В бедных странах, где отсутствие продовольственной безопасности уже являлось большой проблемой, городское население в условиях локдауна часто должно было само справляться с нехваткой продовольствия и доступа к нему. В беднейшей стране Северной и Южной Америки, городское население адаптировало пищевую систему путем интенсификации практики городской сельскохозяйственной деятельности. В данном поисковом исследовании с использованием выборки, включающей городских жителей, которые осуществляли эту деятельность, и тех, которые ее не осуществляли, мы изучали следующий вопрос: является ли городское сельское хозяйство, связанное с COVID-19, пригодной и инновационной стратегией для жизнеспособности городской пищевой системы? Наши результаты подтверждают, что городское население Гаити, использовало городское сельское хозяйство как инновационную и пригодную стратегию жизнеспособности пищевой системы. Они выращивали культуры, выбранные из-за их высокой продуктивности, и были способны успешно справляться с кризисом, а также извлекли уроки, которыми они могут поделиться с другими субъектами и странами.

БЛАГОДАРНОСТИ: Автор хотел бы выразить благодарность Claudel Mombeuil и Ludovic Temple за полезные замечания по первой редакции данной статьи.

1. Introduction

Agricultural activities in urban areas are attracting greater attention in poor countries. In many poor countries, agriculture remains a rural activity. This is particularly the case in countries where urbanization is growing fast. But with rural migration to cities, it should not be surprising to find even limited agricultural activities in urban or suburban areas where there are new

urban settlements. While urban agriculture plays an important role in addressing food security issues in different geographical contexts [1,2,3], it has not received much attention as either a political or major research issue.

In 2020, COVID-19 came as a particular shock that not only created loss of members in many families but also, through the lockdown and mobility restrictions, implied a shortage in na-

FOR CITATION: Paul, B. (2022). Urban agricultural activities, a food system resilience strategy during COVID-19 in Haiti. *Food Systems*, 5(4), 327-336. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-327-336>

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Поль, Б. (2022). Городская сельскохозяйственная деятельность – стратегия жизнеспособности пищевой системы во время covid-19 в Гаити. *Пищевые системы*, 5(4), 327-336. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-327-336>

tional economies and local food systems [4]. In Low & Middle Income Countries (LMIC), the majority of the rural and urban poor population relies on these local food systems to feed themselves [4]. They are reputed to buy mainly on open-air and informal wet markets. With the government COVID-19 related restrictions, the purchasing power of the poor decreased and many of those markets were forced to close. The poor had to depend on more distant and possibly more expensive supermarkets. These impacts of COVID-19 on local food systems and the poor still receive very little formal analysis, although they were recently observed by Christophe Béné from the Consultative Group on International Agricultural Research (CGIAR). His literature review shows works on the macro or national level on food system resilience in times of crisis. He focused on “local food system resilience” and recommended specific strategies that actors can be engaged in to strengthen their actual resilience [4].

At another level in terms of “global health”, the resilience of the food system is also an element of the population’s resilience to COVID-19. Indeed, the impact of the pandemic is much greater for malnourished populations. To our knowledge, no field research has been undertaken to analyze such strategies at a micro-level of the actors, as a response to the COVID-19 shock, apart from [5] for the case of France. The present exploratory research intends to contribute to fill this gap, particularly for the south country, by analyzing a particular strategy implemented by the urban population in Haiti, during this crisis. Actors’ strategies are important alternatives when the government is unable to address living issues. For example, taking into account that COVID-19 and its economic fallout were spreading in the poorest parts of the world, Laborde et al. [6] anticipated the increased number of poor and food-insecure people and estimated in a scenario analysis that globally, in the absence of interventions, over 140 million people could fall into extreme poverty in 2020 – a 20% increase from the levels of the beginning of 2020.

In Haiti, America’s economically poorest country, the situation is compelling. The food security system is characterized by chronic food insecurity that becomes endemic and is regularly exacerbated mostly by political crises and natural disasters. Those disruptions lead to limited rural agricultural production to feed the whole population. The urban population mostly relies on imported food. It should be noted that import increases as long as cities are growing, and the prospects are difficult [7,8]. When in March 2020, the formal markets were protected from COVID-19 by the related restrictions, urban people in Haiti had to face more severely the disruption of the local food systems caused by COVID-19 because of their poverty. In this context, people living in peri-urban areas were literally disconnected from the food market.

In this particularly vulnerable food system, shocks and crises often have sound effects [9]. From the mid of 2018 to the end of 2019, Haiti faced a continued political crisis. Just after a two-month break, at the beginning of 2020, it had to face a severe and unprecedented shortage. On March 19, the government announced a complete lockdown after the first two reported COVID-19 cases. In the context of poverty, urban people are more exposed to food shortages resulting from the obstruction of the flow of both rural and international products to the urban areas [10]. Both rural and urban Haitian population faced more severe food insecurity due to a continuous increase in the food basket price [11] following the recent political crisis and the COVID-19 pandemic. The aforesaid implies that, the COVID-19 in particular offers the opportunity to examine how urban and peri-urban people faced the necessity to innovate by practicing agricultural activities for food and medication as an important research objective. Then, it also offers us an exceptional opportunity to study the following research question: Did urban agricultural

activities represent an appropriate strategy for a food resilience system? This research question is worth studying as the poorest urban households across the globe spend between 60 and 80% of their income on food [12]. In Haiti, where we realized this exploratory research, the COVID-19 crisis raised food prices for at least 4% in April [11] and more than 10% as of August 2020, when the government released the COVID-19 restrictions. In the continuation of the literature on the innovation process in the food system [13], we made the following hypothesis: urban agriculture is an appropriate strategy to cope with shortages in food systems in poor countries.

To study the above question and test our hypothesis, we collected primary data in Haitian cities, while respecting social distancing rules, and analyzed them in light of the analytical framework offered by the food system resilience approach. In the following sections, we briefly review the literature on the food system and food system resilience, and then we present the Haitian context, before developing the methodology that guides to the discussed results.

2. Background literature

2.1. Food system resilience approach

In this paper, we have applied the “food system resilience approach”. This approach was adapted and used in relation with various methodological propositions and different situations [14,15,16,17]. In this framework, a food system is defined as the network of activities connecting people to their food [16]. Authors like J.-L. Rastoin and G. Gherzi [18], define a food system in a more systemic and functional view: A food system is an interdependent network of actors (enterprises, financial institutions, public and private agencies) located in a defined geographical area (region, state, multinational region), who participate directly or indirectly in the creation of goods and services which are oriented to the satisfaction of the food needs for one or several consumer groups in or outside the area [18]. A food system includes both demand and supply sides of the food value chain. For Goodman [19], the food system operates within and is influenced by the social, political, economic and environmental context. And, in our view, it is also regulated and shaped by institutional factors of this context. The food system approach is broader than the value chain approach, because it concerns the set of means, institutions, practices and actors, through which every society organizes its food supply [20].

Many international agencies (United Nations, for instance) and other organizations have embraced the food systems as an appropriate target for their interventions in developing countries. In fact, according to J.-L. Rastoin’s view, a food system can be a territorialized system [21].

The concept of resilience is used to address challenges like rapid population growth, crisis, among other changing factors. Resilience, broadly defined, is the capacity to absorb, adapt, and transform in response to a disruption [22], but also **it is** an active process of the structural change in the food system [23]. Several fields, such as psychology, engineering, ecology, socio-economics use the concept. In food security, the concept of resilience is strategic.

According to [17], food system resilience is the “capacity overtime of a food system and its units at multiple levels, to provide sufficient, appropriate and accessible food to all, in the face of various and even unforeseen disturbances”. For [14], a resilient food system provides a reliable source of nutritious, safe, accessible food despite disturbances. We also consider a food system needs to be appropriate in its capacity to cope with particular food chain disruption.

Coping strategies are important for food system resilience. In countries where actors of the food systems are not working in

a regulated and stable socioeconomic context, disturbances may be frequent. These disturbances can be generated by other actors. They may also have natural or climatic causes. Poor populations which rely on the food system on a day-by-day basis are particularly vulnerable to the disturbance.

In 2020, the largest disturbance of food security was caused by the effects of the COVID-19 sanitary crisis. As pointed out by [24], this crisis had systemic effects on the food value chain. As the food systems are under increasing pressure to produce sufficient food for the population, particularly in the time of crises, the food system resilience approach is a useful analytical framework to study the urban agricultural response to the COVID-19 food crisis in the world's poorest economies. In poor countries, where food security is chronically an issue, food system resilience is even a more useful approach. Cities in those countries often rely on food aids to face disruption in times of crisis. But, COVID-19 broke the international and local food systems. And there were places for alternative food system initiatives [25].

2.2. Food system resilience innovation in time of crisis

Although it is a nascent field, food system resilience is considered as a useful strategy in urban areas, particularly for urban planners [26]. It has been used in developed countries to analyze the adaptation capacity of food systems to different crisis. In cities like Baltimore, a food-insecure community already exists, according to the collaborative research [26]. Cities in poor countries like Haiti appeared to be less food-insecure than rural areas, according to official observations [11], partly because they could rely on both local and international food supply. But global crisis like COVID-19 created an obligation for them to innovate or perish. Planning was not possible at all, and innovation needed to be adaptive and/or alternative. Here, the approach proposed by Lallau [27] appears to be useful to analyze the adaptability of vulnerable food systems to crisis.

Indeed, research conducted in Africa [27] and in Europe [28,29] determined the main characteristics for effective food system resilience. These were: energy and nutrient sovereignty, transparency and dialogue in the food chain, continuous innovativeness and evidence-based learning, proximities of stakeholders in the short chain.... Himanen et al. [29] propose a codesign approach that supposes a possibility of anticipation and, at the same time, clearly sheds light on innovations in the existing food system.

Recently published work from the France experience under COVID-19 showed that food system shortage created an opportunity for adaptation of local food systems. Darrot et al. [5] found that innovation niches were used by individual and collective adaptive strategies including change in food consumption behaviors. Based on their online survey study, they concluded with the following question: will this change be sustainable? In our study on the Haitian context, we help provide a first step answer to this question, through a similar methodology research, with specific questions to this issue.

The population in poor cities like Haitian ones was literally forced to innovate food supply during the lockdown. Innovations had to be individual or family-based, since there was no urban proximity like in France. We analyzed Haitian urban agriculture experiences, considering this new phenomenon as an innovation for food security. In the continuation of C. Béné's [4] arguments, acknowledging that the COVID-19 outbreak created a severe shortage of food systems, particularly in poor and developing countries, we collected data at a micro-level to test the following hypothesis: The urban agricultural activity observed in Haiti during the COVID-19 related lockdown was used as household innovation to counter food insecurity.

2.2.1. Food systems strategy

Urban agriculture is defined by Charvet and Laureau [30] as agricultural activities implemented in both urban and peri-urban areas. It is also considered as a strategy of community led food self-sufficiency and food system resilience [31]. It mobilizes different kinds of mediums to grow plants, including rooftops. Urban agriculture is sometimes associated with urban food system management. In countries where agricultural production is locally important as rural activity, developing urban agriculture is an alternative strategy for urban food system resilience. This strategy may be particularly appropriate in times of food system shortages.

In developing countries, where food security is an issue, urban agriculture appears as a strategy for food system resilience. Food system resilience is defined by Tendall et al. [17] as the "capacity over time of a food system and its units at multiple levels, to provide sufficient, appropriate and accessible food to all, in the face of various and even unforeseen disturbances". This well-known definition clearly indicates that resilience in a food system relates to the capacity to provide food security over time and despite disturbances. When a food system faces transportation issues, local production and territorial food system organization appear as adaptive strategies to reduce food insecurity. It may be the same for countries relying mainly on importation of food. For instance, in times of crisis like under the COVID-19 lockdown, food importation was reduced, which severely affected such countries. In such a situation, urban agriculture is mobilized as a food security strategy for urban households.

Martin-Moreau and Menascé [32] divided the different urban agriculture models into two families: outdoor, which is open-air urban agriculture, and indoor or agriculture in a controlled environment. The latter draws on aeroponic, hydroponic and aquaponic techniques. It actually implies high cost, which makes it difficult for developing economies to access. Outdoor urban agriculture is more accessible, using roofs, containers and yards.

Urban agriculture may have limited impacts on food systems when they are functioning normally and under market rules. It offers adapted alternatives to cities in times of crisis or in search of more eco-friendly agriculture with regard to both natural resources and consumer health. Martin-Moreau and Menascé [32] state for instance that "the ambition for urban agriculture is not so much to feed the world as to feed cities in a different way".

3. The Haitian food system and the urban agriculture

In many cities, urban agriculture is a growing phenomenon. It is not necessarily the case in poor countries like Haiti. Urban agriculture, as studied here, is both an answer to food insecurity and the whole agricultural decline.

De Bon et al. [33] summarized controversial debates on the role of urban agriculture in food systems. The authors cite a challenging paper in which Ellis and Sumberg [34] provided a number of reasons why scarce public resources should not target urban agriculture, because of the high cost of land in urban areas and the pollution it can attract and generate. Nevertheless, more and more data are becoming available to demonstrate the unique advantages of urban agriculture that advocate for well-targeted public support. De Bon et al [33] argue that urban agriculture is a source of food for urban dwellers particularly in terms of self-consumption. This might be more important in the context of poverty and in times of crisis.

In contrast to Ellis and Sumberg [34], authors like Hurriot [35], in application of the von Thünen model, suppose that the most profitable and intensive land use by unit area, and commodities with high value relative to transport costs are found

near the city center. There is research measuring land productivity [36] that supports the idea that *jaden lakou* types of urban agriculture practices may be more profitable than extensive farm production.

3.1. A chronically vulnerable food systems

Haiti faces the incapacity to feed the population through either production or importation. After the structural adjustment policies in the 1980s and 1990s, the Haitian agriculture was left to poor peasants to feed a rapidly growing population (with a 1.25% growth rate, as of 2019). Since the economy could not grow, in a context of institutional weakness, political instability and frequent natural disasters, the agricultural sector continuously declined from 16.58% of the GDP, as of 2020.

As this rural occupation became less and less interesting, a migration phenomenon took place. Migrants moved to cities and other regions (mostly to the Caribbean, Latin and North America). As a result, with lower local production, and with a poor capacity to import high quality food, the national food systems are really vulnerable. Additionally, in cities, with more and more dwellers (the urban population growth rate was 2.89% in 2019), waste management represents both an issue and an opportunity for agricultural activities.

In this context, people rely on remittances for food consumption, on a regular basis of an average of 150\$ per month, per household [37,38]. Cities are growing with more extensive slums while reducing the agricultural areas. Tertiary and informal activities — mostly informal commerce [39] — become the main part of the economy. To feed themselves, the people have adapted their consumption to imported ultra-processed and inexpensive food. The food systems became even worse in terms of their quality. Regularly, the National Coordination of Food Security (NCFS) rings the food insecurity bells.

3.2. Recent issues in the Haitian food systems

In recent years, more and more Haitians are becoming food insecure (4.4 million from a total of 12 million Haitians) according to NCFS. At the same time, the Haitian already weak food systems were often broken by socio-political unrest, violence, among the more important shocks. From July 2018 to 2020, the country never experienced a six month of rest. Many violent armed groups were operating on the main roads on which products were shipped. When in March 2020, the first COVID-19 case was reported, the government had no choice but to lock down the country. This suddenly break was also a food system lockdown. In this particularly difficult context, rural population was at least more prepared to continue living, even with no access to appropriate medical services.

In urban and peri-urban areas, people were prisoned without sufficient access to food. The government, which had been facing socio-political unrest for four years, was unable to design any appropriate food resilience strategy. Urban and peri-urban population could have count on remittances from family abroad. However, many migrants lost their jobs and could not send remittance to Haiti. The families who were able to receive remittances could not access market freely to buy foods. Locally, many people also lost their job. In this context, urban and peri-urban households had to develop adaptive individual strategies to cope with both the sanitary and nutritional needs. Urban agriculture was an opportunity for many people who had or not previous experience in that type of the agricultural production form.

In fact, Haiti has a tradition of “*jaden lakou*”, a type of household agriculture in the same piece of land where people live. This type of agriculture has been historically common in rural areas. *Jaden lakou* is documented for its economic and environmental

performance [40], on a circular economy basis. In Haitian cities, land prices are high, peri-urban areas are often slums, and there are limited possibilities to develop *jaden lakou*. But, whenever possible, some urban households try to grow medicinal and other plants or livestock, generally for their personal consumption. These practices were reinforced, and maybe created a new step for Haitian agricultural transformation, due to the shock caused by the COVID-19 related lockdown.

4. Materials and methods

In this exploratory research, we studied the experiences in urban agriculture (gardening or breeding, during the COVID-19 lockdown period). After some qualitative analysis, we conducted a formal analysis, using econometric estimation. We collected data from different categories in the most representative cities in Haiti.

4.1. The data

The data analyzed in this research are first hand fieldwork ones. We used the most appropriate tool to get information during lockdown. We developed an online questionnaire in the Google form, for the survey, while respecting social distance. The questionnaire was distributed through different networks in order to touch different socioeconomic profiles. Most Haitians, from all profiles, are connected in Facebook. We used this social network, through an account of more than 4,600 connections, to invite participants to take the survey. We also used professional networks such as LinkedIn, Haitian universities platform and mailing lists, Unions and other professionals Whatsapp groups, including agronomists. The survey took place from July 3 to August 31, 2020 (the official ending period of COVID-19 lockdown in Haiti). It consisted of 30 questions, both closed and open. The questionnaire was previously tested among faculty members and other agronomists, before the survey. In order to maximize and diversify participation, we made a weekly recall to take the survey, during the data collection period, through social media and group emails. Although the invitation to take the survey was public and largely diffused, only people living in Haitian cities could participate. The survey was anonymous and participants were able to see basic summary statistics after submission.

The collected data were downloaded from Google sheet and processed with Excel, before analysis through SPSS, after appropriate transformation of the variables. Data contained information on the urban agricultural experience and participants' characteristics. Their willingness to continue urban agricultural activities was also surveyed, as well as the precedent contact with agriculture. More specifically, the questionnaire started to ask the respondents whether they had or not urban agricultural experience during the lockdown. If the answer to this question was “yes”, the rest of the questionnaire was focused on more detailed information (type of production and justification, its estimate value, its use and satisfaction, the container type, etc.) about the experience. The last part of the questionnaire was focused on respondents' socioeconomic characteristics (education, age, gender, income, family charge, and city).

A total of 208 respondents participated in the survey, but 203 questionnaires were consistent. The last ones were from more than 25 different cities, including all the metropolitan cities of Haiti. Two groups of participants answered the questionnaire: one group of 122 (60.1%) persons living in an urban setting who were engaged in urban agricultural activities during the lockdown, and another group of 81 (39.9%) respondents who were not engaged in these activities during the lockdown period. The presence of these two groups of responses allowed building a probability-based econometric model.

4.2. The models

The main model we used to analyze and compare different characteristics between urban agriculture experiencers and other participants assumes that each participant finally had two alternatives: carry out urban agricultural activities during the COVID-19 lockdown period, or not.

We considered that a participant i (where $i=1, 2...I$) earned a utility for doing urban agricultural activities. This utility was not necessarily observable as it was a latent variable. However, it determined the choice for carrying out urban agricultural activities or not. We assumed that a participant i carried out the urban agricultural activities only if his/her utility for doing so was superior to a threshold δ , whereas he/she did not carry out these activities if his/her utility was inferior or equal to this threshold. The Utility function U_i^* can be explained by a deterministic part which was a vector X_i of observable characteristics and an error term (ε_i). For the participant i , this utility function can be written as follow:

$$U_i^* = \alpha + \beta X_i + \varepsilon_i \tag{1}$$

The error term was supposed to be independent and identically distributed, as follow: $\varepsilon_i \sim N(0,1)$. The rule of decision, for each participant i , was to make the choice that maximized its utility function. To study the personal characteristics of the participants that explained their choice to carry out urban agricultural activities or not, we first defined a binary variable y_i that measured their choice, as follows:

$$y_i = \begin{cases} 1, & \text{if } U_i^* > \delta \\ & \text{(the participant } i \text{ carried out urban agricultural activities)} \\ 0, & \text{if } U_i^* \leq \delta \\ & \text{(the participant } i \text{ did not carry out urban agricultural activities)} \end{cases}$$

Although the utility of carrying out the urban agricultural activities was not observable, this was not the case for the choice of a participant. We can observe the choice of the participant to carry out the urban agricultural activities. This choice, measured by y_i , as defined below, cannot be estimated by a linear model since this endogenous variable can have only two values: 0 or 1. The variable Y_i took the value 1, if the participant carried out urban agricultural activities during the COVID-19 lockdown, and 0 if he/she did not. In this case, the endogenous variable of the model was dichotomous. The linear multiple regression standard models can be written as:

$$Y_i = \alpha + \beta X_i + \varepsilon_i \tag{2}$$

Estimating this binary model implies to be certain that the predictions will fall into the interval (0, 1). And, as the number of observations (203) was sufficiently high, we confidently assumed that the data were distributed normally after appropriate logarithm transformation which allowed us to opt for a Probit model. The form of the equation to be estimated is then:

$$P(Y_{ij} = 1) = F(m + \beta X_{ij}) \tag{3}$$

In this relation, F is a cumulative density function given by

$$F(m + \beta X_{ij}) = \int_{-\infty}^{(m + \beta X_{ij})} \frac{1}{\sqrt{2\pi}} e^{-z^2} dz \tag{4}$$

The parameters m and β of the model were estimated using methods for numerical maximization of the logarithm of the likelihood function, which is written as follows:

$$\ln(L, Y, \beta) = \sum_{i=1}^I [Y_i \ln [F(m + \beta X_{ij})]] + (1 - Y_i) \ln [1 - F(m + \beta X_{ij})] \tag{5}$$

The vector of explanatory variables includes characteristics related to respondents' profiles. It also includes variables related to their socioeconomic conditions.

Respondents' profile included the following demographic and socioeconomic characteristics: age, gender, education, personal and family agricultural background or experience, and education in the agricultural field, family charge, and monthly

income. The environmental variables were selected in order to test our hypothesis, which is: the urban agricultural activity observed in Haiti was used as household innovation to counter food insecurity. The main variable in this category was the participant's access to an existing container where to practice urban agriculture. In Haitian cities, access to a dedicated place for urban agriculture is not constant. Most of the time, urban agricultural containers were taken from the recycling process of imported food containers. Table 1 describes the exogenous variables.

Table 1. Description of the Variables

Variable name	Variable description	Expected sign
Lockdown UrbAgExperience	Urban agricultural activities of the respondent during the COVID-19 lockdown, 1 if yes, 0 if not	Dependent variable
Gender	Gender of the respondent, 1 if masculine, 0 if not	+ / -
Age	Logarithm of age	+/-
HeadHousehold	Status of the respondent in the household, where 1 denotes a head of the household, 0 if not	+
UrbAgExperience	Precedent urban agricultural experience of the respondent, 1 if yes, 0 if not	+
FamAgExperience	Family background in agriculture, 1 if yes, 0 if not	+
PersoAgExperience	Personal background in agriculture, 1 if yes, 0 if not	+
AgEducation	Respondent's education in agriculture, 1 if university level, 0 if not	+
FamilyCharge	Log of the number of dependents who count on the respondent for food and other expenses	+
Income	Log of respondent's monthly income (evaluated in US dollars)	-
Container	Existence of a container near or in the house where the respondent was living during the lockdown	+
ContainerAccess	Respondent's access to the existing container near or in the house	+

Source: The author

We also analyzed the auto-evaluated financial value of a product of urban agricultural activities. This variable averaged 554.5 US dollars (with a high standard deviation of 1,493). Most of the continuous variables such as age, income, urban production and family charge, were not normally distributed. However, their transformation into the logarithm resolved this distribution issue.

5. Results and discussion

First of all, we answer the following basic question: who were the participants in the survey? Our surveyed sample was represented, as an average, by a man earning a monthly income of 1,280 US dollars, head of the household, aged 40, and having at least 3 dependents who count on him for food. Participants in the survey mostly lived in large cities, and mostly the Metropolitan area (Figure 1), lodging in a house or apartment with access to a yard. They mostly had university education in different fields, but very seldom in agriculture. Most of them were men, although the women represented 34% of the sample.

Data collected from the survey shows that in the mid of 2020, under COVID-19 lockdown, from 203 respondents, 60% were engaged in urban agriculture. Among the latter, 47% declared they practiced urban agriculture because of the lockdown, although among those respondents who related their experience to the lockdown, 69% reported that it was not their first experience in urban agriculture.

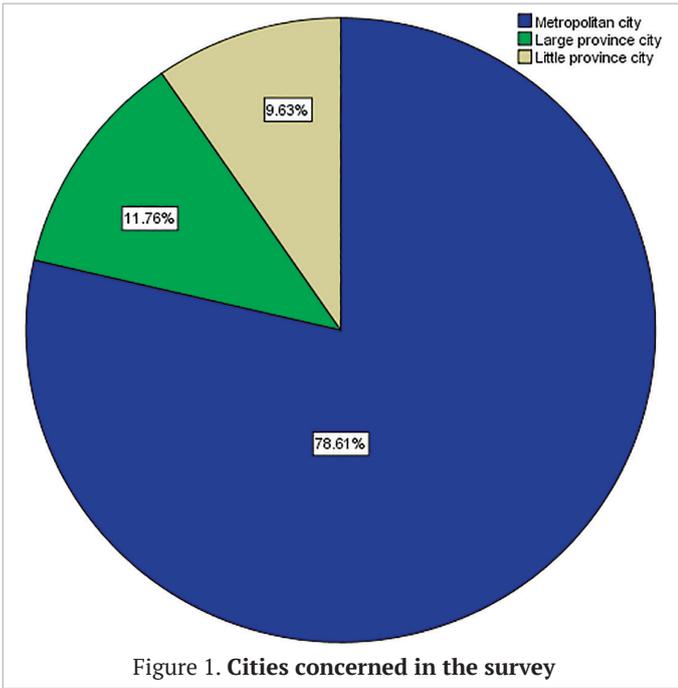


Figure 1. Cities concerned in the survey

In the group of the participants who practiced urban agriculture for the first time (31%), all persons were satisfied with their experience. Some 86% of these new urban agriculture experiencers did that because of the lockdown, particularly for medicine, food, time killing, and money. Fifty seven percent of them did not even have this in mind before the lockdown. These people mostly lived in the Metropolitan area of Port-au-Prince and cannot practice *jaden lakou*. On the contrary, they grew plants in yards or containers (placed in yards or roofs). Although they faced land access, they took advantage of the way rooftops are built (horizontally) in Port-au-Prince. This contrasts with urban agriculture experiencers in province cities who could access *jaden lakou* or yard.

5.1. Variables description

The following Table 2 contains average or frequency (and standard deviation) for the variables used in the estimated model.

Table 2. Variables' statistics

Variables	Experiencers	Non-Experiencers
Gender	0.647 (0.479)	0.687 (0.466)
Age	42.08 (11.64)	37.58 (11.18)
Education	0.975 (0.155)	1.000 (0.000)
HeadHousehold	0.737 (0.441)	0.605 (0.491)
UrbAgExperience	0.884 (0.321)	0.543 (0.501)
FamAgExperience	0.614 (0.488)	0.543 (0.501)
PersoAgExperience	0.721 (0.450)	0.716 (0.453)
AgEducation	0.368 (0.484)	0.358 (0.482)
FamilyCharge	3.689 (2.666)	3.086 (2.186)
Income	1253 (1357)	1310 (1896)
ContainerExistence	0.934 (0.248)	0.963 (0.190)
ContainerAccess	0.815 (0.389)	0.617 (0.489)
UrbanAgProduct	554.5 (1493)	0
N	122	81

As preliminary observations, the analysis from the 122 experiencers shows that 107 (88.43%) had previous experience in urban agriculture. This means that the experiences were a kind of innovative strategy only for the remaining 11.57%. In fact, before this special need for urban agricultural products, most

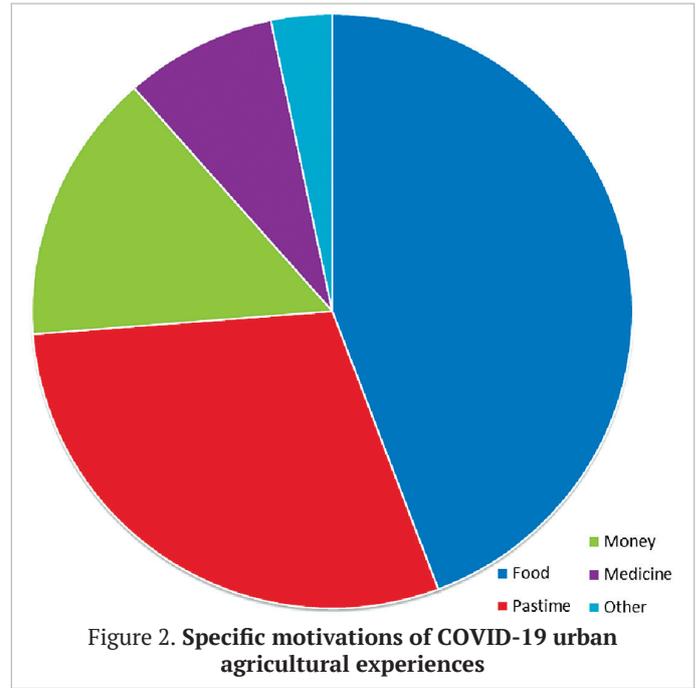


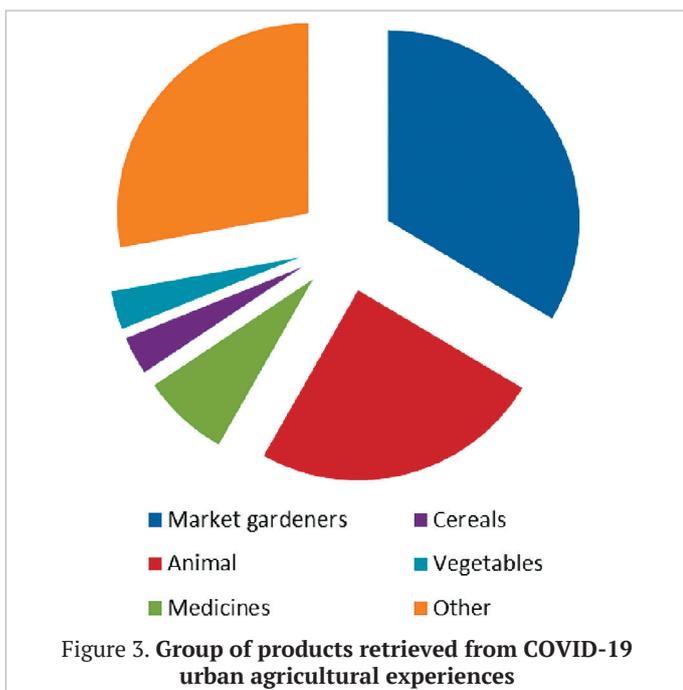
Figure 2. Specific motivations of COVID-19 urban agricultural experiences

of experiencers had been growing plants for leisure purposes. But COVID-19 brought two new reasons: medicine and food. Although the rate of new experiencers appears pretty low, it indicates a promising step, considering the fairly high willingness to continue (50% for the first-time experiencers and 75.36% for all the experiencers). However, one of the most important results is that 39 (31.97%) participants declared that they did urban agricultural activities because of the lockdown following the COVID-19. Most of the 115 (94.26%) participants lived in large cities (Metropolitan or Department capitals) and already had in mind a project to do urban agricultural activities. In this case, the COVID-19 lockdown might have had some positive effects on urban people's activities and behaviors.

Food production accounted for an important share (44.26%) of urban agricultural activities. This result brings a first part of confirmation to our research hypothesis. The other purposes were time-killing, money, medicines, and others (including education and research), as shown in Figure 2.

As a food resilience strategy, urban agricultural experiencers produced specific agricultural products, including 1) market garden crops, 2) meats and eggs, 3) medicinal plants, etc. Figure 3 shows details about the urban agricultural production under the COVID-19 lockdown in Haiti. The reason for those choices was mainly the rapid growth and short production cycle (55%) as a food shortage was sudden and severe.

Participants who did urban agriculture activities explained their satisfaction by 1) the socioeconomic output, 2) health benefits, 3) environmental or social advantage, and 4) education and recreation. A respondent who talked about socioeconomic benefits of his experience said: "I get healthy products while reducing expenses and being occupied", when another stated: "the experience allowed me to take care of my family". In fact, during the lockdown, the urban population looked to find the home activity and food, as two basic needs. As a health benefit, a respondent to the survey stated: "I got healthy products and had the opportunity to take care of myself at home". In Haiti, access to health services has always been an issue. This was reinforced during the lockdown, and vaccines were not available. A respondent who considered environmental benefits said: "the experience helped me transform the kitchen wastes into high quality products", while another explained: "the experience provided me with a sense of autonomy, and an opportunity to socialize with my



neighborhood”. The respondents who considered recreation and education affirmed: “it was an opportunity to do a handy-craft activity at home, reducing stress and letting the children learn”. Stress was an issue not only for adults, because all the schools were closed and access to online education was limited, parents were busy finding alternative occupations for their children.

As for the statement that urban agriculture helps value little space, a respondent declared: “this experience made me learn how possible it was to produce the needed food with limited pieces of land”. Those using containers as support in their experience were also happy to grow vegetables or medicinal plants.

Experiencers who lived in metropolitan areas or large province cities either used containers (flowerpots) or their courtyard. In contrast, those living in little province cities or peri-urban areas where access to a piece of land was possible used *jaden lakou* as support for the urban agriculture activities. Both of the categories were able to value waste while producing organic food, such as market garden crops and animals, as shown in Figure 3.

Market garden crops, including tomato, cabbage, beans, etc., were the most important varieties produced. This is consistent with the previous observation done by [33] according to the fact that cultivation of short-cycle leafy vegetables was most common in tropical urban agriculture.

The experiencers who used containers mostly focused on medicinal plants such as Wormwood (*Artemisia*), Aloe vera, Citronella, Melissa, Mint, Ginger, etc. Few of them grew tomatoes, pepper, black pepper. Those who had a courtyard grew maize, beans, cherry, banana, and poultry. Finally, those who could access a *jaden lakou* produced cabbage, maize, beans, banana, poultry and rabbits. The last had the opportunity both to value waste and practice integrated agriculture.

The respondents who did not practice urban agriculture were not necessarily constrained in terms of access to the courtyard. Many of them declared having access to a space where they could practice urban agriculture. According to Table 2, they had more or less the same profile as experiencers.

Additional statistical comparison between experiencers and non-experiencers shows no significant difference in terms of income. In fact, experiencers with or without enough income suddenly turned to be in a similar situation regarding the food system shortage during the lockdown. In terms of strategies, two

differences could be noticed: those who had access to remittance from the family or relatives living abroad could smooth their food consumption under the condition that they had a provider in their neighborhood; and the others who could not enjoy this kind of financial solidarity, were obliged to reduce their food consumption. In both cases, access to a medium for agricultural production was an opportunistic strategy. In reality, remittances were reduced during the lockdown, because COVID-19 affected migrants’ sources of income as well.

Urban people engaged in agriculture, as we modeled the phenomenon, made their choice based on both observable and unobservable determinants. When we run the econometric analysis to test the significant determinants, the model estimates showed both expected and unexpected results regarding people’s experience in urban agriculture (Table 3).

Table 3. The model estimates

Binary Probit estimates for the experience (across groups) as the dependent variable		
Variables	Coefficient	p-value and significance
Intercept	-3.27867	0.0648*
Gender	-0.303544	0.3224
Log of Age	0.843950	0.0999*
HeadHousehold	0.349719	0.2779
UrbAgExperience	1.22040	<0.0001***
FamAgExperience	0.482808	0.0489**
PersoAgExperience	-0.347237	0.2420
AgEducation	0.176937	0.4835
Log of FamilyCharge	-0.145784	0.4643
Log of Income	0.0451824	0.6609
ContainerExistence	-1.10289	0.1178
ContainerAccess	0.404740	0.1131
N	160	
Log-likelihood	-85.79772	
McFadden R-squared	0.200121	

Significance threshold: * significant at 10%, ** significant at 5%, and *** significant at 1%.

First, we have analyzed the quality of the estimated model. According to the test for normality of residuals, we have found, after appropriate transformation in the model, that the statistical test for the null hypothesis (the error is normally distributed) is as follows: Chi-square = 5.14695, with p-value = 0.0762702. The McFadden R-squared equals 0.200, the Akaike criterion equals 195.5954, and Schwarz criterion equals 232.497. With these results, the model is suitable enough since prediction returned is 119 cases, in other words 74.4%.

As shown in Table 3, the respondent’s education level was not a discriminant characteristic. Most of the respondents had a university level. Likewise, the respondent’s gender and the variables such as *existence of a container near the house* and *access to this container* did not play a significant role in the probability of carrying out or not carrying out urban agricultural activities. In fact, people living near an appropriate container for urban agriculture did not necessarily have access to it. And some people who did not carry out the urban agricultural activities had access to containers.

Instead, urban agricultural antecedent, urban agricultural experience, and age were significant explanatory factors for the probability of carrying out urban agricultural activities. Also, the estimated coefficient for these factors has the expected sign. This result is consistent with Davies and Garrett [41] who argued that the next generation of urban producers would not necessarily have grown up on a farm.

Curiously, *agricultural education, income, and family charge* were not significant determinants. In fact, in Haiti, few agriculture graduates were involved directly in agricultural production. On the contrary, the respondent's income and family charge are in contradiction with our expectations, both for significance and sign. One of the explanations for this observation can be found in the low sample size and the high dispersion of the data for these variables (see Table 2).

As additional in-depth analysis, we estimated a second model where the dependent variable was the willingness to continue the experience after the COVID-19 lockdown. With the same method (binary Probit), we found that it correlated significantly with agricultural education (positively), income level (negatively), and access to a container (positively). This is consistent with the assumed sustainability of this innovative strategy to create food system resilience in urban areas. But, a deeper analysis of the urban agricultural production shows correlation (according to OLS estimates) with a city size (Metropolitan or Department capital =1 / other =0). In fact, food systems function differently in cities with different sizes. And, for experiencers, the average (554\$) urban agricultural production represented 44% of their monthly income (1253\$), which confirms the first hypothesis since this monthly income level is not enough to feed daily the households with 3 to 4 members. As such household generated food helps smooth consumption, these results are consistent with the previous research that showed evidence for households resilience in the context of food security crisis [4,42].

This study contributes to filling the gap noticed in the recent literature [4] on food system resilience by providing field evidence from a micro-level study. Using the exceptional context created by the COVID-19 lockdown and related food shortage, we analyzed urban actors' strategies to face the food crisis. While the government tried to use cash transfer to people during the lockdown, our results show urban people were able to create rapid and appropriate home-made production through urban agriculture with higher value (an average of 554.5\$, which is more than a monthly wage in many cities) than the 3,000 gourdes (less than 30 dollars) transferred by the government program. In Haiti, urban agriculture is an innovation, since it is a new agricultural activity for many urban people with a significant economic value. Its adoption was forced by COVID-19, according to our survey.

In response to a question raised by Darrot et al. [5] in their French experience, our results announce a sustainable impact on local or urban food system resilience, since three out of every four urban Haitians who carried out urban agricultural activities declared that they were willing to continue this practice. They might need a governance of this new part of the food system, while the latter became less critical after the lockdown and the reopening of the traditional food supply. However, this innovative strategy can be governed as a pillar of the cities' food system resilience, particularly because they are used to facing regular crises. This is consistent with Charvet and Laureau [30], who consider that urban agriculture is intimately linked to the choice of food governance in metropolitan areas.

The result also supports the claim for introducing urban agriculture into agricultural studies, both technical and scientific. Actually, from more than twenty agricultural faculties in the country, a very limited number has been teaching urban agriculture in their curriculum.

Urban agricultural experiencers did not only produce food. They also tried to face income disruption because economic activities were impossible. And overall, one of the aspects of resilience during the lockdown was a possibility of caring for the urban households. We observed that more than 8% of the experiencers were motivated by the necessity to have natural

medicines, while around 30% were motivated by pastime which was also psychologically important in time of lockdown. Natural medicine specialists, both Haitian [43] and foreign researchers [44] acknowledge the importance of natural medicine. And urban agriculture was that innovative strategy, for which our study demonstrates usefulness with regard to food system resilience, not only in the case of Haiti, but for other developing countries, where the food system is vulnerable.

In the case of Haiti, the government could have a great interest in the spread of urban agriculture as an innovative strategy developed by the actors to face the crisis. If COVID-19 is an exceptional crisis, political and natural crises are common in Haiti as in many other developing countries. Haiti faced unofficial lockdown in 2019 due to a political crisis. More regularly, natural disasters such as hurricanes create disruption in food distribution in different cities. Urban agriculture could be supported both as a strategy to reduce food insecurity in times of crisis, and an urban transforming strategy.

In some other countries, urban agriculture is a kind of government-supported program. In LMIC, urban agriculture appears as an appropriate strategy to create food system resilience, as suggested by Béné [4]. In this connection, the implication of this exploratory research goes beyond the COVID-19 response to shed light on actors' level research streams in the field of food system resilience analysis and intervention.

6. Conclusion

In this exploratory research, we surveyed different urban cities in the poorest country of Americas (Haiti) during the exceptional period of the COVID-19 lockdown. The collected information (203 responses) allowed comparative analysis of the urban agricultural strategy developed by households living in different cities of Haiti. The results provide evidence that people living in cities in Haiti developed appropriate and innovative strategies to cope with a food shortage during the COVID-19 related lockdown. By doing urban agricultural activities, particularly those that produced food and medication in the very short run, urban households in Haiti were able to face "the monster" as noticed by Rouzier et al. [43]. Although the government faced a budget deficit and therefore was unable to help the population, people living in different cities across Haiti showed interesting resilience.

Urban participants who were engaged in urban agriculture, for the first time or not, were highly satisfied. They were also more likely to feed themselves during the lockdown, using appropriate crops to produce food. As good news, they were also willing to continue urban agriculture after the crisis. This result brings an answer to Darrot et al. [5] who questioned the sustainability of COVID-19 new food behaviors, albeit they are rooted in different contexts. Although public health analysts argue that such urban agriculture experiences also created health resilience in the face of COVID-19 [44], a new issue to be addressed is the possible sanitary limits of urban agriculture in relation to the supports, on which it is practiced. This is particularly the case in peri-urban slum areas where sanitary conditions are very bad in developing countries. This raises concerns about how authorities will manage such a food system resilience strategy to keep it alive and safe for consumption.

The results of this exploratory research provide important insights for researchers, urban policy-makers, and food system strategists. For researchers, there is a need to deepen the subject by enlarging the sample and try to track the evolution of the urban agriculture phenomenon across different regions, particularly in the urban areas of the world's poorest economies. There is also a place for research on natural medicines in poor countries where access to pharmaceuticals is limited, even in times of sanitary crisis. For food system resilience strategists, the results

provide interesting insights on innovative strategies that can be prioritized when the public sector is weak and participation of the civil society, professionals, and population is crucial. For instance, urban agriculture is an important innovative strategy to help create food system resilience in cities, particularly in a time of acute crisis such as the case of the COVID-19 lockdown. For urban policy-makers and urban planners, urban agriculture appears not only a food system resilience strategy but also an innovative strategy for greening cities, improving quality of life, time saving and urban community cohesion. In our exploratory works, people were particularly satisfied because of making plants grow, producing high quality foods, etc. One of the appropriate public interventions can be to support the observed innovative strategies and behaviors. For that, as argued by Aubert et al. [45] in the case of Mayotte, adapted institutions are needed

to support urban agriculture in the Haitian context where agricultural lands are being used for construction. Public sector has interest in urban agricultural practices which use composting [46,47] in order to help manage waste.

As an exploratory research, our work suffers some limitations. Some of them are related to the context of the study implementation. In fact, the survey was conducted during the lockdown, and therefore was administered online. The sample size is limited, although it is geographically well distributed in more than 25 Haitian cities. Haiti is a small country with a high poverty rate; research from it limits the likelihood for reasonable generalization. However, the discussed food system resilience strategy can be tested again in other countries. Also, our results can be useful to inform policies in poor countries, particularly when they are regularly facing food crises.

REFERENCES/ БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Moustier, P. (2017). Short urban food chains in developing countries: Signs of the past or of the future? *Natures Sciences Societes*, 25(1), 7–20. <https://doi.org/10.1051/nss/2017018>
- Perrin, C., Soulard, C. -T. (2017). Introduction. agriculture in the urban food system: Continuities and innovations. [Introduction. L'agriculture dans le système alimentaire urbain: Continuités et innovations], *Natures Sciences Societes*, 25(1), 3–6. <https://doi.org/10.1051/nss/2017012>
- Zeza, A., Tasciotti, L. (2010). Urban agriculture, poverty, and food security: Empirical evidence from a sample of developing countries. *Food Policy*, 35(4), 265–273. <https://doi.org/10.1016/j.foodpol.2010.04.007>
- Béné, C. (2020). Resilience of local food systems and links to food security – A review of some important concepts in the context of COVID-19 and other shocks, *Food Security*, 12(4), 805–822. <https://doi.org/10.1007/s12571-020-01076-1>
- Darrot, C., Chiffolleau, Y., Bodiguel, L., Akermann, G., Maréchal, G. (2020). Local food systems in face of the Covid-19: Feedback from France. *Systèmes alimentaires*, 5, 9–110. <https://doi.org/10.15122/isbn.978-2-406-11062-0.p.0089> (In French)
- Laborde, D., Martin, W., Vos, R. (2020). Poverty and food insecurity could grow dramatically as COVID-19 spreads. Retrieved from <https://www.ifpri.org/blog/poverty-and-food-insecurity-could-grow-dramatically-covid-19-spreads> Accessed August 10, 2022.
- Roy, P.-M., Bodson, P., Montas, R., Paul, B., Lalime, T. (2018). Prospects for the development of the metropolitan area of Port-au-Prince, Horizon 2030. Chapter V. Retrieved from file:///C:/Users/User/Downloads/Ha%C3%AFti%20-%20Rapport%20final%20-%20Metropolisation%20de%20Port-au-Prince.pdf. Accessed August 15, 2022. (In French)
- Van Vliet, G., Pressoir, G., Marzin, J., Giordano, T. (2016). An exhaustive and strategic study of the Haitian agricultural / rural sector and the public investments required for its development. Final version – June 29, 2016. Convention CO0075–15 BID/IDB. Montpellier: CIRAD, 2016. (In French)
- Janin, P. (2019). The challenges of food supply: actors, places, and links. *Revue Internationale des Etudes du Développement*, 237(1), 7–34. <https://doi.org/10.3917/ried.237.0007>
- CNSA. (2020). Rapid Assessment of COVID-19 Impact on Food Security, Livelihoods and Agricultural Production (SAMEPA-2020), Final Report. Retrieved from <https://www.cnsahaiti.org/enquetes-etudes/> Accessed August 25, 2022. (In French)
- CNSA. (2020). Food basket and food safety conditions. Retrieved from <http://www.cnsahaiti.org/panier-alimentaire-et-condition-de-securite-alimentaire-janv-2018-pdf/> Accessed August 25, 2022. (In French)
- Reardon, T., Bereuter, D., Glickman, D. (2016). Growing food for growing cities: Transforming food systems in an urbanizing world. Chicago Council on Global Affairs, USA, 2016.
- Touzard, J.M., Temple, L. (2012). Food security and innovations in agriculture and agri-food: Towards a new research agenda? *Cahiers Agricultures*, 21(5), 293–301. <https://doi.org/10.1684/agr.2012.0577> (In French)
- Candy, S., Biggs, C., Larsen, K., Turner, G. (2015). Modelling food system resilience: a scenario-based simulation modelling approach to explore future shocks and adaptations in the Australian food system. *Journal of Environmental Studies and Sciences*, 5(4), 712–731. <https://doi.org/10.1007/s13412-015-0538-5>
- Falot, A., Bousquet, F., Dury, S. (2019). Resilience paradoxes regarding food security. *Revue Internationale des Etudes du Développement*, 239(3), 57–87. <https://doi.org/10.3917/ried.239.0057>
- Schipanski, M. E., MacDonald, G. K., Rosenzweig, S., Chappell, M. J., Bennett, E. M., Kerr, R. B. et al. (2016). Realizing resilient food systems. *BioScience*, 66(7), 600–610. <https://doi.org/10.1093/biosci/biw052>
- Tendall, D. M., Joerin, J., Kopainsky, B., Edwards, P., Shreck, A., Le, Q. B. et al. (2015). Food system resilience: Defining the concept. *Global Food Security*, 6, 17–23. <https://doi.org/10.1016/j.gfs.2015.08.001>
- Rastoin, J.-L., Ghersi, G. (2010). The world food system: concepts and methods, analyses and dynamics. Editions Quae, 2010. <https://doi.org/10.3917/quae.rasto.2010.01> (In French)
- Goodman, D. (1997). World-scale processes and agro-food systems: Critique and research needs. *Review of International Political Economy*, 4(4), 663–687. <https://doi.org/10.1080/09672299708565787>
- Colonna, P., Fournier, S., Touzard, J.-M., Abécassis, J., Broutin, C., Chabrol, D. et al. (2013). Food systems. Chapter in a book: Food system sustainability insights From duALine. Cambridge University Press, USA, 2013. <https://doi.org/10.1017/CBO9781139567688.006>
- Rastoin, J.-L. (2016). Territorialized food systems: challenges and development strategy. *Journal Resolis*, 7, 12–18. (In French)
- Béné, C., Headey, D., Haddad, L., von Grebmer, K. (2016). Is resilience a useful concept in the context of food security and nutrition programmes? Some conceptual and practical considerations. *Food Security*, 8(1), 123–138. <https://doi.org/10.1007/s12571-015-0526-x>
- Bousquet, F., Botta, A., Alinovi, L., Barreteau, O., Bossio, D., Brown, K. et al. (2016). Resilience and development: mobilizing for transformation. *Ecology and Society*, 21(3), Article 40. <https://doi.org/10.5751/ES-08754-210340>
- Rastoin, J.-L. (2020). Editorial. Health crises, resilience and refoundation of food systems *Systèmes alimentaires*, 5, 17–31. <https://doi.org/10.15122/isbn.978-2-406-11062-0.p.0017> (In French)
- Sabio, R. P., Lehoux, P. (2019). How can alternative food systems contribute to the sustainable development goals? *Systèmes alimentaires*, 4, 209–218. <https://doi.org/10.15122/isbn.978-2-406-09829-4.p.0209>
- Biehle, E., Buzogany, S., Baja, K., Neff, R. A. (2018). Planning for a resilient urban food system: A case study from Baltimore City, Maryland. *Journal of Agriculture, Food Systems, and Community Development*, 8(B), 39–53. <https://doi.org/10.5304/jafscd.2018.08B.008>
- Lallau, B. (2008). African farmers between vulnerability and resilience: For a capabilities approach to risk management. *Revue Française de Socio-Economie*, 1(1), 177–198. <https://doi.org/10.3917/rfse.001.0177>
- Chiffolleau, Y., Brit, A.-C., Monnier, M., Akermann, G., Lenormand, M., Saucède, F. (2020). Coexistence of supply chains in a city's food supply: a factor for resilience? *Review of Agricultural, Food and Environmental Studies*, 101, 391–414. <https://doi.org/10.1007/s41130-020-00120-0>
- Himanen, S.J., Rikkinen, P., Kahiluoto, H. (2016). Codesigning a resilient food system. *Ecology and Society*, 21(4), Article 41. <https://doi.org/10.5751/ES-08878-210441>
- Charvet, J.-P., Laureau, X. (2018). Revolution of urban agriculture, from utopias to realities: towards agri-urban metropolises? Editions France Agricole, 2018. (In French)
- Rosan, C. D. (2020). Making Urban Agriculture an Intentional, Equitable City Redevelopment Strategy. *Frontiers in Sustainable*, 4, Article 74. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2020.00074>
- Martin-Moreau, M., Ménascé, D. (2019). The plurality of urban agriculture models. *Field Actions Science Report*, 2019 (Special Issue 20), 58–59.
- De Bon, H., Parrot, L., Moustier, P. (2010). Sustainable urban agriculture in developing countries. A review. *Agronomy for Sustainable Development*, 30(1), 21–32. <https://doi.org/10.1051/agro:2008062>
- Ellis, F., Sumburg, J. (1998). Food production, urban areas and policy responses. *World Development*, 26(2), 213–225. [https://doi.org/10.1016/S0305-750X\(97\)10042-0](https://doi.org/10.1016/S0305-750X(97)10042-0)
- Huriot, J.-M. (1994). Von Thünen economy and space. Editions Economica, 1995. (In French)
- Cogliastro, A., Rvest, D., Olivier, A. (2012). Productivity and environmental benefits of agroforestry intercropping: state of knowledge in Quebec. CRAAQ – Field Crops Scientific Information Days, 28–29. Retrieved from <https://www.agrireseau.net/documents/83995/productivite-et-benefic>

- es-environnementaux-des-cultures-intercalaires-agroforestieres-etat-des-connaissances-au-quebec?r=Productivit%C3%A9+et+b%C3%A9n%C3%A9fices+environnementaux+des+cultures+intercalaires+agroforesti%C3%A8res+%3A+%C3%A9tat+des+connaissances+au+Qu%C3%A9bec&a=1. Accessed August 25, 2022. (In French)
37. Jadotte, E. (2009). International migration, remittances and labour supply: The case of the Republic of Haiti, WIDER Research Paper, No. 2009/28. The United Nations University World Institute for Development Economics Research (UNU-WIDER), Helsinki, 2009.
38. Orozco, M. (2006). Understanding the remittance economy in Haiti. World Bank Washington, DC, 2006.
39. Paul, B., Daméus, A., Garrabe, M. (2011). The process of tertiarization of the Haitian economy. *Études Caribéennes*, 6. <https://doi.org/10.4000/etudescaribeennes.4757> (In French)
40. Jean-Denis, S., Jean-Pierre, D., Mutel, M., Duchaufour, H., Langlais, C., Fernandes, P. et al. (2014). Changes in the structure of agroforestry systems according to family life cycles: the example of home gardens in Haiti. *Bois et Forêts des Tropiques*, 321(3), 7–20. <https://doi.org/10.19182/bft2014.321.a31213> (In French)
41. Davies, F. T., Garrett, B. (2018). Technology for sustainable urban food ecosystems in the developing world: Strengthening the nexus of food–water–energy–nutrition. *Frontiers in Sustainable*, 2, Article 84. <https://doi.org/10.3389/fsufs.2018.00084>
42. Béné, C., Oosterveer, P., Lamotte, L., Brouwer, I. D., de Haan, S., Prager, S. D. et al. (2019). When food systems meet sustainability – Current narratives and implications for actions. *World Development*, 113, 116–130. <https://doi.org/10.1016/j.worlddev.2018.08.011>
43. Rouzier, V., Liautaud, B., Deschamps, M. M. (2020). Facing the monster in Haiti. *New England Journal of Medicine*, 383(1), E4(1)-E4(2). <https://doi.org/10.1056/NEJMc2021362>
44. Blanc, J., Louis, E. F., Joseph, J., Castor, C., Jean-Louis, G. (2020). What the world could learn from the Haitian resilience while managing COVID-19. *Psychological Trauma: Theory, Research, Practice, and Policy*, 12(6), 569–571. <https://doi.org/10.1037/tra0000903>
45. Aubert, M., Debrune, O., Huat, J., Parrot, L. (2019). The institutional environment: Key support for formal market gardeners in Mayotte. *Systèmes alimentaires*, 4, 185–206. <https://doi.org/10.15122/isbn.978-2-406-09829-4.p.0185>
46. Parrot, L., Sotamenou, J., Dia, B. K. (2009). Municipal solid waste management in Africa: Strategies and livelihoods in Yaoundé, Cameroon. *Waste management*, 29(2), 986–995. <https://doi.org/10.1016/j.wasman.2008.05.005>
47. Parrot, L., Sotamenou, J., Kamgnia, B. D., Nantchouang, A. (2009). Determinants of domestic waste input use in urban agriculture lowland systems in Africa: The case of Yaounde in Cameroon. *Habitat International*, 33(4), 357–364. <https://doi.org/10.1016/j.habitatint.2008.08.002>

AUTHOR INFORMATION	СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ
Affiliation	Принадлежность к организации
Bénédictique Paul , Full time professor, Faculty of Agricultural and Environmental Sciences (FSAE) and Researcher at CHIBAS lab, Head of the Department of Agrosocioeconomics, Quisqueya University, Port-au-Prince, Haiti 218, avenue Jean-Paul II (Haut de Turgeau), HT6113, Port-au-Prince, Haiti Tel.: +509–2–940–45–76 E-mail: benedique.paul@uniq.edu.ht ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0419-2129	Поль Бенедикт — Штатный профессор, Факультет сельскохозяйственных и экологических наук, научный сотрудник лаборатории ТИБА, заведующий кафедрой агросоциэкономии, Университет Кискейя, Порт-о-Пренс, Гаити 218, HT6113, Гаити, Порт-о-Пренс, авеню Иоанна Павла II (верхняя часть Тюрго), 218 Тел.: +509–2–940–45–76 E-mail: benedique.paul@uniq.edu.ht ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0419-2129
Contribution	Критерии авторства
Completely prepared the manuscript and is responsible for plagiarism.	Автор самостоятельно подготовил рукопись и несет ответственность за плагиат.
Conflict of interest	Конфликт интересов
The author declares no conflict of interest.	Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов.

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-337-343>

Поступила 05.10.2022

Поступила после рецензирования 09.11.2022

Принята в печать 14.11.2022

© Донская Г. А., Креккер Л. Г., 2022

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

Научная статья

Open access

ВЛИЯНИЕ ОКИСЛИТЕЛЬНО-ВОССТАНОВИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ НА АНТИОКСИДАНТНУЮ АКТИВНОСТЬ БИОМАССЫ СИМБИОТИЧЕСКОЙ ЗАКВАСКИ

Донская Г. А., Креккер Л. Г.*

Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

глутатион, глицин, симбиоз микроорганизмов, антиоксидантная активность, модифицированная питательная среда, окислительно-восстановительные процессы

АННОТАЦИЯ

Биологическая система антиоксидантной защиты микроорганизмов является субъектом определенного уровня физиологического окислительного процесса. Для предотвращения окисления в клетках накапливается регулятор внутриклеточного метаболизма — трипептид глутатион, имеющий большое значение для осуществления антиоксидантного ответа и поддержания внутриклеточного редокс-потенциала. Его роль в ряде метаболических адаптационных процессов симбиозов микроорганизмов дрожжей и молочнокислых бактерий остается не до конца выясненной и представляет научный и практический интерес. Компонентом полипептидной цепи и веществ, формирующих первичную структуру глутатиона, является глицин. Цель данного исследования — определение влияния окислительно-восстановительных процессов на антиоксидантную активность через регулирование уровня глутатионсоставляющего компонента глицина в питательной среде для получения биомассы микроорганизмов многокомпонентной закваски. В результате проведенных исследований определена прямая зависимость между антиоксидантной активностью, рассчитанной кулонометрическим методом, и концентрацией вводимого в питательную среду глицина. Установлено, что введение глицина 0,2–0,8% приводит к понижению окислительно-восстановительного потенциала. Результаты, отраженные в данной публикации, показали, что процесс развития аэробных микроорганизмов в присутствии редуцирующих веществ идет достаточно активно. Количество дрожжей увеличивается от $1,6 \cdot 10^4$ до $3,6 \cdot 10^5$ КОЕ/г в процессе 24-часового культивирования. Увеличение от 0,5 до 0,8% глицина усиливает образование как анаэробных, так и аэробных микроорганизмов. Установлено, что увеличение концентрации глицина от 0,8% до 1,5% смещает процесс в сторону окислительного метаболизма, количество восстановленного глутатиона в культуральной жидкости возрастает практически в два раза, при этом содержание окисленного глутатиона в опытной пробе находится в интервале от 0 до 5%. Это позволяет рассматривать глутатион как потенциальный регулятор окислительно-восстановительных процессов и антиоксидантной активности биомассы молочнокислых бактерий и дрожжей.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию № FNSS-2022-0004 Всероссийского научно-исследовательского института молочной промышленности.

Received 05.10.2022

Accepted in revised 09.11.2022

Accepted for publication 14.11.2022

© Donskaya G. A., Krekker L. G., 2022

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

Original scientific article

Open access

INFLUENCE OF REDOX PROCESSES ON THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF THE SYMBIOTIC STARTER BIOMASS

Galina A. Donskaya, Lyudmila G. Krekker*

All-Russian Research Institute of Dairy Industry, Moscow, Russia

KEY WORDS:

glutathione, glycine, symbiosis of microorganisms, antioxidant activity, modified nutrient medium, redox processes

ABSTRACT

The biological system of the microbial antioxidant protection is a subject of a certain level of the physiological oxidative process. To prevent oxidation, a regulator of intracellular metabolism, tripeptide glutathione, is accumulated in cells. Glutathione is very important for the antioxidant response and maintenance of intracellular redox potential. Its role in several metabolic adaptive symbiotic processes of yeasts and lactic acid bacteria is not completely elucidated and is of scientific and practical interest. Glycine is a component of the polypeptide chain and substances that form the primary structure of glutathione. The aim of this study was to determine an effect of the redox processes on the antioxidant activity through regulation of the level of the glutathione constituent, glycine, in a nutrient medium to obtain the microbial biomass of the multicomponent starter culture. As a result of the performed investigations, a direct dependence between the antioxidant activity calculated by the coulometric method and concentration of glycine introduced into the nutrient medium was determined. It has been established that addition of 0.2–0.8% of glycine leads to a decrease in the redox potential. The results reflected in this publication show that the process of the development of aerobic microorganisms in the presence of reducing substances occurs quite actively. The number of yeasts increased from $1.6 \cdot 10^4$ to $3.6 \cdot 10^5$ CFU/g during 24-hour incubation. An increase in glycine from 0.5 to 0.8% enhanced the development of both anaerobic and aerobic

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Донская, Г. А., Креккер, Л. Г. (2022). Влияние окислительно-восстановительных процессов на антиоксидантную активность биомассы симбиотической закваски. *Пищевые системы*, 5(4), 337-343. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-337-343>

FOR CITATION: Donskaya, G. A., Krekker, L. G. (2022). Influence of redox processes on the antioxidant activity of the symbiotic starter biomass. *Food Systems*, 5(4), 337-343. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-337-343>

microorganisms. It has been found that an increase in the glycine concentration from 0.8% to 1.5% shifted the process toward the oxidative metabolism; an amount of reduced glutathione in the culture liquid increased practically twofold, while the concentration of oxidized glutathione in the test sample was in a range of 0 to 5%. This allows regarding glutathione as a potential regulator of the redox processes and antioxidant activity of biomass of lactic acid bacteria and yeasts.

FUNDING: The article was published as part of the research topic No. FNSS-2022-0004 of the state assignment of the All-Russian Research Institute of Dairy Industry.

1. Введение

Антиоксидантная активность микроорганизмов зависит от определенных условий внешней среды, к которым относятся: состав, активная кислотность, окислительно-восстановительный потенциал, аэрирование, температура и т. д. [1–6]. Реакции окисления-восстановления являются центральными в обмене веществ [5]. По мнению Л. И. Работновой [3] и др. [1–2], они являются одними из важных факторов, влияющих на биохимическую активность микроорганизмов. Изменяя окислительно-восстановительный потенциал путем аэрации или введением в среду веществ с восстановительными или окислительными свойствами, можно регулировать микробиологические процессы и метаболизм бактерий [2–7].

Согласно аналитическим данным, существуют границы индекса окислительно-восстановительного потенциала rH_2 (ОВП), отражающего суммарное кислородно-водородное равновесие. ОВП характеризует также степени аэробности среды, в пределах которых развиваются бактерии: анаэробы — от 0 до 13; аэробы — от 7 до 23 [3]. Чем меньше rH_2 , тем больше восстановительная способность раствора. В насыщенной кислородом модифицированной среде с окислительными свойствами ОВП = 41. При доминировании восстановительных свойств среды и насыщении водородом rH_2 близок к нулю [3].

Следующим важным фактором, регулирующим развитие и обмен веществ микроорганизмов, считается активная кислотность, изменения rH_2 и pH среды приводят к значительным сдвигам в соотношении продуктов брожения при культивировании бактериальных концентратов [5–6].

Культивирование аэробных и анаэробных микроорганизмов происходит в условиях неизбежного соприкосновения среды с воздухом. Если при этом в питательной среде есть восстановители, то наличие кислорода не мешает культивированию анаэробов. Но при наличии окислителей, являющихся акцепторами водорода, в ней можно культивировать аэробы без доступа воздуха. Таким образом, исследование окислительно-восстановительных систем в модифицированных средах является фактором, обуславливающим возможность развития симбиоза аэробных и анаэробных микроорганизмов, а также изменения метаболизма в направлении синтеза антиоксидантов.

Во всех аэробных микроорганизмах при определенных условиях происходят окислительно-восстановительные процессы [1,7]. Образующиеся промежуточные продукты, такие как супероксид, ион кислорода, перекись водорода, могут стать причиной резкого роста перекисного окисления липидов, что приведет к повреждению клетки. Предотвращение развития окислительного процесса дрожжами обусловлено восстановленным глутатионом, уровень которого зависит от количества глицина. Глутатион при участии Se-зависимой глутатионпероксидазы восстанавливает ОН радикал. При этом образуется окисленный глутатион, который с помощью никотинамидадениндинуклеотидфосфатзависимой (NADPH) редуктазы и глицина переходит в восстановленную форму [8–11], обуславливая функционирование в клетках биологической системы антиоксидантной защиты.

Глутатион по строению является трипептидом L-γ-глутамил-L-цистеинил-глицином. Наличие сульфгидрильной группы в боковой цепи цистеина и малый размер молекулы обеспечивают его участие во множестве биохимических реакций, направленных на предотвращение действия активных форм кислорода (АФК) на нейтрализацию токсичных соединений. При регулировании свободнорадикальных процессов восстановленный глутатион блокирует и удаляет свободные радикалы. Он поддерживает тиоловый статус белков, модулирует их активность через посттрансляционную модификацию [11] и рецепторы нейротрансмиттеров [12].

Глутатион является одним из важнейших компонентов антиоксидантной системы, что делает его главенствующим для поддержания внутриклеточного редокс-потенциала [9,10]. Под его воздействием происходит S-глутатионирование белков в цитозоле, благодаря обратимой модификации сульфгидрильных групп [13]. По данным Ки Бейом Ли, стимуляция роста культур *Lactobacillus* может быть обусловлена тем, что трипептид глутатион служит эндогенным источником аминокислот [13], в которых нуждаются дрожжи при совместном культивировании с лактобактериями.

Семенихиной В. Ф. и др. установлено, что добавление дрожжевого экстракта к молоку способствовало развитию и накоплению клеток *L. reuteri* LR1, что свидетельствует о целесообразности использования экстракта для приготовления производственной закваски или продукта на основе чистой культуры [14]. Эти исследования косвенно подтверждают положительное влияние дрожжей на повышение адаптационных свойств анаэробных форм при совместном культивировании с аэробными. Дрожжевой экстракт содержит аминокислоты и комплекс витаминов, являющихся ростовыми факторами молочнокислых бактерий, эти питательные вещества оказывают стимулирующее воздействие на молочнокислые бактерии и играют решающую роль в поддержании активности кумысных и курунговых симбиотических заквасок.

Глицин влияет на внутриклеточный синтез трипептида глутатиона, он является обязательным компонентом полипептидной цепи и вещество, формирующих первичную структуру белков клетки и фосфолипидов, образующих мембраны. Он регулирует процессы окислительного фосфорилирования и биоэнергетику клетки в целом [15], значительно влияя на окислительно-восстановительные процессы в питательной среде.

Окислительно-восстановительные процессы на модифицированных средах с добавлением глицина при совместном культивировании дрожжей и молочнокислых бактерий еще недостаточно изучены. Чаще всего метаболический характер взаимоотношений между этими микроорганизмами основан на способности использовать продукты обмена друг друга. Накопление бактериями молочной кислоты до pH 5,0–5,5件 полезно для дрожжей, а продукты автолиза дрожжей служат питанием для бактерий [16]. Молочнокислые бактерии обладают биосинтетической недостаточностью, по мнению Рябцевой С. А. и др., поэтому для их культивирования необходимы белковые гидролизаты [17]. Способность молочнокислых бактерий снижать pH среды имеет фундаментальное значение для активности дрожжей и защиты от стресса, но до

определенного предела. При понижении pH ниже 4,5 активность дрожжей снижается. Дрожжи создают благоприятные условия для развития факультативно анаэробных молочнокислых бактерий, потребляя растворенный в среде кислород и синтезируя витамины группы В [6,15].

Несмотря на то, что изучению роли глутатиона в жизнедеятельности заквасочных микроорганизмов посвящено множество работ, его значимость в ряде метаболических адаптационных процессов в симбиотических заквасках молочнокислых бактерий и дрожжей, в том числе окислительно-восстановительных, остается до конца невыясненной. В связи с этим целью данного исследования является определение влияния окислительно-восстановительных процессов получения биомассы молочнокислых бактерий и дрожжей на синтез восстановленной и окисленной форм глутатиона с помощью регулирования уровня глутатионсоставляющего компонента глицина в модифицированной питательной среде, инокулированной симбиотической закваской.

2. Объекты и методы

Объектами исследования являлись модифицированная питательная среда на основе гидролизованного молока, картофельного отвара и глицина; симбиотическая закваска, состоящая из *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus bulgaricus*, *Lactobacillus plantarum*, *Saccharomyces lactis*, в соотношении культур 0,2:0,2:0,5:1 для получения кумысного продукта из коровьего молока.

Титруемую кислотность определяли по ГОСТ Р 54669–2011¹, количество молочнокислых микроорганизмов — по ГОСТ 33951–2016², количество дрожжей — по ГОСТ 33566–2015³, индекс окислительно-восстановительного потенциала рассчитывали по формуле: $rH_2 = Eh/0,03 + 2pH$; активную кислотность (pH) и окислительно-восстановительный потенциал (ОВП) определяли на pH -метре — иономере «Эксперт — 001» («Эталонприбор», Россия). Антиоксидантную активность определяли кулонометрическим методом с использованием прибора «Эксперт-006» («Эталонприбор», Россия). Метод основан на способности брома вступать в радикальные и окислительно-восстановительные реакции электрофильного замещения и присоединения по кратным связям [18]. Концентрацию глутатиона определяли методом [19], в котором об уровне свободных SH-групп глутатиона (G-SH) судили по количеству пошедшего на титрование раствора йодноватистокислого калия. Окисленный глутатион переводили в восстановленную форму с помощью цинковой пыли и вновь оттитровывали SH-группы, получая количество общего глутатиона. Окисленный глутатион определяли по разнице между общим и восстановленным глутатионом. Концентрацию глутатиона (А) определяли по формуле:

$$A = I \times 100 / 3,26 \text{ мг/\%}, \quad (1)$$

Где:

I — количество 0,001N раствора йодноватистого калия в мл, израсходованного на титрование пробы;
3,26 — число, соответствующее объему йодноватистого калия (мл), идущего на титрование 1 мл глутатиона;
100 — коэффициент пересчета на 100 мл инокулированной среды.

Культуры восстанавливали на стерилизованном обезжиренном молоке, смешивали в установленном соотношении и выдерживали в термостате (ТС-80, «Медтехника», Россия)

¹ ГОСТ Р 54669–2011 «Молоко и продукты переработки молока. Методы определения кислотности». Москва: Стандартинформ, 2019. — 12 с.

² ГОСТ 33951–2016 «Молоко и продукты переработки молока. Методы определения молочнокислых микроорганизмов». Москва: Стандартинформ, 2016. — 13 с.

³ ГОСТ 33566–2015 «Молоко и молочная продукция. Определение дрожжей и плесневых грибов». Москва: Стандартинформ, 2019. — 16 с.

при температуре 30 °С в течение 24 ч для получения инокулята. Гидролизованное молоко готовили по способу, предложенному В. М. Богдановым, который предусматривает разведение обезжиренного пастеризованного молока водопроводной водой (1:2), кипячение, охлаждение до 45 °С, установление активной кислотности (pH) 8,0–9,0 и проведение гидролиза панкреатином (0,05%) в течение 24 ч [4]. Картофельный отвар готовили по методике Банниковой Л. А, для этого 200 г очищенного и измельченного картофеля заливают 1000 мл дистиллированной воды, кипятят в течение 60 мин, фильтруют и доводят до первоначального объема стерильной водой. В исследованиях использовали глицин в порошке, произведенный научно-производственным комплексом «Биотики», сертификат GMP-0080–000354/19. Инокулят с содержанием клеток вносили в модифицированную питательную среду в количестве 5%.

Количество опытов составляло до 6 раз. Математическую обработку данных производили с расчетом среднего арифметического значения двух параллельных определений при условии их приемлемости, а также с расчетом среднеквадратичного отклонения.

3. Результаты и обсуждение

Исследования антиоксидантных свойств симбиозов бактерий, их способности накапливать глутатион и осуществлять своевременный антиоксидантный ответ, влияя на адаптационные механизмы конечного продукта, позволяют идентифицировать вещества, формирующие антиоксидантный потенциал бактерий и создавать продукты функциональной направленности [1, 2, 5, 10]. Механизмы саморегуляции и формирования антиоксидантного ответа заквасочных симбиозов кумыса, курунги и других гетероферментативных продуктов, в настоящее время не достаточно изучены. Известно, что многокомпонентные закваски осуществляют более выраженный антиоксидантный ответ, во многом он зависит от окислительно-восстановительных условий питательной среды. Данный эксперимент посвящен оценке влияния окислительно-восстановительных процессов на антиоксидантную активность симбиоза многокомпонентной симбиотической закваски, биомасса которой была получена ранее на модифицированной питательной среде с высоким биоантиоксидантным ответом. Для решения поставленных задач была произведена модификация питательной среды путем введения разных количеств глицина, являющегося предшественником глутатиона, а далее было проанализировано влияние изменения окислительно-восстановительного потенциала (ОВП или Eh) на антиоксидантную активность клеток и количество глутатиона. ОВП нелинейно, но связан с pH биомассы через индекс окислительно-восстановительного потенциала по уравнению: $rH_2 = Eh/0,029 + 2pH$, в связи с использованием индекса для характеристики условий культивирования микроорганизмов далее был рассчитан этот показатель в зависимости от дозы внесенного глицина.

В модифицированную питательную среду на основе гидролизованного молока и картофельного отвара вносили инокулят симбиотической закваски и различные дозы глицина с концентрацией от 0,2 до 0,8%. Для получения биомассы питательную среду с инокулятом культивировали в течение 24 ч при температуре 30 °С с двухкратным раскислением до pH 6,3–6,5 ед. и ежечасным перемешиванием. Далее определяли физико-химические показатели инокулированной среды в контроле (без глицина) и в опытных образцах с разным количеством глицина. В таблицах 1–2 представлены физико-химические показатели полученной культуральной жидкости после культивирования.

Таблица 1. Изменения активной кислотности среды в зависимости от концентрации глицина

Table 1. Changes in the active acidity of the medium depending on the glycine concentration

Концентрация глицина в питательной среде, %	Активная кислотность, pH, ед.
0 (контроль)	5,016±0,015
0,2	5,08±0,018
0,4	5,14±0,011
0,6	5,21±0,019
0,8	5,27±0,021

Из данных, представленных в таблицах 1 и 2, следует, что введение в питательную среду глицина с концентрацией от 0,2 до 0,8% приводит к изменениям окислительно-восстановительных процессов. При содержании глицина в количестве 0,2–0,8 г на 100 мл питательной среды активная кислотность возрастает относительно контроля (без глицина) в среднем на 5%, а окислительно-восстановительный потенциал уменьшается до 6,4%.

Таблица 2. Динамика ОВП (Eh) в культуральной жидкости с биомассой

Table 2. Dynamics of redox potential (Eh) in the culture liquid with biomass

Концентрация глицина в питательной среде, %	ОВП (Eh), мВ
0 (контроль)	201,7±13,4
0,2	241,5±14,3
0,4	231,5±17,2
0,6	225,6±15,6
0,8	214,7±14,9

Глицин является промежуточным звеном в метаболизме белков и пептидов, он действует в среде как антиоксидант и один из предшественников глутатиона. Но избыток антиоксидантов может привести к восстановительному стрессу, который потенциально может негативно сказаться на развитии бактерии. В связи с этим, анализ баланса окисления и восстановления имеет важное значение для определения оптимальных физиологических диапазонов развития комплексной живой системы, характеризующей в том числе ее воспроизводимость, как показал ряд исследований [20,21].

Данные исследований показали, что ОВП снижается, а значит возрастает при внесении глицина восстановительная способность раствора, которая изначально характеризовалась большим процентом окислительных процессов. Максимальные восстановительные свойства среды при насыщении водородом и rH_2 близким к нулю [3].

Согласно аналитическим данным, возбудители молочнокислого брожения относятся к группе факультативных анаэробов [1,4]. В процессе своего развития они значительно снижают окислительно-восстановительный потенциал среды за счет выделяемых ими редуцирующих веществ неутонченной природы. Титруемая кислотность среды снижается относительно контроля на 3,4–6,7%. Данные представлены в Таблице 3.

Таблица 3. Физико-химические показатели культуральной жидкости после 24 ч культивирования

Table 3. Physico-chemical indicators of the cultural liquid after 24-hour incubation

Показатели	Контроль	0,2% глицина	0,4% глицина	0,6% глицина	0,8% глицина
rH_2	16,75±2,22	16,76±2,64	16,72±3,24	16,66±2,83	16,61±2,45
Кислотность, °Т	90±4,13	87±3,51	86±6,15	85±4,61	84±5,60

Индекс окислительно-восстановительного потенциала rH_2 , определенный расчетным путем, при исследуемых дозах глицина незначительно снижается. Согласно исследованиям Л. И. Работновой, анаэробы развиваются при значениях rH_2 от 0 до 13; аэробы — от 7 до 23. Но результаты данных исследований показали, что индекс окислительно-восстановительного потенциала, независимо от дозы внесения глицина, меняется не значительно и находится в пределах 16,61–16,76. Удельная производительность определенных метаболитов микроорганизмов напрямую зависит от значений окислительно-восстановительного потенциала, одним из наиболее эффективных способов регулирования окислительно-восстановительного потенциала является аэрация [22, 23]. Можно предположить, что в данной модифицированной среде глицин, регулируя окислительно-восстановительный процесс, поддерживает оптимальное соотношение восстановленного и окисленного глутатиона в среде, что позволяет развиваться анаэробным микроорганизмам при значении rH_2 выше 13, по сравнению с ранее проведенными исследованиями.

Изменение микрофлоры после 24 ч культивирования в питательной среде показаны в Таблице 4.

Таблица 4. Микробиологические показатели инокулированной питательной среды

Table 4. Microbiological indicators of the inoculated nutrient medium

Содержание КОЕ/г	Контроль (без глицина)	Концентрация глицина, %			
		0,2	0,4	0,6	0,8
Общее количество молочнокислых бактерий	1,2·10 ⁸	0,84·10 ⁸	0,96·10 ⁸	8,9·10 ⁸	9,2·10 ⁸
Общее количество дрожжей	1,6·10 ⁴	0,5·10 ⁴	0,6·10 ⁴	1,6·10 ⁵	3,6·10 ⁵

Среднеквадратичное отклонение по молочнокислым бактериям составляет составляет 0,078 КОЕ/г, по дрожжам составляет составляет 0,043 КОЕ/г

Из данных Таблицы 4 следует, что введение в питательную среду 0,2–0,4% глицина ведет к понижению значения молочнокислой колониеобразующей микрофлоры. Но с увеличением дозы глицина до 0,6–0,8% количество молочнокислых бактерий повышается. По всей видимости, это связано с окислительно-восстановительной способностью глицина. Окислительно-восстановительные свойства, как показали исследования, определяют способность любой каталитической системы, которая зависит от pH, растворителя, концентрации катализатора от вида субстрата и температуры [24].

По данным Работновой [3], введение в среду редуцирующих веществ, способных принимать на себя кислород, стимулирует развитие анаэробных бактерий и подавляет аэробные. Но результаты, полученные экспериментальным путем и представленные в Таблице 4, показали, что процесс развития аэробных дрожжевых микроорганизмов увеличивается до 3,6·10⁵ КОЕ/г в процессе 24 ч культивирования. Таким образом, проведенные исследования показали, что введение в питательную среду 0,6–0,8% глицина усиливает образование как анаэробных молочнокислых, так и аэробных дрожжей.

Результаты определения антиоксидантной активности инокулированной питательной среды после культивирования кулонометрическим методом представлены на Рисунке 1.

Полученные данные достоверно показали, что введение глицина от 0,4% в питательную среду способствует катализируанию восстановительных процессов. В результате протекающих биохимических реакций образуется ряд веществ, обладающих антиоксидантной активностью. Интенсивность достигает 480±12 мг/100 г. Выявлена закономерность измене-

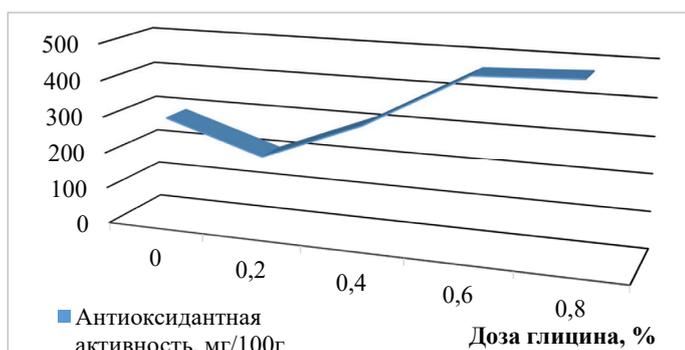


Рисунок 1. Динамика антиоксидантной активности культуральной жидкости в зависимости от концентрации внесенного глицина

Figure 1. Dynamics of the antioxidant activity of the cultural liquid depending on the concentration of introduced glycine

ния антиоксидантной активности от концентрации вводимого в питательную среду глицина. Установлено, что с повышением концентрации глицина до 0,6–0,8% увеличивается антиоксидантная активность среды.

На следующем этапе исследований концентрация глицина была увеличена до 1,5%. Экспериментальные данные показали, что количество глицина до 1,5% не оказывает значительного влияния на изменение индекса ОВП, соотношение культур в симбиозе сохраняется, но при этом значительно повышается антиоксидантная активность. В таблице 5 представлены данные по исследованию содержания глутатиона, в том числе его окисленной и восстановленной формы. Проведенные экспериментальные исследования по определению глутатиона в инокулированной питательной среде показали, что введение глицина в питательную среду в концентрации более 0,8% (1,0–1,5%) значительно изменяет количество восстановленного глутатиона, участвующего практически во всех биохимических реакциях, в том числе в реакциях блокирования избытка свободных радикалов, прерывания окислительно-восстановительную передачи сигналов от митохондрий к телу клетки [23–25].

Таблица 5. Содержание глутатиона в культуральной жидкости с биомассой

Table 5. Glutathione content in the culture liquid with biomass

Глутатион, мг%	Контроль	Концентрация глицина в питательной среде, %		
		0,8	1,0	1,5
Восстановленный	39,87±2,61	47,75±4,62	46,01±7,62	56,75±4,64
Общий	58,28±2,33	58,70±5,63	49,50±8,23	57,93±5,2
Окисленный	18,41±1,41	10,95±1,64	3,49±0,61	1,18±0,53

Экспериментальные исследования показали, что введение глицина изменяет соотношение восстановленного и окисленного глутатиона в биомассе с культуральной жидкостью. Окислительно-восстановительный потенциал является одним из наиболее сложных показателей физиологического состояния микробных культур, и его измерение может быть полезным инструментом для качественного и количественного определения микробного загрязнения [21]. Проведенные исследования показали, что, снижая концентрацию окисленного глутатиона, глицин влияет на окислительно-восстановительные процессы в клетке микроорганизмов, но в количестве 0,2–0,8% не нарушает окислительно-восстановительного равновесия, подавляющего развитие симбиоза бактерий. В контрольном образце при отсутствии глицина соотношение восстановленного и окисленного глутатиона соответствует значению 2,16, что намного меньше относительно культуральной жидкости с концентрацией глицина 0,8–1,5%.

Заключение

1. Определена прямая зависимость между антиоксидантной активностью культуральной жидкости и концентрацией вводимого в питательную среду глицина.
2. Полученные значения окислительно-восстановительного потенциала, оказывающего влияние на интенсивность протекания биохимических процессов, позволяют классифицировать инокулированную питательную среду как среду со слабо-восстановительными свойствами.
3. Увеличение концентрации вводимого глицина до 0,8% смещает процесс в сторону развития окислительных процессов. При этом незначительно увеличивается активная кислотность среды, уменьшается окислительно-восстановительный потенциал и понижается титруемая кислотность; отмечен рост молочнокислых бактерий и в значительной степени дрожжей.
4. Антиоксидантная активность инокулированной питательной среды с концентрацией глицина 0,6–0,8% превышает антиоксидантную активность контроля (без глицина), что может быть обусловлено повышением содержания восстановленного глутатиона.
5. Установлено, что введение глицина как потенциального компонента трипептида глутатиона способствует иницированию восстановительных процессов в инокулированной питательной среде.
6. Показано, что с увеличением концентрации глицина возрастает количество восстановленного глутатиона, регулирующего большинство метаболических процессов, в том числе окислительно-восстановительных.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ritchie, G., Strodl, E., Parham, S., Bambling, M., Cramb, S., Vitetta, L. (2023). An exploratory study of the gut microbiota in major depression with anxious distress. *Journal of Affective Disorders*, 320, 595–604. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2022.10.001>
2. Агаркова, Е. Ю., Кручинин, А. Г. (2018). Ферментативная конверсия как способ получения биологически активных пептидов. Вестник МГТУ. Труды Мурманского государственного технического университета, 21(3), 412–419. <https://doi.org/10.21443/1560-9278-2018-21-3-412-419>
3. Работнова, И. Л. (1957). Роль физико-химических условий (rH₂ и pH) в жизнедеятельности микроорганизмов. Москва: Издательство АН СССР. 1957.
4. Kivanc, M., Funda, E. G. (2017). A functional food: a traditional Tarhana fermentation. *Food Science and Technology*, 37(2), 269–274. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.08815>
5. Богданов В. М. (1957). Микробиология молока и молочных продуктов. Москва: Пищепромиздат, 1957.
6. Бегунова, Ф. В., Рожкова, И. В., Ширшова, Т. И., Глазунова, О. А., Федорова, Т. В. (2019). Биосинтез антимикробных бактериоциноподобных соединений штаммов *Lactobacillus reuteri* LR1: оптимизация условий культивирования. *Биотехнология*, 35(5), 58–69. <https://doi.org/10.21519/0234-2758-2019-35-5-58-69>
7. Kalinina, E. V., Chernov, N. N., Novochkova, N. D. (2014). Role of glutathione, glutathione transferase, and glutaredoxin in regulation of redox-dependent processes. *Biochemistry (Moscow)*, 79(13), 1562–1583. <https://doi.org/10.1134/S0006297914130082>
8. Lu, S. C. (2013). Glutathione synthesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects*, 1830(5), 3143–3153. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.09.008>
9. Fitzpatrick, A. M., Jones, D. P., Lou Ann S. Brown, L. A. S. (2012). Glutathione redox control of asthma: From molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxidants & Redox Signaling*, 17(2), 375–408. <https://doi.org/10.1074/jbc.M61093420010.1089/ars.2011.4198>
10. Qanungo, S., Starke, D. W., Pai, H. V., Mieyal, J. J., Nieminen, A.-L. (2007). Glutathione Supplementation Potentiates Hypoxic Apoptosis by S-Glutathionylation of p65-NFκB. *Journal of Biological Chemistry*, 282(25), 18427–18436. <https://doi.org/10.1074/jbc.M610934200>

11. Смирнова, Г. В., Музыка, Н. Г., Глуховченко, М. Н., Октябрьский, О. Н. (1997). Отклик *Escherichia coli* на действие проникающего и непроницающего оксидантов. *Биохимия*, 62(5), 563–569.
12. Boguszewska-Mańkowska, D., Nykiel, M., Zagdańska, B. (2015). Protein oxidation and redox regulation of proteolysis. Chapter in a book: Basic principles and clinical significance of oxidative stress. <https://doi.org/10.5772/61182>
13. Costa, V., Quintanilha, A., Moradas-Ferreira, P. (2007). Protein oxidation, repair mechanisms and proteolysis in *Saccharomyces cerevisiae*. *IUBMB Life*, 59(4), 293–298. <https://doi.org/10.1080/15216540701225958>
14. Семенихина, В. Ф., Рожкова, И. В., Бегунова, А. В., Федорова, Т. В., Ширшова, Т. И. (2018). Разработка биотехнологии кисломолочного продукта с *Lactobacillus reuteri* LR1 и исследование его функциональных свойств в эксперименте in vitro и in vivo. *Вопросы питания*, 87(5), 52–62. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2018-10053>
15. Нарциссов, Я. Р., Максимов, М. Л., Максимова, Л. Н. (2016). Метаболическая терапия, как составная часть комплексного лечения хронических заболеваний. *РМЖ*, 24(14), 894–900.
16. Илларионова Е. Е., Кручинин, А. Г., Туровская, С. Н., Бигеева А. В. (2021). Ассоциация полиморфизмов в биокластере генов казеина и сывороточных белков с технологическими свойствами молочного сырья. *Молочная промышленность*, 3, 60–62. <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2021-03-60-62>
17. Рябцева, С. А., Бращикина, М. А., Ганина, В. И. (2010). Сохранение жизнеспособности заквасочной микрофлоры. *Молочная промышленность*, 1, 22–23.
18. Лалин, А. А., Горбунова, Е. В., Зеленков, В. Н., Герасимов, М. К. (2009). Определение антиоксидантной активности вин кулонометрическим методом. Научно-методическое пособие. Москва, РАЕН, 2009.
19. Дерюгина, А. В., Корягин, А. С., Копылова, С. В., Таламанова, М. Н. (2010). Методы изучения стрессовых и адаптационных реакций организма по показателям системы крови. Нижний Новгород, Издательство Нижегородского госуниверситета, 2010.
20. Selvam, M. K. P., Henkel, R., Sharma, R., Agarwal, A. (2018). Calibration of redox potential in sperm wash media and evaluation of oxidation–reduction potential values in various assisted reproductive technology culture media using MiOXSYS system. *Andrology* 6(2), 293–300. <https://doi.org/10.1111/andr.12461>
21. Reichart, O., Szakmár, K., Jozwiak, A., Felföldi, J., Baranyai, L. (2007). Redox potential measurement as a rapid method for microbiological testing and its validation for coliform determination. *International Journal of Food Microbiology*, 114(2), 143–148. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.08.016>
22. Kim, J., Bajpai, R., Iannotti, E. L. (1988). Redox potential in acetone-butanol fermentations. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 18, 175–186. <https://doi.org/10.1007/BF02930824>
23. Berovic, M. (2000). Scale-up of citric acid fermentation by redox potential control. *Biotechnology and Bioengineering*, 64(5), 552–557. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0290\(19990905\)64](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0290(19990905)64)
24. Shi, C., Kang, F., Zhu, Y., Teng, M., Shi, J., Qi, H., Huang, Z. et al. (2023). Photoreforming lignocellulosic biomass for hydrogen production: Optimized design of photocatalyst and photocatalytic system, *Chemical Engineering Journal*, 425(1), Article 138980. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.138980>
25. Capeloa, T., Van de Velde, J. A., d’Hose, D., Lipari, S. G., Derouane, F., Hamelin, L. et al. (2022). Inhibition of mitochondrial redox signaling with mitox prevents metastasis of human pancreatic cancer in mice. *Cancers*, 14(19), Article 4918. <https://doi.org/10.3390/cancers14194918>

REFERENCES

1. Ritchie, G., Strodl, E., Parham, S., Bambling, M., Cramb, S., Vitetta, L. (2023). An exploratory study of the gut microbiota in major depression with anxious distress. *Journal of Affective Disorders*, 320, 595–604. <https://doi.org/10.1016/j.jad.2022.10.001>
2. Agarkova, E. Yu., Kruchinin, A. G. (2018). Enzymatic conversion as a method of producing biologically active peptides. *Vestnik of MSTU*, 21(3), 412–419. <https://doi.org/10.21443/1560-9278-2018-21-3-412-419> (In Russian)
3. Rabotnova, I. L. (1957). The role of physico-chemical conditions (rH2 and pH) in the vital activity of microorganisms. Moscow: Publishing House of the USSR Academy of Sciences. 1957. (In Russian)
4. Kivanç, M., Funda, E. G. (2017). A functional food: a traditional Tarhana fermentation. *Food Science and Technology*, 37(2), 269–274. <https://doi.org/10.1590/1678-457X.08815>
5. Bogdanov V. M. (1957). Microbiology of milk and dairy products. Moscow: Pishchepromizdat, 1957. (In Russian)
6. Begunova, A. V., Rozhkova, I. V., Shirshova, T. I., Glazunova, O. A., Fedorova, T. V. (2019). Optimization of conditions for *Lactobacillus reuteri* LR1 strain cultivation to improve the biosynthesis of bacteriocin-like substances. *Biotechnologiya*, 35(5), 58–69. <https://doi.org/10.21519/0234-2758-2019-35-5-58-69> (In Russian)
7. Kalinina, E. V., Chernov, N. N., Novochkova, N. D. (2014). Role of glutathione, glutathione transferase, and glutaredoxin in regulation of redox-dependent processes. *Biochemistry (Moscow)*, 79(13), 1562–1583. <https://doi.org/10.1134/S0006297914130082>
8. Lu, S. C. (2013). Glutathione synthesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – General Subjects*, 1830(5), 3143–3153. <https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.09.008>
9. Fitzpatrick, A. M., Jones, D. P., Lou Ann S. Brown, L. A. S. (2012). Glutathione redox control of asthma: From molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxidants & Redox Signaling*, 17(2), 375–408. <https://doi.org/10.1074/jbc.M61093420010.1089/ars.2011.4198>
10. Qanungo, S., Starke, D. W., Pai, H. V., Mיעאל, J. J., Nieminen, A.-L. (2007). Glutathione Supplementation Potentiates Hypoxic Apoptosis by S-Glutathionylation of p65-NFκB. *Journal of Biological Chemistry*, 282(25), 18427–18436. <https://doi.org/10.1074/jbc.M610934200>
11. Smirnova, G. V., Музыка, Н. Г., Глуховченко, М. Н., Октябрьский, О. Н. (1997). Effects penetrating and non-penetrating oxidants on *Escherichia coli*. *Biokhimiya*, 62(5), 563–569. (In Russian)
12. Boguszewska-Mańkowska, D., Nykiel, M., Zagdańska, B. (2015). Protein oxidation and redox regulation of proteolysis. Chapter in a book: Basic principles and clinical significance of oxidative stress. <https://doi.org/10.5772/61182>
13. Costa, V., Quintanilha, A., Moradas-Ferreira, P. (2007). Protein oxidation, repair mechanisms and proteolysis in *Saccharomyces cerevisiae*. *IUBMB Life*, 59(4), 293–298. <https://doi.org/10.1080/15216540701225958>
14. Semенихина, В. Ф., Рожкова, И. В., Бегунова, А. В., Федорова, Т. В., Ширшова, Т. И. (2018). Development of biotechnology of fermented milk product with *Lactobacillus reuteri* lr1 and the evaluation of its functional property in experiment in vitro and in vivo *Problems of Nutrition*, 87(5), 52–62. <https://doi.org/10.24411/0042-8833-2018-10053> (In Russian)
15. Nartsisov, Y. R., Maksimov, M. L., Maksimova, L. N. (2016). Metabolic therapy as the part of comprehensive treatment of chronic diseases. *RMJ*, 24(14), 894–900. (In Russian)
16. Илларионова, Е. Е., Кручинин, А. Г., Туровская, С. Н., Бигеева, А. В. (2021). Association of polymorphisms in the biocluster of casein and whey protein genes with technological properties of dairy raw materials. *Dairy Industry*, 3, 60–62. <https://doi.org/10.31515/1019-8946-2021-03-60-62> (In Russian)
17. Ryabtseva S. A., Bratsihina M. A., Ganina V. I. (2010). Maintenance of viability of the starter cultures microflora. *Dairy Industry*, 1, 22–23. (In Russian)
18. Lalin, A. A., Gorbunova, E. V., Zelenkov, V. N., Gerasimov, M.K. (2009). Determination of antioxidant activity of wines by coulometric method. Scientific and methodological manual. Moscow, RAEN, 2009.
19. Deryugina, A. V., Koryagin, A. S., Kopylova, S.V., Talamanova, M. N. (2010). Methods of studying stress and adaptive reactions of the body according to the indicators of the blood system. Nizhny Novgorod, Nizhny Novgorod State University Publishing House, 2010.
20. Selvam, M. K. P., Henkel, R., Sharma, R., Agarwal, A. (2018). Calibration of redox potential in sperm wash media and evaluation of oxidation–reduction potential values in various assisted reproductive technology culture media using MiOXSYS system. *Andrology* 6(2), 293–300. <https://doi.org/10.1111/andr.12461>
21. Reichart, O., Szakmár, K., Jozwiak, A., Felföldi, J., Baranyai, L. (2007). Redox potential measurement as a rapid method for microbiological testing and its validation for coliform determination. *International Journal of Food Microbiology*, 114(2), 143–148. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2006.08.016>
22. Kim, J., Bajpai, R., Iannotti, E. L. (1988). Redox potential in acetone-butanol fermentations. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 18, 175–186. <https://doi.org/10.1007/BF02930824>
23. Berovic, M. (2000). Scale-up of citric acid fermentation by redox potential control. *Biotechnology and Bioengineering*, 64(5), 552–557. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0290\(19990905\)64](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0290(19990905)64)
24. Shi, C., Kang, F., Zhu, Y., Teng, M., Shi, J., Qi, H., Huang, Z. et al. (2023). Photoreforming lignocellulosic biomass for hydrogen production: Optimized design of photocatalyst and photocatalytic system, *Chemical Engineering Journal*, 425(1), Article 138980. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.138980>
25. Capeloa, T., Van de Velde, J. A., d’Hose, D., Lipari, S. G., Derouane, F., Hamelin, L. et al. (2022). Inhibition of mitochondrial redox signaling with mitox prevents metastasis of human pancreatic cancer in mice. *Cancers*, 14(19), Article 4918. <https://doi.org/10.3390/cancers14194918>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p>Донская Галина Андреевна — доктор биологических наук, заведующий лабораторией ресурсосберегающих процессов и функциональных продуктов, Всероссийской научно-исследовательский институт молочной промышленности 115093, Москва, Люсиновская, 35/7 Тел.: +7-499-236-35-95 E-mail: g_donskaya@vnimi.org ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6270-7579</p>	<p>Galina A. Donskaya, Doctor of Biological Sciences, Head of the Laboratory of Resource-Saving Processes and Functional Products, All-Russian Research Institute of Dairy Industry 35/7, Lucinovskaya str., 115093, Moscow, Russia Tel.: +7-499-236-35-95 E-mail: g_donskaya@vnimi.org ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6270-7579</p>
<p>Креккер Людмила Геннадьевна — кандидат технических наук, младший научный сотрудник, лаборатория ресурсосберегающих процессов и функциональных продуктов, Всероссийской научно-исследовательский институт молочной промышленности 115093, Москва, Люсиновская, 35/7 Тел.: +7-908-595-42-52 E-mail: l_krekker@vnimi.org ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6905-6625 * автор для контактов</p>	<p>Lyudmila G. Krekker, Candidate of Technical Sciences, Junior Researcher, Laboratory of Resource-Saving Processes and Functional Products, All-Russian Research Institute of Dairy Industry 35/7, Lucinovskaya str., 115093, Moscow, Russia Tel.: +7-908-595-42-52 E-mail: l_krekker@vnimi.org ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6905-6625 * corresponding author</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/10.21323/2618-9771-2022-5-4-344-352>

Поступила: 18.10.2022

Поступила после рецензирования: 18.11.2022

Принята в печать: 24.11.2022

© Свириденко Г. М., Комарова Т. В., Ускова Е. Е., 2022

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

Научная статья

Open access

ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТАВА ОСТАТОЧНОЙ МИКРОФЛОРЫ МОЛОКА ПОСЛЕ ПАСТЕРИЗАЦИИ

Свириденко Г. М.,* Комарова Т. В., Ускова Е. Е.

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

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

молоко сырое, низкотемпературная пастеризация, высокотемпературная пастеризация, тест-культуры, остаточная микрофлора

АННОТАЦИЯ

В статье представлены результаты исследований состава остаточной микрофлоры пастеризованного молока в зависимости от бактериального пейзажа и исходной обсемененности сырого молока. Изучена термостабильность тест-культур микроорганизмов, значимо влияющих на качество и хранимостепособность ферментируемых молочных продуктов. Для исследования состава остаточной микрофлоры молока после пастеризации стерильное молоко заражали тест-культурами микроорганизмов в дозах от 10^1 КОЕ/см³ до 10^7 КОЕ/см³. После заражения молоко пастеризовали при температурах $(72 \pm 1)^\circ\text{C}$ и $(80 \pm 1)^\circ\text{C}$ с выдержкой 10–20 секунд. Выявление и подсчет микроорганизмов осуществляли стандартизованными микробиологическими методами. Идентификацию микроорганизмов проводили визуальной оценкой господствующих колоний и морфологии клеток в микропрепаратах. Исследована термостабильность микроорганизмов, значимых для молочных продуктов, в частности сыров, источником которых является сырое молоко. Установлено, что из кокковых форм наибольшие риски связаны с энтерококками. Кишечная палочка при дозах заражения выше 10^6 КОЕ/см³ частично сохраняет жизнеспособность как при низкотемпературной, так и при высокотемпературной пастеризации. На споровые палочки температуры пастеризации не оказывают летального действия, их количество в пастеризованном молоке не снижается, независимо от исходной дозы заражения. Низкотемпературная пастеризация активизирует процесс прорастания спор клостридий. Способность к реактивации клеток после термошока наблюдалась у кишечной палочки, стафилококка, псевдомонад и плесневых грибов. Таким образом, остаточная микрофлора молока, подвергнутого низкотемпературной пастеризации, представлена энтерококками, термофильным стрептококком, микрококками, стафилококками, аспорогенными палочками и споровыми бактериями. Вышеперечисленные микроорганизмы составляют остаточную микрофлору пастеризованного молока и участвуют в процессах созревания сыров, определяя их качество и безопасность, влияют на хранимостепособность готового продукта.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию № FNEN-2019-0010 Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук.

Received 18.10.2022

Accepted in revised 18.11.2022

Accepted for publication 24.11.2022

© Sviridenko G. M., Komarova T. V., Uskova E. E., 2022

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

Original scientific article

Open access

STUDY OF THE COMPOSITION OF THE RESIDUAL MICROFLORA OF MILK AFTER PASTEURIZATION

Galina M. Sviridenko,* Tatyana V. Komarova, Evgeniya E. Uskova

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

KEY WORDS:

raw milk, low-temperature pasteurization, high-temperature pasteurization, test cultures, residual microflora

ABSTRACT

The article presents the results of studies of the composition of the residual microflora of pasteurized milk, depending on the bacterial landscape and the initial contamination of raw milk. The thermal stability of test cultures of microorganisms that significantly affect the quality and storage capacity of fermented dairy products has been studied. To study the composition of the residual microflora of milk after pasteurization, sterile milk was infected with test cultures of microorganisms at doses from 10^1 CFU/cm³ to 10^7 CFU/cm³. After infection, the milk was pasteurized at temperatures of $(72 \pm 1)^\circ\text{C}$ and $(80 \pm 1)^\circ\text{C}$ with a holding time of 10–20 seconds. The detection and enumeration of microorganisms was carried out by standardized microbiological methods. Microorganisms were identified by visual assessment of dominant colonies and cell morphology in micropreparations. The thermal stability of microorganisms important for dairy products, in particular cheeses, the source of which is raw milk, has been studied. It has been established that of the coccal forms, the greatest risks are associated with enterococci. *Escherichia coli* at infection doses above 10^6 CFU/cm³ partially retains viability both at low-temperature and at high-temperature pasteurization. Pasteurization temperatures do not have a lethal effect on spore bacilli, their number in pasteurized milk does not decrease, regardless of the initial dose of infection. Low-temperature pasteurization activates the process of clostridial spore germination. The ability to reactivate cells after thermal shock was observed in *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas*, and mold fungi. Thus, the residual microflora of milk subjected to low-temperature pasteurization is represented by enterococci, thermophilic streptococci, micrococci, staphylococci, asporogenous bacilli and spore

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Свириденко, Г. М., Комарова, Т. В., Ускова, Е. Е. (2022). Исследование состава остаточной микрофлоры молока после пастеризации. *Пищевые системы*, 5(4), 344–352. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-344-352>

FOR CITATION: Sviridenko, G. M., Komarova, T. V., Uskova, E. E. (2022). Study of the composition of the residual microflora of milk after pasteurization. *Food Systems*, 5(4), 344–352. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-344-352>

bacteria. The above microorganisms constitute the residual microflora of pasteurized milk and are involved in the maturation of cheeses, determining their quality and safety, [as well as] affecting the storage capacity of the finished product.

FUNDING: The article was published as part of the research topic FNE-2019-0010 of the state assignment of the V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS.

1. Введение

Молоко и молочные продукты являются благоприятной средой для распространения возбудителей разнообразных болезней, а также микроорганизмов, вызывающих порчу и снижающих хранимоспособность продуктов питания. Одни микроорганизмы размножаются в молоке, другие не размножаются, но длительно в нем сохраняются. В молоко микроорганизмы попадают либо от больных животных, либо от людей, занятых в его производстве, либо из окружающей среды. Исходя из комплексной оценки рисков снижения безопасности и возможной порчи пищевых, в том числе молочных продуктов, существуют следующие пути снижения уровня бактериальной загрязненности: предупреждение загрязнения пищевых продуктов микроорганизмами; создание условий, ограничивающих их жизнедеятельность; использование технологических приемов, губительно действующих на возбудителей пищевых инфекций и на микрофлору порчи. Особое внимание вопросу безопасности с этих позиций необходимо уделять производству сыров, так как технологический процесс их изготовления представляет собой, с одной стороны, низкотемпературную пастеризацию, а с другой — длительный процесс производства и последующее созревание при температурах выше 10 °С. Все вышеперечисленное увеличивает риски развития микроорганизмов, составляющих остаточную микрофлору молока после пастеризации [1–5].

В Российской Федерации молочная продукция, в том числе сыры, для снижения микробиологических рисков, должны вырабатываться исключительно из пастеризованного молока. В сыроделии для сохранения сыропригодных свойств используется низкотемпературная пастеризация молока в течение от 15 до 25 сек при температуре (72 ± 2) °С. При высоком уровне микробного обсеменения молока-сырья возможно проведение пастеризации при температуре (74 ± 2) °С с той же выдержкой по времени. При производстве других молочных продуктов используется высокотемпературная пастеризация в диапазоне температур от 77 °С до 100 °С с различной выдержкой, что зависит от конкретного вида продукта и исходной обсемененности сырого молока. Режимы температурной обработки, называемые пастеризацией, должны обеспечивать получение молока, безопасного для здоровья человека, т. е. снизить содержание патогенных и условно патогенных микроорганизмов до гарантированно безопасного уровня. Надежность пастеризации зависит от исходного количества микроорганизмов, источником которых служит больной скот, работающий персонал, вода и окружающая среда, а также от видового и штаммового свойства микрофлоры сырого молока. Кроме показателя исходной бактериальной обсемененности, эффективность пастеризации зависит от состава микрофлоры сырого молока, т. е. от характера бактериального пейзажа. Так, независимо от степени первичного обсеменения молока вегетативными клетками мезофильных и психротрофных патогенных и условно патогенных микроорганизмов, они должны быть уничтожены температурой пастеризации [6–10].

Как известно, «дикие» штаммы бактерий под действием изменяющихся условий внешней среды, в данном случае ввиду постоянного воздействия высоких температур, при-

обретают или усиливают признаки термостойкости. Следует различать понятия термофильной и термостойкой микрофлоры. Термофильные микроорганизмы имеют оптимум развития при температуре выше 37 °С, однако могут быть не термостойкими и погибать при пастеризации. Свойство термостойкости всегда относительно и определяется температурой воздействия на микроорганизмы и временем экспозиции при данной температуре. Для одних клеток заданная температура пастеризации является летальной, для других сублетальной, т. е. клетки испытывают термошок, но способны восстановить жизнедеятельность через определенное время, а на развитие самых термостойких микроорганизмов, например, споровых, температура пастеризации не окажет существенного влияния [11–13].

Состав остаточной микрофлоры молока после пастеризации имеет решающее значение в процессе созревания сыров, определяя, наряду с заквасочной микрофлорой, направленность и интенсивность биохимических процессов разложения составных частей молока, формирования органолептических свойств и хранимоспособность готового продукта [14,15].

Как в доступной отечественной, так и в зарубежной литературе, недостаточно данных о проведении комплексных исследований состава остаточной микрофлоры молока, прошедшего низкотемпературную и высокотемпературную пастеризацию, а также не хватает информации о термостабильности микроорганизмов порчи, источником которых может быть сырое молоко.

Целью исследований, результат которых представлен в данной статье, являлась комплексная оценка состава остаточной микрофлоры молока после низкотемпературной пастеризации для последующей оценки степени рисков снижения качества и хранимоспособности сыров.

В задачи исследований входило изучение термостабильности микроорганизмов, значимых для сыроделия, а также влияющих на процессы созревания и формирование потребительских свойств продуктов сыроделия, с использованием соответствующих тест-культур. Также целью исследования являлось изучение термостабильности «дикой» микрофлоры сырого молока.

2. Материалы и методы

Для изучения эффективности воздействия низкотемпературной и высокотемпературной пастеризации молока на различные группы микроорганизмов, источником которых является сырое молоко и которые могут оказать влияние на качество молочных продуктов, в том числе сыров, была проведена серия экспериментов.

При выполнении исследований на первом этапе в качестве объектов служило стерильное 10% восстановленное молоко, а также тест-культуры значимых для сыроделия групп микроорганизмов, такие как: *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*, *Lactobacillus plantarum* РКМБ-207, *Lactobacillus acidophilus* РКМБ-20Т, *Streptococcus thermophilus* РКМБ-859, *Escherichia coli* ВКМ 125, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538P (FDA 209P), *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC10145, *Clostridium tyrobutyricum* Г1, *Bacillus subtilis* М-71, *Saccharomyces lactis* СК-22, *Penicillium roqueforti*.

В стерильное 10% восстановленное молоко вносили тест-культуры микроорганизмов, источником которых является сырое молоко. Заражение проводили в дозах от 10^1 КОЕ/см³ до 10^7 КОЕ/см³. После заражения молоко подвергалось температурной обработке соответствующей режимам низкотемпературной и высокотемпературной пастеризации (72 ± 1) °C и (80 ± 1) °C с выдержкой 10–20 секунд с использованием стерилизатора парового ВК-75 СИТИ (ООО «СИТИ», Россия)

Посевы на среду КМАФАнМ для выявления аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов, дрожжей и плесневых грибов проводили из проб зараженного молока до пастеризации; из проб молока после пастеризации и проб молока после пастеризации с последующей выдержкой при температуре (8 ± 2) °C в течение 24 часов. Выдержку проб зараженного молока, подвергнутого пастеризации при низких положительных температурах, проводили в термостате воздушном ХТ-3/70 для установления возможности/невозможности клеток определенного вида микроорганизмов, получивших термошок после пастеризации, к последующей реактивации. Посевы анаэробных микроорганизмов делали на среду СДА в высокий столбик. Посевы споровых аэробных и анаэробных микроорганизмов проводили как с предварительным прогревом посевного материала при температуре (75 ± 1) °C в течение 20 минут для удаления вегетативных клеток и дальнейшего выявления спор, так и без предварительного прогрева для подсчета общего количества клеток.

Во второй серии опытов в качестве объектов исследования использовали 18 образцов сырого молока. Количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных, психротрофных и термофильных микроорганизмов определяли стандартным унифицированным чашечным методом на среде КМАФАнМ, изменяя условия культивирования. Для выявления мезофильных микроорганизмов посевы выдерживали при (30 ± 2) °C в течение 72 часов, для выявления психротрофных микроорганизмов — при (7 ± 2) °C в течение 10 суток, для выявления термофильных микроорганизмов — при (43 ± 2) °C в течение 72 часов. Идентификацию микроорганизмов проводили визуальной оценкой характера господствующих колоний, выросших на среде КМАФАнМ с последующей оценкой морфологии клеток в микропрепаратах (ГОСТ 9225–84¹ и МР 2.3.2.2327–08²). Математическая обработка экспериментальных данных проводилась с применением программы Microsoft Excel методами, принятыми для биологических систем.

3. Результаты и обсуждение

На первом этапе исследований изучали влияние температур пастеризации на термостабильность тест-культур. Результаты исследования термостабильности тест-культур микроорганизмов к пастеризации при различных температурных режимах представлены в Таблице 1.

Лактококи, относящиеся к трем подвидам (*Lactococcus lactis* subsp. *lactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *diacetylactis*, *Lactococcus lactis* subsp. *cremoris*), в условиях эксперимента оказались полностью не термостойкими и потеряли способность к росту и размножению после пастеризации, независимо от температурного режима. Кроме того, они не восстановили способность к развитию после выхода из термошока.

¹ ГОСТ 9225–84 «Молоко и молочные продукты. Методы микробиологического анализа» М.: Стандартинформ, 2009. — 16 с.

² МР 2.3.2.2327–08 «Методические рекомендации по организации производственного микробиологического контроля на предприятиях молочной промышленности (с атласом значимых микроорганизмов)». Утверждены Руководителем Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, Главным государственным санитарным врачом Российской Федерации Г. Г. Онищенко 7 февраля 2008 г.

Аналогичный результат был получен при исследовании термостабильности тест-культуры термофильной ацидофильной палочки, независимо от исходной дозы заражения.

Для тест-культуры термофильного стрептококка низкотемпературная пастеризация оказалась полностью эффективна при концентрации клеток до 10^5 КОЕ/см³. При более высокой обсемененности исходного молока данными микроорганизмами можно говорить о возможных рисках сохранения единичных жизнеспособных клеток, которые могут стать составной частью остаточной микрофлоры в продукте. При этом не наблюдалось увеличения количества клеток после выдержки пастеризованного молока, т. е. реактивации клеток термофильного стрептококка при низких положительных температурах хранения после перенесенного термошока. Высокотемпературная пастеризация оказалась эффективной для всех испытанных концентраций клеток тест-культуры термофильного стрептококка, при этом способности к реактивации клеток также не выявлено.

Большой интерес представляют результаты исследований эффективности воздействия различных режимов пастеризации на тест-культуру *Escherichia coli*, так как отсутствие признаков роста кишечной палочки в 10 см³ пастеризованного молока является биологической пробой при проверке эффективности пастеризации. Полученные нами данные свидетельствуют, что при концентрации клеток тест-культуры кишечной палочки в исходном молоке до 10^5 КОЕ/см³ эффективной является как низкотемпературная, так и высокотемпературная пастеризация. Однако при более высоких концентрациях жизнеспособных клеток в исходном молоке (10^5 КОЕ/см³ при низкотемпературных режимах пастеризации и 10^6 КОЕ/см³ для высокотемпературной пастеризации) в пастеризованном молоке остаются жизнеспособными клетки кишечной палочки, способные образовывать колонии на среде КМАФАнМ. При последующей выдержке пастеризованного молока наблюдается реактивация клеток кишечных палочек, получивших термошок, что фиксируется по незначительному увеличению их количества в посевах. Результаты исследований однозначно свидетельствуют о том, что даже тест-культура кишечной палочки, не говоря уже о «диких» штаммах, обладает относительной термостабильностью, и при определенных условиях некоторые клетки способны сохранять и восстанавливать способность к росту и размножению после пастеризации. Полученные данные подтверждаются рядом исследований, касающихся термостабильности микроорганизмов вида *Escherichia coli* [16,17].

Для тест-культуры *Staphylococcus aureus* высокотемпературная пастеризация оказалась летальной при всех испытанных исходных концентрациях клеток стафилококка от 10^2 КОЕ/см³ до 10^6 КОЕ/см³ в молоке до пастеризации. При содержании в исходном молоке более 10^6 КОЕ/см³ тест-культуры стафилококка низкотемпературная пастеризация не привела к полному уничтожению жизнеспособных клеток. Также прослеживается способность к реактивации клеток, получивших термошок, т. к. количество клеток после пастеризации с последующей 24-часовой выдержкой при температуре (8 ± 2) °C приводит к увеличению их количества в 2 раза. Данные выводы крайне важны для оценки рисков снижения уровня безопасности молока и молочных продуктов, обсемененных *Staphylococcus aureus* [18,19].

Для тест-культуры *Pseudomonas aeruginosa*, обладающего психротрофными свойствами, выявлена некоторая термостабильность, что характеризуется способностью единичных клеток размножаться после термической обработки при высокой дозе заражения (более 10^6 КОЕ/см³). При этом некоторые клетки *Pseudomonas aeruginosa* сохраняют способность к реактивации.

Таблица 1. Термостабильность тест-культур микроорганизмов к пастеризации при различных температурных режимах
Table 1. Thermal stability of test cultures of microorganisms to pasteurization at different temperature conditions

Вид микроорганизмов	Доза обсеменения, КОЕ/см ³	Количество выявленных микроорганизмов после пастеризации, КОЕ/см ^{3*}			
		Режимы пастеризации			
		72 °С	72 °С после термошока	80 °С	80 °С после термошока
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	7,0 × 10 ¹	0	0	0	0
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i>	4,8 × 10 ⁴	0	0	0	0
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	1,2 × 10 ⁶	0	0	0	0
<i>Lactobacillus plantarum</i> РКМБ-207	6,6 × 10 ²	0	0	0	0
	8,2 × 10 ⁵	0	0	0	0
	4,5 × 10 ⁷	0	0	0	0
<i>Lactobacillus acidophilus</i> РКМБ-20Т	1,1 × 10 ²	0	0	0	0
	2,0 × 10 ⁴	0	0	0	0
	1,9 × 10 ⁶	0	0	0	0
<i>Streptococcus thermophilus</i> РКМБ-859 ₅	2,9 × 10 ²	0	0	0	0
	1,6 × 10 ⁵	9 × 10 ⁰	10 × 10 ⁰	0	0
<i>Streptococcus thermophilus</i> РКМБ-859 ₅	1,4 × 10 ⁷	14 × 10 ⁰	13 × 10 ⁰	1 × 10 ⁰	0
<i>Escherichia coli</i> ВКМ 125	7,6 × 10 ¹	0	0	0	0
	2,9 × 10 ⁴	0	0	0	0
	3,4 × 10 ⁶	3,8 × 10 ¹	4,2 × 10 ¹	2 × 10 ⁰	2,4 × 10 ¹
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538P (FDA 209P)	1,3 × 10 ²	0	0	0	0
	6,0 × 10 ⁴	0	0	0	0
	6,0 × 10 ⁶	5 × 10 ⁰	10 × 10 ⁰	0	0
<i>Enterococcus faecalis</i>	2,9 × 10 ⁵	7,5 × 10 ²	7,0 × 10 ²	0	0
	2,9 × 10 ⁵	2,4 × 10 ⁴	2,4 × 10 ⁴	0	0
	1,6 × 10 ⁷	1,7 × 10 ⁶	2,5 × 10 ⁶	1,4 × 10 ²	1,5 × 10 ²
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC10145	5,4 × 10 ³	0	0	0	0
	5,5 × 10 ⁵	0	0	0	0
	4,8 × 10 ⁷	4	1,2 × 10 ¹	0	0
<i>Clostridium tyrobutiricum</i> Г1 (общее количество, включающее как вегетативные клетки, так и споры)	1,3 × 10 ²	1,1 × 10 ²	2,5 × 10 ²	7,0 × 10 ²	2,5 × 10 ¹
	2,5 × 10 ⁴	1,1 × 10 ⁴	1,1 × 10 ⁴	1,1 × 10 ⁴	7,0 × 10 ⁵
	1,1 × 10 ⁷	1,1 × 10 ⁶	6,0 × 10 ⁵	1,3 × 10 ⁶	2,5 × 10 ⁵
<i>Clostridium tyrobutiricum</i> Г1 (споры)	2,5 × 10 ¹	7,0 × 10 ¹	2,5 × 10 ²	2,5 × 10 ¹	7,0 × 10 ¹
	2,5 × 10 ³	1,1 × 10 ⁴	1,1 × 10 ⁴	7,0 × 10 ³	7,0 × 10 ⁵
	1,1 × 10 ⁶	1,1 × 10 ⁵	7,0 × 10 ⁵	2,5 × 10 ⁵	2,5 × 10 ⁵
<i>Bacillus subtilis</i> М-71 (общее количество, включающее как вегетативные клетки, так и споры)	2,3 × 10 ³	2,6 × 10 ³	1,9 × 10 ³	3,0 × 10 ³	2,3 × 10 ³
	2,7 × 10 ⁵	2,2 × 10 ⁵	2,4 × 10 ⁵	2,4 × 10 ⁵	1,7 × 10 ⁵
<i>Bacillus subtilis</i> М-71 (общее количество, включающее как вегетативные клетки, так и споры)	2,6 × 10 ⁷	3,6 × 10 ⁷	2,2 × 10 ⁷	2,6 × 10 ⁷	2,1 × 10 ⁷
	1,7 × 10 ³	1,6 × 10 ³	1,5 × 10 ³	1,3 × 10 ³	1,3 × 10 ³
	2,0 × 10 ⁵	1,8 × 10 ⁵	1,7 × 10 ⁵	8,6 × 10 ⁴	1,1 × 10 ⁵
<i>Bacillus subtilis</i> М-71 (споры)	2,0 × 10 ⁷	2,2 × 10 ⁷	1,6 × 10 ⁷	1,9 × 10 ⁷	1,4 × 10 ⁷
	1,3 × 10 ²	0	0	0	0
	1,6 × 10 ⁴	0	0	0	0
<i>Saccharomyces lactis</i> СК-22	1,7 × 10 ⁶	1,6 × 10 ¹	1,7 × 10 ¹	0	0
	6,5 × 10 ²	0	0	0	0
	8,7 × 10 ⁴	2,4 × 10 ¹	3,8 × 10 ¹	0	0
<i>Penicillium roqueforti</i>	5,5 × 10 ⁶	2,7 × 10 ²	3,3 × 10 ³	2,2 × 10 ³	1,2 × 10 ³

* в Таблице представлены средние значения показателей КОЕ/см³, ошибка метода подсчета КОЕ при посеве на твердую питательную среду составляет 10% (ГОСТ 9225–84 «Молоко и молочные продукты. Методы микробиологического анализа»)

Наибольшую термостабильность из всех испытанных кокковых форм проявляет энтерококк, что согласуется с рядом исследований [20,21]. При низкотемпературной пастеризации при всех исходных дозах заражения в интервале от 10^5 КОЕ/см³ до 10^7 КОЕ/см³ результатом термического воздействия было снижение количества жизнеспособных клеток только на один порядок. Эффективность пастеризации относительно энтерококков составляет порядка 25% при исходном содержании жизнеспособных клеток 10^5 КОЕ/см³ и порядка 10% при концентрации клеток 10^7 КОЕ/см³. Интересным результатом можно считать отсутствие существенной зависимости эффективности температурного воздействия от исходной обсемененности. Энтерококки — первая из вышеописанных культур, для которой прослеживается выраженная зависимость термостойкости от температуры пастеризации. Если низкотемпературная пастеризация лишь снижает уровень исходной обсемененности, то при высокотемпературной пастеризации наблюдается невозвратимое уничтожение клеток при их исходной концентрации до 10^5 КОЕ/см³. При исходной концентрации клеток энтерококка 10^7 КОЕ/см³ наблюдалось снижение количества жизнеспособных клеток на пять порядков, и остаточное количество микроорганизмов после температурного воздействия составляет лишь 10^2 КОЕ/см³ без видимого восстановления жизнеспособности клеток после термошока. Таким образом, при высокотемпературной пастеризации, независимо от исходного обсеменения, уничтожается до 10^5 КОЕ/см³ энтерококков, и при меньших количествах клеток в исходном молоке можно ожидать, что термическая обработка полностью эффективна.

Состав споровой микрофлоры молока представлен споровыми анаэробными мезофильными бактериями рода *Clostridium* и споровыми аэробными и факультативно анаэробными мезофильными микроорганизмами рода *Bacillus* [22–28]. Споровые микроорганизмы в культуре находятся как в вегетативной форме, так и в виде спор. Поэтому посев тест-культур споровых микроорганизмов проводили как без предварительного прогрева, так и после прогрева при (76 ± 1) °C в течение 30 минут для удаления вегетативных форм с целью дальнейшего исследования поведения спор после температурного воздействия.

После пастеризации — как низкотемпературной, так и высокотемпературной — в культуре клостридий количество жизнеспособных клеток незначительно уменьшалось. Прослеживалась прямо пропорциональная зависимость эффективности термической обработки от исходной обсемененности. При этом незначительная способность к реактивации выявлена только при уровне обсемененности 10^2 КОЕ/см³ и в случае низкотемпературной пастеризации, что, возможно, связано с индукцией процесса прорастания спор. Количество спор клостридий после пастеризации остается неизменным или наблюдается некоторая тенденция к их увеличению. Установлено, что низкотемпературная пастеризация однозначно стимулирует процесс прорастания спор, что проявляется в увеличении количества жизнеспособных клеток клостридий после температурного воздействия при (8 ± 2) °C и последующей выдержке 24 часа.

Споровые аэробы рода *Bacillus* как в смешанной культуре (вегетативные клетки и споры), так и в споровой форме, оказались полностью термостойки при заданных температурных режимах. Что касается эффекта ускорения прорастания спор данной группы бактерий после температурного воздействия, то, в отличие от клостридий, для микроорганизмов рода *Bacillus* данный эффект не был выявлен.

Тест-культура дрожжей вида *Saccharomyces lactis* теряет жизнеспособность после низко- и высокотемпературной

пастеризации при начальной дозе заражения исходного молока до 10^4 КОЕ/см³. При начальной дозе заражения 10^6 КОЕ/см³ низкотемпературная пастеризация не эффективна и остаточное количество дрожжей составляет 10% от исходного количества, при этом реактивации клеток после термошока не выявлено.

Тест-культура плесневых грибов вида *Penicillium roqueforti* показала большую термостабильность, чем культура дрожжей: низкотемпературная пастеризация оказалась полностью эффективна только при исходной концентрации клеток 10^1 КОЕ/см³, а высокотемпературная пастеризация — при 10^4 КОЕ/см³. После низкотемпературной пастеризации плесневые грибы сохраняют способность к реактивации клеток в пределах одного порядка, после высокотемпературной пастеризации такая способность утрачена.

Можно сделать вывод, что остаточная микрофлора молока, прошедшего низкотемпературную пастеризацию, разнообразна по составу. Бактериальный пейзаж зависит от исходного состава микрофлоры сырого молока и от количества жизнеспособных клеток отдельных групп микроорганизмов [29]. Однако эксперименты, проведенные на тест-культурах, не могут в полной мере отразить реальную картину, так как свойства культур «диких» штаммов в реальных условиях могут существенно отличаться от свойств тест-культур аналогичных видов.

Для изучения изменения группового состава «дикой» микрофлоры молока после воздействия низкотемпературной пастеризации с целью оценки остаточной микрофлоры с позиций безопасности и качества вырабатываемых сыров был проведен следующий эксперимент.

Для эксперимента отбирали молоко сырое с бактериальной обсемененностью порядка 10^6 КОЕ/см³. После низкотемпературной пастеризации проб молока (72 ± 2 °C, 15 ± 5 сек) определяли групповой состав остаточной микрофлоры. Средние результаты серии экспериментов из 18 повторностей представлены в Таблице 2.

Таблица 2. Сравнительный состав микрофлоры молока до и после пастеризации

Table 2. Comparative composition of milk microflora before and after pasteurization

Показатели		Сырое молоко	Пастеризованное молоко
КМАФАнМ		$(2,2 \pm 1,2) \times 10^6$	$(2,4 \pm 1,4) \times 10^5$
Состав господствующей микрофлоры	Дрожжи	$(7,2 \pm 8,6) \times 10^5$	Не обнаружены
	Плесневые грибы	$(4,5 \pm 6,7) \times 10^5$	Не обнаружены
Состав господствующей микрофлоры	Споровые аэробы	$(4,0 \pm 3,8) \times 10^2$	$(2,1 \pm 3,1) \times 10^2$
	Кокки	$(2,2 \pm 2,1) \times 10^6$	$(1,8 \pm 1,7) \times 10^5$
	БГКП	$(3,0 \pm 3,5) \times 10^4$	Не обнаружены
КТАФАнМ		$(6,4 \pm 4,4) \times 10^5$	$(1,0 \pm 0,8) \times 10^5$
Состав господствующей микрофлоры	Дрожжи	Не обнаружены	Не обнаружены
	Плесневые грибы	$(3,0 \pm 1,3) \times 10^2$	Не обнаружены
	Споровые аэробы	$(2,0 \pm 1,6) \times 10^2$	$(1,1 \pm 0,9) \times 10^2$
	Кокки	$(1,7 \pm 1,9) \times 10^5$	$(8,6 \pm 7,5) \times 10^4$
	БГКП	Не обнаружены	Не обнаружены
КПАФАнМ		$(3,0 \pm 4,5) \times 10^5$	Не обнаружены
Состав господствующей микрофлоры	Дрожжи	$(5,0 \pm 7,9) \times 10^5$	Не обнаружены
	Плесневые грибы	$(4,0 \pm 1,0) \times 10^2$	Не обнаружены
	Споровые аэробы	Не обнаружены	Не обнаружены
	Кокки	$(4,3 \pm 5,9) \times 10^5$	Не обнаружены
	БГКП	$(3,7 \pm 6,9) \times 10^4$	Не обнаружены

Как видно из представленных данных, полученных в результате анализа состава господствующей микрофлоры в посевах молока до пастеризации и после нее, исходное количество мезофильных аэробных и факультативно-анаэробных микроорганизмов в среднем снижается только на порядок, термофильных — на полпорядка, а жизнеспособные клетки психротрофных микроорганизмов в пастеризованном молоке не обнаруживаются.

В пастеризованном молоке изменяется качественный состав микрофлоры, т. е. бактериальный пейзаж. При пастеризации полностью отсутствуют признаки роста микроорганизмов, относящихся к БГКП, что служит основанием для контроля эффективности пастеризации по отсутствию в пастеризованном молоке признаков роста именно этой группы микроорганизмов. Как видно из данных Таблицы 2, среди БГКП все выявленные в молоке сыром микроорганизмы, относящиеся к данной группе, обладают психротрофными свойствами. Появление у мезофильных энтеробактерий сырого молока устойчивой способности проявлять психротрофные свойства, т. е. расти и размножаться при температуре ниже 10 °С, свидетельствует о закреплении данного признака и риске снижения качества и хранимоспособности сыров, связанного с развитием БГКП при температурных режимах созревания.

Анализ кокковых форм в образцах сырого молока позволяет сделать вывод, что часть из них проявляет термофильные свойства, другие являются психротрофами. При этом до 90% клеток кокковых мезофильных и термофильных бактерий термостойки при воздействии низкотемпературной пастеризации.

Исследование состава кокковой микрофлоры молока до и после пастеризации по характеру и внешнему виду колоний на среде КМАФАнМ позволяет сделать вывод, что при содержании в образцах молока стафилококков до 10^5 КОЕ/см³ после пастеризации их колонии не обнаруживаются. В условиях эксперимента исходного молока с более высокой концентрацией жизнеспособных клеток стафилококков, чем 10^5 КОЕ/см³, не выявлено, поэтому установить порог эффективности температурного воздействия в зависимости от концентрации клеток «дикой» стафилококковой микрофлоры не удалось. В рамках эксперимента термофильная микрофлора молока в своем большинстве оказывается частично термостойкой к низкотемпературной пастеризации. К термофильным кокковым формам относятся энтерококки и термофильный стрептококк. При этом на среде КМАФАнМ при (43 ± 2) °С в посевах исходного и пастеризованного молока выявляются преимущественно колонии среднего размера (1,5–2,0) мм с ровным краем и блестящей поверхностью или мелкие поверхностные и глубинные колонии темной окраски. Анализ соответствующих микропрепаратов позволяет отнести микроорганизмы из колоний первого типа к энтерококкам, а второго — к термофильным стрептококкам.

В остаточной микрофлоре пастеризованного молока, в сравнении с исходным сырым молоком, количество кокковых форм значительно возрастает относительно палочковых аспорогенных форм. Среди кокковой термофильной микрофлоры сырого молока, которая составляла 68% от общего количества термофилов в исследуемых образцах, преобладает термофильный стрептококк (до 70%), значительная доля принадлежит энтерококкам (около 20%). В пастеризованном молоке в рамках эксперимента доля кокков от общего количества термостойких микроорганизмов осталась на том же уровне (65%), но наблюдается увеличение энтерококков за счет снижения количества термофильного стрептококка и микрококков, которые в своем большинстве не выдерживают температуру пастеризации.

В отличие от кокковых форм, термофильные формы плесневых грибов не перенесли пастеризацию и не дали видимого роста в соответствующих посевах молока после пастеризации. При этом в исходном молоке выявлено $(3,0 \pm 1,3) \cdot 10^2$ КОЕ/см³ термофильных форм плесневых грибов, что составляет 80–90% от их общего количества, давших рост при (30 ± 2) °С. Среди дрожжей при исходной обсемененности $(7,2 \pm 8,6) \cdot 10^3$ КОЕ/см³ термофильные формы не обнаружены. Отсутствие термофильных форм дрожжей и термостойкости у плесневых грибов может быть связано с тем, что в исходном молоке присутствовали только вегетативные клетки данных эукариотических микроорганизмов, а не их споры. Практически все выявленные формы дрожжей и плесневых грибов проявляют свойство психротрофности, что полностью соответствует таксономической характеристике данных группы микроорганизмов.

Среди споровых аэробов не обнаружено психротрофных форм, в то же время практически все выявленные микроорганизмы являются термофильными и термоустойчивыми в условиях низкотемпературной пастеризации.

Вышеперечисленные микроорганизмы не представляют проблемы с точки зрения безопасности, хотя относятся к технически вредным микроорганизмам, способным повлиять на качество сыров, вызывая те или иные органолептические пороки при превышении допустимых норм их содержания. Большая часть остаточной микрофлоры является микрофлорой, обеспечивающей процессы созревания сыров совместно с заквасочными микроорганизмами.

Контроль пастеризованного молока на наличие сальмонелл не предусмотрен, и нормы безопасности по отсутствию данных патогенов в том или ином объеме пастеризованного молока не определены, однако подразумевается, что они должны гарантированно отсутствовать. Контроль микробиологической безопасности пастеризованного молока проводится по отсутствию БГКП как основной санитарно-показательной микрофлоры в 10 см³ молока, прошедшего пастеризацию.

Что касается стафилококков как условно патогенных микроорганизмов, то режимы пастеризации молока в сыроделии не обеспечивают полного их уничтожения при высокой первичной обсемененности молока. Поэтому уровень содержания этой группы микроорганизмов в сыром молоке не должен превышать условные границы безопасности, т. е. 10^5 КОЕ/см³.

Все психротрофные формы не термостойки, поэтому в пастеризованном молоке данные микроорганизмы отсутствуют безотносительно к их видовой принадлежности.

Пастеризация не снижает количество спор аэробных и анаэробных микроорганизмов в молоке. Термофильная микрофлора в своем большинстве оказывается и термостойкой, поэтому термофильные палочки и термофильные кокки остаются в молоке после пастеризации и могут стать источником таких пороков сыра, как кислый пустой вкус, излишнее газообразование, грубая, крошливая консистенция и т. д.

4. Заключение

Таким образом, в результате проведенной серии экспериментов и анализа полученных материалов можно сделать следующие общие выводы по термостабильности тест-культур микроорганизмов, значимых для обеспечения качества и безопасности молочных продуктов, в частности сыров, источником которых является сырое молоко:

- из кокковых форм полностью не термостабильны лактококки, частично термостабильны при низкотемпературной пастеризации и высокой исходной дозе обсеменения

- термофильный стрептококк и стафилококки, наибольшей термостабильностью обладают энтерококки;
- из вегетативных палочек лактобациллы оказались не термостойкими, псевдомонады частично термостойки при высоких дозах заражения и низкотемпературной пастеризации, а кишечная палочка при высоких дозах заражения частично сохраняет жизнеспособность как при низкотемпературной, так и при высокотемпературной пастеризации;
 - для споровых мезофильных палочек температуры пастеризации не оказывают летального действия, и их количество в пастеризованном молоке не снижается, независимо от исходной дозы заражения; низкотемпературная пастеризация активизирует процесс прорастания спор кластридий;
 - плесневые грибы обладают большей термостойкостью, чем дрожжи;

- способность к реактивации клеток после термошока наблюдалась только у тест-культур кишечной палочки, стафилококка, псевдомонад и плесневых грибов.

Установлено, что остаточная микрофлора молока, подвергнутого низкотемпературной пастеризации, представлена кокковыми формами, идентифицируемыми как энтерококки, термофильный стрептококк, микрококки и стафилококки; палочковыми аспорогенными формами, идентифицируемыми как термофильные лактобациллы и коринебактерии; споровыми бактериями. Вышеперечисленные микроорганизмы составляют остаточную микрофлору пастеризованного молока и параллельно с заквасочными микроорганизмами участвуют в процессах созревания сыра, определяя его качество и безопасность, а также влияют на хранимоспособность готового продукта.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Stoeckel, M., Lidolt, M., Hinrichs, J. (2016). Modeling milk heating processes for the production of milk shelf-stable without refrigeration. *Chemie Ingenieur Technik*, 89(3), 310–319. <https://doi.org/10.1002/cite.201600067>
2. Dumalisile, P., Witthuhn, R. C., Britz, T. J. (2005). Impact of different pasteurization temperatures on the survival of microbial contaminants isolated from pasteurized milk. *International Journal of Dairy Technology*, 58(2), 74–82. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2005.00189.x>
3. Свириденко, Г. М. (2009). Микробиологические риски при производстве молока и молочных продуктов. Москва: Издательство Россельхозакадемии, 2009.
4. Dervisoglu, M., Aydemir, O. (2006). Physicochemical and microbiological characteristics of Kulek cheese made from raw and heat-treated milk. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23, 451–460. <https://doi.org/10.1007/s11274-006-9246-x>
5. Pearce, L. E., Smythe, B. W., Crawford, R. A., Oakley, E., Hathaway, S. C., Shepherd, J. M. (2012). Pasteurization of milk: The heat inactivation kinetics of milk-borne dairy pathogens under commercial-type conditions of turbulent flow. *Journal of Dairy Science*, 95(1), 20–35. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4556>
6. Dash, K. K., Fayaz, U., Dar, A. H., Shams, R., Manzoor, S., Sundarsingh, A. et al. (2022). A comprehensive review on heat treatments and related impact on the quality and microbial safety of milk and milk-based products. *Food Chemistry Advances*, 1, Article 100041. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2022.100041>
7. Cebrián, G., Condón, S., Mañas, P. (2017). Physiology of the inactivation of vegetative bacteria by thermal treatments: Mode of action, influence of environmental factors and inactivation kinetics. *Foods*, 6(12), Article 107. <https://doi.org/10.3390/foods6120107>
8. Deeth, H. C. (2022). Encyclopedia of Dairy Sciences (Third Edition). Chapter in a book: Heat Treatment of Milk: Pasteurization (HTST) and thermization (LTLT). Academic Press, 645–654.
9. Емельянов, С. А., Храмов, А. Г., Суянов, О. А., Хворостина, Е. Н., Овчарова, Г. П., Белашев, А. Т. и др. (2006). Влияние температуры на развитие микроорганизмов в молоке и молочных продуктах. *Вестник Северо-Кавказского государственного технического университета*, 2, 54–57.
10. Емельянов, С. А. (2006). Микробиологические аспекты использования тепловой обработки молока-сырья. *Вестник Саратовского государственного университета им. Н. И. Вавилова*, 6–2, 15–20.
11. Evelyn, Silva, F. V.M. (2018). Differences in the resistance of microbial spores to thermosonication, high pressure thermal processing and thermal treatment alone. *Journal of Food Engineering*, 222, 292–297. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.11.037>
12. McAuley, C. M., Gobius, K. S., Britz, M. L., Craven, H. M. (2012). Heat resistance of thermophilic enterococci isolated from milk. *International Journal of Food Microbiology*, 154(3), 162–168. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.12.033>
13. Li, R., Shi, Y., Ling, B., Cheng, T., Huang, Z., Wang, S. (2017). Thermotolerance and heat shock protein of *Escherichia Coli* ATCC25922 under thermal stress using test cell method. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 29(2), 91–97. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2016-07-978>
14. Abdalla, M. O. M., Salih, H. M. A. (2020). Effect of heat treatment of milk on the physicochemical, microbiological and sensory characteristics of white cheese (Gibna bayda). *GSC Advanced Research and Reviews*, 3(3), 20–28. <https://doi.org/10.30574/gscarr.2020.3.3.0044>
15. Knight, G. C., Nicol, R. C., McMeekin, T. A. (2004). Temperature step changes: A novel approach to control biofilms of *Streptococcus thermophilus* in a pilot plant-scale cheese-milk pasteurisation plant. *International Journal of Food Microbiology*, 93(3), 305–318. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2003.11.013>
16. Kim, C., Alrefaei, R., Bushlaibi, M., Ndegwa, E., Kaseloo, P., Wynn, C. (2019). Influence of growth temperature on thermal tolerance of leading foodborne pathogens. *Food Science and Nutrition*, 7(12), 4027–4036. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1268>
17. Velliou, E. G., Van Derlinden, E., Cappuyns, A. M., Geeraerd, A. H., Devlieghere, F., Van Impe, J. F. (2012). Heat inactivation of *Escherichia coli* K12 MG1655: Effect of microbial metabolites and acids in spent medium. *Journal of Thermal Biology*, 37(1), 72–78. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2011.11.001>
18. Cebrian, G., Condon, S., Maras, P. (2009). Heat-adaptation induced thermotolerance in *Staphylococcus aureus*: Influence of the alternative factor sigmaB. *International Journal of Food Microbiology*, 135(3), 274–280. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.07.010>
19. Yaniarti, M. N., Amarantini, C., Budiarto, T. Y. (2017). *The effect of temperature and Pasteurization time on Staphylococcus aureus isolates from dairy products*. AIP Conference Proceedings, 1908, Article 050003. <https://doi.org/10.1063/1.5012727>
20. Sorqvist, S. (2003). Heat resistance in liquids of *Enterococcus* spp., *Listeria* spp., *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 44(1), Article 1. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-44-1>
21. Bang, J., Choi, M., Jeong, H., Lee, S., Kim, Y., Ryu, J.-H., Kim, H. (2017). Heat tolerances of *Salmonella*, *Cronobacter sakazakii*, and *Pediococcus acidilactici* Inoculated into Galactooligosaccharide. *Journal of Food Protection*, 80(7), 1123–1127. <https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-16-456>
22. Hanson, M. L., Wendorff, W. L., Houck, K. B. (2005). Effect of heat treatment of milk on activation of *Bacillus* spores. *Journal of Food Protection*, 68(7), 1484–1486. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-68.7.1484>
23. Stoeckel, M., Lücking, G., Ehling-Schulz, M., Atamer, Z., Hinrichs, J. (2016). Bacterial spores isolated from ingredients, intermediate and final products obtained from dairies: thermal resistance in milk. *Dairy Science and Technology*, 96, 569–577. <https://doi.org/10.1007/s13594-016-0279-0>
24. Novak, J. S., Call, J., Tomasula, P., Luchansky, J. B. (2005). An assessment of pasteurization treatment of water, media, and milk with respect to *Bacillus* spores. *Journal of Food Protection*, 68(4), 751–757. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-68.4.751>
25. Stoeckel, M., Abduh, S. B. M., Atamer, Z., Hinrichs, J. (2014). Inactivation of *Bacillus* spores in batch vs continuous heating systems at sterilisation temperatures. *International Journal of Dairy Technology*, 67(3), 334–341. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12134>
26. Fan, L., Hou, F., Muhammad, A. I., Ruiling, L. V., Watharkar, R. B., Guo, M. et al. (2018). Synergistic inactivation and mechanism of thermal and ultrasound treatments against *Bacillus subtilis* spores. *Food Research International*, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.09.052>
27. Ortuzar, J., Martinez, B., Bianchini, A., Stratton, J., Rupnow, J., Wang, B. (2018). Quantifying changes in spore-forming bacteria contamination along the milk production chain from farm to packaged pasteurized milk using systematic review and meta-analysis. *Food Control*, 86, 319–331. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.11.038>
28. Esteban, M.-D., Huertas, J.-P., Fernández, P. S., Palop, A. (2013). Effect of the medium characteristics and the heating and cooling rates on the nonisothermal heat resistance of *Bacillus sporothermodurans* IC4 spores. *Food Microbiology*, 34(1), 158–163. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.11.020>
29. Evelyn, Silva, F. V. M. (2019). Heat assisted HPP for the inactivation of bacteria, moulds and yeasts spores in foods: Log reductions and mathematical models. *Trends in Food Science and Technology*, 88, 143–156. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.03.016>

REFERENCES

1. Stoeckel, M., Lidolt, M., Hinrichs, J. (2016). Modeling milk heating processes for the production of milk shelf-stable without refrigeration. *Chemie Ingenieur Technik*, 89(3), 310–319. <https://doi.org/10.1002/cite.201600067>
2. Dumalisile, P., Witthuhn, R. C., Britz, T. J. (2005). Impact of different pasteurization temperatures on the survival of microbial contaminants isolated from pasteurized milk. *International Journal of Dairy Technology*, 58(2), 74–82. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0307.2005.00189.x>
3. Свириденко, Г. М. (2009). Microbiological risks in the production of milk and dairy products. Moscow: Publishing House of the Russian Agricultural Academy, 2009. (In Russian)
4. Dervisoglu, M., Aydemir, O. (2006). Physicochemical and microbiological characteristics of Kulek cheese made from raw and heat-treated milk. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 23, 451–460. <https://doi.org/10.1007/s11274-006-9246-x>
5. Pearce, L. E., Smythe, B. W., Crawford, R. A., Oakley, E., Hathaway, S. C., Shepherd, J. M. (2012). Pasteurization of milk: The heat inactivation kinetics of milk-borne dairy pathogens under commercial-type conditions of turbulent flow. *Journal of Dairy Science*, 95(1), 20–35. <https://doi.org/10.3168/jds.2011-4556>
6. Dash, K. K., Fayaz, U., Dar, A. H., Shams, R., Manzoor, S., Sundarsingh, A. et al. (2022). A comprehensive review on heat treatments and related impact on the quality and microbial safety of milk and milk-based products. *Food Chemistry Advances*, 1, Article 100041. <https://doi.org/10.1016/j.fcha.2022.100041>
7. Cebrián, G., Condón, S., Mañas, P. (2017). Physiology of the inactivation of vegetative bacteria by thermal treatments: Mode of action, influence of environmental factors and inactivation kinetics. *Foods*, 6(12), Article 107. <https://doi.org/10.3390/foods6120107>
8. Deeth, H. C. (2022). Encyclopedia of Dairy Sciences (Third Edition). Chapter in a book: Heat Treatment of Milk: Pasteurization (HTST) and thermization (LTLT). Academic Press, 645–654.
9. Yemelyanov, S. A., Khrantsov, A. G., Suyunchev, O. A., Khvorostina, E. N., Ovcharova, G. P., Belashev, A. T. et al. (2006). The effect of temperature on the development of microorganisms in milk and dairy products. *Bulletin of the North Caucasus State Technical University*, 2, 54–57 (In Russian)
10. Emelyanov, S. A. (2006). Microbiological aspects of the use of heat treatment of raw milk. *Bulletin of Saratov State Agrarian University named after N. I. Vavilov*, 6–2, 15–20. (In Russian)
11. Evelyn, Silva, F. V. M. (2018). Differences in the resistance of microbial spores to thermosonication, high pressure thermal processing and thermal treatment alone. *Journal of Food Engineering*, 222, 292–297. <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2017.11.037>
12. McAuley, C. M., Gobijs, K. S., Britz, M. L., Craven, H. M. (2012). Heat resistance of thermophilic enterococci isolated from milk. *International Journal of Food Microbiology*, 154(3), 162–168. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2011.12.033>
13. Li, R., Shi, Y., Ling, B., Cheng, T., Huang, Z., Wang, S. (2017). Thermotolerance and heat shock protein of *Escherichia Coli* ATCC25922 under thermal stress using test cell method. *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 29(2), 91–97. <https://doi.org/10.9755/ejfa.2016-07-978>
14. Abdalla, M. O. M., Salih, H. M. A. (2020). Effect of heat treatment of milk on the physicochemical, microbiological and sensory characteristics of white cheese (Gibna bayda). *GSC Advanced Research and Reviews*, 3(3), 20–28. <https://doi.org/10.30574/gscarr.2020.3.3.0044>
15. Knight, G. C., Nicol, R. C., McMeekin, T. A. (2004). Temperature step changes: A novel approach to control biofilms of *Streptococcus thermophilus* in a pilot plant-scale cheese-milk pasteurisation plant. *International Journal of Food Microbiology*, 93(3), 305–318. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2003.11.013>
16. Kim, C., Alrefaei, R., Bushlaibi, M., Ndegwa, E., Kaseloo, P., Wynn, C. (2019). Influence of growth temperature on thermal tolerance of leading foodborne pathogens. *Food Science and Nutrition*, 7(12), 4027–4036. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1268>
17. Velliou, E. G., Van Derlinden, E., Cappuyns, A. M., Geeraerd, A. H., Devlieghere, F., Van Impe, J. F. (2012). Heat inactivation of *Escherichia coli* K12 MG1655: Effect of microbial metabolites and acids in spent medium. *Journal of Thermal Biology*, 37(1), 72–78. <https://doi.org/10.1016/j.jtherbio.2011.11.001>
18. Cebrian, G., Condon, S., Maras, P. (2009). Heat-adaptation induced thermotolerance in *Staphylococcus aureus*: Influence of the alternative factor sigmaB. *International Journal of Food Microbiology*, 135(3), 274–280. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.07.010>
19. Yaniarti, M. N., Amarantini, C., Budiarto, T. Y. (2017). The effect of temperature and Pasteurization time on *Staphylococcus aureus* isolates from dairy products. AIP Conference Proceedings, 1908, Article 050003. <https://doi.org/10.1063/1.5012727>
20. Sorqvist, S. (2003). Heat resistance in liquids of *Enterococcus* spp., *Listeria* spp., *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*, *Salmonella* spp. and *Campylobacter* spp. *Acta Veterinaria Scandinavica*, 44(1), Article 1. <https://doi.org/10.1186/1751-0147-44-1>
21. Bang, J., Choi, M., Jeong, H., Lee, S., Kim, Y., Ryu, J.-H., Kim, H. (2017). Heat tolerances of *Salmonella*, *Cronobacter sakazakii*, and *Pediococcus acidilactici* inoculated into Galactooligosaccharide. *Journal of Food Protection*, 80(7), 1123–1127. <https://doi.org/10.4315/0362-028x.jfp-16-456>
22. Hanson, M. L., Wendorff, W. L., Houck, K. B. (2005). Effect of heat treatment of milk on activation of *Bacillus* spores. *Journal of Food Protection*, 68(7), 1484–1486. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-68.7.1484>
23. Stoeckel, M., Lücking, G., Ehling-Schulz, M., Atamer, Z., Hinrichs, J. (2016). Bacterial spores isolated from ingredients, intermediate and final products obtained from dairies: thermal resistance in milk. *Dairy Science and Technology*, 96, 569–577. <https://doi.org/10.1007/s13594-016-0279-0>
24. Novak, J. S., Call, J., Tomasula, P., Luchansky, J. B. (2005). An assessment of pasteurization treatment of water, media, and milk with respect to *Bacillus* spores. *Journal of Food Protection*, 68(4), 751–757. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-68.4.751>
25. Stoeckel, M., Abduh, S. B. M., Atamer, Z., Hinrichs, J. (2014). Inactivation of *Bacillus* spores in batch vs continuous heating systems at sterilisation temperatures. *International Journal of Dairy Technology*, 67(3), 334–341. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12134>
26. Fan, L., Hou, F., Muhammad, A. I., Ruiling, L. V., Watharkar, R. B., Guo, M. et al. (2018). Synergistic inactivation and mechanism of thermal and ultrasound treatments against *Bacillus subtilis* spores. *Food Research International*, <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2018.09.052>
27. Ortuzar, J., Martinez, B., Bianchini, A., Stratton, J., Rupnow, J., Wang, B. (2018). Quantifying changes in spore-forming bacteria contamination along the milk production chain from farm to packaged pasteurized milk using systematic review and meta-analysis. *Food Control*, 86, 319–331. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.11.038>
28. Esteban, M.-D., Huertas, J.-P., Fernández, P. S., Palop, A. (2013). Effect of the medium characteristics and the heating and cooling rates on the nonisothermal heat resistance of *Bacillus sporothermodurans* IC4 spores. *Food Microbiology*, 34(1), 158–163. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2012.11.020>
29. Evelyn, Silva, F. V. M. (2019). Heat assisted HPP for the inactivation of bacteria, moulds and yeasts spores in foods: Log reductions and mathematical models. *Trends in Food Science and Technology*, 88, 143–156. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.03.016>

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 молочных продуктов, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, 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, Leading Researcher, Head of research on milk microbiology and dairy products, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, 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>Комарова Татьяна Валентиновна — младший научный сотрудник, отдел микробиологии, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-48532-9-81-52 E-mail: t.komarova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7828-3432</p>	<p>Tatyana V. Komarova, Junior Researcher, Department of Microbiology, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-48532-9-81-52 E-mail: t.komarova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7828-3432</p>
<p>Ускова Евгения Евгеньевна — младший научный сотрудник, отдел микробиологии, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-48532-9-81-52 E-mail: e.uskova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0096-6871</p>	<p>Evgeniya E. Uskova, Junior Researcher, Department of Microbiology, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheesemaking 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-48532-9-81-52 E-mail: e.uskova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-0096-6871</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/10.21323/2618-9771-2022-5-4-353-360>

Поступила 25.10.2022

Поступила после рецензирования 16.11.2022

Принята в печать 24.11.2022

© Юрова Е. А., Ананьева Н. В., 2022

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

Обзорная статья

Open access

ПРАКТИКА ПРИМЕНЕНИЯ И ОСОБЕННОСТИ КОНТРОЛЯ ОЛИГОСАХАРИДОВ В ПРОИЗВОДСТВЕ ПРОДУКТОВ СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОГО ПИТАНИЯ. ОБЗОР

Юрова Е. А., Ананьева Н. В.*

Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

функциональные олигосахариды, аналитические методы, фрукто- и галакто- олигосахариды, высокоэффективная жидкостная хроматография, количественная идентификация

АННОТАЦИЯ

К функциональным олигосахаридам относятся различные группы углеводов, обладающих биологической активностью — способностью модулировать кишечную микробиоту за счет пребиотического, антиадгезивного и противовоспалительного действий. Уникальными свойствами олигосахаридов объясняется широкий спектр их применения в молочной промышленности: от пищевых ингредиентов для имитации пребиотической активности олигосахаридов грудного молока в детских сухих молочных смесях до структурирующих добавок, заменителей сахара и жира. При выборе олигосахаридов для включения в молочные продукты оценивают их биологическую активность и технологические свойства, которые зависят от источника и способа выделения этих соединений. Наибольшее распространение получили фруктоолигосахариды, галактоолигосахариды, ксилоолигосахариды и олигосахариды пектинового ряда. Разрабатывая рецептуры продуктов с заявленной биологической эффективностью, нельзя забывать, что потребление больших количеств веществ, обладающих пребиотическими свойствами, может привести к нарушениям работы желудочно-кишечного тракта, что требует внедрения в практику контроля количественного содержания олигосахаридов в составе продуктов. Целью данного обзора является анализ возможностей применения олигосахаридов в производстве специализированных продуктов питания на молочной основе и методов контроля качества, безопасности, эффективности включения в рацион питания такой продукции. В обзоре рассматриваются существующие методы количественной идентификации олигосахаридов, включаемых в состав молочных продуктов в качестве функциональных ингредиентов. Внимание акцентируется на ограничениях внедрения разработанных аналитических методов анализа в повседневную практику контроля олигосахаридов, что связано со сложностью и многокомпонентностью исследуемых пищевых матриц. Показана необходимость дальнейшего совершенствования методов количественной идентификации функциональных олигосахаридов в пищевых продуктах.

Received 25.10.2022

Accepted in revised 16.11.2022

Accepted for publication 24.11.2022

© Yurova E. A., Ananyeva N. V., 2022

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

Review article

Open access

THE PRACTICE OF APPLICATION AND FEATURES OF THE CONTROL OF OLIGOSACCHARIDES IN THE PRODUCTION OF SPECIALIZED FOOD PRODUCTS. A REVIEW

Elena A. Yurova, Natalia V. Ananyeva*

All-Russian Research Institute of Dairy Industry, Moscow, Russia

KEY WORDS:

functional oligosaccharides, analytical methods, fructo- and galactooligosaccharides, high performance liquid chromatography, quantitative identification

ABSTRACT

Functional oligosaccharides include various groups of carbohydrates with the biological activity — an ability to modulate gut microbiota due to the prebiotic, anti-adhesive and anti-inflammatory activities. The unique properties of oligosaccharides explain a wide spectrum of their use in the dairy industry: from food ingredients for imitation of the prebiotic activity of human milk oligosaccharides in infant dry milk mixtures to structuring additives, replacers of sugar and fat. When choosing oligosaccharides for inclusion into dairy products, their biological activity and technological properties that depend on a source and method for extraction of these compounds are assessed. Fructooligosaccharides, galactooligosaccharides, xylooligosaccharides and pectic oligosaccharides have been most widely used. When developing recipes of products with stated biological effectiveness, it is necessary to remember that consumption of large amounts of substances with prebiotic properties can lead to the gastrointestinal disorder, which requires introducing into practice the control of the oligosaccharide quantitative content in the product composition. The aim of this review is analysis of possibilities of using oligosaccharides in production of specialized milk-based food products and methods for controlling quality, safety and effectiveness of inclusion of such products into a diet. The review considers the existing methods for quantitative identification of oligosaccharides included in the composition of dairy products as functional ingredients. The emphasis is made on the limitations of the introduction of the developed analytical methods into routine practice of the oligosaccharide control, which is linked with the complexity and multicomponent nature of the food matrix under study. The necessity of the further improvement of methods for quantitative identification of functional oligosaccharides in foods is shown.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Юрова, Е. А., Ананьева Н. В. (2022). Практика применения и особенности контроля олигосахаридов в производстве продуктов специализированного питания. Обзор. *Пищевые системы*, 5(4), 353-360. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-353-360>

FOR CITATION: Yurova, E. A., Ananyeva N. V. (2022). The practice of application and features of the control of oligosaccharides in the production of specialized food products. A review. *Food Systems*, 5(4), 353-360. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-353-360>

1. Введение

Олигосахариды (ОС) представляют собой гетерогенную группу веществ, отличающихся сложной структурой и вариабельностью строения. Разнообразие объясняется положением связывания ОН-группы, придающей α - или β -конфигурацию молекулам сахаров, а также количеством и положением моносахаридов, которые образуют линейные или разветвленные структуры. В состав олигосахаридов входит от 3 до 10 моносахаридных остатков, отличающихся стереохимически и соединенных гликозидными связями. В качестве моносахаридных единиц олигосахаридов рассматриваются фруктоза, галактоза, глюкоза, ксилоза. Множественные асимметричные центры в молекулах углеводов позволяют образовывать различные изоформы, включая энантиомеры, диастереоизомеры [1].

Структурные модификации молекул объясняют различия в проявляемых ОС свойствах, которые определяются источником и способом выделения сахаров. В многочисленных исследованиях [2,3] акцентируется внимание на биологической функциональности ОС, полученных из грудного молока и молока млекопитающих (коровьего, козьего, верблюжьего). Несмотря на то, что содержание ОС в козьем молоке (0,25–0,3 г/л) в 4–15 раз выше, чем в коровьем (0,03–0,06 г/л) или овечьем (0,02–0,04 г/л) [2], этих количеств недостаточно для реализации предлагаемых технологий выделения ОС из молочного сырья в промышленных масштабах. Самыми богатыми и доступными источниками функциональных ОС считаются растения и водоросли [4]. Разработаны технологии получения ОС путем микробиологического и ферментативного синтеза [5].

Анализ областей применения ОС показывает их растущее значение в медицине, фармацевтике, пищевой промышленности и сельском хозяйстве [6,7,8]. Проявляемый со стороны производителей пищевых продуктов интерес связан с двумя аспектами. Во-первых, ОС обладают функциональной активностью, в первую очередь пребиотическим действием, поэтому их включают в специализированные продукты, в том числе в сухие детские смеси, состав которых максимально приближен к составу грудного молока. Во-вторых, технологические свойства, такие как гелеобразующая и влагоудерживающая способность, повышенная сладость и низкая калорийность, позволяют использовать эти сахара для улучшения сенсорных и структурных характеристик пищевых продуктов.

Из-за сложности строения, структурного разнообразия, наличия сосуществующих изомеров и множества сайтов связности технологии идентификации ОС требуют особого подхода. Тем более, затруднены извлечение и количественное определение этого класса соединений из сложных пищевых матриц вследствие их многокомпонентного состава и возможного взаимодействия ингредиентов между собой. В частности, показано, что ОС могут вступать в различные реакции с участием белков или аминокислот [9].

Возможность полноценного контроля количественного содержания ОС является определяющим фактором в обеспечении безопасности и эффективности специализированных продуктов питания. Кроме того, количественная идентификация играет особую роль при определении параметров извлечения ОС из природного сырья, при разработке рецептур инновационных пищевых продуктов с функциональной активностью, а также при установлении характера деструкции и модификации сахаров в ходе технологического процесса и в условиях длительного хранения продукта.

Целью данного обзора являются изучение способов применения и анализ методов количественной идентификации олигосахаридов в составе специализированных продуктов питания на молочной основе.

2. Объекты и методы

Данное исследование представляет обзор, систематизирующий информацию об источниках и технологиях выделения ОС с акцентом на методы их количественной идентификации в составе молочных продуктов. Поиск научной литературы осуществлялся в базах данных Science Direct и Scopus по запросам: (functional oligosaccharides AND milk product), (quantity analysis AND functional oligosaccharides AND milk product), ({quantity analysis functional oligosaccharides}), (quantity analysis AND fructooligosaccharides AND milk product), (quantity analysis AND galactooligosaccharides AND milk product). Рассматривались публикации, находящиеся в открытом доступе и опубликованные с 2002 по 2022 г. Скрининг и извлечение данных осуществлялись из статей, соответствующих критериям включения и тематике исследования: разделение и очистка, синтез, анализ структуры ОС; биоактивная функция ОС, в частности влияние на кишечную микробиоту; чувствительность и стабильность ОС к технологическим параметрам производства пищевых продуктов; применение ОС как ингредиента для специализированных пищевых продуктов; количественная идентификация ОС, в том числе в естественных источниках (молоке млекопитающих и растениях) и в готовых пищевых продуктах.

3. Производство и контроль качества специализированной продукции, обогащенной олигосахаридами

3.1. Олигосахариды как ингредиенты

специализированных продуктов питания

Стабильность ОС при высоких температурах (до 100 °С) и разных уровнях активной кислотности (2,5–8,0) делают возможным включение функциональных ОС в состав молочных продуктов, в том числе кисломолочных [10,11]. Благодаря повышенной вязкости и высокой влагоудерживающей способности ОС выполняют технологические функции и могут использоваться в качестве желеобразующих агентов, модификаторов вязкости, стабилизаторов пены, заменителей жира, а также для предотвращения таяния мороженого и др. [12,13]. Более того, олигосахариды можно применять в качестве заменителей сахарозы, поскольку они имеют около 30–60% сладости сахарозы и низкую калорийность (4,2–6,3 кДж/г) [14].

В специализированных продуктах питания ОС нашли применение благодаря их биологической активности. ОС с пребиотическими свойствами в неизменном виде проходят через верхние отделы желудочно-кишечного тракта и избирательно метаболизируются кишечной микрофлорой человека, поэтому обеспечивают ряд положительных воздействий на организм. Происходит направленное изменение микробиоценоза кишечника: стимулирование роста и метаболизма полезной микрофлоры, включая бифидо- и лактобактерии, при одновременном подавлении развития и прикрепления к слизистой патогенных микроорганизмов [15]. Также активизируется работа иммунной системы, улучшается всасывание витаминов (D, E) и минеральных веществ (кальция, магния, железа), снижается уровень липопротеидов в крови. Все эти процессы способствуют проявлению противодиабетических, противовоспалительных, противоаллергических [16], антиоксидантных свойств [17].

Особое значение ОС имеют в производстве детских продуктов. Так, для коррекции состава сухих молочных смесей применяют галактоолигосахариды, фруктоолигосахариды, полифруктозу, полидекстрозу и инулин [18]. Кроме того, в коммерческих формулах для новорожденных используют синтезированные аналоги ОС грудного молока.

В зависимости от структурной конформации, ОС по-разному усваиваются в толстой кишке. Например, высокомолекулярные ОС всасываются в верхних отделах, низкомолекулярные — в нижних. Совместное использование различных видов ОС в составе пищевых продуктов позволяет достичь максимального пребиотического эффекта на всей протяженности толстой кишки. Так, галакто- и фруктоолигосахариды включают в состав сухих смесей для детского питания в соотношении 9:1, что соответствует естественному соотношению ОС в грудном молоке. Клинически доказанной эффективностью обладает комплекс коротко- и длинноцепочечных ОС в соотношении 1:1 [19]. Повышение функциональной эффективности пищевых продуктов за счет совместного применения различных видов ОС оборачивается усложнением их контроля, так как требует разработки дифференцированных подходов к количественной идентификации конкретных видов ОС.

3.2. Виды олигосахаридов

Наиболее часто в молочной промышленности используют фруктоолигосахариды и галактоолигосахариды. В качестве перспективных также рассматриваются ксилоолигосахариды и пектиновые ОС [20,21,22]. ОС различаются по сахаридным остаткам (глюкоза, фруктоза, галактоза и ксилоза), гликозидным связям ($\beta(1 \rightarrow 2)$, $\beta(1 \rightarrow 3)$, $\beta(1 \rightarrow 4)$, $\beta(1 \rightarrow 6)$) и степени гетерогенности.

Фруктоолигосахариды (ФОС) состоят из остатка сахарозы и остатков d-фруктозы, соединенных $\beta(1 \rightarrow 2)$ связями. Высокое содержание ФОС отмечается в растениях (топинамбуре, бананах, чесноке, спарже, ячмене, корне цикория, артишоках, пшенице, луке, бобовых), а также меде. ФОС со степенью полимеризации от 3 до 5 получают из свекловичного сахара с использованием фруктозилтрансфераз и других ферментов, синтезируемых плесневыми грибами, дрожжами и бактериями. Применяется технология получения ФОС в комбинации с олигофруктозой в результате гидролиза инулина, содержащегося в клубнях растений. Один из альтернативных способов получения ФОС — ферментативное трансфруктозилирование сахарозы в качестве субстрата с использованием бактериальной β -фруктозидазы [23].

ФОС нашли широкое применение благодаря пребиотическому действию, низкой калорийности, высокой растворимости, термической и кислотной стабильности, гелеобразующей способности. В пищевой промышленности используются ФОС инулинового типа, такие как 1-кесто-за, нистоза и фруктофуранозилнистоза, сладость которых в 0,4–0,6 раза выше, чем у сахарозы [24].

Галактоолигосахариды (ГОС) обычно состоят из остатка глюкозы и 2–5 звеньев галактозы, соединенных гликозидными связями $\beta(1 \rightarrow 2)$, $\beta(1 \rightarrow 3)$, $\beta(1 \rightarrow 4)$, $\beta(1 \rightarrow 6)$. ГОС содержатся в таких продуктах, как бананы, артишоки, лук, чеснок и мед. В промышленных масштабах ГОС получают из подсырной сыворотки путем ферментативного трансгалактозилирования лактозы β -галактозидазой [25]. В результате синтеза получают гетерогенную смесь ГОС, которые различаются по длине цепи и типу гликозидных связей, но всегда содержат лактозу на восстанавливаемом конце молекулы [26]. В качестве источников β -галактозидаз используют *Aspergillus oryzae*, *Lactobacillus reuteri*, *Bacillus circulans*, *Kluveromyces lactis*, *Kluveromyces fragilis*, *Escherichia coli*, *Sporobolomyces singularis*.

ГОС обладают бифидогенной активностью — способствуют увеличению выработки короткоцепочечных жирных кислот, благодаря чему минимизируется риск развития колоректального рака, снижается уровень холестерина в крови. С наличием в рационе питания ГОС связывают усиление иммунного ответа у взрослых и пожилых людей [27].

Олигосахариды этой группы имеют структурное строение, близкое к строению ОС грудного молока, вследствие чего проявляют аналогичные биологические свойства и используются для адаптации состава детских сухих молочных смесей. Кроме того, ГОС не вызывают кариеса, имеют низкую калорийность [10], поэтому в составе специализированных продуктов питания могут выполнять роль заменителей сахара и жира.

Ксилоолигосахариды (КОС) включают остатки D-ксилозы, соединенные $\beta(1 \rightarrow 4)$ связями, со степенью полимеризации 2–10. КОС получают в результате гидролиза ксиланов — основных компонентов растительных гемицеллюлоз. В качестве перспективных источников для выделения КОС рассматриваются кукурузные початки, сахарный тростник, скорлупа фундука и миндаля и др.

КОС обладают более высокой пребиотической активностью по сравнению с другими пребиотиками. Помимо этого, они предотвращают канцерогенез толстой кишки и проявляют противовоспалительные, противоаллергические и антиоксидантные свойства [17]. В пищевой промышленности КОС используются в качестве желирующих агентов, модификаторов вязкости, стабилизаторов пены.

Мальтоолигосахариды (МОС) содержат остатки маннозы и глюкозы, соединенные $\alpha(1 \rightarrow 2)$, $\alpha(1 \rightarrow 4)$ связями. Присутствуют в бактериях, растениях и беспозвоночных, являются субстратом для α -глюкозидазы слизистой оболочки кишечника [28]. В промышленных объемах производятся путем мультиферментативного расщепления крахмала. Разработан способ получения МОС в результате гидролиза пуллулана, продуцируемого некоторыми грибами. МОС нашли применение в пищевой (в качестве подсластителей) и фармацевтической (в качестве стабилизаторов лекарственных средств) промышленности [5].

Изомальтоолигосахариды (ИМО) содержат от 2 до 5 остатков глюкозы, соединенных $\alpha(1 \rightarrow 4)$ связями. В небольших количествах содержатся в меде и ферментированных продуктах. Разработана промышленная технология получения многокомпонентных ИМО (изомальтозы, изомальтотриозы и панозы) из крахмала с использованием комбинации ферментов, а также изомальтулозы. ИМО обладают пребиотической активностью, выполняют функцию подсластителя с низким кариесогенным действием [1].

Олигосахариды раффинозы (ОСР) могут включать в состав глюкозу, галактозу, фруктозу. Стахиоза и другие ОСР с высокой степенью полимеризации, такие как вербаскоза и аджугоза, содержатся в бобовых культурах — сое, люпине и горохе [29]. Выполняют осмопротекторную функцию, отвечают за транспорт и хранение углерода, передачу сигналов, антиоксидантные свойства [30]. ОСР в основном используются в качестве криоконсервантов, для стабилизации белково-липидного комплекса.

Олигосахариды грудного молока (ОМ) включают глюкозу, галактозу, N-ацетилглюкозамин, фукозу, производную N-ацетилнейраминовой кислоты; ОС коровьего молока — глюкозу, галактозу, N-ацетилглюкозамин, N-ацетилгалактозамин, фукозу, сialовые кислоты N-ацетилнейраминовой кислоты, N-гликолинейраминовою кислоту. Содержат либо лактозу, либо N-ацетиллактозамин на восстанавливаемом конце с дополнительными остатками моносахаридов, отходящими от невосстанавливающей галактозы. В некоторых случаях содержат лакто-N-биозные или N-ацетиллактозаминовые звенья, связанные с лактозным ядром. Самая высокая концентрация ОМ обнаруживается в молозиве (20 г/л), которая сокращается до 16 г/л на 30-й день лактации и до 8 г/л через 3 месяца [31].

На практике ОМ достаточно редко получают из естественных источников вследствие низкого содержания ОС

в молочном сырье. Однако показано, что ОМ, выделенные из подсырной сыворотки, обладают пребиотической активностью, способствуют росту младенцев в первые полгода жизни [32].

Некоторые ОМ для промышленного применения производятся с помощью химического и хемоферментативно-го синтеза или биотехнологии. Олигосахариды 2-FL, LNnT, LNT, идентичные ОС грудного молока, выпускаются в промышленных масштабах и используются в детских молочных смесях. Исследования подтверждают эффективность их применения в составе детского специализированного питания, которая проявляется в формировании микробиоты кишечника младенцев, положительном влиянии на иммунную систему и развитии мозга [33, 34].

3.3. Особенности контроля олигосахаридов

Разрабатывая специализированные молочные продукты, содержащие функциональные ингредиенты, в том числе ОС, производители должны иметь в арсенале контроля качества и безопасности методики анализа, позволяющие подтвердить содержание этого ингредиента на должном уровне. Несмотря на то, что безопасность и эффективность применяемых ОС подтверждена клиническими исследованиями [18], чрезмерное потребление ОС может вызвать побочные эффекты, особенно при таких нарушениях работы желудочно-кишечного тракта, как синдром раздраженного кишечника и язвенный колит. При таких состояниях показаны диеты с низким содержанием FODMAPs — ферментируемых олиго-, ди- и моносахаридов и полиолов. Для обеспечения безопасности потребителей требуются дальнейшие исследования биологических эффектов ОС и строгое регулирование их содержания в пищевых продуктах.

Исследования в области разработки методов анализа ОС в составе молочных продуктов должны учитывать наличие ОС как в нативном состоянии в исходном молочном сырье, так и в виде внесенных функциональных ингредиентов. В силу большой специфики состава и строения ОС необходимы методы идентификации конкретных видов сахаров. Для ряда ОС разработаны достаточно достоверные методы анализа, например для ФОС и ОС грудного молока и молока млекопитающих. Но большинство ОС требуют дальнейшего поиска и стандартизации методов количественного определения, особенно с учетом сложности и многокомпонентности молочной основы.

В частности, структурное сходство ГОС с лактозой значительно усложняет и ограничивает возможности использования имеющихся методов анализа. Метод АОАС2001.02 считается единственным валидированным методом определения ГОС в сырье и пищевых продуктах [33]. Позволяет косвенно определить содержание ГОС путем ферментативного гидролиза до глюкозы и галактозы, которые затем количественно определяют с помощью высокоэффективной анионообменной хроматографии с импульсным амперометрическим детектированием (HPLC-RID). Однако наличие высоких уровней лактозы резко снижает точность метода.

Lin et al. [36] предпринимали попытки усовершенствовать этот метод. Для этого содержание галактозы и глюкозы, полученных в ходе ферментативного гидролиза ГОС, определяли в одном и том же хроматографическом цикле. Такой подход исключил необходимость использования поправочного коэффициента. В результате стало возможным учитывать степень конверсии лактозы при расчете содержания ГОС по предложенной формуле. Однако эти достижения не позволяют значительно расширить область применения метода и использовать его для анализа ОС в составе молочных продуктов.

Одна из основных проблем, на которую указывают многие авторы при анализе ОС, — отсутствие доступных коммерческих стандартных образцов для определения конкретных видов ОС. Множество гликозидных связей и трудности экстракции для получения ОС с ненарушенной структурой препятствуют развитию технологий химического синтеза аналитических стандартов высокомолекулярных ОС. В поисках выхода из сложившейся ситуации изучаются возможности извлечения и очистки стандартов ОС в аналитических лабораториях с помощью твердофазной экстракции, высокоэффективной жидкостной хроматографии (HPLC) или их комбинации [37]. Так, например, Li et al. [38] извлекли и очистили стандарты КОС (степень полимеризации 2–6; чистота > 99%) с использованием твердофазной экстракции с последующей хроматографией гидрофильного взаимодействия (HILIC). Полученные стандарты позволили с высокой степенью селективности разделить высокополярные образцы. Для улучшения пикового разрешения короткоцепочечных КОС и ускорения элюирования длинноцепочечных КОС применяли линейное градиентное элюирование 50–75% ацетонитрила. Температура колонки и скорость потока были изменены для улучшения базового разделения, формы пика и разрешения. Исследования в этом направлении требуют дальнейшей проработки, поскольку уровень чистоты синтезируемых таким способом препаратов все еще несопоставим с коммерческими стандартами.

В случае отсутствия аналитических стандартов определять содержание ОС можно в относительных величинах, используя такие показатели, как высота масс-спектрального пика или площадь хроматографического пика. В качестве альтернативы разработаны стратегии дериватизации, позволяющие сравнивать относительное содержание изотопически меченых ОС на основе интенсивности их уникальных масс-спектральных пиков. Некоторые примеры таких подходов включают дериватизацию с восстановительным концом пар образцов гликанов с помощью пары тяжелых/легких меток или серии изобарических реагентов. Так, Sabater et al. [26] определяли содержание ГОС в процентах от общего содержания углеводов с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии с использованием рефрактометрического детектора (HPLC-RID) и метода внешней калибровки. В качестве универсальных стандартов для трисахаридов применялись рафиноза, тетрасахаридов — истахиоза.

Продолжительность процедуры и сложная подготовка образцов, в том числе твердофазная экстракция и дериватизация, стали решающими факторами при определении направлений дальнейшего развития методов анализа ОС. Усилия были направлены на упрощение предварительной обработки образцов, ускорение процессов извлечения аналита и повышение чувствительности методов. Выбор адекватной обработки образца и способа экстракции очень важен для селективного и эффективного извлечения анализируемых веществ, для уменьшения влияния матрицы и повышения чувствительности метода. Такие компоненты специализированных молочных продуктов, как жиры, белки, карбоновые кислоты или полифенолы, усложняют количественное определение ОС. Поэтому они должны быть предварительно удалены из анализируемых образцов. Как один из способов исключения белковой фракции молочных продуктов рассматривается добавление солей цинка и вольфрама в кислой среде с последующим центрифугированием [39]. Alfonso-Muniozguen et al. [40] показали, что фильтрация позволяет получать углеводы высокой чистоты из сложных пищевых матриц и удалять нерастворимые вещества, способные вызывать закупоривание колонок для HPLC. При подготовке образцов для анализа методами HPLC

и анионно-обменной хроматографии ОС экстрагируют с помощью органических растворителей (ацетонитрильные хромофоры, метанол и этанол) в сочетании с центрифугированием и ультрафильтрацией.

Еще одним этапом предварительной обработки образцов является фракционирование, позволяющее обогащать образцы без потери анализируемого вещества. С этой целью используют мембранное фракционирование, включая ультра- и нанофильтрацию, диализ, а также фракционирование углеводов [41].

Анализ ОС осложняется и на этапе детектирования. В основном сахара (за исключением содержащих отрицательно заряженные и легко ионизируемые кислотные группы) не имеют заряда и не содержат хромофоров и флуорофоров, следовательно, не поглощают ультрафиолетовые и видимые длины волн. Поэтому большинство детекторов, обычно используемых совместно с высокоэффективной жидкостной хроматографией, таких как ультрафиолетовый детектор, детектор с фотодиодной матрицей и детектор флуоресценции, неэффективны при анализе ОС [43].

3.4. Методы количественной оценки олигосахаридов

Жидкостная хроматография считается наиболее эффективным методом количественной и качественной идентификации сахаров. Этот метод рекомендован АОАС International в качестве стандартного метода для анализа углеводов [42]. Анализ выполняется относительно быстро, дает точные результаты, применяется в широком диапазоне концентраций.

Рефрактометрический детектор (RID) часто используется при анализе углеводов в сочетании с хроматографическими методами разделения, такими как хроматография исключения и молекулярно-ситовая хроматография, поскольку методы работают с изократическим потоком подвижной фазы [44]. Принцип работы RID основан на измерении показателя преломления элюированного образца по отношению к эталонной ячейке. Детектор RID чувствителен как к изменениям температуры, так и давления. Основным недостатком RID является невозможность его использования в градиентном режиме из-за высокой чувствительности к изменениям состава подвижной фазы, которые могут привести к сдвигам базовой линии [45]. Для обнаружения ОС применяется RID с колонкой из силикагеля, связанного с амином, и подвижной фазой вода-ацетонитрил.

Следуя тенденциям совершенствования методов анализа, исследователи пытались упростить подготовку образцов для изучения методом HPLC-RID и подобрать соответствующие стандартные образцы. Rodríguez-Gómez et al. [39] разработана упрощенная подготовка образцов молока и молочных продуктов для определения ФОС. Для исключения белка и жира использовали осаждающий раствор, состоящий из 495 мМ дигидрата ацетата цинка, 18 мМ фосфотунгстинового гидрата и 8% ледяной уксусной кислоты, который добавляли в гомогенизированные образцы в соотношении 5:1. Линейность калибровочной кривой оценивали с использованием теста несоответствия с доверительным уровнем 95%, при котором для всех стандартов было получено значение $P > 95\%$. Точность метода находилась в допустимых пределах для валидации биоаналитического метода ($\leq 15\%$). Процент извлечения для всех анализируемых веществ был близок к 100, предел обнаружения составил 60 мкг/мл. Среди преимуществ данного метода стоит отметить минимальные подготовительные манипуляции, низкий расход реагентов, высокую селективность.

Центрифугирование и ультрафильтрацию для удаления липидов и белков при определении содержания коммерче-

ских препаратов 2>-FL и 3>-FL методом HPLC-RID в составе ультрапастеризованного молока, йогурта, детских смесей предложили использовать Christensen et al. [48]. Благодаря улучшению разрешения за счет оптимизации состава подвижной фазы, объема впрыска и температуры колонки авторы достигли высоких уровней предела обнаружения: в цельном молоке — 0,1 мг/мл для 2'-FL, 0,2 мг/мл для 3'-FL; в детских смесях — 0,6 мг/мл для обоих видов ОС. Метод характеризовался высокой чувствительностью, показателем линейности $R^2 > 0,9995$ и достаточной степенью извлечения: для 2'-FL — 88–105%, 3'-FL — 94–112%.

Для обнаружения ОС с использованием HPLC в качестве детектора можно применять испарительное рассеяние света (ELSD). Этот метод подходит для углеводов, которые нельзя обнаружить с помощью других детекторов без процесса дериватизации. Метод HPLC-ELSD основан на измерении рассеянного света на твердых частицах анализируемого вещества, образующихся после испарения растворителя. Возможность идентифицировать соединения менее летучие, чем подвижная фаза, обеспечивается рассеиванием фотонов. Jalaludin et al. [47] оценили преимущества и недостатки метода. Из плюсов можно выделить нечувствительность HPLC-ELSD к абсорбции, флуоресценции, электрохимическим свойствам анализируемого вещества и колебаниям температуры, совместимость с градиентным элюированием, среди минусов — необходимость применения нелетучих аналитов и летучих подвижных фаз, в качестве которых наиболее часто рассматривают смеси ацетонитрил-вода или этанол-вода. Важно, что состав подвижной фазы может влиять на отклик детектора: чем выше содержание органики, тем выше отклик. Получаемая нелинейная (сигмоидальная или экспоненциальная) кривая отклика калибровки является еще одним недостатком метода, но количественная оценка может быть достигнута за счет использования полиномиального порядка или билогарифмической калибровочной линии [48].

Данные Zhuang et al. [37] подтверждают более высокую чувствительность HPLC-ELSD по сравнению с HPLC-RID, а также стабильность исходного уровня благодаря совместимости с градиентным элюированием и независимости от температуры. Последующие работы исследователей позволили увеличить чувствительность метода. Например, Nao et al. [49] для этих целей использовали слабоосновную (pH менее 12) подвижную фазу, что улучшало разделение анализируемого вещества благодаря уменьшению хвостов пика, увеличению разрешения пика, поддержанию нейтрального заряда анализируемых веществ и устранению совместного вымывания солей. Среди преимуществ разработанного метода помимо чувствительности можно отметить скорость (продолжительность < 10 мин) и точность (степень извлечения 98,59–103,67%).

Кроме более низкой чувствительности по сравнению с HPLC-ELSD применение HPLC-RID может быть ограничено низкой растворимостью ОС с высокой молекулярной массой в органических растворителях. Такой проблемы не возникает при использовании метода HPAEC-PAD. Charoenwongpaiboon et al. [50] показали, что HPAEC-PAD при количественном определении ФОС в составе молочных продуктов превосходит HPLC-ELSD, поскольку обладает более высокой чувствительностью, широким диапазоном и способен выявлять отдельные конституциональные изомеры. Однако сравнительные данные использования HPLC-ELSD и HPAEC-PAD подтверждают целесообразность внедрения HPLC-ELSD для анализа ОС с низкой и средней молекулярной массой вследствие более короткого времени выполнения анализа. Совершенствуя метод HPAEC-PAD, Cürten et al. [51]

смогли оптимизировать процесс определения КОС, сократив продолжительность анализа. Подобранные температуры и скорости потока колонки наряду с градиентным элюированием 200 мМ раствора гидроксида натрия, 100 мМ раствора гидроксида натрия, 500 мМ ацетатом натрия позволили обеспечить разделение КОС на ксилобиозу, ксилотриозу, ксилотетраозу и ксилопентозу. Предел количественного определения составил 1,05–5,49 мг/л, стандартное отклонение < 1,733.

Ультрафиолетовое и флуоресцентное детектирование может использоваться для определения углеводов только после предварительной химической дериватизации. В качестве реагентов при этом наиболее часто применяют 1-фенил-3-метил-5-пиразолон и этиловый эфир аминобензойной кислоты, которые способны количественно реагировать с углеводами в мягких условиях. В хроматографическом цикле HPLC обычно используют колонку C18 и подвижную фазу, состоящую из смеси фосфатного буфера-ацетонитрила или триэтиламинфосфатного буфера с ацетонитрилом. Castells et al. [52] для образования родственных производных задействовал 1-(4-метоксифенил)-3-метил-5-пиразолон и 4-(3-метил-5-оксо-2-пиразон-1-ил) бензойную кислоту. Однако флуоресцентное и ультрафиолетовое детектирование не нашло широкого применения для определения ОС, поскольку оно ограничено относительно низкой чувствительностью обнаружения, требует длительной подготовки образца и может привести к изменениям в химической структуре сахаров [53].

Нативные ОС в молоке млекопитающих часто анализируются с помощью жидкостной хроматографии/масс-спектрометрии (MS). Метод позволяет провести первоначальное обнаружение, качественную и количественную идентификацию всех видов ОС в рамках одного анализа. Lee et al. [54] с использованием наножидкостной хроматографии в сочетании с высокочувствительной квадрупольно-времяпролетной масс-спектрометрией с высоким разрешением и чувствительностью создали базы данных и библиотеки ОС, которые включают точную массу, время удерживания и тандемные масс-спектры.

Несмотря на практику активного применения HPLC для разделения ОС, Kailemia et al. [55] показали, что хроматография гидрофильного взаимодействия более совместима с MS, что делает этот способ более подходящим для структурного анализа. Авторы продемонстрировали эффективность применения методов лазерной десорбции/ионизации с матрицей (MALDI) и ионизации электрораспылением (ESI) при анализе ОС. Метод характеризуется меньшей фрагментацией ОС во время ионизации по сравнению с ранее использовавшимися способами, такими как бомбардировка быстрыми атомами (FAB). При этом метод MALDI обеспечивает большую чувствительность к ОС с большей массой и лучшую устойчивость к загрязнителям.

Однако различия в эффективности ионизации осложняют количественное определение ОС методом MALDI. Интенсивность анализируемых веществ зависит от распределения образца, облучаемого лазером. Wang et al. [56] пришли к выводу, что равномерная сокристаллизация смесей аналита и матрицы, нанесенных на пластину MALDI, является необходимым условием для количественного исследования ОС и обеспечения точности и воспроизводимости метода.

Эффективность использования лазерной десорбции для контроля качества и безопасности пищевых продуктов с ак-

центом на углеводный состав доказана Qu et al. [57]. Авторы разработали стратегию обнаружения олиго- и полисахаридов, используя их в качестве маркеров для выявления фальсификации крахмального сиропа. Дополнительные спектры, показывающие диагностические фрагментации изомеров ОС, могут выявлять фальсификацию кукурузным и инвертным сиропом.

Sabater et al. [58] предложили использовать газовую хроматографию с пламенно-ионизационным детектором для количественного определения ГОС в детских сухих смесях. Предварительно образцы ГОС подвергались дериватизации до триметилсилилированных оксимов. Авторы продемонстрировали, что гидролиз мальтодекстринов α -амилоглюкозидазой снижает помехи и улучшает разрешение пиков, что позволяет проводить количественную оценку ГОС со степенью полимеризации до 7.

Применение газо-жидкостной хроматографии с масс-спектрометрией и времяпролетной масс-спектрометрией с матрично-активированной лазерной десорбцией/ионизацией для определения ОС неприемлемы, что подтверждается результатами исследований Rodríguez-Gómez et al. [39].

Несмотря на то что капиллярный электрофорез обладает рядом преимуществ (минимальное количество используемых реагентов, высокое пиковое разрешение и чувствительность), отсутствие в молекуле ОС хромоформов значительно ограничивает применение этого метода. Необходимость сложной очистки образца и дериватизации также не позволяет активно внедрять этот метод в повседневную практику. Как пример, капиллярный электрофорез с детектором на фотодиодной матрице использовался для анализа кос-, манно- и целлоолигосахаридов [59]. ОС были разделены и проанализированы без предварительной дериватизации. Электрофоретическую подвижность веществ регулировали с использованием высококонцентрированного фонового электролита для улучшения пикового разрешения между целевыми аналитами. Однако такой способ отличается значительной продолжительностью анализа.

4. Выводы

Благодаря биологической активности и технологическим свойствам, функциональные ОС имеют большой потенциал в качестве ингредиентов, позволяющих адаптировать углеводный компонент продуктов специализированного питания с улучшенными функциональными свойствами на молочной основе. Следует учитывать, что, отдавая предпочтение тому или иному способу количественного определения ОС для подтверждения безопасности и эффективности таких продуктов, придется столкнуться с рядом проблем: для HPLC необходимы сверхчистые органические растворители, что не соответствует принципам «зеленой химии»; применение HILIC ограничено различиями в растворимости молекул ОС; HPAEC-PAD характеризуется значительной продолжительностью анализа; ГХ требует предварительной дериватизации образцов. Для внедрения в повседневную практику контроля молочных продуктов методы количественного определения ОС нуждаются в дальнейшем совершенствовании для обеспечения простоты проведения, исключения трудоемких этапов подготовки образца, сокращения расхода реагентов, повышения чувствительности и снижения стоимости проводимых анализов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК/ REFERENCES

- Gibson, G. R., Hutkins, R., Sanders, M. E., Prescott, S. L., Reimer, R. A., Salminen, S. J. et al. (2017). Expert consensus document: The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics (ISAPP) consensus statement on the definition and scope of prebiotics. *Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology*, 14, 491–502. <https://doi.org/10.1038/nrgastro.2017.75>
- Oliveira, D. L., Wilbey, R. A., Grandison, A. S., Roseiro, L. B. (2015). Milk oligosaccharides: A review. *International Journal Dairy Technology*, 68(3), 305–321. <https://doi.org/10.1111/1471-0307.12209>
- Meyrand, M., Dallas, D. C., Caillat, H., Bouvier, F., Martin, P., Barile, D. (2015) Comparison of milk oligosaccharides between goats with and without the genetic ability to synthesize α 1-casein. *Small Ruminant Research*, 113(2–3), 411–420. <https://doi.org/10.1016/j.smallrumres.2015.03.014>
- Van Laere, K. M. J., Hartemink, R., Bosveld, M., Schols, H. A., Voragen, A. G. J. (2000). Fermentation of plant cell wall derived polysaccharides and their corresponding oligosaccharides by intestinal bacteria. *Journal Agriculture Food Chemistry*, 48(5), 1644–1652. <https://doi.org/10.1021/jf990519i>
- Braga, A., Gomes, D., Rainha, J., Cardoso, B. B., Amorim, C., Silvério, S. C. et al. (2022). Tailoring fructooligosaccharides composition with engineered *Zymomonas mobilis* ZM4. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 106(12), 4617–4626. <https://doi.org/10.1007/s00253-022-12037-3>
- Carneiro, S. B., Duarte, F. I. C., Heimfarth, L., Quintans, J. S. S., Quintans-Júnior, L. J., da Veiga Júnior, V. F. (2019). Cyclodextrin–drug inclusion complexes: In vivo and In vitro approaches. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(3), Article 642. <https://doi.org/10.3390/ijms20030642>
- Ibrahim, O. O. (2018). Functional oligosaccharides: Chemicals structure, manufacturing, health benefits, applications and regulations. *Journal of Food Chemistry & Nanotechnology*, 4(4), 65–76. <https://doi.org/10.17756/jfcn.2018-060>
- Teng, P.-Y., Kim, W. K. (2018). Review: Roles of prebiotics in intestinal ecosystem of broilers. *Frontiers in Veterinary Science*, 5, Article 245. <https://doi.org/10.3389/fvets.2018.00245>
- Daniels, B., Coutsoudis, A., Autran, C., Mansen, K.A., Israel-Ballard, K., Bode, L. (2017). The effect of simulated flash heating pasteurisation and Holder pasteurisation on human milk oligosaccharides. *Paediatrics and International Child Health*, 37(3), 204–209. <https://doi.org/10.1080/20469047.2017.1293869>
- González-Delgado I., López-Muñoz M.-J., Morales G., Segura Y. (2016). Optimisation of the synthesis of high galacto-oligosaccharides (GOS) from lactose with β -galactosidase from *Kluyveromyces lactis*. *International Dairy Journal*, 61, 211–219. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2016.06.007>
- Guimarães, J. T., Silva, E. K., Arruda, H. S., Freitas M. Q., Pastore G. M., Meireles M. A. A. et al. (2020). How does the degree of inulin polymerization affect the bioaccessibility of bioactive compounds from sorpson whey beverage during in vitro gastrointestinal digestion? *Food Hydrocolloids*, 101, Article 105511. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105511>
- De Paulo Farias, D., de Araújo, F. F., Neri-Numa, I. A., Pastore, G. M. (2019). Prebiotics: Trends in food, health and technological applications. *Trends in Food Science & Technology*, 93, 23–35. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2019.09.004>
- Ledomado, L. S., Silva, R., Guimarães, J. T., Balthazar, C. F., Ramos, G. L. P. A., Freitas, M. Q. et al. (2021). Technological benefits of using inulin and xylooligosaccharide in dulce de leche. *Food Hydrocolloids*, 110, Article 106158. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.106158>
- Saad, N., Delattre, C., Urdaci, M., Schmitter, J. M., Bressollier, P. (2013). An overview of the last advances in probiotic and prebiotic field. *LWT – Food Science and Technology*, 50(1), 1–16. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2012.05.014>
- Wilson, B., Whelan, K. (2017). Prebiotic inulin-type fructans and galacto-oligosaccharides: definition, specificity, function, and application in gastrointestinal disorders. *Journal of Gastroenterology and Hepatology*, 32(Suppl 1), 64–68. <https://doi.org/10.1111/jgh.13700>
- Nieto-Domínguez, M., de Eugenio, L. I., York-Durán, M. J., Rodríguez-Colinas, B., Plou, F. J., Chenoll, E. et al. (2017). Prebiotic effect of xylo-oligosaccharides produced from birchwood xylan by a novel fungal GH11 xylanase. *Food Chemistry*, 232, 105–113. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.149>
- de Freitas, C., Terrone, C. C., Forsan, C. F., Milagres, A. M. F., Brienza, M. (2022). Oligosaccharides from Lignocellulosic Biomass and Their Biological and Physicochemical Properties. Chapter in a book: Hemicellulose Biorefinery: A Sustainable Solution for Value Addition to Bio-Based Products and Bioenergy. Clean Energy Production Technologies. Springer, Singapore. https://doi.org/10.1007/978-981-16-3682-0_9
- Closa-Monasterolo, R., Gispert-Llaurado, M., Luque, V., Ferre, N., Rubio-Torrents, C., Zaragoza-Jordana, M. et al. (2013). Safety and efficacy of inulin and oligofructose supplementation in infant formula: results from a randomized clinical trial. *Clinical Nutrition*, 32(6), 918–927. DOI: 10.1016/j.clnu.2013.02.009
- Mensink, M. A., Frijlink, H. W., van der Voort Maarschalk, K., Hinrichs, W. L. J. (2015). Inulin, a flexible oligosaccharide I: Review of its physicochemical characteristics. *Carbohydrate Polymers*, 130, 405–419. DOI: 10.1016/j.carbpol.2015.05.02651
- Babbar, N., Baldassarre, S., Maesen, M., Prandi, B., Dejonghe, W., Sforza, S. et al. (2016). Enzymatic production of pectic oligosaccharides from onion skins. *Carbohydrate Polymers*, 146, 245–252. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2016.03.011>
- Moreno, F. J., Corzo, N., Montilla, A., Villamiel, M., Olano, A. (2017). Current state and latest advances in the concept, production and functionality of prebiotic oligosaccharides. *Current Opinion in Food Science*, 13, 50–55. <https://doi.org/10.1016/j.cofs.2017.02.009>
- Balthazar, C. F., Silva, H. L. A., Vieira, A. H., Neto, R. P. C., Cappato, L. P., Coimbra, P. T. et al. (2017). Assessing the effects of different prebiotic dietary oligosaccharides in sheep milk ice cream. *Food Research International*, 91, 38–46. <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2016.11.008>
- Singh, S. P., Jadaun, J. S., Narnoliya, L. K., Pandey, A. (2017). Prebiotic oligosaccharides: Special focus on fructooligosaccharides, Its biosynthesis and bioactivity. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 183(2), 613–635. <https://doi.org/10.1007/s12010-017-2605-2>
- Sánchez-Martínez, M. J., Soto-Jover, S., Antolinos, V., Martínez-Hernández, G.B., López-Gómez, A. (2020). Manufacturing of short-chain fructooligosaccharides: From laboratory to industrial scale. *Food Engineering Reviews*, 12, 149–172. <https://doi.org/10.1007/s12393-020-09209-0>
- Chanalía, P., Gandhi, D., Attri, P., Dhanda, S. (2018). Purification and characterization of β -galactosidase from probiotic *Pediococcus acidilactici* and its use in milk lactose hydrolysis and galactooligosaccharide synthesis. *Bioorganic Chemistry*, 77, 176–189. <https://doi.org/10.1016/j.bioorg.2018.01.006>
- Sabater, C., Olano, A., Corzo, N., Montilla, A. (2019). GC–MS characterisation of novel artichoke (*Cynara scolymus*) pectic-oligosaccharides mixtures by the application of machine learning algorithms and competitive fragmentation modelling. *Carbohydrate Polymers*, 205, 513–523. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.10.054>
- Fehlbaum, S., Prudence, K., Kieboom, J., Heerikhuisen, M., van den Broek, T., Schuren, F. H. J. et al. (2018). In vitro fermentation of selected prebiotics and their effects on the composition and activity of the adult gut microbiota. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(10), Article 3097. <https://doi.org/10.3390/ijms19103097>
- Lin, S., Mao, S., Guan, Y., Luo, L., Luo, L., Pan, Y. (2012). Effects of dietary chitosan oligosaccharides and *Bacillus coagulans* on the growth, innate immunity and resistance of koi (*Cyprinus carpio koi*). *Aquaculture*, 342–343, 36–41. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2012.02.009>
- den Ende, W. V. (2013). Multifunctional fructans and raffinose family oligosaccharides. *Frontiers in Plant Science*, 4, Article 247. <https://doi.org/10.3389/fpls.2013.00247>
- Sengupta, S., Mukherjee, S., Basak, P., Majumder, A. L. (2015). Significance of galactinol and raffinose family oligosaccharide synthesis in plants. *Frontiers in Plant Science*, 6, Article 656. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00656>
- Davis, J. C. C., Lewis, Z. T., Krishnan, S., Bernstein, R. M., Moore, S. E., Prentice A. M. et al. (2017). Growth and morbidity of gambian infants are influenced by maternal milk oligosaccharides and infant gut microbiota. *Scientific Reports*, 7, Article 40466. <https://doi.org/10.1038/srep40466>
- Bych, K., Mikš, M. H., Johanson, T., Hederes, M. J., Vignsnaes, L. K., Becker, P. (2019). Production of HMOs using microbial hosts – from cell engineering to large scale production. *Current Opinion in Biotechnology*, 56, 130–137. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2018.11.003>
- Weinborn, V., Li, Y., Shah, I. M., Yu, H., Dallas, D. C., German, J. B. et al. (2020). Production of functional mimics of human milk oligosaccharides by enzymatic glycosylation of bovine milk oligosaccharides. *International Dairy Journal*, 102, Article 104583. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2019.104583>
- Bering, S. B. (2018). Human milk oligosaccharides to prevent gut dysfunction and necrotizing enterocolitis in preterm neonates. *Nutrients*, 10(10), Article 1461. <https://doi.org/10.3390/nu10101461>
- Blanco-Morales, V., López-García, G., Cilla, A., Garcia-Llatas, G., Barberá, R., Lagarda, M. J. et al. (2018). The impact of galactooligosaccharides on the bioaccessibility of sterols in a plant sterol-enriched beverage: adaptation of the harmonized INFOGEST digestion method. *Food & Function*, 9(4), 2080–2089. <https://doi.org/10.1039/c8fo00155c>
- Lin, H., Li, S., Xu, C., Pang, M., Wang, S. (2018). Simultaneous determination of galactose, glucose, lactose and galactooligosaccharides in galactooligosaccharides raw materials by high-performance anion-exchange chromatography with pulsed amperometric detection. *Food Chemistry*, 263, 29–36. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.092>
- Zhuang, D., Qin, J., Wang, H.-Y., Zhang, Y., Liu, C.-Y., Ding, Q.-Q. et al. (2019). Oligosaccharide-based quality evaluation of *Actinostichus rhizome* and a strategy for simplifying its quality control. *BMC Chemistry*, 13(1), Article 92. <https://doi.org/10.1186/s13065-019-0605-8>
- Li, F., Wang, H., Xin, H., Cai, J., Fu, Q., Jin, Y. (2016). Development, validation and application of a hydrophilic interaction liquid chromatography–evaporative light scattering detection based method for process control of hydrolysis of xylans obtained from different agricultural wastes. *Food Chemistry*, 212, 155–161. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.05.118>
- Rodríguez-Gómez, R., Jiménez-Díaz, I., Zafra-Gómez, A., Morales, J.C. (2015). Improved sample treatment for the determination of fructooli-

- gosaccharides in milk related products by liquid chromatography with electrochemical and refractive index detection. *Talanta*, 144, 883–889. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2015.07.042>
40. Alfonso-Muniozguren, P., Serna-Galvis, E. A., Bussemaker, M., Torres-Palma, R. A., Lee, J. (2021). A review on pharmaceuticals removal from waters by single and combined biological, membrane filtration and ultrasound systems. *Ultrasonics Sonochemistry*, 76, Article 105656. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2021.105656>
 41. Sousa, Y. R. F., Araújo, D. F. S., Pulido, J. O., Pintado, M. M. E., Martínez-Férez, A., Queiroga, R. C. R. E. (2019). Composition and isolation of goat cheese whey oligosaccharides by membrane technology. *International Journal of Biological Macromolecules*, 139, 57–62. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.07.181>
 42. Zaky, A. S., Pensupa, N., Andrade-Eiroa, Á., Tucker, G. A., Du, C. (2017). A new HPLC method for simultaneously measuring chloride, sugars, organic acids and alcohols in food samples. *Journal of Food Composition and Analysis*, 56, 25–33. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2016.12.010>
 43. Wang, R., Chen, Z. (2017). A covalent organic framework-based magnetic sorbent for solid phase extraction of polycyclic aromatic hydrocarbons, and its hyphenation to HPLC for quantitation. *Microchimica Acta*, 184, 3867–3874. <https://doi.org/10.1007/s00604-017-2408-8>
 44. Galant, A. L., Kaufman, R. C., Wilson, J. D. (2015). Glucose: Detection and analysis. *Food Chemistry*, 188, 149–160. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.04.071>
 45. Hu, L.-J., Li, X.-F., Hu, J.-Q., Ni, X.-J., Lu, H.-Y., Wang, J.-J. et al. (2017). A Simple HPLC–MS/MS method for determination of tryptophan, kynurenine and kynurenic acid in human serum and its potential for monitoring antidepressant therapy. *Journal of Analytical Toxicology*, 41(1), 37–44. <https://doi.org/10.1093/jat/bkw071>
 46. Christensen, A. S., Skov, S. H., Lendal, S. E., Hornshøj, B. H. (2020). Quantifying the human milk oligosaccharides 2'-fucosyllactose and 3-fucosyllactose in different food applications by high-performance liquid chromatography with refractive index detection. *Journal of Food Science*, 85(2), 332–339. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.15005>
 47. Jalaludin, I., Kim, J. (2021). Comparison of ultraviolet and refractive index detections in the HPLC analysis of sugars. *Food Chemistry*, 365, Article 130514. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.130514>
 48. Downes, K., Terry, L. A. (2010). A new acetonitrile-free mobile phase method for LC–ELSD quantification of fructooligosaccharides in onion. *Talanta*, 82(1), 118–124. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2010.04.003>
 49. Hao, Q., Nan, T., Zhou, L., Kang, L., Guo, L., Yu, Y. (2019). Rapid simultaneous quantification of fructooligosaccharides in *Morinda officinalis* by ultra-high performance liquid chromatography. *Journal of Separation Science*, 42(13), 2222–2223. <https://doi.org/10.1002/jssc.201801287>
 50. Charoenwongpaiboon, T., Sitthiyotha, T., Na Ayutthaya, P. P., Wangpaiboon, K., Chunsriviro, S., Prousoontorn, M. H. et al. (2019). Modulation of fructooligosaccharide chain length and insight into the product binding motif of *Lactobacillus reuteri* 121 inulosucrase. *Carbohydrate Polymers*, 209, 111–121. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.12.078>
 51. Cürten, C., Anders, N., Juchem, N., Ihling, N., Volkenborn, K., Knapp, A. et al. (2017). Fast automated online xylanase activity assay using HPAEC–PAD. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 410, 57–69. <https://doi.org/10.1007/s00216-017-0712-0>
 52. Castells, C. B., Arias, V. C., Castells, R. C. (2012). Precolumn derivatization of reducing carbohydrates with 4-(3-Methyl-5-oxo-2-pyrazolin-1-yl) benzoic acid. Study of reaction, high-performance liquid chromatographic separation and quantitative performance of method. *Chromatographia*, 56(3–4), Article 153. <https://doi.org/10.1007/BF02493204>
 53. Kurzyna-Szklarek, M., Cybulska, J., Zdunek, A. (2022). Analysis of the chemical composition of natural carbohydrates – An overview of methods. *Food Chemistry*, 394, Article 133466. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133466>
 54. Lee, H., Cuthbertson, D. J., Otter, D. E., Barile, D. (2016). Rapid screening of bovine milk oligosaccharides in a whey permeate product and domestic animal milks by accurate mass database and tandem mass spectral library. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 64(32), 6364–6374
 55. Kailemia, M. J., Ruhaak, L. R., Lebrilla, C. B., Amster, I. J. (2014). Oligosaccharide analysis by mass spectrometry: A review of recent developments. *Analytical Chemistry*, 86(1), 196–212. <https://doi.org/10.1021/ac403969n>
 56. Wang, J., Zhao, J., Nie, S., Xie, M., Li, S. (2022). MALDI mass spectrometry in food carbohydrates analysis: A review of recent researches. *Food Chemistry*, 399, Article 133968. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2022.133968>
 57. Qu, L., Jiang, Y., Huang, X., Cui, M., Ning, F., Liu, T. et al. (2019). High-throughput monitoring of multiclass syrup adulterants in honey based on the oligosaccharide and polysaccharide profiles by MALDI mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 67(40), 11256–11261. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.9b05317>
 58. Sabater, C., Prodanov, M., Olano, A., Corzo, N., Montilla, A. (2016). Quantification of prebiotics in commercial infant formulas. *Food Chemistry*, 194, 6–11. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2015.07.127>
 59. Hiltunen, S., Sirén, H., Heiskanen, I., Backfolk, K. (2016). Capillary electrophoretic profiling of wood-based oligosaccharides. *Cellulose*, 23, 3331–3340. <https://doi.org/10.1007/s10570-016-1011-1>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p>Юрова Елена Анатольевна — кандидат технических наук, заведующая лабораторией технохимического контроля и арбитражных методов анализа, Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности 115093, Москва, Люсиновская, 35/7 Тел.: +7-916-651-02-37 E-mail: e_yurova@vnimi.org ORCID: http://orcid.org/0000-0003-3369-5673</p> <p>Ананьева Наталья Валентиновна — кандидат технических наук, младший научный сотрудник, лаборатория технохимического контроля и арбитражных методов анализа, Всероссийский научно-исследовательский институт молочной промышленности 115093, Москва, Люсиновская, 35/7 Тел.: +7-916-076-60-68 E-mail: n_ananyeva@vnimi.org ORCID: http://orcid.org/0000-0001-6113-9207 * автор для контактов</p>	<p>Elena A. Yurova, Candidate of Technical Sciences, Head of the Laboratory of technochemical control and arbitration methods of analysis, All-Russian Research Institute of Dairy Industry 35/7, Lucinovskaya str., 115093, Moscow, Russia Tel.: +7-916-651-02-37 E-mail: e_yurova@vnimi.org ORCID: http://orcid.org/0000-0003-3369-5673</p> <p>Natalia V. Ananyeva, Candidate of Technical Sciences, Junior Researcher, Laboratory of technochemical control and arbitration methods of analysis, All-Russian Research Institute of Dairy Industry 35/7, Lucinovskaya str., 115093, Moscow, Russia Tel.: +7-916-076-60-68 E-mail: n_ananyeva@vnimi.org ORCID: http://orcid.org/0000-0001-6113-9207 * corresponding author</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/10.21323/2618-9771-2022-5-4-361-368>



Поступила 02.11.2022

Поступила после рецензирования 21.11.2022

Принята в печать 24.11.2022

© Мордвинова В. А., Топникова Е. В., Данилова Е. С., Остроухова И. Л., 2022

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

Научная статья

Open access

ВЛИЯНИЕ ИЗМЕНЕНИЙ В ЖИРОВОЙ ФАЗЕ НА ОСОБЕННОСТИ ФОРМИРОВАНИЯ ПОКАЗАТЕЛЕЙ КАЧЕСТВА ПОЛУТВЕРДЫХ И ТВЕРДЫХ СЫРОВ

Мордвинова В. А., Топникова Е. В., Данилова Е. С.*, Остроухова И. Л.

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

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

сыр твердый, сыр полутвердый, органолептические свойства, жирнокислотный состав, степень зрелости, кислотное число, число Рейхерта-Мейссля, вкусо-ароматические вещества

АННОТАЦИЯ

Изготовление сыров — это сложный процесс, который сопровождается метаболизмом лактозы, протеолизом и липолизом. Вкусовой букет созревающих сыров формируется в результате изменений всех составных частей молока. На этот процесс влияют условия содержания и кормления жвачного животного, его вид, порода, а также технологические особенности производства сыра. Свой вклад в формирование вкусового букета сыра вносит молочный жир, который в процессе переработки молока на сыр подвергается отдельным изменениям. Исследовали полутвердые сыры — Голландский и Витязь и твердый сыр — Италико, изготовленные из одного и того же молока-сырья с использованием характерной для этих сыров микрофлорой. Температура второго нагревания составляла от 39 °С до 54 °С, в зависимости от вида сыра. Для оценки качества сыров определяли их физико-химический состав и степень зрелости, органолептические показатели и содержание летучих вкусо-ароматических соединений, кислотное число, число Рейхерта-Мейссля и жирнокислотный состав жировой фазы сыров. При сравнительных исследованиях сыров выявлены особенности формирования показателей их качества, обусловленные составом и технологией изготовления. Они проявились во вкусовом букете и консистенции продукта, а также в жирнокислотном составе сыров, подтвердив значимость жировой фазы в формировании качества исследуемых сыров в процессе их выработки, созревания и хранения. Доказано, что даже незначительное повышение кислотного числа жира при выработке всех сыров способствует дальнейшей трансформации образующихся свободных жирных кислот в летучие вкусо-ароматические соединения, принимающие участие в формировании вкуса и аромата готового продукта.

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

Received 02.11.2022

Accepted in revised 21.11.2022

Accepted for publication 24.11.2022

© Mordvinova V. A., Topnikova E. V., Danilova E. S., Ostroukhova I. L., 2022

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

Original scientific article

Open access

IMPACT OF CHANGES IN THE FAT PHASE ON THE PECULIARITIES OF THE FORMATION OF QUALITY INDICATORS OF SEMI-HARD AND HARD CHEESES

Valentina A. Mordvinova, Elena V. Topnikova, Ekaterina S. Danilova*, Irina L. Ostroukhova

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

KEY WORDS:

hard cheese, semi-hard cheese, organoleptic properties, fatty acid composition, degree of maturity, acid number, Reichert-Meissl number, flavoring substances

ABSTRACT

Cheesemaking is a complex process that involves lactose metabolism, proteolysis and lipolysis. The flavor bouquet of ripening cheeses is formed as a result of changes in all the components of milk. The conditions of keeping and feeding a ruminant, its type, breed, as well as the technological features of cheese production influence this process. Milk fat contributes to the formation of the flavor bouquet of cheese, which undergoes separate changes in the stage of milk processing for cheese. We studied semi-hard cheeses — Dutch and Vityaz and hard cheese — Italiko, made from the same raw milk using the microflora characteristic of these cheeses. The temperature of the second heating ranged from 39 °C to 54 °C, depending on the type of cheese. To assess the quality of cheeses, their physical and chemical composition and degree of maturity, organoleptic indicators and the content of volatile flavoring compounds, acid number, Reichert-Meissl number and fatty acid composition of the fatty phase of cheeses were determined. In comparative studies of cheeses, the features of the formation of their quality indicators, due to the composition and manufacturing technology, were revealed. They manifested themselves in the flavor bouquet and texture of the product, as well as in the fatty acid composition of cheeses, confirming the importance of the fat phase in the quality formation of the studied cheeses during their production, ripening and storage. It has been proven that even a slight increase in the acid number of fat during the production of all cheeses contributes to the further transformation of the resulting free fatty acids into volatile flavoring compounds that take part in the formation of the taste and aroma of the finished product.

FUNDING: The article was published as part of the research topic FNEN-2019-0012 of the state assignment of the V. M. Gorbatov Federal Research Center for Food Systems of RAS.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Мордвинова, В. А., Топникова, Е. В., Данилова, Е. С., Остроухова, И. Л. (2022). Влияние изменений в жировой фазе на особенности формирования показателей качества полутвердых и твердых сыров. *Пищевые системы*, 5(4), 361-368. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-361-368>

FOR CITATION: Mordvinova, V. A., Topnikova, E. V., Danilova, E. S., Ostroukhova, I. L. (2022). Impact of changes in the fat phase on the peculiarities of the formation of quality indicators of semi-hard and hard cheeses. *Food Systems*, 5(4), 361-368. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-361-368>

1. Введение

Формирование вкусового букета созревающих сыров — сложный биохимический процесс, в результате которого претерпевают изменения все составные части молока.

При изготовлении сыров протекают три основных биохимических процесса, связанные с превращениями углеводов, белков и жиров [1,2]. Метаболизм лактозы — самый быстротечный процесс, который протекает под действием заквасочной микрофлоры. Вторым процессом является протеолиз. В большинстве твердых сыров отмечают довольно интенсивный протеолиз, который в этой группе сыров осуществляется по тому же механизму, что и в полутвердых сырах, но с разной скоростью вследствие более низкой влажности сырной массы. Основными агентами протеолиза являются молокосвертывающие ферменты, ферменты заквасочных культур и ферменты микроорганизмов остаточной микрофлоры сырого молока. Третьим процессом является липолиз, который может иметь разную степень выраженности — от слабого до умеренного, интенсивного и довольно интенсивного. Он происходит под действием молокосвертывающих ферментов, ферментов, выделяемых микроорганизмами заквасочной и остаточной микрофлоры сырого молока, обладающих различной липолитической активностью [3,4].

Работами А. Thierrya, Y. F. Collins, M. и других исследователей [5,6] показано, что липолиз и катаболизм жирных кислот (ЖК) являются ключевыми процессами созревания и генерируют ароматические соединения, которые считаются важными для большинства сортов созревших сыров. Даже в сыре с низким уровнем липолиза свободные жирные кислоты (СЖК) обычно воспринимаются и могут отвечать либо за ожидаемый баланс вкуса, либо за дефекты вкуса, в зависимости от концентрации СЖК и сорта сыра. СЖК являются предшественниками многих других важных ароматических соединений в сыре, таких как сложные эфиры, метилкетоны, лактоны и вторичные спирты [7,8,9].

Образование СЖК в сырах напрямую зависит от состава жирных кислот и из местоположения в молекулах триглицеридов исходного молочного жира, содержащегося в молоко-сырье. Поэтому жирнокислотный состав различных сыров является предметом изучения ученых из разных стран. Исследования проводятся по различным направлениям, но их результаты иногда носят противоречивый характер. При этом следует отметить, что очевидным является влияние вида и породы жвачного животного, а также условий содержания и кормления на молоко-сырье. Это влияние подтверждается результатами исследований и признается всеми учеными. Однако данные, приводимые в части изменений жировой фазы в зависимости от технологических факторов, не всегда однозначны. Вместе с тем очевидно, что в процессе переработки молока на сыр молочный жир, наряду с другими составными частями молока, подвержен воздействию как биохимических факторов (ферменты заквасочной микрофлоры, дополнительно внесенные липолитические ферменты), так и технологических (температурно-временных) факторов. Поэтому следует ожидать изменения целого ряда показателей качества жировой фазы молока-сырья при его переработке в сыр с возможным влиянием на качество сыра в целом.

Особенностью изготовления созревающих сыров в РФ является использование молока, подвергнутого низкотемпературной обработке (как правило, 72 ± 2 °C) с использованием заквасочной микрофлоры, включающей как мезофильные, так и термофильные лактококки и палочки. Композиционный состав заквасочной микрофлоры обеспечивает разнообразие органолептических показателей сыров [10,11].

Поскольку особая роль в питании человека отводится конъюгированной линолевой кислоте (CLA), итальянскими учеными [12] было изучено ее содержание в 52 итальянских и французских коммерческих сырах. Исследователи сгруппировали их по следующим критериям: (1) сыры, полученные из молока одного и того же вида жвачных животных, но с применением разных технологий производства; (2) сыры, произведенные из молока разных видов жвачных животных (коза, овца, корова), но с использованием сходных процессов производства сыра. Установлено расположение видов жвачных животных в соответствии с возрастающей концентрацией CLA в сыре: коза = корова < овца. В сырах из овечьего молока были самые высокие уровни CLA (9,86 мг/г жира), α -линоленовой кислоты (0,75%) и транс-вакценовой кислоты (1,63%), а также самые низкие содержания линолевой кислоты (1,80%) и олеиновой кислоты (16,83%). Сравнение сыров, полученных из молока одного и того же вида жвачных животных, но с использованием разных технологий производства, выявило статистически значимые различия в профилях жирных кислот, которые могли быть связаны с разной степенью липолиза в сравниваемых сырах. Тем не менее статистически значимых различий в концентрации CLA обнаружено не было; это говорит о том, что факторы, участвующие в процессе производства сыра, как правило, не влияют на содержание CLA в молочном жире. Однако уточнений о том, какие технологические факторы имеют в виду, получить не удалось.

Существует и другое мнение. Исследование польских ученых [4] было направлено на оценку состава жирных кислот в твердых сырах из коровьего, овечьего и козьего молока. Овечьи и козий сыры были более богаты источниками короткоцепочечных жирных кислот (КЦЖК) ($14,73 \pm 2,55\%$ и $14,80 \pm 2,80\%$ соответственно), чем сыры из коровьего молока ($9,38 \pm 0,87\%$). Эти сыры имели значительно более высокое ($p < 0,05$) содержание мононенасыщенных жирных кислот (МНЖК), самое низкое соотношение омега-6/омега-3 и самое высокое содержание жирных кислот. Достоверно более высокое ($p < 0,05$) содержание полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК) обнаружено в овечьих сырах. В козьих сырах было наиболее высокое содержание омега-3. Сделан вывод, что различия в жирнокислотном составе могут быть обусловлены различиями как в составе молока, так и в технологии сыроделия.

Многие исследования посвящены изучению роли свободных жирных кислот в формировании вкусового профиля сыров различных групп.

В работе турецких ученых P. Kara др. [14] показано, что в сыре Afyon Tulum из козьего молока количество летучих жирных кислот ($C_{4:0}-C_{10:0}$) повышалось до 30-х суток ($p < 0,05$) и снижалось к 90-м суткам созревания. Уровни свободных жирных кислот ($C_{12:0}-C_{18:2}$) в основном снижались на 30-е сутки, а к концу периода созревания снова начинали повышаться. К концу шестимесячного созревания в сыре отмечены минимальные уровни содержания жирных кислот $C_{18:1}$ и $C_{4:0}$.

М. С. Qian, Н. М. Burbank [15] изучали содержание свободных жирных кислот в твердых итальянских сырах и их влияние на аромат сыра. Было установлено, что бутановая, гексановая и октановая кислоты часто вызывают прогорклый, «потный», козий и в целом неприятный запах, но эти жирные кислоты также имеют дополнительные дескрипторы аромата, такие как сырный и острый. Эти короткоцепочечные жирные кислоты с четным числом углеродных атомов (от C_4 до C_8) очень желательны в сыре для придания определенных характеристик общему вкусу и аромату.

С другой стороны, СЖК со средней длиной цепи, например, декановая (C₁₀) и додекановая (C₁₂) кислоты, не так желательны из-за их мыльного и воскового аромата. СЖК с более длинной цепью, например, от C₁₄ до C₂₀, практически не имеют запаха, поэтому не способствуют общему аромату пармезана. В работе подтверждено, что СЖК с длиной цепи от C₂ до C₈ важны для аромата для сыров типа пармезан. Помимо их вклада в формирование сырного аромата, в целом, СЖК также являются предшественниками многих других важных ароматических соединений, включая альдегиды, метил кетоны, сложные эфиры и лактоны.

Отдельные жирные кислоты вовлекаются в процесс β-окисления, результатом которого является образование метилкетонов. Свободные ненасыщенные жирные кислоты, особенно линолевая и линоленовая, являются предшественниками C₈ ароматических соединений, относящихся к классу спиртов и образуемых за счет внутримолекулярного окисления. Если в результате гидролиза жира накапливаются свободные гидроксикислоты, входящие в состав молочного жира, то они под действием липоксигеназ или гидратаз микроорганизмов могут легко превращаться в другие ароматические соединения сыра — лактоны [1].

В Российской Федерации в последнее время жирнокислотный состав сыров различных групп был отнесен к критериям идентификации натуральности продукта без учета особенностей его возможных изменений в различных сырах.

Цель данной работы — изучить изменения в жировой фазе выработанных из одного сырья полутвердых и твердых сыров, происходящие под воздействием технологических факторов в процессе их выработки, созревания и хранения, и оценить влияние этих изменений на показатели качества готовых сыров.

2. Объекты и методы

Объектами исследования были сыры, формованные из пласта, с одинаковой массовой долей жира в сухом веществе, но принадлежащие к разным группам по идентификационному показателю массовой доли влаги в обезжиренном веществе: Голландский и Витязь — полутвердые сыры; Италико — твердый сыр.

Для их выработки использовали сырое коровье молоко, полученное от одного стада сельхозпроизводителя Ярославской области, отнесенное к сыропригодному. В соответствии с требованиями ТР ТС 033/2013¹, молоко до переработки в сыры было подвергнуто предварительной тепловой обработке (низкотемпературной пастеризации). Температура пастеризации составляла (72 ± 2) °С.

Технологические режимы обработки соответствовали виду сыра и составу используемой заквасочной микрофлоры. Температуру второго нагревания как фактор обеспечения необходимой степени обезвоживания сырного зерна, а также создания благоприятных условий для развития заквасочной микрофлоры в исследуемых сырах, устанавливали в диапазонах, представленных в Таблице 1.

В сырах в возрасте 45 сут, 75 сут и 120 сут определяли физико-химические показатели (массовую долю влаги и активную кислотность) по ГОСТ Р 55063² и основные органолептические характеристики (вкус и запах, консистенцию и рисунок) по ГОСТ 33630³.

¹ ТР ТС 033/2013 «О безопасности молока и молочной продукции» (Принят Решением Совета Евразийской экономической комиссии от 9 октября 2013 года № 67). Электронный ресурс <https://docs.cntd.ru/document/499050562>. Дата обращения 25 октября, 2022.

² ГОСТ Р 55063–2012 «Сыры и сыры плавленые. Правила приемки, отбор проб и методы контроля». — М.: Стандартинформ, 2013. — 28 с.

³ ГОСТ 33630–2015 «Сыры и сыры плавленые. Методы контроля органолептических показателей». — М.: Стандартинформ, 2016. — 55 с.

Таблица 1. Особенности состава заквасочной микрофлоры и температура второго нагревания для исследуемых сыров

Table 1. Features of the composition of the starter microflora and the temperature of the second heating for the studied cheeses

Наименование сыра	Состав заквасочной микрофлоры	Температура второго нагревания
Голландский (полутвердый)	Мезофильные лактококки: <i>Lc. lactissubsp. lactis</i> , <i>Lc. lactissubsp. cremoris</i> , <i>Lc. lactissubsp. diacetylactis</i> , <i>Leuconostoc lactis</i>	39–40 °С
Витязь (полутвердый)	Мезофильно-термофильная микрофлора: <i>Lc. Lactis subsp. lactis</i> , <i>Lc. Lactis subsp. cremoris</i> , <i>Lc. Lactis subsp. diacetylactis</i> , <i>Leuconostoc lactis</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i>	46–47 °С
Италико (твердый)	Термофильная микрофлора: <i>Str. thermophilus</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> и <i>Lactobacillus delbrueckii subsp. lactis</i>	52–54 °С

Степень зрелости сыров определяли по буферности водорастворимой фракции белков⁴. Массовую долю жира зрелых сыров в пересчете на сухое вещество определяли кислотным методом, а массовую долю поваренной соли — кондуктометрическим методом в соответствии со стандартизованными в ГОСТ Р 55063 методиками².

Показатели качества жировой фазы сыров: число Рейхерта–Мейссля определяли методом титрования водорастворимых летучих жирных кислот, выделенных из омыленного жира перегонкой с водяным паром по ГОСТ Р 70238⁵, а кислотное число жира — титриметрическим методом по ГОСТ Р 50457⁶.

В процессе выработки, созревания и хранения полутвердых и твердых сыров исследовали жирнокислотный состав и динамику накопления вкусо-ароматических веществ в паровой фазе сыра. Метилловые эфиры жирных кислот получали по ГОСТ 31665⁷ переэтерификацией с метанольным раствором метилата натрия. Определение жирнокислотного состава проводили методом газовой хроматографии по ГОСТ 32915⁸. Применяли газовый хроматограф «Хромос ГХ-1000» (ООО «Хромос», Россия), колонку CP — Sil 88 for FAME100 m × 0.25 mm × 0.2 μm (Agilent Technologies, США). Объем вводимой пробы — 1 мм³; температура инжектора — 220 °С; программа термостата: 1) 100 °С — 4 мин, с повышением температуры на 5 °С в течение 20 мин; 2) 170 °С — 20 мин, с повышением температуры на 5 °С в течение 9 мин; 3) 215 °С — 30 мин (продолжительность анализа — 77 мин); газ-носитель — азот. Идентификацию метиловых эфиров жирных кислот проводили по стандартной смеси Supelko 37 Component FAME Mix (Supelko, США). Расчет полученных данных проводили методом внутренней нормализации в программе «Хромос».

Вкусо-ароматические вещества (ВAB) в сырах определяли методом парофазной хроматографии. Для проведения исследований использовали: газовый хроматограф «Цвет-800»

⁴ МИ буферности сыра титриметрическим методом с визуальной индикацией точки конца титрования № ФР .1.31.2018.31538

⁵ ГОСТ Р 70238–2022 «Молоко и молочная продукция. Метод идентификации состава жировой фазы и определение массовой доли молочного жира». — М.: Стандартинформ, 2022. — 24 с.

⁶ ГОСТ Р 50457–92 (ИСО 660–83) Жиры и масла животные и растительные. Определение кислотного числа и кислотности. — М.: Госстандарт России, 1994. — 7 с.

⁷ ГОСТ 31665–2012 «Масла растительные и жиры животные. Получение метиловых эфиров жирных кислот». — М.: Стандартинформ, 2019. — 8 с.

⁸ ГОСТ 32915–2014 «Молоко и молочная продукция. Определение жирнокислотного состава методом газовой хроматографии». — М.: Стандартинформ, 2019. — 10 с.

(ОАО «Цвет», г. Дзержинск, Россия) с устройством равновесного пара «Фаза» для отбора пара, находящегося в термодинамическом равновесии с последующим дозированием отобранного пара в аналитическую колонку газового хроматографа; колонка стеклянная (длина 2 м, внутренний диаметр 2 мм) с насадкой OV-210 на хроматоне N-AW-HMD (0,16–0,20 мм). Условия проведения анализа: температура термостатирования колонок — 70 °С; температура испарителя — 90 °С; температура переходной камеры — 90 °С; расход газа-носителя (азота) — 30 см³/мин, водорода — 30 см³/мин, воздуха — 300 см³/мин. Общее содержание летучих ВАВ вычисляли как среднее арифметическое суммы площадей всех пиков на хроматограмме по результатам двух параллельных определений каждого испытуемого образца. Массовую долю индивидуальных летучих компонентов в процентах вычисляли методом нормализации площадей газохроматографических пиков. Анализировали пробу исследуемого объекта массой 3 г, предварительно измельченную и нагретую на водяной бане до 50 °С. Непосредственно перед проведением анализа пробу встряхивали для установления термодинамического равновесия. Длительность анализа — 900 сек. Обработку полученных данных проводили методом внутренней нормализации с помощью программы «Цвет-Аналитик» с последующей идентификацией соответствующих пиков.

3. Результаты и обсуждение

Использованное сырье и режимы обработки позволили получить полутвердые и твердые сыры с характерными для них физико-химическими показателями как после пресса, так и после созревания и хранения. Массовая доля жира в сухом веществе в зрелых сырах составляла $45,0 \pm 0,7\%$, массовая доля соли в сыре Витязь была $1,70 \pm 0,08\%$, в остальных сырах — $1,80 \pm 0,08\%$.

Степень зрелости исследованных полутвердых сыров соответствовала показателю 85–90 °Б для Витязя, 65–75 °Б — для Голландского и 110–115 °Б — для твердого сыра Италико, что соответствовало показателям кондиционной зрелости. Число Рейхерта-Мейссля жировой фазы зрелых сыров составляло от 22,1 до 25,5 и соответствовало показателям для натурального сыра. Данные по массовой доле влаги и pH в процессе созревания и хранения сыров приведены в Таблице 2.

Анализ результатов Таблицы 2 показал, что по массовой доле влаги и уровню молочнокислого процесса все сыры соответствовали особенностям своей видовой группы (полутвердые с низкой и средней температурой второго нагревания и твердые сыры).

Органолептическая оценка полутвердых сыров проводилась в возрасте кондиционной зрелости, т. е. по окончании созревания. Для сыров Голландский и Витязь кондиционная зрелость наступает в 45 сут, а для твердого сыра Италико — в 120 сут. Дополнительно сыры Голландский и Витязь контролировались в процессе хранения (в возрасте 75 и 120 суток). Контрольная точка для сыра Италико в возрасте 75 сут соответствовала «молодому» сыру. Результаты исследований вкуса, запаха, рисунка и цвета сыров приведены в Таблице 3.

Результаты органолептической экспертизы показали, что полутвердые сыры (Голландский и Витязь) в возрасте кондиционной зрелости имели выраженные характеристики вкуса с характерными нотами. Однако при хранении сыров имели место отличия в сохранности качества. Так, в сыре Витязь через 30 сут хранения было отмечено появление во вкусе легких посторонних привкусов, являющихся показателями признаков перезрелости. При дальнейшем хранении эти признаки прогрессировали, что привело к снижению балловой оценки сыра за вкус.

Таблица 2. Физико-химические показатели сыров

Table 2. Physical and chemical indicators of cheeses

Наименование сыра	Возраст сыра, сут					
	45		75		120	
	м.д. влаги, %	pH, ед. pH	м.д. влаги, %	pH, ед. pH	м.д. влаги, %	pH, ед. pH
<i>Голландский (полутвердый)</i>	40,6±0,4	5,26±0,06	39,7±0,4	5,24±0,06	37,4±0,4	5,29±0,06
<i>Витязь (полутвердый)</i>	40,0±0,4	5,78±0,06	39,2±0,4	5,65±0,06	37,1±0,4	5,68±0,06
<i>Италико (твердый)</i>	38,4±0,4	5,86±0,06	36,7±0,4	5,82±0,06	35,2±0,4	5,65±0,06

Таблица 3. Органолептическая оценка сыров

Table 3. Organoleptic evaluation of cheeses

Наименование сыра	Возраст сыра, сут		
	45	75	120
	Характеристика вкуса и запаха		
<i>Сыр Голландский</i>	Выраженный сырный, острый, гармоничный	Выраженный сырный, слегка кисловатый	Выраженный сырный, с признаками перезрелости
<i>Сыр Витязь</i>	Выраженный сырный, легкая пряность, кисловатость	Выраженный сырный, пряноватый, легкая горчинка, легкий посторонний	Выраженный сырный, пряноватый, легкая горчинка, легкая кислинка, признаки перезрелости
<i>Сыр Италико</i>	—	Слабовыраженный сырный, чистый, легкая пряность	Выраженный сырный, чистый, в послевкусии сливочность, легкая пряность, легкая фруктово-сть
Консистенция			
<i>Сыр Голландский</i>	Слегка пластичная	Излишне пластичная, слегка вязкая	Излишне пластичная
<i>Сыр Витязь</i>	Слегка пластичная, элементы вязкости, легкая мучнистость	Вязкая, мучнистая	Вязкая
<i>Сыр Италико</i>	—	Эластичная, слегка резиновая	Эластичная, слегка плотная, хорошо расходуется

Рисунок соответствует виду исследуемого сыра

Признаки перезрелости выявились и в консистенции этого сыра, что выразилось в появлении вязкости и ее усилении в процессе дальнейшего хранения сыра. Необходимо отметить, что в составе заквасочной микрофлоры сыра Витязь, наряду с мезофильными лактококками, присутствовала термофильная палочка *Lactobacillus helveticus*, которая отличается более активными протеолитическими свойствами по сравнению с мезофильными лактококками. Ее наличие отразилось не только на вкусе, но и на консистенции сыра.

Сыр Голландский показал более высокую хранимостпособность как по оценке вкуса, так и консистенции. К концу периода наблюдений сыр приобрел признаки выдержанного сыра с высокой балловой оценкой.

Общее содержание летучих ВАВ в процессе хранения сыра Голландский увеличилось в 1,1 раза, в составе преобладали альдегиды, присутствовали спирты, летучие кислоты и кетоны. В сыре Витязь в процессе 60-суточного хранения количество летучих ВАВ увеличилось в 1,2 раза, по мере дальнейшего хранения произошло их снижение, что может быть связано с трансформацией летучих веществ в нелетучие. В их составе преобладали спирты и альдегиды, присутствовали кислоты и кетоны. Количество летучих кислот в паровой фазе сыра Витязь было выше, чем в сыре Голландский.

Сыр Италико в кондиционном возрасте 120 сут имел характеристики традиционного выдержанного сыра с выраженным сырным вкусом, гармоничным вкусовым букетом с нотами сливочности, легкой пряности и фруктовоности, которых еще не было в «молодом» сыре. К этому возрасту общее содержание летучих вкусо-ароматических веществ в сыре увеличилось в 2,7 раза по сравнению с сыром в 45-суточном возрасте. В составе летучих ВАВ преобладали спирты и альдегиды, присутствовали кислоты и кетоны, спектр которых был более разнообразным. Консистенция сыра Италико к концу исследуемого периода соответствовала характерным для твердых сыров характеристикам: эластичная, слегка плотная, но хорошо расходящаяся в полости рта после его разжевывания.

Изменения жирнокислотного состава жировой фазы сыров оценивали в динамике, начиная с молока-сырья, затем в сырах после прессования и в возрасте 30, 45, 60 и 120 суток. Сыр Италико дополнительно исследовался в 6 месяцев.

Исследования ЖКС показали, что при выработке исследуемых сыров из одного и того же молока-сырья наблюдаются тенденции к изменению содержания отдельных жирных кислот и их основных групп. Эти изменения, по-видимому, связаны с механическим и ферментативным воздействием на жир молока при изготовлении сыра. Описанные процессы приведены в исследованиях отечественных и зарубежных ученых [17,18,19,20,21].

Изменения групп основных жирных кислот (низкомолекулярных, насыщенных, мононенасыщенных, полиненасыщенных и прочих) в процессе выработки, созревания и хранения сыров, изготовленных из одного молока-сырья, отражены в Таблице 4.

Из данных Таблицы 4 видно, что существенные изменения в большей степени касаются низкомолекулярных жирных кислот (C_4-C_{10}):

- в 60 суток для сыра Витязь отмечалось повышение массовой доли низкомолекулярных жирных кислот на 23,1% от первоначального их содержания в молоко-сырье, а в сравнении со 120 сутками хранения этот показатель уменьшился на 11,9% к предыдущей точке контроля;
- для Голландского сыра от исходного молока-сырья до 45 суток созревания повышение массовой доли низкомолекулярных жирных кислот (C_4-C_{10}) составило 16%, на

60 и 120 сутки этот показатель снизился и приблизился к первоначальному их значению в использованном для выработки молоке;

- для сыра Италико рост C_4-C_{10} составил 25,4% от первоначального их содержания в молоке. При исследовании данного образца в 6 месяцев, по сравнению со 120 сутками хранения, отмечено снижение этой группы жирных кислот на 5,5%.

Таблица 4. Изменение состава жировой фазы при выработке сыров разных групп из одного молока-сырья (среднее по трем повторностям)

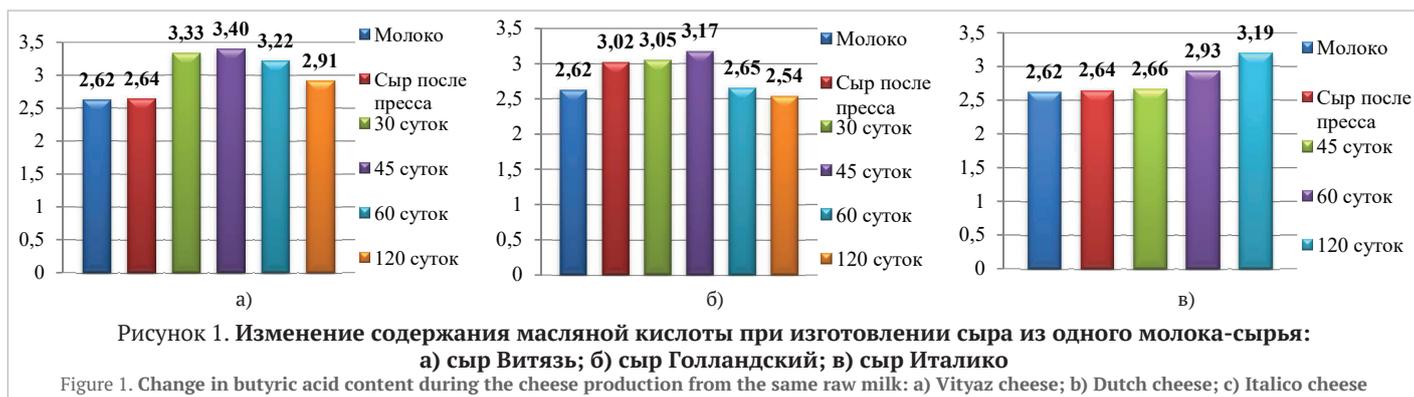
Table 4. Changes in the composition of the fat phase during the production of cheeses of different groups from the same raw milk (average over three repetitions)

Суммы метиловых эфиров жирных кислот	Массовая доля метиловых эфиров жирных кислот, %						
	Молоко	Сыр после пресса	30 суток	45 суток	60 суток	120 суток	6 месяцев
Для сыра Витязь							
Низкомолекулярные	8,63	8,96	10,07	10,32	10,62	9,36	—
Насыщенные	65,04	64,57	65,27	64,65	66,24	65,10	—
Мононенасыщенные	26,59	26,94	26,31	26,84	25,62	26,56	—
Полиненасыщенные	4,75	4,91	4,80	4,93	4,59	4,80	—
Прочие	3,62	3,58	3,62	3,58	3,55	3,54	—
Для сыра Голландский							
Низкомолекулярные	8,63	9,66	9,69	10,01	8,77	8,78	—
Насыщенные	65,04	65,08	64,53	64,99	65,12	65,57	—
Мононенасыщенные	26,59	26,57	26,62	26,63	26,64	26,1	—
Полиненасыщенные	4,75	4,79	5,06	4,82	4,78	4,72	—
Прочие	3,62	3,56	3,79	3,56	3,46	3,61	—
Для сыра Италико							
Низкомолекулярные	8,63	8,63	—	8,99	9,30	10,82	10,23
Насыщенные	65,04	65,13	—	64,71	64,61	66,57	69,14
Мононенасыщенные	26,59	26,85	—	26,69	27,04	25,41	22,69
Полиненасыщенные	4,75	4,82	—	4,90	4,87	4,48	3,26
Прочие	3,62	3,20	—	3,70	3,48	3,54	4,91

В процессе полного цикла исследований для сыра Италико отмечена динамика повышения насыщенных жирных кислот и снижения суммы ненасыщенных жирных кислот. Для сыров Витязь и Голландский, по сравнению с жирнокислотным составом исходного молока-сырья, кроме низкомолекулярных и полиненасыщенных ЖК, существенных изменений в остальных группах не отмечено.

При обработке полученных данных по жирнокислотному составу было установлено, что наибольшим изменениям среди низкомолекулярных жирных кислот в процессе выработки, созревания и хранения подвергается масляная кислота (Рисунок 1), что согласуется с данными других исследователей [20,22,23].

Количество масляной кислоты под воздействием комплекса технологических и микробиологических факторов в процессе выработки и созревания сыров повысилось на 1,5–27,1%. На стадии созревания механизм изменения масляной кислоты в жировой фазе сыров Витязь и Голландский был идентичен, отличия имели только цифровые показатели, которые к концу хранения снизились на 12,6–16,7%. В процессе выработки сыров полутвердых Витязь и Голландский от молока до конца созревания 30 и 45 сут содержание масляной кислоты повышалось, а затем по мере увеличения срока выдержки 60 и 120 сут постепенно снижалось.



В процессе выработки сыра твердого Италико содержание масляной кислоты от молока-сырья до 120 суток увеличивалось на 21,8%, в 6 месяцев наблюдалась небольшая тенденция к снижению ее количества.

Результаты приведенных исследований указывают на изменения в жирнокислотном составе, происходящие при производстве, созревании и хранении разных видов сыров. При изготовлении твердых сыров происходят более глубокие изменения жирнокислотного состава жира, чем при производстве полутвердых сыров с низкой и средней температурой второго нагревания. Они выражаются в повышении доли низкомолекулярных жирных кислот, особенно масляной, и в снижении доли моно- и полиненасыщенных жирных кислот. Эти изменения связаны с воздействием на жировую фазу липолизических ферментов, приводящих к частичному липолизу молочного жира и способствующих дальнейшей трансформации свободных жирных кислот в другие продукты липолиза.

Кислотное число жира (КЧ), выделенного из нормализованных смесей для сыра, составило 0,4–0,6 мг КОН/1 г. Кислотное число жира, выделенного из исследуемых сыров, приведено в Таблице 5.

Таблица 5. Изменение кислотного числа жира в процессе выработки, созревания и хранения разных сыров

Table 5. Changes in the acid number of fat during the production, ripening and storage of various cheeses

Объект исследования	Показатели кислотного числа, мг КОН/1 г жира		
	Сыр Витязь	Сыр Голландский	Сыр Италико
Жировая фаза сыра после пресса	0,6±0,1	0,4±0,1	0,6±0,1
30 суток	0,7±0,1	0,6±0,1	0,6±0,1
45 суток	0,7±0,1	0,7±0,1	0,7±0,1
60 суток	0,7±0,1	0,7±0,1	0,7±0,1
120 суток	0,8±0,1	0,7±0,1	0,7±0,1
6 месяцев	—	—	0,7±0,1

Из Таблицы 5 видно, что при выработке всех сыров из одного молока-сырья кислотное число жира повышалось, хотя и не существенно — на 0,1–0,3 мг КОН/1 г жира от первоначального его значения в нормализованной смеси для сыра. Образующиеся при гидролизе жира свободные жирные кислоты подвергались дальнейшей трансформации с образованием вкусо-ароматических соединений, участвующих в формировании вкусового букета продукта. Изменения в жировой фазе также оказали влияние на характеристики консистенции сыров.

4. Выводы

Исследованиями показано, что при выработке сыра из одного и того же молока-сырья определенное влияние на формирование качества оказывают параметры технологического процесса: температура второго нагревания и состав заквасочной микрофлоры, массовая доля влаги в сыре. Тенденция к повышению кислотного числа жира при выработке сыров из одного молока-сырья характеризует начало липолиза в жире, который в дальнейшем приводит к образованию вкусо-ароматических соединений, участвующих в формировании вкусового букета продукта. Изменения в жировой фазе, протекающие наряду с изменениями в белковой фазе сыра, оказывают влияние на консистенцию сыров.

Результатами исследований подтверждены различия в формировании жирнокислотного профиля сыров, выработанных с применением различающихся по составу заквасочных микроорганизмов. Установлено, что при производстве твердых сыров происходят более глубокие изменения жирнокислотного состава жира, чем при изготовлении полутвердых сыров с низкой и средней температурой второго нагревания. Данные изменения связаны с повышением доли низкомолекулярных жирных кислот, что особенно отражается на показателе масляной кислоты и на снижении доли моно- и полиненасыщенных жирных кислот. Наибольшие количественные изменения в процессе выработки, созревания и хранения сыров, независимо от вида сыра, характерны для масляной кислоты.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- McSweeney, P. L. H., Fox, P. F., Cotter, P. D., Everett, D. W. (2017). Cheese: Chemistry, physics and microbiology. Vol. 1: General aspects. London; San Diego, CA: Academic Press, 2017.
- Scott, R., Robinson, R.C., Wilby, R. A. (1998). Cheesemaking Practice. Springer New York, NY, 1998.
- Ferlay, A., Martin, B., Pradel, Ph., Coulon, J.B., Chilliard, Y. (2006). Influence of grass-based diets on milk fatty acid composition and milk lipolytic system in tarentaise and montbéliarde cow breeds. *Journal of Dairy Science*, 89(10), 4026–4041. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72446-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72446-8)
- Paszczyk, B., Łuczynska, J. (2020). The comparison of fatty acid composition and lipid quality indices in hard cow, sheep, and goat cheeses. *Foods*, 9(11), Article 1667. <https://doi.org/10.3390/foods9111667>
- Collins, Y. F., McSweeney, P. L., Wilkinson, M. G. (2003). Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. *International Dairy Journal*, 13(11), 841–866. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\)00109-2](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00109-2)
- Thierry, A., Collins, Y. F., Mukdsi, M. A., McSweeney, P. L., Wilkinson, M. G., Spinnler, H. E. (2017). Lipolysis and metabolism of fatty acids in cheese. Chapter in a book: Cheese. Academic Press, 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00017-X>
- Serrapica, F., Masucci, F., Di Francia, A., Napolitano, F., Braghieri, A., Esposito, G. et al. (2020). Seasonal variation of chemical composition, fatty acid profile, and sensory properties of a mountain pecorino cheese. *Foods*, 9(8), Article 1091. <https://doi.org/10.3390/foods9081091>

8. Chavarri, F., Virto, M., Martin, C., Nájera, A. I., Santisteban, A., Barrón, L. J. et al. (1997). Determination of free fatty acids in cheese: comparison of two analytical methods. *Journal of Dairy Research*, 64(3), 445–452. <https://doi.org/10.1017/S0022029997002197>
9. Gioacchini, A. M., De Santi, M., Guescini, M., Brandi, G., Stocchi, V. (2010). Characterization of the volatile organic compounds of Italian 'Fossa' cheese by solid-phase microextraction gas chromatography/mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 24(23), 3405–3412. <https://doi.org/10.1002/rcm.4782>
10. Романова, Н. В., Иванова, Е. В., Терентьев, С. Е. (2020). Подбор заквасок прямого внесения для твердых сыров. *Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий*, 82(1(83)), 187–193. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2020-1-187-193>
11. De Luca, V., Perotti, M. C., Wolf, I. V., Meinardi, C. A., Mandrich, L. (2018). The addition of the thermophilic esterase EST2 influences the fatty acids and volatile compound profiles of semi hard cheeses. *Food Science and Technology*, 39, 711–720. <https://doi.org/10.1590/fst.06018>
12. Prandini, A., Sigolo, S., Piva, G. (2011). A comparative study of fatty acid composition and CLA concentration in commercial cheeses. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(1), 55–61. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2010.04.004>
13. Kara, R., Bulut, S., Akkaya, L. (2014). Determination of fatty acid composition of afyon tulum cheese. *Journal of Food and Nutrition Research*. 2(1), 17–20. <https://doi.org/10.12691/jfnr-2-1-3>
14. Qian, M. C., Burbank, H. M. (2007). Hard Italian cheeses: Parmigiano-reggiano and grana padano. *Improving the Flavour of Cheese*, 421–443. <https://doi.org/10.1533/9781845693053.4.421>
15. Topnikova, E. V., Mordvinova, V. A., Sviridenko, G. M., Danilova, E. S. (2019). Study of fatty acid of milk for cheese production. *Food Systems*, 2(4), 34–37. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2019-2-4-34-37>
16. Уманский, М. С. (2000). Селективный липолиз в биотехнологии сыра. Барнаул: 2000.
17. Горбатова, К. К. (2004). Химия и физика молока. Санкт-Петербург: ГИОРД, 2004.
18. Töpel, A. (2007). Chemistry and physics of milk: natural product, raw materials, food products. Behr, Germany, 2007. (In German)
19. Тихомирова, И. А., Аксенова, В. П., Андрюхина, О. Л. (2016). Современные технологии управления процессами обеспечения качества молока. *Вестник Всероссийского научно-исследовательского института механизации животноводства*, 3(23), 42–50.
20. Bešić, A., Hrapović, E., Čaklović, K., Rahmanović, B. (2022). *Microbiological safety of dairy products of individual producers that are not under the supervision of veterinary and sanitary inspection in FB&H*. 10th Central European Congress on Food. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-5-031-04797-8_28
21. Trbović, D., Petronijević, R., Đorđević, V. (2017). *Chromatography methods and chemometrics for determination of milk fat adulterants*. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 85(1), Article 12025. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/85/1/012025>
22. Temizkan, R., Can, A., Dogan, M. A., Mortas, M., Ayvaz, H. (2020). Rapid detection of milk fat adulteration in yoghurts using near and mid-infrared spectroscopy. *International Dairy Journal*, 110, Article 104795. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104795>
23. Aquilanti, L., Santarelli, S., Babini, V., Osimani, A., Clementi, F. (2013). Quality evaluation and discrimination of semi-hard and hard cheeses from the Marche region (Central Italy) using chemometric tools. *International Dairy Journal*, 29(1), 42–52. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2012.11.001>

REFERENCES

1. McSweeney, P. L. H., Fox, P. F., Cotter, P. D., Everett, D. W. (2017). *Cheese: Chemistry, physics and microbiology*. Vol. 1: General aspects. London; San Diego, CA: Academic Press, 2017.
2. Scott, R., Robinson, R.C., Wilby, R. A. (1998). *Cheesemaking Practice*. Springer New York, NY, 1998.
3. Ferlay, A., Martin, B., Pradel, Ph., Coulon, J.B., Chilliard, Y. (2006). Influence of grass-based diets on milk fatty acid composition and milk lipolytic system in tarentaise and montbéliarde cow breeds. *Journal of Dairy Science*, 89(10), 4026–4041. [https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302\(06\)72446-8](https://doi.org/10.3168/jds.S0022-0302(06)72446-8)
4. Paszczyk, B., Łuczyska, J. (2020). The comparison of fatty acid composition and lipid quality indices in hard cow, sheep, and goat cheeses. *Foods*, 9(11), Article 1667. <https://doi.org/10.3390/foods9111667>
5. Collins, Y. F., McSweeney, P. L., Wilkinson, M. G. (2003). Lipolysis and free fatty acid catabolism in cheese: a review of current knowledge. *International Dairy Journal*, 13(11), 841–866. [https://doi.org/10.1016/S0958-6946\(03\)00109-2](https://doi.org/10.1016/S0958-6946(03)00109-2)
6. Thierry, A., Collins, Y. F., Mukdys, M. A., McSweeney, P. L., Wilkinson, M. G., Spinnler, H. E. (2017). Lipolysis and metabolism of fatty acids in cheese. Chapter in a book: *Cheese*. Academic Press, 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-417012-4.00017-X>
7. Serrapica, F., Masucci, F., Di Francia, A., Napolitano, F., Braghieri, A., Esposito, G. et al. (2020). Seasonal variation of chemical composition, fatty acid profile, and sensory properties of a mountain pecorino cheese. *Foods*, 9(8), Article 1091. <https://doi.org/10.3390/foods9081091>
8. Chavarri, F., Virto, M., Martin, C., Nájera, A. I., Santisteban, A., Barrón, L. J. et al. (1997). Determination of free fatty acids in cheese: comparison of two analytical methods. *Journal of Dairy Research*, 64(3), 445–452. <https://doi.org/10.1017/S0022029997002197>
9. Gioacchini, A. M., De Santi, M., Guescini, M., Brandi, G., Stocchi, V. (2010). Characterization of the volatile organic compounds of Italian 'Fossa' cheese by solid-phase microextraction gas chromatography/mass spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 24(23), 3405–3412. <https://doi.org/10.1002/rcm.4782>
10. Романова, Н. В., Иванова, Е. В., Терентьев, С. Е. (2020). Selection of starter cultures of direct application for hard cheeses. *Proceedings of the Voronezh State University of Engineering Technologies*, 82(1(83)), 187–193. <https://doi.org/10.20914/2310-1202-2020-1-187-193> (In Russian)
11. De Luca, V., Perotti, M. C., Wolf, I. V., Meinardi, C. A., Mandrich, L. (2018). The addition of the thermophilic esterase EST2 influences the fatty acids and volatile compound profiles of semi hard cheeses. *Food Science and Technology*, 39, 711–720. <https://doi.org/10.1590/fst.06018>
12. Prandini, A., Sigolo, S., Piva, G. (2011). A comparative study of fatty acid composition and CLA concentration in commercial cheeses. *Journal of Food Composition and Analysis*, 24(1), 55–61. <https://doi.org/10.1016/j.jfca.2010.04.004>
13. Kara, R., Bulut, S., Akkaya, L. (2014). Determination of fatty acid composition of afyon tulum cheese. *Journal of Food and Nutrition Research*. 2(1), 17–20. <https://doi.org/10.12691/jfnr-2-1-3>
14. Qian, M. C., Burbank, H. M. (2007). Hard Italian cheeses: Parmigiano-reggiano and grana padano. *Improving the Flavour of Cheese*, 421–443. <https://doi.org/10.1533/9781845693053.4.421>
15. Topnikova, E. V., Mordvinova, V. A., Sviridenko, G. M., Danilova, E. S. (2019). Study of fatty acid of milk for cheese production. *Food Systems*, 2(4), 34–37. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2019-2-4-34-37>
16. Umansky, M. S. (2000). Selective lipolysis in cheese biotechnology. Bar-naul: ASTU, 2000. (In Russian)
17. Gorbatova, K. K. (2004). Chemistry and physics of milk. St. Petersburg: GIORД, 2004. (In Russian)
18. Töpel, A. (2007). Chemistry and physics of milk: natural product, raw materials, food products. Behr, Germany, 2007. (In German)
19. Тихомиров, И. А., Аксенова, В. П., Андрюхина, О. Л. (2016). Modern technologies for managing milk quality assurance processes. *Bulletin of the All-Russian Scientific Research Institute of Animal Husbandry Mechanization*, 3(23), 42–50. (In Russian)
20. Bešić, A., Hrapović, E., Čaklović, K., Rahmanović, B. (2022). *Microbiological safety of dairy products of individual producers that are not under the supervision of veterinary and sanitary inspection in FB&H*. 10th Central European Congress on Food. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-5-031-04797-8_28
21. Trbović, D., Petronijević, R., Đorđević, V. (2017). *Chromatography methods and chemometrics for determination of milk fat adulterants*. In IOP Conference Series: Earth and Environmental Science, 85(1), Article 12025. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/85/1/012025>
22. Temizkan, R., Can, A., Dogan, M. A., Mortas, M., Ayvaz, H. (2020). Rapid detection of milk fat adulteration in yoghurts using near and mid-infrared spectroscopy. *International Dairy Journal*, 110, Article 104795. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2020.104795>
23. Aquilanti, L., Santarelli, S., Babini, V., Osimani, A., Clementi, F. (2013). Quality evaluation and discrimination of semi-hard and hard cheeses from the Marche region (Central Italy) using chemometric tools. *International Dairy Journal*, 29(1), 42–52. <https://doi.org/10.1016/j.idairyj.2012.11.001>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p>Мордвинова Валентина Александровна — кандидат технических наук, ведущий научный сотрудник, руководитель отдела сыроделия, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-915-970-36-38 E-mail: v.mordvinova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8588-7103</p>	<p>Valentina A. Mordvinova, Candidate of Technical Sciences, Leading Researcher, Head of Cheese Making Department, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheese-making 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-915-970-36-38 E-mail: v.mordvinova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8588-7103</p>
<p>Топникова Елена Васильевна — доктор технических наук, директор, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-910-666-93-93 E-mail: e.topnikova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0225-6870</p>	<p>Elena V. Topnikova, Doctor of Technical Sciences, Director, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheese-making 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-910-666-93-93 E-mail: e.topnikova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-0225-6870</p>
<p>Данилова Екатерина Сергеевна — младший научный сотрудник, отдел маслоделия, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-960-527-61-48 E-mail: e.danilova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5522-224X * автор для контактов</p>	<p>Ekaterina S. Danilova, Junior Researcher, Buttermaking Department, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheese-making 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-960-527-61-48 E-mail: e.danilova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5522-224X * corresponding author</p>
<p>Остроухова Ирина Леонидовна — кандидат технических наук, старший научный сотрудник, отдел сыроделия, Всероссийский научно-исследовательский институт маслоделия и сыроделия 152613, Ярославская область, Углич, Красноармейский бульвар, 19 Тел.: +7-48532-9-81-52 Тел.: +7-910-972-91-22 E-mail: i.ostroukhova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8578-4163</p>	<p>Irina L. Ostroukhova, Candidate of Technical Sciences, Senior Researcher, Department of Cheese Making, All-Russian Scientific Research Institute of Butter- and Cheese-making 19, Krasnoarmeysky Boulevard, Uglich, 152613, Yaroslavl Region, Russia Tel.: +7-910-972-91-22 E-mail: i.ostroukhova@fncps.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8578-4163</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/10.21323/2618-9771-2022-5-4-369-375>



Поступила: 27.10.2022

Поступила после рецензирования: 30.11.2022

Принята в печать: 05.12.2022

© Панасюк А. Л., Свиридов Д. А., Шилкин А. А., 2022

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

Научная статья

Open access

УСТАНОВЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ РАСТИТЕЛЬНЫХ МАСЕЛ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА ИЗОТОПНОЙ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

Панасюк А. Л., Свиридов Д. А.*, Шилкин А. А.

Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности, Москва, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

растительные масла, изотопная масс-спектрометрия, изотопы углерода, кислорода, водорода, идентификация, место происхождения, фальсификация

АННОТАЦИЯ

Масла растительного происхождения играют важную роль в рационе питания человека. От вида перерабатываемого сырья в значительной степени зависят как физиологическая ценность продукта, так и его стоимость. В связи с этим установление вида растительного сырья, используемого для производства растительных масел, является важным направлением исследований при идентификации данного вида продукции. На сегодняшний день одним из наиболее информативных методов оценки подлинности растительного сырья является метод изотопной масс-спектрометрии. Исследовано 30 образцов растительных масел, произведенных из различного сырья и мест происхождения (Италия, Греция, Испания, Турция, Армения, Россия, Словения). В образцах измеряли значения изотопных отношений углерода, кислорода и водорода. Показано, что образцы кукурузного масла (C4 тип фотосинтеза) характеризуются наиболее высокими значениями показателя $\delta^{15}\text{C}$, от минус 17,00‰ до минус 17,73‰. Остальные исследуемые образцы растительных масел были произведены из C3-растений (масло виноградных семян, оливковое, льняное, кунжутное, тыквенное, горчичное, подсолнечное и др.). Для них значения $\delta^{15}\text{C}$ лежат в диапазоне от минус 26,60‰ до минус 31,14‰. Таким образом, метод изотопной масс-спектрометрии позволяет выявить внесение кукурузного масла в продукт, произведенный из растений с C3 типом фотосинтеза, даже в небольших количествах. Также при помощи этого способа возможно установить внесение дешевых масел в кукурузное. Значения показателей $\delta^{18}\text{O}$ и $\delta^2\text{H}$ в значительной степени зависят от года урожая и климатических особенностей региона произрастания сырья. Так, значения изотопных характеристик $\delta^{18}\text{O}$ структурных компонентов образцов масел из виноградных семян, произведенных в Турции, Армении и Италии, имеют значительные различия ($19,40 \pm 0,77\%$, $16,55 \pm 0,66\%$ и $23,29 \pm 0,93\%$ соответственно). Значения изотопных характеристик водорода $\delta^2\text{H}$ образца из Армении отличались от значений образцов из Турции и Италии в сторону большего содержания «легких» изотопов (минус $189,86 \pm 1,13\%$, минус $163,17 \pm 0,97\%$ и минус $160,72 \pm 0,97\%$ соответственно). Проведение ежегодного мониторинга этих значений, создание базы данных, а также использование статистических методов анализа позволит в перспективе проводить идентификацию растительных масел по месту их географического происхождения с высокой степенью достоверности.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Статья подготовлена в рамках выполнения исследований по государственному заданию № FNEN-2019-042 Федерального научного центра пищевых систем им. В. М. Горбатова Российской академии наук.

Received 27.10.2022

Accepted in revised 30.11.2022

Accepted for publication 05.12.2022

© Panasyuk A. L., Sviridov D. A., Shilkin A. A., 2022

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

Original scientific article

Open access

AUTHENTICATION OF VEGETABLE OILS USING ISOTOPE MASS SPECTROMETRY

Alexander L. Panasyuk, Dmitriy A. Sviridov*, Aleksey A. Shilkin

All-Russian Scientific Research Institute of Brewing, Beverage and Wine Industry, Moscow, Russia

KEY WORDS:

vegetable oils, isotope mass spectrometry, carbon isotopes, oxygen, hydrogen, identification, place of origin, falsification

ABSTRACT

Vegetable oils play an important role in the human diet. Both the physiological value of the product and its cost largely depend on the type of processed raw materials. In this regard, the establishment of the type of vegetable raw materials used for the production of vegetable oils is an important area of research in the identification of this product type. To date, one of the most informative methods for assessing the authenticity of plant raw materials is the method of isotope mass spectrometry. Thirty samples of vegetable oils produced from various raw materials and places of origin (Italy, Greece, Spain, Turkey, Armenia, Russia, Slovenia) were studied. The isotopic ratios of carbon, oxygen and hydrogen were measured in the samples. It is shown that the samples of corn oil (C4 type of photosynthesis) are characterized by the highest values of the indicator $\delta^{15}\text{C}$, from -17.00% to -17.73% . The rest of the studied samples of vegetable oils were produced from C3 plants (grape seed oil, olive, linseed, sesame, pumpkin, mustard, sunflower, etc.). For them, the values of $\delta^{15}\text{C}$ lie in the range from -26.60% to -31.14% . Thus, the method of isotope mass spectrometry makes it possible to detect the introduction of corn oil into a product produced from plants with C3 type of photosynthesis, even in small quantities. In addition, this method enables

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Панасюк, А. Л., Свиридов, Д. А., Шилкин, А. А. (2022). Установление подлинности растительных масел с использованием метода изотопной масс-спектрометрии. *Пищевые системы*, 5(4), 369-375. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-369-375>

FOR CITATION: Panasyuk, A. L., Sviridov, D. A., Shilkin, A. A. (2022). Authentication of vegetable oils using isotope mass spectrometry. *Food Systems*, 5(4), 369-375. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-369-375>

establishing the introduction of cheap oils into corn oil. The values of the indicators $\delta^{18}\text{O}$ and $\delta^2\text{H}$ largely depend on the year of harvest and the climatic characteristics of the region where the raw materials grow. Thus, the values of the isotopic characteristics of the $\delta^{18}\text{O}$ structural components of the oil samples from grape seeds produced in Turkey, Armenia and Italy have significant differences ($19.40 \pm 0.77\text{‰}$, $16.55 \pm 0.66\text{‰}$ and $23.29 \pm 0.93\text{‰}$, respectively). The values of the isotopic characteristics of hydrogen $\delta^2\text{H}$ of the sample from Armenia differed from the values of the samples from Turkey and Italy in the direction of a higher content of “light” isotopes ($-189.86 \pm 1.13\text{‰}$, $-163.17 \pm 0.97\text{‰}$ and $-160.72 \pm 0.97\text{‰}$, respectively). The annual monitoring of these values, the creation of a database, as well as the use of statistical analysis methods will allow in the future identifying vegetable oils by their geographical origin with a high degree of reliability.

FUNDING: The article was published as part of the research topic No. FNEN-0585-2019-042 of the state assignment of the V. M. Gorbатов Federal Research Center for Food Systems of RAS.

1. Введение

Масложировая промышленность занимает ведущее место среди отраслей, перерабатывающих растительное сырье, по объемам его переработки, многообразию и особенностям получаемой продукции. Значительная часть этого объема представлена растительными маслами, среди которых лидером является подсолнечное масло, так как в России наиболее распространенным масличным сырьем являются семена подсолнечника. Продукты масложирового производства являются неотъемлемой частью рациона питания человека. По рекомендации Всемирной Организации Здравоохранения, калорийность рациона должна быть обеспечена жирами на 15–30% [1]. Растительные масла играют особенно важную роль в формировании рациона питания. В своем составе они содержат ряд полиненасыщенных жирных кислот, в том числе омега-3 и омега-6, витамины групп А и Е, фитостерин и другие соединения, обладающие высокой биологической активностью. Широкое распространение на потребительском рынке получили масла, произведенные из семян подсолнечника, кукурузы, рапса, льна, кедрового ореха, кунжута, винограда, тыквы, плодов оливы, облепихи, косточек абрикоса, персика и других культур.

Контроль качества и безопасности продуктов питания имеет важное значение в обеспечении здоровья населения. В связи с этим достаточно остро стоит вопрос о способах подтверждения подлинности растительных масел из различного сырья. От вида перерабатываемого сырья в значительной степени зависит жирнокислотный состав, а также доля ненасыщенных кислот и неомыляемых соединений, что непосредственно влияет на физиологическую ценность продукта. Помимо этого, стоимость растительного масла также обуславливается выбором сырья. В связи с этим наиболее распространенным способом фальсификации является внесение недобросовестными производителями в готовую продукцию масел из более дешевого сырья. В итоге на прилавки попадают продукты питания ненадлежащего качества. Использование дешевого сырья в пищевой промышленности по-прежнему остается серьезной проблемой как в России, так и во всем мире [2]. Так, например, фальсификация импортного оливкового масла является обычной практикой и серьезной проблемой для регулирующих органов и потребителей по всему миру [3]. Оливковое масло достаточно дорогостоящее из-за особенностей процесса его производства. В связи с этим недобросовестные производители с целью получения прибыли подменяют оливковое масло более дешевыми маслами, в том числе кукурузным. Такой продукт не отвечает заявленным свойствам и может нанести вред потребителю. Особым спросом пользуются растительные масла с контролируемой, региональной принадлежностью, благодаря их высокому качеству, обусловленному географическими условиями региона и строго регламентированной технологией производства [4]. Часто потребители отдают предпочтение иностранным продуктам, и непра-

вильно указанное место производство продукта может позволить продавать товар за более высокую цену. В этом случае неправильная маркировка товара вводит потребителей в заблуждение, а также лишает добросовестных производителей части прибыли.

Как правило, в основе способа идентификации растительных масел лежат различия в качественном и количественном содержании жирных кислот, входящих в их состав. Определение физико-химических показателей, таких как кислотное число, йодное число, перекисное число и других характеристик, определяемых путем химического анализа, в настоящее время недостаточно для оценки натуральности и качества растительных масел. Наиболее распространенный на сегодняшний день способ идентификации растительных масел основан на различиях в качественном и количественном содержании жирных кислот, входящих в их состав. В соответствии с действующей на территории Российской Федерации нормативной документацией ГОСТ 30623–2018¹, различают следующие группы растительных масел в зависимости от их жирно-кислотного состава:

- масла, содержащие низкомолекулярные жирные кислоты C_6 – C_{12} более 2% (кокосовое, масло бабассу);
- масла с высоким содержанием эруковой кислоты $\text{C}_{22:1}$ (рапсовое, горчичное и др.);
- масла, содержащие линоленовую кислоту от 2% до 20% (соевое, пшеничное);
- масла с массовой долей пальмитиновой кислоты более 17% (хлопковое, пальмовое и др.);
- масла с максимальной массовой долей олеиновой кислоты (рисовое, оливковое и др.);
- масло с близкими массовыми долями олеиновой и линолевой кислот (кунжутное, вишневое);
- масла с максимальной массовой долей линолевой кислоты (кукурузное, виноградное и др.);
- масла с содержанием линоленовой кислоты более 20% (льняное, рыжиковое).

Метод газожидкостной хроматографии является основным при идентификации продукции по ее жирнокислотному составу [5–7]. Он позволяет регистрировать в маслах до 35 различных жирных кислот и устанавливать наличие примесей посторонних масел на уровне выше 10% [8,9]. Однако в ряде случаев провести идентификацию с использованием указанного метода не представляется возможным ввиду схожести жирнокислотного состава ряда масел из различных видов сырья. В связи с этим для достоверной идентификации растительных масел необходимо использовать другие инструментальные методы анализа. В мировой практике для идентификации различных продуктов питания широкое распространение получили исследования изотоп-

¹ ГОСТ 30623–2018 «Масла растительные и продукты со смешанным составом жирной фазы. Метод обнаружения фальсификации». Москва: Стандартинформ, 2018. — 20 с.

ных характеристик элементов в составе продукта с использованием метода изотопной масс-спектрометрии. Методы определения отношений стабильных изотопов биофильных элементов применяются при идентификации сырья и готовой продукции в винодельческой, мясной, молочной промышленности, при идентификации меда и других продуктов, в том числе и растительных масел [10]. Особенности распределения стабильных изотопов биофильных элементов в пищевой продукции связаны с процессами фракционирования, то есть с изменением соотношения «легких» и «тяжелых» изотопов в ходе биологических и геохимических процессов [11–15].

В настоящее время различают C3- и C4-пути фиксации атмосферного диоксида углерода, а также фотосинтез по типу толстянковых растений (CAM-метаболизм и фотодыхание). C3-путь фиксации диоксида углерода характерен для растений, в которых ассимиляция CO_2 протекает по циклу Кальвина, состоящему из трех основных этапов: карбоксилирование, восстановление и регенерация акцептора CO_2 . В качестве первичных продуктов цикла Кальвина выступают трехуглеродные соединения, например, 3-фосфоглицериновая кислота (3-ФГК), 3-фосфоглицериновый альдегид (3-ФГА) и фосфодиоксиацетон (ФДА). C3-путь фиксации атмосферного диоксида углерода является основным для высших растений (например, для citrusовых деревьев, ягод, яблочных и грушевых деревьев и др.). 85% всех растений относятся к C3-типу. Около 500 видов покрытосеменных культур ассимилируют CO_2 по C4-пути. В данных растениях фотосинтез осуществляется по так называемому циклу Хетча и Слэка, первичными продуктами фиксации диоксида углерода и восстановления в котором являются четырехуглеродные соединения, например, яблочная и аспарагиновая кислоты. К C4-растениям относится ряд культурных растений преимущественно тропического и субтропического происхождения: кукуруза, просо, сорго, сахарный тростник. Как правило, это высокопродуктивные растения, устойчиво осуществляющие фотосинтез при значительных повышениях температуры и в засушливых условиях. Значительная разница изотопной сигнатуры C3- и C4-растений (и в получаемом при их переработке или преобразовании углеводе во всех формах) открывает широкие возможности для исследований [16,17].

Как правило, методы подтверждения географического места происхождения растительного масла включают в себя выявление «отпечатков пальцев» с использованием инструментальных и статистических методов анализа. Исследования показали, что достоверная идентификация географической принадлежности образцов возможна лишь в некоторых случаях между конкретными хозяйствами ввиду уникальных климатических условий регионов и особенностей возделывания сельскохозяйственной культуры [18]. С целью увеличения точности идентификации растительных масел по месту их географического происхождения, статистическая модель исследования может быть усилена данными изотопных характеристик отдельно взятых жирных кислот, в том числе линолевой, олеиновой, пальмитиновой и стеариновой, а также данными состава фенольных соединений, макро- и микроэлементного профиля продукта [19–21]. Идентификация продукции по месту ее географического происхождения предполагает сбор базы данных и ее аналитическую обработку. Использование методов статистического анализа позволяет выявить взаимосвязи между полученными значениями и оценить вклад каждого из них в математическую модель. При идентификации оливковых масел чаще всего применяют дисперсионный анализ (ANOVA), метод главных компонент

(PCA), линейный дискриминантный анализ (LDA), метод опорных векторов (SVM), кластерный анализ (HCA), искусственные нейронные сети (CP-ANN) и методы машинного обучения [22–25].

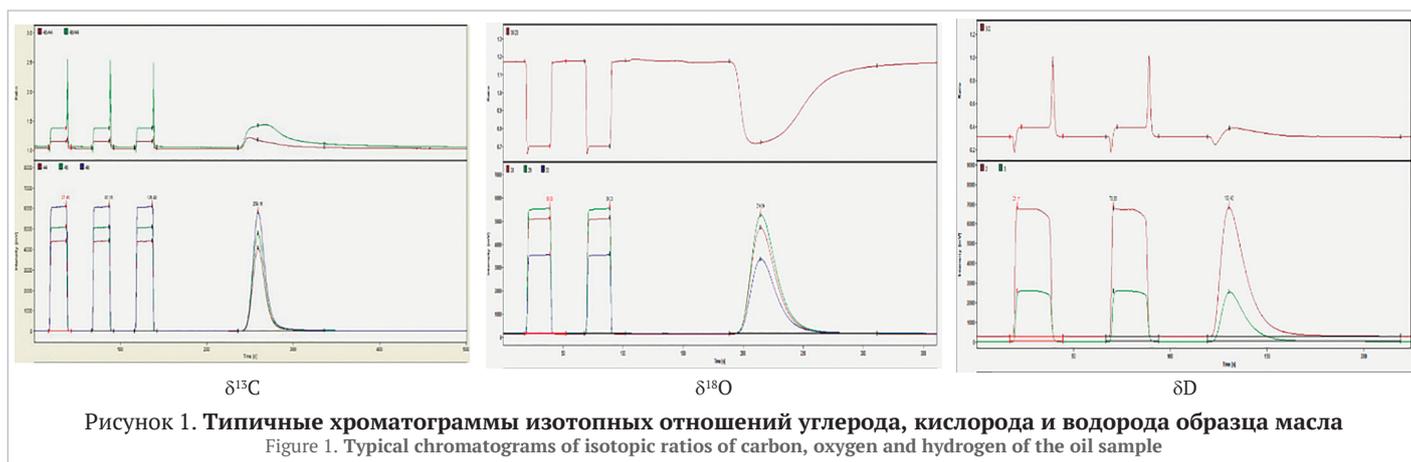
Подводя итоги, необходимо отметить, что, несмотря на актуальность проблемы, за последнее время опубликовано относительно небольшое общее количество научных работ по вопросу идентификации растительных масел. Отечественные работы, как правило, направлены на выявление примесей в растительных маслах с использованием метода газовой хроматографии как основного. Большинство зарубежных работ освещают способы подтверждения географического места происхождения масла, с применением метода изотопной масс-спектрометрии, который является наиболее информативным. Таким образом, основная задача данного исследования состояла в изучении изотопных характеристик углерода, кислорода и водорода структурных элементов масел из различных видов сырья с целью выявления критериальных параметров, позволяющих подтвердить подлинность продукта.

2. Материалы и методы

Объектами исследования являлись 30 образцов растительных масел, произведенных из различного сырья и в различных географических регионах.

Состав стабильных изотопов углерода в образцах определяли на аналитическом комплексе, состоящем из: двухреакторного элементного анализатора органических и неорганических объектов Flash 2000, оснащенного автосамплером для работы с твердыми пробами; универсального интерфейса ConFloIV; масс-спектрометра для анализа стабильных изотопов легких элементов IRMS DeltaV Advantage; системы подачи газов высокой очистки; специализированной рабочей станции для управления изотопным исследованием; регистрации и обработки результатов измерения с помощью высокоуровневого программного пакета Isodat 3.0. (Thermo Fisher Scientific, США — Германия). Измерение значений $\delta^{13}\text{C}$ проводилось с использованием окислительно-восстановительного реактора. Пробу в количестве 1 мкл исследуемого образца вносили в оловянную капсулу с помощью микропипетки. Капсулу герметично закрывали с помощью пинцета. Для каждого образца подготавливали 3 капсулы, помещали в автосамплер для твердых проб и выполняли три последовательных определения. Капсулированные образцы сжигались в окислительно-восстановительном реакторе при температуре 1000 °C в потоке кислорода и газа-носителя (гелия) до диоксида углерода. В качестве окислителя использовали химически чистые соединения Cr_2O_3 и CuO , в качестве восстановителя — металлическую медь (Cu). CO_2 через интерфейс ConFlow поступал в ионный источник изотопного масс-спектрометра, где проводился анализ изотопных отношений. Данные ионного тока и интенсивности пика обрабатывались программным комплексом ISODAT. Значения $\delta^{13}\text{C}$ рассчитывались в промилле (‰) для каждого образца. В качестве стандарта использовался международный стандарт кофеина IAEA-600.

В случае анализа соотношения изотопов водорода и кислорода применяли аналогичную пробоподготовку. Измерение значений δD , $\delta^{18}\text{O}$ проводилось с использованием пиролитического реактора с графитовым наполнителем. Пробы капсулировались в серебряные капсулы. Капсулированные образцы подвергались пиролизу в реакторе при температуре 1400 °C. При измерении значений $\delta^{18}\text{O}$ в качестве газа сравнения задействуется химически чистый CO , при измерении значений δD — химически чистый H_2 . Анализ изотоп-



ных отношений и обработка данных проходит аналогичным образом. В качестве стандартов использовались международные стандарты воды МАГАТЭ: VSMOW2 и SLAP2. Примеры полученных хроматограмм представлены на Рисунке 1.

3. Результаты и обсуждение

В рамках проведенной работы были отобраны 30 товарных образцов растительных масел из различного сырья и различных географических мест происхождения. В них были изучены показатели изотопных отношений $\delta^{15}\text{C}$, $\delta^{18}\text{O}$ и δD . Результаты представлены в Таблице 1.

Из Таблицы 1 видно, что значения исследуемых показателей в некоторых случаях различаются для исследуемых образцов, в зависимости от вида используемого сырья и места происхождения. Значения показателя $\delta^{15}\text{C}$ в наибольшей степени определяют именно ботанические факторы, среди которых особенно важным является тип фотосинтеза, протекающий в растении. Образцы кукурузного масла № 21–23 характеризуются наиболее высокими значениями показателя $\delta^{15}\text{C}$ (от минус 17,00‰ до минус 17,73‰) относительно других образцов. Такие значения характерны для продукции, произведенной из растений с C_4 типом фотосинтеза, к которым и относится кукуруза. Остальные исследуемые образцы растительных масел произведены из C_3 -растений, для них значения $\delta^{15}\text{C}$ лежат в диапазоне от минус 26,60‰ до минус 31,14‰. Схожий интервал значений $\delta^{15}\text{C}$ для масел из C_3 -растений был выявлен белорусскими исследователями [16].

В связи с этим внесение кукурузного масла в продукт, произведенный из растений с C_3 типом фотосинтеза (масло виноградных семян, оливковое, льняное и др.), даже в небольших количествах (5% и более) возможно выявить с помощью метода изотопной масс-спектрометрии и анализа значений показателя $\delta^{15}\text{C}$, что подтверждается литературными данными [13]. И наоборот, данный метод позволяет установить добавление более дешевых масел в кукурузное. При этом значения $\delta^{15}\text{C}$ образцов, произведенных из C_3 -растений, лежат в достаточно узком для идентификации диапазоне. Так, достоверно распознать фальсификат, приготовленный с внесением, например, подсолнечного масла в масло из виноградных семян, только на основе значений изотопных характеристик не представляется возможным. В этом случае показатель $\delta^{15}\text{C}$ может быть использован в качестве дополнительного критерия при идентификации образца с помощью других инструментальных методов анализа.

Значения показателей изотопных характеристик кислорода $\delta^{18}\text{O}$ и водорода $\delta^2\text{H}$ растительных масел в значительной степени зависят от года урожая и климатических факто-

Таблица 1. Значения изотопных характеристик углерода, кислорода и водорода растительных масел из различного сырья

Table 1. Values of isotopic characteristics of carbon, oxygen and hydrogen of the vegetable oils from different raw materials

№	Наименование	Страна происхождения	$\delta^{15}\text{C}$, ‰	$\delta^{18}\text{O}$, ‰	$\delta^2\text{H}$, ‰
1	Масло оливковое	Италия	-31,14±0,31	23,57±0,94	-146,55±0,87
2	Масло оливковое	Италия	-30,83±0,3	20,43±0,81	-148,01±0,88
3	Масло оливковое	Италия	-29,70±0,29	23,66±0,94	-152,23±0,91
4	Масло оливковое	Италия	-30,61±0,3	25,67±0,94	-146,02±0,87
5	Масло оливковое	Италия	-30,64±0,3	25,99±1,02	-145,05±0,87
6	Масло оливковое	Италия	-30,58±0,3	24,34±0,97	-151,31±0,9
7	Масло оливковое	Италия	-29,95±0,29	25,35±1,01	-146,82±0,87
8	Масло оливковое	Италия	-30,14±0,3	25,62±1,02	-150,60±0,9
9	Масло оливковое	Греция	-28,42±0,28	24,41±0,97	-150,11±0,9
10	Масло оливковое	Греция	-30,03±0,3	24,54±0,9	-146,45±0,87
11	Масло оливковое	Греция	-30,74±0,3	22,50±0,9	-150,37±0,9
12	Масло оливковое	Испания	-30,44±0,3	22,59±0,9	-145,63±0,87
13	Масло виноградных семян	не указана	-28,43±0,28	27,26±1,09	-144,18±0,86
14	Масло виноградных семян	Турция	-29,51±0,29	19,40±0,77	-163,17±0,97
15	Масло виноградных семян	Армения	-28,91±0,28	16,55±0,66	-189,86±1,13
16	Масло виноградных семян	Италия	-28,10±0,28	23,29±0,93	-160,72±0,97
17	Масло виноградных семян	Италия	-26,60±0,26	22,03±0,89	-160,64±0,97
18	Масло виноградных семян	Россия	-27,61±0,27	20,71±0,82	-160,06±0,97
19	Масло виноградных семян	Россия	-27,65±0,26	18,66±0,74	-177,39±1,06
20	Масло льняное	Россия	-30,07±0,3	23,36±0,93	-215,38±1,29
21	Масло кукурузное	Россия	-17,00±0,17	20,60±0,82	-171,37±1,02
22	Масло кукурузное	Россия	-17,73±0,17	19,68±0,78	-191,15±1,14
23	Масло кукурузное	Россия	-17,29±0,17	21,37±0,85	-172,63±1,03
24	Масло кунжутное	не указана	-30,68±0,3	13,90±0,55	-210,20±1,26
25	Масло тыквенное	Словения	-28,00±0,28	16,01±0,64	-180,10±1,08
26	Масло тыквенно-подсолнечное	Россия	-28,02±0,28	17,31±0,69	-190,52±1,14
27	Масло горчичное	Россия	-28,37±0,31	27,00±1,08	-186,00±1,11
28	Масло персиковое	Россия	-29,16±0,31	21,56±0,86	-176,66±1,02
29	Масло подсолнечно-оливковое	Россия	-27,94±0,31	23,19±0,92	-186,51±1,11
30	Масло подсолнечное	Россия	-29,07±0,29	21,05±0,84	-190,18±1,14

ров, среди которых среднегодовая температура, количество осадков в период вегетации растения и другие. В ряде случаев такая зависимость может обуславливать значимые различия в значениях этих показателей для образцов, произведенных в разных географических районах. Так, значения изотопных характеристик кислорода масел из виноградных семян образцов № 14, 15, 16, произведенных в Турции (19,40%), Армении (16,55%) и Италии (23,29%), имеют значительные различия. По значениям изотопных характеристик водорода образец № 15 из Армении (– 189,86%) отличается от образцов из Турции (– 163,17%) и Италии (– 160,72%) в сторону большего содержания «легких» изотопов. При этом значения изотопных характеристик углерода, кислорода и водорода, которые были получены для образцов оливковых масел, произведенных в Италии (№ 1–8), входят в аналогичный диапазон, установленный итальянскими исследователями [22]. При широком географическом охвате и достаточной выборке образцов значения показателей $\delta^{18}\text{O}$ и $\delta^2\text{H}$ могут войти в основу статистической модели, позволяющей проводить классификацию растительных масел по регионам произрастания сырья.

В мировой практике исследования, направленные на идентификацию растительных масел по географическому месту их производства, получили широкое распространение. Особенно это касается стран-производителей оливкового масла с защищенным наименованием места происхождения. Изотопный состав кислорода и водорода структурных компонентов растения в значительной мере зависит от соответствующих характеристик используемой воды, которые, в свою очередь, связаны с уникальными геоклиматическими факторами отдельно взятого региона. При этом необходимо учитывать, что метеорологические характеристики в рамках одного региона меняются в различной степени из

года в год, что обуславливает дрейф значений изотопных характеристик кислорода и водорода структурных компонентов растений продуктов их переработки. В связи с этим достоверная идентификация продукции по географическому месту происхождения возможна при достаточной выборке образцов, а также при ежегодном мониторинге значений исследуемых параметров.

4. Заключение

Метод изотопной масс-спектрометрии является мощным инструментом при установлении подлинности растительных масел. Показано, что образцы кукурузного масла (C4 тип фотосинтеза) характеризуются более высокими значениями показателя $\delta^{13}\text{C}\%$ относительно образцов растительных масел, произведенных из C3-растений (масло виноградных семян, оливковое, льняное, кунжутное, тыквенное, горчичное, подсолнечное и др.). Значения показателя $\delta^{13}\text{C}$ позволяют достоверно выявить внесение масел из C4-растений в масла из C3-растений, и наоборот, даже в небольших количествах. Также показатель $\delta^{13}\text{C}$ может быть использован в качестве дополнительного критерия при идентификации образца с помощью других инструментальных методов анализа. Значения показателей $\delta^{18}\text{O}$ и $\delta^2\text{H}$ в заметной степени зависят от года урожая и климатических особенностей региона произрастания сырья. Было установлено, что значения изотопных характеристик кислорода и водорода структурных компонентов масел, произведенных в разных странах, в некоторых случаях значительно отличаются друг от друга. Проведение ежегодного мониторинга этих значений, создание базы данных, а также использование статистических методов анализа позволит проводить идентификацию растительных масел по месту их географического происхождения с высокой степенью достоверности.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Ильина Г. Г., Ламоткин С. А., Колногоров К. П., Скаковский Е. Д. (2014). Идентификация состава растительных масел хроматографическими и спектральными методами. *Труды БГТУ. № 4. Химия, технология органических веществ и биотехнология*, 4(168), 207–210.
- Kalivas, J. H., Georgiou, C. A., Moira, M., Tsafaras, I., Petrakis, E. A., Mousdis, G. A. (2014). Food adulteration analysis without laboratory prepared or determined reference food adulterant values. *Food Chemistry*, 148, 289–293. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.065>
- Olmo-García, L., Polari, J. J., Li, X., Bajoub, A., Fernandez-Gutierrez, A., Wang, S. C. et al. (2018). Deep insight into the minor fraction of virgin olive oil by using LC–MS and GC–MS multi-class methodologies. *Food Chemistry*, 261, 184–193. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.006>
- Tena, N., Aparicio-Ruiz, R., Koidis, A., García-González, D. L. (2017). Analytical tools in authenticity and traceability of olive oil. Chapter in a book: *Food traceability and authenticity*. CRC Press, 2017. <https://doi.org/10.1201/9781351228435-13>
- Monasterio, R. P., Olmo-García, L., Bajoub, A., Fernandez-Gutierrez, A., Carrasco-Pancorbo, A. (2017). Phenolic compounds profiling of virgin olive oils from different varieties cultivated in Mendoza, Argentina, by using liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 65(37), 8184–8195. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b02664>
- Sanchez de Medina, V., Miho, H., Melliou, E., Magiatis, P., Priego-Capote, F., Luque de Castro, M.D. (2017). Quantitative method for determination of oleocanthal and oleacein in virgin olive oils by liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Talanta*, 162, 24–31. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.09.056>
- Bajoub, A., Medina-Rodríguez, S., Gomez-Romero, M., Ajal, E. A., Bagur-Gonzalez, M. G., Fernandez-Gutierrez, A. et al. (2017). Assessing the varietal origin of extra-virgin olive oil using liquid chromatography fingerprints of phenolic compound, data fusion and chemometrics. *Food Chemistry*, 215, 245–255. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.140>
- Рабина, О. А., Морозов, С. В., Степанова, Е. Н. (2009). Разработка ароматизированных функциональных масложировых продуктов. *Масложировая промышленность*, 6, 20–21.
- Olmo-García, L., Bajoub, A., Monasterio, R. P., Fernández-Gutiérrez, A., Carrasco-Pancorbo, A. (2017). Metabolic profiling approach to determine phenolic compounds of virgin olive oil by direct injection and liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *Food Chemistry*, 231, 374–385. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.139>
- Oganesyants, L. A., Panasyuk, A. L., Kuzmina, E. I., Sviridov, D. A. (2020). Modern analysis methods use in order to establish the geographic origin of food products. *Food Systems*, 3(1), 4–9. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2020-3-1-4-9>
- Chernukha, I., Yurchak, Z., Kuzmina, E. (2018). Study on the meat isotopic composition for origin identification. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 12(1), 262–266. <https://doi.org/10.5219/906>
- Горбунова Н. А. (2018). Возможности использования стабильных изотопов для идентификации географического происхождения мяса и мясных продуктов. Обзор. *Теория и практика переработки мяса*, 3(1), 46–58. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2018-3-1-46-58>
- Huang, J., Norgbey, P. N., Nkrumah, P. A., Opoku, P. A., Apreku, T. O. (2017). Detection of corn oil in adulterated olive and soybean oil by carbon stable isotope analysis. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 12, 201–208. <https://doi.org/10.1007/s00003-017-1097-x>
- Paolini, M., Bontempo, L., Camin, F. (2017). Compound-specific $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^2\text{H}$ analysis of olive oil fatty acids. *Talanta*, 174, 38–45. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.05.080>
- Camin, F., Bontempo, L. (2017). Edible Vegetable Oils: Stable Isotopes as a Guide to Authenticity and Origin. Chapter in a book: *Food Forensics*. CRC Press, 2017. <https://doi.org/10.1201/978135151649-12>
- Ловкис З. В., Почижкая И. М., Моргунова Е. М. (2019). Научно-методические основы идентификации пальмового масла в пищевых продуктах. *Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия аграрных наук*, 57(4), 494–508. <https://doi.org/10.29235/1817-7204-2019-57-4-494-508>
- Portarena, S., Baldacchini, C., Brugnoli, E. (2017). Geographical discrimination of extra-virgin olive oils from the Italian coasts by combining stable isotope data and carotenoid content within a multivariate analysis. *Food Chemistry*, 215, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.155>
- Bontempo, L., Paolini, M., Franceschi, P., Ziller, L., García-González, D. L., Camin, F. (2019). Characterisation and attempted differentiation of European and extra-European olive oils using stable isotope ratio analysis. *Food Chemistry*, 276, 782–789. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.10.077>

19. Camin, F., Larcher, R., Nicolini, G., Bontempo, L., Bertoldi, D., Perini, M., et al. (2010). Isotopic and elemental data for tracing the origin of European olive oils. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 58(1), 570–577. <https://doi.org/10.1021/jf902814s>
20. Faberi, A., Marianella, R.M., Fuselli, F., La Mantia, A., Ciardiello, F., Montesano, C. et al. (2014). Fatty acid composition and $\delta^{13}\text{C}$ of bulk and individual fatty acids as marker for authenticating Italian PDO/PGI extra virgin olive oils by means of isotopic ratio mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*, 49(9), 840–849. <https://doi.org/10.1002/jms.3399>
21. Portarena, S., Baldacchini, C., Brugnoli, E. (2017). Geographical discrimination of extra-virgin olive oils from the Italian coasts by combining stable isotope data and carotenoid content within a multivariate analysis. *Food Chemistry*, 215, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.135>
22. Bontempo, L., Camin, F., Larcher, R., Nicolini, G., Perini, M., Rossmann, A. (2009). Coast and year effect on H, O and C stable isotope ratios of Tyrrhenian and Adriatic Italian olive oils. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 23(7), 1043–1048. <https://doi.org/10.1002/rcm.3968>
23. Kalogiouri, N. P., Aalizadeh, R., Dasenaki, M. E., Thomaidis, N. S. (2020). Application of High Resolution Mass Spectrometric methods coupled with chemometric techniques in olive oil authenticity studies- A review. *Analytica Chimica Acta*, 1134, 150–173. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.07.029>
24. Kalogiouri, N. P., Aalizadeh, R., Thomaidis, N. S. (2018). Application of an advanced and wide scope non-target screening workflow with LC-ESI-QTOF-MS and chemometrics for the classification of the Greek olive oil varieties. *Food Chemistry*, 256, 53–61. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.101>
25. Bajoub, A., Medina-Rodríguez, S., Gomez-Romero, M., Ajal, E. A., Bagur-González, M. G., Fernández-Gutiérrez, A. et al. (2017). Assessing the varietal origin of extra-virgin olive oil using liquid chromatography fingerprints of phenolic compound, data fusion and chemometrics. *Food Chemistry*, 215, 245–255. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.140>

REFERENCES

1. Il'ina, G. G., Lamotkin, S. A., Kolnogorov, K. P., Skakovskii, E. D. (2014). Identification of the composition of vegetable oils by chromatographic and spectral methods. *Proceedings of BSTU. No. 4. Chemistry, Technology of Organic Substances and Biotechnology*, 4(168), 207–210. (In Russian)
2. Kalivas, J. H., Georgiou, C. A., Moira, M., Tsafaras, I., Petrakis, E. A., Mousdis, G. A. (2014). Food adulteration analysis without laboratory prepared or determined reference food adulterant values. *Food Chemistry*, 148, 289–293. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.10.065>
3. Olmo-García, L., Polari, J. J., Li, X., Bajoub, A., Fernandez-Gutierrez, A., Wang, S. C. et al. (2018). Deep insight into the minor fraction of virgin olive oil by using LC-MS and GC-MS multi. *Food Chemistry*, 261, 184–193. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.006>
4. Tena, N., Aparicio-Ruiz, R., Koidis, A., García-González, D. L. (2017). Analytical tools in authenticity and traceability of olive oil. Chapter in a book: Food traceability and authenticity. CRC Press, 2017. <https://doi.org/10.1201/9781351228435-13>
5. Monasterio, R. P., Olmo-García, L., Bajoub, A., Fernandez-Gutierrez, A., Carrasco-Pancorbo, A. (2017). Phenolic compounds profiling of virgin olive oils from different varieties cultivated in Mendoza, Argentina, by using liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 65(37), 8184–8195. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b02664>
6. Sanchez de Medina, V., Miho, H., Melliou, E., Magiatis, P., Priego-Capote, F., Luque de Castro, M.D. (2017). Quantitative method for determination of oleocanthal and oleacein in virgin olive oils by liquid chromatography-tandem mass spectrometry, *Talanta*, 162, 24–31. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.09.056>
7. Bajoub, A., Medina-Rodríguez, S., Gomez-Romero, M., Ajal, E.A., Bagur-Gonzalez, M.G., Fernandez-Gutierrez, A. et al. (2017). Assessing the varietal origin of extra-virgin olive oil using liquid chromatography fingerprints of phenolic compound, data fusion and chemometrics. *Food Chemistry*, 215, 245–255. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.140>
8. Rabina, O. A., Morozov, S. V., Stepanova, E. N. (2009). Development of the flavoured functional fatty products. *Fat and Oil Industry*, 6, 20–21. (In Russian)
9. Olmo-García, L., Bajoub, A., Monasterio, R. P., Fernández-Gutiérrez, A., Carrasco-Pancorbo, A. (2017). Metabolic profiling approach to determine phenolic compounds of virgin olive oil by direct injection and liquid chromatography coupled to mass spectrometry. *Food Chemistry*, 231, 374–385. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.03.139>
10. Oganesyants, L. A., Panasyuk, A. L., Kuzmina, E. I., Sviridov, D. A. (2020). Modern analysis methods use in order to establish the geographic origin of food products. *Food Systems*, 3(1), 4–9. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2020-3-1-4-9>
11. Chernukha, I., Yurchak, Z., Kuzmina, E. (2018) Study on the meat isotopic composition for origin identification. *Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences*, 12(1), 62–266. <https://doi.org/10.5219/906>
12. Gorbunova, N. A. (2018). The possibility of using stable isotopes to identify the geographical origin of meat and meat products. Review. *Theory and Practice of Meat Processing*. 3(1), 46–58. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2018-3-1-46-58>. (In Russian)
13. Huang, J., Norgbey, P. N., Nkrumah, P. A., Opoku, P. A., Apreku, T. O. (2017). Detection of corn oil in adulterated olive and soybean oil by carbon stable isotope analysis. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 12, 201–208. <https://doi.org/10.1007/s00005-017-1097-x>
14. Paolini, M., Bontempo, L., Camin, F. (2017). Compound-specific $\delta^{13}\text{C}$ and $\delta^2\text{H}$ analysis of olive oil fatty acids. *Talanta*, 174, 38–43. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.05.080>
15. Camin, F., Bontempo, L. (2017). Edible Vegetable Oils: Stable Isotopes as a Guide to Authenticity and Origin. Chapter in a book: Food Forensics. CRC Press, 2017. <https://doi.org/10.1201/978135151649-12>
16. Lovkis, Z. V., Pochitskaya, I. M., Morgunova, E. M. (2019). Research and methodological basis for identification of palm oil in food. *Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus Agrarian Series*, 57(4), 494–508. <https://doi.org/10.29235/1817-7204-2019-57-4-494-508> (In Russian)
17. Portarena, S., Baldacchini, C., Brugnoli, E. (2017). Geographical discrimination of extra-virgin olive oils from the Italian coasts by combining stable isotope data and carotenoid content within a multivariate analysis. *Food Chemistry*, 215, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.135>
18. Bontempo, L., Paolini, M., Franceschi, P., Ziller, L., García-González, D. L., Camin, F. (2019). Characterisation and attempted differentiation of European and extra-European olive oils using stable isotope ratio analysis. *Food Chemistry*, 276, 782–789. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.10.077>
19. Camin, F., Larcher, R., Nicolini, G., Bontempo, L., Bertoldi, D., Perini, M., et al. (2010). Isotopic and elemental data for tracing the origin of European olive oils. *Journal of Agriculture Food Chemistry*, 58(1), 570–577. <https://doi.org/10.1021/jf902814s>
20. Faberi, A., Marianella, R.M., Fuselli, F., La Mantia, A., Ciardiello, F., Montesano, C., et al. (2014). Fatty acid composition and $\delta^{13}\text{C}$ of bulk and individual fatty acids as marker for authenticating Italian PDO/PGI extra virgin olive oils by means of isotopic ratio mass spectrometry. *Journal of Mass Spectrometry*, 49(9), 840–849. <https://doi.org/10.1002/jms.3399>
21. Portarena, S., Baldacchini, C., Brugnoli, E. (2017). Geographical discrimination of extra-virgin olive oils from the Italian coasts by combining stable isotope data and carotenoid content within a multivariate analysis. *Food Chemistry*, 215, 1–6. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.135>
22. Bontempo, L., Camin, F., Larcher, R., Nicolini, G., Perini, M., Rossmann, A. (2009). Coast and year effect on H, O and C stable isotope ratios of Tyrrhenian and Adriatic Italian olive oils. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 23(7), 1043–1048. <https://doi.org/10.1002/rcm.3968>
23. Kalogiouri, N. P., Aalizadeh, R., Dasenaki, M. E., Thomaidis, N. S. (2020). Application of High Resolution Mass Spectrometric methods coupled with chemometric techniques in olive oil authenticity studies- A review. *Analytica Chimica Acta*, 1134, 150–173. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.07.029>
24. Kalogiouri, N. P., Aalizadeh, R., Thomaidis, N. S. (2018). Application of an advanced and wide scope non-target screening workflow with LC-ESI-QTOF-MS and chemometrics for the classification of the Greek olive oil varieties. *Food Chemistry*, 256, 53–61. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.02.101>
25. Bajoub, A., Medina-Rodríguez, S., Gomez-Romero, M., Ajal, E. A., Bagur-González, M. G., Fernández-Gutiérrez, A., et al. (2017). Assessing the varietal origin of extra-virgin olive oil using liquid chromatography fingerprints of phenolic compound, data fusion and chemometrics. *Food Chemistry*, 215, 245–255. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2016.07.140>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p>Панасюк Александр Львович — доктор технических наук, профессор, заместитель директора по научной работе, Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности Адрес: 119021, Москва, ул. Россолимо, д. 7 Тел.: +7-499-246-76-38 E-mail: alpanasyuk@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5502-7951</p>	<p>Alexander L. Panasyuk, Doctor of Technical Sciences, Professor, Deputy Director, All-Russian Scientific Research Institute of Brewing, Beverage and Wine Industry 7, Rossolimo Str., Moscow, Russia, 119021 Tel.: +7-499-246-76-38 E-mail: alpanasyuk@mail.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-5502-7951</p>
<p>Свиридов Дмитрий Александрович — кандидат технических наук, старший научный сотрудник, лаборатория технологии виноградных и плодовых вин, Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности Адрес: 119021, Москва, ул. Россолимо, д. 7 Тел.: +7-499-246-63-10 E-mail: labvin@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8367-3523 * автор для контактов</p>	<p>Dmitriy A. Sviridov, Candidate of Technical Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Technology of Grape and Fruit Wines, All-Russian Scientific Research Institute of Brewing, Beverage and Wine Industry 7, Rossolimo Str., Moscow, Russia, 119021 Tel.: +7-499-246-63-10 E-mail: labvin@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-8367-3523 * corresponding author</p>
<p>Шилкин Алексей Александрович — младший научный сотрудник, лаборатория технологии виноградных и плодовых вин, Всероссийский научно-исследовательский институт пивоваренной, безалкогольной и винодельческой промышленности Адрес: 119021, Москва, ул. Россолимо, д. 7 Тел.: +7-499-246-63-10 E-mail: labvin@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1223-0703</p>	<p>Aleksey A. Shilkin, Junior Researcher, Laboratory of Technology of Grape and Fruit Wines, All-Russian Scientific Research Institute of Brewing, Beverage and Wine Industry 7, Rossolimo Str., Moscow, Russia, 119021 Tel.: +7-499246-63-10 E-mail: labvin@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1223-0703</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/10.21323/2618-9771-2022-5-4-376-382>

Поступила 07.11.2022

Поступила после рецензирования 05.12.2022

Принята в печать 09.12.2022

© Гуринович Г. В., Хренов В. А., Патракова И. С., Патшина М. В., 2022

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

Научная статья

Open access

ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ СПОСОБОВ ТЕПЛОЙ ОБРАБОТКИ НА ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ГОВЯДИНЫ В ЗАВИСИМОСТИ ОТ ТЕХНОЛОГИИ СОЗРЕВАНИЯ

Гуринович Г. В.*, Хренов В. А., Патракова И. С., Патшина М. В.

Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

сухое созревание, говядина, су-вид нагрев, гриль, комбинированный нагрев, потери при обработке, белок

АННОТАЦИЯ

Улучшению органолептических свойств говядины способствуют современные способы созревания и тепловой обработки. Целью исследований является изучение влияния различных видов тепловой обработки на качество стейков из говядины сухого созревания. Стейки выделяли из спинного отруба туш бычков зернового откорма, срок созревания 35 суток (температура 0–1 °С, относительная влажность воздуха 74–75%); контрольный образец со сроком созревания 5 суток (температура 0–4 °С, относительная влажность воздуха 80–85%). Способы тепловой обработки: су-вид нагрев при 58 °С, гриль-нагрев при 250 °С, су-вид нагрев в комбинации с гриль-обработкой. В процессе обработки контролировали потери массы прямым методом, гидрофобность миофибриллярных белков — реакцией с бромфеноловым синим, растворимый коллаген — методом кислотного гидролиза с определением оксипролина, массовую долю влаги и жира — методом из одной навески, органолептические свойства — арбитражным методом. Согласно полученным данным, минимальные потери (6,8%) получены при су-вид нагреве стейков из говядины сухого созревания; при комбинированном нагреве и сухом нагреве на гриле они увеличиваются на 6,1% и 12%. Более значимые потери массы наблюдаются у стейков из говядины сроком созревания 5 суток при любом из исследованных видов обработки. Для стейков из говядины сухого созревания су-вид и комбинированного нагрева установлено более высокое содержание растворимого коллагена по сравнению с другими образцами. Результаты определения массовой доли влаги и жира свидетельствуют о повышенной пищевой ценности стейков из говядины сухого созревания. По совокупности полученных данных с учетом результатов органолептической оценки более высокое качество имеют стейки из говядины сухого созревания, подвергнутые су-вид нагреву с последующим кратковременным сухим нагревом на гриле.

Received 07.11.2022

Accepted in revised 05.12.2022

Accepted for publication 09.12.2022

© Gurinovich G. V., Khrenov V. A., Patrakova I. S., Patshina M. V., 2022

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

Original scientific article

Open access

STUDYING AN EFFECT OF THERMAL TREATMENT METHODS ON PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES OF BEEF DEPENDING ON AGING TECHNOLOGY

Galina V. Gurinovich*, Vladislav A. Khrenov, Irina S. Patrakova, Marina V. Patshina

Kemerovo State University, Kemerovo, Russia

KEY WORDS:

dry aging, beef, sous vide cooking, grill, combined heating, cook losses, protein

ABSTRACT

Modern methods for aging and thermal treatment facilitate an improvement in beef sensory properties. The aim of the research was to study an effect of different types of thermal treatment on quality of steaks from dry-aged beef. Steaks were obtained from the rib cut from carcasses of grain-fed young bulls; aging duration was 35 days (temperature 0–1 °C, air relative humidity 74–75%). Aging duration in the control sample was five days (temperature 0–4 °C, air relative humidity 80–85%). The methods for thermal treatment were as follows: sous vide cooking at 58 °C, grill heating at 250 °C, sous vide cooking in combination with grill treatment. During processing, the following parameters were controlled: weight loss by the direct method, hydrophobicity of myofibrillar proteins by the reaction with bromophenol blue, soluble collagen by the method of acid hydrolysis with determination of oxypoline, mass fraction of moisture and fat by the method from one analytical unit, sensory properties by the reference method. According to the data obtained, minimal losses (6.8%) were noticed upon sous vide cooking of dry-aged beef steaks. In combined heating and dry heating on grill, they increased by 6.1% and 12%. More significant weight losses were observed in beef steaks with aging time of five days upon any tested treatment types. For dry-aged beef steaks treated by sous vide and combined heating, a higher content of soluble collagen compared to other samples was established. The results of measuring mass fraction of moisture and fat indicate an increase in the nutritional value of dry-aged beef steaks. According to the total data obtained with consideration for the results of sensory evaluation, dry-aged beef steaks subjected to sous vide cooking with the following short-term dry heating on grill have higher quality.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Хренов, В. А., Патракова, И. С., Патшина, М. В. (2022). Исследование влияния способов тепловой обработки на физико-химические свойства говядины в зависимости от технологии созревания. *Пищевые системы*, 5(4), 376–382. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-376-382>

FOR CITATION: Gurinovich, G. V., Khrenov, V. A., Patrakova, I. S., Patshina, M. V. (2022). Studying an effect of thermal treatment methods on physico-chemical properties of beef depending on aging technology. *Food Systems*, 5(4), 376–382. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-376-382>

1. Введение

Качество мяса для потребителя определяется многими факторами, включая нежность, сочность, вкус, аромат и цвет. По мнению большинства экспертов, среди названных свойств наиболее значима нежность, особенно для мяса с повышенной жесткостью, к которому относится говядина [1]. Несмотря на то, что говядина является источником белков высокой биологической ценности, витаминов и микроэлементов, она пользуется меньшим спросом потребителей. Это связано с пониженным содержанием в ней жира, более высоким содержанием соединительной ткани, большим диаметром мышечных волокон, что в совокупности обуславливает достаточно прочную структуру [2,3]. Поэтому совершенствование способов технологической обработки, обеспечивающих улучшение консистенции, а также усиление желаемых вкусовых характеристик, имеет решающее значение для повышения спроса на говядину и мясных продуктов на ее основе.

В улучшении консистенции и вкуса мяса заметную роль играют процессы послеубойного изменения основных компонентов мяса под действием собственных ферментов или созревание и тепловая обработка, при которой продукт доводится до кулинарной готовности.

При созревании в результате изменения мышечных белков и белков внутримышечной соединительной ткани происходит нарушение структурной целостности мышечных волокон, а также ослабление коллагеновых фибрилл и частичное растворение коллагена, в результате чего механическая прочность мяса снижается. При этом продукты превращений белков, наряду с продуктами гидролиза и окисления жиров, нуклеотидными соединениями, участвуют в формировании мясного вкуса созревшего мяса. Глубина и интенсивность послеубойных изменений в мясе зависят от технологии созревания. Более выраженному аромату, вкусу и нежной консистенции способствует процесс сухого созревания, который может выполняться в полутушах, отрубках или стейках. В последнее время интерес к этой технологии послеубойного созревания как способа формирования мяса повышенного качества заметно вырос. Особенностью процесса является длительная выдержка мяса без защитной упаковки (21 сутки и более), что способствует интенсификации протеолиза, обезвоживанию сырья и, как следствие, улучшению консистенции и концентрированию вкусо-ароматических компонентов. Этот способ, как правило, применяется для сырья премиального качества с повышенным содержанием внутримышечного жира. Вместе с тем сухое созревание в контролируемых условиях может рассматриваться и как способ повышения пищевой ценности мяса с пониженным уровнем мраморности [4,5].

Существенные изменения структуры, вкуса и пищевой ценности мяса происходят при тепловой обработке, и связано это в первую очередь с белками. Большинство саркоплазматических белков денатурирует в интервале температур 55–67 °С, необратимые изменения структуры миофибриллярных белков с последующим гелеобразованием происходят при более низкой температуре, в пределах 40–60 °С [6]. Термическая денатурация белков, вызывая изменение взаимодействия «белок-вода», деформацию мышечных волокон с появлением градиента давлений и отделением влаги, приводит к потере массы и формированию более жесткой консистенции мяса. Определенное влияние на величину потерь и консистенцию мяса оказывает коллаген. Благодаря многоуровневой организации, денатурация нативного коллагена происходит в результате длительного высокотемпературного нагрева. При 60 °С волокна коллагена лишь деформируются, что усиливает механическое воздействие на влагу,

вытесненную в межклеточное пространство, и способствует ее отделению [7].

Негативные последствия нагрева на качество мяса можно устранить влажным нагревом при умеренных температурах, близких к температуре денатурации мышечных белков (су-вид обработка), или кратковременным сухим высокотемпературным нагревом с образованием уплотненного поверхностного слоя, препятствующего отделению влаги, — этот метод называется гриль-нагрев. Способ су-вид способствует высокой однородности консистенции продукта, снижению потерь, а также улучшению микробиологических показателей и стабилизации липидной фракции в результате использования вакуума и герметичной упаковки [8,9]. Согласно данным Kathuria, D. с соавторами [10], су-вид обработка обеспечивает более высокую активность эндогенных ферментов, которые отвечают за нежность мяса, в том числе за счет увеличения растворимости коллагена.

Обработка на гриле, благодаря образованию уплотненного слоя, препятствует отделению как влаги, так и жира, что обеспечивает нежность и выраженные вкусо-ароматические характеристики продукта, свойственные обжаренному мясу, но без риска образования канцерогенных веществ [11]. Сочетание методов су-вид и нагрева на гриле позволяет реализовать преимущества каждого из них [12].

Следует отметить, что названные виды тепловой обработки наиболее целесообразны для мясного сырья с низким содержанием внутримышечной соединительной ткани и повышенным содержанием внутримышечного жира. Несомненный интерес представляют исследования влияния этих видов обработки на говядину сухого созревания. Это объясняется тем, что в процессе длительной выдержки происходит снижение массовой доли влаги при увеличении прочности ее связи с сырьем [13]. Поэтому для сырья длительного созревания следует ожидать снижения потерь при тепловой обработке. При обосновании способа тепловой обработки сырья сухого созревания следует также учитывать, что длительная выдержка может вызвать изменения белков и, как следствие, их гидрофильных свойств и устойчивости к нагреву. Известно, что при созревании происходит агрегирование белков с образованием межмолекулярных связей, их фрагментация, изменение гидрофобности поверхности [14].

Вместе с тем анализ научно-технической литературы показывает, что исследования влияния различных способов тепловой обработки на мясное сырье, в зависимости от технологии его созревания, крайне ограничены. Так, Jwa S.-H. [15] с соавторами исследовали влияние су-вид обработки в сочетании с запеканием или обработкой открытым огнем на говядину со сроком созревания 14 суток. Имеются данные о влиянии су-вид нагрева при температуре от 55 °С до 75 °С на физико-химические показатели говядины от молодых и старых животных со сроком созревания 13 суток [16]. В работе [17] приводятся результаты исследований влияния гриль-обработки при температуре 145 °С на белки говядины, подвергнутой сухому созреванию в течение 28 суток.

Целью данной работы явилось изучение влияния су-вид и гриль-нагрева отдельно и в комбинации на потери массы и физико-химические показатели говядины сухого созревания в сравнении с аналогичным сырьем традиционного кратковременного созревания.

2. Материалы и методы

Объект исследования — спинной отруб, полученный от туш бычков герефордской породы зернового откорма (180 суток), выращенных в условиях фермерского хозяйства. Разделку на отруба выполняли после выдержки парных туш

в холодильной камере при 0–4 °С в течение 24 часов. Для созревания отруб массой около 6–7 кг укладывали на перфорированные полки камеры DRY AGED DX 1000 (Dry Ager, Германия), в которой поддерживалась постоянная температура 0–1 °С, относительная влажность воздуха (74–75%), циркуляция фильтруемого воздуха со скоростью 0,5 м/с. Для улучшения санитарного состояния внутреннего объема камеры в ней размещали гималайскую соль. Для изучения взяты образцы из отруба со сроком созревания 35 суток. Подготовку сырья для исследований заключалась в зачистке от внешнего сухого слоя и в нарезании на стейки толщиной 25 мм, массой 200–220 г. В качестве контрольного использован образец аналогичной массы и толщины, нарезанный из спинной части туши со сроком созревания 5 суток при традиционных режимах (температура от 0 до 4 °С, относительная влажность воздуха 80–85%).

Тепловую обработку выполняли тремя способами. Первый способ — низкотемпературный нагрев при постоянной температуре ниже температуры кипения воды для сырья, упакованного под вакуумом (су-вид обработка). Для упаковки образцов использованы барьерные пакеты «Амивак ВТ» («Атлантик-Пак», Россия) из многослойной пленки на основе полиамида, полиэтилена и модифицированного полиолефина, вакуумирование выполняли на упаковочной машине Henkelman Marlin 50 (Henkelman, Голландия). Нагрев упакованного мяса выполняли при использовании ротационного нагревателя Sous vide sirman Softcooker Y09 (Sirman, Италия) с устройством для контроля и поддержания температуры среды, а также с программой контроля достижения установленной температуры в продукте. Для прокола пакета и контроля температуры продукта применяли стикеры из полиэтилентерефталата. Температура су-вид нагрева принята на основании литературных данных и составила 58 °С [18]. Продолжительность тепловой обработки до температуры в продукте 58 °С составила 140 минут. Второй способ — сухой нагрев на гриле (Josper HJX–M 45L, Испания) при температуре 250 °С. Контроль температуры среды и продукта выполняли электрическим термометром Broil King с двумя датчиками (Broil King, Канада). Нагрев продолжали до температуры в центре продукта 62 °С, продолжительность обработки 7 мин.

Для достижения оптимального соотношения нежности и вкусовых характеристик был использован третий способ термической обработки, при котором стейки подвергали су-вид нагреву в течение 140 мин до 58 °С, затем охлаждали в ледяной воде в течение 15 мин и после вскрытия упаковки обрабатывали на гриле до температуры в центре 62 °С в течение 1 мин с каждой стороны до образования поверхностной корочки (комбинированный способ обработки).

Потери определяли прямым методом — измерением массы до и после тепловой обработки, величину потерь рассчитывали как отношение разницы измеренных масс к исходной массе, выраженное в процентах; развариваемость коллагена выявляли методом, основанным на кислотном гидролизе продукта с последующим количественным определением оксипролина по ГОСТ 23041^м, пересчет на содержание коллагена выполняли с использованием коэффициента 8 [19]; гидрофобность поверхности миофибриллярных белков выявляли методом ChelH I. с соавторами [20] по величине поглощения света белковым экстрактом при длине волны 595 нм по количеству связанного бромфенолового синего (БФС), мкг; массовую долю влаги и жира определяли методом из одной навески [21], органолептическую оценку стейков — по ГОСТ 9959–2015^м с привлечением 7 экспертов, имеющих специальные знания в области технологии мяса и мясных продуктов.

Статистическая обработка данных проводилась стандартными методами математической статистики. Однородность выборочных эффектов проверяли по t-критерию Стьюдента. Различия между средними значениями считались достоверными, с доверительной вероятностью $p \leq 0,05$. Результаты измерений представлены в виде среднего значения \pm стандартное отклонение.

3. Результаты и обсуждение

Результаты определения потерь массы образцов в зависимости от вида тепловой обработки приведены в Таблице 1.

Потери при тепловой обработке, как правило, объясняют потерей воды в результате деформации мышечных волокон при действии температур в интервале 50–58 °С. Деформация обусловлена сокращением и агрегированием миофибриллярных белков на фоне денатурации саркоплазматических белков, которые образуют гель между структурными элементами мышечного волокна и тем самым связывают их вместе. Индуцируемая нагревом ассоциация «белок–белок» и плотность белкового каркаса нарастают с увеличением температуры и продолжительности обработки. Определенное действие на деформацию структуры мяса оказывает изменение соединительной ткани в интервале температур от 58 °С до 70 °С [22]. Принимая во внимание низкое содержание внутримышечной соединительной ткани, потери при нагреве высококачественной говядины следует объяснять преимущественным изменением мышечных белков. Равномерный прогрев при умеренной температуре воды, близкой к температуре денатурации мышечных белков, способствует последовательному формированию непрерывного белкового каркаса, что позволяет снизить механическую деформацию мяса и, как следствие, отделение влаги.

Таблица 1. Потери массы говядины в зависимости от способа созревания и тепловой обработки

Table 1. Weight losses in beef depending on the method of aging and thermal treatment

Вид тепловой обработки	Потери, %	
	традиционного созревания, 5 суток	сухого созревания, 35 суток
Су-вид обработка (СВ)	7,7 \pm 0,8	6,8 \pm 0,6
Жарение на гриле (ЖГ)	23,4 \pm 1,4	18,8 \pm 0,9
Комбинированный нагрев (КН)	16,7 \pm 0,8	12,9 \pm 0,6

Это подтверждается полученными экспериментальными данными, из которых следует, что обработка герметично упакованной высококачественной говядины при температуре 58 °С сопровождается незначительными потерями массы, гораздо меньшими, чем при обработке на гриле или при комбинированной тепловой обработке. Для стейков из говядины сухого созревания (35 суток) потери составили 6,8%, для стейков из высококачественной говядины (5 суток созревания) — 7,7%. Выявленные результаты согласуются с данными, полученными ранее, и свидетельствует о том, что на величину потерь большее влияние оказывает конечная температура мяса, а не длительность обработки [23]. Меньшие потери при су-вид нагреве стейков из говядины сухого созревания могут быть объяснены более высокой водосвязывающей способностью мяса на фоне уменьшения количества общей влаги и глубиной протеолиза, обусловленной длительным созреванием в автолизе. Следует также учесть возможность действия катепсинов, активность которых при низкотемпературной обработке может нарастать [24,25].

При комбинированной тепловой обработке (КН), включающей су-вид обработку и кратковременное обжаривание на гриле, потери для говядины сухого и традиционного созревания увеличились в 1,9 и 2,1 раза относительно значений при су-вид нагреве соответственно. Выявленные потери распределяются между двумя этапами тепловой обработки практически равномерно, доля каждого из них в общих потерях составляет 52%:47% и 45%:55% соответственно для говядины длительного сухого и кратковременного традиционного созревания. Таким образом, кратковременная обработка говядины на гриле при 250 °С после су-вид обработки существенно повышает потери массы, более выраженные для сырья традиционного созревания.

Максимальные потери получены при обработке говядины на гриле даже при ограниченной продолжительности обработки, при этом потери для говядины сухого созревания оказались ниже потерь для контрольного образца. В относительных единицах это составило 19,6%. Аналогичные зависимости получены в исследованиях Soidla R., Tkacz K [26,27] после определения потерь для стейков из говядины сухого созревания при обработке высокими (гриль) и низкими (су-вид) температурами. Однако авторы утверждают, что для говядины, жареной на гриле, потери меньше, чем для говядины низкотемпературной су-вид обработки. O’Sullivan M. G. с соавторами [28] установили, что при запекании мяса конвективным нагревом горячим воздухом при температуре 200 °С потери массы для говядины сухого созревания повышались с увеличением продолжительности выдержки. Неоднозначные зависимости по величинам потерь при высокотемпературной обработке в зависимости от способа и продолжительности созревания, вероятно, обусловлены разной скоростью нагрева, которая оказывает значительное влияние не только на белки, но и жировую часть продукта. Также эти зависимости обусловлены влажностью среды обработки, создающей дополнительный градиент потерь.

Денатурационные изменения мышечных белков в зависимости от способа тепловой обработки оценивали по степени гидрофобности поверхности миофибриллярных белков (Таблица 2).

Таблица 2. Влияние нагрева на белки мышечной и соединительной ткани

Table 2. Effect of heating on proteins of muscle and connective tissue

Способ созревания	Способ тепловой обработки	Гидрофобность миофибриллярных белков, мкг БФС	Растворимый коллаген, % коллагена
Кратковременное созревание 5 суток (Т5)	Контроль (без тепловой обработки)	8,14	8,2
	СВ	18,6	58,3
	ЖГ	14,4	16,8
	КН	19,7	61,3
Сухое созревание 35 суток (С35)	Контроль (без тепловой обработки)	24,15	23,2
	СВ	42,4	71,4
	ЖГ	34,6	25,9
	КН	46,5	84,5
± S	—	0,51	0,8

Как следует из полученных данных, гидрофобность миофибриллярных белков говядины сухого созревания исходно более высокая (24,15 мкг бромфенолового синего), чем говядины со сроком созревания 5 суток (8,14 мкг бромфенолового синего). Это объясняется тем, что структурные изменения фибриллярных белков начинаются на стадии созревания

и с увеличением ее продолжительности нарастают. Исследования механизмов агрегирования белков в широком диапазоне температур свидетельствуют о том, что гидрофобные взаимодействия мышечных белков в наибольшей степени проявляются в интервале температур от 30 °С до 90 °С, в области выше или ниже этого интервала температур сокращаются. Снижение гидрофобности предполагает, что часть гидрофобных остатков участвует в межбелковых взаимодействиях, приводящих к образованию сети агрегатов, геля [29].

Установлено, что при су-вид нагреве гидрофобность мышечных белков увеличилась в 2,2 раза и 1,7 раза для контрольного и опытного образца соответственно. При кратковременном воздействии высоких температур (гриль обработка) гидрофобность для стейков из сырья контрольной и опытной групп увеличилась в 1,8 раза и 1,4 раза. То есть интенсивность гидрофобных взаимодействий снижается, но остается достаточно высокой. При комбинированной обработке выявлены более высокие значения гидрофобности поверхности миофибриллярных белков, по сравнению с су-вид и гриль-нагревом.

Получены данные, характеризующие изменение коллагена соединительной ткани говядины в зависимости от способа созревания при тепловой обработке разной интенсивности. Известно, что воздействие температуры 57–64 °С приводит к ослаблению упорядоченной фибриллярной структуры коллагена с уменьшением длины молекул и образованием аморфной массы. При дезагрегации термически обработанного коллагена образуется растворимая форма коллагена. При длительном нагреве структурная деформация и деградация коллагена может возникать при более низких температурах, около 55 °С [30].

Общее количество коллагена в исследуемом сырье составляет 0,6%, из этого количества на долю растворимого коллагена в говядине традиционного созревания приходится 8,2%, тогда как в говядине сухого созревания 23,2%, что является результатом повышения сухого остатка в сырье, а также действия лизосомальных ферментов на основное вещество соединительной ткани.

В процессе су-вид нагрева количество растворимого коллагена в контрольном образце увеличилось в 7,1 раза, в опытном — в 3,1 раза, при этом суммарное количество растворенного коллагена оказалось выше в опытном образце. Эта же тенденция сохраняется в отношении стейков, подвергнутых комбинированной тепловой обработке. Обработка на гриле в течение 7 мин не привела к существенному увеличению количества растворимого коллагена относительно значения для исходного сырья.

Тепловая обработка приводит к изменению массовой доли влаги и жира (Рисунок 1).

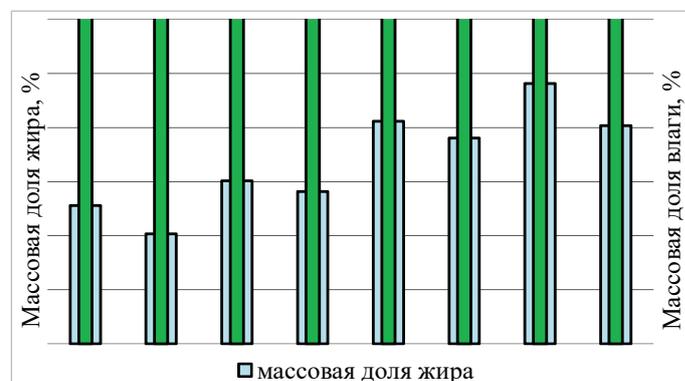


Рисунок 1. Содержание влаги и жира в стейках в зависимости от технологии созревания и вида тепловой обработки
Figure 1. Moisture and fat content in steaks depending on the aging technology and thermal treatment type

Наиболее низкие значения массовой доли влаги выявлены для стейков, подвергнутых высокотемпературному нагреву на гриле. При этом для стейков из говядины сухого и традиционного созревания значения показателя массовой доли влаги оказалась практически равными, при том, что для исходного сырья они различались. Это свидетельствует о том, что говядина сухого созревания в процессе тепловой обработки теряет меньше влаги. Это подтверждается результатами определения массовой доли влаги в стейках из говядины сухого созревания и при других исследованных способах тепловой обработки.

В процессе тепловой обработки жир расплавляется и вытекает из жировых клеток в результате повреждения оболочек, чему способствует деградация коллагена. При увеличении температуры и продолжительности обработки потери жира увеличиваются. В то же время уменьшение массовой доли влаги приводит к повышению сухих веществ в стейках после кулинарной обработки. Таким образом, величина массовой доли жира в стейках после обработки формируется под влиянием названных факторов. В целом, следует говорить о том, что в результате используемых видов тепловой обработки пищевая ценность стейков увеличивается, причем в большей степени для изготовленных из говядины сухого созревания.

При оценке целесообразности использования того или иного вида обработки большое значение имеет органолептическая оценка. Результаты органолептической оценки стейков из говядины в зависимости от технологии созревания и способа термической обработки приведены в Таблице 3.

Дегустаторами отмечен привлекательный внешний вид стейков, приготовленных на гриле, и стейков комбинированного способа тепловой обработки. При этом в обоих случаях более высокие баллы получили стейки из говядины сухого созревания, в связи с образованием более ровного и интенсивно окрашенного в коричневый цвет поверхностного слоя. Вероятнее всего, это связано с повышенным содержанием продуктов созревания, участвующих в реакции меланоидинообразования.

Эти выводы справедливы и в отношении таких характеристик, как вкус и запах.

На разрезе мышечная ткань стейков, приготовленных сухим нагревом на гриле, имела равномерный темно-красный цвет, более привлекательный для стейков из говядины сухого созревания, что следует связывать с высоким содержанием дезоксимиоглобина, устойчивого к нагреву. Балловая оценка цвета для стейков данного способа обработки составила 8,0 и 9,0 для контрольного и опытного образца соответственно. Менее привлекательными на разрезе выглядели стейки, подвергнутые су-вид обработке, в окраске которых преобладал коричневый оттенок. При этом дегустаторами не выявлено разницы между опытным и контрольным образцами. Последующая кратковременная обработка стейков на гриле (комбинированная обработка) не привела к изменению цвета на разрезе.

Для стейков, подвергнутых су-вид обработке, дегустаторами отмечена нежная и сочная консистенция, чему способствует высокое остаточное содержание внутримышечного жира. По результатам оценки единичных показателей установлен показатель общей приемлемости образцов и уровень качества. При оценке уровня качества учтены коэф-

фициенты весомости (внешний вид — 1; консистенция — 2; цвет на разрезе — 3; вкус и запах — 4).

Таблица 3. Результаты органолептической оценки

Table 3. Results of sensory evaluation

Показатель	Способ и продолжительность созревания	Способ тепловой обработки		
		су-вид нагрев	сухой нагрев гриле	комбинированный нагрев
Внешний вид	T5	7,0	7,5	7,5
	C35	7,0	9,0	9,0
Консистенция	T5	8,0	7,0	7,5
	C35	9,0	8,0	8,5
Вкус и запах	T5	7,5	8,0	8,0
	C35	8,5	9,0	9,5
Цвет на разрезе	T5	6,5	8,0	7,0
	C35	6,5	9,0	7,5
Общая приемлемость	T5	29	29,5	30
	C35	31	35	34,5
Уровень качества	T5	7,25	7,75	7,55
	C35	7,85	8,80	8,65

По совокупности показателей наиболее предпочтительными являются стейки из говядины сухого созревания любого из способов тепловой обработки, по сравнению со стейками из аналогичного сырья после 5 суток созревания. Лучшие органолептические характеристики имеют стейки, приготовленные на гриле, и сопоставимые с ними стейки комбинированного способа обработки. Это подтверждается результатами определения уровня качества, при котором учитывается не только балловая оценка свойства, но и его вклад в общую органолептическую оценку.

4. Выводы

Выполнены исследования влияния различных видов тепловой обработки на физико-химические и органолептические показатели высококачественной говядины при разных условиях созревания: длительное сухое созревание в отрубках в течение 35 суток при пониженной температуре и влажности и кратковременное созревание в полутушах в условиях промышленного холодильника в течение 5 суток. При этом впервые оценивали одновременное влияние двух видов обработки низкотемпературной су-вид и высокотемпературной гриль-обработки в отношении высококачественной говядины длительного созревания в сравнении с каждым из названных способов в отдельности.

По совокупности полученных результатов можно утверждать, что длительное созревание способствует формированию характерных свойств, которые позитивно влияют на изменение сырья в процессе тепловой обработки разной интенсивности в сравнении с сырьем кратковременного созревания. Из исследованных способов комбинированная тепловая обработка обеспечивает лучшие органолептические характеристики, пищевую ценность, меньшие потери, по сравнению с приготовлением на гриле. Наличие герметичной упаковки позволяет выполнять обработку на гриле не только непосредственно после су-вид обработки, но и после хранения в холодильной камере. Такая технология способствует регулированию сроков годности и области реализации продукции.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Miller, R. (2020). Drivers of consumer liking for beef, pork, and lamb: A review. *Foods*, 9(4), Article 428. <https://doi.org/10.3390/foods9040428>
- Listrat, A., Lebre, B., Louveau, I., Astruc, T., Bonnet, M., Lefaucheur, L. et al. (2016). How muscle structure and composition influence meat and flesh quality. *The Scientific World Journal*, 2016, Article 3182746. <https://doi.org/10.1155/2016/3182746>
- Dubost, A., Micol, D., Lethias, C., Listrat, A. (2016). New insight of some extracellular matrix molecules in beef muscles. Relationships with sensory qualities. *Animal*, 10(5), 821–828. <https://doi.org/10.1017/S1751731115002396>
- Горбунова, Н. А. (2012). Современные тенденции в исследованиях процесса созревания говядины. *Все о мясе*, 6, 56–58.
- Lepper-Blillie, A. N., Berg, E. P., Buchanan, D. S., Berg, P. T. (2016). Effects of post-mortem aging time and type of aging on palatability of low marbled beef loins. *Meat Science*, 112, 63–68. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.10.017>
- Agafonkina, I. V., Korolev, I. A., Sarantsev, T. A. (2019). The study of thermal denaturation of beef, pork, chicken and turkey muscle proteins using differential scanning calorimetry. *Theory and Practice of Meat Processing*, 4(3), 19–23. <https://doi.org/10.21323/2414-438X2019-4-3-19-23>
- Lepetit, J. (2008). Collagen contribution to meat toughness: Theoretical aspects. *Meat Science*, 80(4), 960–967. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.06.016>
- Фофанова, Т. С. (2018) Технология су-вид — некоторые аспекты качества и микробиологической безопасности. *Теория и практика переработки мяса*, 3(1), 59–68. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2018-3-1-59-68>
- Cui, Z. K., Yan, H., Manoli, T., Mo, H. Z., Bi, J. C., Zhang, H. (2021). Advantages and challenges of sous vide cooking. *Food Science and Technology Research*, 27(1), 25–34. <https://doi.org/10.3136/fstr.27.25>
- Kathuria, D., Dhiman, A. K., Attri, S. (2022). Sous vide, a culinary technique for improving quality of food products: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 119, 57–68. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.031>
- Sobral, M. M. C., Cunha, S. C., Faria, M. A., Ferreira, I. M. P. L. V. O. (2018). Domestic cooking of muscle foods: Impact on composition of nutrients and contaminants. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(2), 309–333. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12327>
- Ortuno, J., Mateo, L., Rodriguez-Estrada, M. T., Banon, S. (2021). Effects of sous vide vs grilling methods on lamb meat colour and lipid stability during cooking and heated display. *Meat Science*, 171, Article 108287. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108287>
- Lee, H., Jang, M., Park, S., Jeong, J., Shim, Y.-S., Kim, J.-C. (2019). Determination of indicators for dry aged beef quality. *Food Science of Animal Resources*, 39(6), 934–942. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2019.e83>
- Feng, Y.-H., Zhang, S.-S., Sun, B.-Z., Xie, P., Wen, K.-X., Xu, C.-C. (2020). Changes in physical meat traits, protein solubility, and the microstructure of different beef muscles during post-mortem aging. *Foods*, 9(6), Article 806. <https://doi.org/10.3390/foods9060806>
- Jwa, S.-H., Kim, Y.-A., Hoa, V.-B., Hwang, I.-H. (2020). A combination of postmortem ageing and sous vide cooking following by blowtorching and oven roasting for improving the eating quality and acceptance of low quality grade Hanwoo striploin. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 33(8), 1339–1351. <https://doi.org/10.5713/ajas.19.0667>
- Naqvi, Z. B., Thomson, P. C., Ha, M., Campbell, M. A., McGill, D. M., Friend, M. A. et al. (2021). Effect of sous vide cooking and ageing on tenderness and water-holding capacity of low-value beef muscles from young and older animals. *Meat Science*, 175, Article 108435. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108435>
- Kim, J.-H., Lee, H.-J., Shin, D.-M., Kim, T.-K., Kim, Y.-B., Choi, Y.-S. (2018). The dry-aging and heating effects on protein characteristics of beef *Longissimus dorsi*. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 38(5), 1101–1108. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2018.e43>
- Dominguez-Hernandez, E., Salaseviciene, A., Ertbjerg, P. (2018). Low-temperature long-time cooking of meat: Eating quality and underlying mechanisms. *Meat Science*, 143, 104–113. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.04.032>
- Ismail, I., Hwang, Y.-H., Bakhsh, A., Joo, S.-T. (2019). The alternative approach of low temperature-long time cooking on bovine *emitendinosus* meat quality. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 32(2), 282–289. <https://doi.org/10.5713/ajas.18.0347>
- Chelh, I., Gatellier, P., Santé-Lhoutellier, V. (2006). Technical note: Asimplified procedure for myofibril hydrophobicity determination. *Meat Science*, 74(4), 681–683. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.05.019>
- Антипова, Л. В., Глотова И. А., Рогов И. А. (2001). Методы исследования мяса и мясных продуктов. Москва: Колос, 2001.
- Yu, T.-Y., Morton, J. D., Clerens, S., Dyer, J. M. (2017). Cooking-induced protein modifications in meat. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(1), 141–159. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12243>
- Jeze, F., Kamenik, J., Macharackova, B., Bogdanovicova, K., Bednar, J. (2019). Cooking of meat: effect on texture, cooking loss and microbiological quality — a review. *Acta Veterinaria Brno*, 88, 487–496. <https://doi.org/10.2754/avb201988040487>
- Хренов, В. А., Гуринович, Г. В., Патракова, И. С., Кудряшов, Л. С. (2022) Регулирование качества говядины сухим созреванием. *Мясная индустрия*, 9, 24–28. <https://doi.org/10.37861/2618-8252-2022-09-24-28>
- Kaur, L., Hui, S.X., Boland, M. (2020). Changes in cathepsin activity during low-temperature storage and sous vide processing of beef brisket. *Food Science of Animal Resources*, 40(3), 415–425. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2020.e21>
- Soidla, R., Kerner, K., Tepper, M., Tänavots, A., Kaart, T., Joudu, I. (2019). The effect of ageing on chosen quality characteristics of skeletal muscles of Aberdeen Angus bulls. *Agronomy Research*, 17(2), 1472–1484. <https://doi.org/10.15159/AR.19.069>
- Tkacz, K., Modzelewska-Kapituła, M. (2022). Marinating and grilling as methods of sensory enhancement of sous vide beef from Holstein-Friesian bulls. *Applied Science (Switzerland)*, 12(20), Article 10411. <https://doi.org/10.3390/app122010411>
- O’Sullivan, M. G., Cruz-Romero, M. C., Kerry, J. P. (2018). Sensory and physicochemical comparison of traditional bone-in dry-aged beef loin with bone-less dry ageing and ageing using a moisture permeable bag. *Food and Nutrition Sciences*, 9(9), 1078–1098. <https://doi.org/10.4236/fns.2018.99079>
- Tornberg, E. (August, 8–13, 2004). *Effects of heat on meat proteins— implications on structure and quality of meat products*. 50th International Congress of Meat Science and Technology, Helsinki, Finland.
- Lepetit, J. (2007). A theoretical approach of the relationships between collagen content, collagen cross-links and meat tenderness. *Meat Science*, 76(1), 147–159. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.10.027>

REFERENCES

- Miller, R. (2020). Drivers of consumer liking for beef, pork, and lamb: A review. *Foods*, 9(4), Article 428. <https://doi.org/10.3390/foods9040428>
- Listrat, A., Lebre, B., Louveau, I., Astruc, T., Bonnet, M., Lefaucheur, L. et al. (2016). How muscle structure and composition influence meat and flesh quality. *The Scientific World Journal*, 2016, Article 3182746. <https://doi.org/10.1155/2016/3182746>
- Dubost, A., Micol, D., Lethias, C., Listrat, A. (2016). New insight of some extracellular matrix molecules in beef muscles. Relationships with sensory qualities. *Animal*, 10(5), 821–828. <https://doi.org/10.1017/S1751731115002396>
- Gorbunova, N. A. (2012). Current trends in the research of the beef maturation process. *Vsyo o Myase*, 6, 56–58. (In Russian)
- Lepper-Blillie, A. N., Berg, E. P., Buchanan, D. S., Berg, P. T. (2016). Effects of post-mortem aging time and type of aging on palatability of low marbled beef loins. *Meat Science*, 112, 63–68. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2015.10.017>
- Agafonkina, I. V., Korolev, I. A., Sarantsev, T. A. (2019). The study of thermal denaturation of beef, pork, chicken and turkey muscle proteins using differential scanning calorimetry. *Theory and Practice of Meat Processing*, 4(3), 19–23. <https://doi.org/10.21323/2414-438X2019-4-3-19-23>
- Lepetit, J. (2008). Collagen contribution to meat toughness: Theoretical aspects. *Meat Science*, 80(4), 960–967. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2008.06.016>
- Fofanova, T. S. (2018). Sous vide technology — several aspects of quality and microbiological safety. *Theory and Practice of Meat Processing*, 3(1), 59–68. <https://doi.org/10.21323/2414-438X-2018-3-1-59-68> (In Russian)
- Cui, Z. K., Yan, H., Manoli, T., Mo, H. Z., Bi, J. C., Zhang, H. (2021). Advantages and challenges of sous vide cooking. *Food Science and Technology Research*, 27(1), 25–34. <https://doi.org/10.3136/fstr.27.25>
- Kathuria, D., Dhiman, A. K., Attri, S. (2022). Sous vide, a culinary technique for improving quality of food products: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 119, 57–68. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.11.031>
- Sobral, M. M. C., Cunha, S. C., Faria, M. A., Ferreira, I. M. P. L. V. O. (2018). Domestic cooking of muscle foods: Impact on composition of nutrients and contaminants. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 17(2), 309–333. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12327>
- Ortuno, J., Mateo, L., Rodriguez-Estrada, M. T., Banon, S. (2021). Effects of sous vide vs grilling methods on lamb meat colour and lipid stability during cooking and heated display. *Meat Science*, 171, Article 108287. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2020.108287>
- Lee, H., Jang, M., Park, S., Jeong, J., Shim, Y.-S., Kim, J.-C. (2019). Determination of indicators for dry aged beef quality. *Food Science of Animal Resources*, 39(6), 934–942. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2019.e83>
- Feng, Y.-H., Zhang, S.-S., Sun, B.-Z., Xie, P., Wen, K.-X., Xu, C.-C. (2020). Changes in physical meat traits, protein solubility, and the microstructure of different beef muscles during post-mortem aging. *Foods*, 9(6), Article 806. <https://doi.org/10.3390/foods9060806>

15. Jwa, S.-H., Kim, Y.-A., Hoa, V.-B., Hwang, I.-H. (2020). A combination of postmortem ageing and sous vide cooking following by blowtorching and oven roasting for improving the eating quality and acceptance of low quality grade Hanwoo striploin. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 33(8), 1339–1351. <https://doi.org/10.5713/ajas.19.0667>
16. Naqvi, Z. B., Thomson, P. C., Ha, M., Campbell, M. A., McGill, D. M., Friend, M. A. et al. (2021). Effect of sous vide cooking and ageing on tenderness and water-holding capacity of low-value beef muscles from young and older animals. *Meat Science*, 175, Article 108435. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2021.108435>
17. Kim, J.-H., Lee, H.-J., Shin, D.-M., Kim, T.-K., Kim, Y.-B., Choi, Y.-S. (2018). The dry-aging and heating effects on protein characteristics of beef Longissimus dorsi. *Korean Journal for Food Science of Animal Resources*, 38(5), 1101–1108. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2018.e43>
18. Dominguez-Hernandez, E., Salaseviciene, A., Ertbjerg, P. (2018). Low-temperature long-time cooking of meat: Eating quality and underlying mechanisms. *Meat Science*, 143, 104–113. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2018.04.032>
19. Ismail, I., Hwang, Y.-H., Bakhsh, A., Joo, S.-T. (2019). The alternative approach of low temperature-long time cooking on bovine emitendinosus meat quality. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 32(2), 282–289. <https://doi.org/10.5713/ajas.18.0347>
20. Chelh, I., Gatellier, P., Santé-Lhoutellier, V. (2006). Technical note: Asimplified procedure for myofibril hydrophobicity determination. *Meat Science*, 74(4), 681–683. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.05.019>
21. Antipova, L. V., Glotova, I. A., Rogov, I. A. (2001). Methods of research of meat and meat products. Moscow: Kolos, 2001.
22. Yu, T.-Y., Morton, J. D., Clerens, S., Dyer, J. M. (2017). Cooking-induced protein modifications in meat. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 16(1), 141–159. <https://doi.org/10.1111/1541-4337.12243>
23. Jezek, F., Kameník, J., Macharackova, B., Bogdanovicova, K., Bednar, J. (2019). Cooking of meat: effect on texture, cooking loss and microbiological quality — a review. *Acta Veterinaria Brno*, 88, 487–496. <https://doi.org/10.2754/avb201988040487>
24. Khrenov, V. A., Gurinovich, G. V., Patrakova, I. S., Kudryashov, L. S. (2022). Beef quality regulation by dry aging. *Meat Industry*, 9, 24–28. <https://doi.org/10.37861/2618-8252-2022-09-24-28> (In Russian)
25. Kaur, L., Hui, S. X., Boland, M. (2020). Changes in cathepsin activity during low-temperature storage and sous vide processing of beef brisket. *Food Science of Animal Resources*, 40(3), 415–425. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2020.e21>
26. Soidla, R., Kerner, K., Tepper, M., Tänavots, A., Kaart, T., Joudu, I. (2019). The effect of ageing on chosen quality characteristics of skeletal muscles of Aberdeen Angus bulls. *Agronomy Research*, 17, 1472–1484. <https://doi.org/10.15159/AR.19.069>
27. Tkacz, K., Modzelewska-Kapituła, M. (2022). Marinating and grilling as methods of sensory enhancement of sous vide beef from Holstein-Friesian bulls. *Applied Science (Switzerland)*, 12(20), Article 10411. <https://doi.org/10.3390/app122010411>
28. O'Sullivan, M. G., Cruz-Romero, M. C., Kerry, J. P. (2018). Sensory and physiochemical comparison of traditional bone-in dry-aged beef loin with bone-less dry ageing and ageing using a moisture permeable bag. *Food and Nutrition Sciences*, 9(9), 1078–1098. <https://doi.org/10.4236/fns.2018.99079>
29. Tornberg, E. (August, 8–13, 2004). *Effects of heat on meat proteins – implications on structure and quality of meat products*. 50th International Congress of Meat Science and Technology, Helsinki, Finland.
30. Lepetit, J. (2007). A theoretical approach of the relationships between collagen content, collagen cross-links and meat tenderness. *Meat Science*, 76(1), 147–159. <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.10.027>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p>Гуринович Галина Васильевна — доктор технических наук, профессор, кафедра «Технология продуктов питания животного происхождения», Кемеровский государственный университет 650000, Кемерово, ул. Красная, 6 Тел.: +7-906-935-26-20 E-mail: gg55@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7869-4151</p>	<p>Galina V. Gurinovich, Doctor of Technical Sciences, Professor, Department of Food Technology of Animal Origin, Kemerovo State University 6, Krasnay str., 650000, Kemerovo, Russia Tel.: +7-906-935-26-20 E-mail: gg55@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-7869-4151</p>
<p>Хренов Владислав Александрович — аспирант, кафедра «Технология продуктов питания животного происхождения», Кемеровский государственный университет 650000, Кемерово, ул. Красная, 6 Тел.: +7-913-137-84-14 E-mail: kret1112@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1713-9407</p>	<p>Vladislav A. Khrenov, Graduate Student, Department of Food Technology of Animal Origin, Kemerovo State University 6, Krasnay str., 650000 Kemerovo, Russia Tel.: +7-913-137-84-14 E-mail: kret1112@gmail.com ORCID: https://orcid.org/0000-0003-1713-9407</p>
<p>Патракова Ирина Сергеевна — кандидат технических наук, доцент, кафедра «Технология продуктов питания животного происхождения», Кемеровский государственный университет 650000, Кемерово, ул. Красная, 6 Тел.: +7-905-912-53-98 E-mail: isp78@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6147-0899</p>	<p>Irina S. Patrakova, Candidate of Technical Sciences, Docent, Department of Food Technology of Animal Origin, Kemerovo State University 6, Krasnay str., 650000, Kemerovo, Russia Tel.: +7-905-912-53-98 E-mail: isp78@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0001-6147-0899</p>
<p>Патшина Марина Викторовна — кандидат технических наук, доцент, кафедра «Технология продуктов питания животного происхождения», Кемеровский государственный университет 650000, Кемерово, ул. Красная, 6 Тел.: +7-905-912-53-97 E-mail: m.patshina@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2047-3644</p>	<p>Marina V. Patshina, Candidate of Technical Sciences, Docent, Department of Food Technology of Animal Origin, Kemerovo State University 6, Krasnay str., 650000, Kemerovo, Russia Tel.: +7-905-912-53-97 E-mail: m.patshina@yandex.ru ORCID: https://orcid.org/0000-0002-2047-3644</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>